



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

ESTUDO QUÍMICO-FARMACOLÓGICO DE *Copaifera langsdorffii* Desf.
(*Leguminosae*)

Nilce Viana Gramosa

TESE DE DOUTORADO

Fortaleza - Ceará

2.001

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Título de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca Ciências e Tecnologia encontra-se à disposição dos interessados.

Nilce Viana Gramosa

TESE APROVADA EM: 10/08/01

EXAMINADORES:

Prof. Edilberto Rocha Silveira (orientador)
Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Francisco José Quetroz Monte
Universidade Federal do Ceará-UFC

Profª. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa
Universidade Federal do Ceará-UFC

Profª. Mariana Helena Chaves
Universidade Federal do Piauí -UFPI

Prof. Antônio Gilberto Ferreira
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Prof. Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Aos meus pais Francisco e Nilza,
meu esposo Eduardo e meus filhos:
Eduardo Filho, Débora e Bruno,
pelo apoio e incentivo a este trabalho.

“O futuro tem muitos nomes. Para os fracos, é o inatingível. Para os temerosos, o desconhecido. Para os valentes, é a oportunidade”.

Victor Hugo

AGRADECIMENTOS

Um curso de pós-graduação assemelha-se a uma caminhada ora em terreno plano, ora subindo montanhas, em que temos que ultrapassar barreiras diversas a fim de chegar ao nosso objetivo. Todas as situações que enfrentamos nesta caminhada de alguma forma nos ensinam a sermos melhores como pessoas. Mas além de Deus, que nos guia pela consciência, existe alguém que indica as trilhas a serem tomadas. Dá-nos a mão incentivando-nos, nos fala com rispidez (muitas vezes não entendida), exige de nós sempre o máximo (e mais 30%), mas procura nos deixar fortes para que possamos prosseguir sozinhos transmitindo seus ensinamentos a outros.

Primeiramente agradeço a Deus que me deu força e consciência para que eu pudesse melhorar espiritualmente, e à minha família pelo apoio e paciência.

Em segundo lugar, ao professor Edilberto Rocha Silveira, mestre responsável por este trabalho, pelo apoio e amizade oferecidos, cujos ensinamentos foram imprescindíveis para que eu terminasse esta caminhada; e ainda por ter me oferecido a oportunidade de operar os aparelhos de RMN do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (Cenauremn).

Aos professores Yvone Brígido M. Pouliquen, Francisco José Queiroz Monte e Ângela Marta Campos Arriaga, que coordenaram o Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica no período em que fiz parte do curso.

Ao Daniel Esdras de Andrade Uchoa pelos espectros de RMN obtidos e pelas dicas valiosas em computação e operação.

Ao professor Vietla S.N. Rao e à Laura A.F. Paiva pela contribuição no estudo farmacológico de *Copaifera langsdorffii* Desf.

Ao Prof. Afrânio G. Fernandes pela identificação botânica e contribuições pessoais bastante valiosas.

Ao professor Francisco José de Queiróz Monte pelo incentivo e amizade.

Aos professores do curso de pós-graduação em química orgânica, cujos incentivo e amizade foram imprescindíveis para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao prof. Manoel Andrade Neto, pelo apoio e amizade.

Ao professor Francisco Carlos Marques da Silva, chefe do departamento de Química da UFPI, pelo apoio e amizade.

À Olga Ramos pela obtenção dos espectros de massa obtidos no PADETEC.

Aos meus colegas de cumulativos pela grande amizade e companheirismo, cujos momentos de dedicação ao estudo jamais serão esquecidos: Lúcia, Arnaldo (O número 1), Mary Anne Bandeira e Helder.

Aos colegas de curso e aos colegas de bancada: Geraldo, Adriano, Sara, Kirley, Cláudia, Helder, Rosa Virgínia, Mônica, Alexandre, Regina, Edigênia e Sidney pela ajuda, amizade, inspiração e incentivo permitiram que esta caminhada se tornasse mais leve e prazerosa.

Ao Sr. Paulo, Mundinha, Lana, Célia, Alan Kelvin e Orlando pelo apoio e amizade.

À CAPES, CNPq, FINEP e PADCT pela concessão de bolsas e recursos financeiros.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS.....	<i>xiii</i>
LISTA DE ESQUEMAS.....	<i>xvi</i>
LISTA DE FIGURAS.....	<i>xvi</i>
LISTA DE FLUXOGRAMAS.....	<i>xxii</i>
LISTA DE QUADROS.....	<i>xxiii</i>
LISTA DE TABELAS.....	<i>xxiii</i>
RESUMO.....	<i>xxvi</i>
ABSTRACT.....	<i>xxvii</i>
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 – ABORDAGEM TAXONÔMICA DA FAMÍLIA <i>LEGUMINOSAE</i>	5
2.1. Taxonomia de <i>Leguminosae</i>	6
2.2. Taxonomia de <i>Copaifera</i>	10
2.3. Descrição botânica de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	14
2.4. Fitoquímica de <i>Leguminosae</i>	19
2.5. Fitoquímica de <i>Copaifera</i>	24
CAPÍTULO 3 – TERPENOS DE COPAIFERA.	31
3.1. Introdução.....	32
3.2. Terpenos de <i>Copaifera</i> – levantamento bibliográfico.....	33
3.3. Terpenos de <i>Copaifera langsdorffii</i> do Crato.....	50
CAPÍTULO 4 - BIOATIVIDADES DE <i>Copaifera</i>.....	55
4.1. Introdução.....	56
4.2. Atividade antimicrobiana de <i>Copaifera</i>	57
4.3. Atividade antiinflamatória de <i>Copaifera</i>	57
4.4. Atividade antiulcerogênica de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	58
4.5. Atividade antinociceptiva de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	58
4.6. Atividade cicatrizante de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	59
4.7. Outras bioatividades de <i>Copaifera</i>	59

SUMÁRIO (Continuação)

CAPÍTULO 5 –CONTROLE DE QUALIDADE DE ÓLEOS DE COPAÍBA COMERCIAIS POR RMN.....	62
5.1. Introdução.....	63
5.2. Controle de qualidade por RMN.....	63
5.2.1. Aspectos físicos dos óleos de copaíba.....	64
5.2.2. Perfil químico-espectrométrico do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	64
5.2.3. Análise dos óleos comerciais.....	67
CAPÍTULO 6 - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	75
6.1. Análise dos óleos essenciais.....	76
6.2. Determinação estrutural dos constituintes voláteis do bálsamo de <i>C. langsdorffii</i> ..	76
6.3. Determinação estrutural dos constituintes voláteis de partes de um exemplar de <i>C. langsdorffii</i>	80
6.4. Identificação dos ácidos graxos do óleo fixo da fração clorofórmica das sementes de <i>C. langsdorffii</i>	95
6.5. Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis de <i>C. langsdorffii</i>	99
6.5.1. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados a partir do tratamento cromatográfico do óleo de copaíba obtido de <i>C. langsdorffii</i>	100
6.5.1.1. Determinação estrutural de OCH-1.....	101
6.5.1.2. Determinação estrutural de OCC-AC(1)	106
6.5.1.3. Determinação estrutural de OCC-AC(2).....	117
6.5.2. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração não-volátil metilada obtida a partir do óleo de copaíba.....	120
6.5.2.1. Determinação estrutural de OCR-Me(3).....	120
6.5.2.2. Determinação estrutural de OCR-Me(4).....	130
6.5.3. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração neutra do óleo de copaíba.....	135
6.5.3.1. Determinação estrutural de OC3-N(1).....	135

SUMÁRIO (Continuação)

6.5.3.2. Determinação estrutural de OC3-N(2).....	140
6.5.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração ácida do óleo de copaíba obtido de <i>C. langsdorffii</i>	151
6.5.4.1. Determinação estrutural de OC3-RAC(1).....	151
6.5.4.2. Determinação estrutural de OC3-RAC(2).....	157
6.5.4.2.1. Confirmação da estrutura de OC3-RAC(2).....	165
6.5.4.3. Determinação estrutural de OC4-RAC(2).....	168
6.5.4.4. Determinação estrutural de OC4-RAC(5).....	178
6.5.4.5. Determinação estrutural de OC4-RAC(6).....	188
6.5.5. Determinação estrutural de SVC-H(1) obtida das sementes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	195
CAPÍTULO 7 – PARTE EXPERIMENTAL	202
7.1. Coleta do material.....	203
7.2. Métodos.....	203
7.2.1. Cromatográficos.....	203
7.2.1.1. Cromatografia líquida em coluna (CC).....	203
7.2.1.2. Cromatografia de camada delgada (CCD).....	203
7.2.1.3. Cromatografia de líquida de alta eficiência (CLAE).....	204
7.2.1.4. Cromatografia centrifugacional (CR).....	204
7.2.2. Espectrométricos.....	204
7.2.2.1. Espectrometria na região do infravermelho (IV).....	204
7.2.2.2. Espectrometria de massa (EM).....	204
7.2.2.3. Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN).....	205
7.3. Outras determinações.....	207
7.3.1. Ponto de fusão.....	207
7.3.2. Rotação ótica.....	207
7.4. Procedimento dos ensaios biológicos.....	207
7.5. Controle de qualidade dos óleos de copaíba comerciais.....	207
7.6. Estudo do óleo de copaíba.....	207

SUMÁRIO (Continuação)

7.6.1. Extração da fração volátil.....	208
7.6.2. Obtenção das frações ácida e neutra	209
7.6.2.1. Reação do OCCRATO com hidróxido de amônio (NH ₄ OH)	209
7.6.3. Estudo cromatográfico do OCCRATO.....	211
7.6.3.1. Tratamento cromatográfico do OCCRATO	211
7.6.3.1.1. Isolamento de OCH-1 e OCH-2.....	212
7.6.3.1.2. Isolamento de OCH-2 e OCH-3.....	213
7.6.3.2. Tratamento cromatográfico do OCCRATO-C	214
7.6.3.2.1. Acetilação da fração OCCRATO-C(35-41)	214
7.6.3.2.2. Isolamento de OCC-AC(1) e OCC-AC(2)	215
7.6.3.3. Tratamento cromatográfico da fração OCA-ResC.....	216
7.6.3.3.1. Metilação da fração OCA-ResC-C	216
7.6.3.3.2. Tratamento cromatográfico do OCA-ResC-C/Met.....	216
7.6.3.3.3. Isolamento do OCR-Me(1)	217
7.6.3.3.4. Isolamento do OCR-Me(2)	218
7.6.3.3.5. Isolamento do OCR-Me(3)	219
7.6.3.3.6. Isolamento de OCR-Me(4)	219
7.6.4. Estudo cromatográfico do OCCRATO-3.....	219
7.6.4.1. Tratamento cromatográfico do OCA-3NA.....	219
7.6.4.1.1. Isolamento de OC3-N(1)	220
7.6.4.1.2. Isolamento de OC3-N(2)	220
7.6.5. Estudo cromatográfico do OCA-3ResC(AC)	222
7.6.5.1. Tratamento cromatográfico de OCA-3ResC(AC).....	222
7.6.5.1.1. Isolamento de OC3-RAC(1)	222
7.6.5.1.2. Isolamento de OC3-RAC(2).....	222
7.6.6. Estudo cromatográfico do OCCRATO-4.....	223
7.6.6.1. Tratamento cromatográfico do OCA-4ResC (AC)	223
7.6.6.1.1. Isolamento de OC-4RAC(1) e OC-4RAC(2)	224
7.6.6.2. Tratamento cromatográfico da fração OCA-4ResC (AC)-AE.....	224

SUMÁRIO (Continuação)

7.6.6.3. Metilação com diazometano OC-4RAC(4).....	225
7.6.6.4. Epoxidação de OC-4RA(4)Me.....	225
7.6.6.5. Isolamento de OC-4RAC(6).....	226
7.6.6.6. Isolamento de OC-4RA(5).....	228
7.6.6.7. Tratamento cromatográfico de OCA-4ResC(AC)-H:AE.....	228
7.7. Estudo dos óleos essenciais de <i>Copaifera langsdorffii</i>	228
7.8. Obtenção dos extratos das sementes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	230
7.8.1. Hidrólise alcalina e obtenção dos ésteres metílicos de SC-C.....	231
7.8.2. Isolamento de SVC-H(1).....	231
CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES	233
ANEXO	236

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

A&P	Aminoácidos e peptídeos
ALC	Alcalóides
<i>m</i>ACPB	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
ATCC	American type culture collection
AV	Arraste com vapor
BB	Broad band
BZP	Benzopiranoíde
C.	<i>Copaifera</i>
CAR	Carboidratos
CC	Cromatografia centrífugacional
CCD	Cromatografia de camada delgada
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CGL-EM	Cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CC	Cromatografia líquida em coluna
COSY	Correlation spectroscopy
CR	Cromatografia centrífugacional
DB	Dimetilpolisiloxano
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
diazald	<i>N</i> -metil- <i>N</i> -nitroso- <i>p</i> -toluenosulfonamida
EM	Espectro de massa
EST	Esteróide
FLA	Flavonoíde
FT	Fourier transform
GS	Experimento de RMN usando gradiente
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS (Continuação)

HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOX	Heterociclos oxigenados
HD	Hidrodestilação
HP	Hewlett-Packard
HPLC	High performance liquid chromatography
IV	Infravermelho
ISI	Institute for scientific information
LD₅₀	Median letal dosis
LIG	Lignana
MIS	Miscelânea
NCL	Não classificado
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
ns	Número de transientes
OCA-AC	Fração ácida do OCCRATO
OCA-NA	Fração neutra do OCCRATO
OCA-ResC	Fração não-volátil do OCCRATO extraído com clorofórmio
OCA-3ResC	Resíduo da hidrodestilação do OCCRATO-3 extraído com clorofórmio
OCA-4ResC	Resíduo da hidrodestilação do OCCRATO-4 extraído com clorofórmio
OCA-4ResC(AC)	Fração ácida do OCA-4ResC
OCCRATO	Óleo de copaíba do Crato
OCCRATO-A	Fração acetato de etila da coluna filtrante do OCCRATO
OCCRATO-C	Fração clorofórmica da coluna filtrante do OCCRATO
OCCRATO-H	Fração hexânica da coluna filtrante do OCCRATO
OCCRATO-M	Fração metanólica da coluna filtrante do OCCRATO
OECC	Óleo essencial da casca do caule de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OECF	Óleo essencial da casca do fruto de <i>Copaifera langsdorffii</i>

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS (Continuação)

OECR	Óleo essencial da casca da raiz de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OEFO	Óleo essencial das folhas de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OEFR	Óleo essencial dos frutos de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OELC	Óleo essencial do lenho do caule de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OELR	Óleo essencial do lenho da raiz de <i>Copaifera langsdorffii</i>
OEOCCRATO	Óleo essencial do óleo de copaíba do Crato OCCRATO
p.f.	Ponto de fusão
PNA	Produtos naturais alifáticos simples
PNP	Produtos naturais aromáticos policíclicos
PNS	Produtos naturais aromáticos simples
POL	Policetídeo
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de prótio
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono - 13
SC-C	Extrato clorofórmico das sementes maduras de <i>Copaifera langsdorffii</i>
SC-C(AG-C)	Ácidos graxos de SC-C
SC-C(EM)	SC-C(AG-C) metilado
SC-C(I)	Fração dos insaponificáveis de SC-C
SVC-H	Extrato hexânico das sementes verdes de <i>Copaifera langsdorffii</i>
TAN	Taninos
TER	Terpenóides

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 3.1 Biossíntese de diterpenos <i>ent</i> -labdanos.....	32
Esquema 3.2 Biossíntese de diterpenos <i>ent</i> -cauranos.....	33

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1 Fotos de partes das plantas da subfamília <i>Caesalpinioideae</i>	7
Figura 2.2 Fotos de partes das plantas da subfamília <i>Mimosoideae</i>	8
Figura 2.3 Fotos de partes das plantas da subfamília <i>Papilionoideae</i>	9
Figura 2.4 Foto mostrando raízes de <i>Trifolium subterraneum</i> noduladas pela bactéria <i>Rhizobium trifoli</i>	9
Figura 2.5 Árvore de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	15
Figura 2.6 Cópia de um ramo de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	15
Figura 2.7 Fotos de um espécime de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf encontrado na localidade de Barreiro Grande-Crato-Ceará.....	16
Figura 2.8 Foto mostrando os frutos dispostos na copa de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf	17
Figura 2.9 Cópia de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf	17
Figura 2.10 Fotos mostrando o tronco de um espécime de <i>Copaifera langsdorffii</i> encontrado no Crato.....	19
Figura 5.1 Espectro de RMN ¹ H do óleo de copaíba de <i>Copaifera langsdorffii</i> [δ; CDCl ₃ ; 500,13 MHz].....	65
Figura 5.2 Espectro de RMN ¹³ C-BB do óleo de copaíba de <i>Copaifera langsdorffii</i> [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	66
Figura 5.3 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135 do óleo de copaíba de <i>Copaifera langsdorffii</i> [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	66
Figura 5.4 Espectro de RMN ¹ H do β-cariofileno [δ; CDCl ₃ ; 500,13 MHz].....	68
Figura 5.5 Espectro de RMN ¹³ C-BB do β-cariofileno [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	68
Figura 5.6 Espectro de RMN ¹ H do óleo de copaíba M-1 [δ, CDCl ₃ , 200 MHz].....	69
Figura 5.7 Espectro de RMN ¹³ C-BB do óleo de copaíba M-1 [δ; CDCl ₃ ; 50,3 MHz]	69
Figura 5.8 Espectro de RMN ¹ H do óleo de copaíba M-5 [δ, CDCl ₃ , 200 MHz].....	70
Figura 5.9 Espectro de RMN ¹³ C-BB do óleo de copaíba M-5 [δ, CDCl ₃ , 50,3 MHz]..	70
Figura 5.10 Espectro de RMN ¹ H do óleo de copaíba M-11 [δ; CDCl ₃ ; 500,13 MHz]...	72
Figura 5.11 Espectro de RMN ¹³ C-BB do óleo de copaíba M-11 [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz]...	72
Figura 5.12 Espectro de RMN ¹ H do óleo de copaíba M-16 [δ, CDCl ₃ , 200 MHz].....	73

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 5.13	Espectro de RMN ^1H do óleo de copaíba M-18 [δ , CDCl_3 , 200 MHz].....	73
Figura 6.1	Cromatograma do óleo essencial do OCCRATO	77
Figura 6.2	Cromatograma do óleo essencial do OCCRATO -3.....	77
Figura 6.3	Cromatograma do óleo essencial do OCCRATO -4.....	78
Figura 6.4	Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>C. langsdorffii</i>	80
Figura 6.5	Cromatograma do óleo essencial dos frutos de <i>C. langsdorffii</i>	81
Figura 6.6	Cromatograma do óleo essencial das cascas dos frutos de <i>C. langsdorffii</i>	81
Figura 6.7	Cromatograma do óleo essencial do lenho da raiz de <i>C. langsdorffii</i>	82
Figura 6.8	Cromatograma do óleo essencial da casca da raiz de <i>C. langsdorffii</i>	82
Figura 6.9	Cromatograma do óleo essencial da casca do lenho de <i>C. langsdorffii</i>	83
Figura 6.10	Cromatograma do óleo essencial da casca do caule de <i>C. langsdorffii</i>	83
Figura 6.11	Espectro de massa do β -elemeno.....	86
Figura 6.12	Espectro de massa do α - <i>cis</i> -bergamoteno.....	86
Figura 6.13	Espectro de massa do β -cariofileno.....	86
Figura 6.14	Espectro de massa do γ -elemeno.....	86
Figura 6.15	Espectro de massa do α - <i>trans</i> -bergamoteno.....	86
Figura 6.16	Espectro de massa do α -guaieno	87
Figura 6.17	Espectro de massa do β -farneseno.....	87
Figura 6.18	Espectro de massa do α -humuleno.....	87
Figura 6.19	Espectro de massa do γ -muuroleno.....	87
Figura 6.20	Espectro de massa do α -curcumeno.....	87
Figura 6.21	Espectro de massa do germacreno D	88
Figura 6.22	Espectro de massa do β -selineno	88
Figura 6.23	Espectro de massa do α -selineno.....	88
Figura 6.24	Espectro de massa do γ -cadineno.....	88
Figura 6.25	Espectro de massa do δ -cadineno.....	88
Figura 6.26	Espectro de massa do cubebeno.....	89
Figura 6.27	Espectro de massa do selina-3,7(11)dieno	89
Figura 6.28	Espectro de massa do germacreno B	89
Figura 6.29	Espectro de massa do óxido de cariofileno.....	89
Figura 6.30	Espectro de massa do caur-16-eno.....	89

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 6.31	Espectro de massa do <i>p</i> -cimeno	90
Figura 6.32	Espectro de massa da cânfora	90
Figura 6.33	Espectro de massa do δ -elemeno	90
Figura 6.34	Espectro de massa do α -cubebeno.....	90
Figura 6.35	Espectro de massa do α -copaeno	90
Figura 6.36	Espectro de massa do β -gurjuneno	91
Figura 6.37	Espectro de massa do α -muuroleno	91
Figura 6.38	Espectro de massa do β -guaieno	91
Figura 6.39	Espectro de massa do <i>cis</i> -calameneno	91
Figura 6.40	Espectro de massa do 7- <i>epi</i> - α -selineno	91
Figura 6.41	Espectro de massa do α -cadineno	92
Figura 6.42	Espectro de massa do elemol.....	92
Figura 6.43	Espectro de massa do cariofilenol	92
Figura 6.44	Espectro de massa do guaiol	92
Figura 6.45	Espectro de massa do 4- α -copaenol	92
Figura 6.46	Espectro de massa do carotol.....	93
Figura 6.47	Espectro de massa do β -eudesmol	93
Figura 6.48	Espectro de massa do α -cadinol	93
Figura 6.49	Espectro de massa do <i>epi</i> - α -cadinol	93
Figura 6.50	Espectro de massa do <i>epi</i> - α -muurolol	93
Figura 6.51	Espectro de massa do cubenol	94
Figura 6.52	Espectro de massa do 4 α -eudesm-11-em-4-ol	94
Figura 6.53	Espectro de massa do β -bisabolol	94
Figura 6.54	Espectro de massa do caurenal	94
Figura 6.55	Espectro de RMN ^1H dos ácidos graxos das sementes de <i>C. langsdorffii</i> [δ , 200 MHz, CDCl_3].....	96
Figura 6.56	Cromatograma dos ésteres metílicos obtidos do extrato clorofórmico das sementes de <i>C. langsdorffii</i>	96
Figura 6.57	Espectro de massa do éster metílico do ácido caprílico.....	97
Figura 6.58	Espectro de massa do éster metílico do ácido cáprico.....	97
Figura 6.59	Espectro de massa do éster metílico do ácido palmítico.....	98

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 6.60	Espectro de massa do éster metílico do ácido linoleico.....	98
Figura 6.61	Espectro de massa do éster metílico do ácido oleico.....	98
Figura 6.62	Espectro de massa do éster metílico do ácido esteárico.....	98
Figura 6.63	Espectro de massa do éster metílico do ácido gôndico.....	98
Figura 6.64	Espectro de massa do éster metílico do ácido araquídico.....	99
Figura 6.65	Espectro de massa do éster metílico do ácido beênico.....	99
Figura 6.66	Espectro de massa do éster metílico do ácido lignocérico.....	99
Figura 6.67	Espectro de massa do éster metílico do ácido cerótico.....	99
Figura 6.68	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCH-1 [δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz].....	101
Figura 6.69	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCH-1 [δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz].....	102
Figura 6.70	Espectro de RMN ^1H de OCH-1 [δ , CDCl_3 , 200 MHz].....	103
Figura 6.71	Espectro de RMN ^1H de OCCRATO-C(35-41) [δ , CDCl_3 , 200 MHz].....	106
Figura 6.72	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCCRATO-C(35-41) [δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz]...	107
Figura 6.73	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCCRATO-C(35-41) [δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz].....	107
Figura 6.74	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCC-AC(1) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz] [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	108
Figura 6.75	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCC-AC(1) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]	108
Figura 6.76	Espectro de RMN ^1H de OCC-AC(1) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	110
Figura 6.77	a) Diagrama de contorno do espectro GS-HMQC de OCC-AC(1), b) Expansão da região entre 3,60 e 4,00 ppm [δ ; CDCl_3 ; 500,13 X 125,77 MHz].....	111
Figura 6.78	a) Diagrama de Contorno do Espectro GS-HMBC de OCC-AC(1), b) Representação dos acoplamentos A, B e C do GS-HMBC; c) Expansão da região 10 a 60 ppm do espectro a. d) Representação dos acoplamentos D a G observados no GS-HMBC [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz X 125,77 MHz].....	113
Figura 6.79	a) Expansão da região 110 a 180 ppm do espectro 7.78 a; b) Representação dos acoplamentos H a N observados no GS-HMBC.....	114
Figura 6.80	Espectro de RMN ^1H de OCC-AC(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	117
Figura 6.81	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCC-AC(2) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	118
Figura 6.82	Espectro na região do IV [cm^{-1} , KBr] de OCR- Me(3).....	121
Figura 6.83	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCR-Me(3) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	121
Figura 6.84	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(90) de OCR-Me(3) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]..	122
Figura 6.85	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCR-Me(3) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]	122

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 6.86	Espectro de RMN ^1H de OCR-Me(3) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	124
Figura 6.87	Diagrama de contorno do espectro HMQC de OCR-Me(3) [δ ; CDCl_3 ; 300,13 X 75,47 MHz) b) Expansão da região 0,5-2,9 x 10-60 do espectro a	125
Figura 6.88	a) Diagrama de contorno do espectro HMBC de OCR-Me(3) (δ ; CDCl_3 ; 300,13 X 75,47 MHz); b) Estrutura mostrando os acoplamentos A,B e C; c) Expansão da região 3,3-5,0 x 25-50 do espectro a.....	127
Figura 6.89	Espectro de RMN ^1H de OCR-Me(4) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	130
Figura 6.90	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OCR-Me(4) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	131
Figura 6.91	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCR-Me(4) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]	132
Figura 6.92	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-N(1) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	136
Figura 6.93	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC3-N(1) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]...	137
Figura 6.94	Espectro de RMN ^1H de OC3-N(1) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	138
Figura 6.95	Espectro de massa de OC3-N(1).....	138
Figura 6.96	Espectro de massa de OC3-N(2).....	140
Figura 6.97	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-N(2) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].....	141
Figura 6.98	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC3-N(2) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]...	141
Figura 6.99	Espectro de RMN ^1H de OC3-N(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 MHz].....	143
Figura 6.100	Diagrama de Contorno do espectro HMQC de OC3-N(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz].....	144
Figura 6.101	Expansão da região 0,5 – 3,0 ppm X 10 – 60 ppm do espectro HMQC mostrado na figura 100.....	145
Figura 6.102	Diagrama de Contorno do espectro HMBC de OC3-N(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz].....	147
Figura 6.103	a) Expansão do espectro HMBC de OC3-N(2) (figura 6.101); b) Estrutura mostrando o acoplamento $^2J_{\text{C,H}}$ do carbono em δ 72,3 e o hidrogênio em δ 1,15.....	148
Figura 6.104	a) Diagrama de contorno do espectro NOESY [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 500,13 MHz]; b) Expansão do espectro a); c) Estrutura mostrando o acoplamento dipolar entre: A – prótios metílicos em δ 1,14 e o prótio metilênico em δ 1,42; B – prótio metilênico em δ 1,68 e os prótios metílicos em δ 1,15.....	149
Figura 6.105	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-RAC(1) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	152
Figura 6.106	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(90) de OC3-RAC(1) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	153
Figura 6.107	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC3-RAC(1) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	153

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 6.108	Espectro de RMN ^1H de OC3-RAC(1) [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	155
Figura 6.109	Espectro na região do IV [cm^{-1} , KBr] de OC3-RAC(2).....	157
Figura 6.110	Espectro de massa de OC3-RAC(2).....	157
Figura 6.111	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	158
Figura 6.112	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC3-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	159
Figura 6.113	Espectro de RMN ^1H de OC3-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	160
Figura 6.114	Diagrama de Contorno do Espectro HETCOR de OC3-RAC(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz].....	161
Figura 6.115	a) Diagrama de Contorno do espectro COLOC de OC3-RAC(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz]; b) estrutura mostrando os acoplamento $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ encontrados no espectro a); c) Expansão do espectro a).....	163
Figura 6.116	Espectro de RMN ^{13}C – BB de OC3-RAC(2)Me [δ , CDCl_3 ; 75,47 MHz,].....	165
Figura 6.117	Espectro de RMN ^1H de OC3-RAC(2)Me [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	166
Figura 6.118	Espectro na região do IV [cm^{-1} , KBr] de OC4-RAC(2).....	168
Figura 6.119	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC4-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	169
Figura 6.120	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC4-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	170
Figura 6.121	Espectro de RMN ^1H de OC4-RAC(2) [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	171
Figura 6.122	Diagrama de Contorno do espectro HETCOR de OC4-RAC(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz].....	172
Figura 6.123	a) Diagrama de Contorno do espectro HMBC de OC4-RAC(2) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz]; b) e c) Estruturas mostrando os acoplamentos $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ e $^2\text{J}_{\text{C,H}}$ encontrados no espectro a. d) Expansão do espectro a.....	174
Figura 6.124	Espectro de RMN ^1H de OC4-RAC(2)Me [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	175
Figura 6.125	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC4-RAC(2)Me [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	176
Figura 6.126	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC4-RAC(5) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	179
Figura 7.127	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC4-RAC(5) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	180
Figura 6.128	Espectro de RMN ^1H de OC4-RAC(5) [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	182
Figura 6.129	Diagrama de Contorno do espectro GS-HMQC de OC4-RAC(5) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	183
Figura 6.130	a) Diagrama de Contorno do espectro GS-HMBC de OC4-RAC(5)[δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 125,77 MHz]; b, c) Estruturas mostrando os acoplamento $^2\text{J}_{\text{C,H}}$ e $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ encontrados no espectro a); d) Expansão do espectro a.....	185

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 6.131	Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC-4RAC(6) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	188
Figura 6.132	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OC-4RAC(6) [δ , CDCl_3 ; 125,77 MHz,].....	189
Figura 6.133	Espectro de RMN ^1H de OC-4RAC(6) [δ , CDCl_3 ; 500,13 MHz,].....	190
Figura 6.134	a) Diagrama de Contorno do Espectro Bidimensional COSY de OC-4RAC(6) [δ ; CDCl_3 ; 500,3 X 500,13 MHz]; b) Estrutura mostrando os acoplamentos observados no espectro a.....	192
Figura 6.135	Espectro na região do IV [cm^{-1} , KBr] de SVC-H(1).....	195
Figura 6.136	Espectro de RMN ^{13}C -BB de SVC-H(1) [δ , CDCl_3 ; 75,47 MHz,].....	196
Figura 6.137	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de SVC-H(1) [δ , CDCl_3 ; 75,47 MHz,].....	196
Figura 6.138	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(90) de SVC-H(1) [δ , CDCl_3 ; 75,47 MHz,].....	197
Figura 6.139	Espectro de RMN ^1H de SVC-H(1) [δ , CDCl_3 ; 300,13 MHz,].....	198

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 7.1	Extração dos óleos essenciais do bálsamo de <i>Copaifera langsdorffii</i>	209
Fluxograma 7.2	Obtenção das frações ácidas e não-ácidas dos óleos de copaíba e das frações não-voláteis destes óleos.....	211
Fluxograma 7.3	Tratamento cromatográfico do OCCRATO-H.....	213
Fluxograma 7.4	Acetilação do OCCRATO-C(35-41)	215
Fluxograma 7.5	Tratamento cromatográfico do OCA-ResC-C/Met.....	218
Fluxograma 7.6	Tratamento cromatográfico do OCA-3NA.....	221
Fluxograma 7.7	Estudo cromatográfico do OCA-3ResC(AC).....	223
Fluxograma 7.8	Estudo cromatográfico do OCA-4ResC(AC).....	225
Fluxograma 7.9	Obtenção do OC-4RAC(6).....	227
Fluxograma 7.10	Extração dos óleos essenciais da casca do caule, casca dos fruto, casca da raiz, folha, fruto completo, lenho do caule e lenho da raiz de <i>Copaifera langsdorffii</i>	230
Fluxograma 7.11	Obtenção do extratos clorofórmico e hidrólise alcalina de SC-C	232

LISTA DE QUADROS

		Página
Quadro 3.1	Estruturas dos sesquiterpenos identificados em <i>Copaifera</i>	40
Quadro 3.2	Estruturas dos diterpenos identificados em <i>Copaifera</i>	42

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 2.1	Espécies de <i>Copaifera</i> encontradas na literatura.....	11
Tabela 2.2	Classes de compostos encontrados em cada subfamília de <i>Leguminosae</i>	21
Tabela 2.3	Exemplos de estruturas representativas das classes de compostos encontrados em <i>Leguminosae</i>	22
Tabela 2.4	Espécies do gênero <i>Copaifera</i> encontradas na literatura com algum estudo químico.....	25
Tabela 3.1	Terpenos identificados em espécies de <i>Copaifera</i>	37
Tabela 3.2	Espécies de <i>Copaifera</i> com seus respectivos terpenos.....	44
Tabela 6.1	Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais de OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4.....	79
Tabela 6.2	Componentes químicos identificados nos óleos essenciais de partes de um exemplar de <i>Copaifera langsdorffii</i>	84
Tabela 6.3	Teor (%) de ácidos graxos presentes no óleo fixo do extrato clorofórmico das sementes maduras de <i>Copaifera langsdorffii</i>	97
Tabela 6.4	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OCH-1 com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	102
Tabela 6.5	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de caur-16-en-19-al [Dourado, 1998] e OCH-1.....	105
Tabela 6.6	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OCC-AC(1) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	109
Tabela 6.7	Dados obtidos do diagrama de contorno do espectro GS-HMQC de OCC-AC(1) [δ; 500,13 X 125,77 MHz (F2 X F1); CDCl ₃].....	112
Tabela 6.8	Comparação entre os espectros de RMN ¹³ C-BB de OCC-AC(1) (δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz), 130 e 131.....	116
Tabela 6.9	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C-BB de OCC-AC(1) e OCC-AC(2) (132).....	119
Tabela 6.10	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OCR-Me(3) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	123
Tabela 6.11	Dados obtidos do diagrama de contorno do espectro HMQC de OCR-Me(3) [δ, 500,13 X 125,77 MHz (F2 X F1); CDCl ₃].....	126

LISTA DE TABELAS (Continuação)

Tabela 6.12	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de <i>ent</i> -caur-16-en-19-ol [Wehrli, 1979] e OCR-Me(3).....	129
Tabela 6.13	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OCR-Me(4) com padrão de hidrogenação [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	132
Tabela 6.14	Comparação entre dados dos espectros de RMN ¹³ C-BB de OCR-Me(4) e (133).....	134
Tabela 6.15	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC3-N(1) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	137
Tabela 6.16	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de OC3-N(1) e óxido de cariofileno (41).....	139
Tabela 6.17	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC3-N(2) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	142
Tabela 6.18	Dados obtidos do espectro HMQC de OC3-N(2) (δ; CDCl ₃ ; δ; 500,13 X 125,77 MHz).....	146
Tabela 6.19	Dados de RMN ¹³ C de OC3-N(2) [RMN ¹³ C; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz]....	150
Tabela 6.20	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz) de OC3-RAC(1) de acordo com seus padrões de hidrogenação.....	154
Tabela 6.21	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de caur-16-eno [Hanson, 1979] e OC3-RAC(1) (δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	156
Tabela 6.22	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC3-RAC(2) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³ C-BB e DEPT; δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	159
Tabela 6.23	Dados do espectro HETCOR de OC3-RAC(2) [δ; 500,13 x 125,77 MHz (F2 X F1); CDCl ₃].....	162
Tabela 6.24	Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de caur-16-eno (8), ác. caur-16-en-18-óico (134) [Monte, 1988], ác. caur-16-en-19-óico (11) [Ohno, 1979] e OC3-RAC(2).....	164
Tabela 6.25	Comparação dos dados de ¹³ C do OC3-RAC(2), OC3-RAC(2)Me (δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz) e caurenato de metila (78) encontrado na literatura [Yamasaki <i>et al</i> , 1976].....	167
Tabela 6.26	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC4-RAC(2) com Padrão de Hidrogenação (δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz).....	170
Tabela 6.27	Dados de RMN bidimensional de correlação heteronuclear C,H – HETCOR e OC4-RAC(2) [δ; CDCl ₃ ; 500,13 X 125,77 MHz].....	172
Tabela 6.28	Dados de RMN ¹³ C-BB de ac. poliáltico [Carreras, 1998] e OC4-RAC(2) [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	177
Tabela 6.29	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC4-RAC(5) com padrão de hidrogenação [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	180
Tabela 6.30	Dados do Espectro GS-HMQC de OC4-RAC(5) [δ; 500MHz X 125 MHz; CDCl ₃].....	184
Tabela 6.31	Comparação dos dados de RMN ¹³ C-BB de OC4-RAC(5) com os dados dos diterpenos (136), (82), (137) e (138) encontrados na literatura.....	187
Tabela 6.32	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C de OC-4RAC(6) com padrão de hidrogenação [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz].....	189
Tabela 6.33	Comparação entre os espectros de RMN ¹³ C-BB de nivenolídeo (140), pinusolídeo (141) e OC-4RAC(6)	194

LISTA DE TABELAS (Continuação)

Tabela 6.34	Dados obtidos dos espectros de RMN ¹³ C de SVC-H(1) [δ; CDCl ₃ ; 75,47 MHz].....	197
Tabela 6.35	Comparação entre os dados de ¹³ C de SVC(1) [δ; CDCl ₃ ; 125,77 MHz] com os dados encontrados na literatura para a cumarina [Murray, 1982].....	199
Tabela 7.1	Óleos de copaíba coletados no Crato.....	208
Tabela 7.2	Rendimento dos óleos essenciais do bálsamo de copaíba.....	208
Tabela 7.3	Obtenção das frações ácidas e não ácidas dos óleos de copaíba e das frações não-voláteis destes óleos.....	210
Tabela 7.4	Tratamento cromatográfico de OCCRATO.....	212
Tabela 7.5	Frações resultantes do tratamento cromatográfico do OCA-ResC-C/Met.....	217
Tabela 7.6	Rendimento obtido do tratamento cromatográfico de OCA-4ResC (AC).....	223
Tabela 7.7	Óleos essenciais de <i>Copaifera langsdorffii</i>	229

RESUMO

Copaíba é a designação genérica de várias espécies do gênero *Copaifera* fornecedoras do chamado bálsamo de copaíba através da exsudação do tronco. Este bálsamo é utilizado desde a época da colonização como antiinflamatório e cicatrizante de feridas, sendo comercializado em ervanários populares, assim como nas farmácias e drogarias oficialmente regulamentadas.

Este trabalho relata o estudo químico do óleo de copaíba e de várias partes de um espécime de *Copaifera langsdorffii* Desf. (*Leguminosae*) coletada na localidade de Barreiro Grande – Crato – Ceará.

Análise por CG-EM dos óleos essenciais, obtidos por arraste com vapor, das folhas (0,04%) e por hidrodestilação do bálsamo (7,3%), casca das raízes (0,01%), casca do fruto (0,7%), casca do caule (0,003%), lenho do caule (0,008%), lenho da raiz (0,07%) e frutos completos (0,3%) de *Copaifera langsdorffii* permitiu a identificação de 44 diferentes constituintes, sendo 42 sesquiterpenos e dois diterpenos.

Análise cromatográfica do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* possibilitou o isolamento de 14 terpenos, dos quais 13 são diterpenos e um sesquiterpeno. Dos diterpenos isolados, dois são ácidos: ác. *ent-caur-16-en-19-óico* e ác. poliáltico; um aldeído: *ent-caur-16-en-19-al*; um hidrocarboneto: *ent-caur-16-eno*; dois ésteres diterpênicos: 18-hidróxi-*ent-labda-8(17),13(E)-dieno-15-oato* de metila (*ent-copaiferolato* de metila) e éster metílico do ácido *ent-4-epi-agático*; dois álcoois: 19-*nor-caur-16-en-4 α -ol* (ruilopeziol) e *ent-caur-16-en-19-ol*; cinco obtidos como derivados: éster metílico do nivenolídeo, *ent-labda-8(17),13(E)-dien-15,18-oato* de dimetila, *ent-caur-16-en-19-oato* de metila, polialtato de metila e 18-acetóxi-*ent-labda-8(17),13(E)-dieno-15-oato* de metila. O sesquiterpeno isolado foi identificado como óxido de cariofileno.

O estudo do óleo fixo das sementes verdes de *Copaifera langsdorffii* permitiu o isolamento da cumarina e a identificação dos ácidos graxos a partir de seus respectivos ésteres metílicos: ác. caprílico (1,9 %), ác. cáprico (1,8 %), ác. palmítico (20,2 %), ác. linoleico (2,6 %), ác. oleico (33,1 %), ác. esteárico (7,0 %), ác. gôndico (1,7 %), ác. araquídico (2,7 %), ác. beênico (3,6 %), ác. lignocérico (5,7 %) e ác. cerótico (1,5 %).

Ensaio de atividade farmacológica mostraram que o óleo essencial da casca do fruto apresentou atividades antiinflamatória e antinociceptiva, enquanto que o óleo de copaíba, apresentou atividades antiinflamatória, antinociceptiva, antiulcerogênica e cicatrizante.

Neste trabalho relatamos também o uso da RMN no controle de qualidade de diversas marcas de óleo de copaíba comercializados em Fortaleza-CE e Belém-PA.

O isolamento dos constituintes químicos do óleo de copaíba e dos extratos foi realizado por métodos cromatográficos modernos e a identificação dos constituintes voláteis e ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada por CG/EM. A determinação estrutural das substâncias isoladas foi efetuada a partir de métodos espectrométricos como: IV, EM, RMN ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais como COSY, HMQC, HMBC e NOESY, com ou sem gradiente de campo.

ABSTRACT

“Copaiba” is a generic designation for several plants of the *Copaifera* genus which yield an oil resin by exsudation from their heartwood. This oil resin has anti-inflammatory and cicatrizant properties being commercialized in popular herbal stores as well in official drugstores.

This work reports the phytochemical study of *C. langsdorffii* in habiting the Crato County region Northeast of Brazil.

CG/MS analysis of the volatile components obtained by hidrodestillation of the balsam itself (7,3%) or from fresh leaves (0,04%), fruit shells (0,7%), trunk bark (0,003%), trunk wood (0,008%), root bark (0,01%) and root wood (0,07%) or yet from the entire fruits (0,3%) allowed the identification of 44 constituents, 42 sesquiterpenes and 2 diterpenes.

Adsorption Chromatographic of the oil resin of *C. langsdorffii* allowed the isolation of one sesquiterpene (caryophyllene oxide) and 8 diterpenoids: *ent*-kaur-16-en-19-oic acid, polyalthic acid, *ent*-copaiferolic methyl ester, *ent*-kaur-16-en-19-al, *ent*-kaur-16-ene, *ent*-4-*epi*-agathic acid methyl ester, ruilopezol and *ent*-kaur-16-en-19-ol.

5 other diterpenoids were isolates as derivatives after chemical manipulation of the crude oil resin: *ent*-kaur-16-en-19-oic acid methyl ester, polyalthic acid methyl ester, nivenolide methyl ester and *ent*-4-*epi*-agathic acid dimethyl ester.

GC/MS analysis of the chloroformic extract from unripe seeds of *C. langsdorffii* allowed the identification of 81,8% of the fatty acid composition after hydrolysis followed by methylation of: caprylic acid (1,9%), capric acid (1,8%), palmitic acid (20,2%), linoleic acid (2,6%), oleic acid (33,11%), stearic acid (7,0%), gonic acid (1,8%), archidic acid (2,7%), behenic acid (3,6%), lignoceric acid (5,7%) and cerotic acid (1,5%).

Pharmacological studies performed in the Department of Pharmacology/UFC revealed the antiinflammatory, antinociceptive, wound healing and antiulcer action of the oil resin whereas the antiinflammatory and antinociceptive action was detected for volatile oil from fruit shells.

NMR has been used as a tool to perform a profile of “copaiba” oils purchased from of Fortaleza-CE and Belem-PA official drugstores, in order to detect the authenticity and origin of commercialized “Copaiba” oils.

The isolation of all secondary metabolites was accomplished by modern chromatographic methods. Structure determination was accomplished by spectrometric methods (IR, MS, RMN ^1H and ^{13}C) including 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC and NOESY).

Volatile constituents and methyl esters identification was done by GC/MS analysis.

Capítulo

1

Introdução



Detalhes dos frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. Fotografia: Prof. Edilberto R. Silveira (Agosto de 2001).

1.0. Introdução

Existem milhões de tipos diferentes de seres vivos que compartilham a nossa biosfera. Uma determinada espécie de vida não existe por si só, mas constitui uma unidade de uma complexa interação dos organismos vivos entre si e com o meio ambiente. Assim, o homem procura um meio de interação com as plantas, buscando aproveitar ao máximo todos os efeitos benéficos oferecidos por elas, desde o uso como ornamentação até como medicamento alternativo.

A utilização de plantas medicinais como método alternativo na prevenção e cura de doenças, vem aumentando gradativamente. Isto se observa na mídia a partir de propagandas comerciais e programas governamentais, empregando o termo “Produto Natural”, no sentido de produtos que não causam prejuízos à saúde. Mas de acordo com a literatura, “Produto Natural” é reservado a compostos orgânicos de origem natural provenientes do metabolismo secundário de organismos específicos ou grupos de organismos e representam o perfil de sua individualidade. São produzidos por diversas razões, dentre estas, como materiais tóxicos para a defesa contra predadores, atraentes voláteis, agentes corantes e outros, contribuindo de maneira fundamental no processo vital destes organismos [Dewick, 1997; Mann, 1987; Vieira e Bolzani, 2.000].

Desta forma, iniciamos o estudo químico-farmacológico da copaíba identificada botanicamente como *Copaifera langsdorffii* Desf. com o objetivo de isolar e identificar os metabólitos secundários produzidos pela planta, assim como obter derivados reacionais dos compostos isolados, concomitantemente com o estudo farmacológico do material obtido.

O ânimo de se estudar a copaíba, surgiu do alto grau de importância do óleo de copaíba na medicina popular, principalmente como antiinflamatório [Veiga Jr, Patitucci e Pinto, 1997], cicatrizante [Corrêa, 1984] e antimicrobiano [Gramosa, 1994; Sá de Lima *et al*, 1995], além do leque de ações medicamentosas oferecidas por este óleo, indicadas em bulas encontradas nos óleos comercializados (ver capítulo 5, página 62).

Os óleos de copaíba, bem como as partes de *Copaifera langsdorffii*, foram coletados na Localidade de Barreiro Grande - Crato-CE e seus estudos químicos foram desenvolvidos concomitantemente com o estudo farmacológico em cooperação com o Departamento de Farmacologia e Fisiologia da UFC.

No estudo químico de *C. langsdorffii* foram utilizadas técnicas cromatográficas modernas como: cromatografia líquida em coluna, cromatografia centrifugacional e

cromatografia líquida de alta eficiência, bem como as técnicas espectrométricas: infravermelho, espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear inclusive técnicas bidimensionais.

Este trabalho relaciona dados de levantamento bibliográfico, métodos, discussões e conclusões sobre o estudo químico e farmacológico da espécie *Copaifera langsdorffii* Desf., dividido em 8 capítulos e 1 anexo:

- Capítulo 1 Introdução
- Capítulo 2 Abordagem taxonômica da família Leguminosae: apresenta as considerações botânicas e fitoquímicas da família Leguminosae, do gênero *Copaifera* e a descrição botânica de *C. langsdorffii* Desf.
- Capítulo 3 Terpenos de *Copaifera*: descreve o levantamento bibliográfico dos terpenos encontrados em espécies de *Copaifera* e os terpenos isolados e identificados em *C. langsdorffii* Desf.
- Capítulo 4 Bioatividades de *Copaifera*: apresenta as atividades biológicas encontradas na literatura relacionadas com o óleo, bem como de extratos obtidos de espécies do gênero *Copaifera*, e ainda relaciona as atividades apresentadas nos ensaios farmacológicos de *C. langsdorffii* em estudo.
- Capítulo 5 Controle de qualidade de óleos de copaíba comerciais por RMN: descreve a comparação entre os óleos de copaíba comercializados em Fortaleza-CE e Belém-PA, o óleo de copaíba de *C. langsdorffii* em estudo e dados da literatura.
- Capítulo 6 Determinação estrutural: apresenta a identificação dos constituintes químicos de *C. langsdorffii* Desf.

- Capítulo 7 Parte experimental: descreve os dados de coleta, especificações dos aparelhos, métodos utilizados na obtenção dos óleos essenciais, procedimentos usados no isolamento e preparação de derivados utilizados neste trabalho.
- Capítulo 8 Conclusões
- Anexo *Curriculum vitae*

As referências bibliográficas foram citadas no final de cada capítulo, baseadas nas normas da ABNT: NBR 10520 de 1992 e NBR 6023 de 2000.

Referências Bibliográficas

- CORRÊA, M. P. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. 1984. v.II, p.370-375.
- DEWICK, P.M. *Medicinal natural products. A biosynthetic approach*. England: John Wiley e Sons. 1997.
- GRAMOSA, N.V. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste: *Capparis flexuosa* e Estudo químico da autoxidação do β -cariofileno em óleos essenciais. 1994. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 1994.
- MANN, J. *Secondary metabolism*. New York: Oxford. 1987. 374p.
- SÁ DE LIMA, L. *et al.* Óleo de Copaíba: Atividade Antimicrobiana *in vitro*. *Anfarmag*, p 21-22, nov-dez, 1995.
- VEIGA JR, V.F.; PATITUCCI, M.L; PINTO, A.C. Controle de Autenticidade de Óleos de Copaíba Comerciais por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução. *Quím. Nova*, v. 20, n.6, p 612-615, 1997.
- VIEIRA, P. C.; BOLZANI, V. S. *Química de Produtos Naturais*, São Paulo. Disponível em: < <http://www.sbq.org.br/PN-NET/quimica.htm> >. Acesso em: 14 dez. 2.000.

Capítulo

2

Abordagem Taxonômica da Família Leguminosae

2.1. Taxonomia de <i>Leguminosae</i>	6
2.2. Taxonomia de <i>Copaifera</i>	10
2.3. Descrição botânica de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	14
2.4. Fitoquímica de <i>Leguminosae</i>	19
2.5. Fitoquímica de <i>Copaifera</i>	24



Foto: Mudas e Sementes de *C. langsdorffii*. Fotógrafo: Prof. M. Andrade Neto (DQOI-UFC).

2. Abordagem Taxonômica da Família Leguminosae

2.1. Taxonomia de *Leguminosae*

S hultz (1943) confere ao táxon *Leguminosae* o valor de uma família dividida em 3 subfamílias: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* e *Faboideae* ou *Papilionoideae*. Cronquist (1988) conferiu à família *Leguminosae* o valor duma ordem (*Fabales*, inserida na subclasse *Rosidae*), dando então às subfamílias o valor das famílias, com as denominações de *Mimosaceae*, *Caesalpiniaceae* e *Fabaceae* (*Papilionaceae*) e relata que a família *Fabaceae* é a mais avançada da ordem *Fabales*, pois pode ser considerada como derivada da *Caesalpiniaceae*. De acordo com Woodland (1991), as duas classificações podem ser utilizadas, já que existem evidências para ambos segmentos de classificação, mas considera a ordem *Fabales* dividida em três famílias: *Mimosaceae*, *Caesalpiniaceae* e *Fabaceae* (*Leguminosae*).

Neste trabalho utilizaremos a descrição do táxon *Leguminosae* como uma família apresentando três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*, já que é a classificação mais difundida.

A família *Leguminosae* (*Fabaceae*) da ordem *Rosales*, é uma das famílias mais extensas das plantas floríferas com cerca de 650 gêneros, reunindo mais de 18.000 espécies espalhadas por todo o mundo [Ildis, 1999a], especialmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, constituindo um dos grupos de plantas mais importantes da humanidade [Joly, 1977]. No Brasil, a família *Leguminosae* é distribuída em todo o território nacional, compreendendo cerca de 152 gêneros e 2.800 espécies para a subfamília *Caesalpinioideae*, 56 gêneros e 2.800 espécies para a subfamília *Mimosoideae* e 482 gêneros e 2.000 espécies para a subfamília *Papilionoideae* (*Faboideae*) [Barroso, 1984].

As plantas desta família apresentam hábito muito variado, havendo sempre ervas, arbustos, trepadeiras e árvores. Vivem nos mais variados ambientes, em diferentes latitudes e altitudes. As folhas são sempre de disposição alterna, compostas, pari ou imparipenadas, com estípulas e estípelas às vezes transformadas em espinhos. Às vezes podem se apresentar modificadas em gavinhas (*Lathyrus*) ou estar reduzidas a dois (*Hymenaea*) ou a um só folíolo (*Spartium* e certas *Dalbergia*). As folhas e folíolos se apresentam sempre com articulações na base, seja do pecíolo, seja dos peciólulos, permitindo-lhes movimentos diurnos. Em certos

casos os movimentos são extremamente rápidos em resposta a variados agentes (certas espécies de *Mimosa*, as conhecidas sensitivas). As flores são variadas, sempre cíclicas, de simetria radial até fortemente zigomorfas, diclamídeas com cálice gamossépalo pentâmero ou tetrâmero; corola dialipétala pentâmera ou tetrâmera, na maioria das vezes com pétalas muito desiguais (*Faboideae*). Androceu formado por 4 ou 10 estames, livres ou soldados entre si, todos férteis ou alguns transformados em estaminódios, abrindo-se por fendas ou por poros apicais. Ovário sempre súpero, unicarpelar e unilocular, às vezes divididos por falsos septos, com muitos óvulos, raramente um só. Fruto variado, em geral legume seco (vagem), deiscente por duas valvas ou do tipo lomento, segmentando-se (*Mimosa* - sensitiva) ou seco e indeiscente (*Arachis* - amendoim) ou de pericarpo mais ou menos carnoso (*Andira* - andira). As sementes às vezes são envoltas em mucilagem ou polpa doce (*Hymenaea* - Jatobá, *Inga* - ingá), ou com arilo (*Copaifera* - copaíba) ou ainda com testa duríssima (*Delonix* - flamboyant, *Adenanthera* entre outros) [Shultz, 1943; Joly, 1977].

A maioria das *Caesalpinioideae* (150 - 180 gêneros e 2.200-3.000 espécies) [Woodland, 1991], são árvores e arbustos tropicais e subtropicais. As flores são zigomórficas com cinco pétalas (pentâmeras) [Ildis, 1999a], solitárias ou reunidas em cachos ou panículas. Geralmente têm corola vistosa com pétalas amarelas, vermelhas ou brancas (Figuras 2.1 a e c). De modo geral, os frutos maduros têm coloração marrom ou são enegrecidos (Figuras 2.1 b e d). [Ribeiro *et al*, 1999]. Várias espécies nesta subfamília são conhecidas como: *Dimorphandra exaltada* (Cereja do mato), *Cassia occidentalis* (Fedegoso), *Caesalpinia echinata* (Pau-Brasil) [Shultz, 1943].

Algumas são empregadas na medicina popular como: *Copaifera sp* (Copaíba, no tratamento de úlceras e feridas), *Hymenaea courbaril* (Jatobá, no tratamento das moléstias do peito), *Tamarindus indica* (Tamarindeiro, tem fracos efeitos

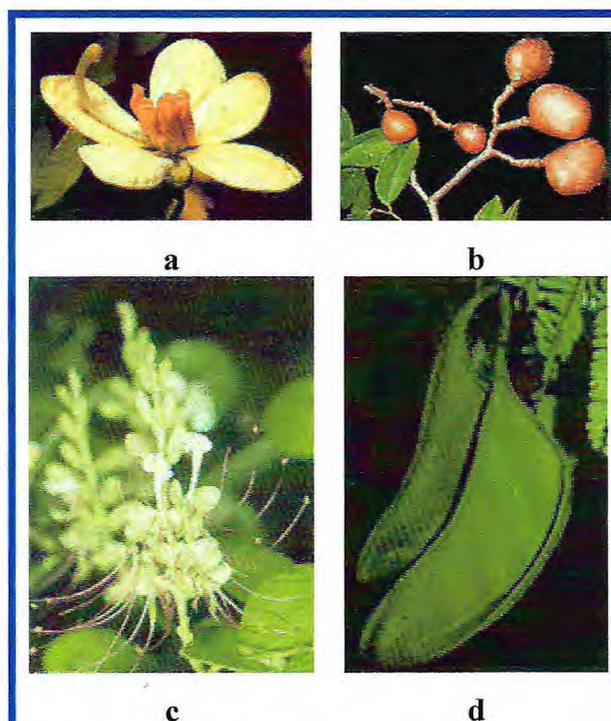


Figura 2.1 – Fotos de partes das plantas da subfamília *Caesalpinioideae*: **a)** Flor de *Senna* sp. 2; **b)** Fruto de *Hymenaea intermedia*; **c)** Ramo florífero de *Macrolobium microcalyx*; **d)** Fruto de *Dimorphandra pennigera*. Fotos obtidas do livro *Flora da Reserva Ducke* [Ribeiro *et al*, 1999].

purgativos), *Bauhinia candicans* (Pata de vaca, é empregado no tratamento de doenças renais) [Shultz, 1943]. Os melhores copais – resinas viscosas célebres pela sua resistência e estabilidade em vernizes, tintas e lacas, são encontrados especialmente nos gêneros *Hymenaea* e *Copaifera* [Lewis, 1987].

Semelhante a *Caesalpinioideae*, a maioria das *Mimosoideae* (50-56 gêneros, cerca de 3.000 espécies) [Woodland, 1991], são árvores e arbustos tropicais e subtropicais. São caracterizadas por suas flores pequenas e actinomórficas [Ildis, 1999a] (Figuras 2.2 a e b). As flores encontram-se reunidas em capítulos densos e globosos ou em espigas cilíndricas [Shultz, 1943], assemelhando a um pom-pom. (Figuras 2.2 a e b) [Ildis, 1999a]. Os frutos são vagens, deiscentes ou não, mas sempre com sementes numerosas (Figuras 2.2 c) [Ribeiro *et al*, 1999].

Exemplos de espécies desta subfamília são *Inga edulis* (Ingá), *Enterolobium timbouva* (Timbaúva), *Parkia velutina* (Corezeiro). A espécie *Acacia decurrens* (Acácia-negra), é muito rica em taninos e serve na indústria de cortume e a espécie *Acacia senegal*, é uma árvore africana que fornece a goma arábica [Shultz, 1943].

A subfamília *Papilionoideae* (451 gêneros e 12.000 espécies) [Woodland, 1991; Zarucchi, 1994], é a mais extensa das três subfamílias com aproximadamente dois terços de todos os gêneros e espécies da família. A maioria das espécies é herbácea, embora existam algumas árvores e arbustos. Uma grande parte de *Papilionoideae* é reconhecida por sua característica papilionácea (flores parecidas com borboletas) (Figuras 2.3 a, b e d). As flores são zigomórficas [Ildis, 1999a], pentâmeras e hermafroditas [Shultz, 1943]. Como em outras leguminosas, o fruto é uma vagem, com uma até muitas sementes; pode ser deiscente

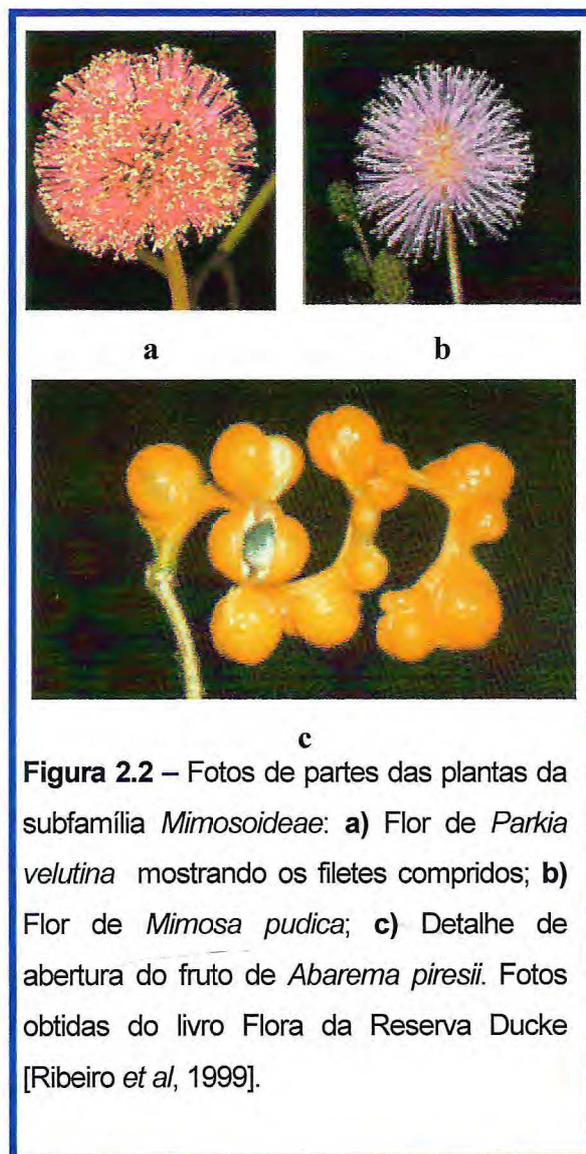


Figura 2.2 – Fotos de partes das plantas da subfamília *Mimosoideae*: **a)** Flor de *Parkia velutina* mostrando os filetes compridos; **b)** Flor de *Mimosa pudica*; **c)** Detalhe de abertura do fruto de *Abarema piresii*. Fotos obtidas do livro Flora da Reserva Ducke [Ribeiro *et al*, 1999].

ou não, seco ou carnoso (Figura 2.3 c) [Ribeiro *et al*, 1999]. Dos legumes de importância econômica, pertencem a esta subfamília a soja (*Glycine*), ervilha (*Pisum*), lentilha (*Lens*), feijão (*Phaseolus*), fava (*Vicia*), grão de bico (*Cicer*) e amendoim (*Arachis*) [Shultz, 1943].

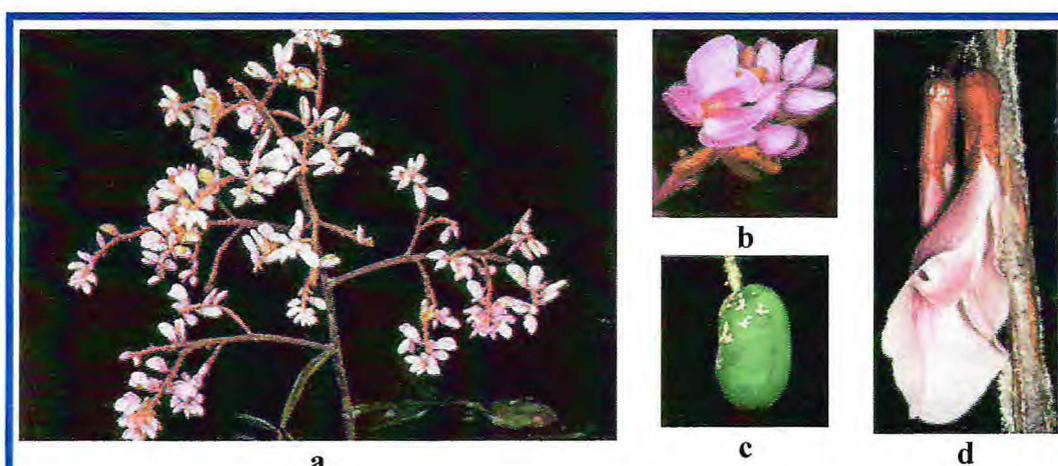


Figura 2.3 - Fotos de partes das plantas da subfamília *Papilionoideae*: **a)** Ramo florífero de *Dipteryx polyphylla*; **b)** Detalhe da flor de *Dipteryx polyphylla*; **c)** Fruto de *Andira parviflora*; **d)** Flor de *Clitoria javitensis* mostrando sua característica papilionácea. Fotos obtidas do livro Flora da Reserva Ducke [Ribeiro *et al*, 1999].

Muitos legumes são capazes de converter nitrogênio atmosférico em compostos nitrogenados úteis para as plantas. Isto é obtido pela presença de nódulos nas raízes (que são visíveis a olho nu) contendo bactéria do gênero *Rhizobium* (Figura 2.4). Esta bactéria tem um relacionamento simbiótico com legumes, fixando o nitrogênio livre para as plantas, enquanto os legumes suprem a bactéria com uma fonte de carbono fixado produzido na fotossíntese, fazendo que muitos legumes sobrevivam em condições pobres de nitrogênio. As leguminosas enriquecem o solo com nitrogênio, enquanto outras plantas em geral empobrecem [Shultz, 1943]. Nódulos em raízes ocorrem geralmente em *Mimosoideae* e *Papilinoideae*, mas raramente em *Caesalpinioideae* [Ildis, 1999a].



Figura 2.4 – Foto mostrando raízes de *Trifolium subterraneum* noduladas pela bactéria *Rhizobium trifolii*. Foto retirada do livro The Development and Function of Roots [Torrey, 1975].

2.2. Taxonomia de *Copaifera*

As espécies do gênero *Copaifera* são comumente conhecidas pela denominação popular de Copaíba, Pau d'óleo, Podói (Piauí e Ceará), Cupaúba e Cupiúva [Corrêa, 1984]. São árvores de grande porte [Pinto e Veiga jr, 1998], chegando a alcançar uma altura de 10-15 m, com tronco de 50 a 80 cm de diâmetro, e folhas compostas alternadas com três pares de folíolos de forma oval alargada [Sá de Lima *et al*, 1995]. Fornecem o bálsamo de copaíba por exsudação do tronco, principalmente de *Copaifera reticulata* (Copaíba marimari), *Copaifera officinalis* (Copaíba verdadeira) e *Copaifera langsdorffii* (Copaíba vermelha) [Gottlieb e Iachan, 1945].

Estas árvores encontram-se distribuídas na África e em regiões tropicais e subtropicais da América do sul [Willis, 1973], principalmente no Brasil, Venezuela, Guianas e Colômbia [Sá de Lima *et al*, 1995]. No norte da América do Sul são encontradas principalmente nos Estados do Pará e Amazonas [Veiga Jr, Patitucci e Pinto, 1997].

Na Tabela 2.1 são descritas 94 espécies de *Copaifera* conhecidas, sendo 32 nomes homônimos (diferentes *taxa* descritos para a mesma espécie, provavelmente por diferentes autores) e 49 *taxa* aceitos pelo *International Legume Database & Information Service*.

De acordo com dados fornecidos por Braga (1976), Corrêa (1984) e Rizzini (1963), foi possível sugerir que no Brasil o gênero *Copaifera* é representado por 17 espécies: *C. elliptica*, *C. martii* (*C. rigida*), *C. luetzelburgii*, *C. coriacea* (*C. cordifolia*), *C. malmei*, *C. multijuga*, *C. guianensis*, *C. duckei* (*C. cearensis*), *C. langsdorffii* (*C. nitida*, *C. sellowii* e *C. grandiflora*), *C. majorina*, *C. lucens*, *C. confertiflora*, *C. jutahy*, *C. oblongifolia*, *C. officinalis*, *C. reticulata*, *C. rondonii* e *C. trapezifolia*. Dentre estas, as espécies *C. Cearensis*, *C. langsdorffii*, *C. luetzelburgii* e *C. coriaceae* são encontradas no Ceará.

Tabela 2.1
Espécies de *Copaifera* encontradas na literatura^a

Espécies de <i>Copaifera</i>	Classificação ^b
1. <i>Copaifera arnoldiana</i> (De Wild. & T. Durand) T. & H. Durand	Homônimo
2. <i>Copaifera aromática</i> Dwyer	Aceito
3. <i>Copaifera baumiana</i> Harms	Aceito
4. <i>Copaifera beyrichii</i> Hayne	Homônimo
5. <i>Copaifera bijuga</i> Hayne	Homônimo
6. <i>Copaifera bracteata</i> Benth	Provisório
7. <i>Copaifera brasiliensis</i> Dwyer	Aceito
8. <i>Copaifera bulbotricha</i> Rizz. & Heringer	Aceito
9. <i>Copaifera canine</i> Harms	Aceito
10. <i>Copaifera carrissoana</i> M. Exell	Homônimo
11. <i>Copaifera cearensis</i> Ducke	Aceito
12. <i>Copaifera cearensis</i> Ducke var. <i>arenicola</i> Ducke	Aceito
13. <i>Copaifera cearensis</i> Ducke var. <i>cearensis</i> Ducke	Aceito
14. <i>Copaifera chodatiana</i> Hassler	Homônimo
15. <i>Copaifera chodatiana</i> (Hassler) J. Leonard var. <i>chodatiana</i> (Hassler) J. Leonard	Aceito
16. <i>Copaifera chodatiana</i> Hassler var. <i>fruticosa</i> Hassler	Homônimo
17. <i>Copaifera coleosperma</i> Benth	Homônimo
18. <i>Copaifera confertiflora</i> Benth	Homônimo
19. <i>Copaifera copallifera</i> (Bennett) Milne-Redh	Homônimo
20. <i>Copaifera cordifolia</i> Hayne	Homônimo
21. <i>Copaifera coriaceae</i> Martius	Aceito
22. <i>Copaifera coriaceae</i> Martius var <i>coriaceae</i> Martius	Aceito
23. <i>Copaifera coriaceae</i> Martius var <i>macrophylla</i> Dwyer	Aceito
24. <i>Copaifera demeusei</i> Harms	Homônimo
25. <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	Aceito
26. <i>Copaifera duckei</i> Dwyer	Aceito
27. <i>Copaifera ehie</i> A.	Homônimo
28. <i>Copaifera elliptica</i> Martius	Aceito

Tabela 2.1(Continuação)
Espécies de *Copaifera* encontradas na literatura^a

Espécies de <i>Copaifera</i>	Classificação ^b
29. <i>Copaifera epunctata</i> Amshoff	Aceito
30. <i>Copaifera fissicuspis</i> Pittier	Homônimo
31. <i>Copaifera glabra</i> Vogel	Homônimo
32. <i>Copaifera glycycarpa</i> Ducke	Aceito
33. <i>Copaifera gossweileri</i> M. Exell	Homônimo
34. <i>Copaifera grandiflora</i>	Não tem
35. <i>Copaifera guibourtiana</i> Benth	Homônimo
36. <i>Copaifera guyanensis</i> Desf.	Aceito
37. <i>Copaifera gynohirsuta</i> Dwyer	Aceito
38. <i>Copaifera hemitomophylla</i> J. D. Smith	Homônimo
39. <i>Copaifera hymenaeifolia</i> Moric	Homônimo
40. <i>Copaifera jacquiniana</i> G. Don	Provisório
41. <i>Copaifera jaquinii</i> Desf.	Provisório
42. <i>Copaifera jussieui</i> Hayne	Provisório
43. <i>Copaifera jutahy</i>	Não tem
44. <i>Copaifera kuntzei</i> Kuntze	Homônimo
45. <i>Copaifera laevis</i> Dwyer	Aceito
46. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Aceito
47. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var <i>glabra</i> (vogel) Benth.	Aceito
48. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var <i>krukovii</i> Dwyer	Aceito
49. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var <i>laxa</i> (Hayne) Benth.	Aceito
50. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var <i>peruviana</i> Macbr.	Homônimo
51. <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var <i>rupestris</i> Hassler	Homônimo
52. <i>Copaifera laxa</i> Hayne	Homônimo
53. <i>Copaifera letestui</i> (Pellegrin) Pellegrin	Homônimo
54. <i>Copaifera lucens</i> Dwyer	Aceito
55. <i>Copaifera luetzelburgii</i> Harms	Aceito
56. <i>Copaifera magnifolia</i> Dwyer	Aceito
57. <i>Copaifera majorina</i> Dwyer	Aceito

Tabela 2.1(Continuação)
Espécies de *Copaifera* encontradas na literatura^a

Espécies de <i>Copaifera</i>	Classificação ^b
58. <i>Copaifera malmei</i> Harms	Aceito
59. <i>Copaifera marginata</i> Benth	Aceito
60. <i>Copaifera martii</i> Hayne	Aceito
61. <i>Copaifera martii</i> Hayne var. <i>publiflora</i> (Benth.) Benth.	Homônimo
62. <i>Copaifera martii</i> Hayne var. <i>rigida</i> (Benth.) Ducke	Homônimo
63. <i>Copaifera mildbraedii</i> Harms	Aceito
64. <i>Copaifera mopane</i> Benth	Homônimo
65. <i>Copaifera multijuga</i> Hayne	Aceito
66. <i>Copaifera nana</i> Rizz.	Provisório
67. <i>Copaifera nítida</i> Hayne	Homônimo
68. <i>Copaifera oblongifolia</i> Martius	Aceito
69. <i>Copaifera oblongifolia</i> Martius var. <i>comosa</i> Dwyer	Aceito
70. <i>Copaifera oblongifolia</i> Martius var. <i>dawsonii</i> Cowan	Aceito
71. <i>Copaifera oblongifolia</i> Martius var. <i>oblongifolia</i> Martius	Aceito
72. <i>Copaifera officinalis</i> L.	Aceito
73. <i>Copaifera panamensis</i> (Britton & Rose) Standley	Aceito
74. <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer	Aceito
75. <i>Copaifera piresii</i> Ducke	Aceito
76. <i>Copaifera pubiflora</i> Benth	Aceito
77. <i>Copaifera religiosa</i> J. Leonard	Aceito
78. <i>Copaifera reticulata</i> Ducke	Aceito
79. <i>Copaifera reticulata</i> Ducke var. <i>peruviana</i> Macbr.	Provisório
80. <i>Copaifera reticulata</i> Ducke var. <i>reticulata</i> Ducke	Provisório
81. <i>Copaifera rígida</i> Benth	Homônimo
82. <i>Copaifera rondonii</i> Hoehne	Aceito
83. <i>Copaifera salikounda</i> Heckel	Aceito
84. <i>Copaifera salikounda</i> sensu Kennedy	Desviado
85. <i>Copaifera salikounda</i> sensu auct.	Desviado

Tabela 2.1(Continuação)
Espécies de *Copaifera* encontradas na literatura^a

Espécies de <i>Copaifera</i>	Classificação ^b
86. <i>Copaifera schliebenii</i> Harms	Homônimo
87. <i>Copaifera sellowii</i> Hayne	Homônimo
88. <i>Copaifera</i> sp. 1 J. G. Soares Maia	Provisório
89. <i>Copaifera</i> sp.aff. <i>salikounda</i> J. Leonard	Homônimo
90. <i>Copaifera tessmannii</i> Harms	Homônimo
91. <i>Copaifera trapezifolia</i> Hayne	Aceito
92. <i>Copaifera utilissima</i> J. Saldanha	Provisório
93. <i>Copaifera venezuelana</i> Harms & Pittier	Aceito
94. <i>Copaifera venezuelana</i> Harms & Pittier var. <i>laxa</i> Xena & Arroyo	Aceito

a. Rizzini, 1963; Braga, 1976; Corrêa, 1984 e ILDIS, 1999b

b. Classificação:

Aceito: nome aceito pelo banco de dados ILDIS.

Desviado: nomes desviados ao taxon errado.

Homônimo: mesmo taxon descrito com nomes diferentes.

Não tem: nome não citado pelo banco de dados ILDIS.

Provisório: nome em fase de avaliação

2.3. Descrição botânica de *Copaifera langsdorffii* Desf.

Copaifera langsdorffii Desf é árvore frondosa de até 13 m de altura ou pouco mais (apenas 2 m quando vegeta no campo ou no cerrado, porém atingindo 50 m na Venezuela) (Figura 2.5) [Corrêa, 1984]; casca vermelho-escuro com profundas fendas longitudinais, também avermelhadas interiormente; folhas pinnatifidas, compostas de folíolos 3-5 jugos, alternos ou opostos, ovado-lanceolados ou elípticos, obtusos, até 5 cm de comprimento até 3 cm de largura, pelúcido-punctuados, glabros (Figura 2.6); flores brancas, às vezes cor de rosa, reunidas em raminhos dispostos em panículas terminais (ver detalhes das folhas e inflorescências de *C. langsdorffii* do Crato - Figura 2.7) [Corrêa, 1984]. A floração ocorre de novembro a janeiro e a frutificação de junho a agosto [Machado, Alencar e Rodrigues, 1992]. O fruto é uma vagem drupácea, pedunculada, ovóide, contendo uma semente [Corrêa, 1984]. A semente é preta e provida de amplo arilo amarelo vivo proveniente do funículo [Ferri,

1969]. Regularmente, os frutos são dispostos na copa (Figura 2.8), sendo suas sementes apreciadas pelos pássaros, o que favorece a vasta distribuição geográfica da espécie [Crestana e Beltrati, 1988]. O exemplar de *Copaifera langsdorffii* em estudo apresentou frutos com uma e duas sementes (Figura 2.9).



Figura 2.5 - Árvore de *Copaifera langsdorffii* Desf. Foto retirada do livro: Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de plantas Arbóreas e Nativas do Brasil [Lorenzi, 1992].



Figura 2.6 – Cópia de um ramo de *Copaifera langsdorffii* Desf coletado no Crato, mostrando os frutos e as folhas compostas. Cópia fornecida pelo Prof. E. R. Silveira.



Figura 2.7 – Fotos de um espécime de *Copaifera langsdorffii* Desf encontrado na localidade de Barreiro Grande – Crato – Ceará: **a)** Folhas e inflorescência; **b)** Detalhes da inflorescência mostrando os botões florais; **c)** Detalhes das flores e botões de *Copaifera langsdorffii*. Fotógrafo: Prof. E. R. Silveira.



Figura 2. 8 - Foto mostrando os frutos dispostos na copa de *Copaifera langsdorffii* Desf.:. Fotógrafo: Prof. E. R. Silveira.



a



b

Figura 2. 9 – Cópia de *Copaifera langsdorffii* Desf: a) Ramos com frutos mostrando arilo e semente única. b) Frutos apresentando arilos e sementes duplos. Cópias cedidas pelo Prof. E. R. Silveira.

Copaifera langsdorffii fornece madeira avermelhada, raramente amarelada, muita rajada, às vezes porosa e de tecido frouxo, utilizado para construção naval, carroçaria, torno e marcenaria [Corrêa, 1984].

O óleo de Copaíba é obtido por exsudação através de um furo de 2 a 3 cm de diâmetro no tronco da árvore a cerca de 1 m do chão e outro furo mais alto, a aproximadamente 5 m do primeiro [Del Nunzio, 1985]. Um pequeno tubo de bambu com uma torneira rudimentar é adaptado ao furo por onde escorre o bálsamo, recolhido em latas [Del Nunzio, 1985; Calvin, 1983]. Antigamente, o sertanejo abria o tronco a machadadas, até atingir a medula em vários pontos destruindo a árvore ou inutilizando a produção do bálsamo por muitos anos [Corrêa, 1984]. Empregou-se na Bahia uma bomba especial para extração do bálsamo por sucção [Gottlieb e Iachan, 1945]. O bálsamo de *Copaifera langsdorffii* do Crato, foi coletado a colheradas de um furo no tronco (Figura 2.10).

Conforme a época do ano, obtém-se maior ou menor quantidade de óleo de copaíba [Corrêa, 1984], não sendo rara nas grandes árvores a obtenção de 4 a 50 L deste óleo por ano [Del Nunzio, 1985; Gottlieb e Iachan, 1945].

O bálsamo de copaíba não é um bálsamo verdadeiro [Del Nunzio, 1985; Leung, 1980], é um óleo resinoso proveniente da decomposição de células da parede do parênquima lenhoso [Sá de Lima *et al*, 1995]. Os canais secretores encontram-se na região cortical dos caules, porém dispostos de modo que se prolonguem até o lenho, onde existem em notável abundância, formando bolsas compridas não-interligadas [Corrêa, 1984; Del Nunzio, 1985; Leung, 1980].

A espécie do gênero *Copaifera* em estudo foi coletada na localidade de Barreiro Grande – Crato – Ceará e identificada pelo prof. Afrânio G. Fernandes do Dept^o de Biologia (UFC). As exsicatas encontram-se armazenadas no Herbário Prisco Bezerra sob números 24.461, 23.172 e 24.489.

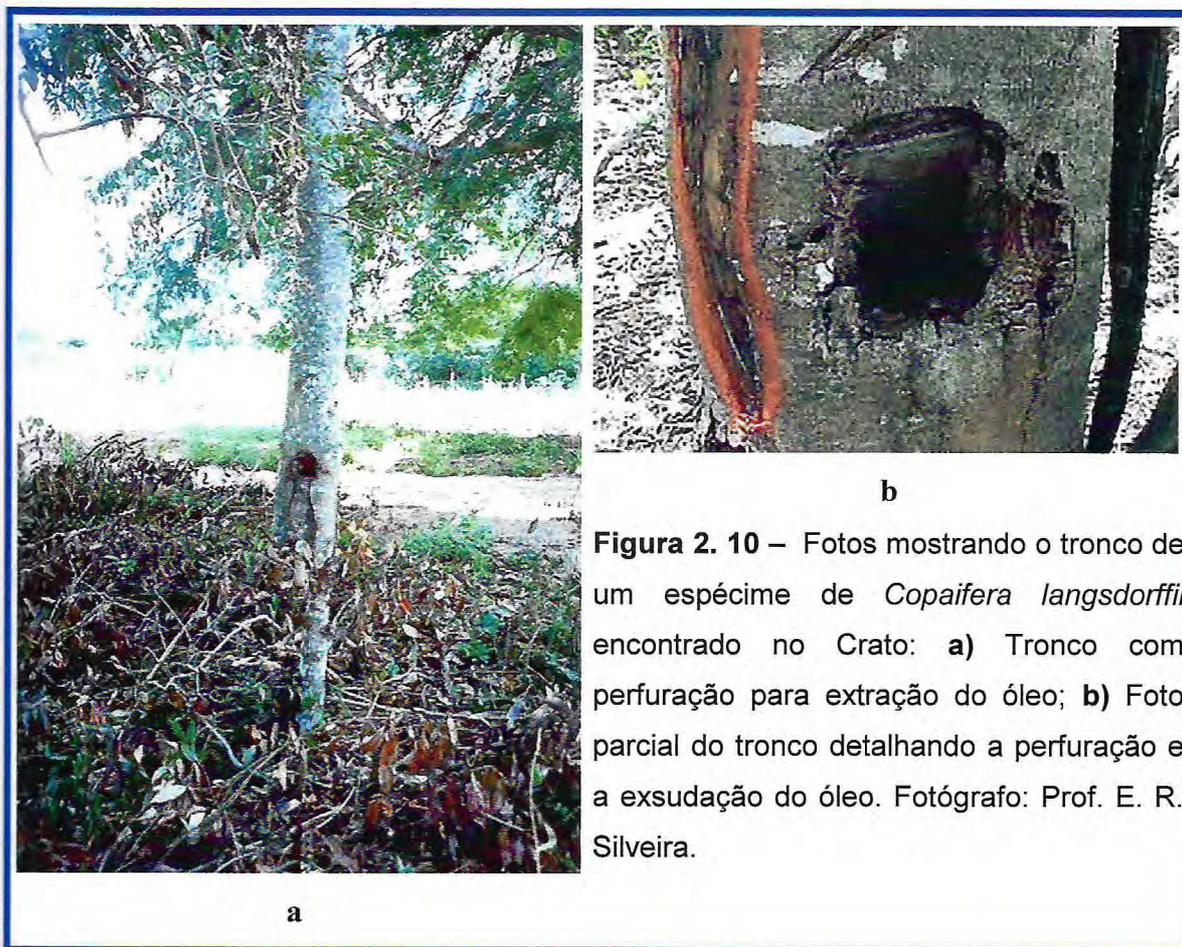


Figura 2. 10 – Fotos mostrando o tronco de um espécime de *Copaifera langsdorffii* encontrado no Crato: **a)** Tronco com perfuração para extração do óleo; **b)** Foto parcial do tronco detalhando a perfuração e a exsudação do óleo. Fotógrafo: Prof. E. R. Silveira.

2.4. Fitoquímica de *Leguminosae*

A família *Leguminosae* é uma das famílias mais extensas das plantas floríferas, cuja principal característica é o fruto, uma vagem, tecnicamente conhecida como legume [Ildis, 1999a].

Em termos de importância econômica, a *Leguminosae* é a família mais importante das dicotiledôneas [Harborne, 1994]. Na produção de alimentos cultivados para a agricultura mundial (feijão, soja, lentilhas, ervilhas e grãos-de-bico), os legumes estão em segundo lugar perdendo somente para as gramíneas (cereais) [Ildis, 1999a].

Em adição aos legumes cultivados para consumo humano, muitos rendem importantes rações, adubo verde e forragens. Também são usados para outros propósitos incluindo: madeira, medicina, taninos e gomas. Algumas árvores fornecem resinas valorosas, usadas em vernizes, tintas e lacas, como por exemplo, *Copaifera*, enquanto outras são fontes de corantes como *Indigofera* que é cultivada para obtenção de um corante azul [Ildis, 1999a].

Na Tabela 2.2 (página 21), encontram-se descritas as classes de compostos resultantes do metabolismo secundário de espécies de *Leguminosae*, de acordo com dados fornecidos por

Zarucchi (1994) após análise de 2.678 espécies, classificadas em 385 gêneros em todas as tribos reconhecidas. As classes de compostos relacionadas são: alcalóides (ALC), aminoácidos e peptídeos (A&P), benzofuranóides (BZF), carboidratos (CAR), cumarinas (CUM), esteróides (EST), flavonóides (FLA), heterociclos oxigenados (HOX), lignanas (LIG), produtos naturais alifáticos (PNA), produtos naturais aromáticos policíclicos (PNP), produtos naturais aromáticos simples (PNS), policetídeos (POL), taninos (TAN) e terpenóides (TER). As classes químicas mais comuns citadas são: flavonóides (1.227 citações), amino ácidos e peptídeos (1.106) e alcalóides (872). As classes químicas menos relatadas na literatura para a família *Leguminosae* são policetídeos (2); lignanas (7), benzofuranóides (13) e taninos (15). Na subfamília *Caesalpinioideae*, das 214 espécies citadas, as classes químicas mais encontradas são: flavonóides (88), amino ácidos e peptídeos (79) e alcalóides (72). Na subfamília *Mimosoideae*, de 335 espécies analisadas, as classes principais encontradas são flavonóides (131), amino ácidos e peptídeos (180) e alcalóides (182) e para a subfamília *Papilionoideae*, das 2.129 espécies estudadas, as principais classes encontradas são: flavonóides (1.008), Amino ácidos e peptídeos (847) e alcalóides (618). Na Tabela 2.3 encontram-se descritas as estruturas representativas de cada uma das classes de compostos citadas na Tabela 2.2.

Centenas de produtos naturais foram identificados e isolados, tanto que 28% de todos os flavonóides e 95% de todos as agliconas isoflavonoídicas conhecidas são encontradas em *Leguminosae* [Harborne, 1994]. Isoflavonóides típicos encontrados em *Leguminosae* são os rotenóides que são úteis como agente inseticida ou piscicida [Maia *et al*, 1976]. Os alcalóides mais característicos encontrados em *Leguminosae* são os alcalóides quinolizidínicos, que são responsáveis pelos efeitos venenosos e teratogênicos das espécies de *Lupinus* [Harborne, 1994]. Outra classe de compostos encontrada em leguminosas é a dos terpenos. Os constituintes desta classe mais característicos são os ácidos diterpênicos presentes em resinas obtidas do tronco de espécies de *Copaifera* e *Hymenaea*.

Tabela 2.2
Classes de compostos encontrados em cada subfamília de *Leguminosae*
Subfamílias de *Leguminosae*

Classes de Compostos*	<i>Caesalpinioideae</i>	<i>Papilionoideae</i>	<i>Mimosoideae</i>	Total
A&P	79	847	180	1106
ALC	72	618	182	872
BZF	5	5	3	13
CAR	26	237	52	315
CUM	13	121	4	138
EST	52	232	31	315
FLA	88	1008	131	1227
HOX	2	45	0	47
LIG	2	4	1	7
NCL	6	13	0	19
PNA	40	305	37	382
PNP	37	10	1	48
PNS	31	141	19	191
POL	0	2	0	2
TAN	3	1	11	15
TER	59	249	52	360
Nº Total de Espécies	214	2129	335	2678
Nº Total de Gêneros	69	274	42	385

*Classes de Compostos:

A&P – Aminoácidos e Peptídeos

ALC – Alcalóides

BZF – Benzofuranóides

CAR – Carboidratos

CUM – Cumarinas

EST – Esteróides

FLA – Flavonóides

HOX – Heterociclos oxigenados

LIG – Lignanas

NCL – Não Classificados

PNA- Produtos Naturais Alifáticos Simples

PNP – Produtos Naturais Aromáticos Policíclicos

PNS – Produtos Naturais Aromáticos Simples

POL – Policetídeos

TAN – Taninos

TER – Terpenóides

Tabela 2.3
Exemplos de estruturas representativas das classes de compostos encontrados em *Leguminosae*

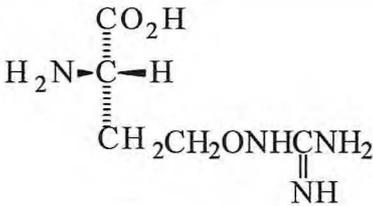
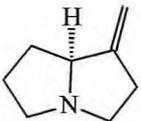
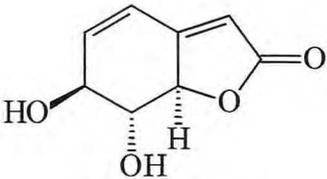
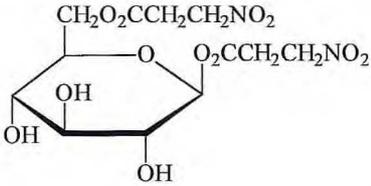
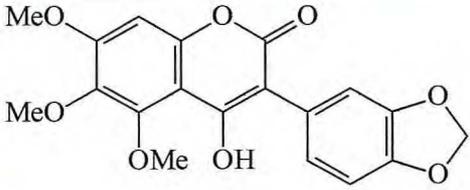
Classes de Compostos	Estrutura	Origem
A&P	 <p>Canavanina</p>	<i>Coursetia axilaris</i> [Lavin, 1986 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
ALC	 <p>1-Metileno-pirrolizidina</p>	<i>Crotalaria lachnophora</i> [Pilbean e Bell, 1979 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
BZF	 <p>Grifonilídeo</p>	<i>Bauhinia thonningii</i> [Okwute <i>et al</i> , 1986 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
CAR	 <p>Cibariana</p>	<i>Securigera varia</i> [Majak, 1976 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
CUM	 <p>4-Hidróxi-5,6,7-trimetóxi-3-(3',4'-metileno-dióxi)fenilcumarina</p>	<i>Milletia griffoniana</i> [Yankep, 1998 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]

Tabela 2.3 (Continuação)
Exemplos de estruturas representativas das classes de compostos encontrados em *Leguminosae*

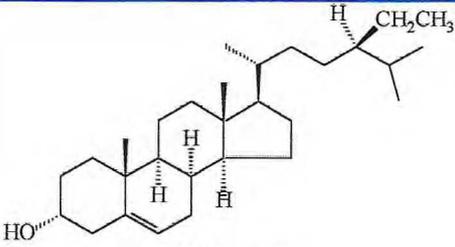
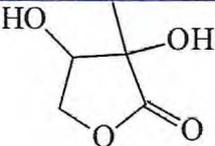
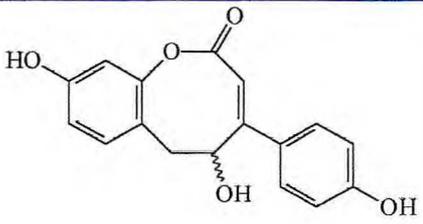
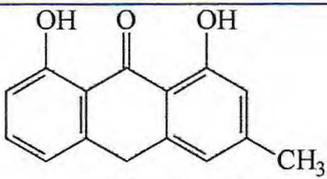
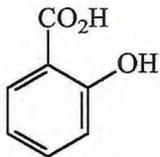
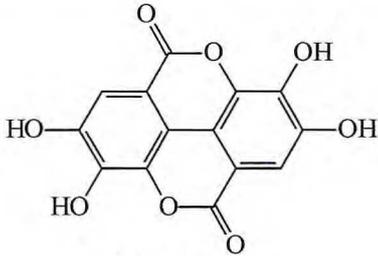
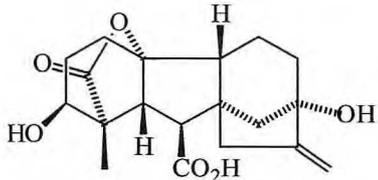
Classes de Compostos	Estrutura	Origem
EST	 <p>β-Sitosterol</p>	<i>Cássia javanica</i> [Rizvi, 1972 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
FLA	 <p>Robustona</p>	<i>Derris robusta</i> [Chibber, 1979 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
HOX		<i>Securigera varia</i> [Opletal, 1986 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
LIG	 <p>Hidnocarpina</p>	<i>Pueraria lobata</i> [Kinjo, 1985 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
NCL	$H_2C=C(CO_2H)OPO_3H_2$ Ácido fosfoenolpirúvico	<i>Bauhinia variegata</i> [Mukherjee, 1975 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
PNA	$H_2NCH_2CH_2CH_2CO_2H$ Ácido 4-amino-butanóico	<i>Delonix regia</i> [Mukherjee, 1975 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
PNP	 <p>Crisofanol</p>	<i>Cássia grandis</i> [Mahesh, 1984 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]

Tabela 2.3 (Continuação)
Exemplos de estruturas representativas das classes de compostos encontrados em *Leguminosae*

Classes de Compostos	Estrutura	Origem
PNS	 <p>Ácido 2-hidróxi-benzóico</p>	<i>Securigera varia</i> [Opletal, 1986 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
POL	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ <p>Ácido 5-hidróxiheneicosanóico</p>	<i>Butea monosperma</i> [Bishmoi, 1979 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
TAN	 <p>Ácido elágico</p>	<i>Milletia leucantha</i> [Nagar, 1978 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]
TER	 <p>Giberelina A₁</p>	<i>Leucaena leucocephala</i> [Arigayo, 1983 <i>apud</i> Zarucchi, 1994]

2.5. Fitoquímica de *Copaifera*

Levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts*, *Institute for Cientific Information* (ISI, <http://www.webofscience.fapesp.br>), *International Legume Database & Information Service* (ILDIS, <http://ildis.org/Leguminosae>), *Agricola* (<http://www.nal.usda.gov/>), nos resumos da SBQ, ABQ e SBPC, possibilitou a identificação de 94 espécies (ver Tabela 2.1, página 11). Das espécies de *Copaifera* encontradas na literatura, apenas 17 apresentaram algum estudo químico (Tabela 2.4, página 25).

De acordo com a Tabela 2.4, os estudos químicos relacionados com *Copaifera langsdorffii* e espécies não identificadas de *Copaifera* (*Copaifera* sp) foram os mais

encontrados na literatura. A maioria das citações bibliográficas está relacionada com o isolamento e identificação de terpenos e estudo de óleos essenciais deste gênero (ver Capítulo 3, página 33).

Tabela 2.4
Espécies do gênero *Copaifera* encontradas na literatura com algum estudo químico

Espécie	AG	CA	CR	FE	IM	OE	TN	TR
<i>C. cearensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>C. coriacea</i>	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. guianensis</i>	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. glycyarpa</i>	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. langsdorffii</i>	-	2	2	-	1	-	1	7
<i>C. martii</i> (Hayne)	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. martii</i> var. <i>rigida</i>	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. multijuga</i>	-	-	-	1	1	1	-	5
<i>C. officinalis</i>	-	-	-	-	1	4	-	4
<i>C. pubiflora</i>	-	-	-	1	1	1	-	2
<i>C. reticulata</i>	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>C. salikuonda</i>	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>C. sp</i>	1	-	1	2	-	9	-	14
<i>C. venezuelana</i>	-	-	-	-	1	1	-	1
Total	1	2	4	4	5	22	1	34

*Natureza do estudo:

AG = ácidos graxos CR=cumarinas AM = aminoácidos TN = taninos
CA = carboidratos FE = fenóis OE = óleos essenciais TR = terpenos

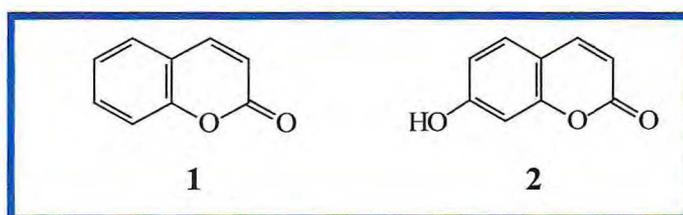
Das citações bibliográficas encontradas sobre ácidos graxos do gênero *Copaifera*, apenas Maia (1978), descreveu a constituição dos ácidos graxos presentes no óleo das sementes de *Copaifera* sp, como: palmítico (24,9%), oleico (35,3%), linoleico (35,7%), araquídico (1,1%) e beênico (3,0%).

As sementes de *Copaifera langsdorffii* mostraram a presença de um amilóide denominado xyloglucan, cuja hidrólise ácida permitiu a identificação de

glicose:xilose:galactose (4,0:2,8-2,9:1,5-1,7) [Buckeridge *et al*, 1992] e caracterização de polissacarídeos nos cotilédones desta espécie [Franco *et al*, 1996].

Quatro citações referentes a compostos cumarínicos para o gênero *Copaifera* estão relacionadas na Tabela 2.4 sendo que a primeira ocorrência foi citada para *Copaifera salikuonda* Heck, da África Sul-Occidental [Mors, 1959].

A presença de cumarinas em *Copaifera langsdorffii* foi relatada pela primeira vez por Mors (1959), que obteve o isolamento de 0,65% da cumarina (1) e identificou a umbelliferona (2) a partir de extração com éter de petróleo e com éter etílico das sementes de *Copaifera langsdorffii*, enquanto Maia *et al* (1978) relatou a presença de 0,15% deste composto nas sementes de *Copaifera* sp.

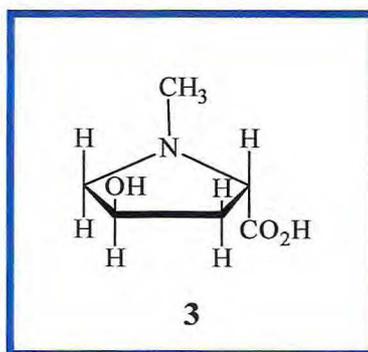


Rizzini (1976) e Borges (1982), citaram a cumarina (1) como fator importante na dormência das sementes de *C. langsdorffii*. Segundo Mayer (1989), a cumarina é considerada uma das substâncias cuja principal função é de inibidor natural da germinação e é ativamente metabolizada na germinação das sementes, desta forma pode-se constatar que à medida que a semente amadurece, a cumarina é metabolizada até que o seu teor diminua favorecendo a quebra da dormência e germinação das sementes.

Foram encontradas citações sobre compostos fenólicos identificados nas folhas de *Copaifera multijuga* [Nascimento e Langenheim, 1986]; flavonóis, flavanonas, catequinas e procianidinas em *Copaifera* sp [McCloskey, 1985] e taninos (14,5%) nas cascas de *Copaifera langsdorffii* [Stather, 1931].

Leucoantocianinas e leucoantocianidinas foram estudadas por Robertson, a partir do caule de *Copaifera pubiflora* [Robertson e Robinson, 1935].

O aminoácido denominado *N*-metil-*trans*-4-hidroxi-L-prolina (3) foi isolado das folhas de *C. langsdorffii*, *C. multijuga*, *C. officinalis*, *C. pubiflora* e *C. venezuelana* var. *laxa*. [Figliuolo *et al*, 1987].



Citações sobre óleos essenciais obtidos a partir do bálsamo de *Copaifera* sp mostraram alguns estudos sobre rotação óptica [Parry, 1911; Cocking, 1911; Shimmel & Co, 1915 e Birza, 1934], identificação dos componentes químicos [Craveiro *et al*, 1981] e autoxidação do β -cariofileno [Gramosa, 1994].

Também foram encontradas citações sobre óleos essenciais obtidos dos óleos de copaíba das espécies: *Copaifera reticulata* (26-31,5%), *C. guianensis* (24,5%), *C. multijuga* (48,5-55%), *C. officinalis* (55-58%), *C. martii* var. *rigida* (60-63%), *C. coriacea* (55-62,5%), *C. martii* (Hayne) (38-52%) e *C. glycyarpa* (32-38,5%) [Freise, 1934].

Não foi encontrado nenhum registro de estudo químico de óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii* pelos métodos arraste com vapor e hidrodestilação, mas Langenhein *et al* (1986) fizeram um estudo utilizando o extrato hexânico das folhas e sementes de *Copaifera langsdorffii* (ver item 3.2, página 33), obtendo vários sesquiterpenos. Desta forma, o relato de óleos essenciais das folhas, frutos, caule, raiz e bálsamo para esta espécie é o primeiro utilizando a extração por arraste com vapor.

Os terpenos identificados e/ou isolados a partir do bálsamo, dos óleos essenciais e dos extratos das diversas espécies de *Copaifera* citados na literatura encontram-se descritos no item 3.2 (página 33).

Referências Bibliográficas

- ARIGAYO, S. *et al.* *Agric. Biol. Chem.* v. 47, p 2939-2940, 1983.
- BARROSO, G. M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*, v. 2, Imprensa Universitária de Viçosa, MG, 1984.
- BIRZA, J.W. Examination of copaiba balsam, *Chimie & Industrie*, v. 33, p 423, 1934. *CA* 29:3113.
- BISHMOI, P.; GUPTA, P.C. *Planta Medica*. v. 35, p 286-288, 1979.
- BORGES, E.E.L.; *et al.* Comparação de métodos de quebra de dormência em sementes de copaíba. *Rev. Bras. Sem.*, v. 4, n. 1, p 9-12, 1982.
- BRAGA, R. *Plantas do Nordeste. especialmente do Ceará*. Mossoró: Ed. Mossoroense. 1976.
- BUCKERIDGE, M.S. *et al.* Xyloglucan structure and post-germinative metabolism in seeds of *Copaifera langsdorffii* from savanna and forest populations. *Physiol. Plant.* v. 86, n.1, p 145-151, 1992. *CA*, 117:248638n.
- CALVIN, M. New sources for fuel and materials. *Science*. v. 219, p 24-26, 1983.
- CHIBBER, S.S.; SHARMA, R.P. *Indian J. Chem., Sect. B*, v. 18, p 471-472, 1979.
- COCKING, T.T. Copaiba, *Chem. Druggist*, v. 80, p 128, 1911. *CA* 6:1655.
- CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. II, p 370-375, 1984.
- CRAVEIRO, A.A. *et al.* *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: ed. UFC, 1981.
- CRESTANA, M.; BELTRATI, C. M. Morfologia e anatomia das sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (*Leguminosae-Caesalpinioideae*). *Naturalia*, v. 13, p 45-54 (1988).
- CRONQUIST, A. *The evolution and classification of flowering plants*. 2nd ed. USA: The New York Botanic Garden, 1988.
- DEL NUNZIO, M.J.D. Óleo de copaíba e seu emprego cosmético. *Aerosol Cosmet.* v. 41, p 7-9, 1985.
- FERRI, M.G. *Plantas do Brasil – espécies do cerrado*. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 1969.
- FIGLIOULO, R. *et al.* Unusual nonprotein imino acid e its relationship to phenolic and nitrogenous compounds in *Copaifera*. *Phytochemistry*, v. 26, n. 12, p 3255-3259, 1987.
- FRANCO, T.T. *et al.* Characterization os storage cell wall polysaccharides from brazilian legume seeds and the formation of aqueous two-phase systems. *J.Chromatogr. B: Biomed. Appl.*, v. 680, n. 1+2, p 255-261, 1996. *CA*, 125:109237h.
- FREISE, F.W. Brazilian Copaiba balsam, *Perfumery Essent. Oil Record*, v. 25, p 218-219, 1934.
- GOTTLIEB, O. R.; IACHAN, A. Estudo do bálsamo de copaíba. *Rev. Quim. Ind.*, v. 14, n. 163, p 20-21, 1945.
- GRAMOSA, N.V. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste: *Capparis flexuosa* e Estudo químico da autoxidação do β -cariofileno em óleos essenciais. 1994. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 1994.

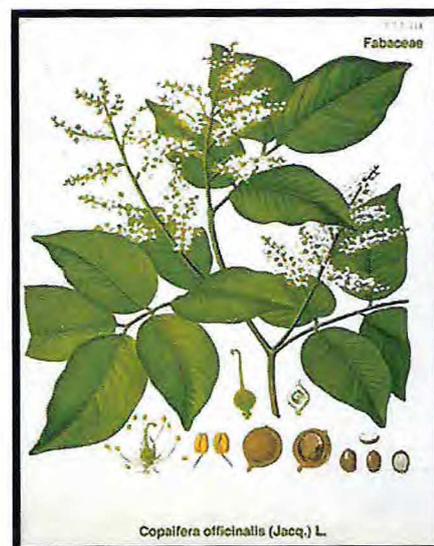
- GUIBBS, R. D. *Chemotaxonomy of flowering plants*. Great Britain: McGill-Queen's University Press, v. 2, 1974.
- HARBORNE, J.B. Phytochemistry of *Leguminosae*, in *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*. London: Chapman & Hall, v. 1, 1994.
- JOLY, A. B. *Botânica – Introdução à taxonomia vegetal*. 4. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p 218-383, 1977.
- KINJO, J. *et al. Tetrahedron Letters*. v. 26, p 6101-6102, 1985.
- LANGENHEIN, J.H. *et al. Hymenaea and Copaifera leaf sesquiterpenes in relation to lepidopteran herbivory in southeastern Brazil. Biochem. Syst. And Ecology*, v. 14, n.1, p 41-49, 1986.
- LAVIN, M. *Biochem. Syst. Ecol.* v. 14, p 71-73, 1986.
- LEUNG, A.Y. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics*. New York: John Wiley, 1980.
- LEWIS, G.P. *Legumes da Bahia*. Royal Botanic Gardens Kew, 1987.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, São Paulo: Ed. Plantarum, 1992.
- MACHADO, J.W.B.; ALENCAR, F.O.C.C.; RODRIGUES, M.G.R. *Árvores de Brasília*. Brasília: GDF. Secretaria de obras e serviços públicos, departamento de parques e jardins, 1992. 100p.
- MAHESH, V.K. *et al. J. Nat. Prod.* v. 47, p 733, 1984.
- MAIA, J.G. *et al. Estudo químico de óleos essenciais, oleaginosas e látices da amazônia. i. composição e oxidação do óleo de uma espécie de Copaifera. Acta amazon.* v. 8, n. 4, p 705, 1978.
- MAJAK, W.; BOX, R.J. *Phytochemistry*, v. 15, p 415-417, 1976.
- MARK, H.F. *et al. Oils, essential in kirk othmer encyclopedia of chemical technology*. 3rd ed. John Wiley, v.16, p.307-332, 1981.
- MAYER, A.M. *The germination of seeds*, 4th ed, Great Britain: Pergamon Press, 1989.
- MCCLOSKEY, L.P. Leaf phenolic compounds in the tropical tree genera *Hymenaea* and *Copaifera*, *Diss. Abstr. Int.B.* v. 46, n. 1, p 44, 1985.
- MORS, W. B.; MONTEIRO, H.J., Duas cumarinas nas sementes da *Copaifera langsdorffii*. *Anais Assoc. Bras. Quím.* v. 18, p 181-182, 1959.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C.T., *Useful plants of Brazil*, Califórnia: Holden-Day Inc., p 42-45, 1966.
- MUKHERJEE, D. *Phytochemistry*, v. 14, p 1915-1918, 1975.
- NAGAR, A. *et al. Natl. Acad. Sci. Lett.*, v. 1, p 368, 1978; CA 90: 164726y.
- NASCIMENTO, J.C.; LANGENHEIN, J.H. Leaf Sesquiterpenes and phenolics in *Copaifera multijuga* on contrasting soil types in a central amazonian rain forest. *Biochem. Syst. Ecol.* v. 14, n. 6, p 615-624, 1986. CA, 106:49177.
- OKWUTE, S.K. *et al. J. Nat. Prod.* v. 49, p 716-717, 1986.
- OPLETAL, L.; SOVOVA, M. *Cesk. Farm.* v. 35, p 127-129, 1986; CA 105: 120584b.

- PARRY, E.J. Copaiba, *Chem. Druggist*, v. 80, p 19, 1911. *CA* 6:1655.
- PILBEAM, D.J.; BELL, E.A. *Phytochemistry*, v. 18, p 973-985, 1979.
- PINTO, A.C.; VEIGA JR., V.F. A história do brasil e a copaiba. o olhar dos primeiros cronistas da história do brasil sobre a copaiba. São Paulo. 1998. Disponível em <<http://www.s bq.org.br>>. Acesso em 15 dez. 1998.
- RAVEN, P.H; EVERT, R.F.; S.E. EICHBORN, *Biologia Vegetal*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. p 415-545, 1996.
- RIBEIRO, J.E.L.S. et al. *Flora da Reserva Ducke – Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na amazônia central*. Manaus: Inpa, 816 p.1999.
- RIZVI, S.A.I. et al. *Phytochemistry*, v. 11, p 1823-1826, 1972.
- RIZZINI, C.T. *A flora do cerrado – Análise florística das savanas centrais em simpósio sobre cerrado*, São Paulo: ed. USP, 127-177, 1963.
- RIZZINI, C.T. *Tratado de fitogeografia do Brasil – aspecto ecológico*, São Paulo: Ed. USP, 202p, 1976.
- ROBERTSON, G.M.; ROBINSON, R. Leucoanthocyanins and leucoanthocyanidins. i. the isolation of peltogynol and its molecular structure. *J. Chem. Soc.* p 744-752, 1935. *CA*, 29:5842.
- SÁ DE LIMA, L. et al. Óleo de copaiba: atividade antimicrobiana “In vitro”. *Anfarmag*, v. nov-dez, p 1-2, 1995.
- SHULTZ, A.R. *Introdução ao estudo da botânica sistemática*. Porto Alegre: Ed. Livraria Globo, 1943.
- STATHER, F. Some little-known tropical tanning materials. *Collegium*, p 256-262, 1931. *CA*, 25:5793.
- TORREY, J.G.; CLARKSON, D.T. *The development and function of roots*. London: Academic Press, 1975.
- VEIGA JR, V.F.; PATITUCCI, M.L.; PINTO, A.C. Controle de autenticidade de óleos de copaiba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. *Química Nova*, v. 20, n. 6, p 612-615, 1997.
- YANKEP, E. et al. O-Geranylated isoflavones and a 3-phenylcoumarin from *Milletia griffoniana*.. *Phytochemistry*, v. 49, n. 8, 2521-2523, 1998.
- WILLIS, J.C. *A Dictionary of flowering plants and ferns*, 8th ed. Great Britain: Cambridge Press, 1973.
- ILDIS. International legume database & information service. Apr. 1999. Disponível em: <<http://www.ildis.org/Leguminosae>>. Acesso em 01 ago. 1999a.
- ILDIS. International legume database & information service. Espécies de *Copaifera*. 1999. Disponível em <<http://biol.soton.ac.uk/cgi-bin/legumeweb>>. Acesso em 01 set.1999b.
- WOODLAND, D.W. *Contemporary plant systematics*, USA: Prentice-Hall, 1991
- ZARUCCHI, J.L. *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*, London: Chapman & Hall, v. 1, 1994.

Capítulo

3

3.1. Introdução.....	32
3.2. Terpenos de <i>Copaifera</i> - levantamento bibliográfico.....	33
3.3. Terpenos de <i>Copaifera langsdorffii</i> do Crato.....	50



Copaifera officinalis [Copaifera, 2.000]

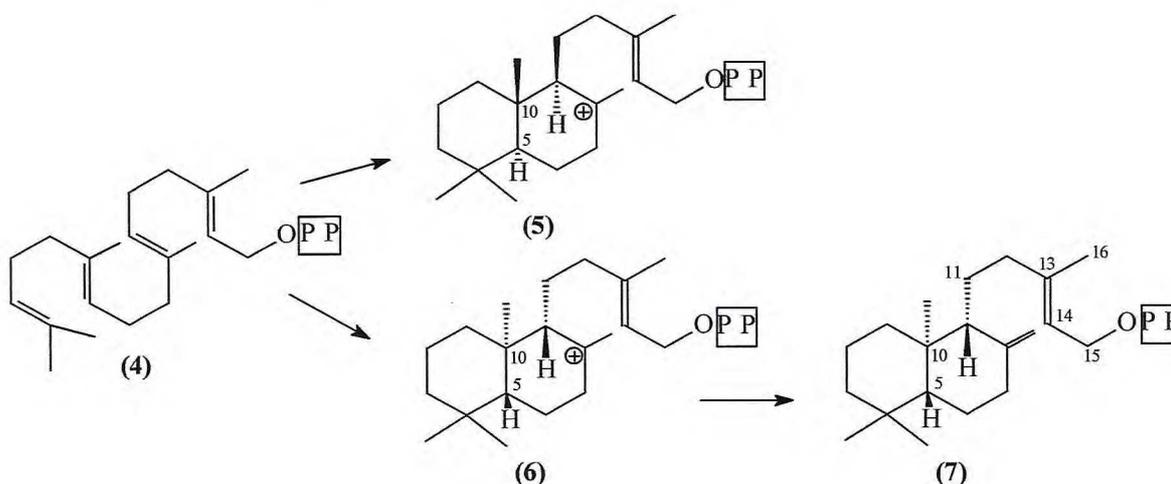
3. Terpenos de *Copaifera*

3.1. Introdução

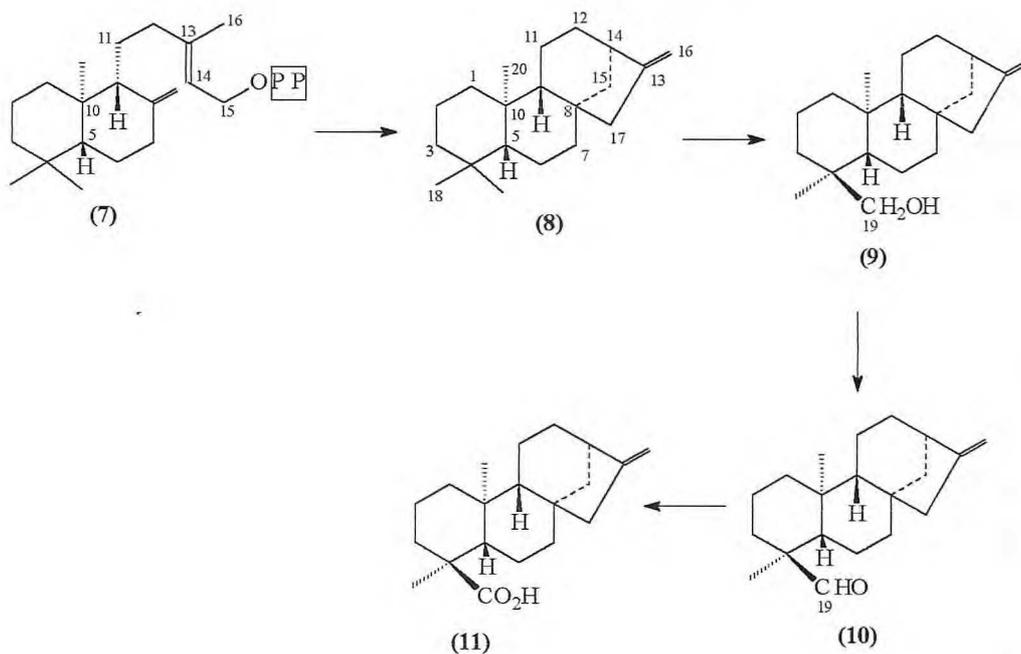
Os terpenos constituem a maior e mais estruturalmente variada classe de produtos do metabolismo secundário vegetal [Langenhein e Thimann, 1982]. Embora o termo "terpenos" pareça apropriado somente para hidrocarbonetos insaturados, ele é relacionado não somente aos oligômeros do isopreno, mas também a seus derivados saturados, bem como a outros dos seus derivados: álcoois, aldeídos, ésteres, etc. "Terpenóides" é o termo utilizado mais apropriadamente para designar tais derivados, cuja nomenclatura é geralmente relacionada ao nome comum, já que o nome sistemático em sua maioria é longo e complicado, obscurecendo a natureza terpênica do composto [Derfer, J. e Derfer, M., 1983].

Os terpenos são biossintetizados a partir do ácido mevalônico, cuja seqüência biossintética leva ao pirofosfato de geranylgeranila (4), precursor dos diterpenos. Duas ciclizações são possíveis para o pirofosfato de geranylgeranila fornecendo as configurações $5\alpha,10\beta$ (5) e $5\beta,10\alpha$ (6) nas junções dos anéis A:B, este último levando ao pirofosfato de copalila (7) [Mann, 1987] (Esquema 3.1). O pirofosfato de copalila (7) é então convertido a *ent*-caureno (8) por uma segunda ciclização catalizada pela caureno sintetase. Reações de oxidação do grupo metila C-19 do caureno fornecem o *ent*-caurenol (9), *ent*-caurenal (10) e ácido *ent*-caurenóico (11) [Vickery, M. e Vickery, B., 1981] (Esquema 3.2). As giberelinas são obtidas a partir do ácido caurenóico, enquanto que os álcoois nor-caurânicos podem ser obtidos da degradação dos aldeídos C-18 e C-19 [Vestri, Moraes e Roque, 1992].

Esquema 3. 1
Biossíntese de diterpenos *ent*-labdanos



Esquema 3. 2
Biossíntese de diterpenos *ent*-cauranos



3.2. Terpenos de *Copaifera* – Levantamento bibliográfico

Levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts*, *Institute for Cientific Information* (ISI, <http://www.webofscience.fapesp.br>), *International Legume Database & Information Service* (ILDIS, <http://ildis.org/leguminosae>), *Agricola* (<http://www.nal.usda.gov/>), nos resumos da SBQ, ABQ e SBPC, sobre espécies do gênero *Copaifera* revelou que o bálsamo de copaíba, bem como as folhas da Copaíba são constituídos principalmente de sesquiterpenos e diterpenos.

O primeiro relato de terpenos em *Copaifera* data de 1910, destacando a presença de sesquiterpenos bicíclicos e do α -cariofileno (21) no óleo de copaíba do Pará obtido de *Copaifera* sp [Deussen e Hahn, 1910]. Deussen e Eger (1911) relataram a preparação do β -nitrocariofileno a partir do β -cariofileno (22) presente no óleo de copaíba, e em 1932 a presença do cadineno no mesmo óleo.

Gottlieb (1945) estudou o bálsamo de *Copaifera* sp, identificando o β -cariofileno (22) e o isocariofileno (37) no óleo essencial.

Cocker, Moore e Pratt (1965) citaram o isolamento do ácido hardwickiico (52) a partir do lenho do caule de *Copaifera officinalis*, enquanto que Monache *et al* (1969) isolou o

mesmo ácido da fração ácida do bálsamo de *Copaifera multijuga* em bem como os ácidos (+)-7-hidróxi-hardwickiico (53) e copaiiférico (61). Monache *et al* (1970) relatou o isolamento do 11-acetóxilabda-8(20)-13-dien-15-oato de metila (56) e do ácido copaiiferólico (62).

O isolamento dos ácidos diterpênicos: copálico (63), *enantio*-agático (66) e *enantio*-3-hidróxi-labda-8(20), 13-dien-15-óico (67) a partir do óleo de copaíba comercial foi relatado por Mahajan e Ferreira (1971). No mesmo ano, a composição da fração neutra (50% do óleo-resina) do bálsamo de *C. multijuga* foi determinada por Monache *et al* (1971), mostrando ser constituída de 33% de hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 17% de sesquiterpenos oxigenados. Já o estudo do bálsamo de *Copaifera langsdorffii* foi relatado por Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni (1971) apresentando cerca de 50% de hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 25% de ácidos diterpênicos com esqueletos (-) labdânico e (-) caurânico, bem como o isolamento do β -bisaboleno (16), β -cariofileno (22) e α -copaeno (24), dos ácidos cauran-19-óico (44), caur-16-en-19-óico (45) e poliáltico (73) e identificação de α -bourboneno (17), γ -cadineno (18), α -humuleno (21) e cipereno (23).

Maia *et al* (1978) relatou a presença dos sesquiterpenos β -bisaboleno (16), δ -cadineno (19), α -humuleno (21), β -cariofileno (22), α -copaeno (24), cubebeno (26), β -elemeno (30), α -ilangeno (36), α -multijugenol (38) e óxido de cariofileno (41) no óleo de copaíba de *Copaifera* sp.

A utilização do óleo de copaíba como combustível alternativo foi proposta por Calvin (1980), bem como a determinação da composição do óleo de *Copaifera multijuga*.

Langenhein, Arrhenius e Nascimento (1981), mostrou o relacionamento da intensidade da luz na composição e rendimento dos sesquiterpenos presentes nas resinas das folhas de *Copaifera officinalis*, *Copaifera pubiflora* e *Copaifera multijuga*, e Craveiro *et al* (1981) mostraram que o óleo essencial das folhas de *Copaifera* sp era constituído principalmente de sesquiterpenos.

Sierra (1983) citou a utilização do óleo de copaíba de *Copaifera* sp como combustível, enquanto Arrhenius *et al* (1983) identificaram os sesquiterpenos presentes nas resinas das folhas de *Copaifera officinalis* e *Copaifera venezuelana* var. *laxa*.

As diferenças entre sesquiterpenos e compostos fenólicos de *Copaifera multijuga* com relação às características físico-químicas dos diferentes tipos de solos na floresta amazônica foram relatadas por Nascimento e Langenhein (1986). Langenhein *et al* (1986) e Macedo e Langenhein (1989a) mostraram o relacionamento entre os herbívoros lepidópteros e os sesquiterpenos encontrados nas folhas de *Copaifera langsdorffii*. A biossíntese de terpenóides em *Copaifera langsdorffii* foi investigada por Skarukrud (1987). E a influência da radiação solar

sobre o rendimento de sesquiterpenos das folhas desta espécie foi relatada por Feibert e Langenhein (1988).

Jacobson *et al* (1987) isolou o (-)- α -copaeno (24) a partir do óleo essencial do bálsamo de *Copaifera officinalis*. Jinliang e Langenhein (1990) descreveram o estudo sazonal e variação diurna dos principais sesquiterpenos (cariofileno (22) e selineno (42)) dos óleos essenciais das folhas de *Copaifera officinalis* e *Copaifera pubiflora*. Braga, Antunes e Pinto (1990) identificaram dois ácidos diterpênicos no óleo de *Copaifera cearensis*.

Braga, Pinto e Antunes (1991) utilizaram sílica modificada com hidróxido de potássio para separar os compostos terpênicos: hidrocarbonetos, álcoois e ésteres metílicos a partir do óleo de *Copaifera cearensis*.

Veiga Jr, Patitucci e Pinto (1993) citaram o isolamento dos ácidos caur-16-en-19-óico (45), daniélico (64) e pinifólico (72) a partir do óleo de copaíba comercial. Spavenello e Vila (1994) mostraram o isolamento do ácido 7 α -acetóxi-hardwickiico (46) a partir do óleo de copaíba comercial, e Costa e Imamura (1994) preparou derivados do ácido (+)-hardwickiico (52) obtido do bálsamo de *Copaifera sp.*

A detecção de terpenos no óleo de copaíba comercial por CGAR foi relatada por Patitucci, Veiga Jr e Pinto (1995). No mesmo ano, Pinto descreveu os terpenóides identificados no bálsamo de copaíba de copaíferas brasileiras como os ácidos: 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidróxi-1-ciclohexil)-pentanóico (12), cauranóico (44), caur-16-en-19-óico (45), crolequínico (49), clerodan-15,18-dióico (50), hardwickiico (52), agático (57), acetóxi-agático (58), acetóxi-copálico (59), catívico (60), copálico (63), daniélico (64), eperúico (69), labd-13-en-15-óico (71) e pinifólico (72) [Pinto, 1995].

Heiras e Barata (1996) citaram o isolamento dos ácidos caur-16-en-19-óico (45), *ent*-4-epi-agático (68) e poliáltico (73), enquanto Monti, Tiliacos e Faure (1996) isolaram (+)-7 α -acetóxi-bacchotricuneatina D (47) e (-)-3 β -hidróxi-15,16-dinorlabd-8(17)-en-13-ona (76), todos do óleo de copaíba comercial.

A síntese de sesterpenos a partir do ácido copálico (63) obtido de óleo de copaíba foi relatada por Santiago (1997). Braga *et al* (1998) obtiveram os derivados metilados dos ácidos 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidróxi-1-ciclohexil)-pentanóico (12), colavênico (48), crolequínico (49), 3-cleroden-15,18-dióico (50), 3-cleroden-15,16-olide-18-óico (51), hardwickiico (52), patagônico (54), catívico (60), copálico (63), eperuico (69) e 8-hidróxi-labdanóico (70) a partir do óleo de copaíba de *Copaifera cearensis*.

Cascon e Gilbert (1999) relataram o estudo da variação da composição química do óleo de copaíba de *Copaifera spp* identificando a presença de sesquiterpenos e diterpenos, e Monti, Tiliacos e Faure (1999) relataram o isolamento dos diterpenos Colavenol (55), 9,10-anti-

copalol (74) e (-)-15,16-dinorlabd-8(17)-en-3(β),13-diol (75). Pinto *et al* (2.000) separou ácidos diterpênicos de *Copaifera cearensis* por cromatografia usando gel de sílica impregnada com hidróxido de potássio. Cascon e Gilbert (2.000) relatou a presença de sesquiterpenos e diterpenos nos óleos de copaíba de *Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera duckei* Dwyer e *Copaifera guianensis* Desf.

A Tabela 3.1 (página 37) descreve os terpenos identificados em sete espécies de *Copaifera* das quais uma não foi identificada, sendo relacionados 30 sesquiterpenos e 33 diterpenos: 2 caurânicos, 10 clerodânicos e 21 labdânicos, cujas estruturas encontram-se mostradas nos Quadros 3.1 e 3.2 (páginas 40 e 42). Na Tabela 3.2 (página 44), encontram-se descritos os terpenos identificados em cada espécie do gênero *Copaifera*, sendo que os estudos referentes a óleos de copaíba comerciais e espécies não identificadas, são citados como originados de *Copaifera* sp.

Tabela 3.1
Terpenos identificados em espécies de *Copaifera*

Nº	Sesquiterpenos	1	2	3	4	5	6	7
12	Ác. 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidróxi-1-ciclohexil)-pentanóico							
13	α -Amorfeno							
14	Allo-aromadendreno							
15	α -Bergamoteno							
16	β -Bisaboleno							
17	α -Bourboneno							
18	γ -Cadineno							
19	δ -Cadineno							
20	Calameneno							
21	α -Cariofileno (α -humuleno)							
22	β -Cariofileno							
23	Cipereno							
24	α -Copaeno							
25	β -Copaeno							
26	Cubebeno							
27	α -Cubebeno							
28	β -Cubebeno							
29	Ar-curcumeno							
30	β -Elemeno							
31	γ -Elemeno							
32	δ -Elemeno							
33	β -Farneseno							

1 *C. sp*3 *C. officinalis*5 *C. venezuelana*7 *C. langsdorffii*2 *C. multijuga*4 *C. pubiflora*6 *C. cearensis*

Tabela 3.1 (continuação)
Terpenos identificados em espécies de *Copaifera*

Nº	Sesquiterpenos	1	2	3	4	5	6	7
34	β -Humuleno							
35	γ -Humuleno							
36	α -Ilangeno							
37	Isocariofileno							
38	α -Multijugenol							
39	α -Muuroleno							
40	γ -Muuroleno							
41	Óxido de cariofileno							
42	α -Selineno							
43	β -Selineno							
	Diterpenos caurânicos							
44	Ác. cauran-19-óico							
45	Ác. caur-16-en-19-óico							
	Diterpenos clerodânicos							
46	Ác. 7 α -acetóxi-hardwickiico							
47	(+)-7 α -Acetóxi-bacchotricuneatina D							
48	Ác. colavênico							
49	Ác. crolequínico							
50	Ác. 3-cleroden-15-18-dióico							
51	Ác. 3-cleroden-15,16-olide-18-óico							
52	Ác. hardwickiico							
53	Ác. (+)-7-hidróxi-hardwickiico							
54	Ác. patagônico							
55	Colavenol							

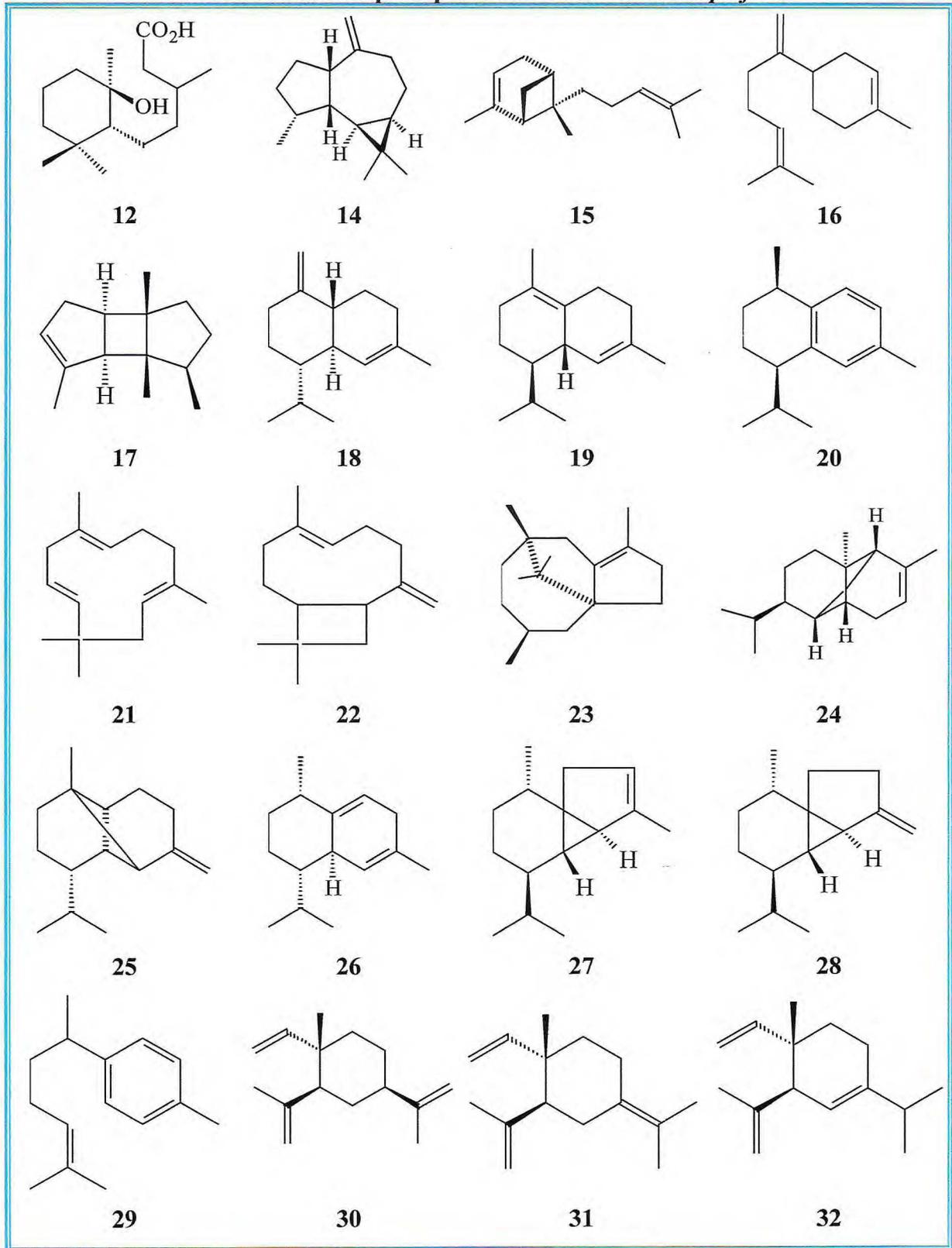
1 *C. sp*3 *C. officinalis*5 *C. venezuelana*7 *C. langsdorffii*2 *C. multijuga*4 *C. pubiflora*6 *C. cearensis*

Tabela 3.1 (continuação)
Terpenos identificados em espécies de *Copaifera*

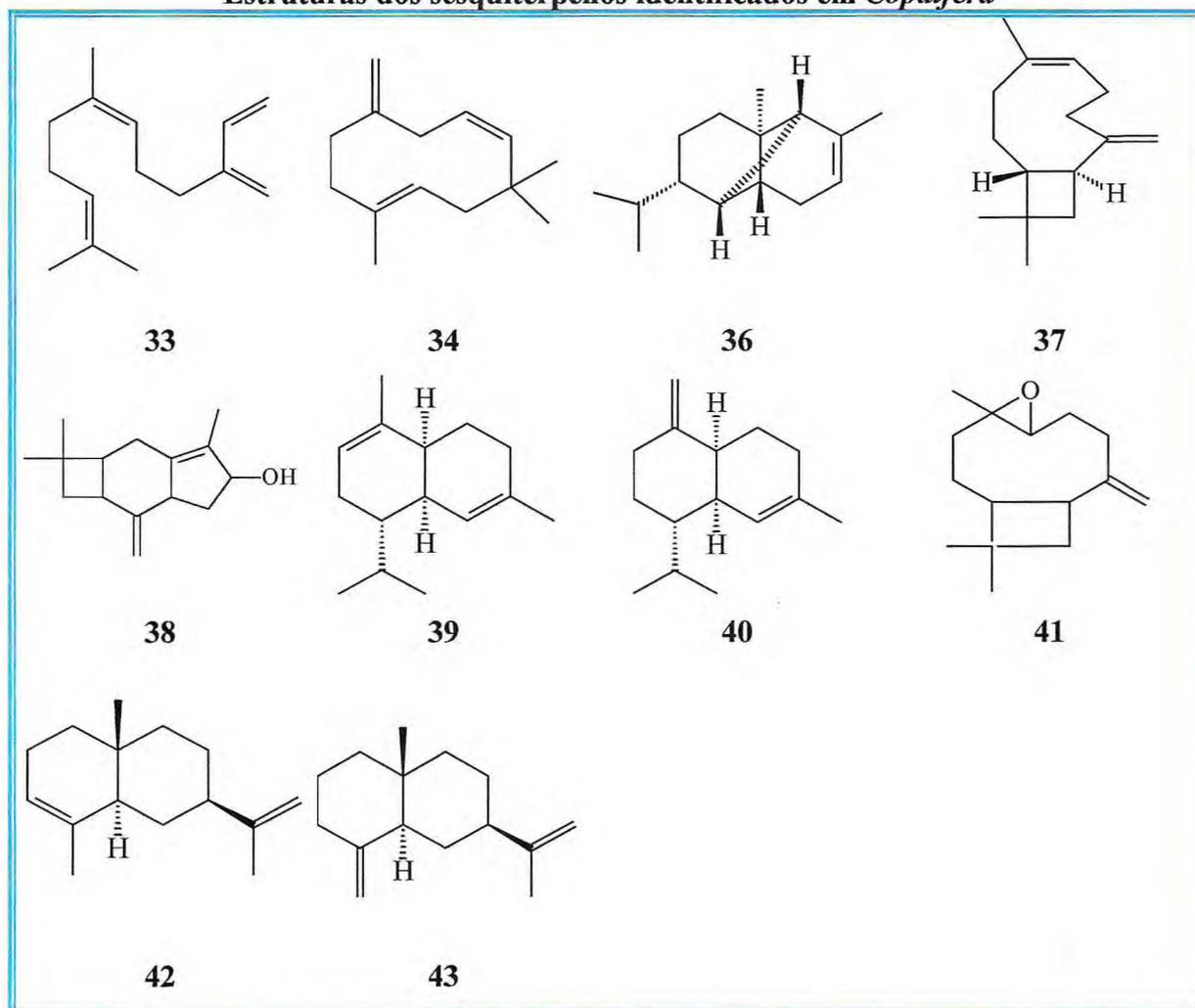
	Diterpenos labdânicos	1	2	3	4	5	6	7
56	11-Acetóxilabda-8(20)-13-dien-15-oato de metila							
57	Ác. agático							
58	Ác. acetóxi-agático							
59	Ác. acetóxi-copálico							
60	Ác. catívico							
61	Ác. copaiférico							
62	Ác. copaiferólico							
63	Ác. copálico							
64	Ác. daniélico							
65	Ac. dihidropoliáltico							
66	Ác. <i>enantio</i> -agático							
67	Ác. <i>enantio</i> -3-hidróxi-labda-8(20),13-dien-15-óico							
68	Ác. <i>ent</i> -4- <i>epi</i> -agático							
69	Ác. eperuico							
70	Ác. 8-hidróxi-labdanóico							
71	Ác. labda-13-en-15-óico							
72	Ác. pinifólico							
73	Ác. poliáltico							
74	9,10- <i>anti</i> -copalol							
75	(-)-15,16-Dinorlabda-8(17)-en-3(β),13-diol							
76	(-)-3 β -Hidróxi-15,16-dinorlabda-8(17)-eno-13-ona							

1 *C. sp*3 *C. officinalis*5 *C. venezuelana*7 *C. langsdorffii*2 *C. multijuga*4 *C. pubiflora*6 *C. cearensis*

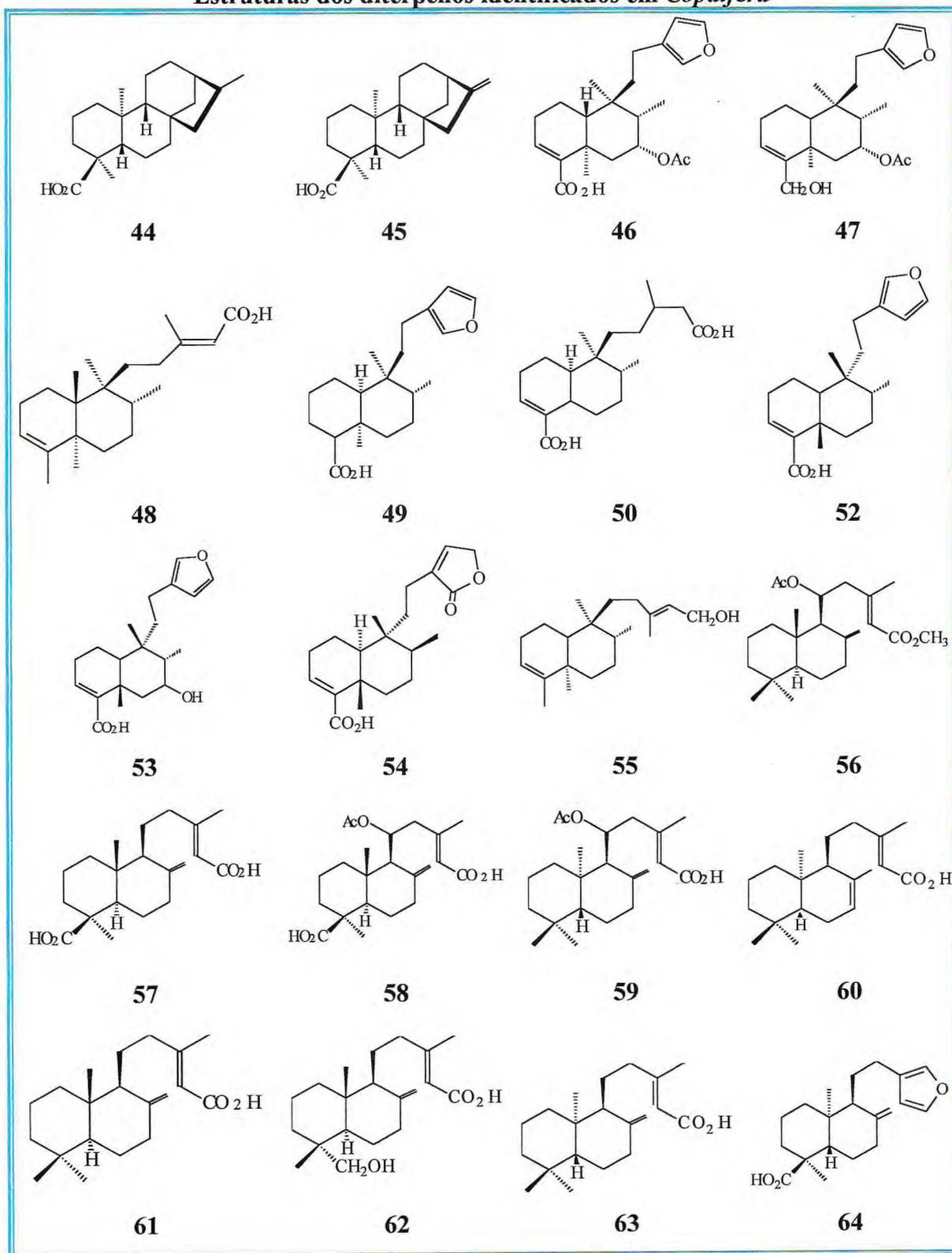
Quadro 3.1
Estruturas dos sesquiterpenos identificados em *Copaifera*



Quadro 3.1 (continuação)
Estruturas dos sesquiterpenos identificados em *Copaifera*



Quadro 3.2
Estruturas dos diterpenos identificados em *Copaifera*



Quadro 3.1(continuação)
Estruturas dos diterpenos identificados em *Copaifera*

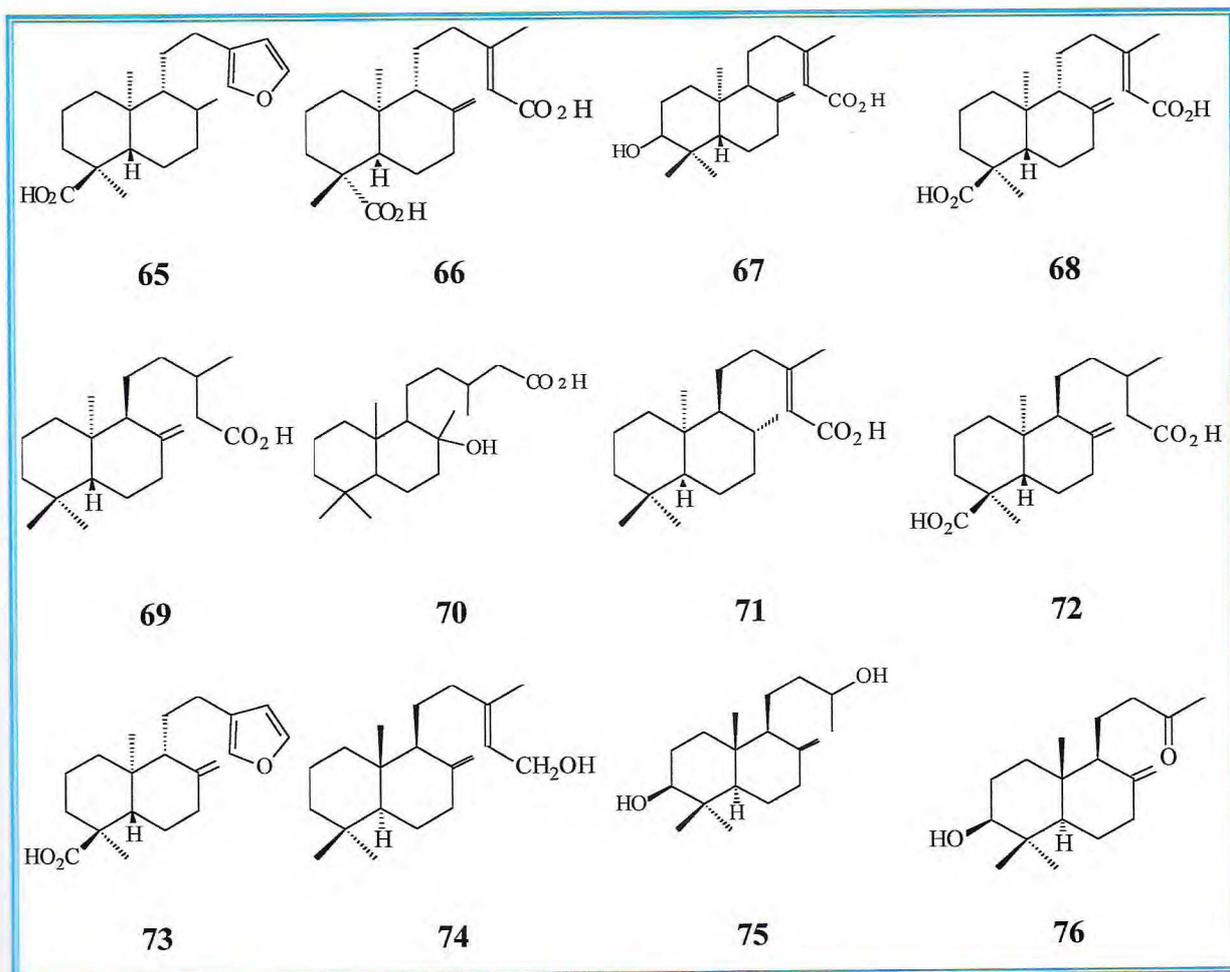


Tabela 3.2
Espécies de *Copaifera* com seus respectivos terpenos

Espécie	Terpenos identificados	Referências
<i>C. cearensis</i>	Ác. catívico (60)*	Braga <i>et al</i> , 1998
	Ác. 3-clerodeno-15,18-dióico (50)*	“
	Ác. 3-clerodeno-15,16-olide-18-óico (51)*	“
	Ác. colavênico (48)*	“
	Ác. copálico (63)*	“
	Ác. crolequínico (49)*	“
	Ac. dihidropoliáltico (65)	Braga, Pinto e Antunes, 1991
	Ác. eperuico (69)*	Braga <i>et al</i> , 1998
	Ác. hardwickiico (52)*	“
	Ác. 8-hidróxi-labdanóico (70)*	“
	Ác.3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidróxi-1-	“
	ciclohexil-pentanóico (12)*	“
	Ác. patagônico (54)*	“
Ac. poliáltico (73)	Braga, Pinto e Antunes, 1991	
<i>C. langsdorffii</i>	Ac. catívico (60)	Braga, Pinto e Antunes, 1991
	Ác. cauran-19-óico (44)	Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni, 1971
	Ác. caur-16-en-19-óico (45)	“
	Ác. copálico (63)	Braga, Pinto e Antunes, 1991
	Ac. hardwickiico (52)	“
	Ác. poliáltico (73)	Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni, 1971
	β-Bisaboleno (16)	“
	α-Bourboneno (17)	“
	γ-Cadineno (18)	“
		Langenhein <i>et al</i> , 1986
	δ-Cadineno (19)	“
	β-Cariofileno (22)	“
		Braga, Pinto e Antunes, 1991
		Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni, 1971
	Cipereno (23)	“
		Langenhein <i>et al</i> , 1986
	α-Copaeno (24)	Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni, 1971
		Langenhein <i>et al</i> , 1986
	β-Copaeno (25)	“
	α-Cubebeno (27)	“
	ar-Curcumeno (29)	Braga, Pinto e Antunes, 1991
β-Farneseno (33)	“	
α-Humuleno (21)	Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni, 1971	

* Obtido como éster metílico

Tabela 3.2 (continuação)
Espécies de *Copaifera* com seus respectivos terpenos

Espécie	Terpenos identificados	Referências
<i>C. langsdorffii</i>	β -Humuleno (34)	Langenhein <i>et al</i> , 1986
	γ -Muuroleno (40)	“
	Óxido de cariofileno (41)	“
	α -Selineno (42)	“
	β -Selineno (43)	“
<i>C. multijuga</i>	11-Acetóxilabda-8(20)-13-dien-15-oato de metila (56)	Monache <i>et al</i> , 1970
	Ác. hardwickiico (52)	“
	Ác. (+)-7-hidróxi-hardwickiico (53)	“
	Ác. copaiférico (61)	“
	Ác. copaiferólico (62)	“
	<i>allo</i> -Aromadendreno (14)	Calvin, 1980
	α -Bergamoteno (15)	“
	β -Bisaboleno (16)	Monache <i>et al</i> , 1971
	γ -Cadineno (18)	Calvin, 1980
	“	“
	δ -Cadineno (19)	Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981
	“	“
	Calameneno (20)	Calvin, 1980
	β -Cariofileno (22)	“
	“	Monache <i>et al</i> , 1971
	“	Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981
	Cipereno (23)	“
	“	Calvin, 1980
	α -Copaeno (24)	“
	“	Monache <i>et al</i> , 1971
	“	Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981
	β -Copaeno (25)	“
	α -Cubebeno (27)	“
	“	Calvin, 1980
	β -Cubebeno (28)	“
	ar-Curcumeno (29)	“
	β -Elemeno (30)	“
	γ -Elemeno (31)	“
	δ -Elemeno (32)	“
	β -Farneseno (33)	“
	α -Humuleno (21)	“

Tabela 3.2 (continuação)
Espécies de *Copaifera* com seus respectivos terpenos

Espécie	Terpenos identificados	Referências
<i>C. multijuga</i>	β -Humuleno (34) γ -Humuleno (35) α -Ilangeno (36) α -Multijugenol (38) γ -Muuroleno (40) Óxido de cariofileno (41) α -Selineno (42) β -Selineno (43)	Calvin, 1980 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 Monache <i>et al</i> , 1971 “ “ Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 Monache <i>et al</i> , 1971 Calvin, 1980 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 “ Calvin, 1980
<i>C. officinalis</i>	Ác. hardwickiico (52) γ -Cadineno (18) δ -Cadineno (19) β -Cariofileno (22) Cipereno (23) α -Copaeno (24) β -Copaeno (25) α -Cubebeno (27) β -Humuleno (21) γ -Muuroleno (40) α -Selineno (42) β -Selineno (43)	Cocker, Moore e Pratt, 1965 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 Sierra, 1983 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 “ Sierra, 1983 Jinliang e Langenhein, 1990 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 Sierra, 1983 “ Jacobson <i>et al</i> , 1987 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 “ “ Sierra, 1983 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 Sierra, 1983 “ Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981 “ Sierra, 1983 “ Jinliang e Langenhein, 1990 Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981

Tabela 3.2 (continuação)
Espécies de *Copaifera* com seus respectivos terpenos

Espécie	Terpenos identificados	Referências
<i>C. pubiflora</i>	<p>γ-Cadineno (18)</p> <p>δ-Cadineno (19)</p> <p>β-Cariofileno (22)</p> <p>Cipereno (23)</p> <p>α-Copaeno (24)</p> <p>β-Copaeno (25)</p> <p>α-Cubebeno (28)</p> <p>β-Humuleno (34)</p> <p>γ-Muuroleno (40)</p> <p>α-Selineno (42)</p> <p>β-Selineno (43)</p>	<p>Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>Jinliang e Langenhein, 1990</p> <p>Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>Jinliang e Langenhein, 1990</p> <p>Langenhein, Arrhenius e Nascimento, 1981</p>
<i>C. sp</i>	<p>Ac. acetóxi-agático (58)</p> <p>(+)-7α-Acetóxi-bacchotricuneatina D (47)</p> <p>Ác. acetóxi-copálico (59)</p> <p>Ác. 7α-acetóxi-hardwickiico (46)</p> <p>Ác. agático (57)</p> <p>Ác. catívico (60)</p> <p>(+)-7α-acetóxi-bacchotricuneatina D (47)</p> <p>Ac. 7-α-acetóxi-hardwickiico (46)</p> <p>Ác. cauranóico (44)</p> <p>Ác. caur-16-en-19-óico (45)</p> <p>Ác. crolequínico (49)</p> <p>Ác. clerodan-15, 18-dióico (50)</p> <p>Ác. copálico (63)</p> <p>Ác. daniélico (64)</p> <p>Ác. <i>enantio</i>-agático (66)</p>	<p>Pinto, 1995</p> <p>Monti, 1996</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Cascon, 1999</p> <p>Spavenello, 1994</p> <p>Cascon, 1999</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>“</p> <p>Monti, Tiliacos e Faure, 1996</p> <p>Spavenello e Vila, 1994</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Veiga Jr, Patitucci e Pinto, 1993</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Heiras e Barata, 1996</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>“</p> <p>Mahajan e Ferreira, 1971</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Veiga Jr, Patitucci e Pinto, 1993</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Mahajan e Ferreira, 1971</p>

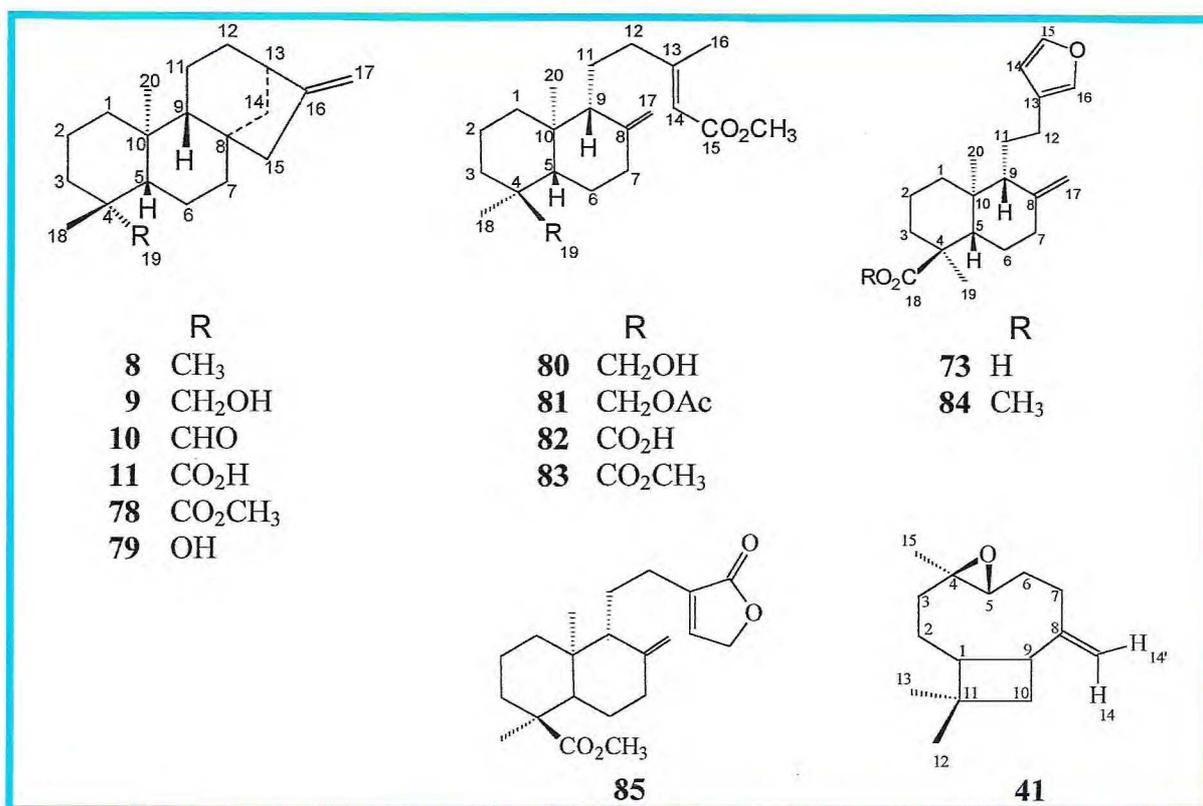
Tabela 3.2 (continuação)
Espécies de *Copaifera* com seus respectivos terpenos

Espécie	Terpenos identificados	Referências
C. sp	<p>Ác. <i>enantio</i>-3-hidróxi-labda-8(20), 13-dien-15-óico (67)</p> <p>Ác. <i>ent</i>-4-epi-agático (68)</p> <p>Ác. eperúico (69)</p> <p>Ác. <i>hardwickiico</i> (52)</p> <p>Ác. labd-13-en-15-óico (71)</p> <p>Ac. 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidróxi-1-ciclohexil) -pentanóico (12)</p> <p>Ác. pinifólico (72)</p> <p>Ác. poliáltico (73)</p> <p>α-Amorfeno (13)</p> <p><i>allo</i>-Aromadendreno (14)</p> <p>α-Bergamoteno (15)</p> <p>β-Bisaboleno (16)</p> <p>γ-Cadineno (18)</p> <p>δ-Cadineno (19)</p> <p>Calameneno (20)</p> <p>α-Cariofileno (21)</p> <p>β-Cariofileno (22)</p> <p>α-Copaeno (24)</p> <p>Cipereno (23)</p> <p>Cubebeno (26)</p>	<p>Mahajan e Ferreira, 1971</p> <p>Heiras e Barata, 1996</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>“</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>Veiga Jr, Patitucci e Pinto, 1993</p> <p>Pinto, 1995</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Heiras e Barata, 1996</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>“</p> <p>“</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>“</p> <p>Craveiro <i>et al</i>, 1981</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Maia <i>et al</i>, 1978</p> <p>Craveiro <i>et al</i>, 1981</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Deussen, 1932</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Maia <i>et al</i>, 1978</p> <p>Craveiro <i>et al</i>, 1981</p> <p>Cascon, 1999</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Deussen e Hahn, 1910</p> <p>Deussen e Eger, 1911;</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Maia <i>et al</i>, 1978</p> <p>Craveiro <i>et al</i>, 1981</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Maia <i>et al</i>, 1978</p> <p>Craveiro <i>et al</i>, 1981</p> <p>Cascon e Gilbert, 1999</p> <p>Wenninger, 1967</p> <p>Maia <i>et al</i>, 1978</p>

3.3. Terpenos de *Copaifera langsdorffii* do Crato

O levantamento bibliográfico sobre terpenos do gênero *Copaifera* revelou alguns estudos sobre *Copaifera langsdorffii*, principalmente sobre o bálsamo e a resina das folhas (item 3.2). O estudo do bálsamo e dos extratos obtidos de partes de um exemplar de *C. langsdorffii* do Crato-CE mostrou que os principais constituintes encontrados eram diterpenos (-) caurânicos e (-) labdânicos. Já seus respectivos óleos essenciais eram constituídos principalmente de sesquiterpenos (Capítulo 4, página 55).

14 terpenos foram isolados a partir do óleo de copaíba obtido de *Copaifera langsdorffii* Desf. em estudo, dos quais 13 eram diterpenos e 1 sesquiterpeno. Dos diterpenos isolados, seis *ent*-caurenos foram obtidos, sendo cinco como Produtos Naturais: *ent*-caur-16-eno (8), *ent*-caur-16-en-19-ol (9), *ent*-caur-16-en-19-al (10), ác. *ent*-caur-16-en-19-óico (11) e 19-*nor*-caur-16-en-4 α -ol (ruilopeziol) (79), e um como derivado: *ent*-caur-16-en-19-oato de metila (78); sete *ent*-labdanos foram obtidos, sendo três isolados como Produtos Naturais: 18-hidróxi-*ent*-labda-8(17),13(*E*)-dieno-15-oato de metila (*ent*-copaiferolato de metila) (80), ácido *ent*-labda-8(17),13(*E*)-dien-15-metóxicarbonil-18-óico (*ent*-4-*epi*-agatato de metila) (82), ác. poliáltico (73); quatro obtidos como derivados: éster metílico do nivenolídeo (85), *ent*-labda-8(17),13(*E*)-dien-15,18-oato de dimetila (83), polialtato de metila (84) e 18-acetóxi-*ent*-labda-8(17),13(*E*)-dieno-15-oato de metila (18-acetil-*ent*-copaiferolato de metila) (81). O sesquiterpeno isolado foi identificado como óxido de cariofileno (41).



Diterpenos representativos dos diversos estágios do esquema biossintético mostrado nos Esquemas 3.1 e 3.2 (páginas 32 e 33) foram isolados do óleo de copaíba. Os diterpenos caurânicos obtidos, seguem a oxidação no C-19, a partir do *ent*-caur-16-eno, seguindo-se *ent*-caur-16-en-19-ol, *ent*-caur-16-en-19-al e ácido *ent*-caur-16-en-19-óico. Vestri, Moraes e Roque (1992) citaram a degradação *in vitro* de aldeídos com esqueleto caurânico levando a formação de 18- ou 19 *nor*-cauranos, desta forma, é possível propor que o 19-*nor*-caur-16-en-4 α -ol (ruilopezol) isolado de *Copaifera langsdorffii*, pode estar relacionado ao produto de degradação do *ent*-caur-16-en-19-al.

Os diterpenos: *ent*-caur-16-en-19-al, *ent*-caur-16-eno, éster metílico do nivenolídeo, *ent*-4-*epi*-agatato de metila, *ent*-caur-16-en-19-ol, ruilopezol e éster metílico do ácido *ent*-copaiferólico, estão sendo citados pela primeira vez como produto natural obtido de *Copaifera langsdorffii* e para o gênero *Copaifera*.

Dos dados até agora mencionados, pôde-se estabelecer um perfil químico-espectrométrico do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii*, já que a principal ferramenta utilizada por nós na identificação dos constituintes químicos do óleo de copaíba foi a RMN, revelando os ácidos *ent*-caur-16-en-19-óico e poliáltico como principais constituintes da resina e o β -cariofileno, o principal constituinte do óleo essencial do bálsamo do espécime estudado.

Referências Bibliográficas

- ARRHENIUS, S.P., *et al.* Sesquiterpenes in leaf pocket resins of *Copaifera* species. *Phytochemistry*, v. 22, n. 2, p. 471-472, 1983.
- BRAGA, W.F., ANTUNES, O.A.C e PINTO, A.C. Constituintes do óleo de *Copaifera cearensis*. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 13., 1990, Caxambu. *Resumos...*São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1990. PN-035.
- BRAGA, W.F.; PINTO, A.C.; ANTUNES, O.A.C. Fracionamento do óleo de *copaifera cearensis* por cromatografia em sílica modificada com hidróxido de potássio. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 14., 1991, Caxambu. *Resumos...*São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1991. PN-011.
- BRAGA, W.F *et al.* Terpenoids from *Copaiba Cearensis*, *Phytochemistry*, v. 49, n. 1, p. 263-264, 1998.
- CALVIN, M. Hydrocarbons from plants: analytical methods and observations. *Naturwissenschaften*, v. 67, p. 525-533, 1980.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Estudo da variação de composição química de óleo-resinas de *Copaifera* spp. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 3., 1999, São Paulo. *Resumos...*1999. p.171-172.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of chemical composition of oleoresina of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry*, v. 55, p. 773-778, 2000.
- COCKER, W.; MOORE, A.L.; PRATT, A.C. Dextrorotatory hardwickiic acid. an extractive of *Copaifera officinalis*, *Tetrahedron Lett*, v. 24, p. 1983-1985, 1965.
- COPAIFERA officinalis. Formato jpg. Disponível em <www.mobot.org>. Acesso em [2.000].
- COSTA, M.; IMAMURA, P.M. Estudo de RMN ¹³C do ácido hardwickiico. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 17., 1994, Caxambu. *Resumos...*São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1994. PN-30.
- CRAVEIRO, A.A *et al.* *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: Ed. UFC, 1981.
- DERFER, J.M.; DERFER, M.M.; Terpenoids, *Encyclopedia of chemical technology* -Kirk-Othmer, 3rd ed. N.Y: John Wiley, v. 22, p. 709-762, 1983.
- DEUSSEN, E.; HAHN, A. Copaiba oil. *Chem.-Ztg.*, v. 34, p. 873, 1910. CA 5:147.
- DEUSSEN, E.; EGER, B. Copaiba balsam oil. *Chem.-Ztg.*, v. 36, p. 561-562, 1911. CA 6:2488.
- DEUSSEN, E. Copaiba balsam. *Arch. Pharm.*, v. 270, p. 263-276, 1932. CA 26:3940.

FEIBERT, E.B.; LANGENHEIN, J.H. Leaf resin variation in *Copaifera langsdorffii*: relation to irradiance and herbivory. *Phytochemistry*, v. 27, n. 8, p. 2527-2532, 1988.

FERRARI, M.; PAGNONI, U.M.; PELIZZONI, F. Terpenoids from *Copaifera langsdorffii*. *Phytochemistry*, v. 10, p. 905-907, 1971.

GOTTLIEB, O.R. Study of copaiba balsam. *Rev. Quim.ind.* v. 14, n. 163, p. 20-21, 1945.

HEIRAS, C.A.; BARATA, L.E.S. Terpenos isolados de *Copaifera* sp. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 19., 1996, Poços de Caldas. *Resumos...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1996. PN-121.

JACOBSON, M *et al.* Optical isomers of α -copaene derived from several plant sources. *J. Agric. Food Chem.* v. 35, p. 798-800, 1987.

JINLIANG, W; LANGENHEIN, J.H. Seasonal and diurnal variation in leaf sesquiterpenes of greenhouse-grow saplings of *Hymenaea* and *Copaifera*. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, v. 12, n. 1, p. 85-91, 1990. CA 113:37761b.

LANGENHEIN, J.H.; ARRHENIUS, S.P.; NASCIMENTO, J.C. Relationship of light intensity of leaf resin composition and yield in the tropical leguminous genera *Hymenaea* and *Copaifera*. *Biochem. Syst. And Ecology*, v. 9, n. 1, p. 27-37, 1981.

LANGENHEIN, J.H.; THIMANN, K.V. *Botany-plant biology and its relation to human affairs*. New York: John Wiley, 1982.

LANGENHEIN, J.H *et al.* *Hymenaea* and *Copaifera* leaf sesquiterpenes in relation to lepidopteran herbivory in southeastern brazil. *Biochem. Syst. And Ecology*, v. 14, n. 1, p. 41-49, 1986.

MACEDO, C.A.; LANGENHEIN, J.H. Microlepidopteran herbivory in relation to leaf sesquiterpenes in *Copaifera langsdorffii* adult trees and their seedling progeny in a brazilian woodland. *Biochem. Syst. And Ecology*, v. 17, n.3, p. 217-224, 1989.

MACEDO, C.A.; LANGENHEIN, J.H. Intra- and interplant leaf sesquiterpene variability in *Copaifera langsdorffii*: relation to microlepidopteran herbivory. *Biochem. Syst. And Ecology*, v. 17, n. 7/8, p. 551-557, 1989.

MAHAJAN, J.R.; FERREIRA, G.A.L. New diterpenoids from copaiba oil. *An. Acad. Brasil, Ciênc.*, v. 43, n. 3/4, p. 611-613, 1971.

MAIA, J.G *et al.* Estudo químico de óleos essenciais, oleaginosas e látices da amazônia. I. composição e oxidação do óleo de uma espécie de *Copaifera*. *Acta amazon.* v. 8, n. 4, p. 705, 1978.

MONACHE, F. D *et al.* Diterpenes from *Copaifera multijuga*. I. *Ann. Chim.*, v. 59, n. 6, p. 539-551, 1969. CA 71:124707.

MONACHE, F. D *et al.* Diterpenes from *Copaifera multijuga*. II. Copaiferolic and 11-hydroxyabda-8(20),13-dien-15-oic acids. *Ann. Chim.*, v. 60, n. 3, p. 233-245, 1970. CA 73:25690.

- MONACHE, G.D *et al.* α -Multijugenol, a new sesquiterpenic alcohol with caryophyllane carbon skeleton. *Tetrahedron Lett.* v. 8, p. 659-660, 1971.
- MONTI, H., TILIACOS, N.; FAURE, R.; Two diterpenoids from copaiba oil, *Phytochemistry*, v. 42, p. 1653-1653, 1996.
- MONTI, H., TILIACOS, N.; FAURE, R. Copaiba oil: isolation and characterization of a new diterpenoid with the dinorlabdane skeleton. *Phytochemistry*, v. 51, p. 1013-1015, 1999.
- NASCIMENTO, J.C.; LANGENHEIN, J.H.; Leaf sesquiterpenes and phenolics in *Copaifera multijuga* on contrasting soil types in a central amazonian rain forest. *Biochem. Syst. Ecol.* v. 14, n. 6, p. 615-624, 1986. *CA*, 106:49177.
- PATITUCCI, M.L.; VEIGA JR., V.F.; PINTO, A.C. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. *Quím. Nova*, v. 18, n. 3, p. 262-266, 1995.
- PINTO, A.C. O Brasil dos viajantes e dos exploradores e a química de produtos naturais brasileira. *Quím. Nova*, v. 18, n. 6, p. 608-615, 1995.
- PINTO, A.C. *et al.* Separation of acid diterpenes of *copaifera cearensis* huber ex ducke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated sílica gel. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 11, n. 4, p. 355-360, 2.000.
- SANTIAGO, G.M.P. *Síntese de sesterpenos a partir do ácido copálico: síntese de ésteres (s)-o-metilmandelatos do hyrtiosal e ent-hyrtiosal e estudo sobre a síntese do ent-queilantenodiol.* 1997. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- SIERRA, G.G. *Copaifera*, a trees as a source of diesel fuel in Colômbia. *Rev. Ion*, v. 7, n. 2, p. 141-142, 1983. *CA* 102:152055.
- SPANEVERELLO, R.A.; VILA, A.J. 7- α -Acetoxyhardwickiic acid: a furanoid clerodane, *Phytochemistry*, v. 35, n. 2, p. 537-538, 1994.
- SKRUKRUD, C.L. Terpenoid biosynthesis in *Euphorbia lathyris* and *Copaifera* spp. *Energy Res.*, v. 13, n. 2, Abstr. nº 3255, 1988.
- VEIGA JR., F.V.; PATITUCCI, M.L.; PINTO, A.C. Estudo da incidência de ácidos carboxílicos em *Copaiferas* Brasileiras. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 6., 1993, Caxambu. *Resumos...*São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 1993. IC-57
- VESTRI, S.A., MORAES, M.P.L.; ROQUE, N.F. Nor-atisanos de *Xylopiá aromática*: Produtos de degradação do 16 α -hidróxi-18-atisanal. *Quím. Nova*, v. 15, n. 4, p. 295-297, 1992.
- VICKERY, M.L.; VICKERY, B. *Secondary plant metabolism.* Hong Kong: The Macmillan Press, 1981. 335p.
- WENNINGER, J.A., YATES, R.L.; DOLINSKY, M. Sesquitertene hydrocarbons of commercial copaiba and american cedarwood oils. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* v. 50, n.6, p. 1304-1313, 1967.

Capítulo

4

Bioatividades de Copaifera

4.1. Introdução.....	56
4.2. Atividade antimicrobiana de <i>Copaifera</i>	57
4.3. Atividade antiinflamatória de <i>Copaifera</i>	57
4.4. Atividade antiulcerogênica de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. .	58
4.5. Atividade antinociceptiva de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf..	58
4.6. Atividade cicatrizante de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	59
4.7. Outras bioatividades de <i>Copaifera</i>	59



Cássia afro fistulosa. Fotógrafo: Dan Skean
[Skean, 1999]

4. Bioatividades de *Copaifera*

4.1. Introdução

As plantas apresentam-se como uma inesgotável fonte de metabólitos secundários com uma variedade de classes de compostos extraordinária. Embora o estudo dos usos medicinais das plantas tenha levado a descoberta de fármacos importantes, as possibilidades de se chegar a esses conhecimentos estão se perdendo rapidamente, à medida que as culturas tribais desaparecem e grupos inteiros de populações perdem estilos de vida tradicionais.

Conhecimentos valiosos que foram acumulados durante milhares de anos de tentativa e erro estão sendo esquecidos num curto período de tempo. Grande parte dessas informações tem sido transmitida oralmente, não existindo, portanto registros, levando a destruição de um dos principais direcionadores da pesquisa científica a partir de plantas medicinais: o conhecimento popular [Raven, Evert e Eichborn, 1996].

O deslocamento de populações para as grandes cidades, o crescimento urbano e conseqüentemente o desmatamento de zonas arbóreas, conduz à extinção de espécies botânicas sem que ao menos tenhamos a possibilidade de estudá-las.

Segundo Ferreira *et al* (1998), grande parte dos medicamentos que estão no mercado origina-se de produtos naturais, em especial, de plantas. Entre as vinte drogas mais vendidas nos EUA em 1988, apenas sete não derivavam diretamente de produtos naturais.

Das espécies de plantas estudadas para a obtenção de drogas, encontram-se as espécies da família Leguminosae. Dentre estas, destacam-se as copaíferas, que fornecem o óleo de copaíba, usado secularmente pelos indígenas, que provavelmente foram os descobridores de suas atividades como cicatrizantes de úlceras e feridas, assim como anti-tetânico, especialmente sobre o umbigo dos recém-nascidos. Os estudos biológicos relacionados com o gênero *Copaifera* estão relacionados principalmente com o óleo de copaíba, devido ao leque de propriedades terapêuticas atribuídas a este óleo, principalmente como antiinflamatório e cicatrizante [Corrêa, 1984], e da ausência de toxicidade do óleo, embora vômitos e diarréia tenham sido relatados quando consumidos em grandes doses [Leung, 1980].

4.2. Atividade antimicrobiana

Estudos da atividade antimicrobiana de *Copaifera* encontrados na literatura referem-se principalmente ao óleo de copaíba comercial. Dentre estes, a atividade antimicrobiana deste óleo contra o microrganismo *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144) foi relatada por Sá de Lima *et al* (1995). A comparação entre as atividades antimicrobianas do óleo de copaíba e suas frações ácida e neutra contra os microrganismos *Staphylococcus aureus* (IAO1), *Micrococcus luteus* IA, *Bacillus cereus* (IA11), *Nocardia asteróides* (IA3503), *Pseudonocardia termophyla* (IA3517) e *Bacillus subtilis* (IA17) utilizando o método de difusão de disco em ágar, mostrou que as frações ácida e neutra apresentaram menor atividade do que o óleo de copaíba bruto frente aos microrganismos estudados [Marcelino Jr *et al*, 1997]. Gramosa (1994) e Gramosa, Lemos e Melo (1995), relataram a atividade do óleo essencial do bálsamo de copaíba comercial seguindo o método de difusão em placa contra os microrganismos: *Bacillus subtilis* (ATCC 6.633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Escherichia coli* (ATCC 29.214) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27.853), mostrando que o óleo essencial do óleo de copaíba comercial apresentou atividade positiva contra os microrganismos estudados, em especial *Staphylococcus aureus*.

4.3. Atividade antiinflamatória

As atividades antiinflamatórias descritas na literatura para o gênero *Copaifera*, também estão relacionadas ao óleo de copaíba, tanto que a atividade do óleo de *Copaifera cearensis* relatada por Fernandes, Pereira e Paulo (1992) foi medida utilizando o modelo de edema de pata em ratos, induzidos por carragenina. Veiga Jr, Calixto e Pinto (1997) e Basile *et al* (1988) descreveram as atividades dos óleos de *Copaifera multijuga* e *Copaifera* sp, respectivamente, utilizando o mesmo modelo.

A atividade antiinflamatória de *Copaifera langsdorffii* objeto de nosso estudo foi avaliada no Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, a partir do óleo de copaíba e do óleo essencial extraído da casca do fruto utilizando modelo de edema na orelha de camundongo, induzido pela aplicação tópica do óleo de cróton 2,5%. Os animais foram tratados por via oral e tópica, sendo que o óleo de copaíba apresentou diminuição significativa do edema por via oral, porém a aplicação tópica não promoveu redução significativa. Já o óleo essencial, promoveu diminuição significativa do edema por aplicação tópica, mas não por via oral.

Os resultados fornecidos a partir da investigação da atividade antiinflamatória do óleo de copaíba e do óleo essencial da casca do fruto de *C. langsdorffii*, objeto de nosso estudo foram apresentados por Paiva *et al* (1996a) no XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil.

4.4. Atividade antiulcerogênica

O levantamento bibliográfico relacionado com o gênero *Copaifera* não revelou nenhum estudo referente a atividade antiulcerogênica em nenhuma espécie deste gênero. Desta forma, o estudo da atividade antiulcerogênica utilizando o óleo de *C. langsdorffii*, foi investigada no Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC a partir de modelos experimentais de lesões gástricas induzidas pelo etanol, indometacina, estresse por retenção e frio, ácido acético e isquemia-perfusão em ratos. Este óleo demonstrou inibição de lesões gástricas induzidas por estresse, antiinflamatórios e álcool, além de baixa toxicidade e mortalidade em camundongos até dose de 5g/Kg.

Os dados obtidos do estudo da atividade antiulcerogênica do óleo de copaíba de *C. langsdorffii*, foram sujeitos de uma dissertação de mestrado no Departamento de Fisiologia e Farmacologia [Paiva, 1999] e apresentados por Paiva na 12ª Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental em 1997, além de duas publicações [Paiva, Rao, Gramosa e Silveira, 1998a; Paiva, Rao e Silveira, 1998b].

4.5. Atividade antinociceptiva

A atividade antinociceptiva relacionada com a espécie *Copaifera langsdorffii* em estudo, foi investigada a partir do óleo essencial da casca do fruto e do óleo de copaíba, utilizando modelos experimentais de nocicepção química (ácido acético) e térmica (placa quente) em camundongos.

A nocicepção química foi induzida pela administração de ácido acético 0,6% e registrado o número de contorções abdominais durante 20 minutos. Na nocicepção térmica, os animais foram colocados na placa quente e registrado o tempo (em segundos) em que os animais levaram para saltar e lambe as patas traseiras.

O óleo essencial da casca do fruto e o óleo de copaíba apresentaram teste positivo para os ensaios de nocicepção química e térmica.

Os dados obtidos a partir dos ensaios da atividade antinociceptiva investigados para a copaíba foram apresentados por Paiva no XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil em 1996b.

4.6. Atividade cicatrizante

A atividade cicatrizante do óleo de copaíba foi verificada em modelos experimentais de feridas em fêmeas de ratos Wistar albino, através do monitoramento da contração de ferida aberta. As feridas foram obtidas por incisão na região dorsal, removendo 2 cm de pele e tecido subcutâneo, sendo tratadas topicamente com óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* na concentração de 2% e 4% uma vez ao dia durante 21 dias.

Valores significantes da contração da ferida nas ratas tratadas com o óleo-resina no 9º dia eram $84,05 \pm 2,37\%$ contra $51,29 \pm 9,54\%$ observados nos controles.

Os resultados indicaram o efeito benéfico do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* Desf sobre feridas justificando o seu uso como cicatrizante na medicina popular.

Os dados obtidos a partir destes ensaios foram apresentados por Paiva, Silveira e Rao (2.000) no XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil e resultou em uma publicação [Paiva, De Alencar Cunha, Santos, Gramosa, Silveira e Rao, 2001].

4.7. Outras bioatividades de *Copaifera*

Outras citações relativas a bioatividades de *Copaifera* foram encontradas na literatura, dentre as quais podemos citar: efeitos em erupções cutâneas (*Copaifera* sp, bálsamo), efeitos sobre nervos olfatórios [Meyer, 1928] (*Copaifera* sp, bálsamo), inibição no crescimento de fibroblastos (*Copaifera* sp, bálsamo) [Saito, 1936], agente antimofos para xaropes (*Copaifera* sp, bálsamo) [Lord e Husa, 1954], atividade antitumoral (*Copaifera* sp, bálsamo) [Ohsaki *et al*, 1994], atividade virucida [Kajama, 1996], inibição aos danos no DNA mediados por radicais livres (*Copaifera reticulata*, casca do caule) [Desmarchelier, Coussio e Cicia, 1997].

Referências Bibliográficas

- BASILE, A.C. *et al.* Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. *J. Ethnopharmacol.* v. 22, n. 1, p. 101-109, 1988.
- CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. II, p 370-375, 1984.
- DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CÍCIA, G.; Extracts of Bolivian plants, *Copaifera reticulata* and *Heisteria pallida* inhibit *in vitro* free radical-mediated DNA Damage. *Phytotherapy Research*, v. 11, p. 460-462, 1997.
- FERNANDES, R.M.; PEREIRA, N.A.; PAULO, L.G. Anti-inflammatory activity of copaíba balsam (*Copaifera cearensis*, Huber). *Rev. Bras. Farm.*, v. 73, n. 3, p. 53-56, 1992.
- FERREIRA, S.H. *et al.* *Medicamentos – a partir de plantas medicinais no Brasil*, Academia Brasileira de Ciências, 1998.
- GRAMOSA, N.V. *Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste: Capparis flexuosa e Estudo químico da autoxidação do b-cariofileno em óleos essenciais*. 1994. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1994.
- GRAMOSA, N.V.; LEMOS, T.L.G.; MELO, V.M.M. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Capparis flexuosa* e copaíba comercial. ENCONTRO DE QUÍMICA DO NORDESTE, 6., E ENCONTRO NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO QUÍMICA, 3., 1995, Teresina. *Resumos...1995*. QO14.
- LEUNG, A.Y. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics*. New York: John Wiley, 1980.
- LORD JR, C.F.; HUSA, W.J. Antimolding agents for syrups, *J. Am. Pharm. Assoc.* v. 43, p. 438-440, 1954.
- MARCELINO JR *et al.* Estudo da atividade antimicrobiana do óleo de copaíba, REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 20, 1997, Poços de Caldas. *Resumo...São Paulo: Sociedade Brasileira de Química*, 1997.
- MEYER, W. Physiological and psychological action of certain drugs, and their application in perfumery. *Pharm, ztg*, p. 284-285, 1928.
- PAIVA, L.A.F. *et al.* Estudo da atividade antiinflamatória da *Copaifera langsdorfii*. SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 14., 1996a. Florianópolis. *Resumos...1996a*. F 011.
- PAIVA, L.A.F. *et al.* Estudo da atividade antinociceptiva do óleo de *Copaifera langsdorfii* (Copaíba), SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 14., 1996b. Florianópolis. *Resumos...1996b*. F 055.

- PAIVA, L.A.F. *et al.* Atividade antiulcerogênica da *Copaifera langsdorffii* Desf. REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL. 12., Caxambu. *Resumos...*1997.
- PAIVA, L.A.F.; RAO, V.S.N.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* óleo-resin on experimental gastric ulcer models in rats, *J. Ethnopharmacol.*, v. 62, n. 1, 73-78, 1998a.
- PAIVA, L.A.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Effects of oleo-resin from the stem bark of *Copaifera langsdorffii* on experimental gastric ulcer models in rats. *N-S Archives of Pharmacology*, v. 358, n. 1, R490-R490, Suppl. 2, 1998b.
- PAIVA, L.A.F. *Estudo da atividade antiulcerogênica do óleo-resina da Copaifera langsdorffii* Desf. 1999. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Fortaleza. 1999.
- PAIVA, L.A.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Estudo da atividade cicatrizante de feridas e úlceras do óleo-resina da *Copaifera langsdorffii* Desf (Copaíba). SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 16, 2.000. Recife. *Resumos...*2.000.
- PAIVA, L. A. F.; DE ALENCAR CUNHA, K. M.; SANTOS, F. A.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V S N. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Phytotherapy Research*, no prelo, 2001.
- SAITO, K. Fibroblast cultures, *Folia pharmacol. Japon.* v. 23, p. 1-5 (Breviaria 1), 1936. *CA* 30:8391.
- SKEAN, D. *Cássia afrodistulosa*. Formato jpg. Disponível em: www.albion.com.> Acesso: [1999].
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHBORN, S.E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 415-545, 1996.
- SÁ DE LIMA, L. *et al.* Óleo de Copaíba: Atividade antimicrobiana “in vitro”, *Anfarmag*, p. 21-22, nov-dez, 1995.
- VEIGA JR, V.F.; CALIXTO, J.B.; PINTO, A.C. Phytochemical study and anti-inflammatory activity of the copaiba oils from *Copaifera* species. CHEMISTRY, BIOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF MEDICINAL PLANTS FROM THE AMÉRICAS. Panamá, 1997. *Resumos...*1997. L-23.

Capítulo

5

Controle de Qualidade de Óleos de Copaíba Comerciais por RMN

5.1. Introdução.....	63
5.2. Controle de qualidade por RMN.	63
5.2.1. Aspectos físicos dos óleos de copaíba.....	64
5.2.2. Perfil químico-espectrométrico do óleo de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	64
5.2.3. Análise dos óleos comerciais.....	67



Óleos de copaíba comerciais.
Fotógrafo: Prof. E.R. Silveira.

5. Controle de qualidade de óleos de copaíba comerciais por RMN

5.1. Introdução

Segundo a Fundação Herbarium, um dos maiores laboratórios de fitoterápicos no País, houve um aumento de 20% na comercialização de remédios à base de plantas nos últimos anos [Gullo e Pereira, 1998]. Dos produtos naturais comercializados, o óleo de copaíba, tem se mostrado de grande eficiência nas enfermidades para as quais é indicado, o que é comprovado pelos inúmeros laboratórios que comercializam o produto e pela facilidade com que é encontrado *in natura* nos mercados populares.

Dos laboratórios que comercializam o óleo de copaíba, alguns não indicam a origem botânica do óleo, já que estes são adquiridos em lotes. Outros laboratórios, talvez pela falta de um controle de qualidade rigoroso, comercializam o óleo apresentando adulterações grosseiras com óleos provavelmente de sementes oleaginosas, comprometendo a qualidade do produto consumido, que além de não apresentar o efeito terapêutico esperado, pode causar prejuízos à saúde, possibilitando a perda da credibilidade no produto como medicamento.

5.2. Controle de qualidade por RMN

O primeiro relato relacionado com a adulteração do óleo de copaíba obtido através de levantamento bibliográfico no *Chemical Abstracts* data de 1906 por Morris. Recentemente Veiga Jr., Patitucci e Pinto (1997) relataram o estudo de óleos de copaíba utilizando a cromatografia gasosa de alta resolução.

Neste item relatamos a análise de diversas marcas de óleo de copaíba comerciais num total de 19, obtidas em farmácias e drogarias oficialmente regulamentadas nos estados do Ceará e Pará. A bula que acompanhava cada produto, geralmente apresentava descrição de sua ação terapêutica, enquanto que a origem botânica do óleo de copaíba raramente era mencionada.

A identificação da composição química dos óleos de copaíba comerciais foi efetuada por comparação dos dados obtidos dos espectros de ressonância magnética nuclear de prótio (RMN ^1H) e ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C) com os dados obtidos dos componentes identificados no óleo de *C. langsdorffii* em estudo, juntamente com os dados descritos na literatura para os compostos identificados em espécies do gênero *Copaifera*.

5.2.1. Aspectos físicos dos óleos de copaíba

De acordo com Corrêa (1984), o óleo de copaíba, é líquido, transparente, mais ou menos viscoso, tendo cor variável desde amarelo-pálido até castanho-claro dourado, seu cheiro é forte e penetrante e o sabor acre, persistente, um pouco amargo e muito desagradável.

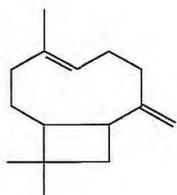
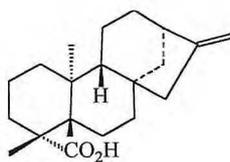
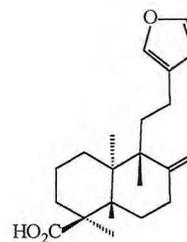
O óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* em estudo apresentava-se viscoso de cor amarela escura e odor característico, enquanto que os óleos comerciais analisados apresentaram variações de cor entre amarela-clara a laranja escura e de diferentes viscosidades e odores.

5.2.2. Perfil químico-espectrométrico do óleo de *Copaifera langsdorffii*

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 5.1) do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* permitiu a identificação de três faixas de absorção:

1. Faixa de absorção de maior deslocamento químico (δ 6,0-8,0): Correspondente a região de absorções de hidrogênios aromáticos. Neste caso, foram observados três hidrogênios de furano monossubstituído.
2. Faixa intermediária (δ 4,0-5,0): Correspondente a hidrogênios olefínicos.
3. Faixa de menor deslocamento químico (δ 0,7-3,0): Correspondente a hidrogênios ligados a carbono saturado.

Levantamento bibliográfico no *Chemical abstracts* sobre o óleo de copaíba, assim como a comparação de dados da literatura com os dados obtidos dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT (135) do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* (figuras 5.1 a 5.3), bem como dados da análise por CG/EM do seu respectivo óleo essencial (ver página 76), possibilitou a identificação de três constituintes majoritários β -cariofileno (**22**), ácido caurenóico (**45**) e ácido poliáltico (**73**) no óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* analisado.

**22****45****73**

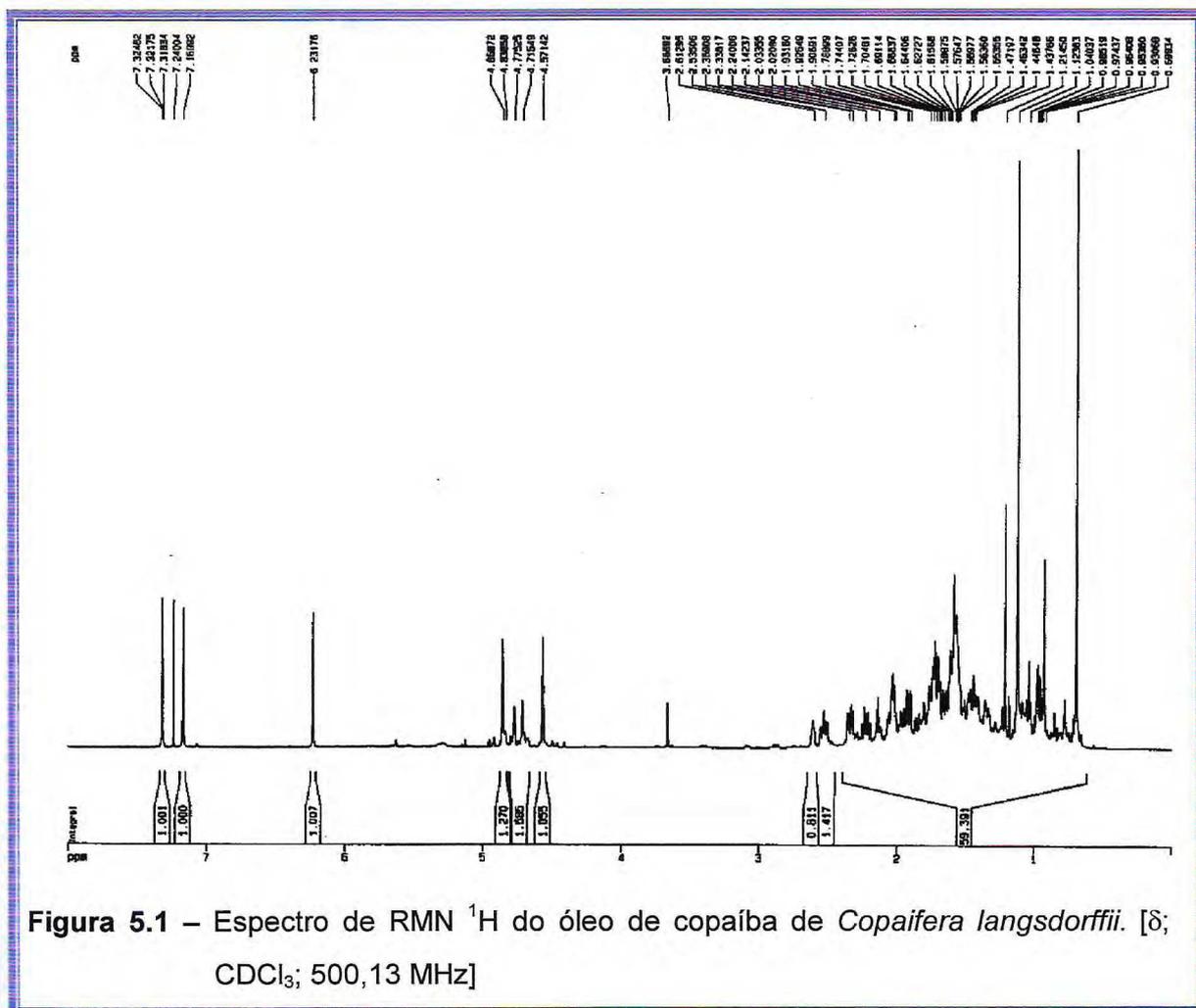


Figura 5.1 – Espectro de RMN ¹H do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii*. [δ; CDCl₃; 500,13 MHz]

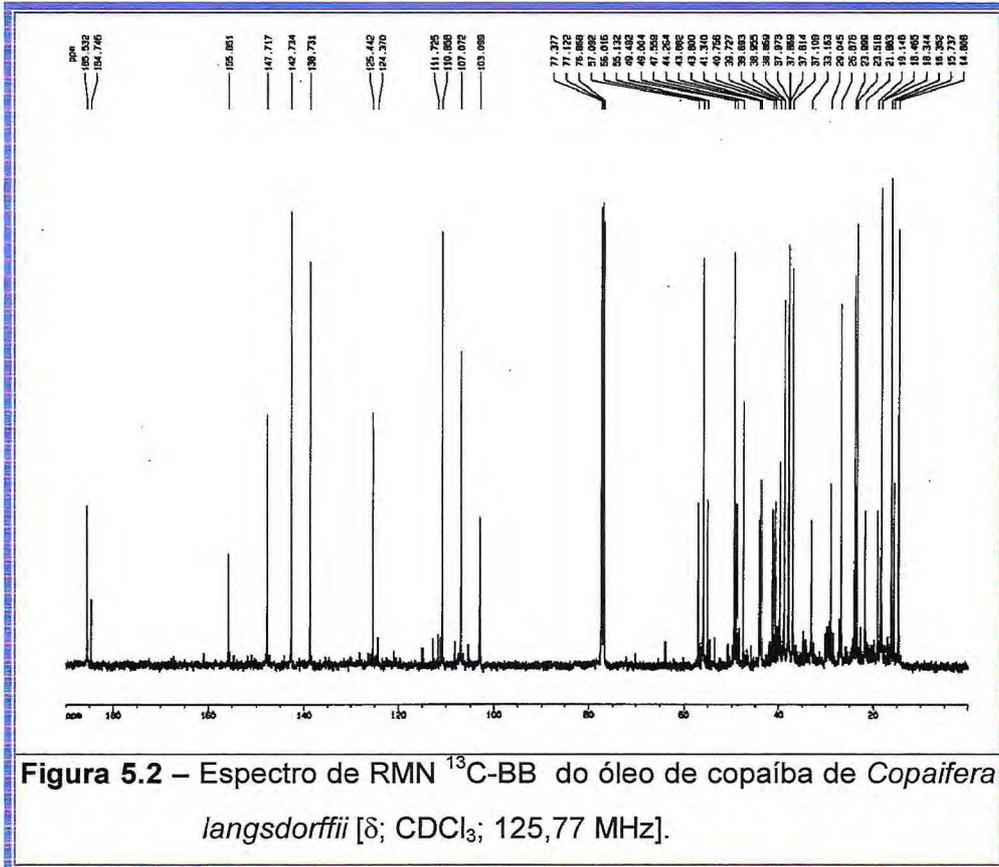


Figura 5.2 – Espectro de RMN ^{13}C -BB do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].

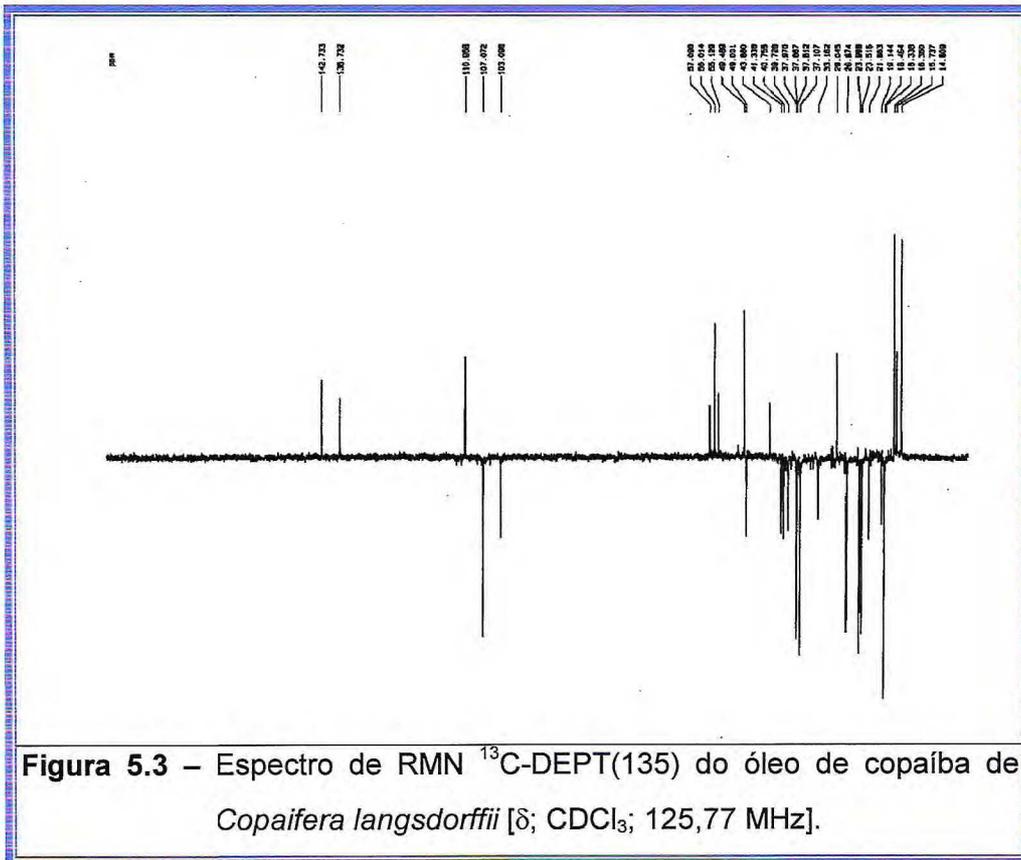


Figura 5.3 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) do óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz].

5.2.3. Análise dos óleos comerciais

As dezenove amostras de óleos de copaíba de diferentes marcas foram analisadas por RMN ^1H , ^{13}C -BB e DEPT (135), levando-se em consideração as faixas descritas anteriormente para os espectros de RMN ^1H e os dados de RMN ^{13}C de cada óleo comercial. Os dados obtidos foram comparados com os dados de RMN ^1H e ^{13}C dos óleos de copaíba de *Copaifera langsdorffii* em estudo e dos óleos descritos na literatura, resultando no agrupamento das amostras dos óleos comerciais de cinco maneiras diferentes:

Grupo 1: Presença de β -cariofileno como constituinte principal.

A classificação do óleo de copaíba comercial neste grupo, deveu-se a comparação visual entre os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos respectivos óleos com os espectros do β -cariofileno (Figuras 5.4 e 5.5), bem como os dados encontrados na literatura [Kashman e Groweiss, 1980]. Neste grupo foram relacionadas quatro marcas de óleos comerciais (M-1, M-2, M-3 e M-4), que apresentaram absorções nos espectros de ^1H em δ 4,92 e 4,80 referentes a hidrogênios metilênicos da ligação dupla exocíclica, δ 5,28 referente ao hidrogênio metínico da ligação dupla trissubstituída e três absorções em δ 0,95; 0,98 e 1,59 referentes a hidrogênios de grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados do β -cariofileno, além das absorções em δ 154,5 e 111,8 no espectro de ^{13}C , referentes aos carbonos não-hidrogenado e metilênico, respectivamente da dupla exocíclica, bem como as absorções referentes aos carbonos metílicos em δ 30,0; 22,6 e 16,2.

Nas Figuras 5.6 e 5.7 são mostrados os espectros de RMN ^1H e ^{13}C do óleo de copaíba da marca M-1, ilustrando o tipo de óleo que faz parte deste grupo.

Grupo 2: Presença de β -bisaboleno como constituinte principal.

Neste grupo foram identificadas 4 marcas de óleos de copaíba comerciais (M-5, M-6, M-7 e M-8), que apresentaram absorções nos espectros de ^1H e ^{13}C características do β -bisaboleno [Miyazawa e Kameoka, 1983]. As absorções em δ 5,39; 5,12 e 4,74 no espectro de ^1H de M-5 (Figura 5.8) referem-se a hidrogênios de carbonos insaturados do β -bisaboleno, enquanto as absorções em δ 1,68; 1,65 e 1,61 a seus respectivos hidrogênios metílicos. O espectro de ^{13}C da amostra M-5 (Figura 5.9) mostrou absorções em δ 107,1; 120,8; 124,3 e 133,4 referentes aos carbonos do β -bisaboleno.

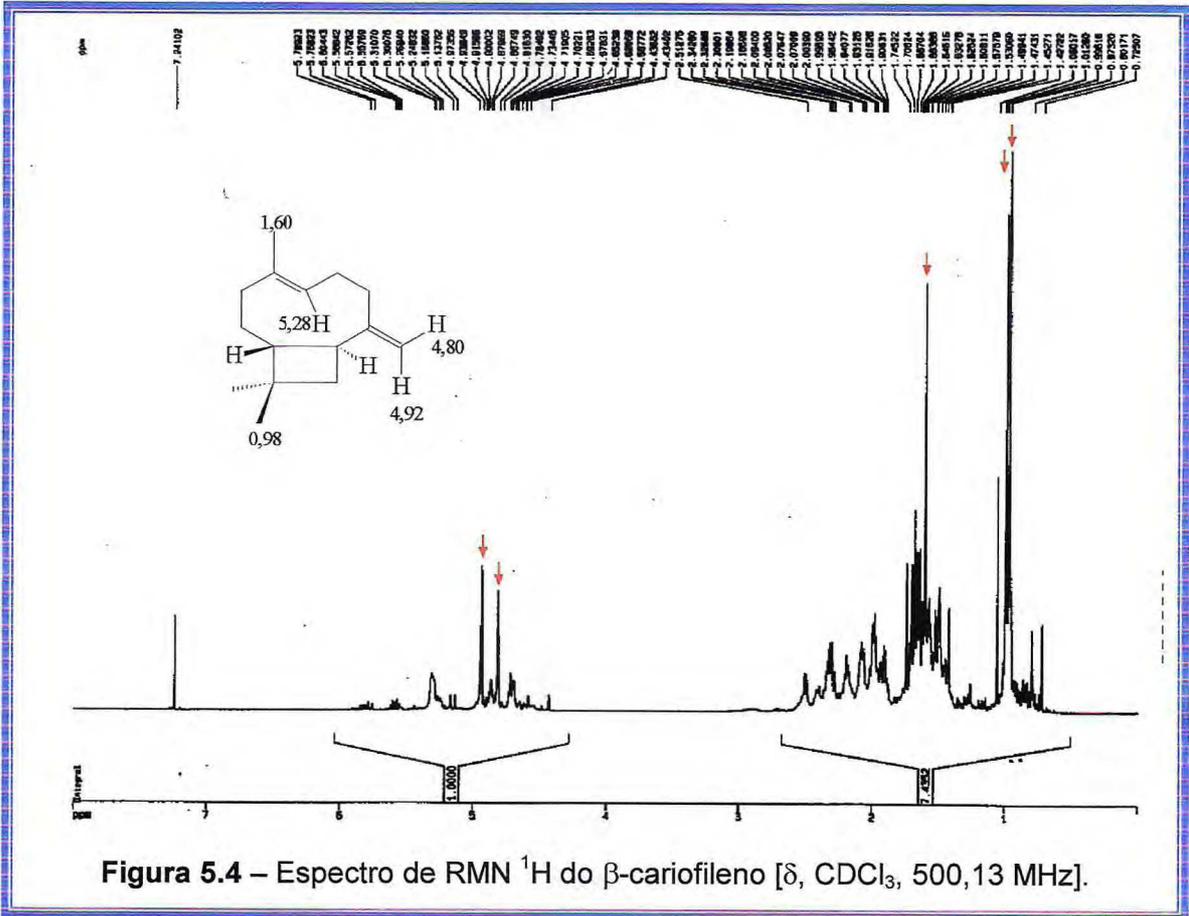


Figura 5.4 – Espectro de RMN ^1H do β -cariofileno [δ , CDCl_3 , 500,13 MHz].

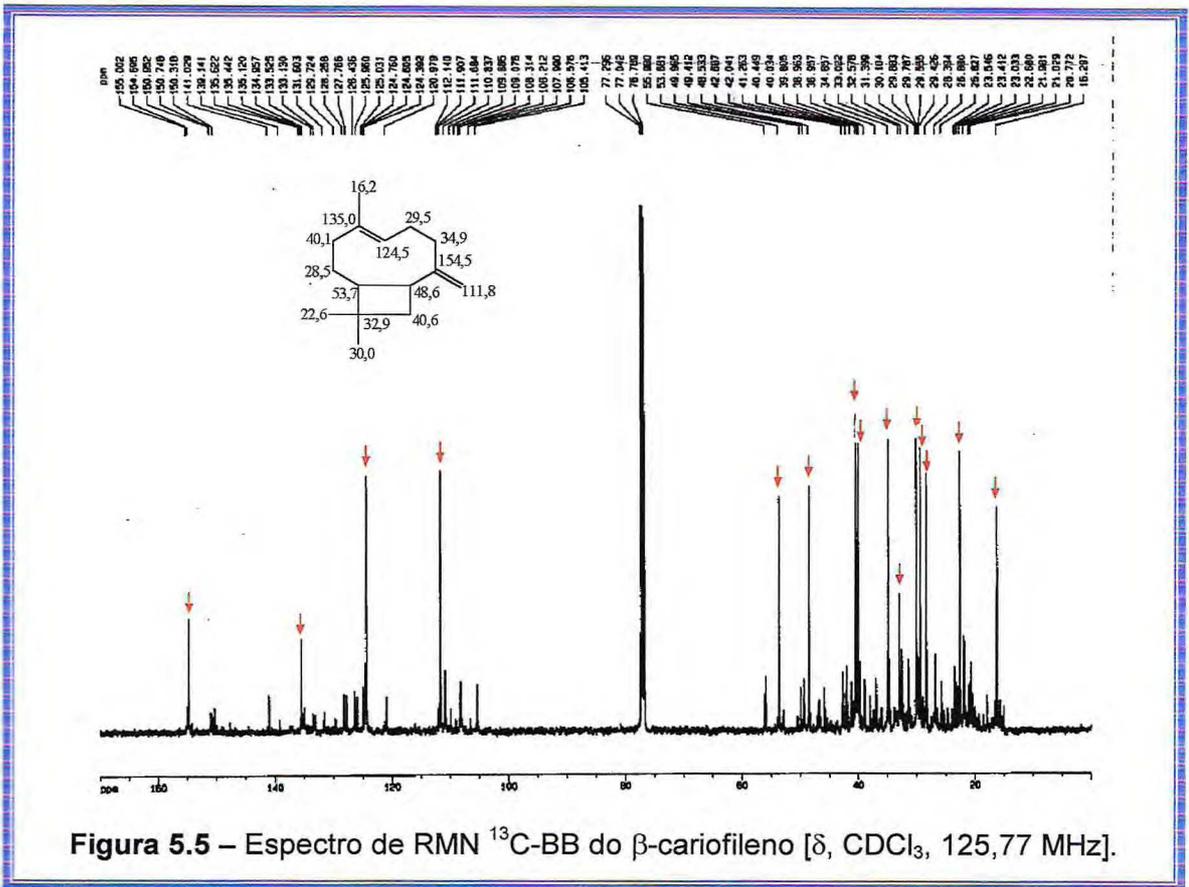
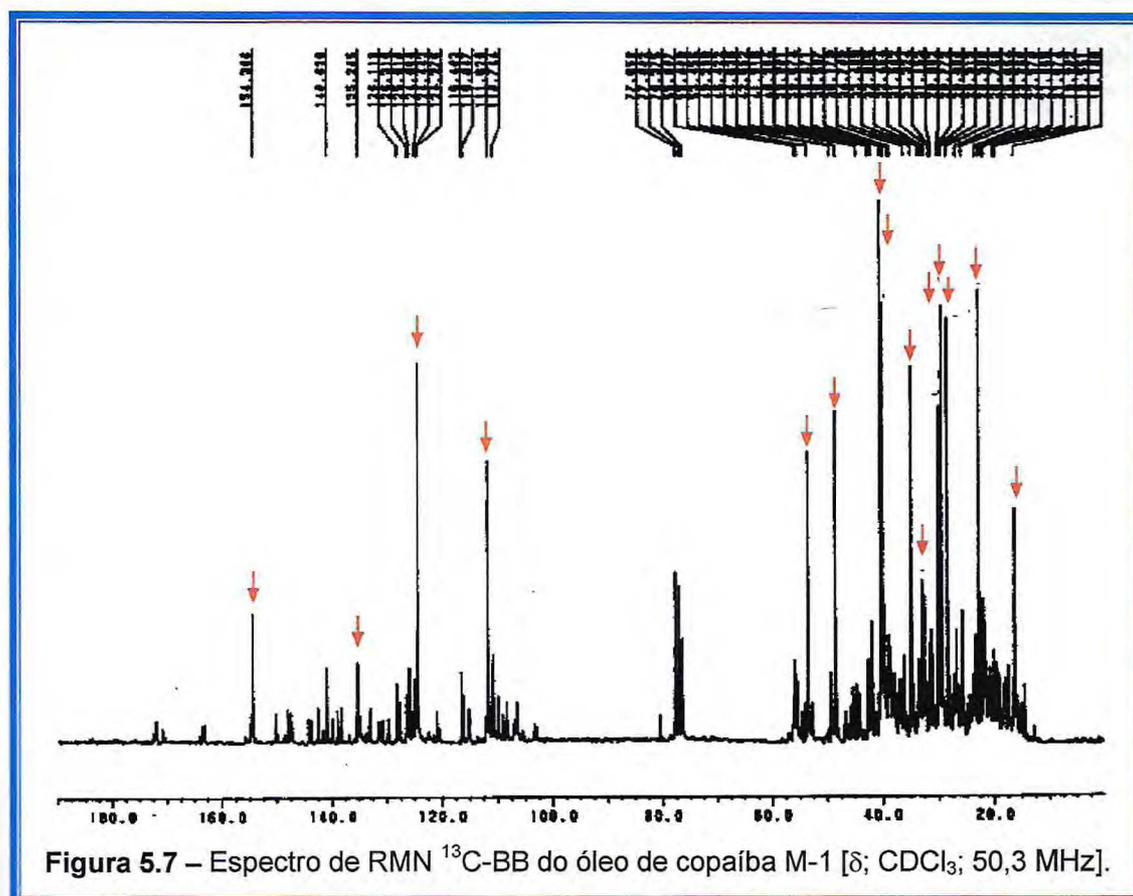
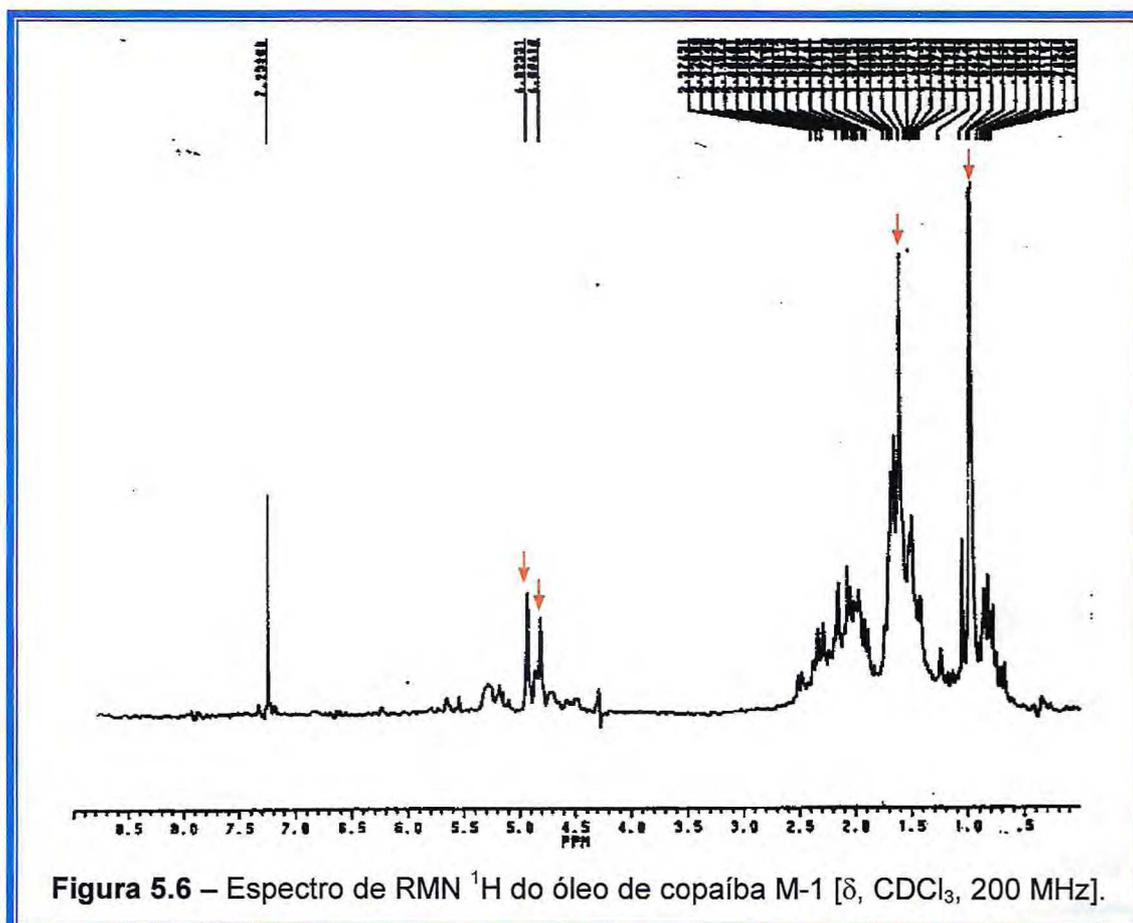


Figura 5.5 – Espectro de RMN ^{13}C -BB do β -cariofileno [δ , CDCl_3 , 125,77 MHz].



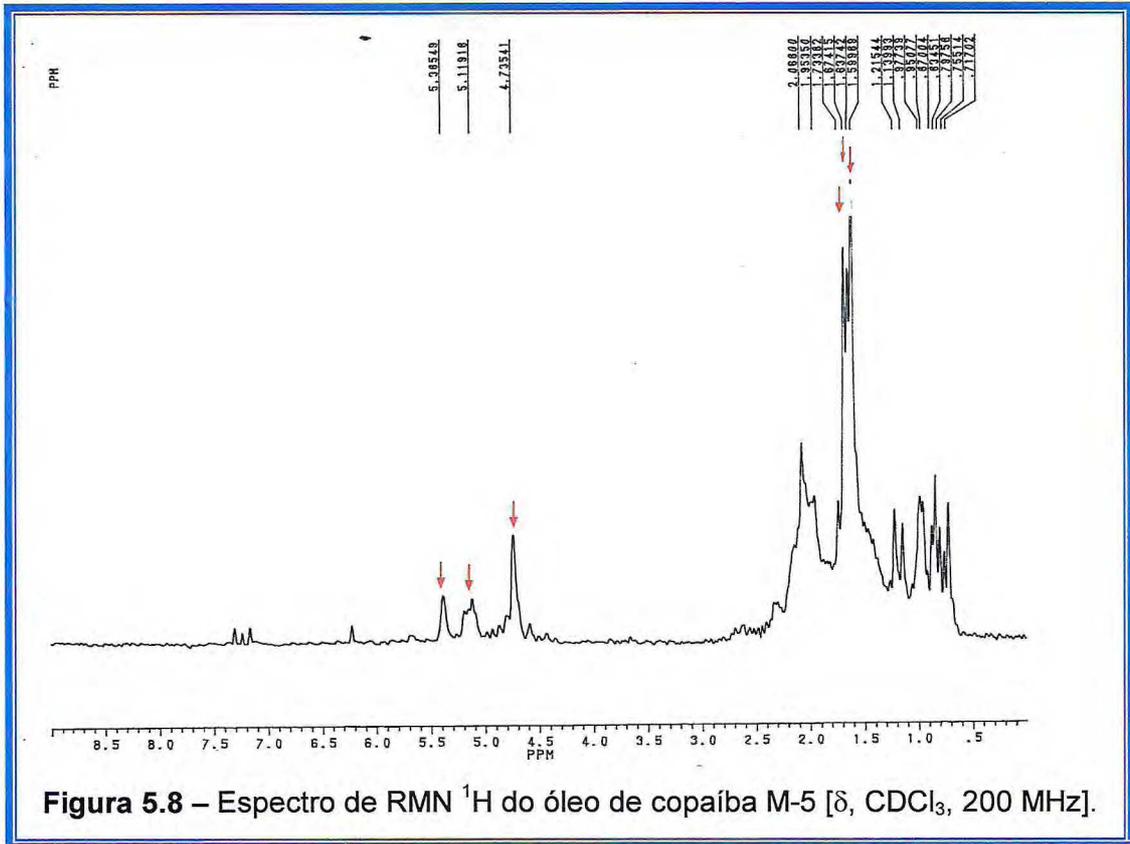


Figura 5.8 – Espectro de RMN ^1H do óleo de copaíba M-5 [δ , CDCl_3 , 200 MHz].

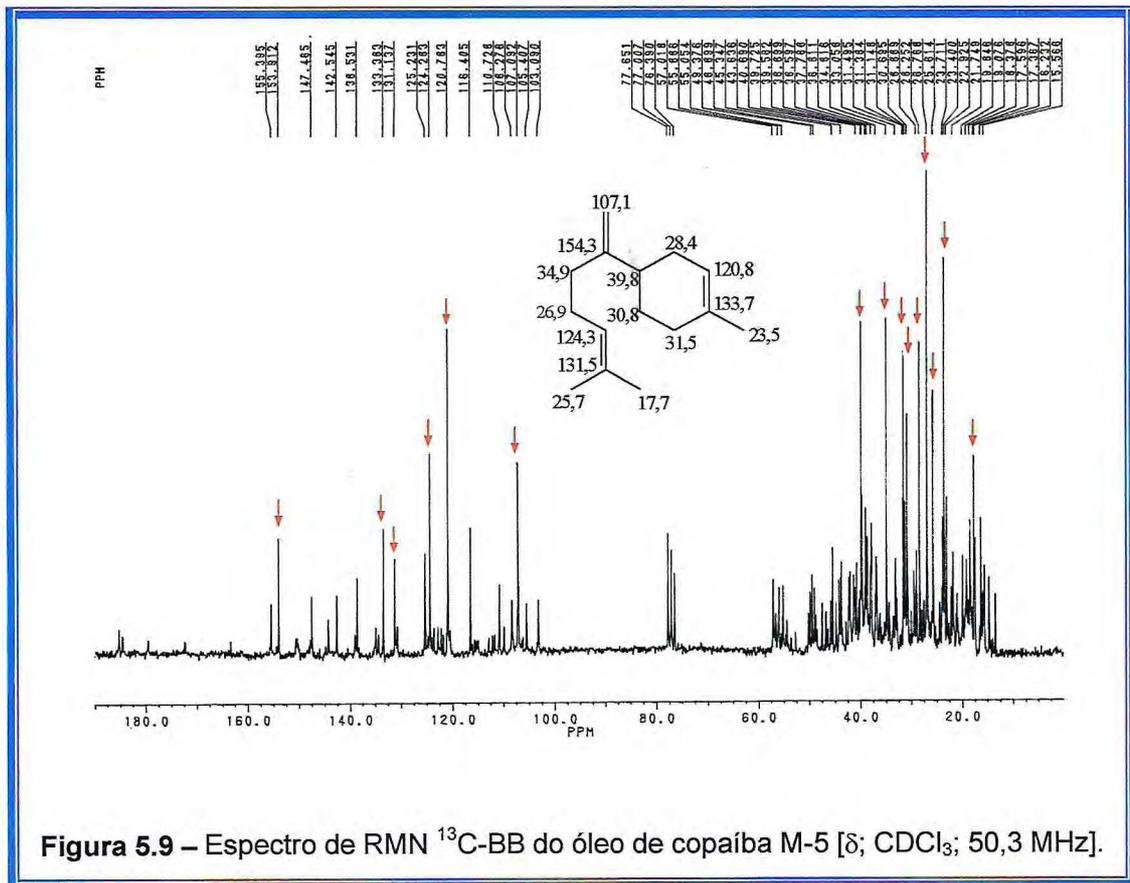


Figura 5.9 – Espectro de RMN ^{13}C -BB do óleo de copaíba M-5 [δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz].

Grupo 3: Presença concomitante de β -cariofileno e β -bisaboleno.

Neste grupo foram relacionadas as marcas M-9, M-10, M-11, M-12, M-13, M-14 e M-15, cujos principais constituintes presentes nos espectros de ^1H e ^{13}C foram identificados como o β -cariofileno e o β -bisaboleno. As Figuras 5.10 e 5.11 (página 72) referentes aos espectros de RMN ^1H e ^{13}C da amostra M-11 ilustram este grupo.

Grupo 4 : Presença de absorções entre δ 4,0 –4,3.

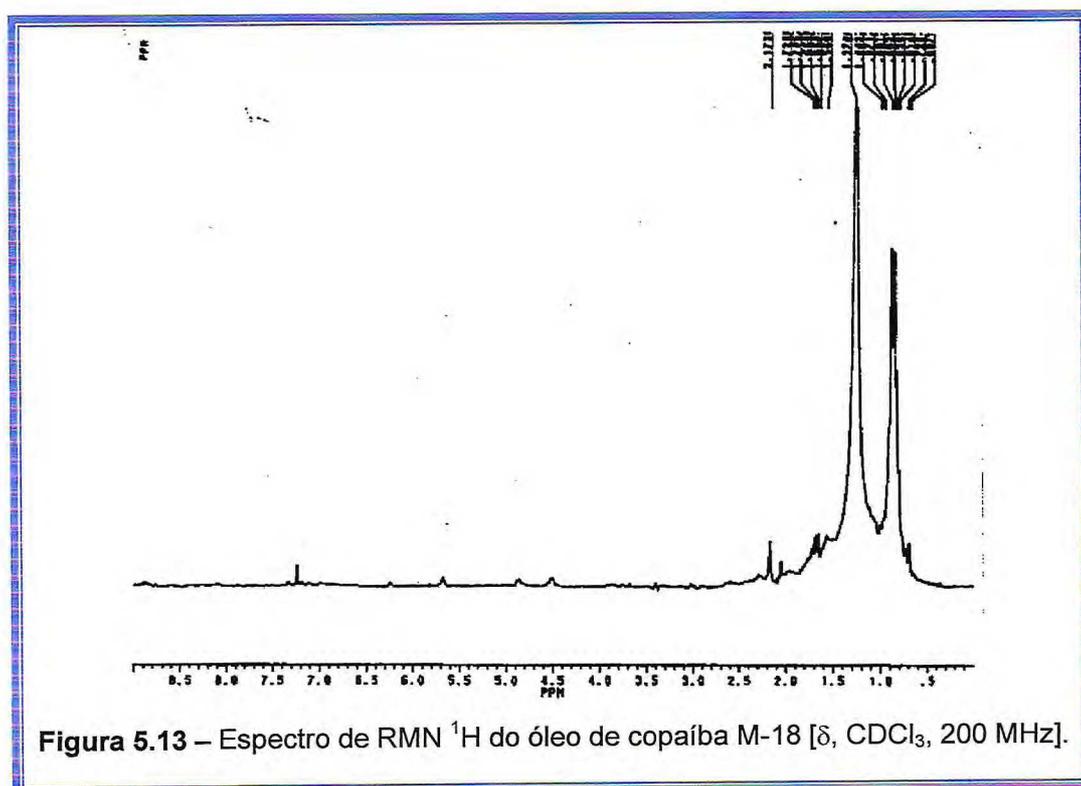
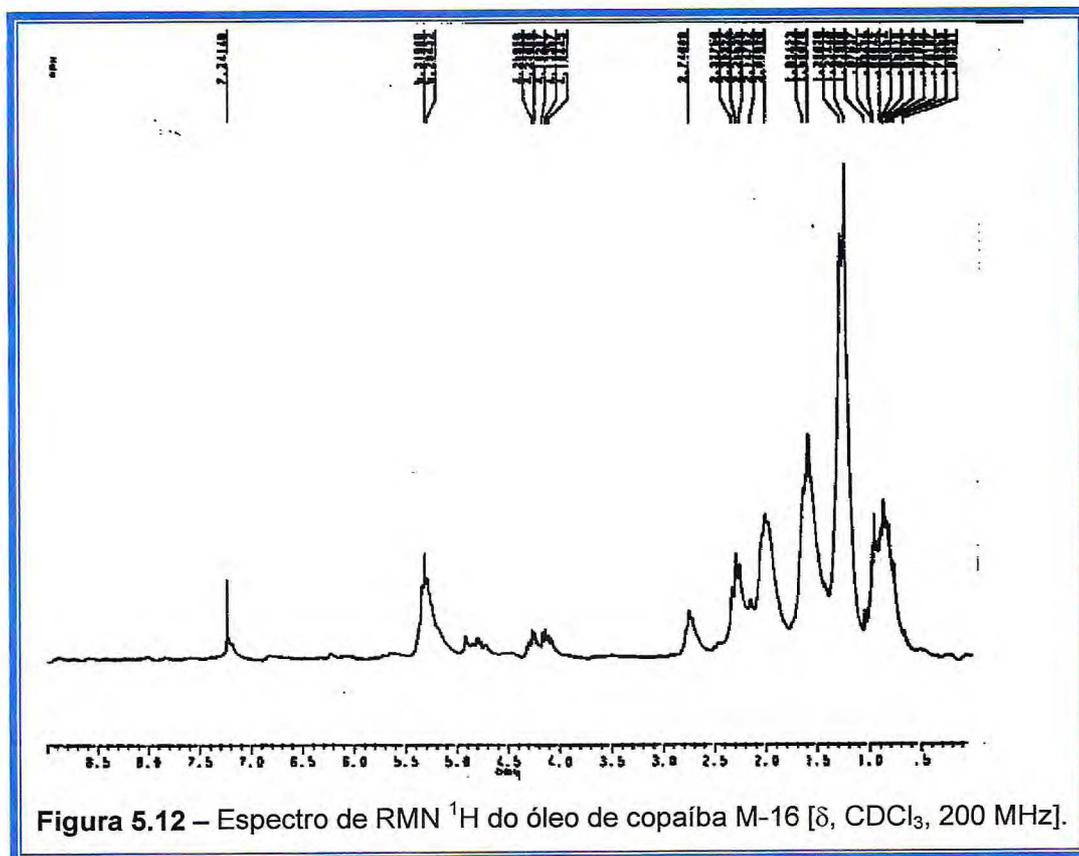
Neste grupo foram relacionadas as marcas M-16 e M-17, cujos espectros de ^1H e ^{13}C apresentaram-se bastante diferentes dos espectros das marcas citadas anteriormente, mas com feições espectrais bastante semelhantes com espectros de triglicerídeos. A Figura 5.12 (página 73) mostra o espectro de ^1H do óleo de copaíba da marca M-16 pertencente a este grupo.

Grupo 5 : Ausência de absorções entre δ 2,17-8,0.

As marcas representantes deste grupo (M-18 e M-19), não apresentaram absorções acima de δ 2,17 no espectro de ^1H , demonstrando tratarem-se provavelmente de hidrocarbonetos saturados. A Figura 5.13 apresenta o perfil espectral dos óleos de copaíba que pertencem a este grupo.

Com relação a presença de diterpenos furânicos, as absorções a δ 7,35; δ 7,17 e δ 6,30 nos espectros de RMN ^1H e δ 142,5; δ 138,5; δ 125,2 e δ 110,7 nos espectros de RMN ^{13}C foram usadas como características de anel furânico monossustituído. Desta forma, das 19 amostras analisadas, 6 apresentaram razoável teor de diterpenos furânicos (M-4, M-6, M-7, M-10, M-12 e M-13) 5 amostras apresentaram baixo teor (M-2, M-5, M-9, M-11 e M-14) e em 8 amostras, os diterpenos furânicos não foram identificados (M-1, M-3, M-8, M-15, M-16, M-17, M-18 e M-19).

Amostras dos óleos de copaíba comerciais das marcas 1 a 15 foram identificadas como óleos de copaíba. Já os óleos de copaíba dos grupos 4 e 5 (marcas 16 a 19) não apresentaram em seus espectros de RMN ^1H e ^{13}C as absorções do β -cariofileno ou do β -bisaboleno, nem de diterpenos furânicos em teores suficientes para caracterizá-los como óleos de copaíba. Isto evidencia a adulteração destes óleos com óleos de sementes ricos em triglicerídeos de ácidos graxos insaturados e óleo mineral respectivamente.



A comparação entre os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos óleos comerciais analisados com os respectivos espectros de um legítimo óleo de copaíba obtido de *C. langsdorffi*, bem como com dados encontrados na literatura, permitiu a verificação da veracidade dos óleos comerciais citados. É importante lembrar que a análise por RMN não necessita de qualquer derivatização da amostra a ser verificada, apresentando-se desta forma como um método adequado e eficaz na determinação da qualidade e origem de óleos de copaíba comerciais, principalmente devido a rapidez e reprodutibilidade do experimento [Gramosa, 1996].

Referências Bibliográficas

01. CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis do brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. II, p 370-375, 1984.
02. GRAMOSA, N. V.; BRÍGIDO, C. L.; UCHÔA, D. E.A.; SILVEIRA, E. R. Uso da RMN na caracterização de produtos naturais comercializados: Óleo de Copaíba. SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996. Florianópolis.
03. GULLO, C.; PEREIRA, C. A cura no jardim, *Isto é*, n. 1513, p. 72-78, set.1998.
04. KASHMAN, Y.; GROWEISS. New diterpenoids from the soft corals *xenia macrospiculata* and *Xenia obscuonata*. *J. Org. Chem.* v. 45, p. 3814-3824, 1980.
05. MIYAZAWA, M.; KAMEOKA, H. *Phytochemistry*, v. 22, n. 4, p. 1040, 1983.
06. MORRIS, G.W. Some adulterated drugs. *Pharm. J.* v. 77, p. 720-721, 1906.
07. VEIGA JR, V.F.; PATITUCCI, M.L.; PINTO, A A C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. *Quím. Nova*, v. 20, n. 6, p. 612-615, 1997.

Capítulo

6

Determinação Estrutural

6.1. Análise dos óleos essenciais.....	76
6.2. Determinação estrutural dos constituintes voláteis do bálsamo de <i>C. langsdorffii</i>	76
6.3. Determinação estrutural dos constituintes voláteis de partes de um exemplar de <i>C. langsdorffii</i>	80
6.4. Identificação dos ácidos graxos do óleo fixo da fração clorofórmica das sementes de <i>C. langsdorffii</i>	95
6.5. Determinação estrutural dos constituintes químicos não- voláteis de <i>C. langsdorffii</i>	99
6.5.1. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados a partir do tratamento cromatográfico do óleo de copaíba obtido de <i>C. langsdorffii</i>	100
6.5.2. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração não-volátil metilada obtida a partir do óleo de copaíba.....	120
6.5.3. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração neutra do óleo de copaíba.....	135
6.5.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração ácida do óleo de copaíba obtido de <i>C.</i> <i>langsdorffii</i>	151
6.5.5. Determinação Estrutural de SVC-H(1) obtida das Sementes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	195

6. Determinação estrutural dos constituintes químicos de *C. langsdorffii*

6.1. Análise dos óleos essenciais

Os constituintes químicos voláteis de *C. langsdorffii* foram identificados a partir dos óleos essenciais obtidos de três alíquotas do bálsamo e de diversas partes de um exemplar desta espécie, por processos de hidrodestilação e arraste a vapor (ver procedimento páginas 208 e 228).

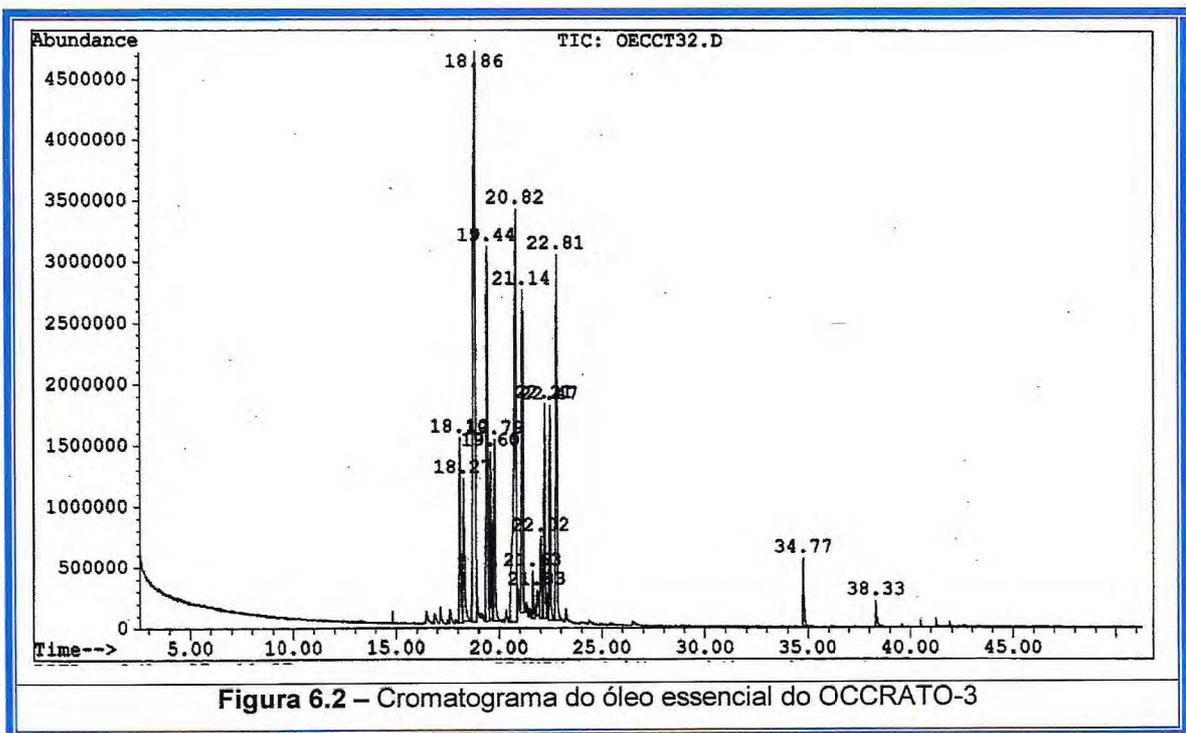
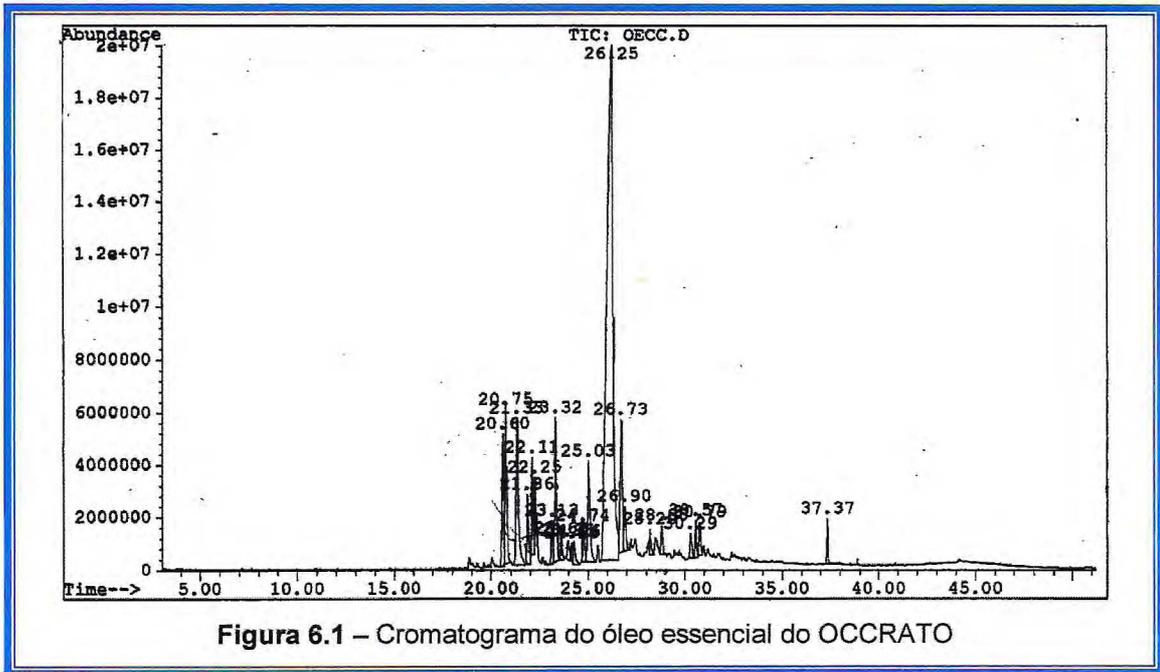
Os óleos essenciais analisados foram armazenados em ampolas de vidro âmbar, purgados com nitrogênio gasoso e encaminhados para análise por RMN e CG-EM.

Os parâmetros utilizados nos espectros de massa para seleção dos constituintes químicos presentes em cada óleo essencial foram: pico do íon molecular, pico base, tempo de retenção, comparação com espectros de massa em banco de dados (espectroteca) [Alencar *et al.*, 1990] e comparação visual com espectros de massa encontrados na literatura [Adams, 1995].

6.2. Determinação estrutural dos constituintes voláteis do bálsamo de *C. langsdorffii*

Três alíquotas do bálsamo de copaíba denominadas OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4 coletados de exemplares de *C. langsdorffii* forneceram óleos essenciais amarelados, denominados OEOCCRATO, OEOCCRATO-3 e OEOCCRATO-4 de rendimentos 7,3%, 9,4% e 10,2%, respectivamente, (ver item 7.6.1, página 208). Estes óleos apresentaram os cromatogramas mostrados nas Figuras 6.1, 6.2 e 6.3, cuja análise espectrométrica (EM e RMN) permitiu a identificação de um total de 20 constituintes: 19 sesquiterpenos, sendo o β -cariofileno (**22**) o constituinte principal, e 1 diterpeno, o caureno (Tabela 6.1, página 79).

Apesar das alíquotas dos 3 óleos de copaíba terem sido obtidas em diferentes épocas, a partir de árvores diferentes da mesma espécie, não houve variação significativa na composição química dos óleos analisados. No cromatograma do óleo essencial do OCCRATO mostrado na Figura 6.1, nota-se que o pico com tempo de retenção 26.25 refere-se ao óxido de cariofileno, apresentando um teor de 54,2%, embora nos seus respectivos espectros de ^1H e ^{13}C -BB obtidos 20 dias antes, mostraram que o constituinte principal deste óleo era o β -cariofileno, desta forma, acredita-se que o β -cariofileno tenha sido oxidado a óxido de cariofileno entre as duas análises, como já foi descrito em trabalho anterior [Gramosa, 1994].



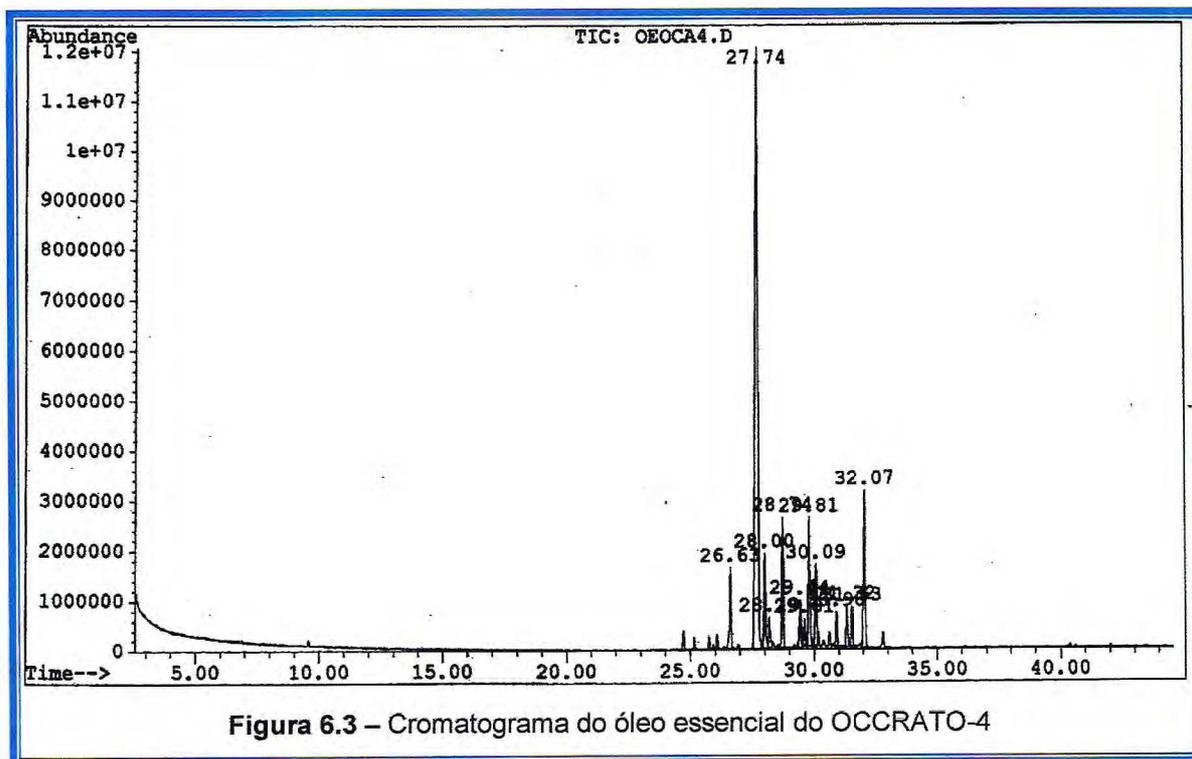


Tabela 6.1
Constituintes químicos presentes nos óleos essenciais
de OCCRATO (1), OCCRATO-3 (2) e OCCRATO-4 (3)

Constituintes	Teor (%)		
	1	2	3
β -Elemeno	4,4	4,4	4,4
α - <i>cis</i> -Bergamoteno (86)	4,6	4,0	-
β -Cariofileno	6,1	22,8	53,3
γ -Elemeno	2,2	11,0	4,8
α - <i>trans</i> -Bergamoteno (87)	2,5	3,2	-
α -Guaieno (88)	-	-	1,7
β -Farneseno	1,0	-	-
α -Humuleno	-	4,5	6,1
γ -Muuroleno	1,2	-	2,7
α -Curcumeno	4,6	-	-
Germacreno D (89)	-	-	1,4
β -Selineno	0,6	16,8	6,5
α -Selineno	-	8,7	4,5
γ -Cadineno	0,5	0,9	2,7
δ -Cadineno	1,1	1,8	1,7
Cubebeno	-	-	2,2
Selina-3,7(11)dieno (90)	-	4,6	1,9
Germacreno B (91)	-	10,0	8,7
Óxido de Cariofileno	54,2	-	-
Caur-16-eno	0,7	1,4	-
Total	83,7	94,1	99,9

6.3. Determinação estrutural dos constituintes voláteis de partes de um exemplar de *C. langsdorffii*

Um exemplar de *Copaifera langsdorffii* coletado na localidade de Barreiro Grande-Crato-Ceará, foi separado em folhas, casca da raiz, casca do caule, lenho do caule, lenho da raiz e frutos. Os frutos foram divididos em arilo, semente e casca, mas os óleos essenciais foram obtidos a partir dos frutos completos e das cascas dos frutos.

As partes da planta foram submetidas à extração dos constituintes voláteis fornecendo óleos essenciais com os seguintes rendimentos: folhas (1,0 mL; 0,04%), casca da raiz (0,4 mL; 0,01%), cascas dos frutos (7,5 mL; 0,7%), casca do caule (0,1 mL; 0,003%), lenho do caule (0,4 mL; 0,008%), lenho da raiz (1,0 mL; 0,07%) e frutos completos (1,0 mL; 0,3 %), denominados OEFO, OECR, OECF, OECC, OELC, OELR, OEFR, respectivamente (ver item 7.7, página 228).

Análise por CG-EM dos óleos obtidos forneceu os cromatogramas mostrados nas Figuras 6.4 a 6.10, que após análise dos seus espectros de massa (Figuras 6.11 a 6.54, páginas 86 a 94) permitiu a identificação de 38 sesquiterpenos e 2 diterpenos, cujos componentes são descritos na Tabela 6.2 (pagina 84).

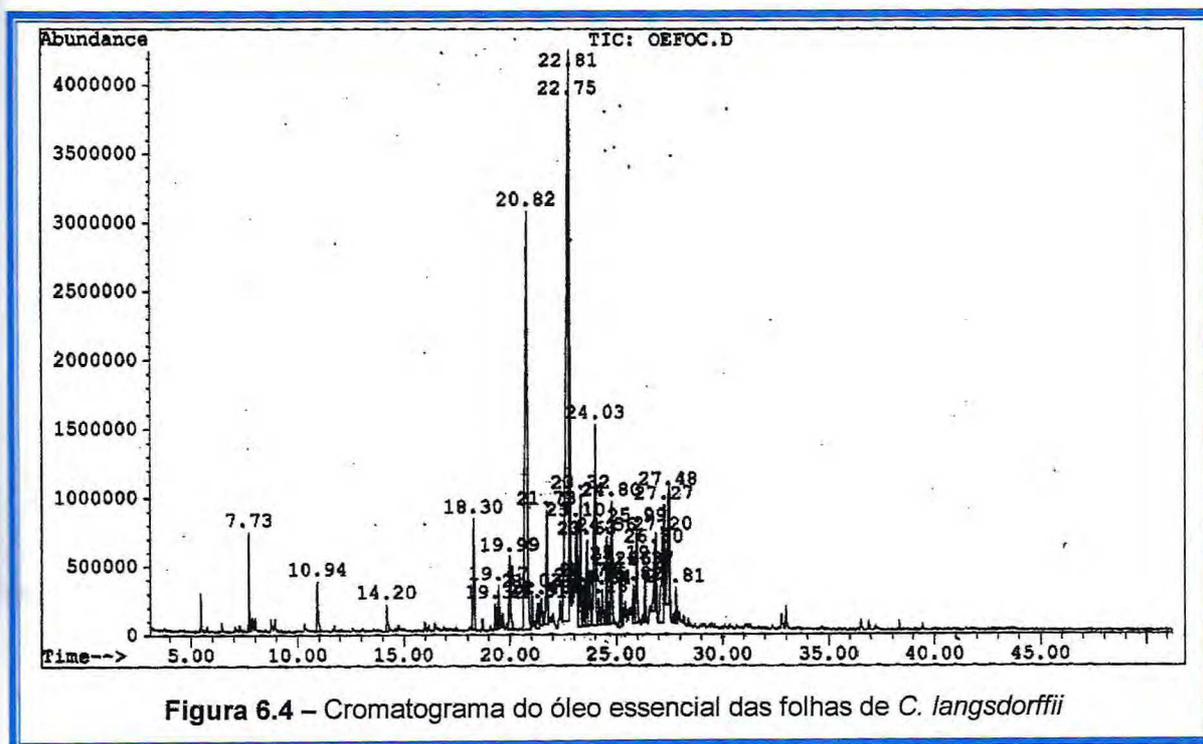
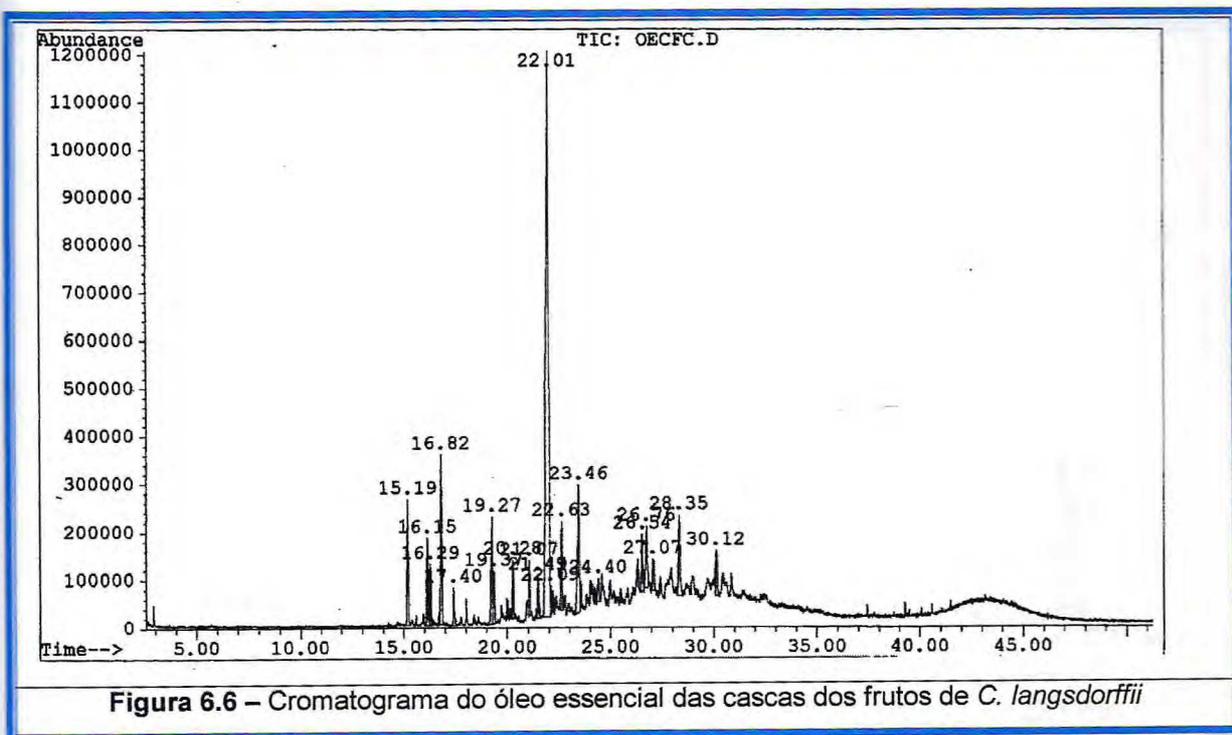
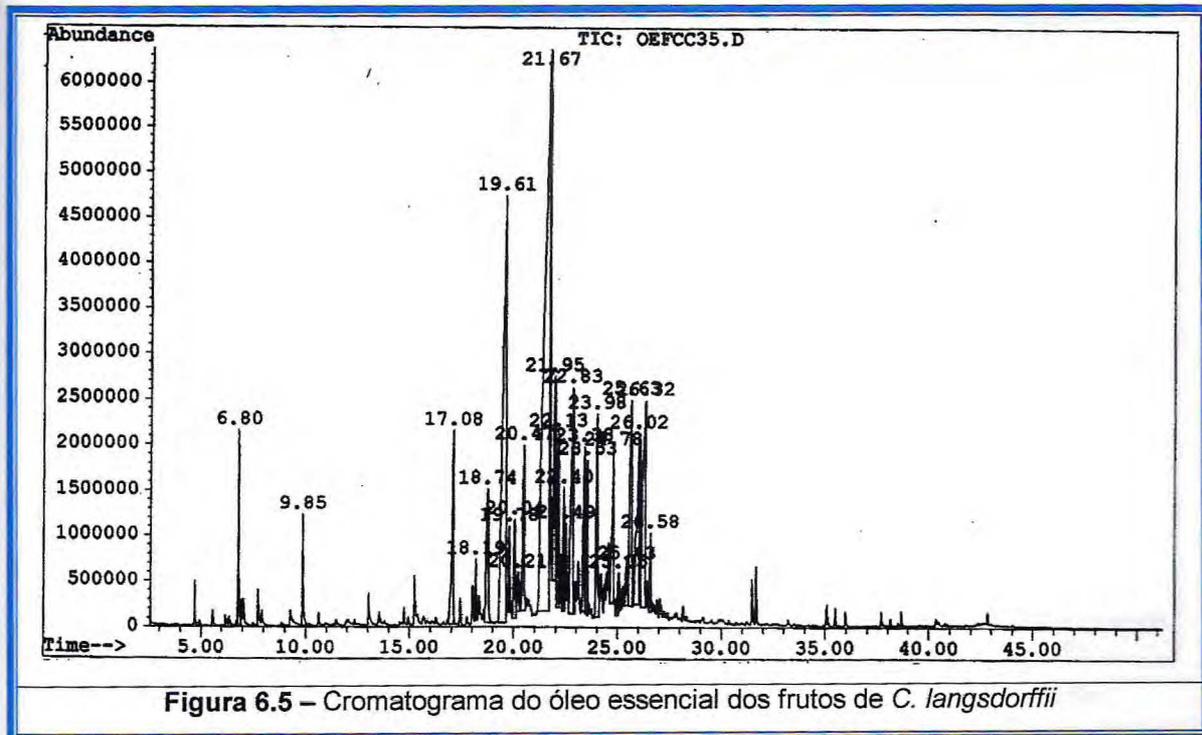


Figura 6.4 – Cromatograma do óleo essencial das folhas de *C. langsdorffii*



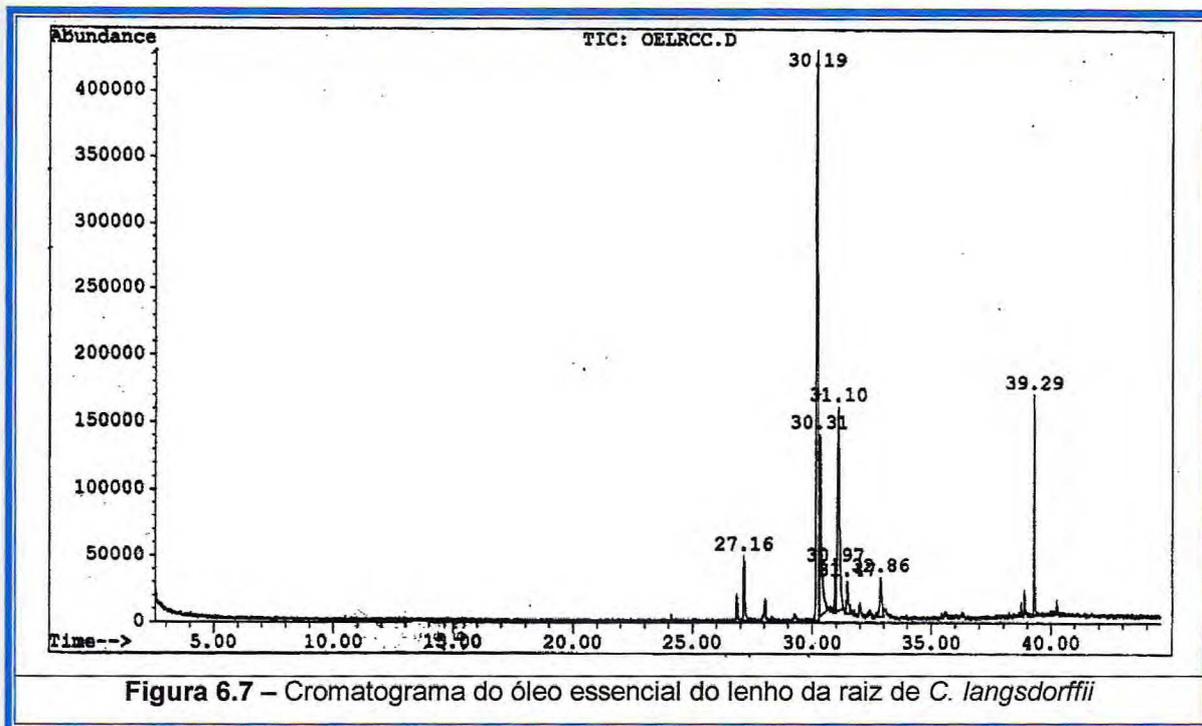


Figura 6.7 – Cromatograma do óleo essencial do lenho da raiz de *C. langsdorffii*

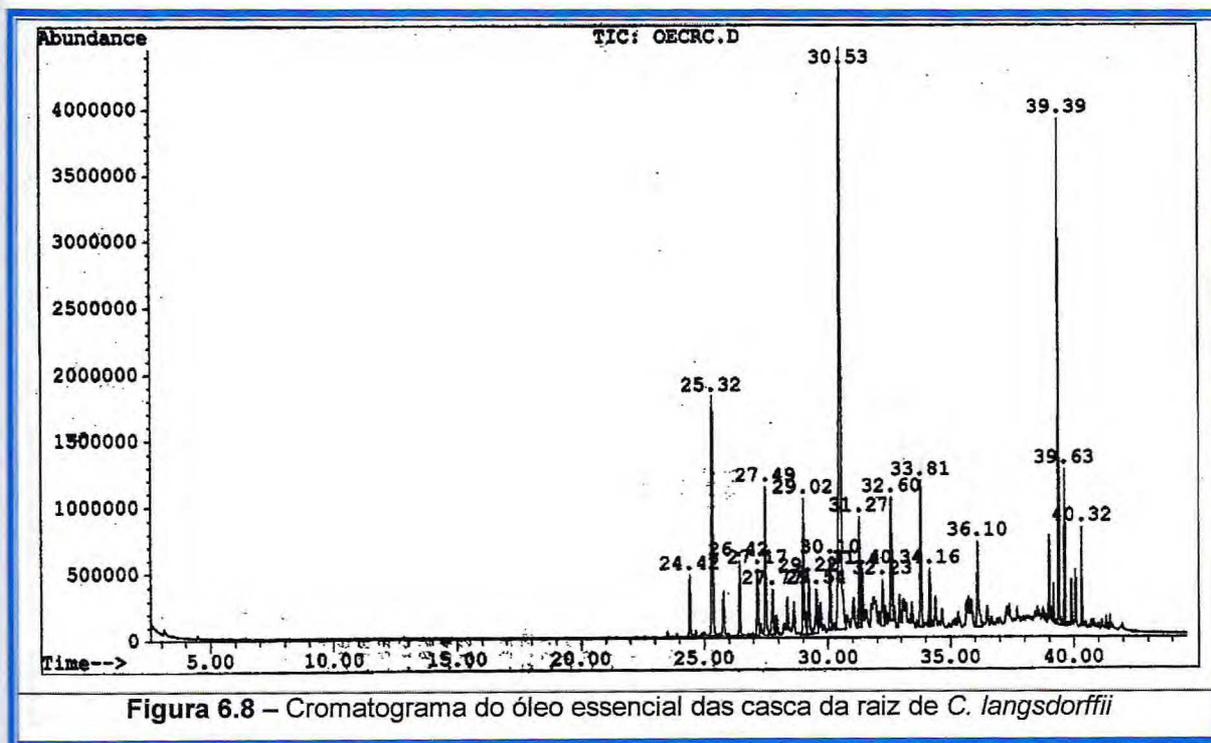


Figura 6.8 – Cromatograma do óleo essencial das casca da raiz de *C. langsdorffii*

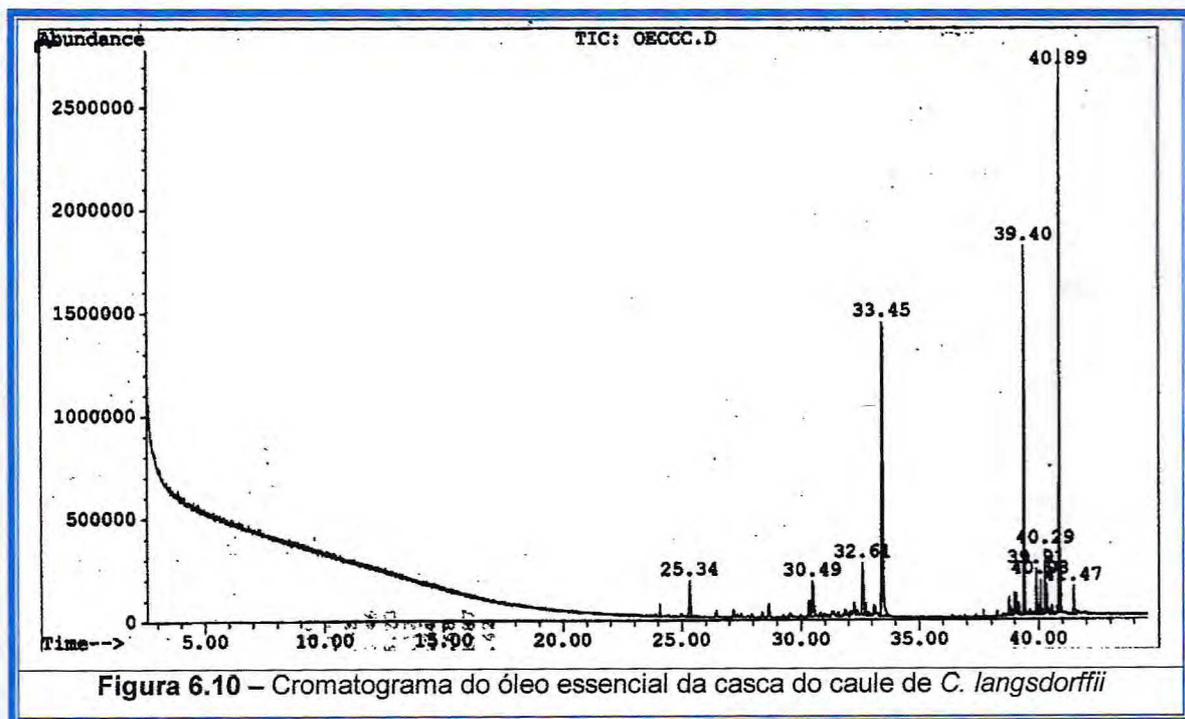
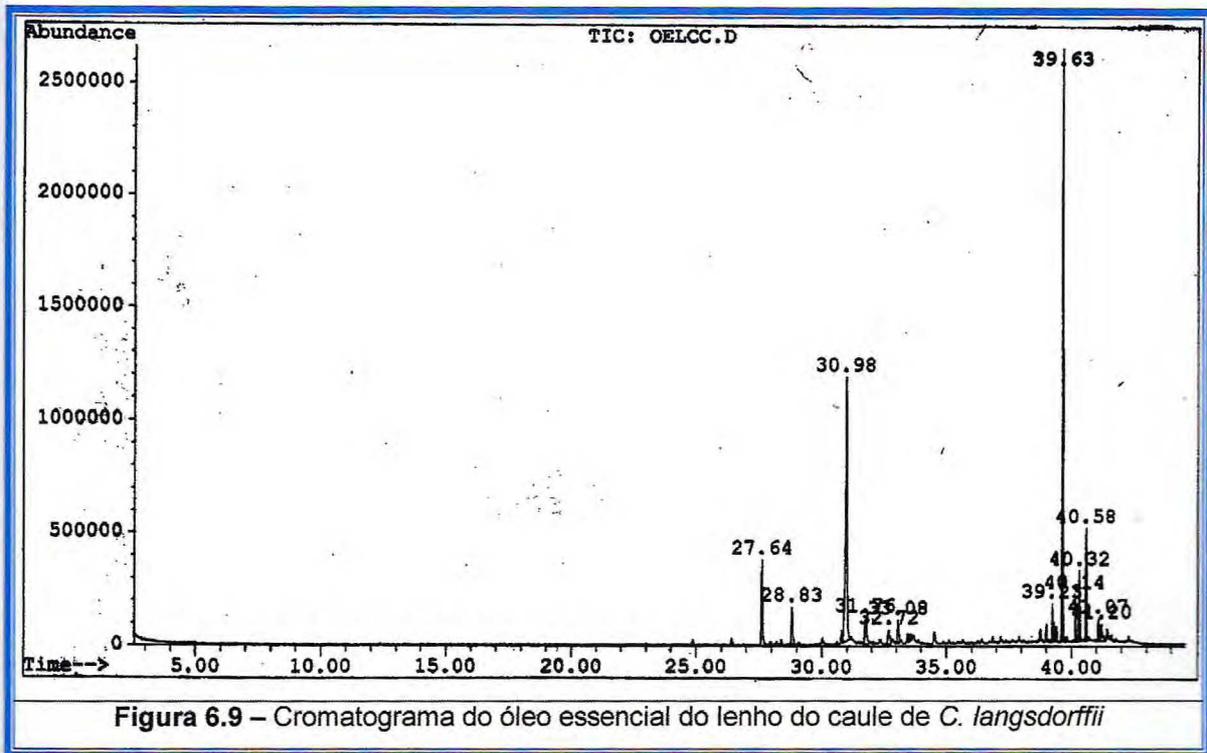


Tabela 6.2
Componentes químicos identificados nos óleos essenciais*
de partes de um exemplar de *Copaifera langsdorffii*

Componentes Químicos	1	2	3	4	5	6	7
p-Cimeno (92)	1,4	1,8	-	-	-	-	-
Cânfora (93)	1,0	1,1	-	-	-	-	-
δ -Elemeno	2,1	3,1	4,1	-	-	-	-
α -Cubebeno	0,5	0,7	3,1	-	-	-	-
α -Copaeno	0,8	-	1,8	-	-	-	-
β -Elemeno	2,0	2,8	6,0	-	2,0	-	-
β -Cariofileno	16,6	14,8	1,3	-	8,0	-	3,1
β -Gurjuneno (94)	0,6	0,9	-	-	-	-	-
γ -Elemeno	-	1,7	-	-	-	-	-
α - <i>trans</i> -Bergamoteno	0,7	0,7	-	-	-	-	-
β -Farneseno	-	-	-	-	-	-	-
α -Humuleno	2,9	2,8	-	-	2,4	-	-
γ -Muuroleno	25,2	29,8	4,5	-	2,5	8,3	-
α -Curcumeno	-	-	-	-	-	-	-
β -Selineno	5,5	-	1,7	4,3	5,2	-	-
α -Selineno	-	-	-	-	1,8	-	-
α -Muuroleno	3,0	2,3	-	-	-	-	-
β -Guaieno (95)	-	-	-	-	5,0	-	-
γ -Cadineno	0,8	1,5	1,9	-	-	3,7	-
<i>cis</i> -Calameneno (96)	1,4	1,0	-	-	-	-	-
δ -Cadineno	6,5	5,3	-	-	-	-	-
7- <i>epi</i> - α -Selineno (97)	-	-	-	-	2,1	-	-
Cubebeno	0,8	-	-	-	-	-	-
α -Cadineno (98)	0,8	-	-	-	-	-	-
Elemol (99)	2,0	2,3	-	-	-	-	-

*Óleos essenciais: Folhas = 1 Lenho da raiz = 4 Casca do caule = 7
 Frutos = 2 Casca da raiz = 5
 Cascas dos frutos = 3 Lenho do caule = 6

Tabela 6.2 (Continuação)
Componentes químicos identificados nos óleos essenciais
de partes de um exemplar de *Copaifera langsdorffii*

Componentes Químicos	1	2	3	4	5	6	7
Germacreno B	2,7	2,3	-	-	-	-	-
Cariofilenol (100)	-	-	-	-	2,3	-	-
Óxido de cariofileno	1,3	3,2	47,3	40,5	30,7	31,0	4,1
Guaiol (101)	2,6	2,7	-	-	-	-	-
4- α -Copaenol (102)	-	-	-	17,6	-	-	-
Carotol (103)	-	-	-	-	2,0	-	4,7
β -Eudesmol (104)	2,1	4,4	-	-	-	-	-
α -Cadinol (105)	3,6	5,2	-	-	-	-	-
<i>epi</i> - α -Cadinol (106)	-	-	-	-	-	1,9	-
<i>epi</i> - α -Muurolol (107)	-	-	-	-	4,1	-	-
Cubenol (108)	-	-	-	-	-	2,3	-
4 α -Eudesm-11-en-4-ol (109)	-	-	-	-	5,2	-	-
β -Bisabolol (110)	-	-	-	-	-	-	30,5
Caur-16-eno	-	-	-	7,5	8,2	30,2	16,7
Caurenal	-	-	-	-	-	-	31,9
Total	87,6	90,4	71,7	69,9	81,6	79,4	91,0

*Óleos Essenciais: Folhas = 1 Lenho da raiz = 4 Casca do caule = 7
Frutos = 2 Casca da raiz = 5
Casca dos frutos = 3 Lenho do caule = 6

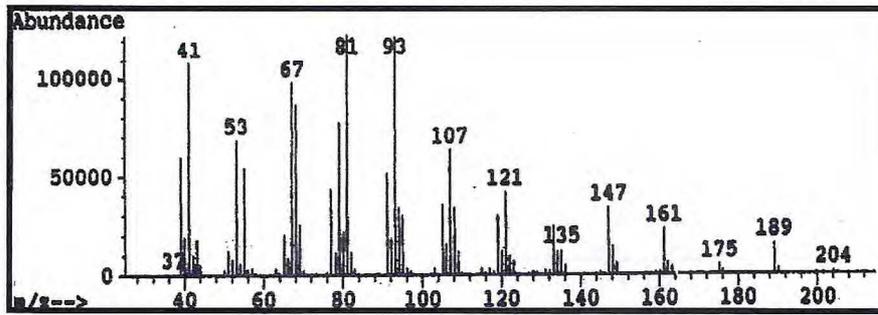


Figura 6.11 – Espectro de massa do β -elemeno

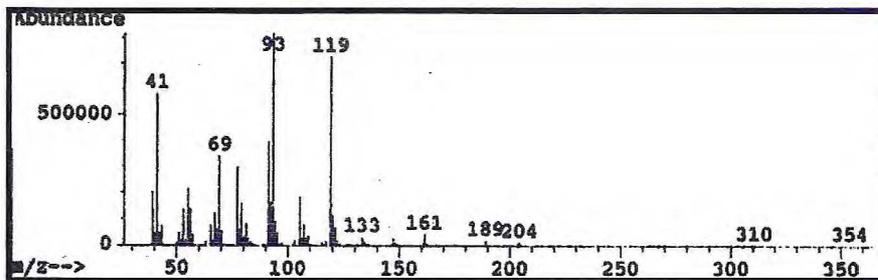
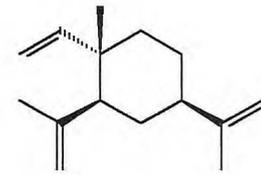
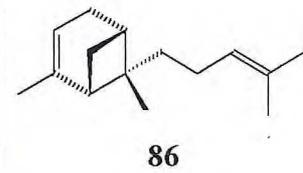


Figura 6.12 – Espectro de massa do α -cis-bergamoteno



86

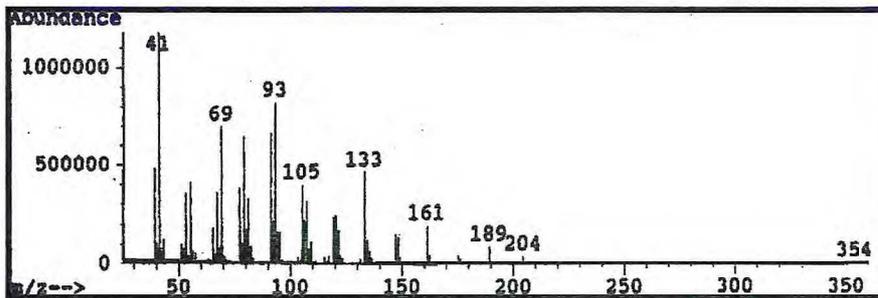


Figura 6.13 – Espectro de massa do β -cariofileno

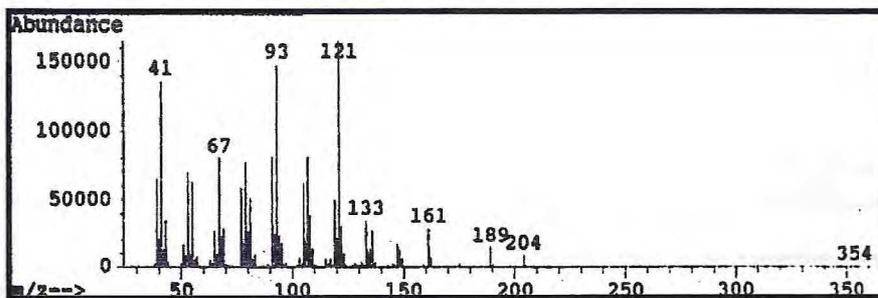
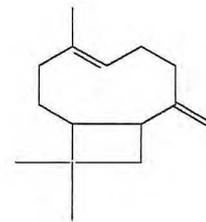


Figura 6.14 – Espectro de massa do γ -elemeno

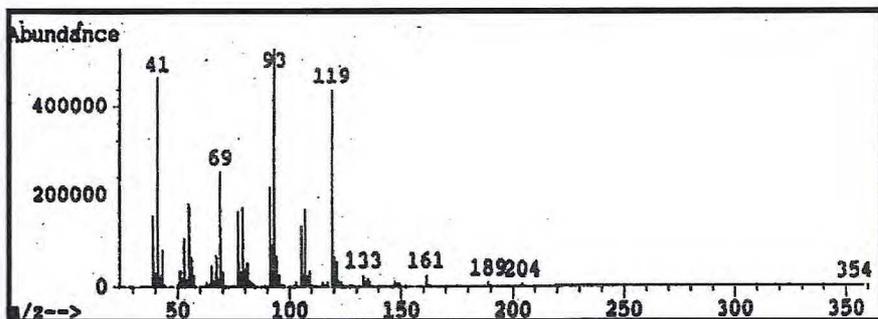
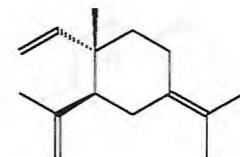
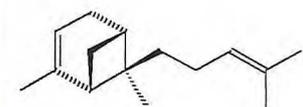


Figura 6.15 – Espectro de massa do α -trans-bergamoteno



87

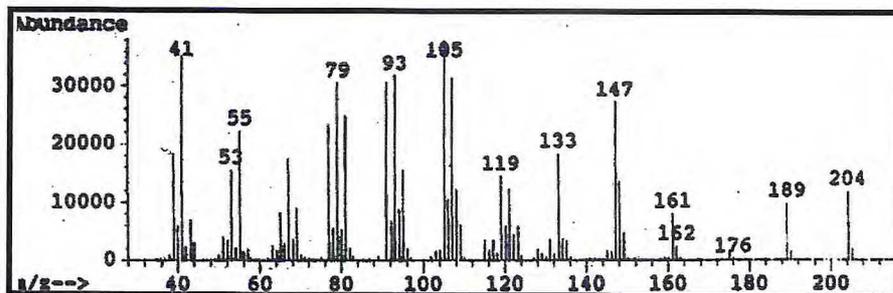
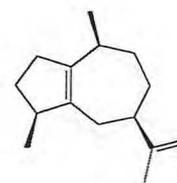


Figura 6.16 – Espectro de massa do α -guaieno



88

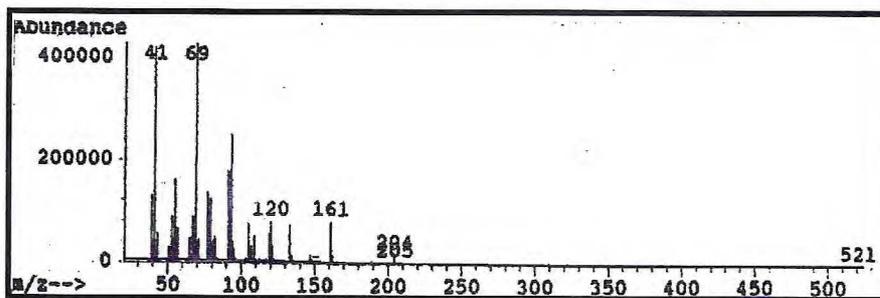


Figura 6.17 – Espectro de massa do β -farneseno

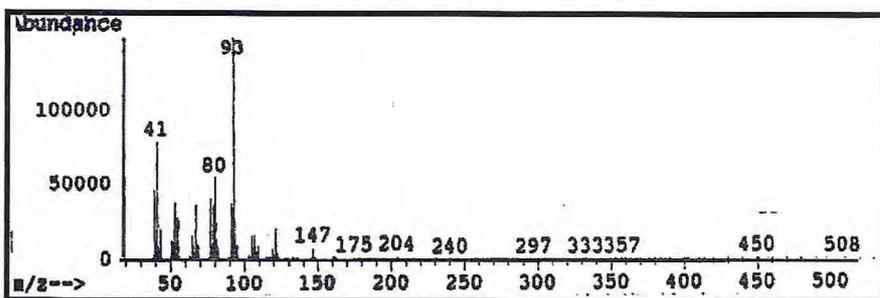
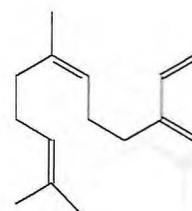


Figura 6.18 – Espectro de massa do α -humuleno

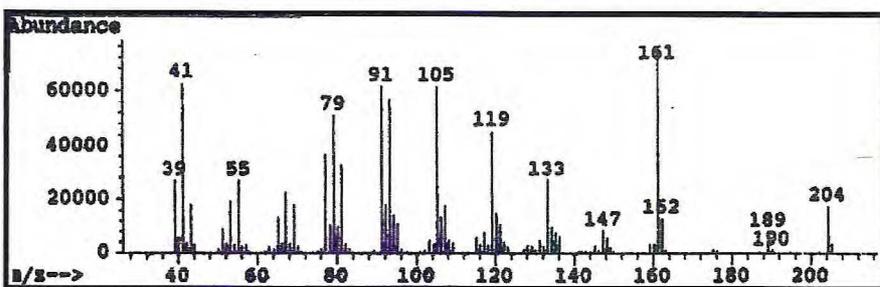
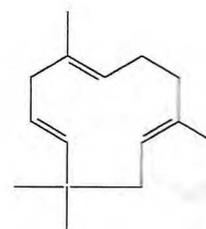


Figura 6.19 – Espectro de massa do γ -muroleno

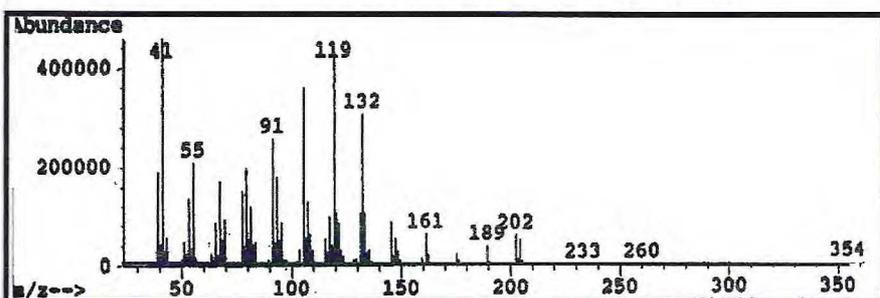
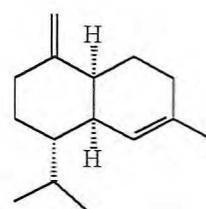
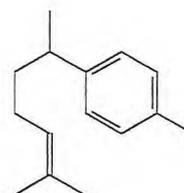


Figura 6.20 – Espectro de massa do ar-curcumeno



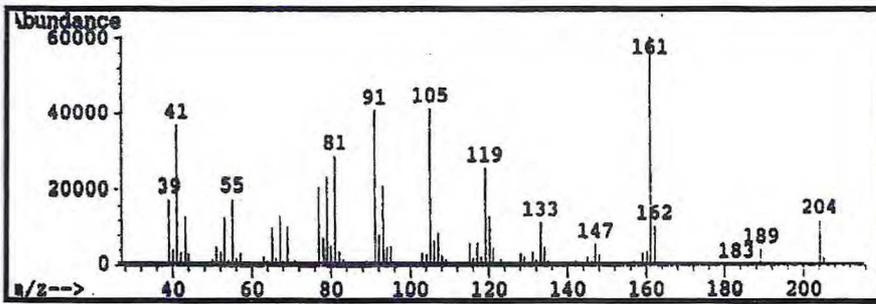
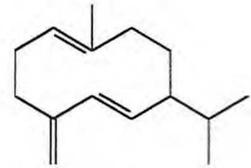


Figura 6.21 – Espectro de massa do germacreno D



89

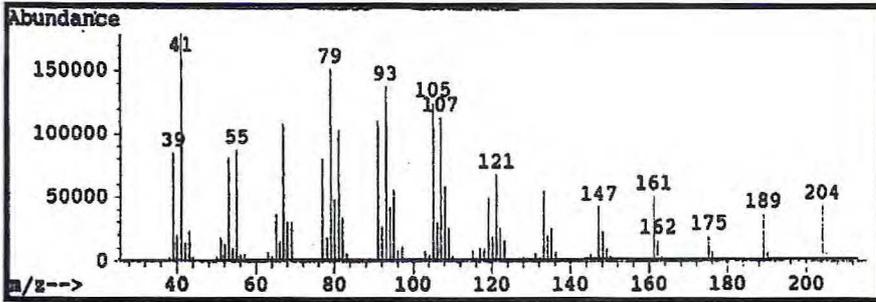


Figura 6.22 – Espectro de massa do β -selineno

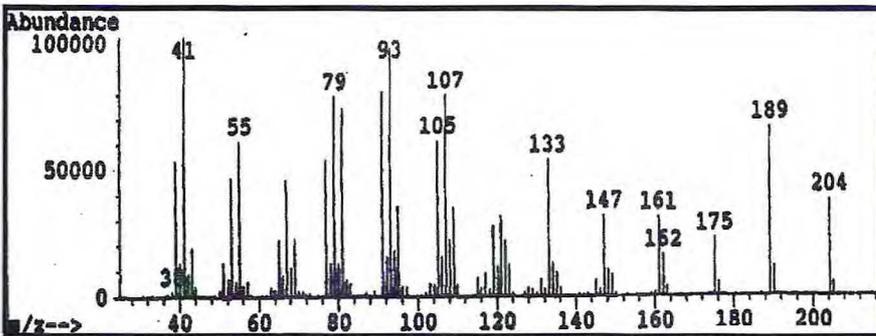
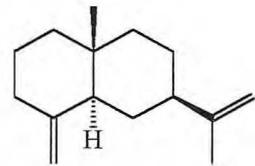


Figura 6.23 – Espectro de massa do α -selineno

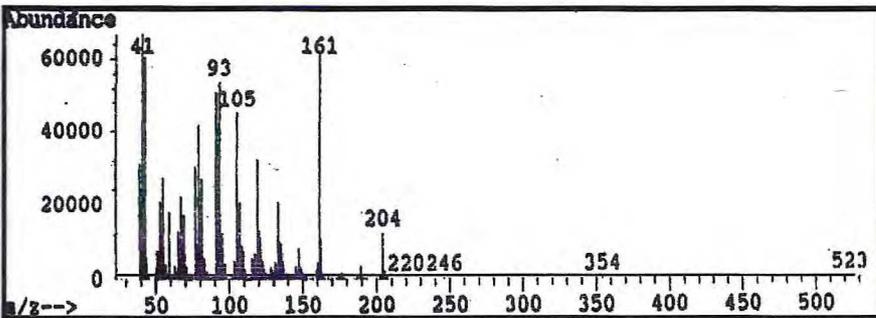
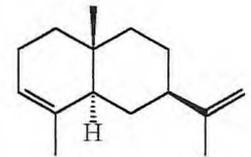


Figura 6.24 – Espectro de massa do γ -cadineno

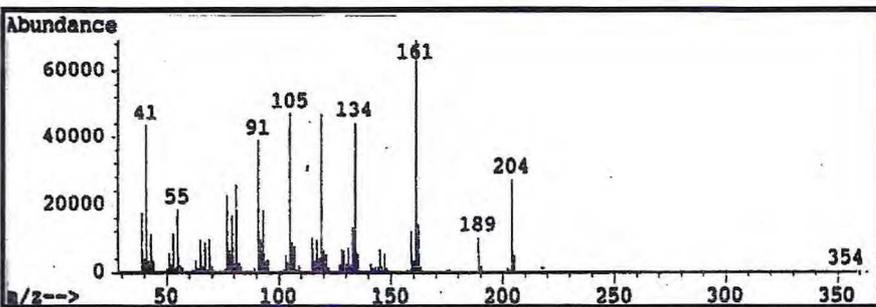
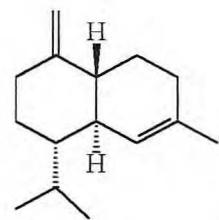
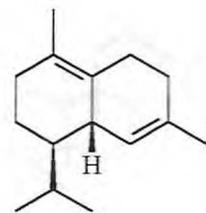


Figura 6.25 – Espectro de massa do δ -cadineno



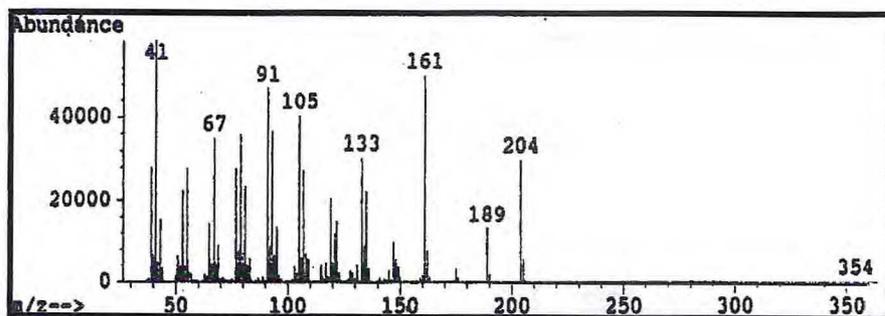


Figura 6.26 – Espectro de massa do cubebeno

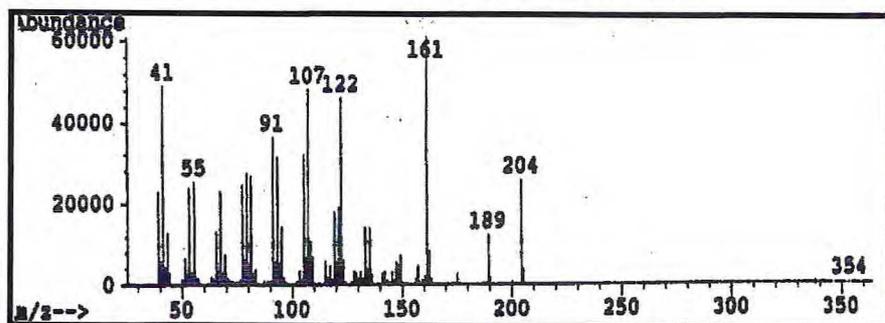
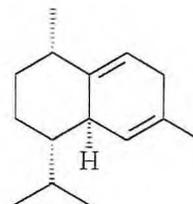
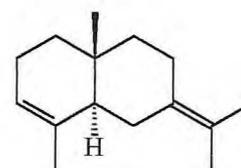


Figura 6.27 – Espectro de massa do selina-3,7(11)dieno



90

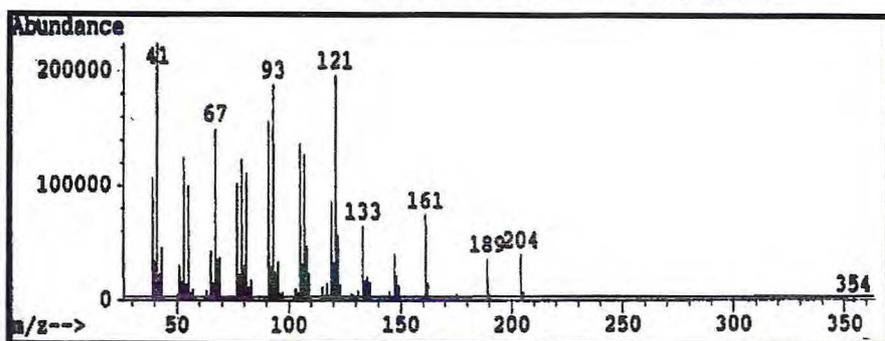
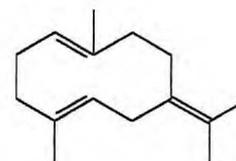


Figura 6.28 – Espectro de massa do germacreno B



91

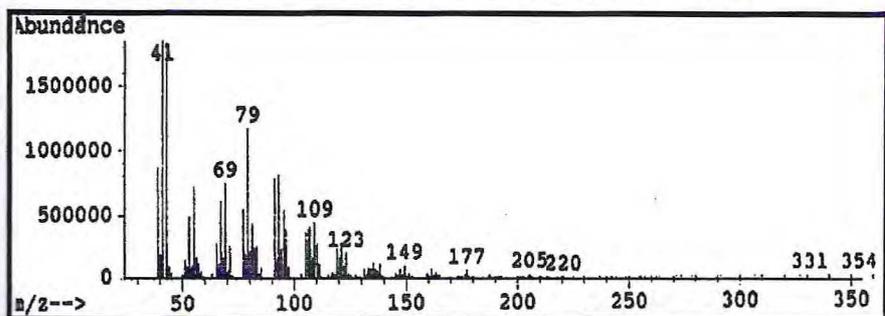


Figura 6.29 – Espectro de massa do óxido de cariofileno

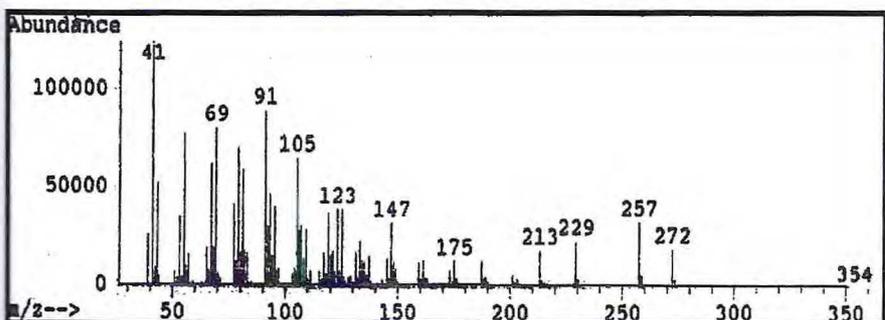
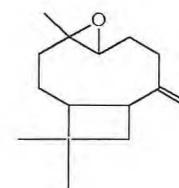
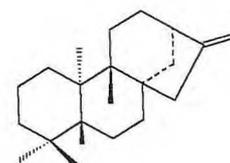


Figura 6.30 – Espectro de massa do caur-16-eno



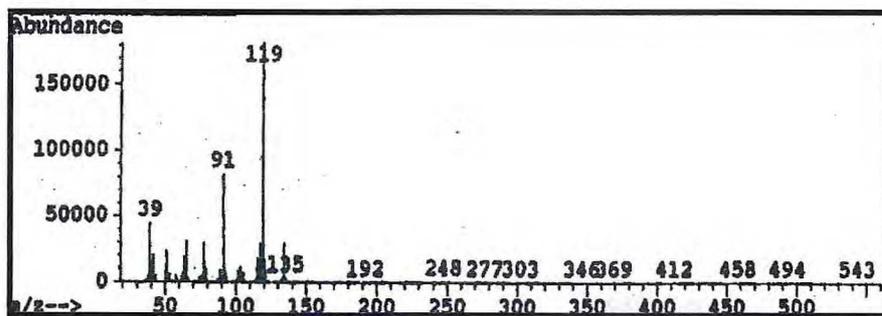


Figura 6.31 – Espectro de massa do p-cimeno



92

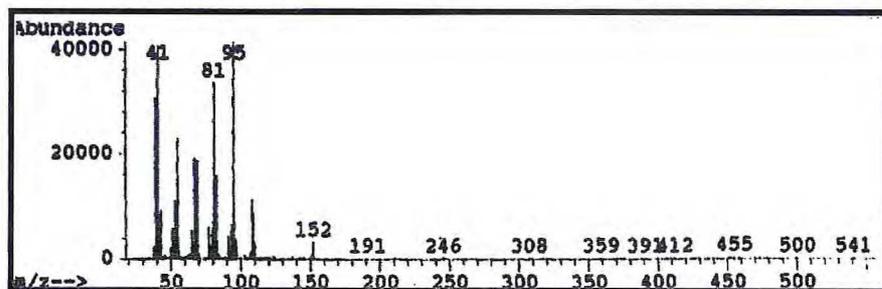
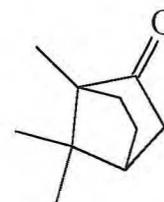


Figura 6.32 – Espectro de massa da cânfora



93

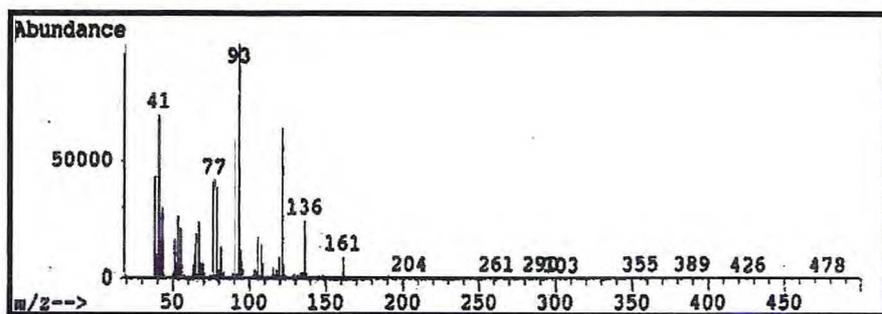


Figura 6.33 – Espectro de massa do δ-elemeno

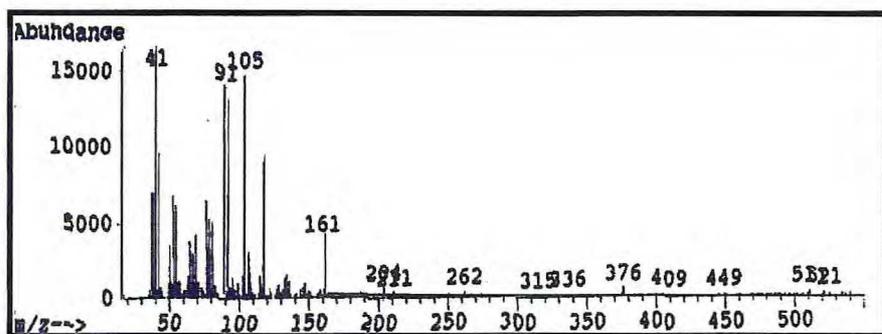
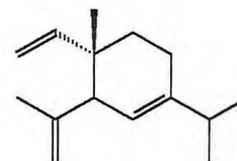


Figura 6.34 – Espectro de massa do α-cubebeno

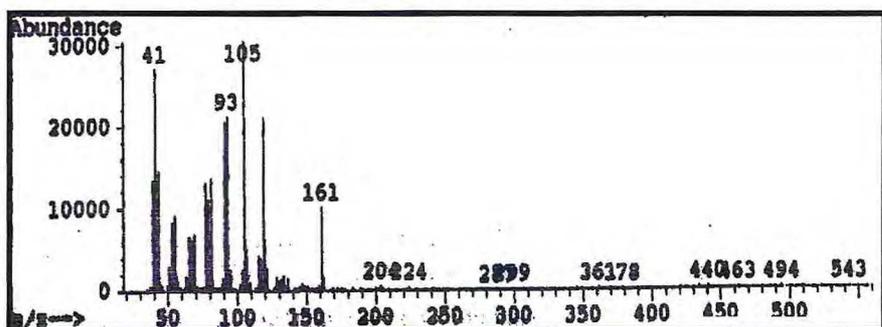
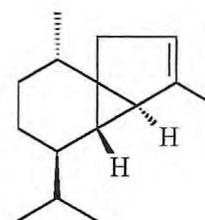
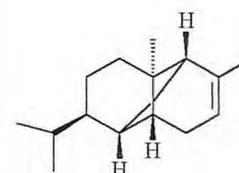


Figura 6.35 – Espectro de massa do α-copaeno



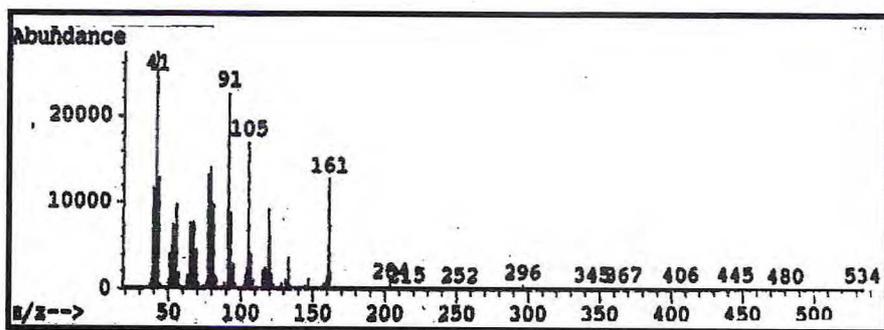
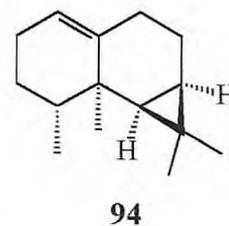


Figura 6.36 – Espectro de massa do β -gurjuneno



94

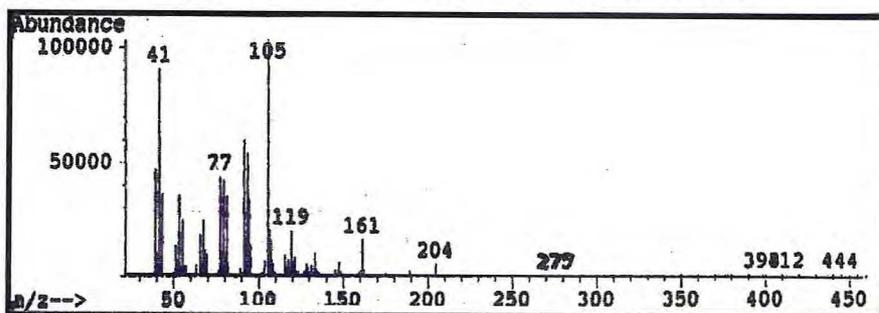


Figura 6.37 – Espectro de massa do α -muroleno

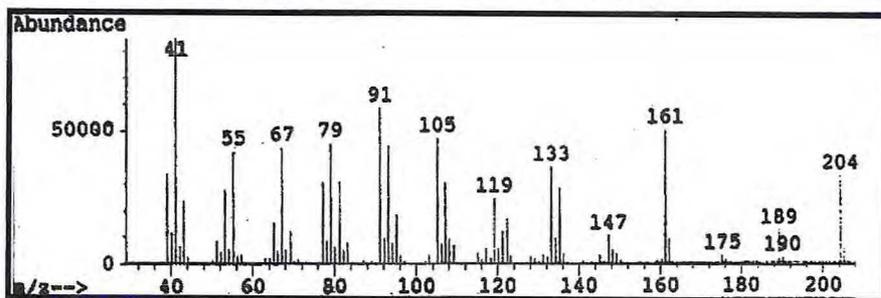
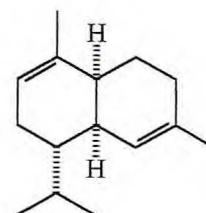
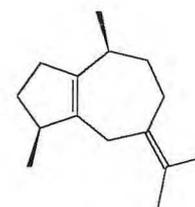


Figura 6.38 – Espectro de massa do β -guaieno



95

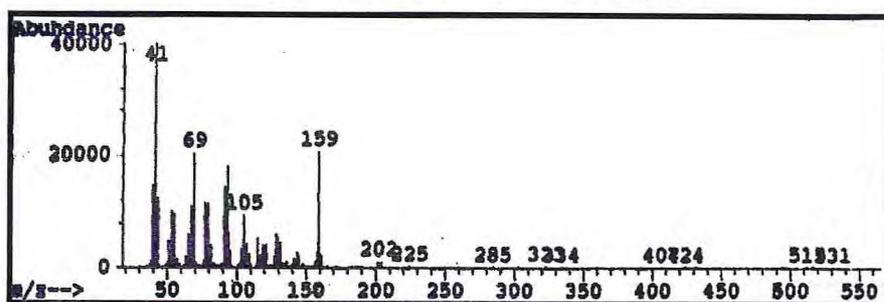
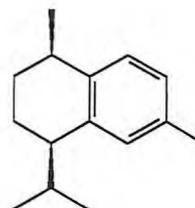


Figura 6.39 – Espectro de massa do *cis*-calameneno



96

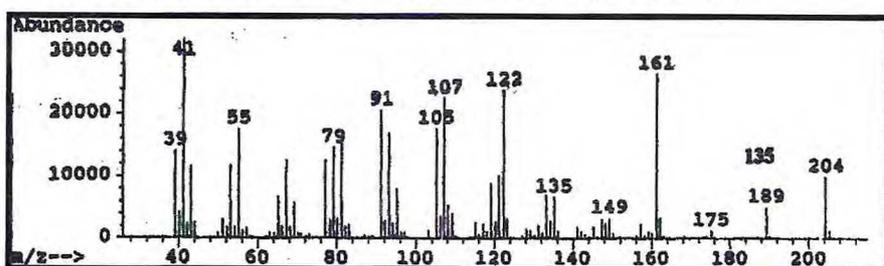
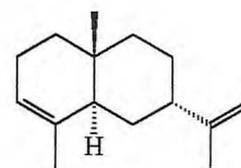


Figura 6.40 – Espectro de massa do 7-*epi*- α -selineno



97

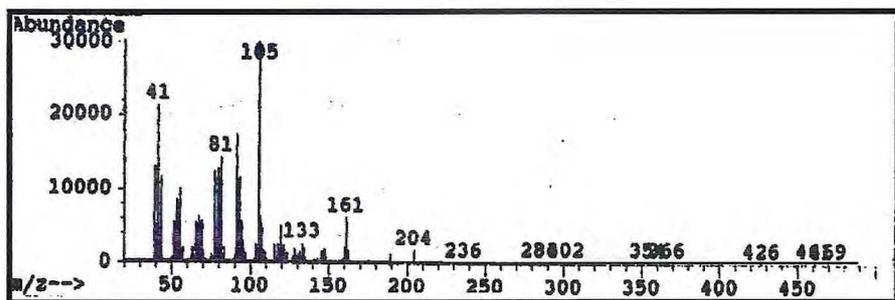
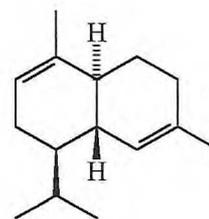


Figura 6.41 – Espectro de massa do α -cadineno



98

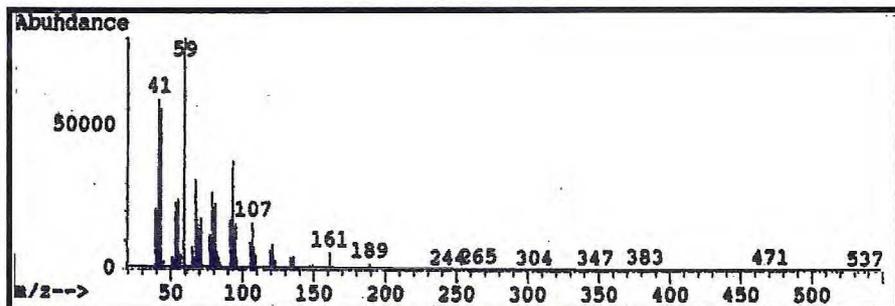
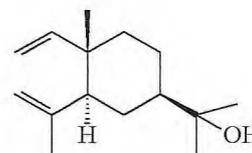


Figura 6.42 – Espectro de massa do elemol



99

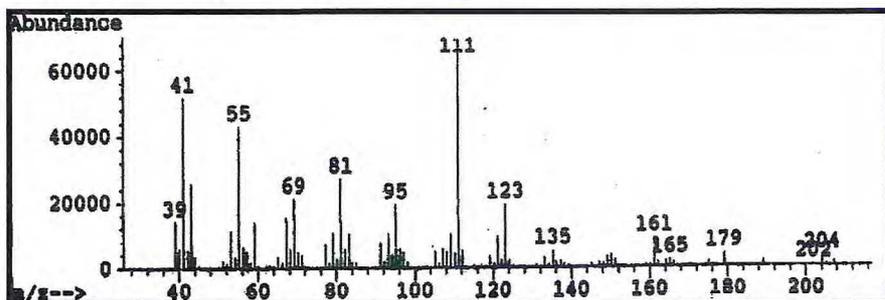
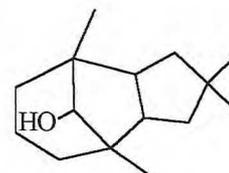


Figura 6.43 – Espectro de massa do cariofilenol



100

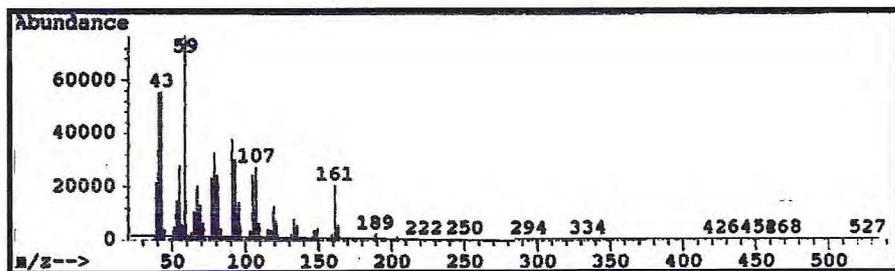
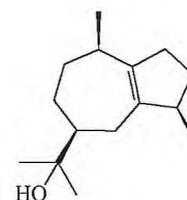


Figura 6.44 – Espectro de massa do guaiol



101

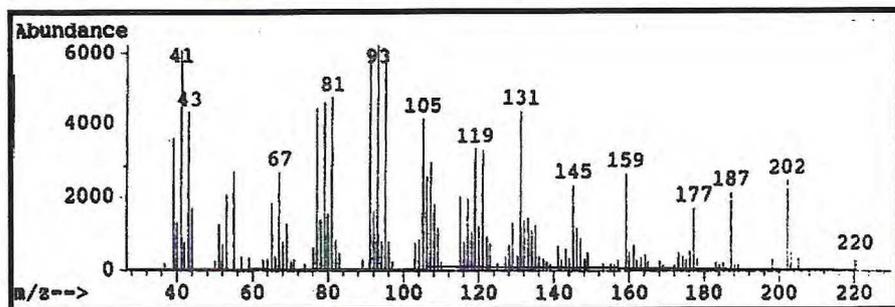
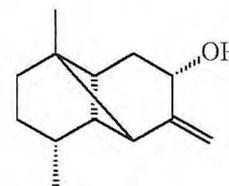


Figura 6.45 – Espectro de massa do 4- α -copaenol



102

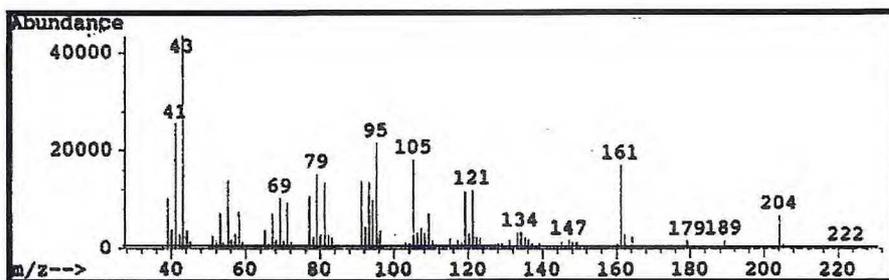
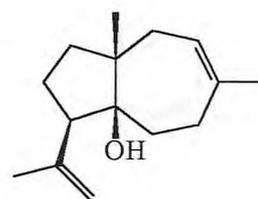


Figura 6.46 – Espectro de massa do carotol



103

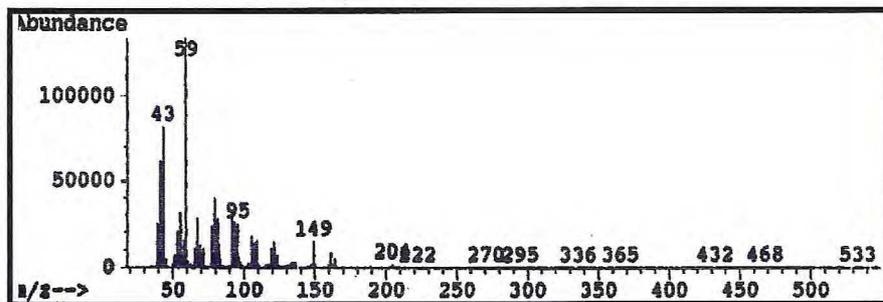
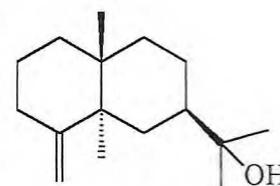


Figura 6.47 – Espectro de massa do β -eudesmol



104

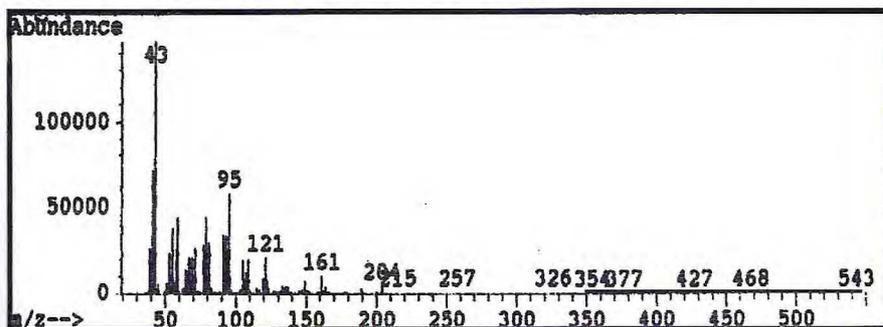
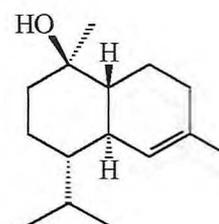


Figura 6.48 – Espectro de massa do α -cadinol



105

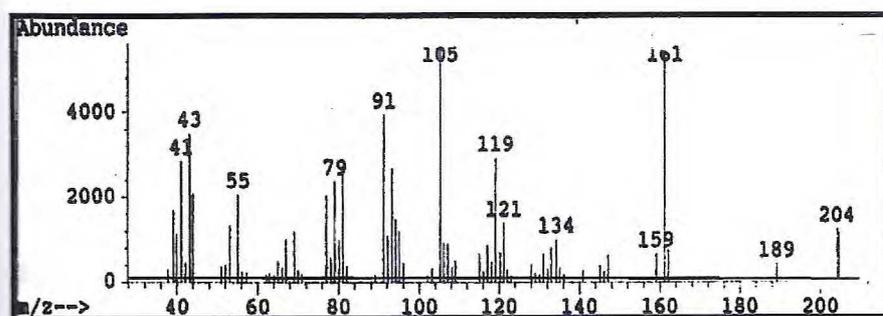
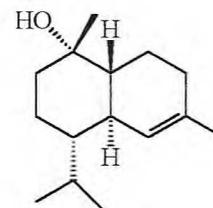


Figura 6.49 – Espectro de massa do *epi*- α -cadinol



106

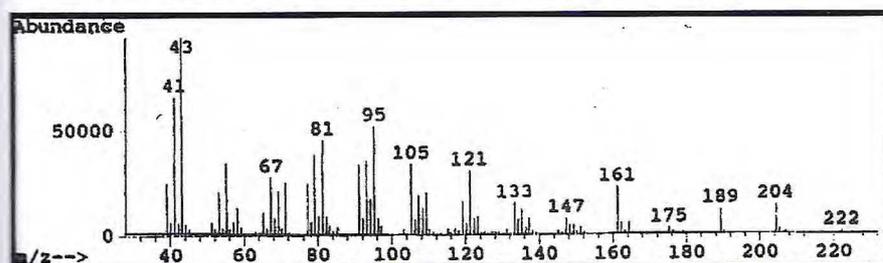
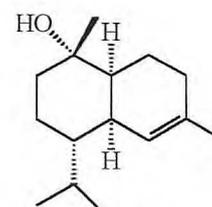


Figura 6.50 – Espectro de massa do *epi*- α -muurolol



107

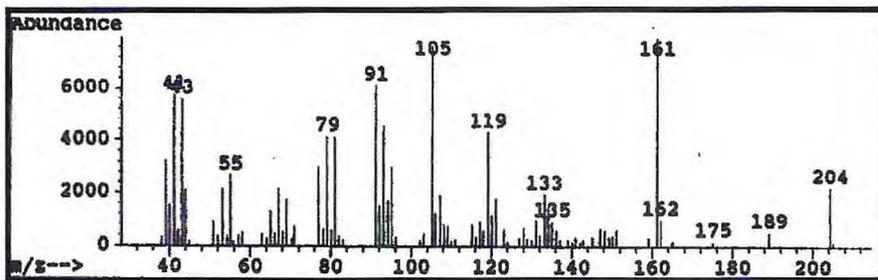
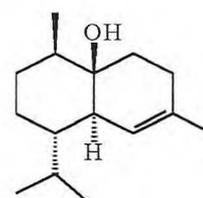


Figura 6.51 – Espectro de massa do cubenol



108

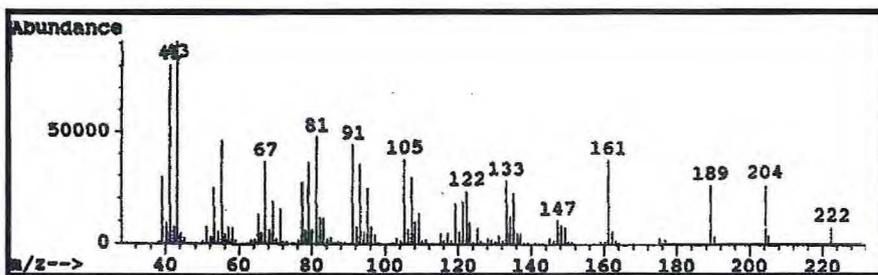


Figura 6.52 – Espectro de massa do 4 α -eudesm-11-en-4-ol

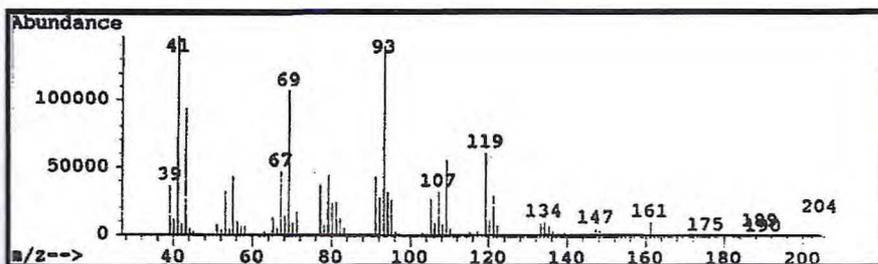
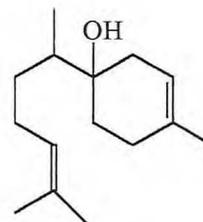


Figura 6.53 – Espectro de massa do β -bisabolol



110

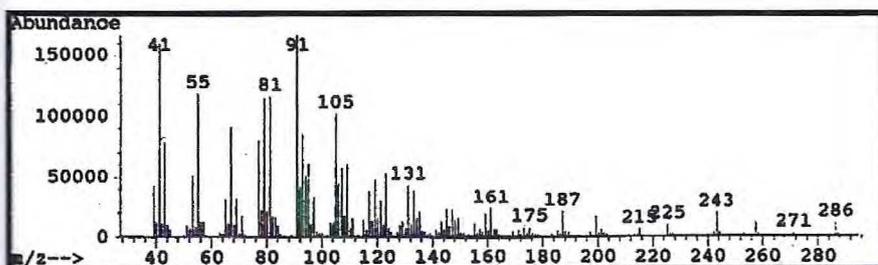
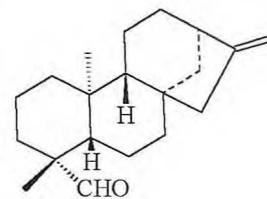


Figura 6.54 – Espectro de massa do caurenal



6.4. Identificação dos ácidos graxos do óleo fixo da fração clorofórmica das sementes de *C. langsdorffii*.

As sementes de *Copaifera langsdorffii* foram extraídas com clorofórmio, fornecendo 18,7 g de extrato clorofórmico denominado SC-C. Uma alíquota de 1,0 g deste extrato foi submetida ao procedimento de hidrólise alcalina, seguido de neutralização com HCl e extração com clorofórmio, fornecendo um óleo amarelo escuro contendo seus respectivos ácidos graxos (SC-C(AG-C)) (procedimento página 230), cujo espectro de RMN ¹H encontra-se descrito na Figura 6.55, página 96. Os ácidos graxos obtidos foram metilados com diazometano e em seguida analisados por CGL-EM, fornecendo o cromatograma da Figura 6.56 (página 96) que mostra 18 componentes majoritários.

A identificação dos ácidos graxos das sementes foi determinada a partir de comparação do espectro de massa referente a cada pico do cromatograma, com espectros de massa fornecidos por um banco de dados e com espectros de massa encontrados na literatura [Adams, 1995]. Os ácidos graxos identificados a partir dos espectros de massa de seus respectivos ésteres metílicos (Figura 6.57 a 6.66, páginas 97 a 99) encontram-se descritos na Tabela 6.3 (página 97). Desta forma, os principais constituintes identificados no óleo fixo das sementes de *C. langsdorffii* foram os ésteres metílicos dos ácidos: palmítico (20,2 %), oleico (33,1 %) e esteárico (7,0%).

De acordo com os dados obtidos, observou-se uma diferença bastante significativa no teor do ác. linoleico das sementes de *Copaifera* sp (35,7%) [Maia *et al*, 1978] com o mesmo ácido obtido de *C. langsdorffii* (2,6%) em estudo.

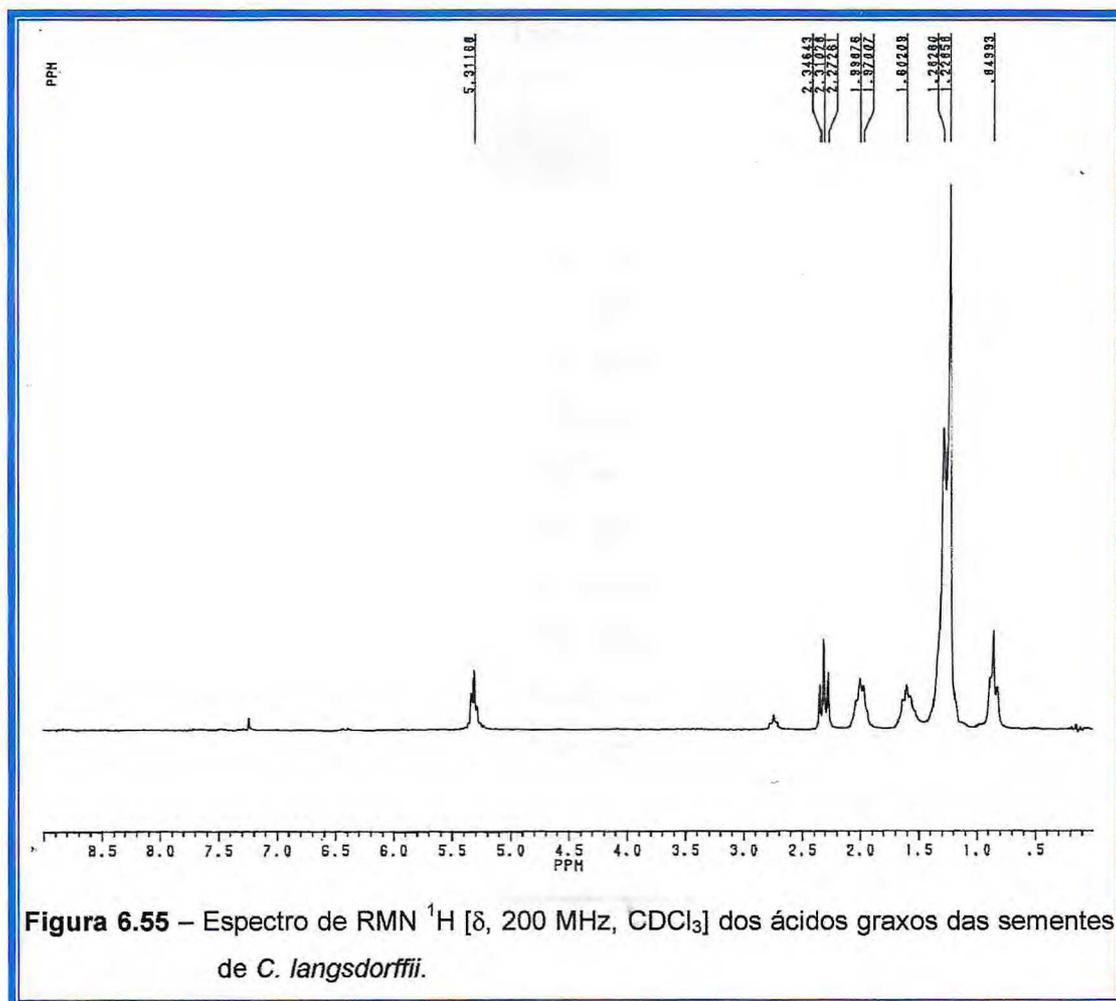


Figura 6.55 – Espectro de RMN ¹H [δ, 200 MHz, CDCl₃] dos ácidos graxos das sementes de *C. langsdorffii*.

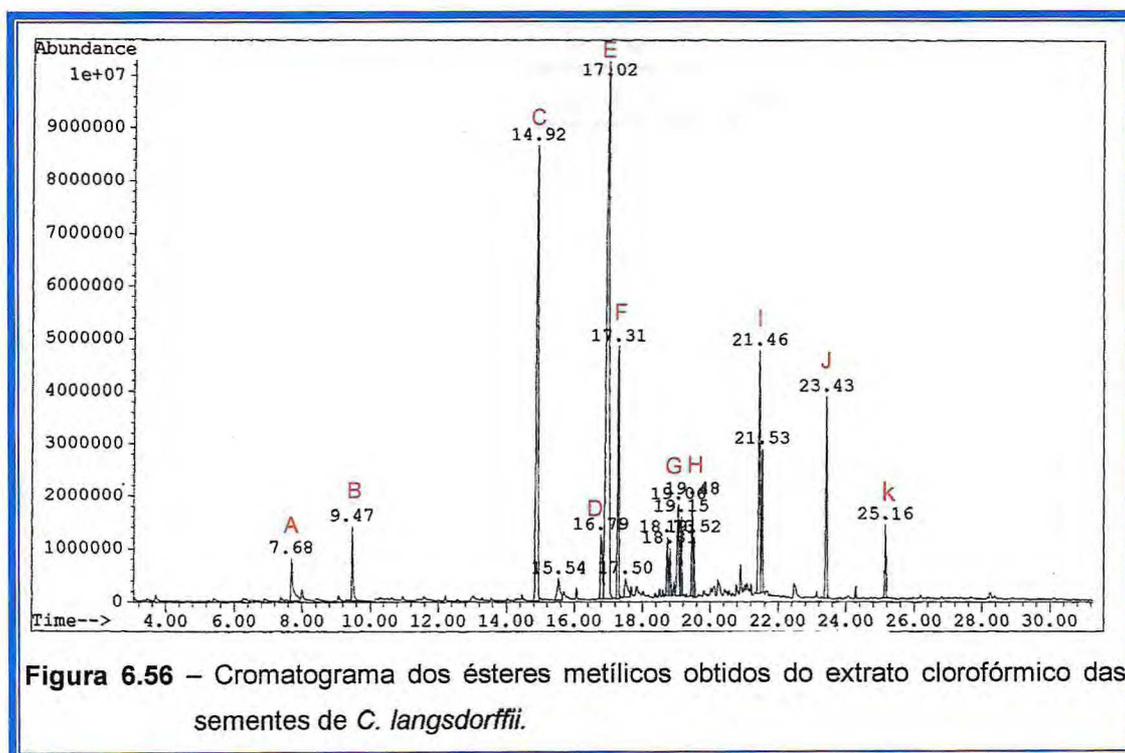


Figura 6.56 – Cromatograma dos ésteres metílicos obtidos do extrato clorofórmico das sementes de *C. langsdorffii*.

Tabela 6.3
Teor (%) de ácidos graxos presentes no óleo fixo do
extrato clorofórmico das sementes de *C. langsdorffii*

	Ácido	Nome Comum	T.R. (min.)	Teor (%)
A	Ác. octanóico (111)	Ác. caprílico (8:0)	7,7	1,9
B	Ác. decanóico (112)	Ác. cáprico (10:0)	9,5	1,8
C	Ác. hexadecanóico (113)	Ác. palmítico (16:0)	14,9	20,2
D	Ác. 9,12-octadecadienóico (114)	Ác. linoleico (18:2)	16,8	2,6
E	Ác. 9-octadecenóico (115)	Ác. oleico (18:1)	17,0	33,1
F	Ác. octadecanóico (116)	Ác. esteárico (18:0)	17,3	7,0
G	Ác. <i>cis</i> -11-eicosenóico (117)	Ác. gôndico (20:1)	19,1	1,7
H	Ác. eicosanóico (118)	Ác. araquídico (20:0)	19,5	2,7
I	Ác. docosanóico (119)	Ác. beênico (22:0)	21,5	3,6
J	Ác. tetracosanóico (120)	Ác. lignocérico (24:0)	23,4	5,7
K	Ác. hexacosanóico (121)	Ác. cerótico (26:0)	25,2	1,5
	Total	-	-	81,8

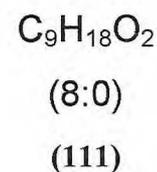
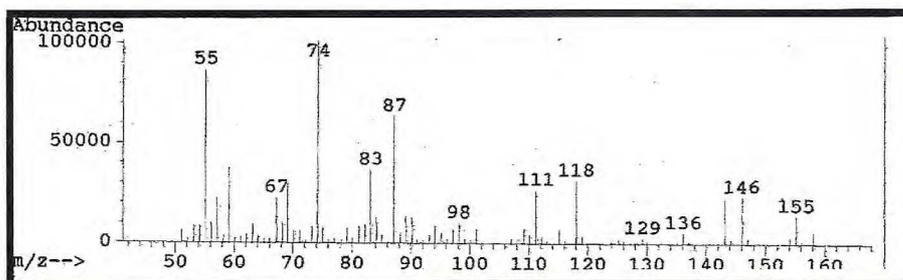


Figura 6.57 – Espectro de massa do éster metílico do ácido caprílico

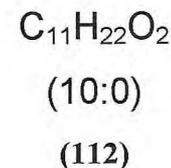
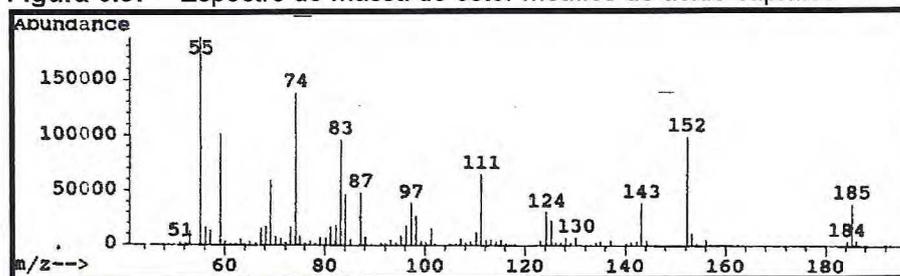


Figura 6.58 – Espectro de massa do éster metílico do ácido cáprico

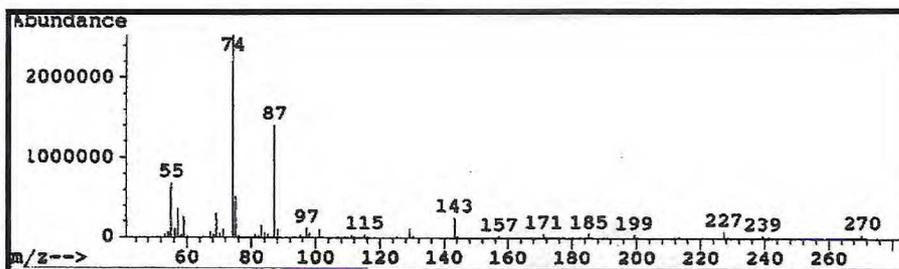


Figura 6.59 – Espectro de massa do éster metílico do ácido palmítico

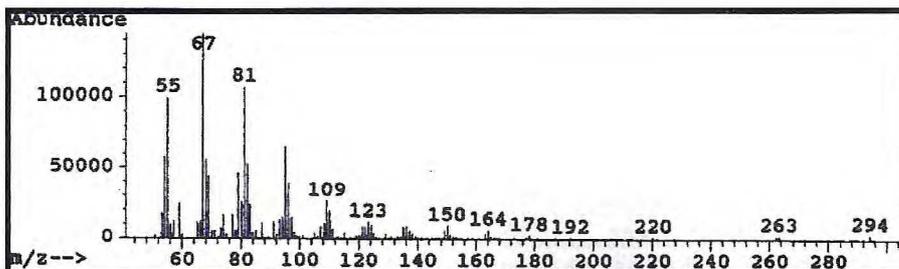
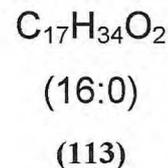


Figura 6.60 – Espectro de massa do éster metílico do ácido linoleico

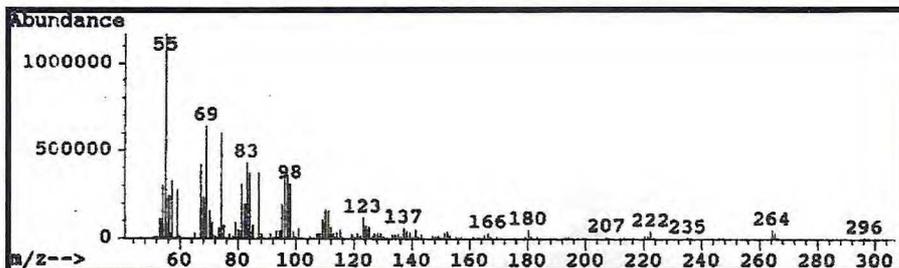
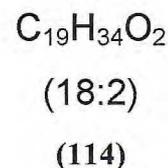


Figura 6.61 – Espectro de massa do éster metílico do ácido oleico

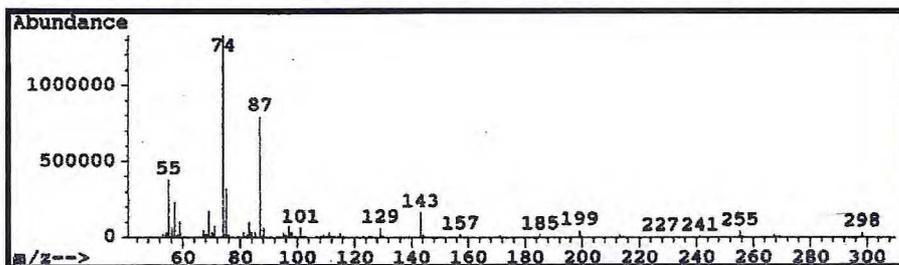
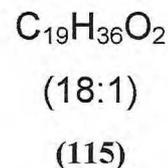


Figura 6.62 – Espectro de massa do éster metílico do ácido esteárico

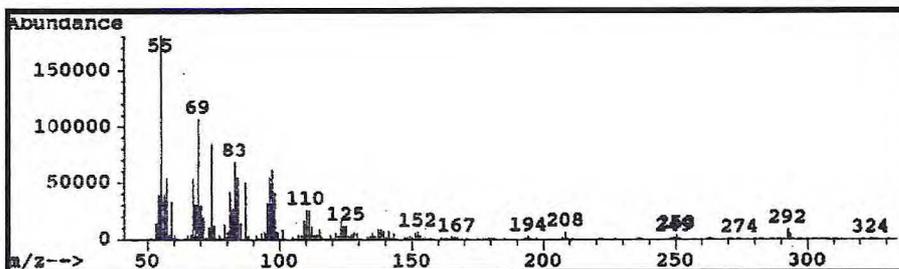
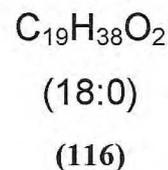
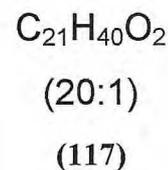


Figura 6.63 – Espectro de massa do éster metílico do ácido gôndico



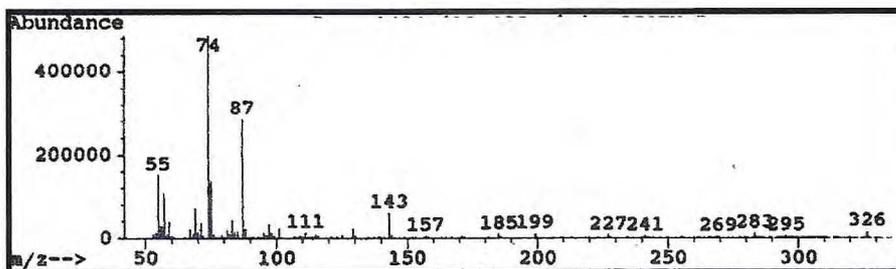


Figura 6.64 – Espectro de massa do éster metílico do ácido araquídico

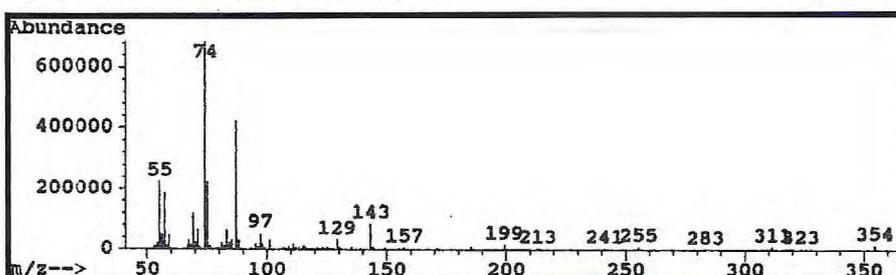
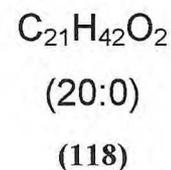


Figura 6.65 – Espectro de massa do éster metílico do ácido beênico

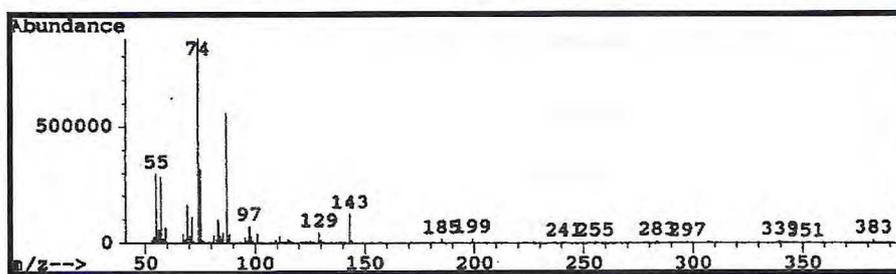
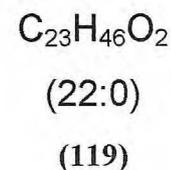


Figura 6.66 – Espectro de massa do éster metílico do ácido lignocérico

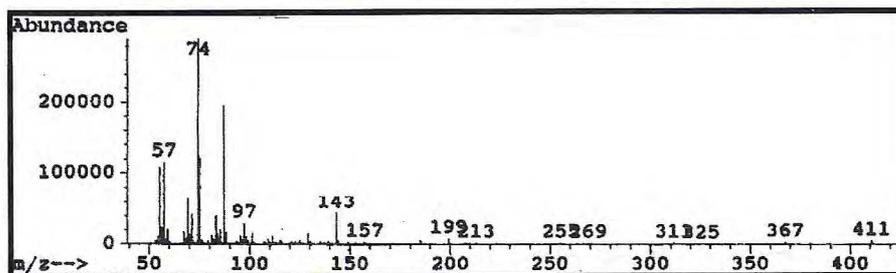
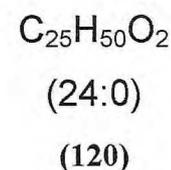
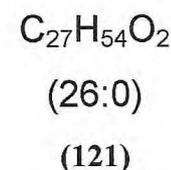


Figura 6.67 – Espectro de massa do éster metílico do ácido cerótico



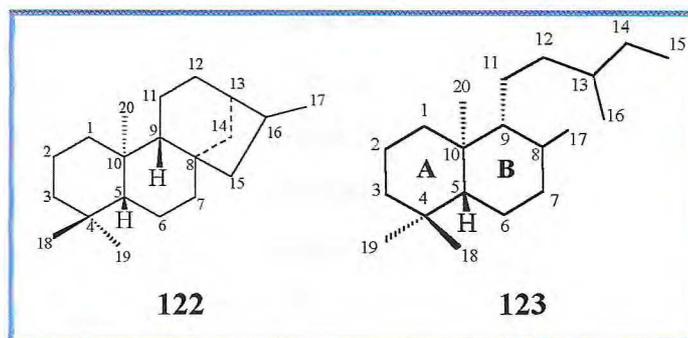
6.5. Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis de *C. langsdorffii*.

Os capítulos anteriores descrevem as diversas classes de compostos isolados e identificados em *Copaifera* (Capítulo 3, página 32), bem como mostram que os terpenóides representam a maioria dos compostos identificados e que os sesquiterpenos predominam nos óleos essenciais, enquanto que os diterpenos, principalmente de esqueletos caurânicos e labdânicos, na fração não-volátil do óleo de copaíba.

O estudo químico do óleo de copaíba obtido de *Copaifera langsdorffii*, bem como das sementes desta espécie, possibilitou o isolamento do sesquiterpeno oxigenado óxido de cariofileno, cinco diterpenos caurânicos, três diterpenos labdânicos e uma cumarina como

produtos naturais, e ainda um diterpeno caurânico e quatro labdânicos como produtos de reação.

Os diterpenos obtidos de *C. langsdorffii* apresentaram-se com esqueletos *ent*-caurânicos (122) e *ent*-labdânicos (123), como previsto por Ferrari, Pagnoni e Pelizzoni (1971).



Um dos dados importantes na proposição inicial do esqueleto diterpênico é o sinal do prótio localizado no C-13 que modo geral aparece entre δ 2,61 a 2,67 e apresenta-se como um sinal simples, largo e bem característico, além dos hidrogênios metilênicos da dupla exocíclica que aparecem próximos em δ 4,77 e 4,71 e dos hidrogênios metílicos na faixa de δ 1,30-0,80 no espectro de RMN ^1H . O sinal em δ 5,63 no espectro RMN de prótio referente ao hidrogênio metínico da dupla trissubstituída, bem como os sinais referentes à dupla ligação exocíclica C8-C17 em δ 4,83 e 4,49 (H-17), um sinal em que aparece próximo em δ 2,14 referente aos hidrogênios do grupo metila C-16 e ainda dois singletos em δ 0,68 e 1,11 relativos a hidrogênios de dois grupos metila, são indicativos de diterpenos de esqueleto *ent*-labdânico.

6.5.1. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados a partir do tratamento cromatográfico do óleo de copaíba obtido de *C. langsdorffii*.

O estudo químico do óleo de copaíba foi efetuado a partir óleos denominados OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4 obtidos por exsudação do tronco de exemplares de *C. langsdorffii* encontrados no Crato-CE (ver procedimento página 207). Estes óleos sem nenhum tipo de tratamento e purificação foram classificados como óleos brutos.

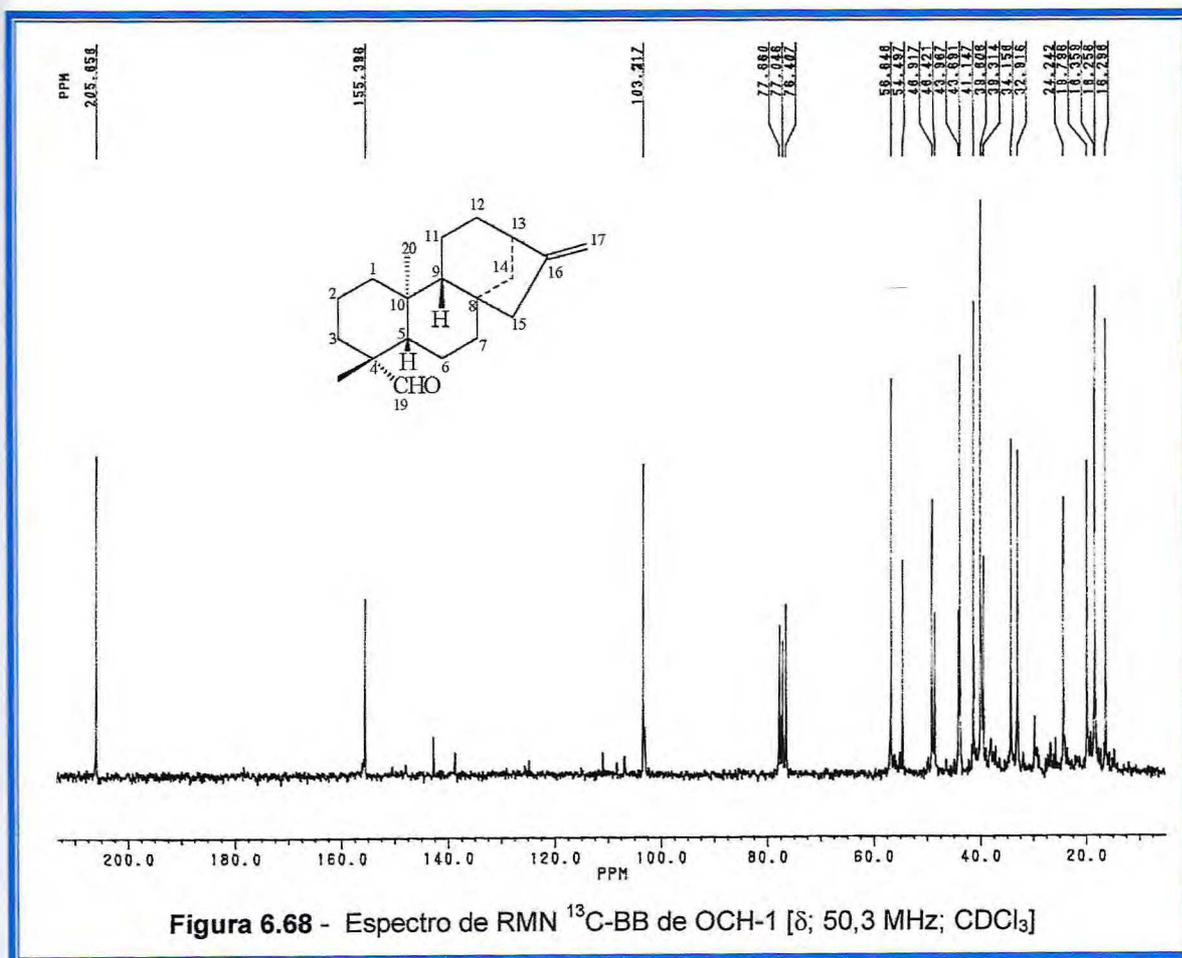
Os óleos brutos foram submetidos a tratamentos cromatográficos diversos permitindo o isolamento dos compostos terpênicos, cujas determinações estruturais serão descritas a seguir.

6.5.1.1. Determinação estrutural de OCH-1

O fracionamento cromatográfico do óleo de copaíba permitiu o isolamento de um sólido cristalino incolor de ponto de fusão 112,5-113,6 °C, homogêneo em CCD e $[\alpha]_D^{25} = -37^\circ$ (CHCl_3 , $c = 0,075\%$), solúvel em clorofórmio, denominado OCH-1 (ver procedimento experimental, página 212).

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.68) de OCH-1, mostrou 19 linhas espectrais que após serem comparadas com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.69, página 102), permitiu identificar 16 absorções referentes a carbonos saturados que apareceram na faixa de δ 16,3 a 56,6 e três absorções referentes a carbonos insaturados em δ 205,8; 155,4 e 103,2 (Tabela 6.4, página 102). A absorção em δ 205,8 foi atribuída a uma carbonila de aldeído, enquanto que as absorções em δ 155,4 e 103,2 foram relacionadas a carbonos de dupla exocíclica.

Análise do espectro de RMN ^1H (Figura 6.70, página 103) de OCH-1 mostrou absorções em δ 4,77 (1H) e 4,72 (1H) relativas a hidrogênios geminais ligados a carbono sp^2 , bem como em δ 9,71 (1H); 2,62 (1H); 0,96 (3H) e 0,84 (3H) referentes a um hidrogênio aldeídico; um hidrogênio metínico e a hidrogênios de dois grupos metila, respectivamente.



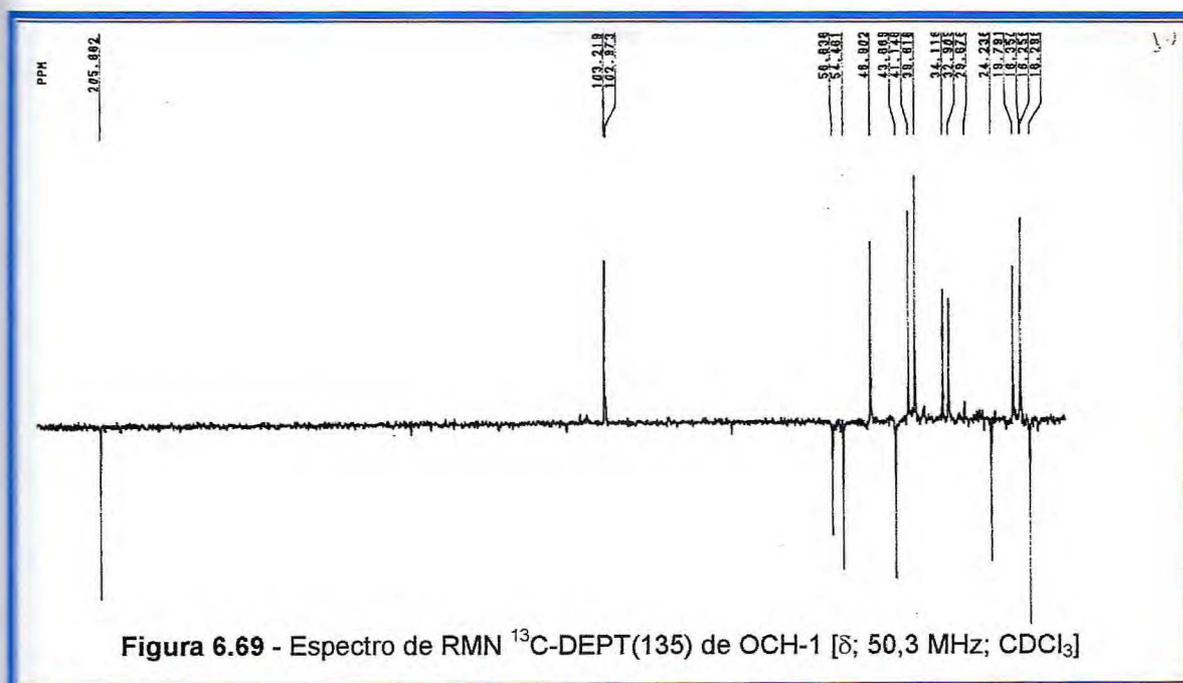


Figura 6.69 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) de OCH-1 [δ ; 50,3 MHz; CDCl_3]

Tabela 6.4
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OCH-1 com padrão de hidrogenação
(RMN ^{13}C -BB e DEPT; δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
155,4	205,8	103,2	24,2
44,0	56,6	48,9	16,3
39,3	54,5	41,1	-
-	43,7	39,8	-
-	-	34,1	-
-	-	32,9	-
-	-	19,8	-
-	-	18,3	-
-	-	18,2	-
C₃	C₄H₄	C₉H₁₈	C₂H₆
TOTAL C₁₉H₃₀			

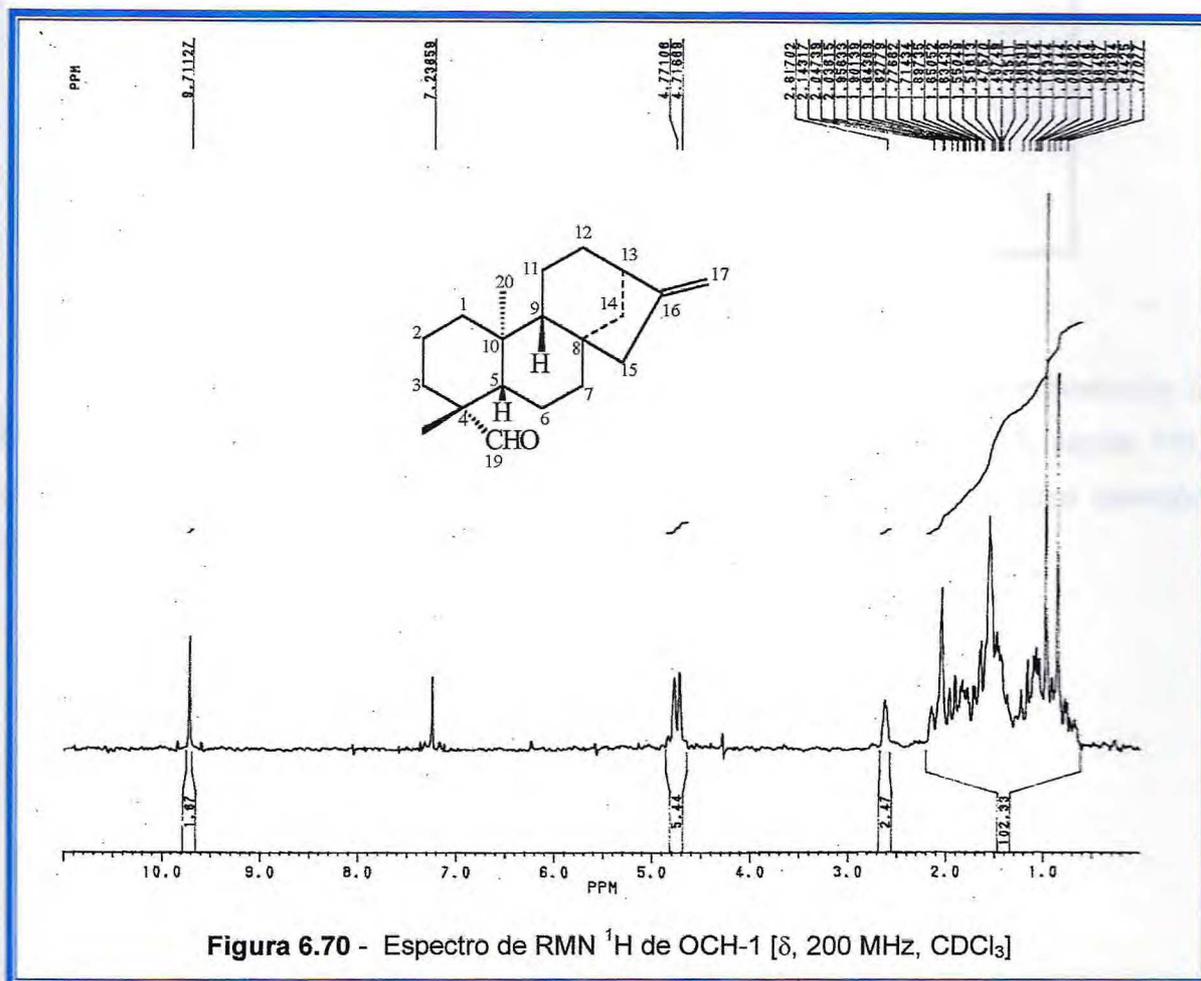
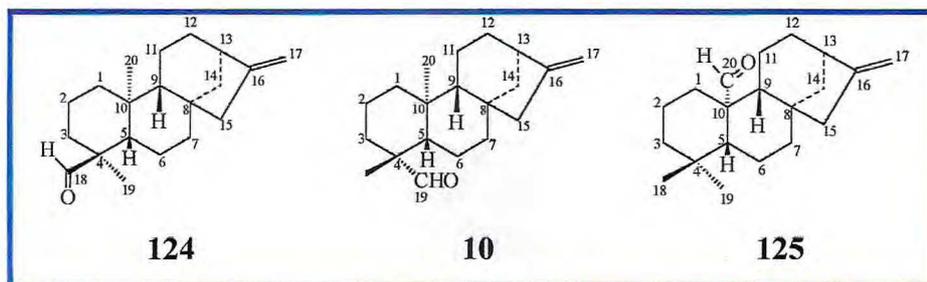


Figura 6.70 - Espectro de RMN ^1H de OCH-1 [δ , 200 MHz, CDCl_3]

A partir dos dados obtidos, foi possível prever que um dos sinais do espectro de ^{13}C -BB era relativo a dois carbonos, podendo-se sugerir a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}$ para OCH-1 e em conseqüência a presença de 6 índices de deficiência de hidrogênio. Duas deficiências foram relacionadas a uma dupla dissubstituída geminal e uma carbonila de aldeído, restando 4 deficiências referentes a um diterpeno tetracíclico. Com os dados obtidos, pôde-se propor três posições possíveis para o carbono de aldeído: C-18, C-19 e C-20 (124, 10 e 125), mas seguindo a seqüência biossintética citada na literatura (ver páginas 32 e 33), foi possível propor que a carbonila estava localizada no C-19.



Comparação dos dados de RMN ^{13}C de OCH-1 com os dados encontrados na literatura para o *ent-caur-16-eno* (8) e *ent-caur-16-en-19-al* (10) (Tabela 6.5, página 105), permitiu comprovar que OCH-1 apresentava a estrutura (10) e os carbonos cujas absorções aparecem com o mesmo deslocamento químico são C-1 e C-14.

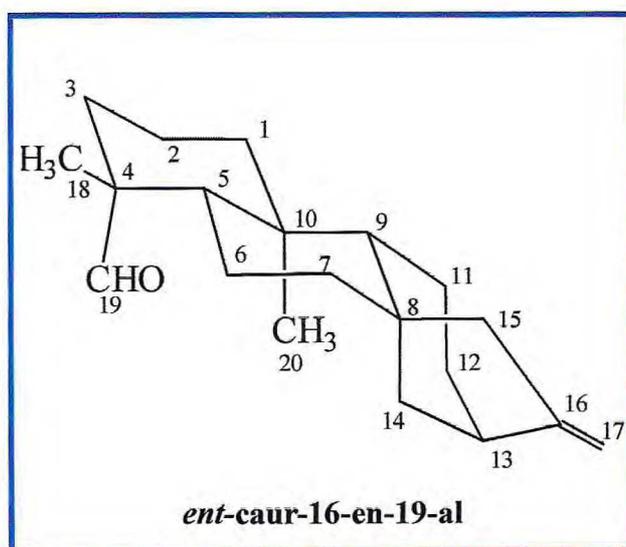


Tabela 6.5
Comparação entre os dados de RMN ^{13}C do *ent-caur-16-eno* (8) [Hanson, 1979],
ent-caur-16-en-19-al (10) [Dourado, 1998] e OCH-1 (δ ; CDCl_3 ; 50,3 MHz)

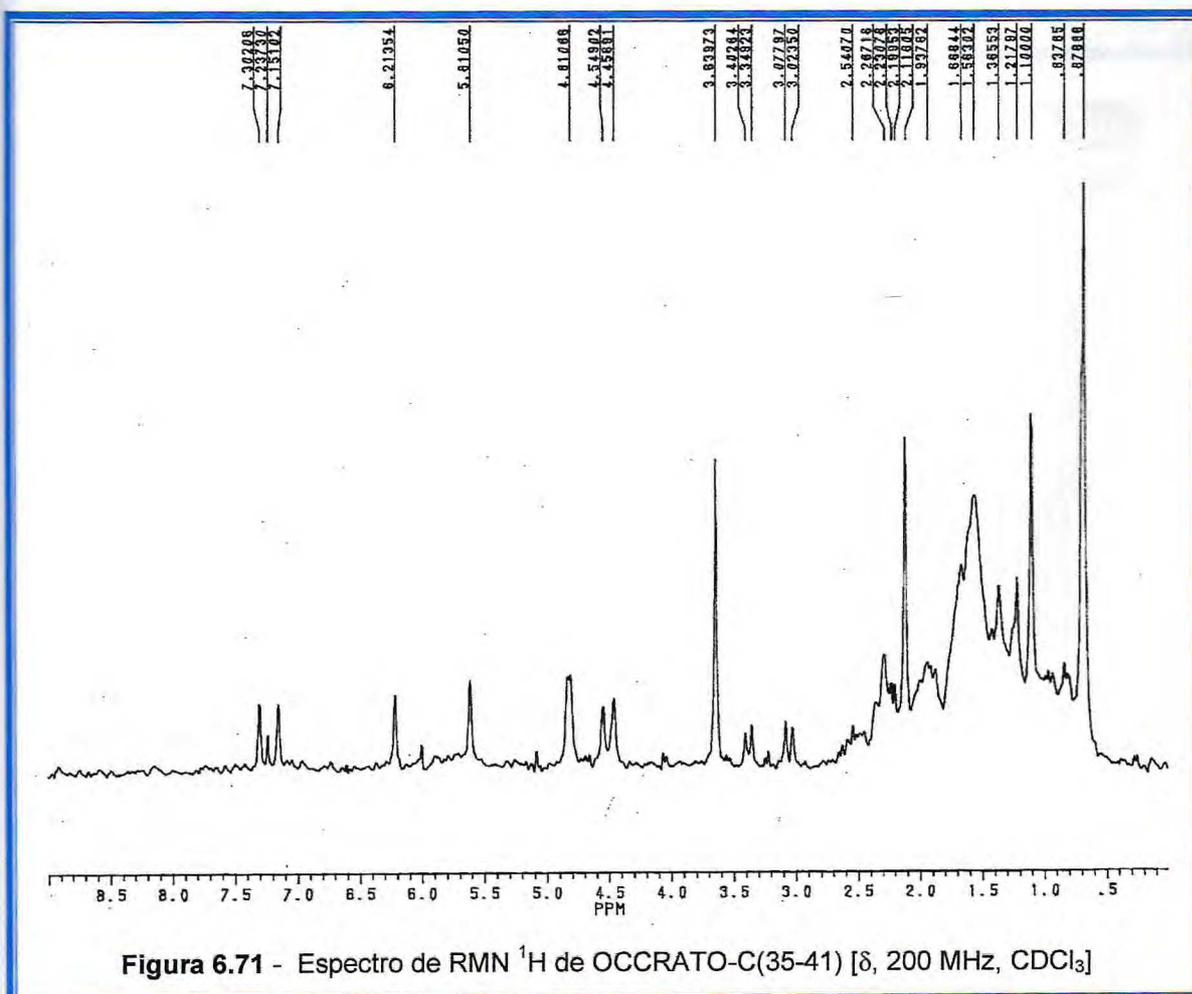
C	δ_c		
	8	OCH-1	10
1	41,3	39,8	39,9
2	18,7	18,3	18,4
3	42,0	34,1	34,2
4	33,3	48,4	48,5
5	56,1	56,6	56,7
6	20,3	19,8	19,8
7	40,4	41,1	41,1
8	44,2	44,0	44,5
9	56,1	54,5	54,5
10	39,3	39,3	39,3
11	18,1	18,2	18,2
12	33,3	32,9	32,9
13	44,2	43,7	43,7
14	39,9	39,8	39,9
15	49,2	48,9	49,0
16	156,0	155,4	155,5
17	102,8	103,2	103,2
18	33,7	24,2	24,3
19	21,7	205,8	206,0
20	17,6	16,3	16,3

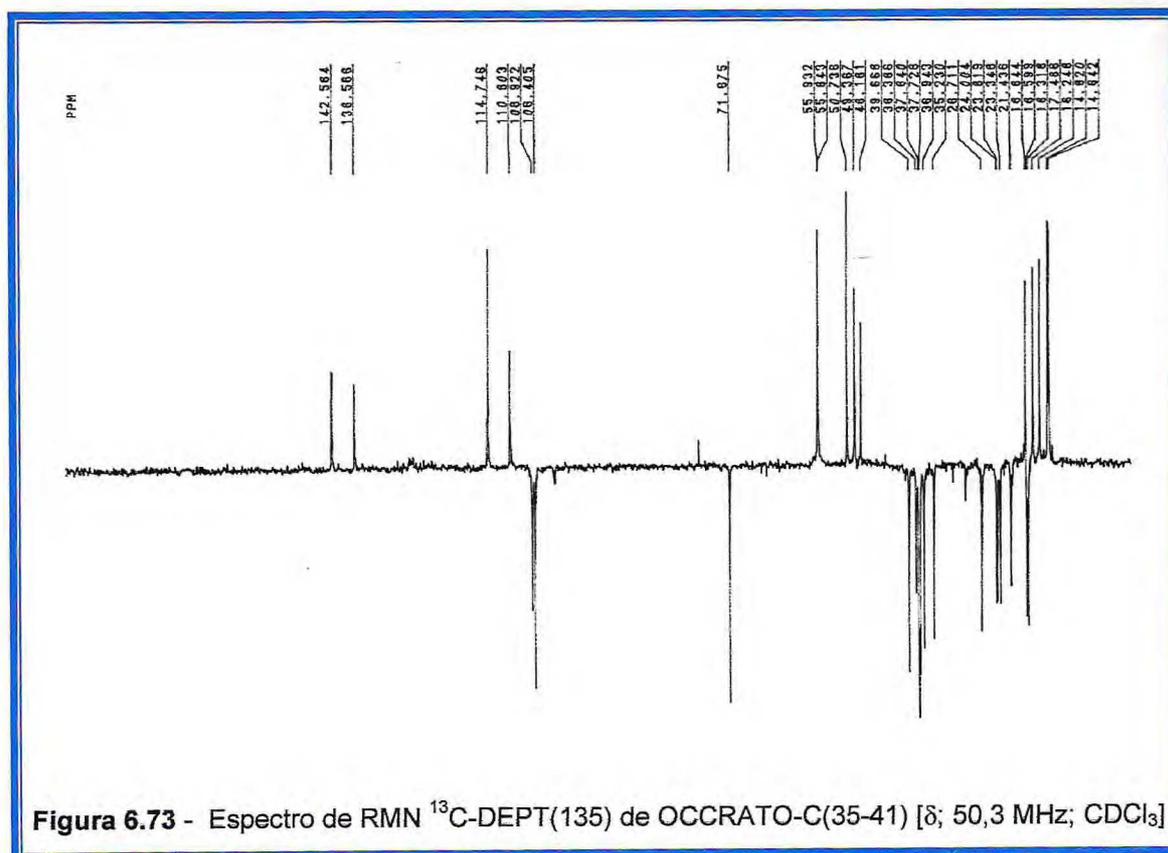
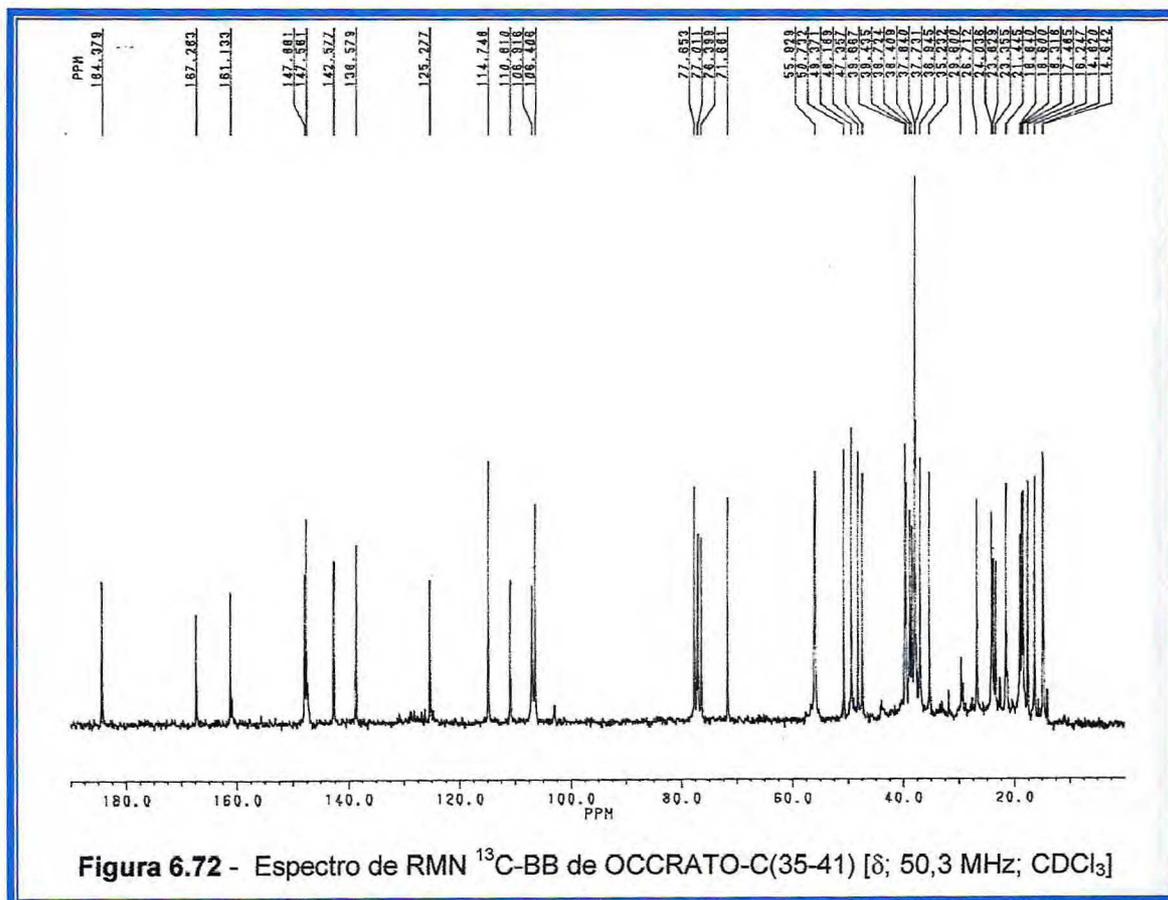
6.5.1.2. Determinação estrutural de OCC-AC(1)

O tratamento cromatográfico da fração clorofórmica do óleo de copaíba OCCRATO, denominada OCCRATO-C permitiu a obtenção de uma fração impura (fração 35-41; 163 mg; 1,6%) (ver procedimento experimental, página 215), cuja análise espectrométrica por RMN ^1H (Figura 6.71), RMN ^{13}C -BB (Figura 6.72, página 107) e RMN ^{13}C -DEPT (135) (Figura 6.73, página 107) mostrou tratar-se de uma mistura em que um dos constituintes era um álcool, já que seus espectros de carbono-13 mostraram uma absorção relativa a um carbono metilênico oxigenado em δ 71,7 e o espectro de prótio mostrou dois dubletos na região de 3,0 a 3,5 ppm.

Esta fração foi acetilada e cromatografada sobre gel de sílica e eluição isocrática (hexano: acetato de etila 90:10), fornecendo duas frações de aparência oleosa incolor, homogêneas em CCD, solúveis em clorofórmio, denominadas OCC-AC(1) (2,4 mg) e OCC-AC(2) (2,0 mg) (ver procedimento página 215).

Análise do espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.74, página 108) de OCC-AC(1) mostrou a presença de 23 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro RMN ^{13}C -DEPT (135) (Figura 6.75, página 108), possibilitaram elaborar a Tabela 6.6 (página 109).





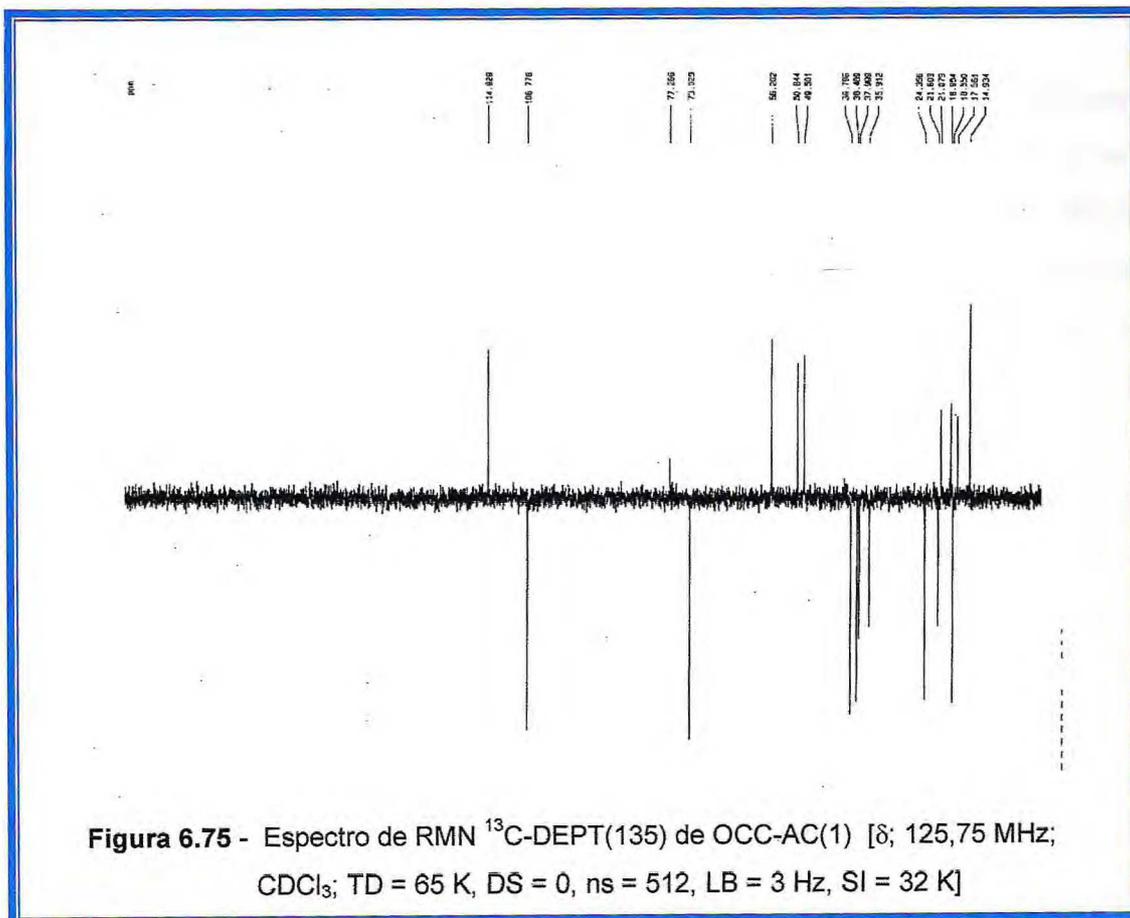
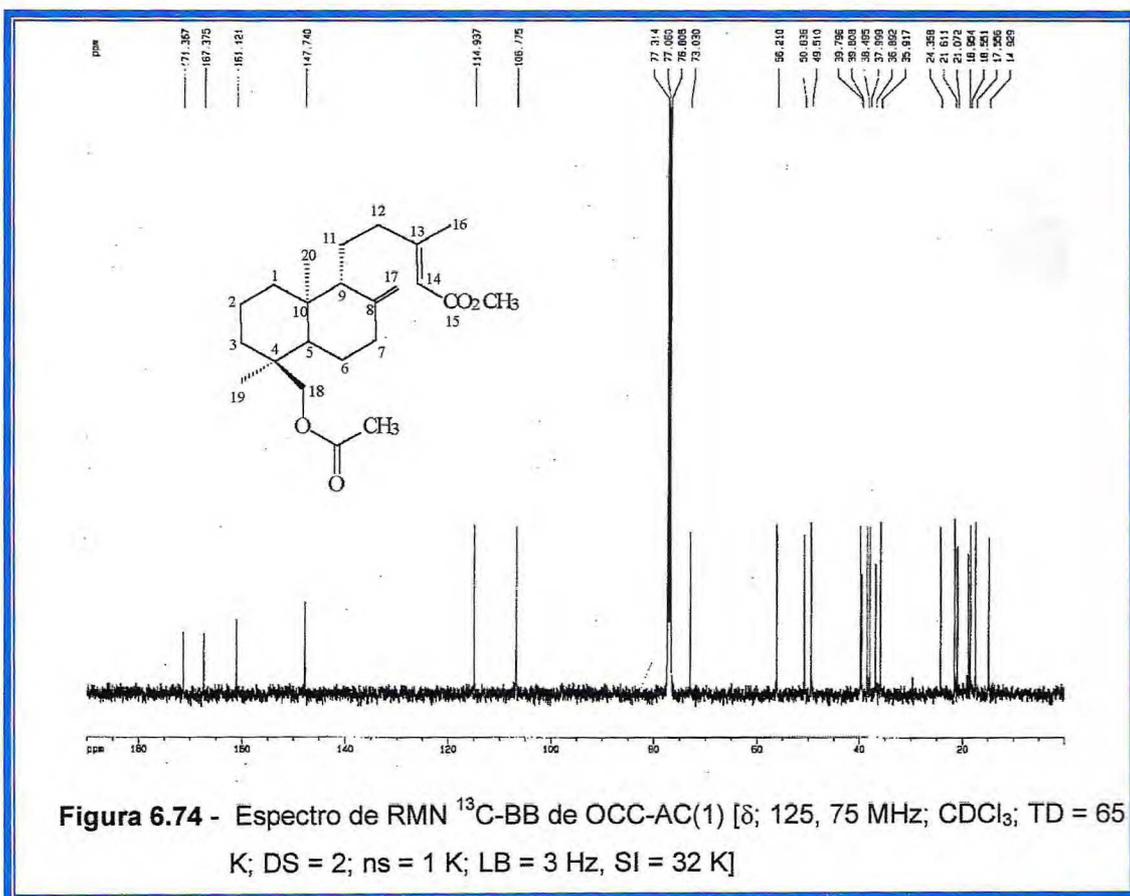


Tabela 6.6
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OCC-AC(1) com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e DEPT; δ ; CDCl_3 ; 125,75 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
171,4	114,9	106,7	50,8
167,4	56,2	73,0	21,0
161,1	49,5	39,8	18,9
147,7	-	38,5	17,5
39,6	-	38,0	14,9
36,9	-	35,9	-
-	-	24,3	-
-	-	21,6	-
-	-	18,5	-
C₆	C₃H₃	C₉H₁₈	C₅H₁₅
TOTAL C₂₃H₃₆			

Na Tabela 6.6 foram observadas duas absorções em δ 171,4 e 167,4 relacionadas a duas carbonilas de éster, sendo uma relativa a um grupo acetila. Também foram observadas quatro absorções em δ 161,1; 147,7; 114,9 e 106,7 características de carbono sp^2 , referentes a uma ligação dupla dissubstituída geminal e outra trissubstituída. Das absorções referentes a carbonos metílicos, uma em δ 50,8 foi relacionada a um grupo metoxila e outra em δ 21,0 referente a um grupo metila ligado a carbonila (grupo acetila). A absorção em δ 73,0 foi relacionada ao carbono metilênico oxigenado do álcool submetido à acetilação.

O espectro de RMN ^1H de OCC-AC(1) (Figura 6.76, página 110) mostrou dois singletos em δ 4,79 e 4,83 característicos de hidrogênios de metileno de ligação exocíclica, bem como dois dubletos em δ 3,82 ($J = 10,9$ Hz) e 3,62 indicativos de hidrogênios metilênicos de carbono oxigenado. No mesmo espectro, observou-se ainda cinco singletos referentes a hidrogênios metílicos, dentre estes, o singlete em δ 3,66 relativo a um grupo metoxila.

Análise do GS-HMQC de OCC-AC(1) (Figura 6.77a) possibilitou observar o acoplamento C-H à uma ligação e relacionar os hidrogênios observados no espectro de prótio aos seus respectivos carbonos. Este espectro mostrou o acoplamento $^1J_{C,H}$ entre o carbono em δ 73,0 com os prótios metilênicos em δ 3,82 e 3,62 referentes ao fragmento (127) (Figura 6.77b), o acoplamento entre o carbono metoxílico em δ 50,8 com os prótios metílicos em δ 3,66 (128), assim como outros acoplamentos que foram relacionados na Tabela 6.7.

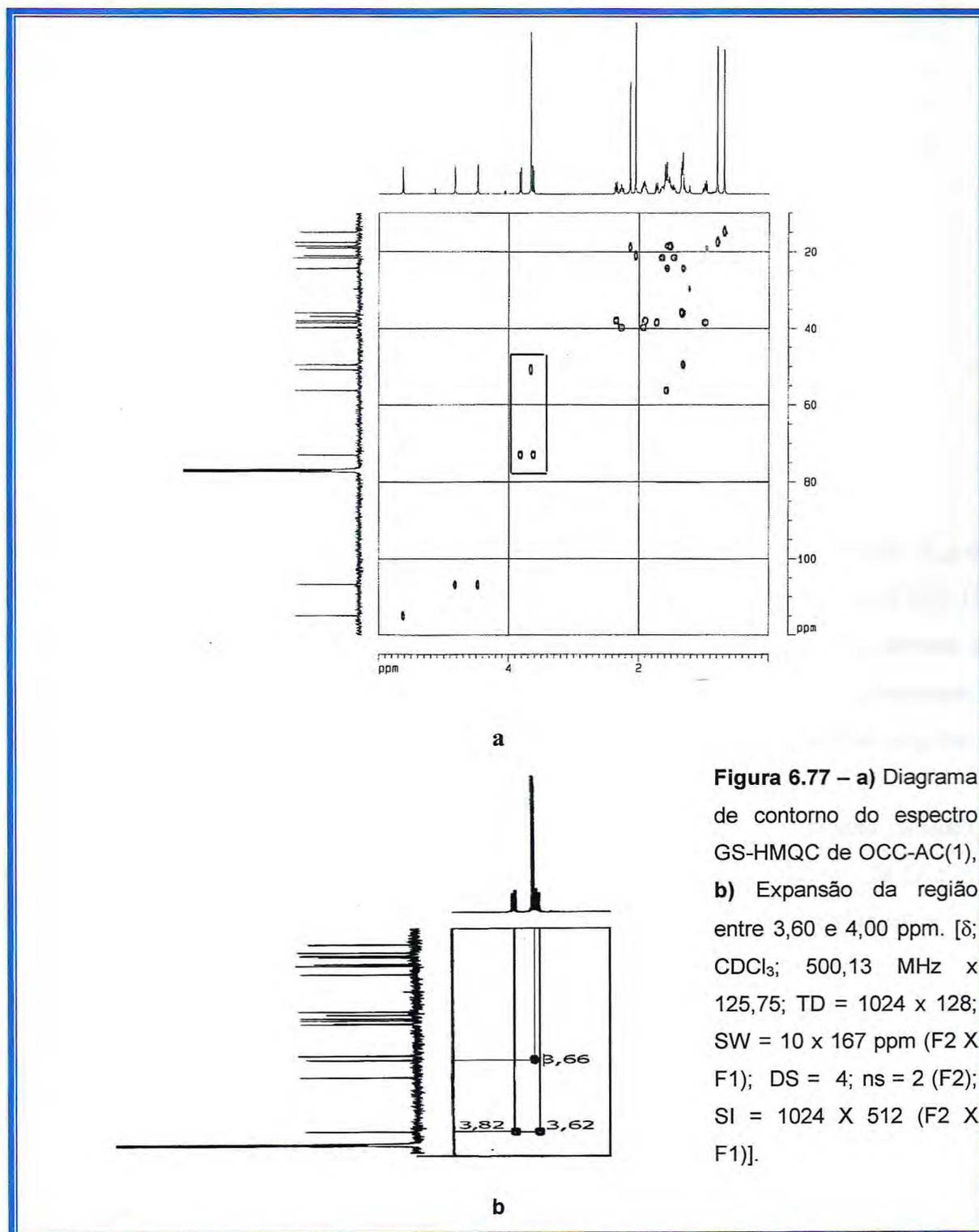
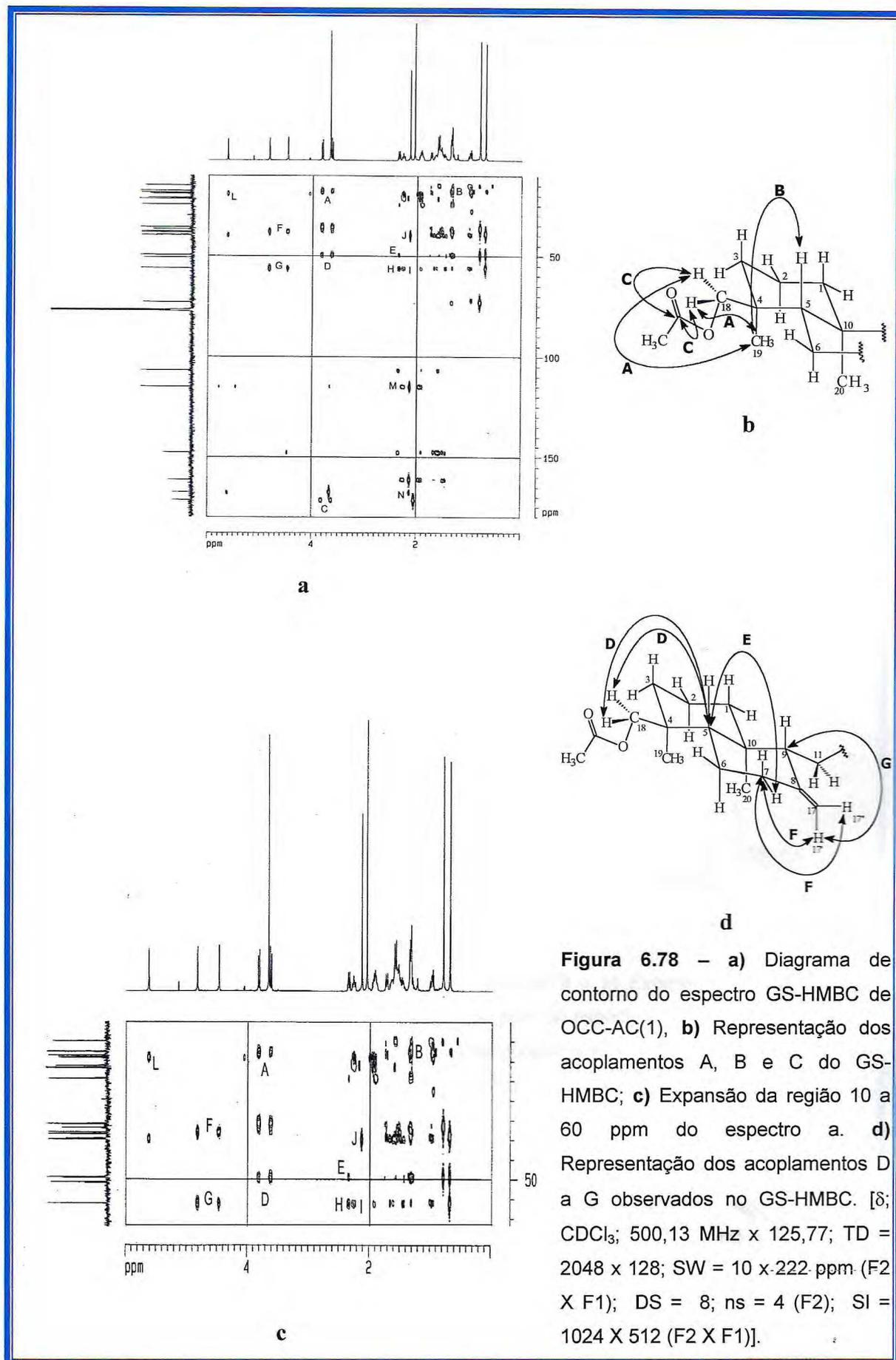


Tabela 6.7
Dados obtidos do diagrama de contorno do espectro GS-HMQC de OCC-AC(1) [δ ; 500,13 MHz X 125,77 MHz (F2 X F1); CDCl₃]

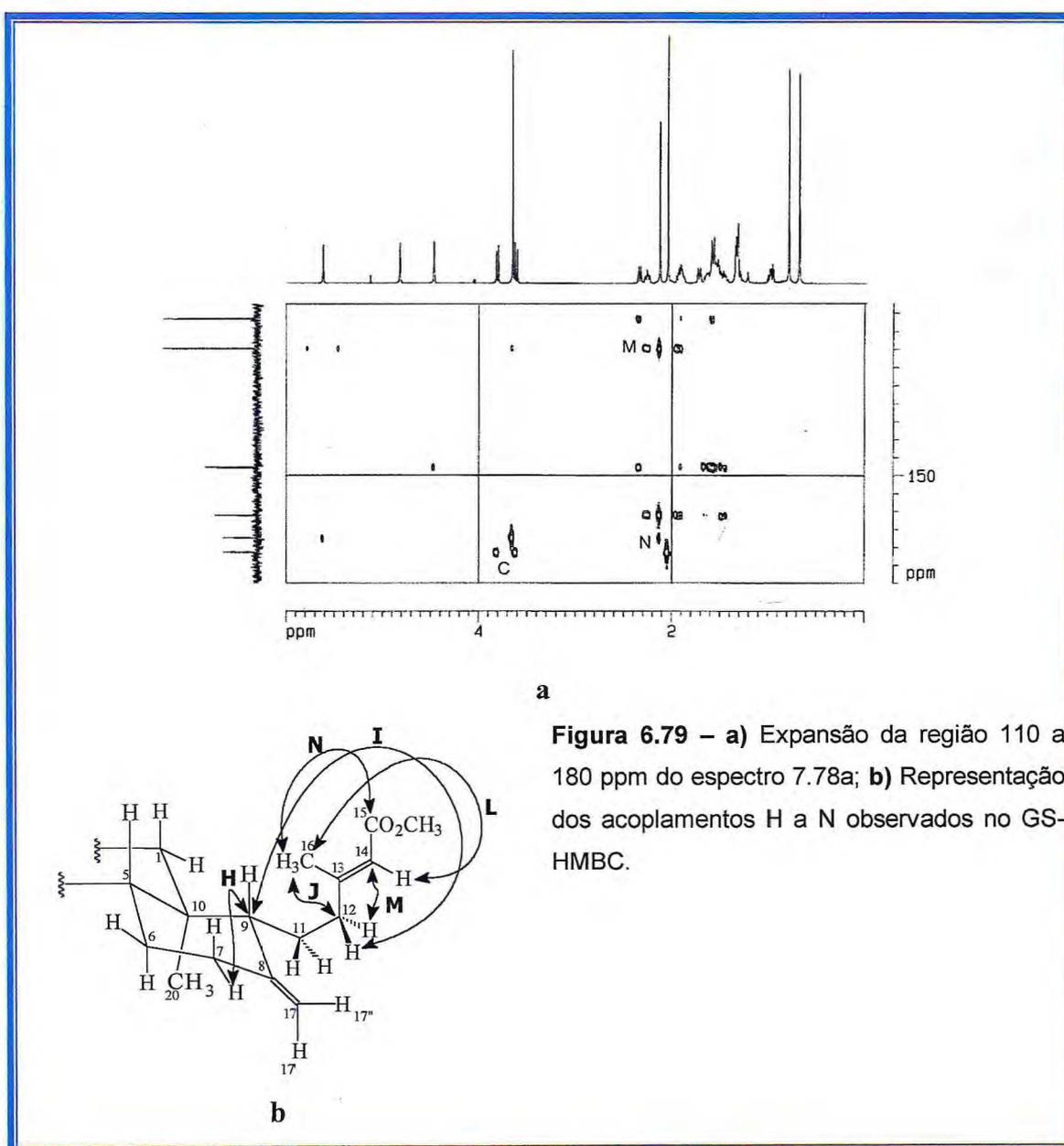
HMQC			
δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
171,4	-	38,5	1,73; 0,96
167,4	-	38,0	2,34; 1,90
161,1	-	36,9	-
147,7	-	35,9	1,36
114,9	5,63	24,3	1,58; 1,33
106,7	4,83; 4,48	21,6	1,65; 1,48
73,0	3,62; 3,82	21,0	2,05
56,2	1,58	18,9	2,14
50,8	3,66	18,5	1,53
49,5	1,32	17,5	0,80
39,8	2,27; 1,92	14,9	0,69
39,6	-		

O espectro GS-HMBC (Figura 6.78, página 113) mostrou o acoplamento $^3J_{C,H}$ do carbono metílico a δ 17,5 (C-19) com os prótios metilênicos geminais a δ 3,82 e 3,62 (2H-18) e com o prótio metínico a δ 1,32 (H-5). Observa-se também o acoplamento do carbono da carbonila a δ 171,4 com os prótios de metileno oxigenado a δ 3,82 e δ 3,62 (ver acoplamentos A, B e C na Figura 6.78 a e b). Desta forma, foi possível propor que o metileno oxigenado referente ao álcool primário acetilado estaria ligado ao carbono 4.

Ainda no GS-HMBC, observou-se o acoplamento $^3J_{C,H}$ entre o carbono metínico a δ 49,5 (C-5) com os prótios metilênicos a δ 3,82 e 3,62 (acoplamento D, Figura 6.78 d), o que permitiu relacionar este carbono ao carbono 5 do esqueleto diterpênico. Os acoplamentos $^3J_{C,H}$ entre o prótio a δ 2,34 (acoplamento E) os prótios insaturados a δ_H 4,83 e 4,48 (2H-17) e o carbono metilênico a δ_C 38,0 (acoplamento F) permitiram definir esta absorção para o C-7 (ver Figura 6.78 d).



Os dois contornos representados pela letra G na Figura 6.78 c, mostrando o acoplamento $^3J_{C,H}$ entre o carbono metínico a δ 56,2 e os prótios H-17' e H-17, permitiu inferir que este carbono tratava-se do carbono 9 mostrado na Figura 6.78 d. A cadeia lateral do diterpeno foi correlacionada a partir dos acoplamentos $^3J_{C,H}$ do C-9 com os prótios metilênicos a 2,27 (acoplamento I, Figura 6.79 b) ligados ao carbono 12; acoplamento $^3J_{C,H}$ do carbono 12 com os prótios metílicos a δ 2,14 (acoplamento J) ligados ao carbono 16; acoplamento do carbono 16 com o prótio olefínico a δ 5,63 ligado ao carbono insaturado 14 (acoplamento L). A posição da carbonila C-15 foi confirmada pelo acoplamento N ($^4J_{C,H}$) entre o carbono da carbonila a δ 167,4 e os prótios metílicos da metila-16 (Figura 6.79 b)

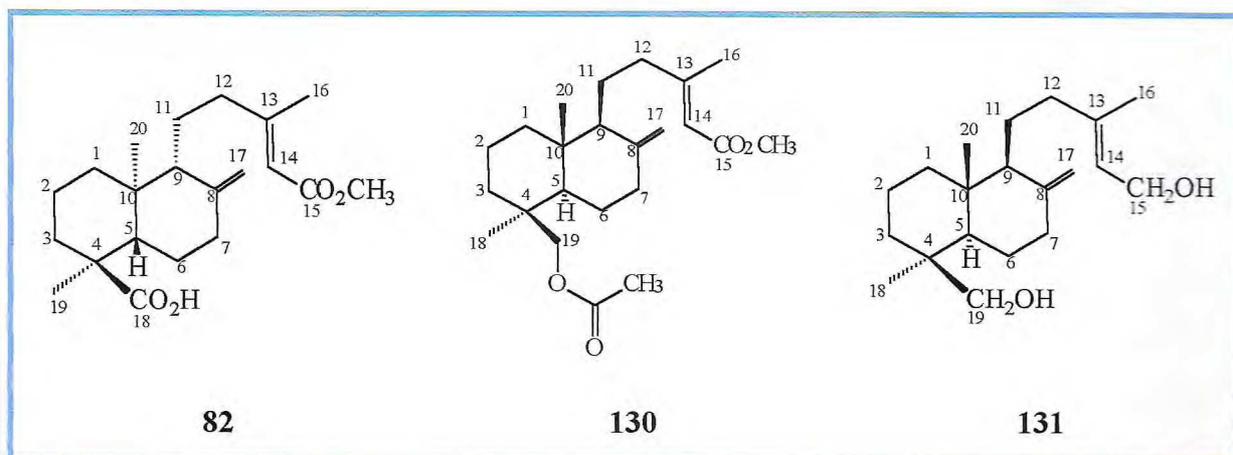


a

Figura 6.79 – a) Expansão da região 110 a 180 ppm do espectro 7.78a; b) Representação dos acoplamentos H a N observados no GS-HMBC.

b

Comparação dos dados de RMN ^{13}C de OCC-AC(1) com dados da literatura encontrados para os diterpenos labdânicos (**82**), (**130**) [Bastard, 1984] e (**131**) [Martins, 1996] permitiu a elaboração da Tabela 6.8 (página 116).



Análise da Tabela 6.8 mostrou que os dados referentes aos deslocamentos químicos de OCC-AC(1) e do diterpeno *ent*-labdânico (**82**) apresentaram-se semelhantes, exceto os deslocamentos referentes aos carbonos 18 e 19, que permitem propor que o carbono oxigenado ligado ao carbono 4 encontra-se na axial para (**130**) e na equatorial para OCC-AC(1). Os deslocamentos químicos do diterpeno labdânico (**130**) também foram semelhantes aos de OCC-AC(1), mas a variação de 6,8 ppm no carbono 5 e as variações dos deslocamentos químicos referentes aos carbonos 18 e 19 levaram a proposição que OCC-AC(1) tratava-se do diterpeno *ent*-labdânico (**82**) denominado 18-acetóxi-*ent*-labda-8(17),13(*E*)-dieno-15-oato de metila.

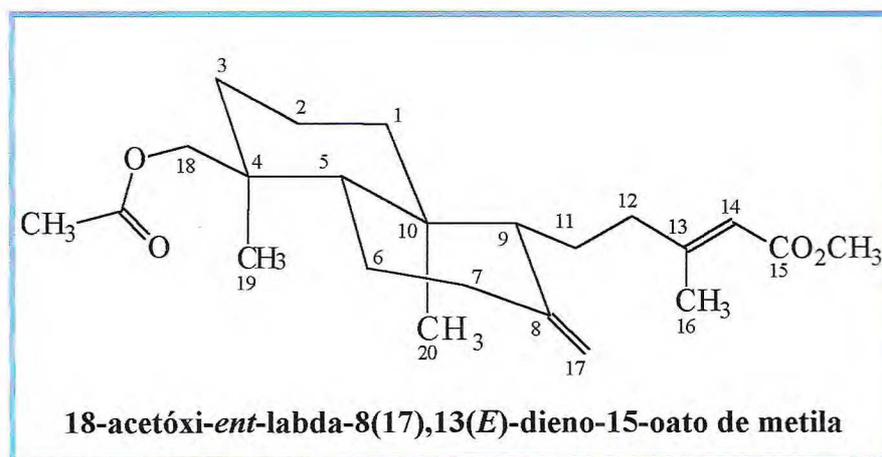


Tabela 6.8
 Comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB de OCC-AC(1) (δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz), 130 [Bastard, 1984] e 131 [Martins, 1996]

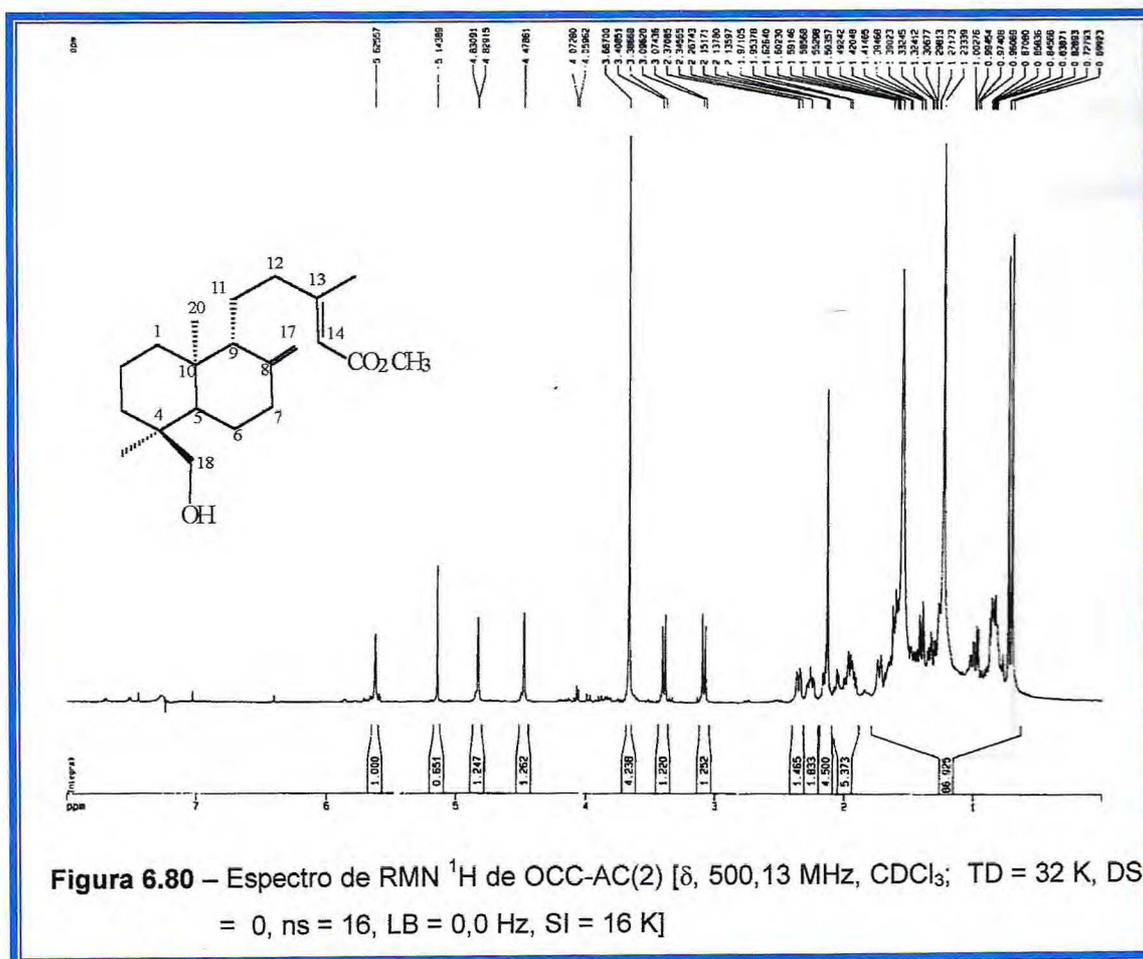
C	δC			
	OCC-AC(1)	82	130	131
1	38,5	37,7	39,6	38,5
2	18,5	18,4	18,9	18,6
3	35,9	37,0	36,2	35,3
4	36,9	47,5	37,3	38,0
5	49,5	49,4	56,3	48,4
6	24,3	26,8	24,5	24,0
7	38,0	37,9	38,5	38,3
8	147,7	147,4	147,5	148,3
9	56,2	56,0	56,2	56,1
10	39,6	38,9	38,8	39,5
11	21,6	21,3	21,6	21,7
12	39,8	39,6	39,6	38,0
13	161,1	160,9	160,8	140,3
14	114,9	114,9	115,0	123,0
15	167,4	167,3	167,3	59,3
16	18,9	18,9	18,9	16,3
17	106,7	107,1	106,7	106,4
18	73,0	185,3	27,5	71,9
19	17,5	16,2	66,7	17,6
20	14,9	14,7	15,2	14,9
OCH ₃	50,8	50,8	50,7	-
C=O	171,4	-	171,3	-
CH ₃	21,0	-	20,8	-

6.5.1.3. Determinação estrutural de OCC-AC(2)

O tratamento cromatográfico de OCCRATO-C(35-41) permitiu a obtenção da fração denominada OCC-AC(2), como descrito no item 6.5.1.2 (página 106), cujo espectro de RMN ^1H (Figura 6.80) mostrou-se bastante semelhante ao de OCC-AC(1) (Figura 6.76, página 110). Neste espectro foi possível notar a ausência de uma absorção característica de prótons do grupo metila ligada a carbonila observada no espectro de OCC-AC(1). No mesmo espectro, observou-se que os dubletos referentes hidrogênios metilênicos do carbono 18 apareceram mais protegidos em δ 3,39 e 3,08, possivelmente devido a ausência do efeito anisotrópico da carbonila do grupo acetila.

O espectro de RMN ^{13}C -BB de OCC-AC(2) (Figura 6.80) apresentou uma absorção característica de carbono oxigenado em δ 73,1, bem como um carbono metoxílico em δ 50,8. Desta forma, foi possível propor que OCC-AC(2) referia-se ao álcool diterpênico que não sofreu reação de acetilação como descrito no item 6.5.1.2.

Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de OCC-AC(1) com os dados de OCC-AC(2), permitiu propor a estrutura (132) para OCC-AC(2) (Tabela 6.9).



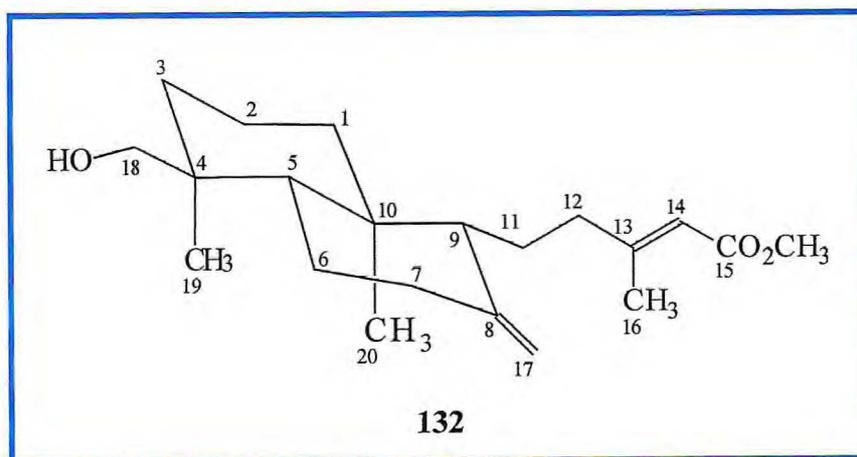
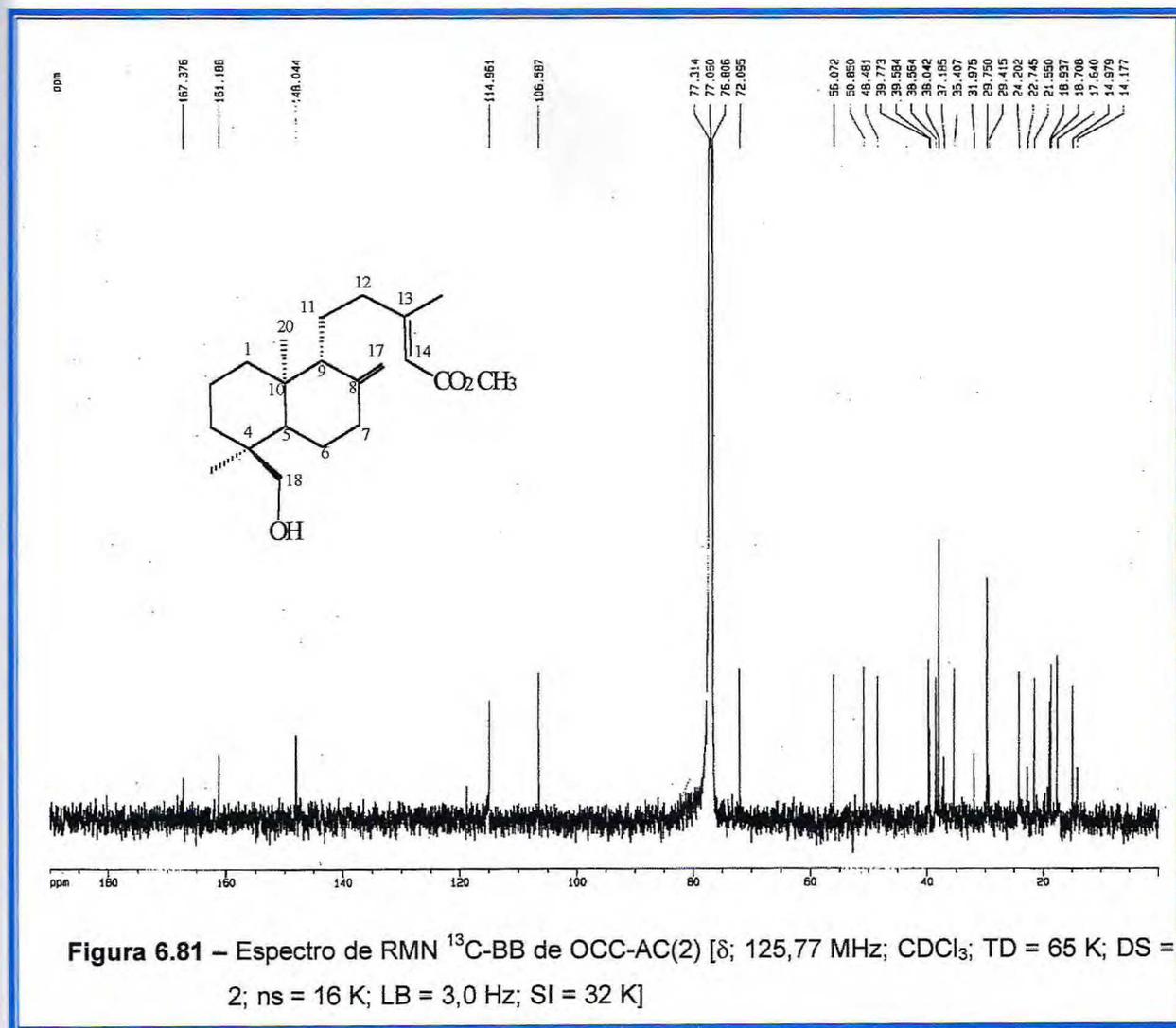
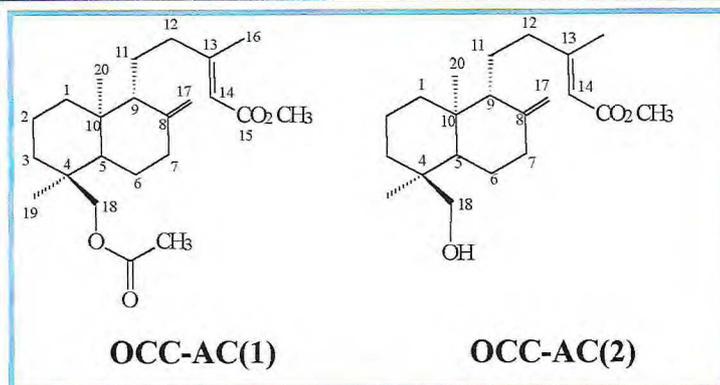


Tabela 6.9
 Comparação entre os dados de RMN ^{13}C -BB de OCC-AC(1) e OCC-AC(2) (132)

C	δC	
	OCC-AC(1)	OCC-AC(2)
1	38,5	38,6
2	18,5	18,7
3	35,9	35,4
4	39,6	39,6
5	49,5	48,5
6	24,3	24,2
7	38,0	38,0
8	147,7	148,0
9	56,2	56,1
10	36,9	37,2
11	21,6	21,5
12	39,8	39,8
13	161,1	161,2
14	114,9	115,0
15	167,4	167,4
16	18,9	18,9
17	106,7	106,6
18	73,0	72,1
19	17,5	17,6
20	14,9	15,0
OCH ₃	50,8	50,8
C=O	171,4	-
CH ₃	21,0	-



6.5.2. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração não-volátil metilada obtida a partir do óleo de copaíba.

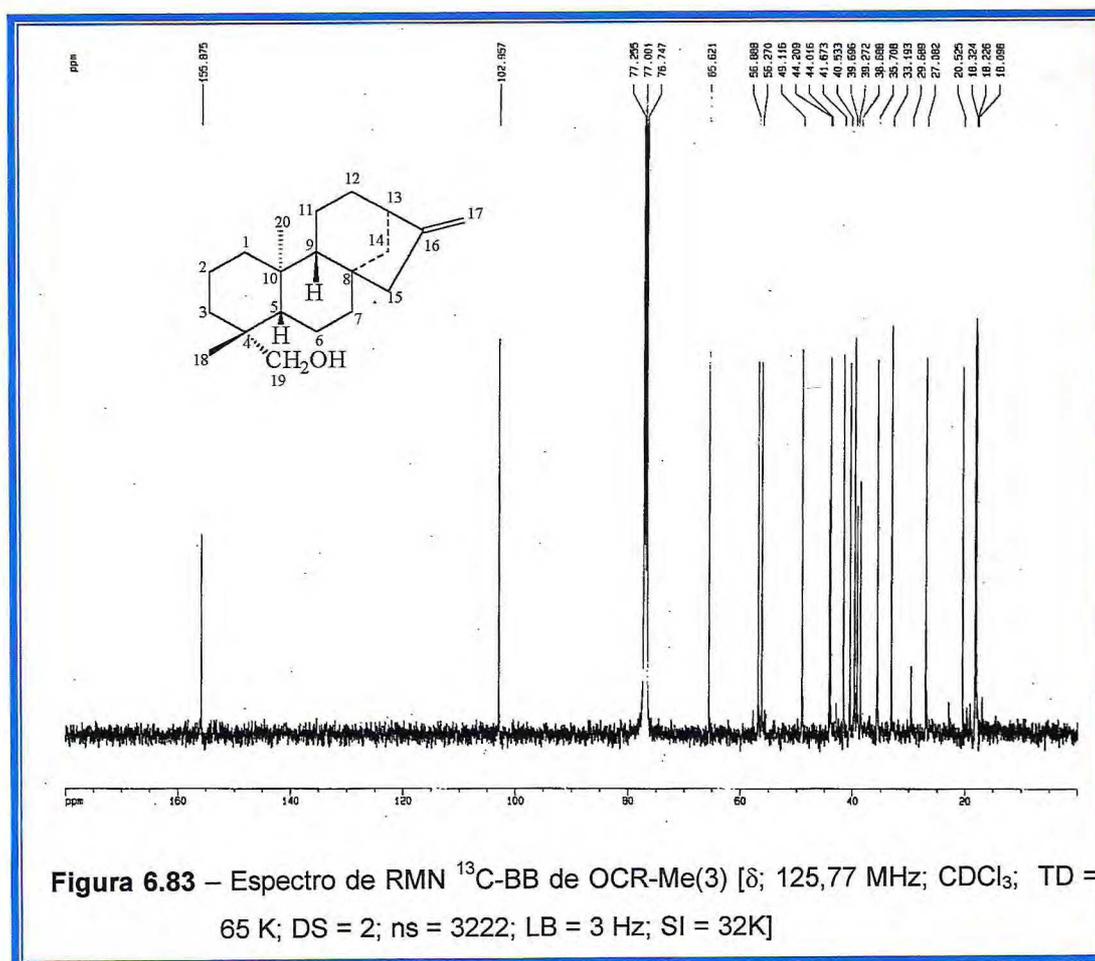
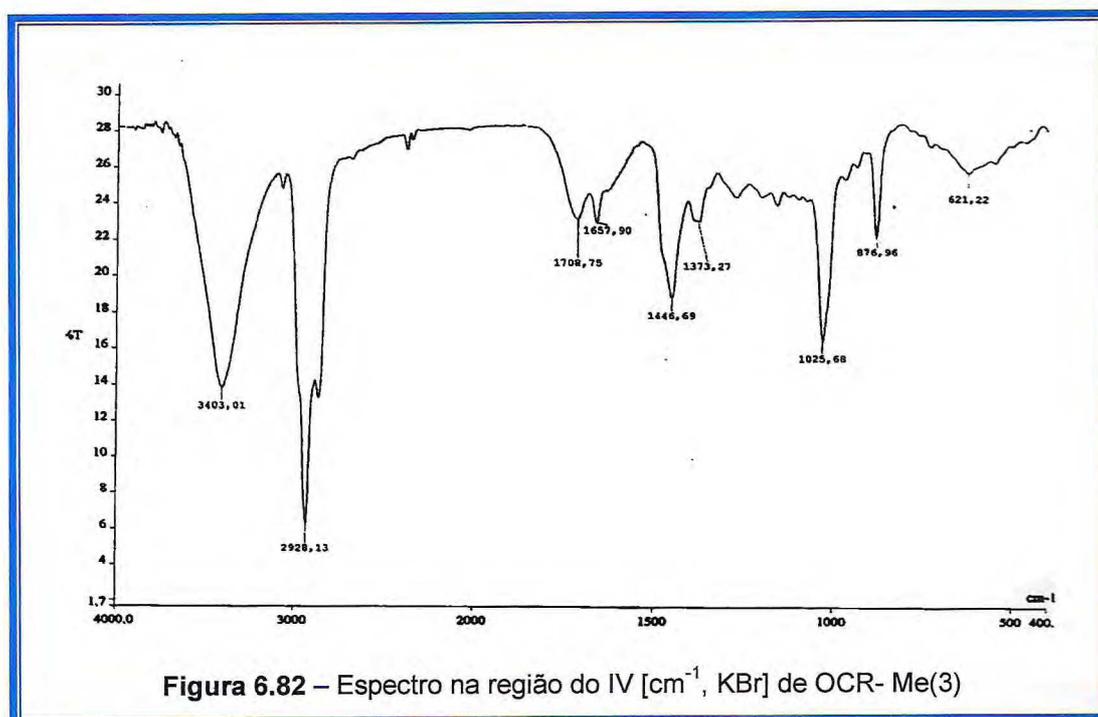
A fração não-volátil do óleo de copaíba foi metilada com diazometano obtido *in situ* por hidrólise alcalina do Diazald (ver procedimento página 216), obtendo-se um óleo viscoso amarelo escuro, denominado OCA-ResC-C/Met, cujo tratamento cromatográfico permitiu o isolamento dos compostos relacionados a seguir.

6.5.2.1. Determinação estrutural de OCR-Me(3)

Tratamento cromatográfico de OCA-ResC-C/Met forneceu 14,8 mg de um sólido cristalino incolor de ponto de fusão 139,1-141,0 °C, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD e $[\alpha]_D^{25} = -55^\circ$ (CHCl₃, 0,55%), denominado OCR-Me(3) (ver procedimento experimental, página 219).

O espectro na região do IV (Figura 6.82) de OCR-Me(3), permitiu a identificação do estiramento O-H em 3.403 cm⁻¹, bem como o estiramento C-O em 1.025 cm⁻¹ característico de álcoois.

O espectro de RMN ¹³C-BB (Figura 6.83, página 121) apresentou 20 linhas espectrais que ao serem comparadas com os sinais observados nos espectros de RMN ¹³C-DEPT (90) e DEPT (135) (Figuras 6.84 e 6.85, página 122), permitiu confeccionar a Tabela 6.10 (página 123), que apresenta quatro absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, três de carbonos metínicos, onze de carbonos metilênicos e duas referentes a carbonos metílicos.



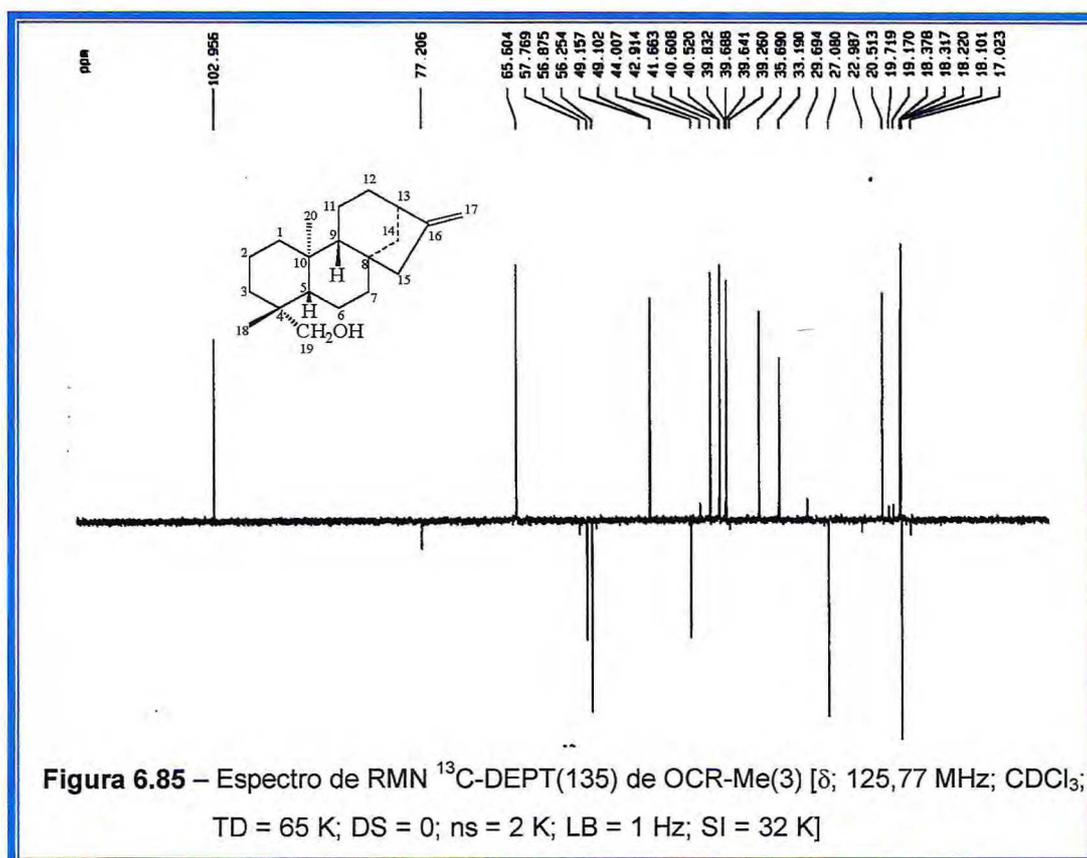
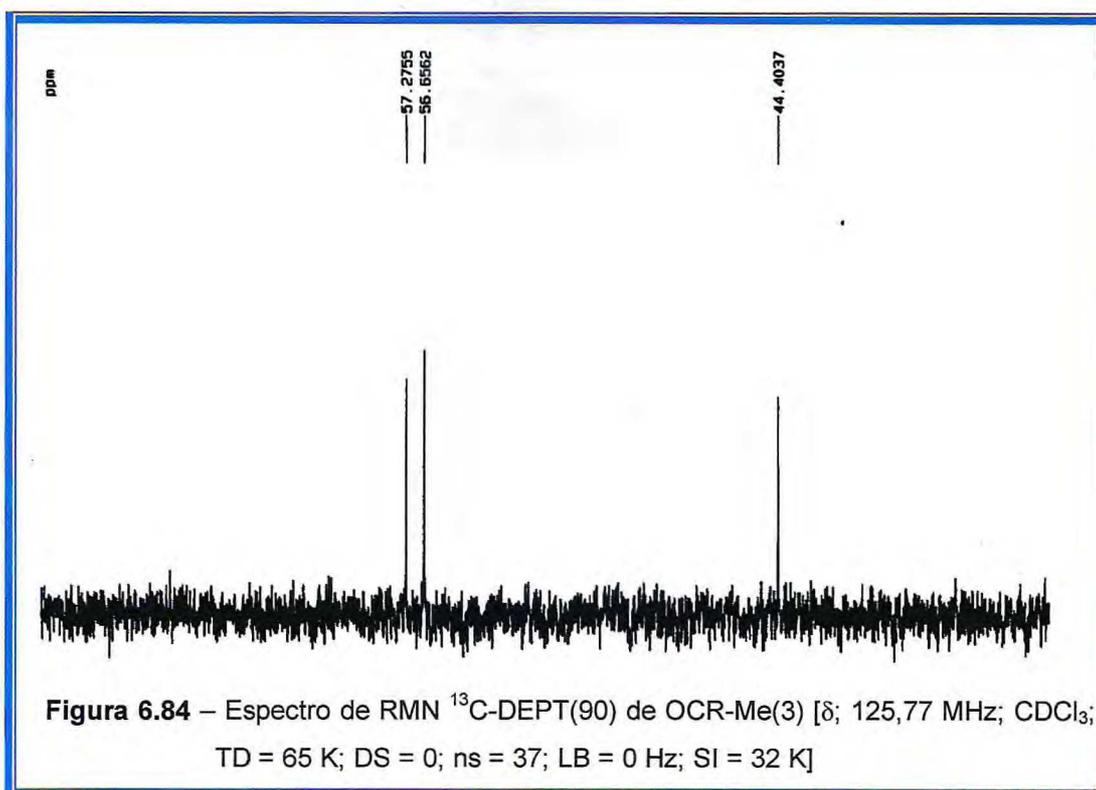


Tabela 6.10
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OCR-Me(3) com padrão de hidrogenação
(RMN ^{13}C -BB e DEPT; δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
155,9	56,9	102,9	27,1
44,2	56,3	65,6	18,1
39,3	44,0	49,1	-
38,7	-	41,7	-
-	-	40,5	-
-	-	39,7	-
-	-	35,7	-
-	-	33,2	-
-	-	20,5	-
-	-	18,3	-
-	-	18,2	-
C₄	C₃H₃	C₁₁H₂₂	C₂H₆
TOTAL C₂₀H₃₁			

O espectro de RMN ^1H (Figura 6.86) de OCR-Me(3) apresentou absorções características de prótios metilênicos de ligação dupla exocíclica em δ 4,77 e 4,71, bem como um singleto largo em δ 2,61 com integração referente a um hidrogênio (H-13), dois grupos metila em δ 0,94 e 0,98 e ainda dois dubletos centrados em δ 3,71 (1H, J=10,9 Hz) e 3,42 (1H, 10,9 Hz) acoplados entre si, que foram relacionados a hidrogênios metilênicos oxigenados.

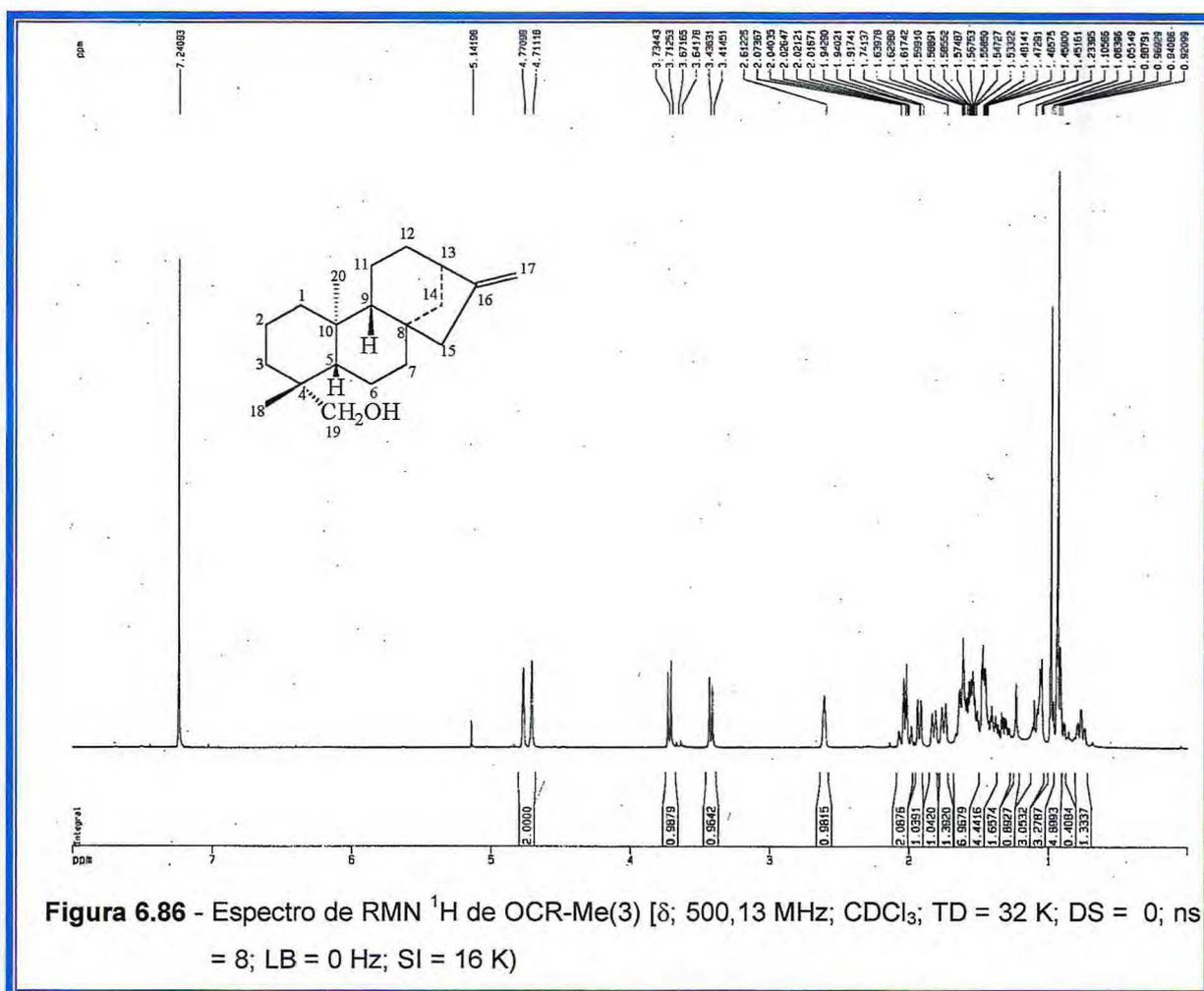


Figura 6.86 - Espectro de RMN ¹H de OCR-Me(3) [δ; 500,13 MHz; CDCl₃; TD = 32 K; DS = 0; ns = 8; LB = 0 Hz; SI = 16 K)

O diagrama de contorno do espectro HMQC (Figura 6.87 a, página 125), possibilitou relacionar os hidrogênios aos seus respectivos carbonos. Assim, o prótio que absorve em δ 2,61 foi relacionado ao carbono em δ 44,0 (Figura 6.87 b), e os prótios metílicos em δ 0,94 e 0,98 foram relacionados aos carbonos em δ 27,0 e 18,1, respectivamente (Tabela 6.11, página 126).

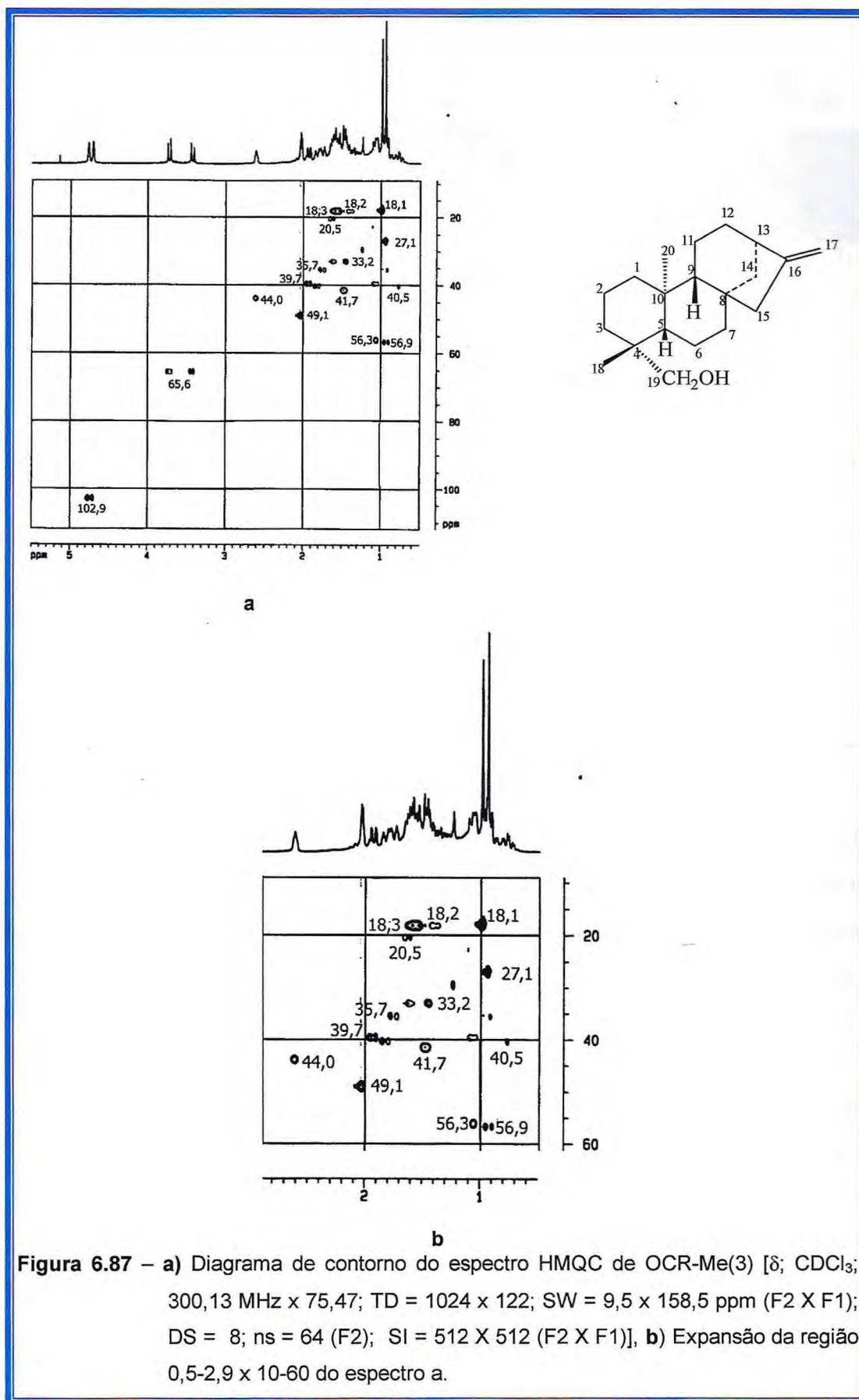
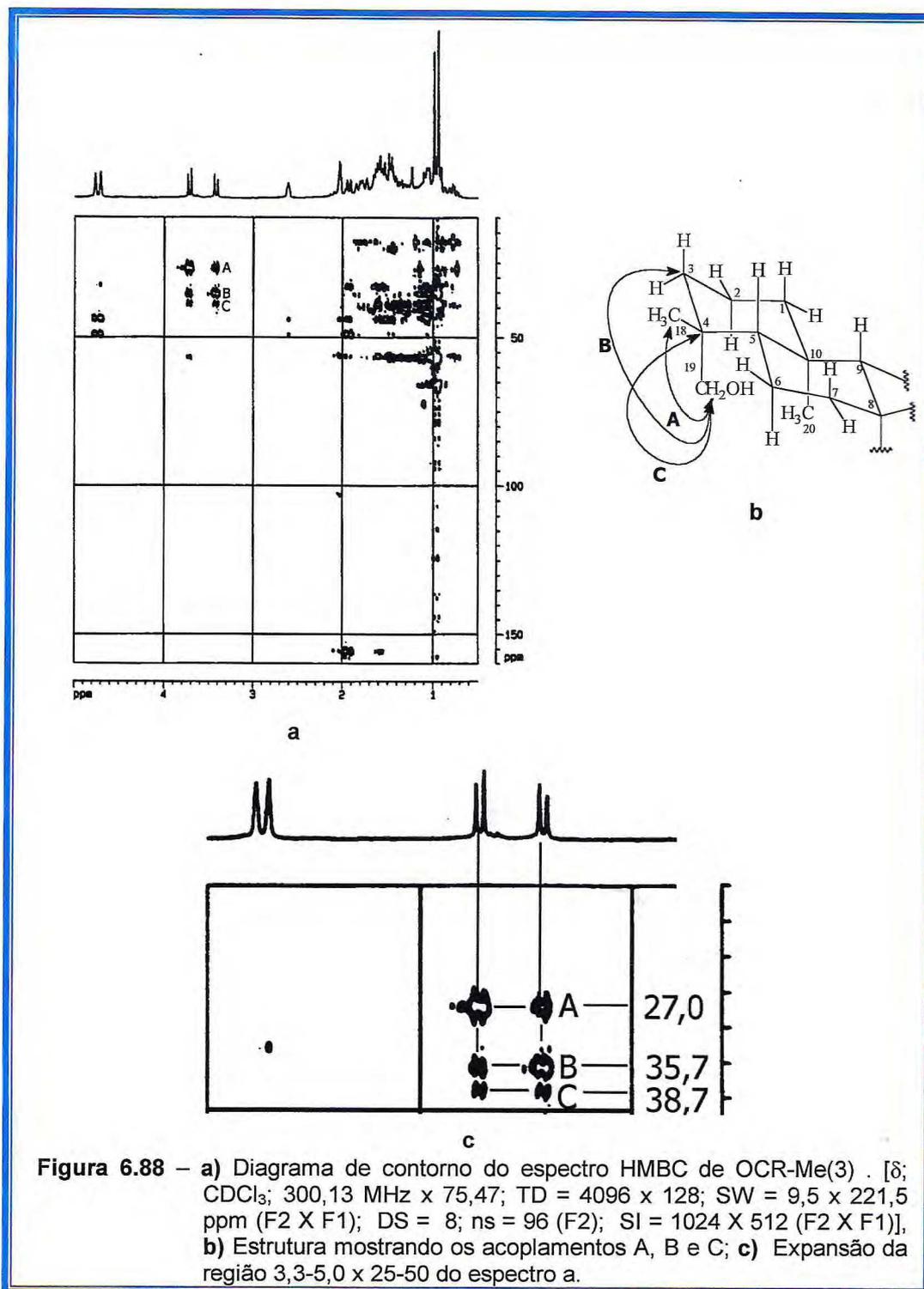


Tabela 6.11
Dados obtidos do diagrama de contorno do espectro HMQC
de OCR-Me(3) [δ , 500,13 MHz X 125,77 MHz (F2 X F1), CDCl₃].

HMQC			
δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
155,9	-	39,7	1,93 (1H, dd, J=12,7; 1,34)
102,9	4,71 (1H, sl); 4,78 (1H, sl)	39,3	-
65,6	3,72 (1H, d, J=10,9Hz); 3,42 (1H, d, J=10,9z)	38,7	-
56,9	0,90 (1H, dd, J=13,1; 4,0Hz)	35,7	0,92 (1H, m); 1,75 (1H, dm, J=13,7)
56,3	1,06 (1H, m)	33,2	1,45 (1H, m); 1,64 (1H, m)
49,1	2,03 (2H, m)	27,1	0,94 (3H, sl)
44,2	-	20,5	1,64 (2H, m)
44,0	2,61 (1H, sl)	18,3	1,57 (2H, m)
41,7	1,46 (1H, m)	18,2	1,39 (2H, m)
40,5	0,77 (1H, td, J=13,1; 3,75Hz) 1,83 (1H, dm, J=12,9Hz)	18,1	0,98 (3H, sl)

Para identificar a posição da hidroxila, foi imprescindível a utilização de dados de acoplamentos C,H à longa distância, obtidos com a ajuda do espectro bidimensional HMBC (Figura 6.88 a, página 127). Neste espectro, os prótios metilênicos que absorveram em δ 3,71 e 3,42 apresentaram duas correlações com intensidades relativas a acoplamentos $^3J_{C,H}$ com um carbono metílico em δ 27,0 (ver acoplamento A na Figura 6.88 b e c, página 127) e outro metilênico em δ 35,7, além de outra correlação com intensidade mais fraca relativa ao acoplamento $^2J_{C,H}$ com um carbono não-hidrogenado em δ 38,7. Desta forma pôde-se propor que o grupo hidroxila poderia estar situado em uma das posições C-18 ou C-19. De acordo com Diaz *et al* (1984) e Lobitz *et al* (1998), o caminho biossintético dos caurenos e gibberelinas envolve oxidação do C-19, embora derivados do caureno oxidados no C-18 sejam encontrados na natureza, mesmo que raramente.



Comparação dos dados de RMN ^{13}C do OCR-Me(3) com os dados encontrados na literatura para o *ent*-caur-16-en-19-ol [Wehrli, 1979] possibilitou a preparação da Tabela 6.12, cujas informações apresentadas possibilitaram inferir que os dois compostos eram idênticos, já que não apresentaram variações significativas nos deslocamentos químicos analisados.

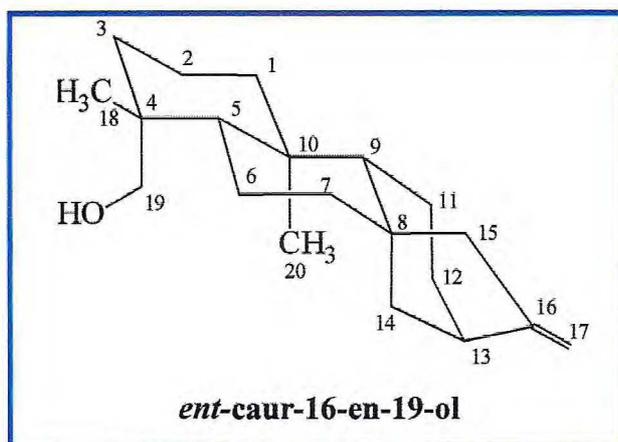


Tabela 6.12
Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de
ent-caur-16-en-19-ol [Wehrli, 1979] e OCR-Me(3) (δ , CDCl_3 , 125,77MHz)

C	δ_c	
	<i>ent-caur-16-en-19-ol</i>	OCR-Me(3)
1	40,5	40,5
2	18,3	18,3
3	35,6	35,7
4	38,7	38,7
5	56,8	56,9
6	20,5	20,5
7	41,6	41,7
8	44,2	44,2
9	56,2	56,3
10	39,2	39,3
11	18,2	18,2
12	33,2	33,2
13	44,0	44,0
14	39,7	39,7
15	49,1	49,1
16	155,8	155,9
17	103,0	102,9
18	27,1	27,1
19	65,4	65,6
20	18,5	18,1

6.5.2.2. Determinação estrutural de OCR-Me(4)

O tratamento cromatográfico sucessivo da fração metilada OCA-ResC-C/Met forneceu um óleo incolor (3,0 mg), solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD, denominado OCR-Me(4) (ver procedimento experimental, página 219).

O espectro de RMN ^1H (Figura 6.89) de OCR-Me(4) mostrou a presença de dois sinais em δ 3,67 e 3,64, relativos a hidrogênios metoxílicos, bem como as absorções em δ 4,83 e 4,49, que foram relacionados a hidrogênios geminais de ligação dupla e a absorção em δ 5,63 relativa a um hidrogênio metínico de ligação dupla conjugado. No mesmo espectro, observou-se uma absorção em δ 2,14 que foi relacionada a hidrogênios metílicos ligados a um carbono olefínico, e ainda dois singletos em δ 0,68 e 1,11 relativos a hidrogênios de dois grupos metila.

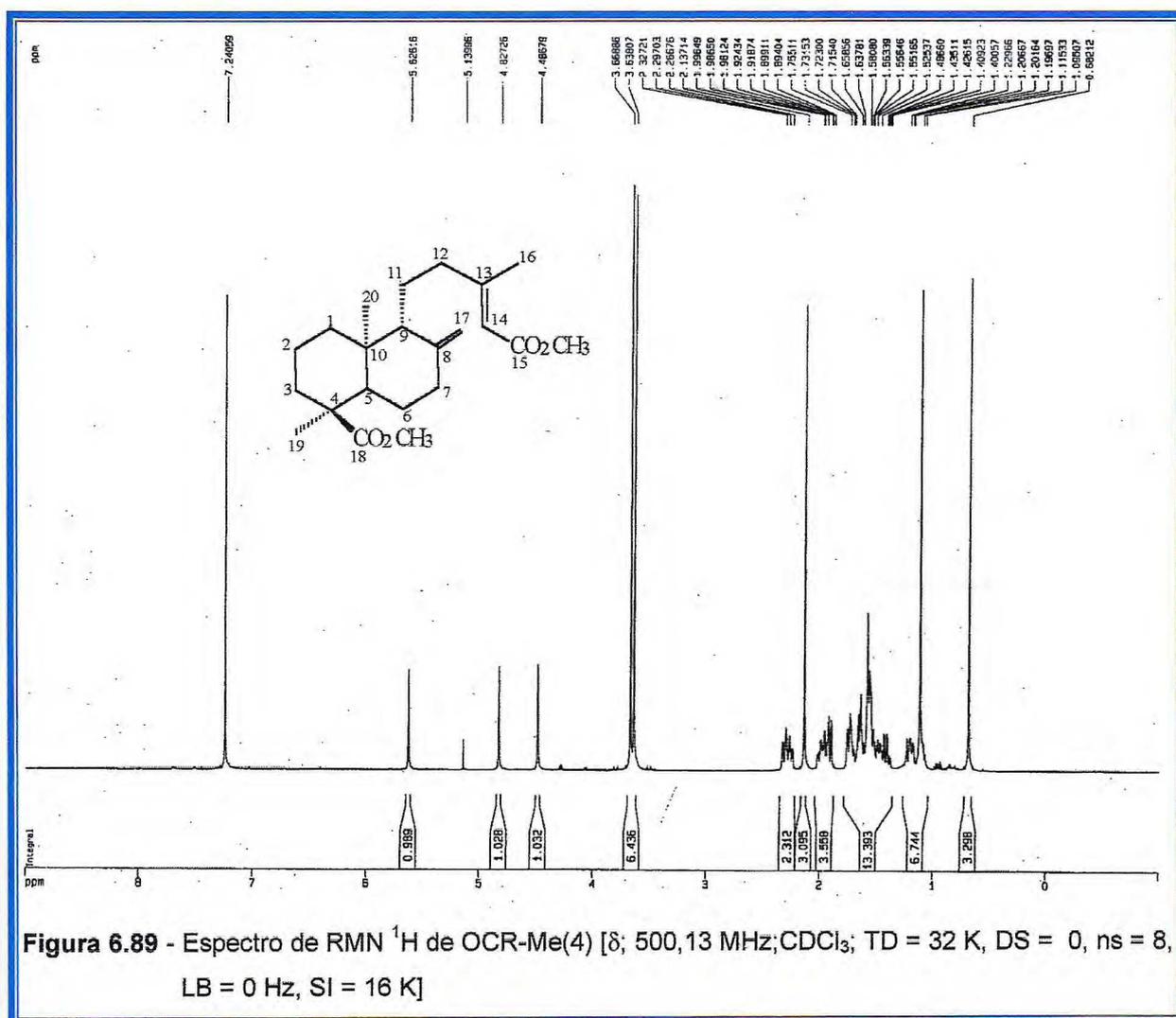
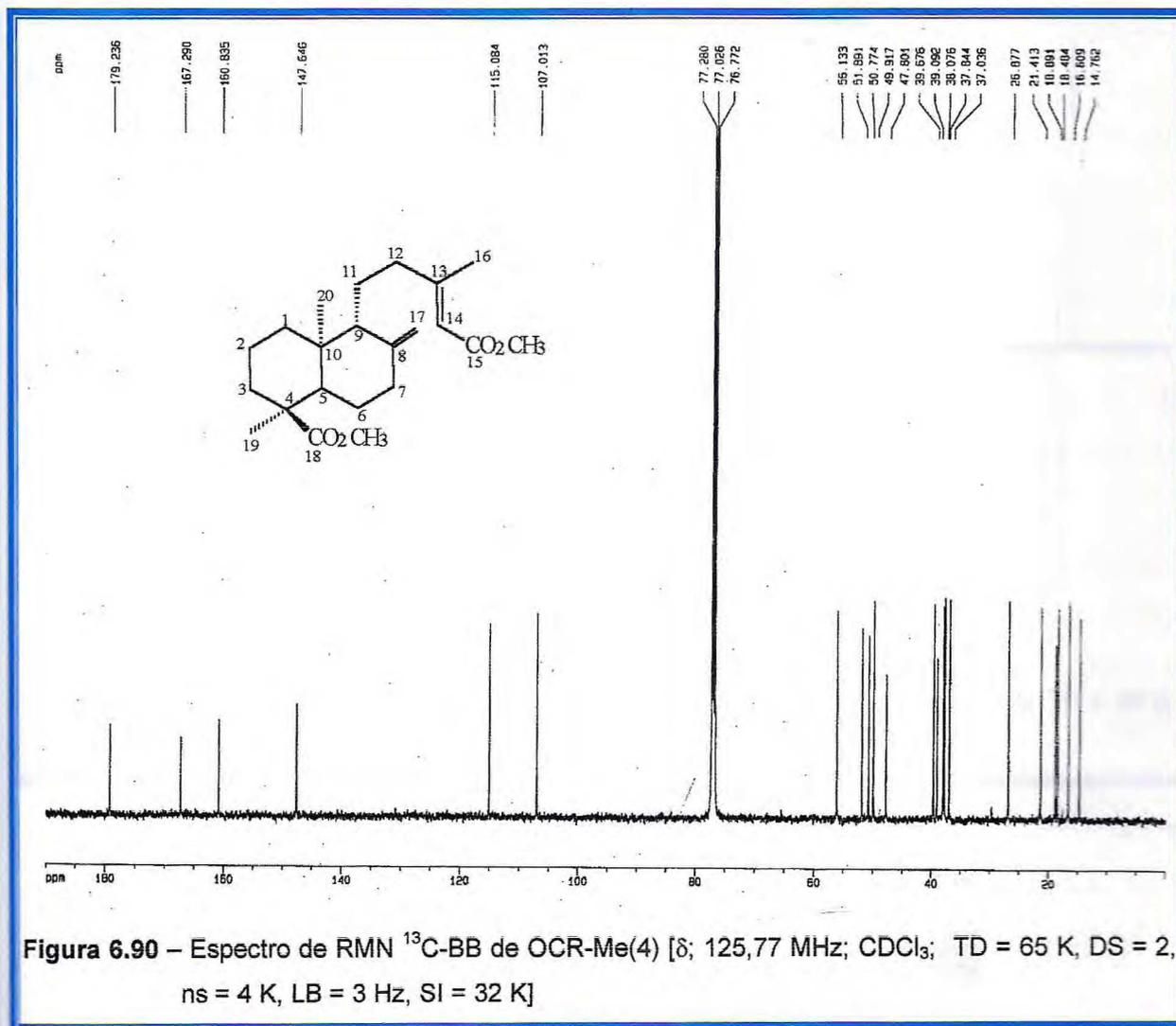


Figura 6.89 - Espectro de RMN ^1H de OCR-Me(4) [δ ; 500,13 MHz; CDCl_3 ; TD = 32 K, DS = 0, ns = 8, LB = 0 Hz, SI = 16 K]

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.90) apresentou 22 linhas espectrais que após comparação com o espectro de ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.91) resultou na elaboração da Tabela 6.13 (página 132).



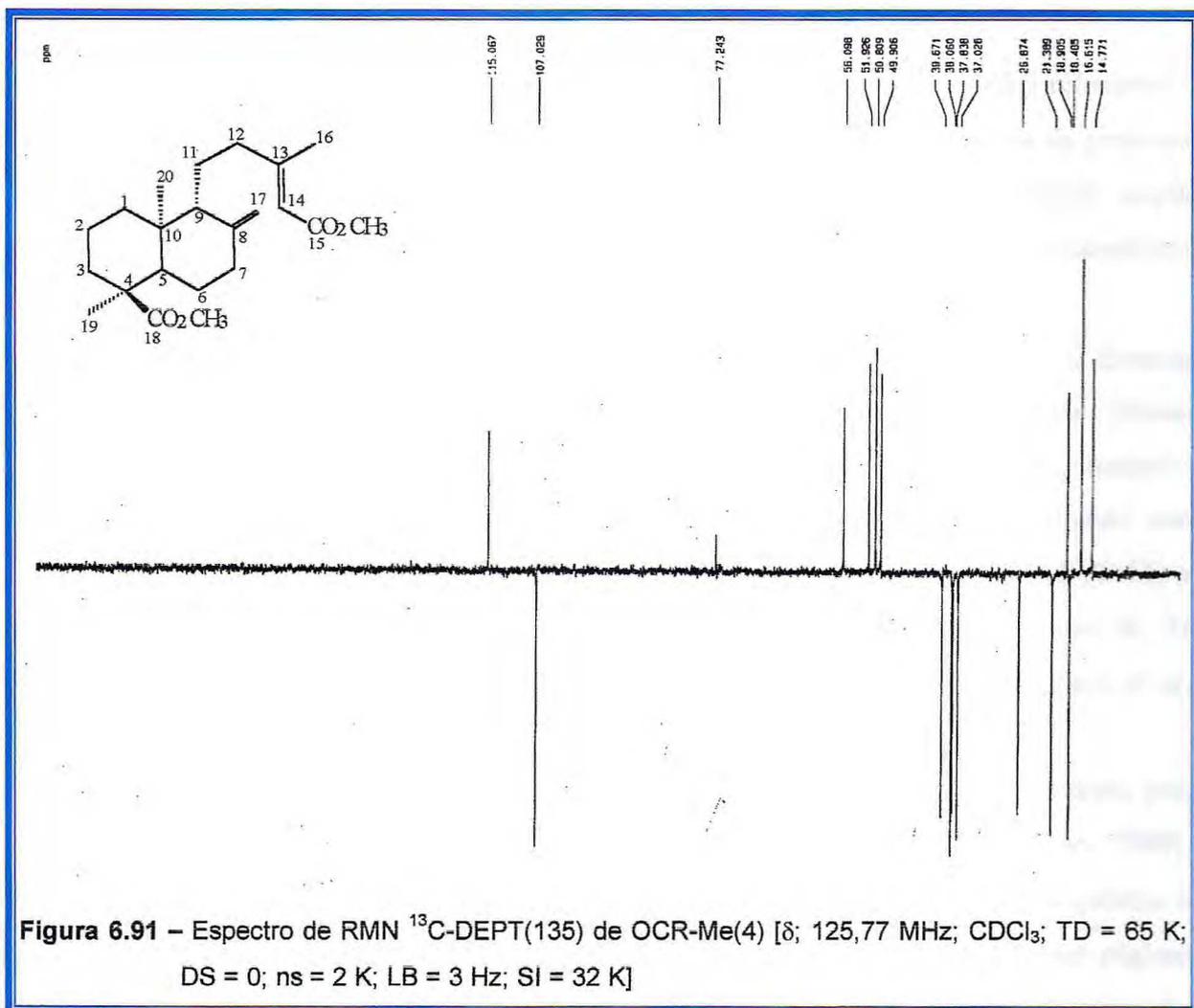


Figura 6.91 – Espectro de RMN ¹³C-DEPT(135) de OCR-Me(4) [δ; 125,77 MHz; CDCl₃; TD = 65 K; DS = 0; ns = 2 K; LB = 3 Hz; SI = 32 K]

Tabela 6.13
Deslocamentos químicos de RMN ¹³C de OCR-Me(4) com padrão de hidrogenação [δ; CDCl₃; 125,77 MHz]

C	CH	CH ₂	CH ₃
179,2	115,1	107,0	51,9
167,3	56,1	39,7	50,8
160,8	49,9	38,1	18,9
147,6	-	37,8	16,6
47,8	-	37,0	14,8
39,0	-	26,9	-
-	-	21,4	-
-	-	18,5	-
C ₆	C ₃ H ₃	C ₈ H ₁₆	C ₅ H ₁₅
TOTAL C ₂₂ H ₃₄			

A Tabela 6.13 (página 132) mostra duas absorções em δ 179,2 e 167,3 referentes a dois grupos carbonílicos, bem como duas metoxilas em δ 50,8 e 51,9 indicativas da presença de ésteres metílicos em OCR-Me(4). Observa-se ainda dois carbonos de ligação dupla trissubstituída em δ 160,8 e 115,1 e dois carbonos de uma ligação dupla dissustituída geminal em δ 147,6 e 107,0.

Com os dados obtidos, foi possível propor que OCR-Me(4) apresentava fórmula molecular $C_{22}H_{34}O_4$, conseqüentemente 6 índices de deficiências de hidrogênio. Destas deficiências, duas foram relacionadas às carbonilas e duas às ligações duplas, restando portanto duas deficiências, que foram relacionadas a dois anéis. Assim, foi proposto que OCR-Me(4) poderia ser um diéster diterpênico bicíclico. As absorções em δ 115,1 (C-14) e 49,9 (C-5) no espectro de ^{13}C e δ 5,63 (H-14); 4,83 e 4,49 (H-17) no espectro de 1H permitiram supor que se tratava de um diterpeno de esqueleto eperuano [Immamura *et al*, 1977].

A partir de dados da literatura foi possível prever que OCR-Me(4) apresenta uma ligação dupla *E*-trissubstituída entre os carbonos 13 (δ 160,8) e 14 (δ 115,1) [Crews, 1998]. De acordo com Bastard *et al* (1984), o carbono 15 de (133) apresenta deslocamento químico δ 177,2 bem diferente do observado para OCR-Me(4), OCC-AC(1) e OCC-AC(2) (ver páginas 116 e 119), mostrando-se inconsistente para carbonila de éster metílico α,β -insaturado [Crews, 1998].

Com os dados obtidos foi possível propor que OCR-Me(4) trata-se do éster dimetílico do ácido *ent*-labda-8(17),13(*E*)-diene-15,18-dióico (éster dimetílico do ácido *ent*-4-*epi*-agático) (83) cujos dados de ^{13}C estão sendo citados na Tabela 7.14.

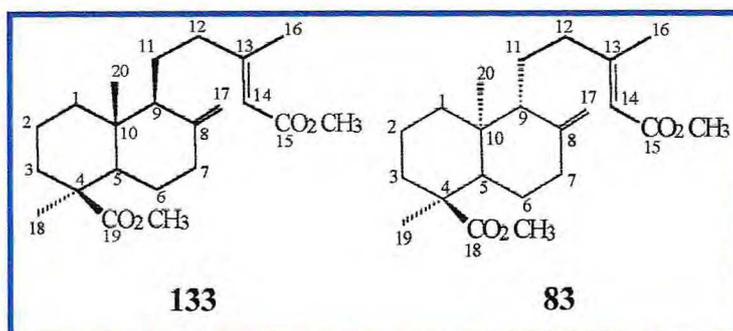
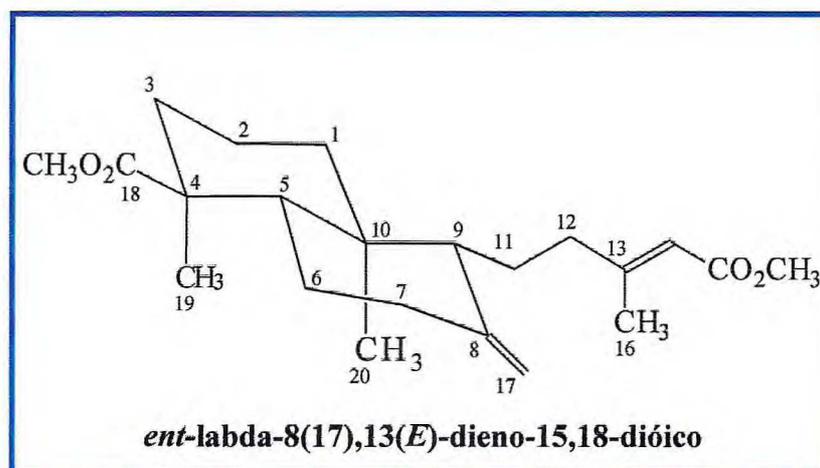


Tabela 6.14
Comparação entre dados do espectros de
RMN ^{13}C -BB de OCR-Me(4) e (133)

C	δ_{C}	
	133	OCR-Me(4)
1	39,2	37,8
2	20,0	18,5
3	38,8	37,0
4	44,4	47,8
5	56,4	49,9
6	26,3	26,9
7	38,3	38,1
8	147,8	147,6
9	55,5	56,1
10	40,3	39,0
11	21,8	21,4
12	39,8	39,7
13	160,7	160,8
14	115,1	115,1
15	177,2	167,3
16	18,8	18,9
17	106,5	107,0
18	28,8	179,2
19	177,6	16,6
20	12,6	14,8
OCH ₃ (C-15)	50,7	50,8
OCH ₃ (C-18)	-	51,9
OCH ₃ (C-19)	50,7	-



6.5.3. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração neutra do óleo de copaíba.

As frações neutras dos óleos de copaíba foram obtidas a partir de reações dos óleos de copaíba e de suas frações não-voláteis com hidróxido de amônio (página 209).

Tratamentos cromatográficos sucessivos das frações neutras possibilitaram o isolamento de dois compostos OC3-N(1) e OC3-N(2), relacionados a seguir:

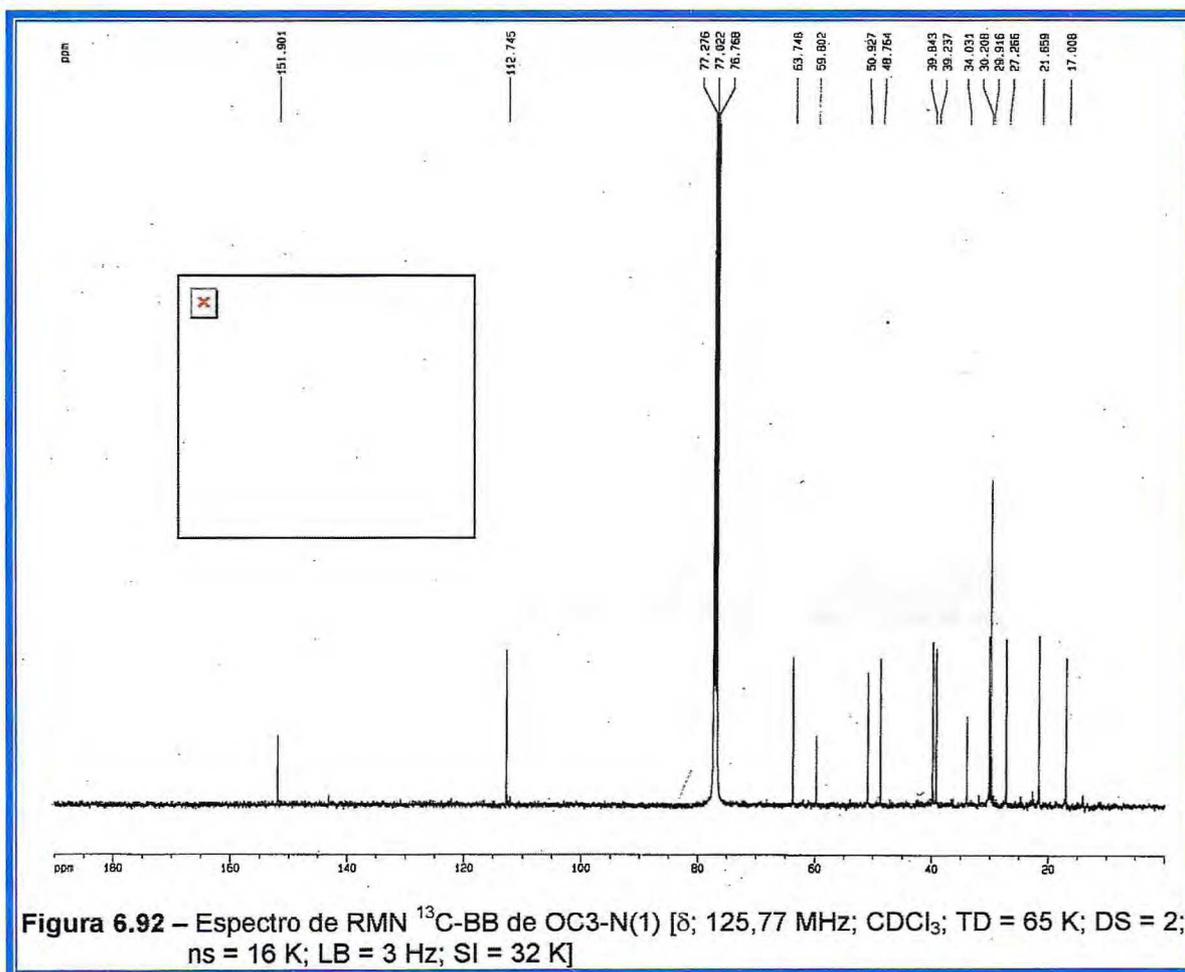
6.5.3.1. Determinação estrutural de OC3-N(1)

A fração neutra do óleo de copaíba OCCRATO-3 foi submetida a sucessivos tratamentos cromatográficos em gel de sílica, fornecendo 2,4 mg de um óleo incolor, homogêneo em CCD, r.f. 0,25 em hexano:clorofórmio 20%, denominado OC3-N(1) (ver parte experimental, página 220).

O espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-N(1) (Figura 6.92, página 136) apresentou 15 linhas espectrais, dentre estas, duas apareceram na região de carbonos olefínicos: δ 151,9 e 112,7, que foram relacionadas a carbonos de ligação dupla exocíclica. A comparação deste espectro com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.93, página 137), possibilitou a identificação do padrão de hidrogenação dos carbonos observados, sendo possível identificar três absorções relativas a carbonos não-hidrogenados; três absorções indicativas de carbonos metínicos; seis absorções relativas a carbonos metilênicos e três absorções referentes a carbonos metílicos, cujos deslocamentos químicos encontram-se relacionados na Tabela 6.15 (página 137).

No espectro de RMN ^1H (Figura 6.94, página 138) foram observados dois singletos em δ 4,95 e 4,84 cada um apresentando intensidade relativa a um hidrogênio, que foram relacionados aos hidrogênios geminais da ligação dupla supracitada. No mesmo espectro foram identificados também três singletos na região de prótios metílicos em δ 1,18; 0,99 e 0,96 além de uma absorção em δ 2,85 (1H, dd, $J=10,5; 4,2$ Hz) relacionada a um prótio metínico ligado a carbono oxigenado.

O espectro de massa (Figura 6.95, página 138) de OC3-N(1) mostrou o pico do íon molecular apresentando 220 u.m.a., o que permitiu juntamente com os dados obtidos dos espectros de RMN, a afirmação de que a fórmula deste composto seria $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, apresentando índice de deficiência de hidrogênios igual a quatro, destas, uma foi relacionada à ligação dupla exocíclica e as três deficiências restantes indicativas do caráter tricíclico do composto.



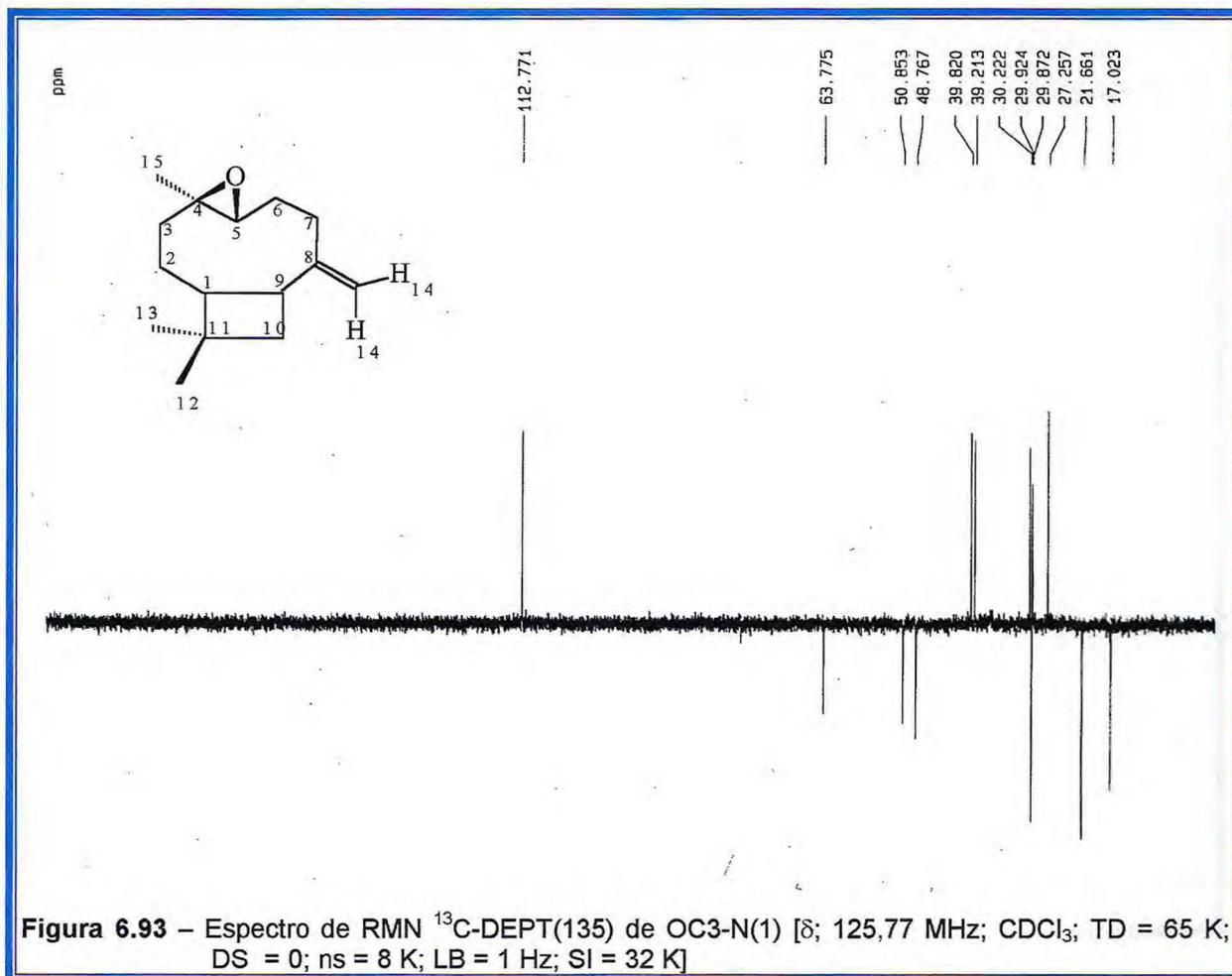
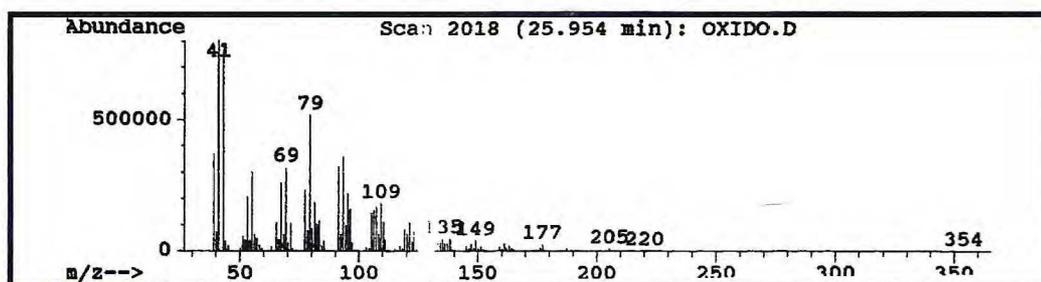
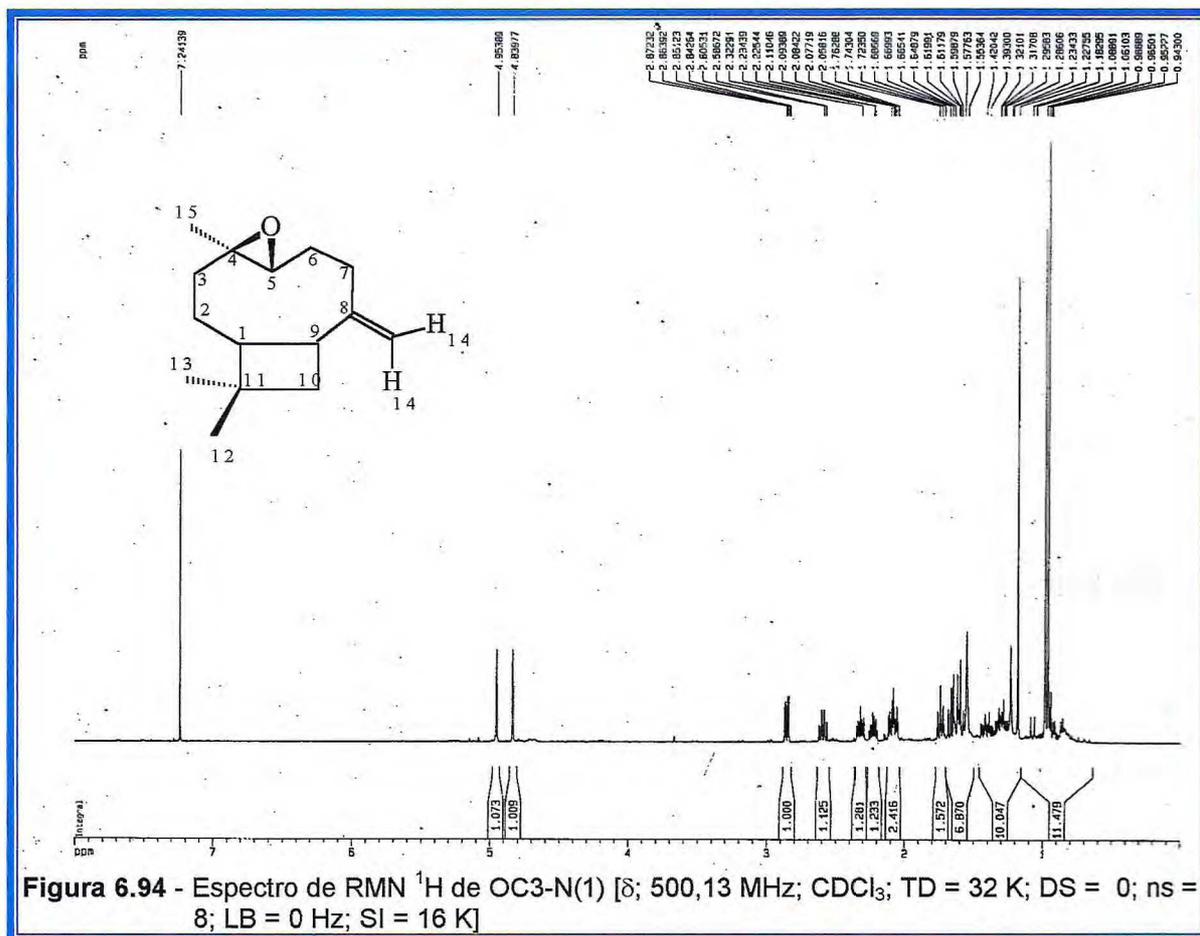


Tabela 6.15

Deslocamentos químicos de RMN ¹³C de OC3-N(1) com padrão de hidrogenação (RMN ¹³C-BB e DEPT; δ; CDCl₃; 125,77 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
151,9	63,7	112,7	29,9
59,8	50,9	39,8	21,7
34,0	48,8	39,2	17,0
-	-	30,2	-
-	-	29,9	-
-	-	27,2	-
C₃	C₃H₃	C₆H₁₂	C₃H₉
TOTAL C₁₅H₂₄			



Citações encontradas da literatura para o óleo de copaíba mostraram que este óleo apresentava considerável teor de β-cariofileno [Gottlieb,1945], constatado experimentalmente a partir do estudo dos óleos essenciais de *C. langsdorffii* (item 6.2, página 76) e na análise por RMN dos óleos comerciais (Capítulo 5, página 62), desta forma foi possível supor que o OC3-N(1) tratava-se do óxido de cariofileno (41), produto de autoxidação do β-cariofileno [Gramosa, 1994 e 1995].

Comparação dos dados de RMN e EM obtidos de OC3-N(1) com dados do óxido de cariofileno citados em trabalho anterior [Gramosa, 1994], possibilitou comprovar que o

sesquiterpeno tricíclico oxigenado em análise era realmente o óxido de cariofileno (Tabela 6.16).

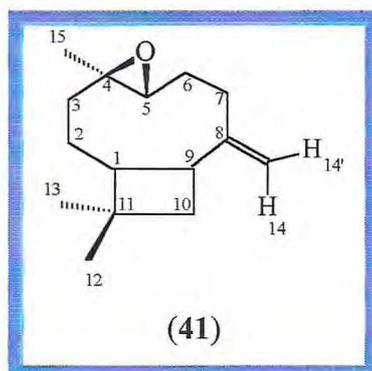


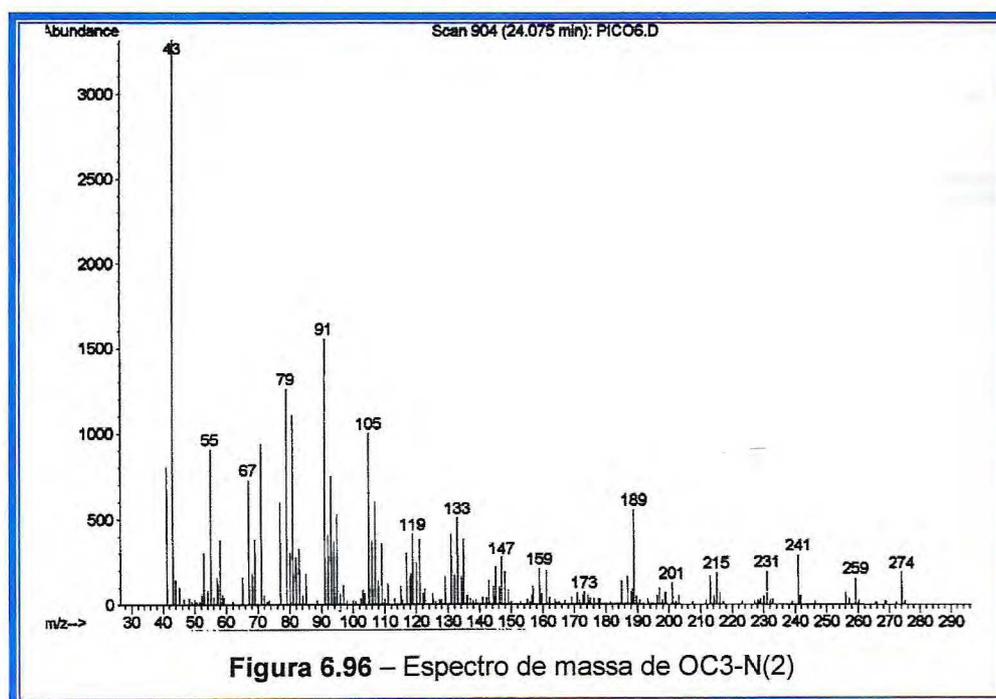
Tabela 6.16
Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de OC3-N(1) e óxido de cariofileno (41)

C	δ_c	
	OC3-N(1)	41
1	50,9	50,8
2	27,2	27,2
3	39,2	39,1
4	59,8	59,8
5	63,7	63,7
6	30,2	30,2
7	29,9	29,9
8	151,9	151,8
9	48,8	48,7
10	39,8	39,8
11	34,0	34,1
12	29,9	29,9
13	21,7	21,7
14	112,7	112,8
15	17,0	17,0

6.5.3.2. Determinação estrutural de OC3-N(2)

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração neutra do óleo de copaíba OCCRATO-3 em gel de sílica, forneceram 29 mg da fração 27-29 eluída com hexano:acetato de etila (95:5) (ver procedimento experimental, página 220). Esta fração foi cromatografada em cromatógrafo líquido de alta eficiência e forneceu 2,1 mg de cristais incolores de ponto de fusão 75,9-76,9 °C, homogêneo em CCD denominado OC3-N(2), cujo espectro de massa (Figura 6.96) apresentou o pico do íon molecular com 274 u.m.a.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.97, página 141) apresentou 19 linhas espectrais, que ao serem comparadas com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.98, página 141), foram identificadas de acordo com seus respectivos padrões de hidrogenação como: quatro carbonos não-hidrogenados, três carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos e dois carbonos metílicos (Tabela 6.17, página 142).



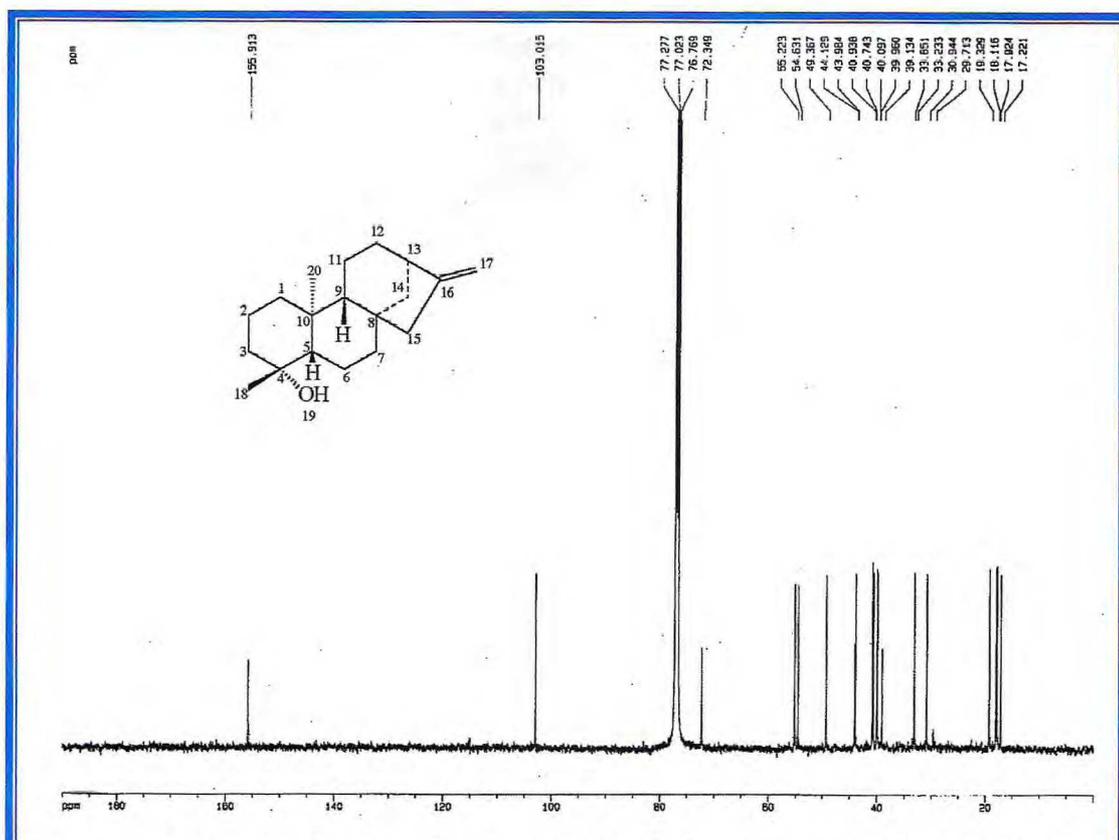


Figura 6.97 – Espectro de RMN ¹³C-BB de OC3-N(2) [δ; 125,77 MHz; CDCl₃; TD = 65 K; DS = 2, ns = 20 K, LB = 3 Hz, SI = 32 K]

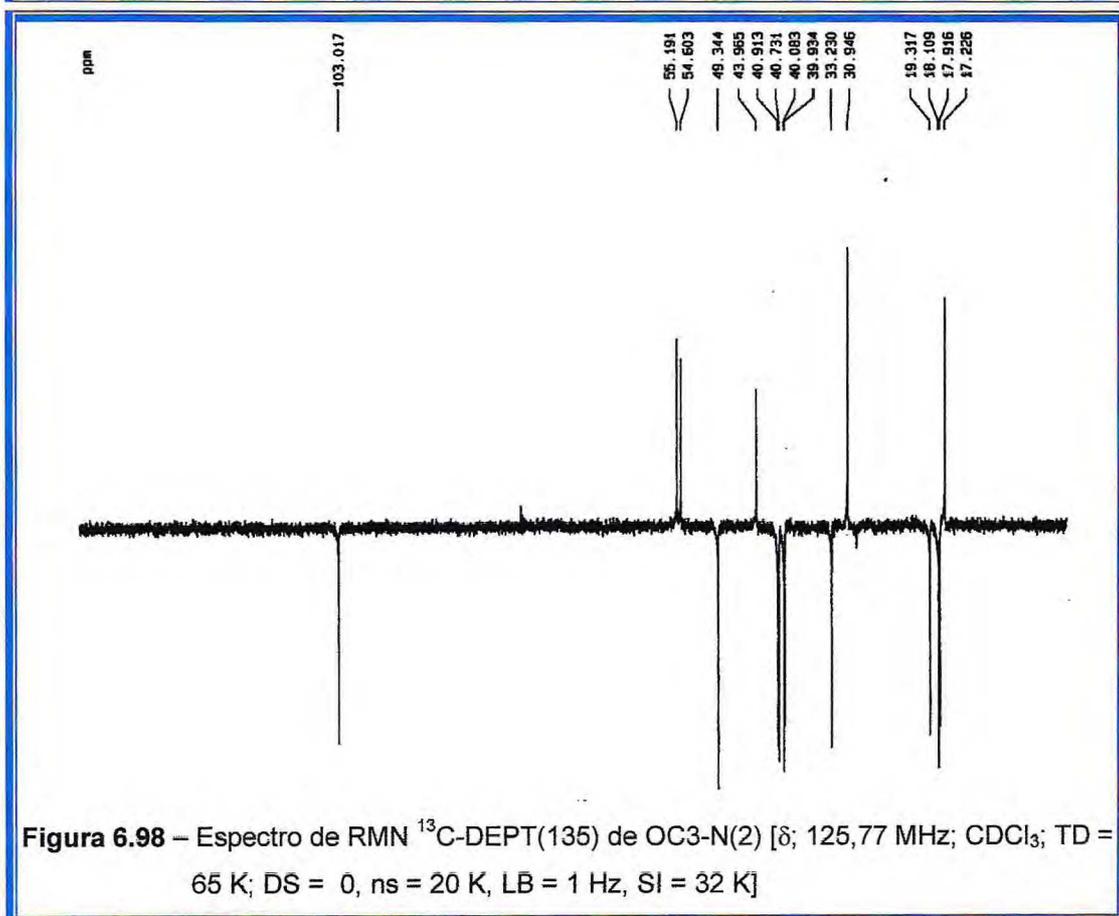


Figura 6.98 – Espectro de RMN ¹³C-DEPT(135) de OC3-N(2) [δ; 125,77 MHz; CDCl₃; TD = 65 K; DS = 0, ns = 20 K, LB = 1 Hz, SI = 32 K]

Tabela 6.17
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OC3-N(2) com padrão de
hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e DEPT; δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
155,9	55,2	103,0	30,9
72,3	54,6	49,4	17,2
44,1	44,0	40,9	-
39,1	-	40,7	-
-	-	40,1	-
-	-	39,9	-
-	-	33,2	-
-	-	19,3	-
-	-	18,1	-
-	-	17,9	-
C₄	C₃H₃	C₁₀H₂₀	C₂H₆
TOTAL C₁₉H₂₉			

Na Tabela 6.17 observou-se um carbono de deslocamento químico δ 72,3 que foi relacionado a um carbono oxigenado não hidrogenado, provavelmente hidroxilado. Os carbonos em δ 155,9 e 103,0 referentes a carbonos olefínicos, foram relacionados a uma ligação dupla exocíclica. Nesta Tabela observou-se ainda dois sinais em δ 30,9 e 17,2 característicos de carbonos metílicos ligados a carbonos quaternários.

No espectro de RMN ^1H (Figura 6.99) foi observado um singlete largo em δ 2,62 (H-13), e dois singletos na região de hidrogênios de carbonos insaturados em δ 4,78 e 4,72 referentes a hidrogênios metilênicos de ligação dupla exocíclica característicos do diterpeno caur-16-eno. No mesmo espectro, também foram observados dois sinais referentes a seis hidrogênios metílicos em δ 1,14 e 1,15.

Com os dados obtidos foi possível propor que a fórmula molecular de OC3-N(2), seria $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}$, compatível com a massa obtida no espectro de massa. Este composto apresentaria então cinco deficiências de hidrogênio, uma destas relacionada a ligação dupla exocíclica, restando assim quatro deficiências que foram relacionadas a anéis, o que levou a proposição de que OC3-N(2) tratava-se provavelmente de um nor-diterpeno, já que foi notada a ausência de um carbono no espectro de carbono-13 e só aparecem dois sinais de grupos metila no espectro de prótio. Sabendo-se que este nor-diterpeno apresenta esqueleto caurânico

e que a hidroxila está ligada a um carbono não-hidrogenado, pôde-se então afirmar que na posição de um dos grupos metila havia uma hidroxila, sendo assim, teríamos um 18-, 19- ou 20- nor-caurenol (133, 77, 134).

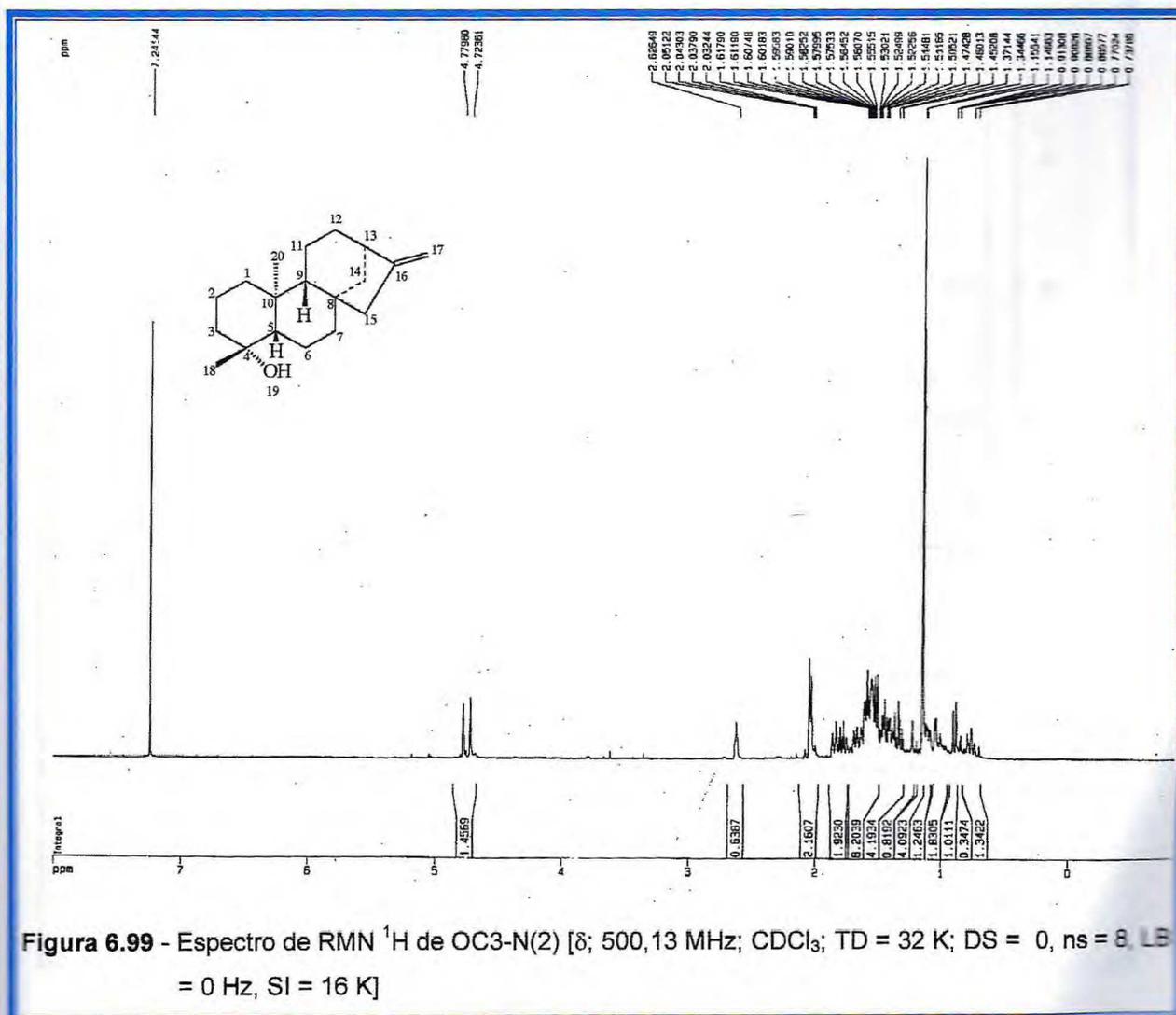
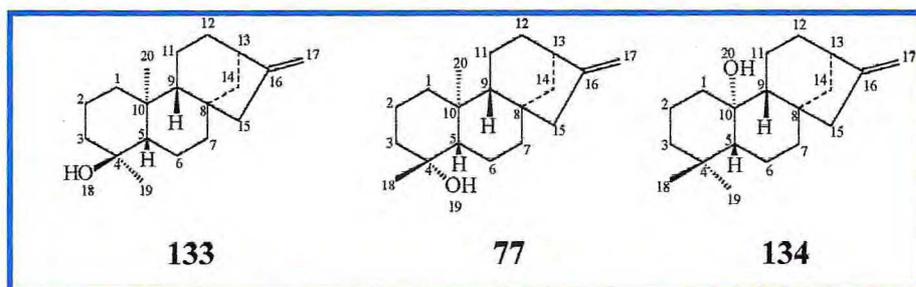
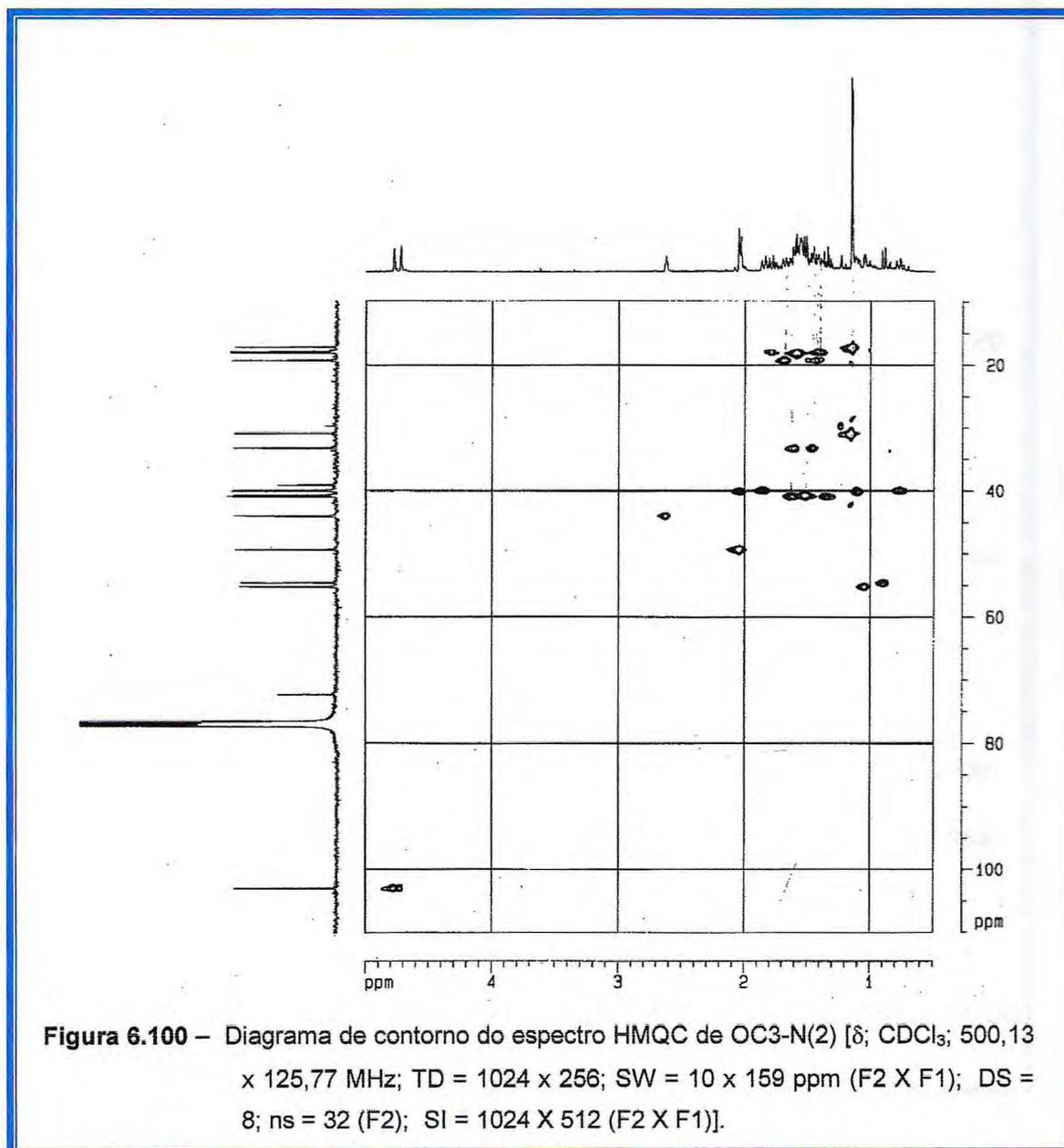


Figura 6.99 - Espectro de RMN ¹H de OC3-N(2) [δ; 500,13 MHz; CDCl₃; TD = 32 K; DS = 0, ns = 8, LB = 0 Hz, SI = 16 K]

A análise do espectro bidimensional HMQC (Figura 6.100 e 6.101) possibilitou relacionar os carbonos observados no espectro de ^{13}C com seus respectivos hidrogênios, resultando na elaboração da Tabela 7.18, que juntamente com o espectro bidimensional HMBC (Figura 6.102, página 147), permitiu a identificação da vizinhança de cada carbono analisado.



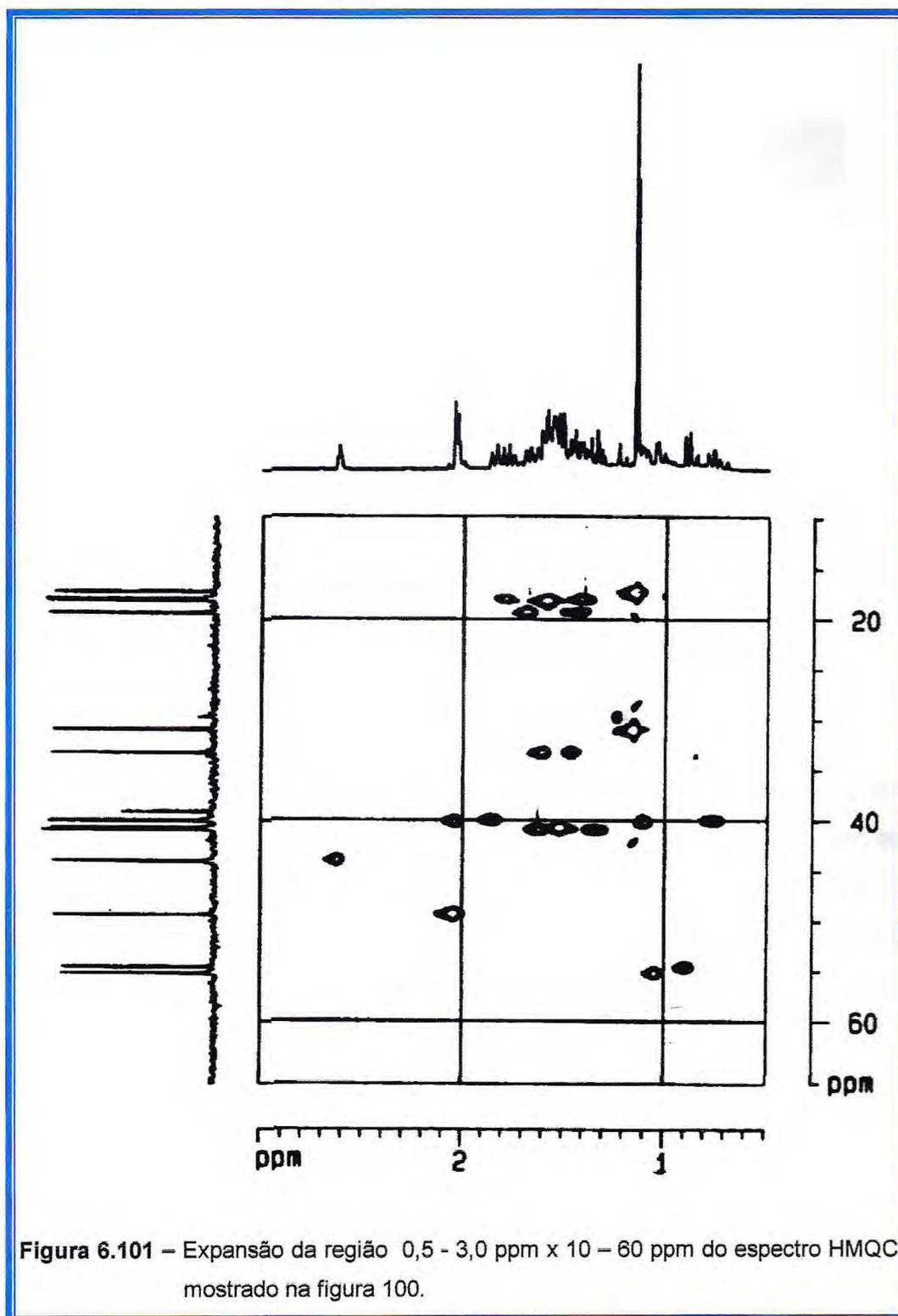


Figura 6.101 – Expansão da região 0,5 - 3,0 ppm x 10 - 60 ppm do espectro HMQC mostrado na figura 100.

Tabela 6.18
Dados obtidos do espectro HMQC de OC3-N(2)
[δ ; CDCl₃; δ ; 500,13 X 125,77 MHz (F2 X F1)]

HMQC			
δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
155,9	-	40,1	2,04; 1,1
103,0	4,72; 4,78	39,9	0,76; 1,85
72,3	-	39,1	-
55,2	1,04	33,2	1,46; 1,61
54,6	0,89	30,9	1,15
49,4	2,05	19,3	1,68; 1,42
44,1	-	18,1	1,58
44,0	2,62	17,9	1,79; 1,40
40,9	1,62; 1,34	17,2	1,14
40,7	1,52	-	-

No espectro HMBC observou-se os acoplamentos $^2J_{C,H}$ entre os prótios em δ 1,05 (H-5), 0,89 (H-9) e 1,62 (H-3) com o carbono em δ 39,9 (C-1) (Figura 6.102), bem como um acoplamento $^2J_{C,H}$ dos prótios metílicos em δ 1,15 com o carbono oxigenado em δ 72,3 com possibilitando inferir que a hidroxila estava ligada ao carbono 4 (Figura 6.103 a e b), sendo possível propor que OC3-N(2) tratava-se de um C-18 ou C-19 nor-diterpeno.

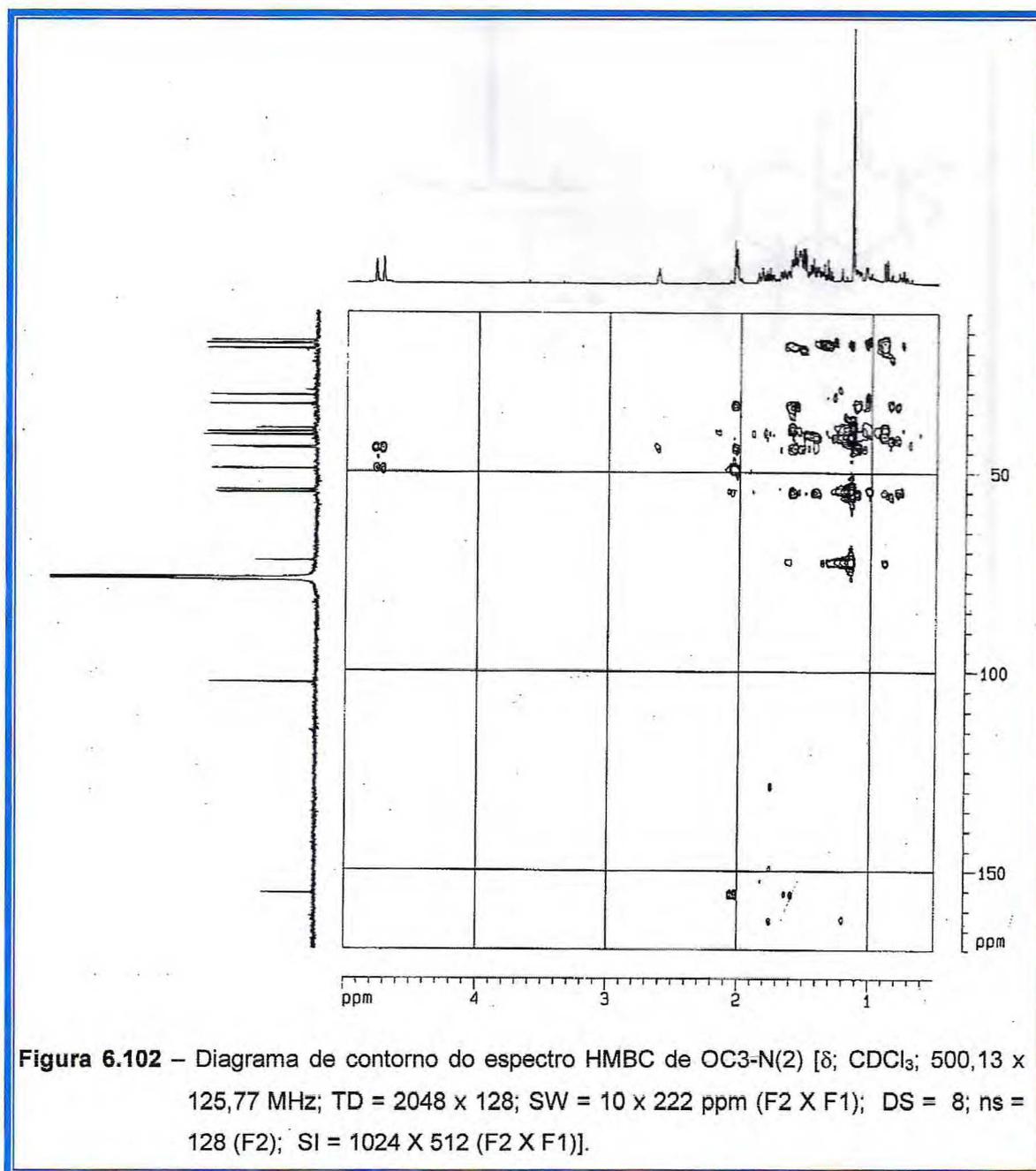


Figura 6.102 – Diagrama de contorno do espectro HMBC de OC3-N(2) [δ ; CDCl₃; 500,13 x 125,77 MHz; TD = 2048 x 128; SW = 10 x 222 ppm (F2 X F1); DS = 8; ns = 128 (F2); SI = 1024 X 512 (F2 X F1)].

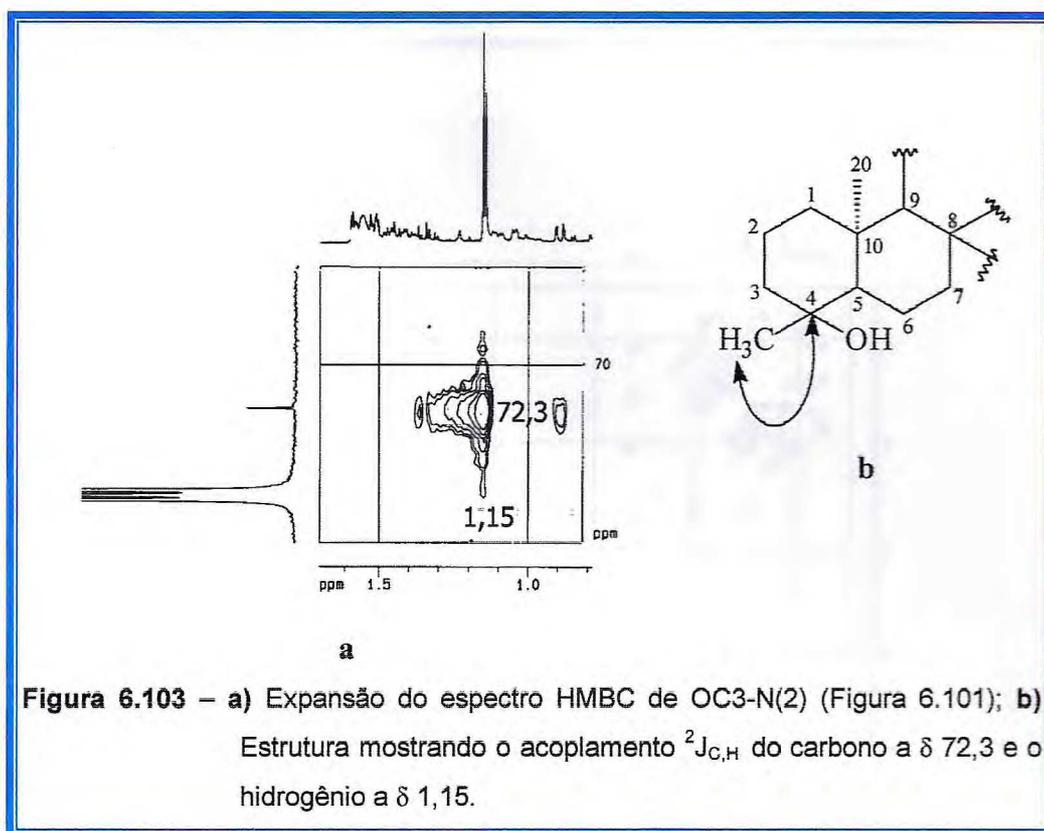


Figura 6.103 – a) Expansão do espectro HMBC de OC3-N(2) (Figura 6.101); b) Estrutura mostrando o acoplamento $^2J_{C,H}$ do carbono a δ 72,3 e o hidrogênio a δ 1,15.

Análise do espectro de correlação homonuclear NOESY (Figura 6.104, página 149) permitiu identificar o arranjo espacial dos grupos ligados ao carbono 4, a partir do acoplamento dipolar entre os prótios metílicos em δ 1,15 e o prótio metilênico equatorial do carbono 6 em δ 1,68, bem como o acoplamento entre o prótio axial do carbono 6 em δ 1,42 e os prótios metílicos ligados ao carbono 20 em δ 1,14 (Figura 6.104 b e c, página 149).

Com os dados obtidos foi possível prever que o grupo hidroxila de OC3-N(2) estava do mesmo lado que o grupo metila 20 e que este composto apresentava a estrutura (79). Comparação dos dados de ^{13}C com os dados do caur-16-eno (8) foi possível observar a diferença no deslocamento químico do C-4 de δ 33,3 do caur-16-eno para δ 72,3 no OC3-N(2) (Tabela 6.19, página 150).

O levantamento bibliográfico no *Chemical abstracts* revelou que OC3-N(2) trata-se do nor-diterpeno denominado 19-*nor*-caur-16-en-19-ol (Ruilozeziol), cujos dados de RMN ^1H de OC3-N(2) mostraram-se semelhantes, enquanto que nenhum dado de carbono-13 foi encontrado.

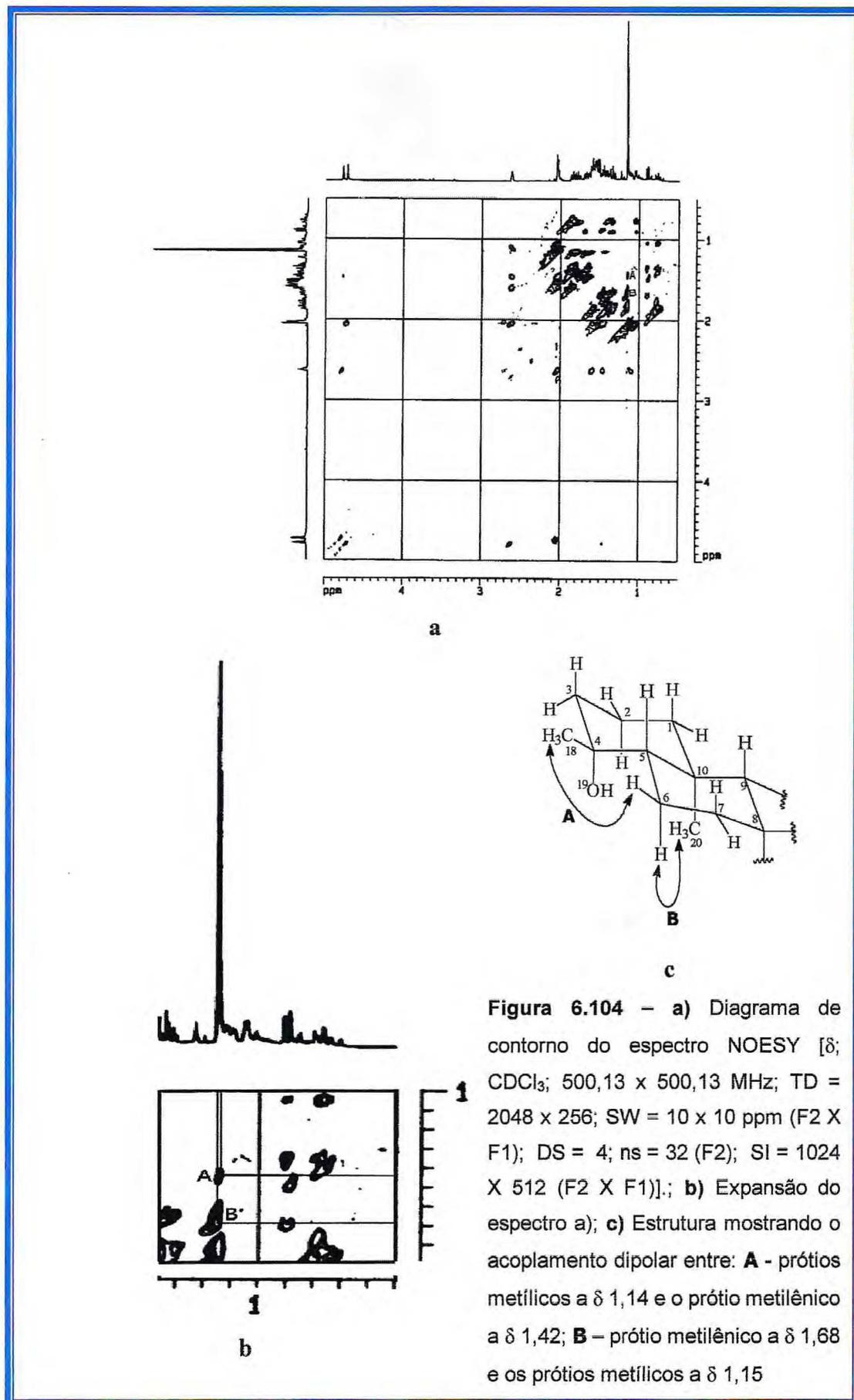
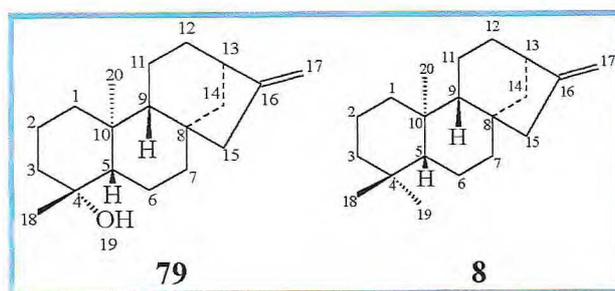
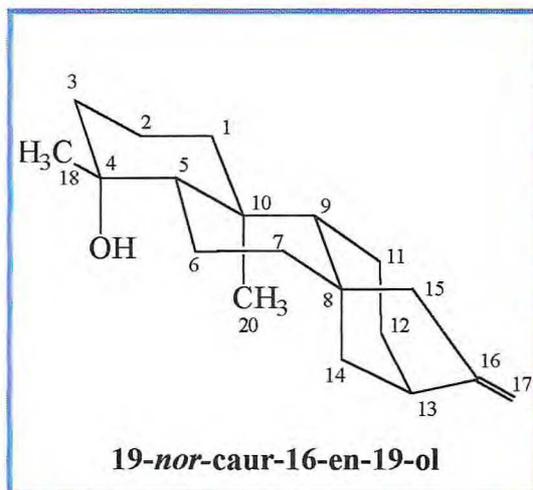


Tabela 6.19
 Dados de RMN ^{13}C de OC3-N(2) [RMN ^{13}C ; δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]

C	δ_{C}	
	OC3-N(2)	Caur-16-eno
1	39,9	41,3
2	18,1	18,7
3	40,9	42,0
4	72,3	33,3
5	55,2	56,4
6	19,3	20,3
7	40,7	40,5
8	44,1	44,3
9	54,6	56,1
10	39,1	39,4
11	17,9	18,2
12	33,2	33,3
13	44,0	44,1
14	40,1	39,9
15	49,4	49,3
16	155,9	156,1
17	103,0	102,8
18	30,9	33,7
19	-	21,7
20	17,2	17,6





6.5.4. Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados da fração ácida do óleo de copaíba obtido de *C. langsdorffii*.

Os óleos de copaíba do Crato, OCCRATO-3 e OCCRATO-4, após terem sido submetidos à extração de seus constituintes voláteis por hidrodestilação, forneceram óleos essenciais denominados OEOCCRATO-3 e OEOCCRATO-4, bem como frações não-voláteis. As fases aquosas, com resíduos não-voláteis foram extraídas com clorofórmio, resultando em materiais resinosos denominados OCA-3ResC e OCA-4ResC que foram então separados em frações neutras (OCA-3ResC(NA) e OCA-4ResC(NA)) e ácidas (OCA-3ResC(AC) e OCA-4ResC(AC)), respectivamente, discutidas anteriormente (procedimento experimental, página 209). Os constituintes químicos isolados das frações ácidas dos óleos de copaíba citados encontram-se relacionados a seguir.

6.5.4.1. Determinação estrutural de OC3-RAC(1)

O tratamento cromatográfico de OCA-3ResC(AC) em gel de sílica forneceu um sólido branco amorfo, eluído com éter de petróleo, homogêneo em CCD, r.f. 0,79 em hexano, solúvel em clorofórmio, p.f. 70,6-75,7 °C, denominado OC3-RAC(1) (ver parte experimental, página 222).

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.105, página 152) apresentou 20 linhas espectrais que ao serem comparadas com os dados obtidos dos espectros de RMN ^{13}C -DEPT (90) e DEPT (135) (Figuras 6.106 e 6.107, página 153), possibilitou a identificação de quatro absorções relativas a carbonos não-hidrogenados; três absorções indicativas de carbonos metínicos; dez absorções relativas a carbonos metilênicos e três absorções referentes a carbonos metílicos, cujos deslocamentos químicos encontram-se descritos na Tabela 6.20, página 154.

Os sinais em δ 156,1 e 102,8 foram relacionados a carbonos de ligação dupla C=C exocíclica, enquanto que os sinais em δ 33,7; 21,7 e 17,6 foram relacionados a grupos metila ligados a carbonos quaternários.

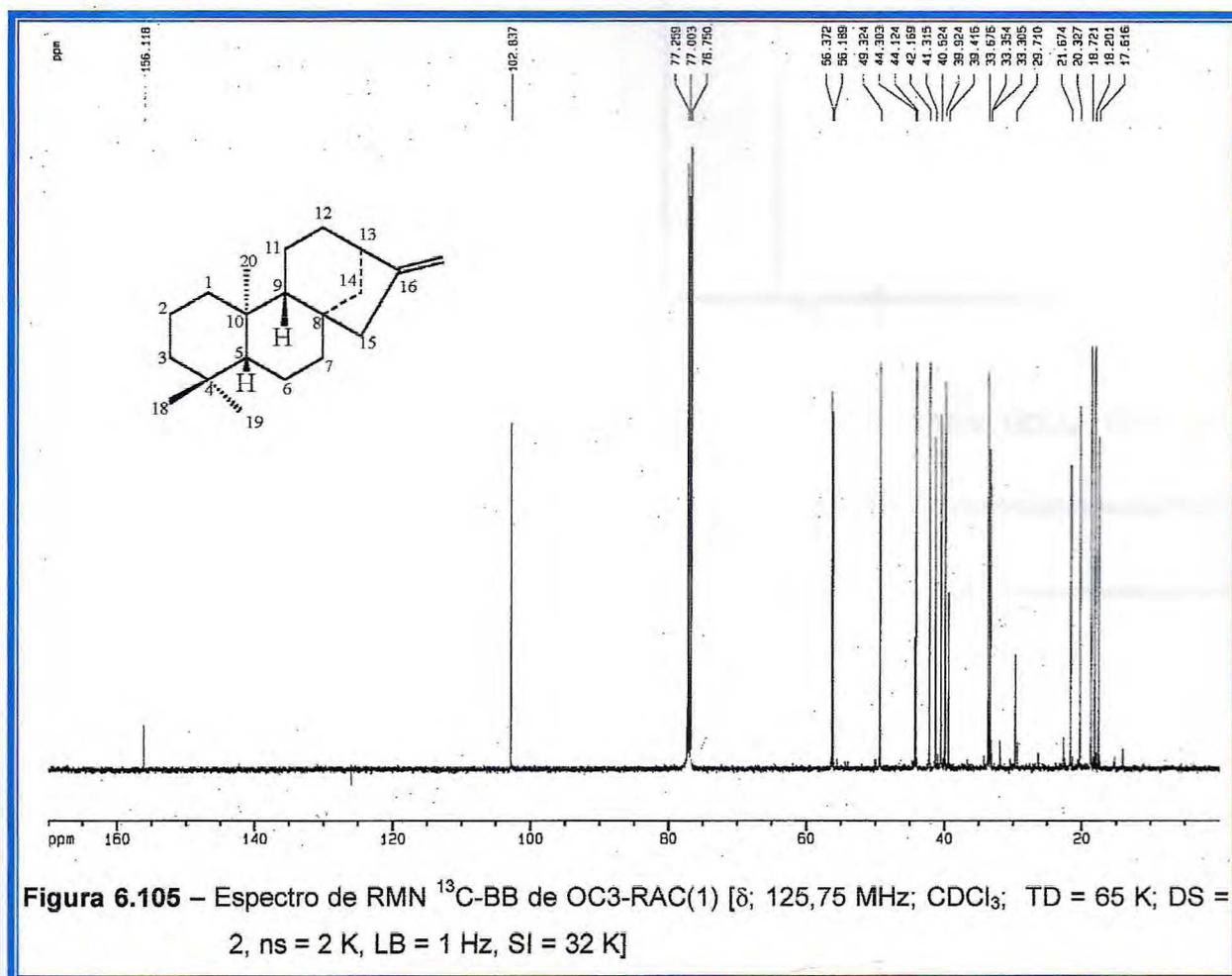


Figura 6.105 – Espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-RAC(1) [δ , 125,75 MHz; CDCl₃; TD = 65 K; DS = 2, ns = 2 K, LB = 1 Hz, SI = 32 K]

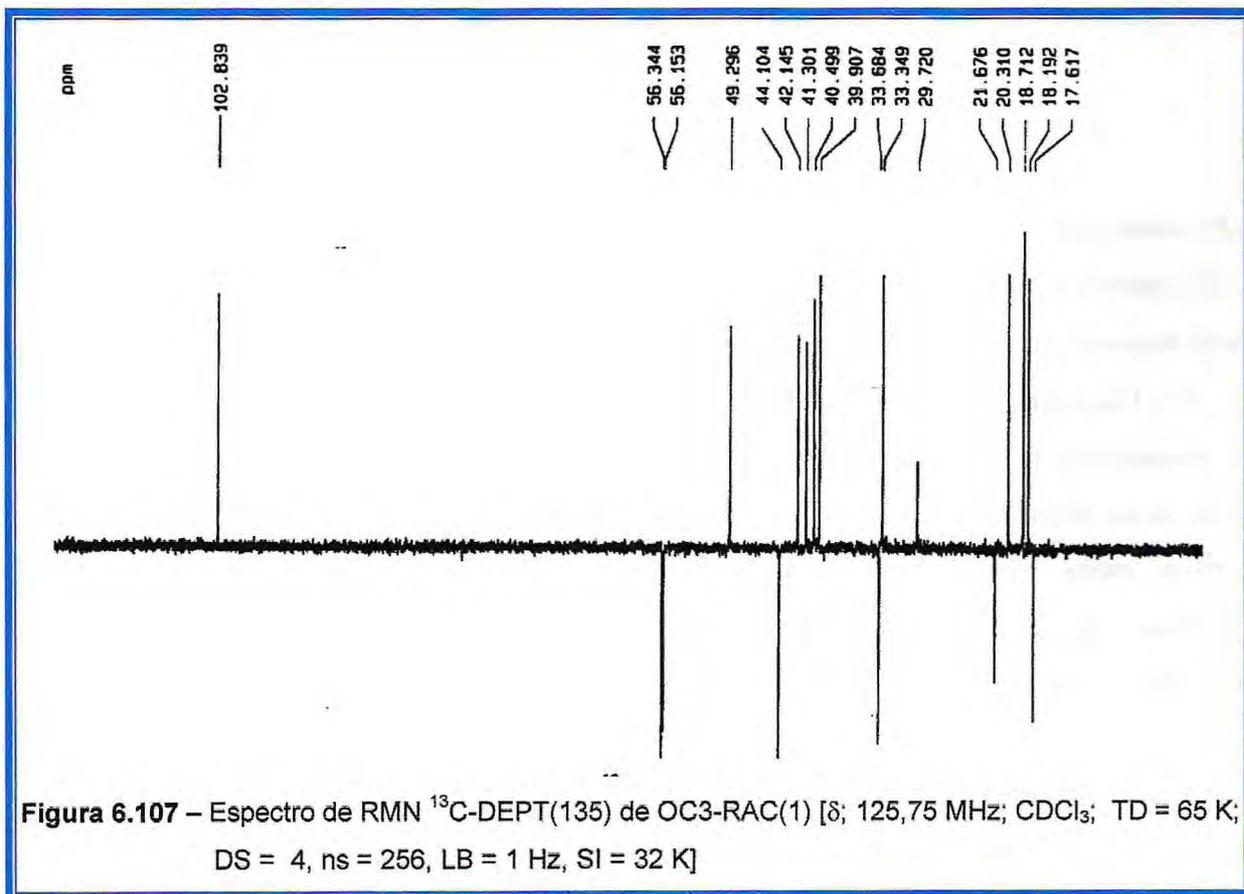
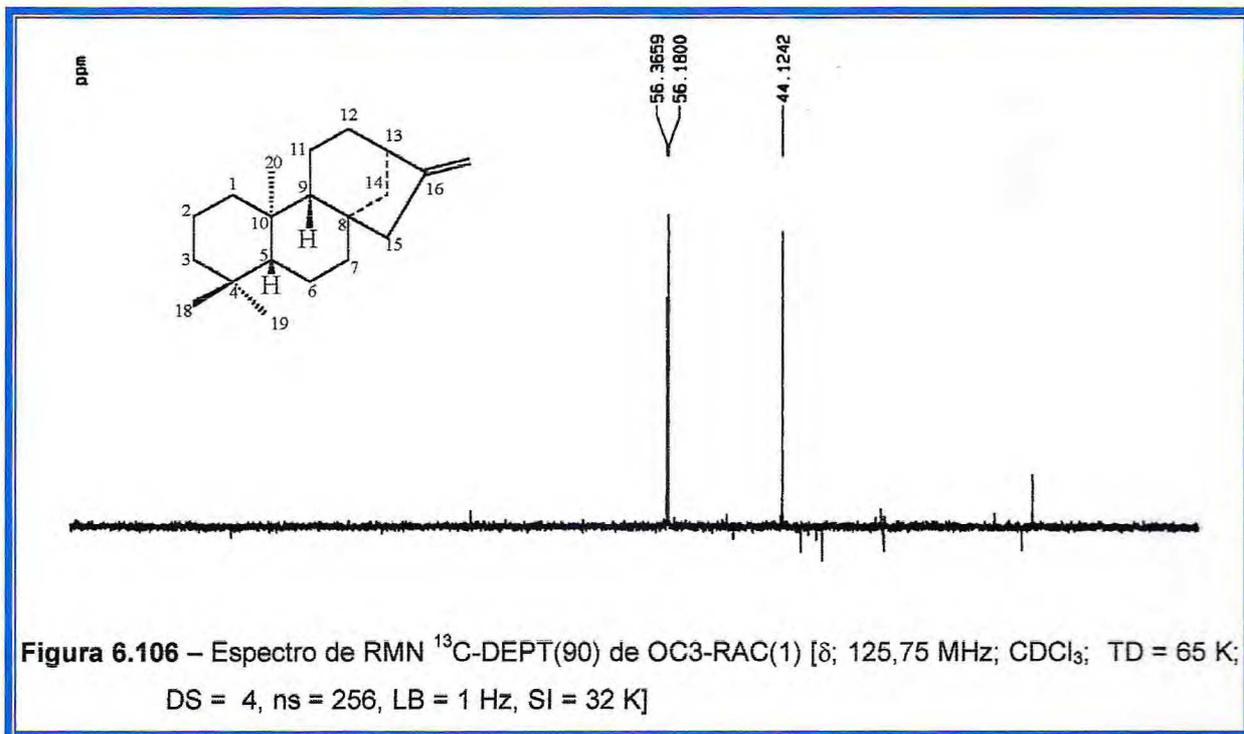


Tabela 6.20
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (δ ; CDCl_3 ; 125,75 MHz)
de OC3-RAC(1) de acordo com seus padrões de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
156,1	56,4	102,8	33,7
44,3	56,1	49,3	21,7
39,4	44,1	42,2	17,6
33,3	-	41,3	-
-	-	40,5	-
-	-	39,9	-
-	-	33,3	-
-	-	20,3	-
-	-	18,7	-
-	-	18,2	-
C₄	C₃H₃	C₁₀H₂₀	C₃H₉
TOTAL C₂₀H₃₂			

No espectro de RMN ^1H de OC3-RAC(1) (Figura 6.108) foram observados três sinais em δ 1,05; 0,88 e 0,84 relacionados a hidrogênios metílicos ligados a carbonos não-hidrogenados, além de um singlete largo em δ 2,66. O mesmo espectro mostrou ainda dois sinais em δ 4,82 e 4,76 que foram relacionados aos hidrogênios metilênicos ligados ao C-17.

Com os dados obtidos, foi possível propor que OC3-RAC(1) apresentava a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$, conseqüentemente 5 deficiências de hidrogênio, dentre estas, uma relacionada à ligação dupla exocíclica citada anteriormente, restando assim quatro deficiências que foram relacionadas ao esqueleto diterpênico tetracíclico do tipo caurano, possivelmente um hidrocarboneto, já que não foram observados indícios que revelassem alguma funcionalização neste composto.

A comparação entre os dados espectrais de RMN ^{13}C de OC3-RAC(1) com os dados encontrados na literatura para o hidrocarboneto diterpênico caur-16-eno [Hanson, 1979], mostrou que os deslocamentos químicos descritos para os dois compostos eram semelhantes, sendo possível propor a estrutura (8) para OC3-RAC(1) e assim identificá-lo como o *ent*-caur-16-eno (Tabela 6.21).

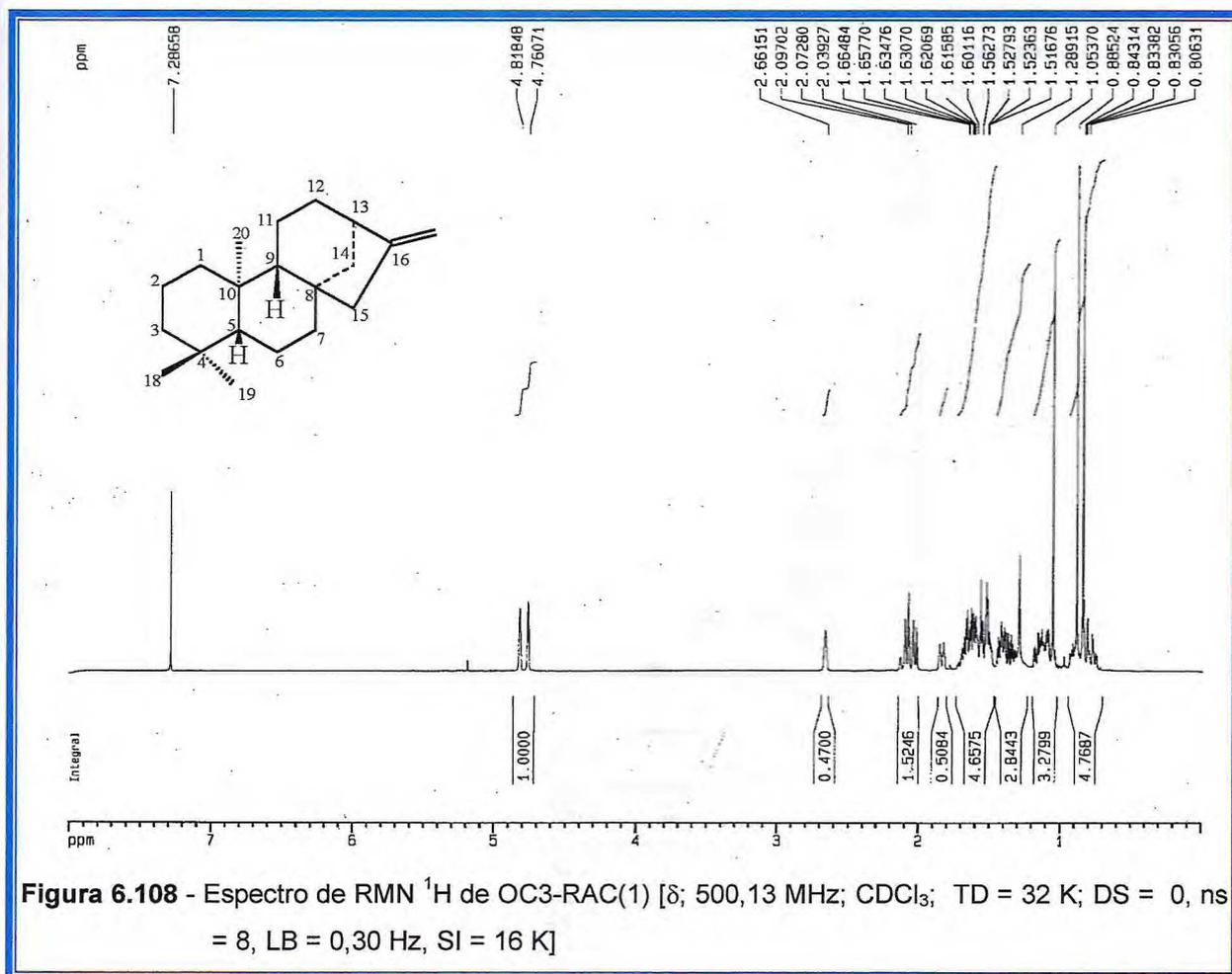
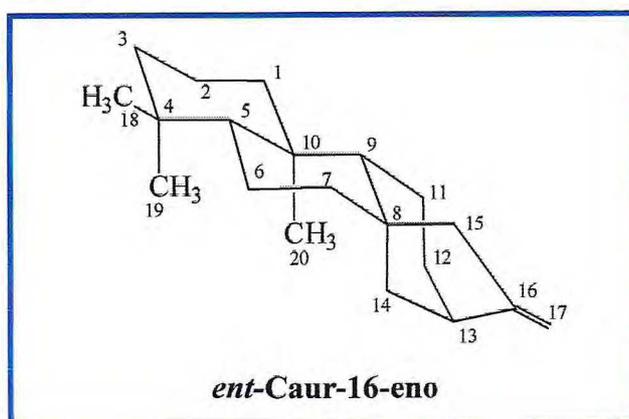


Tabela 6.21
Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de *ent*-caur-16-eno
[Hanson, 1979] e OC3-RAC(1) (δ ; 125,77 MHz; CDCl_3)

C	δ_{C}	
	<i>ent</i> -Caur-16-eno	OC3-RAC(1)
1	41,3	41,3
2	18,7	18,7
3	42,0	42,2
4	33,3	33,3
5	56,1	56,4
6	20,3	20,3
7	40,4	40,5
8	44,2	44,3
9	56,1	56,1
10	39,3	39,4
11	18,1	18,2
12	33,3	33,3
13	44,2	44,1
14	39,9	39,9
15	49,2	49,3
16	156,0	156,1
17	102,8	102,8
18	33,7	33,7
19	21,7	21,7
20	17,6	17,6

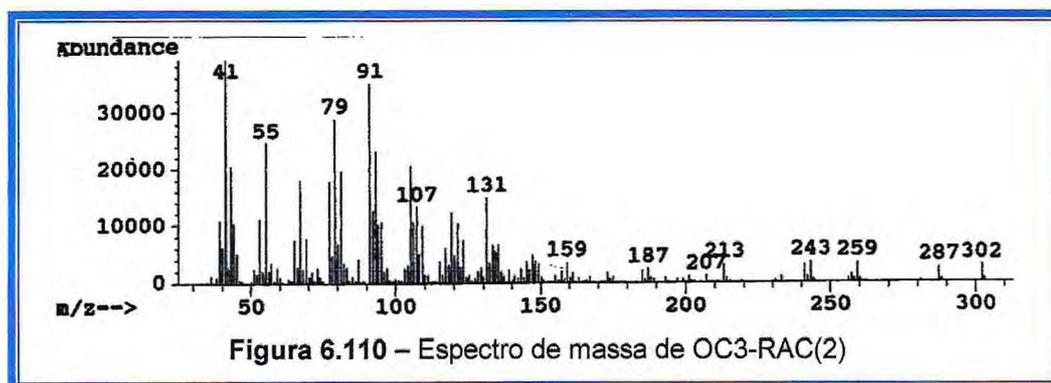
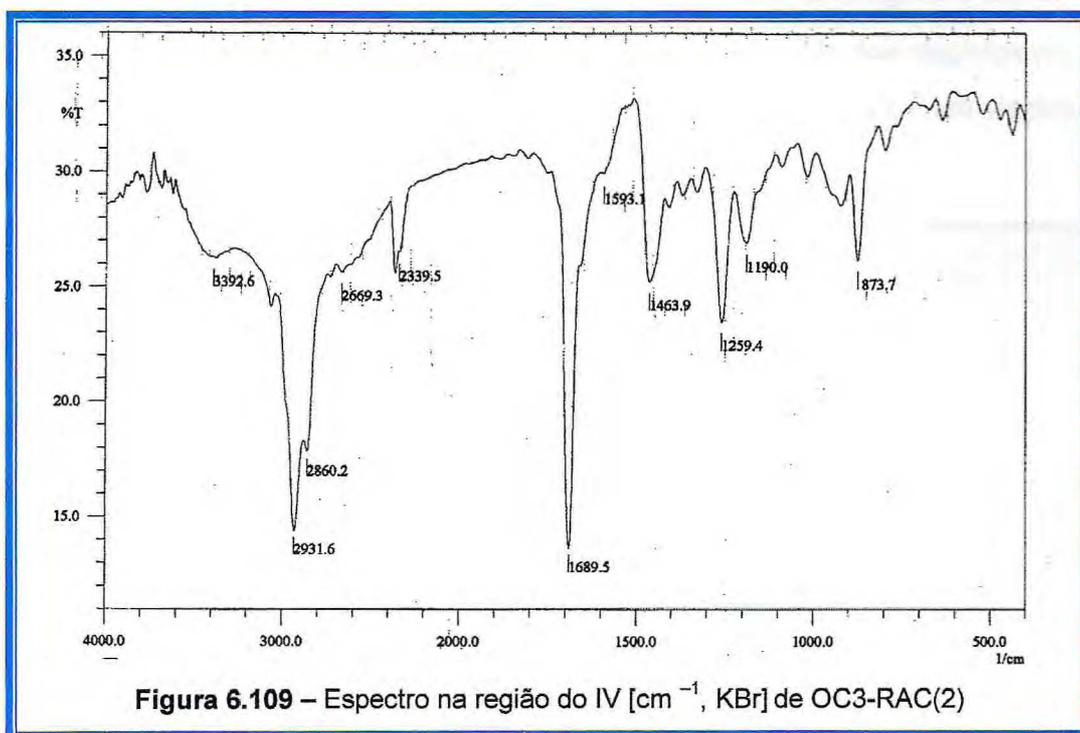


6.5.4.2. Determinação estrutural de OC3-RAC(2)

O fracionamento cromatográfico de OCA-3ResC(AC) em gel de sílica forneceu cristais incolores de p.f. 176,1-176,2°C, eluído com a mistura hexano: acetato de etila 95:5, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD (r.f. 0,21 em clorofórmio) e $[\alpha]_D^{25} = -81^\circ$, denominado OC3-RAC(2) (ver parte experimental, página 222).

O espectro na região do infravermelho (Figura 6.109), apresentou uma absorção larga entre 3.392 e 2.340 cm^{-1} e outra fina, mas intensa em 1.689 cm^{-1} , que foram relacionadas a estiramentos O-H e C=O, respectivamente, característicos de ácidos carboxílicos.

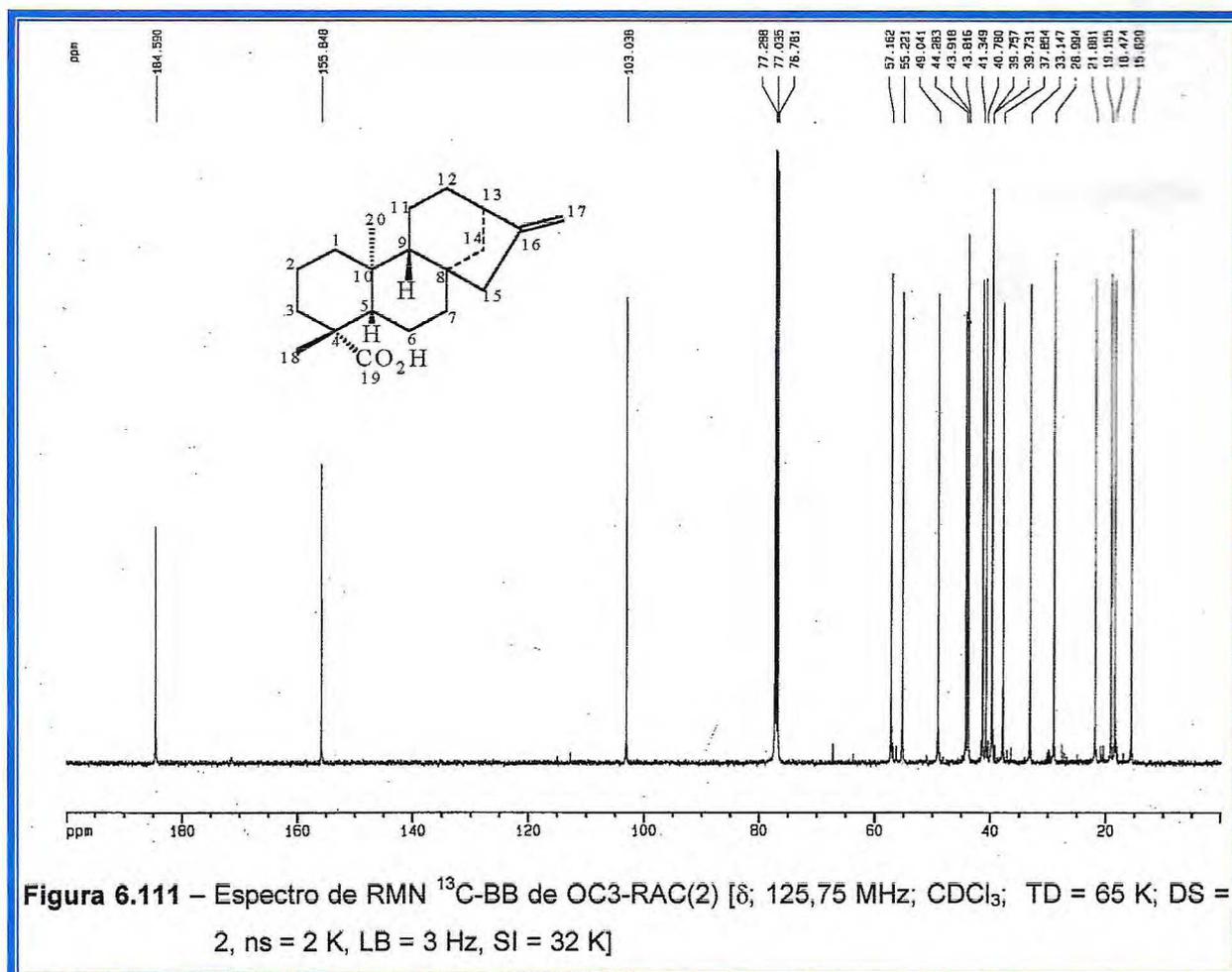
Análise do espectro de massa de OC3-RAC(2) (Figura 6.110) mostrou o pico do íon molecular com m/z 302 u.m.a., bem como os picos de m/z 41 (pico base), 55, 79, 91, 107 e 131 de maior intensidade.



O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 6.111) de OC3-RAC(2) apresentou 20 linhas espectrais que foram comparadas com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT (135) (Figura 6.112, página 159), possibilitando a identificação de cinco absorções relativas a carbonos não-hidrogenados; três de carbonos metínicos; dez de carbonos metilênicos e duas referentes a carbonos metílicos (Tabela 6.22, página 159).

A absorção em δ 184,6 no espectro de ^{13}C -BB foi relacionada a uma carbonila de ácido carboxílico, enquanto que os sinais em δ 155,8 e 103,0 foram relacionados a carbonos insaturados de ligação dupla exocíclica.

Análise do espectro de RMN ^1H (Figura 6.113, página 160) mostrou uma absorção em δ 11,98 característica de ácido carboxílico, bem como a presença de duas absorções simples e intensas em δ 1,23 (3H) e 0,96 (3H) indicativas de grupos metila ligados a carbonos não-hidrogenados. No mesmo espectro observou-se ainda dois singletos em δ 4,72 e 4,78, que foram relacionados a hidrogênios de ligação dupla exocíclica e um singlete largo em δ 2,62 (1H), característicos de diterpeno caurênico.



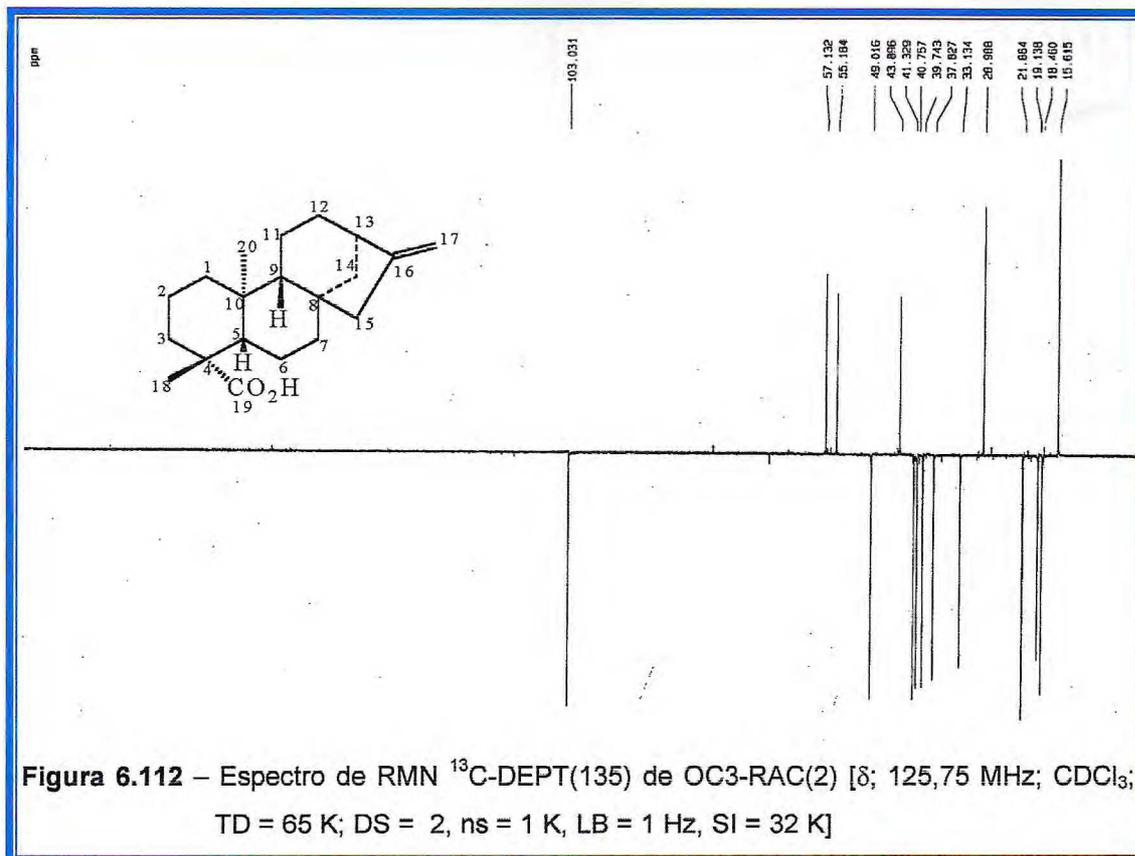
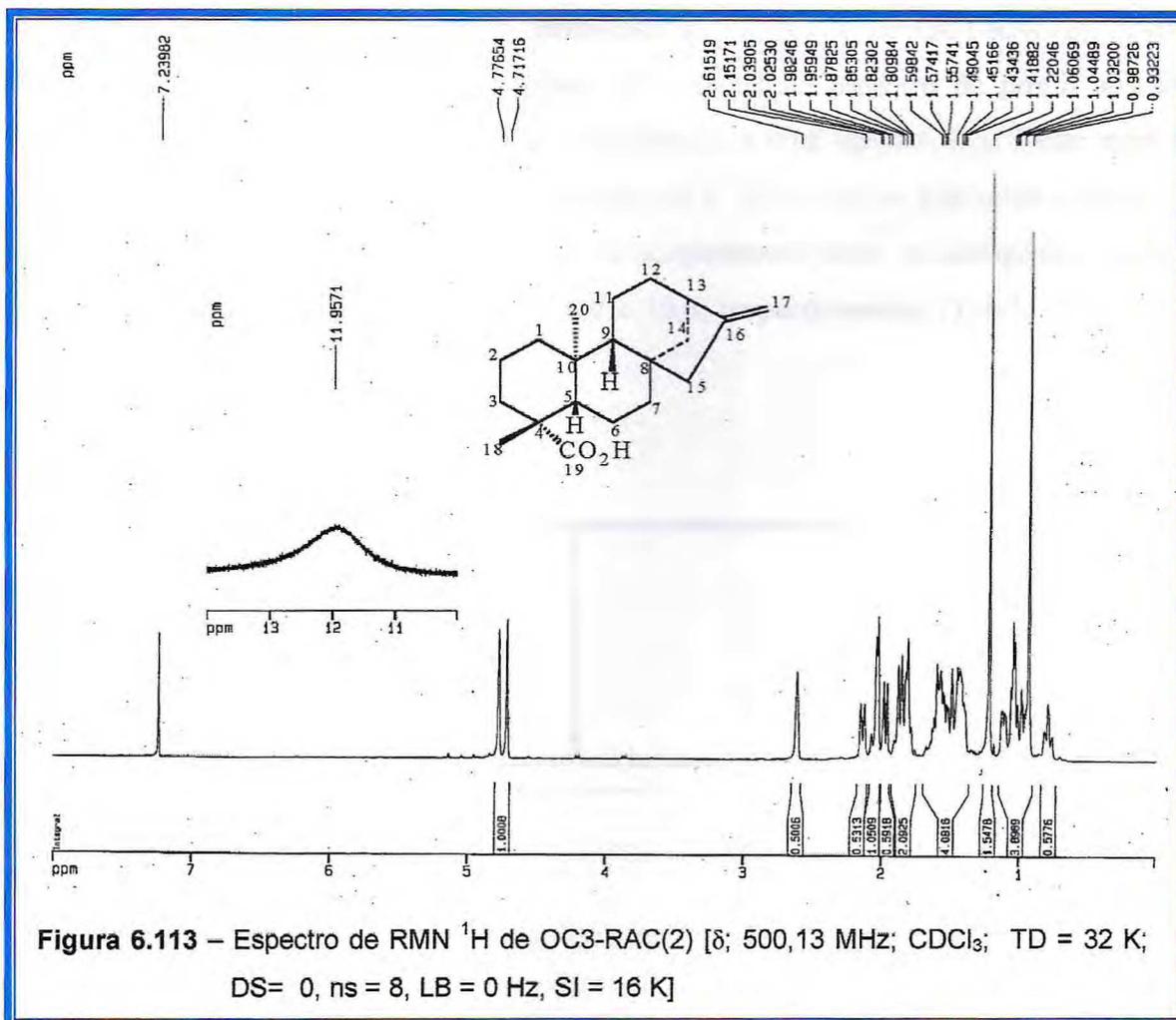


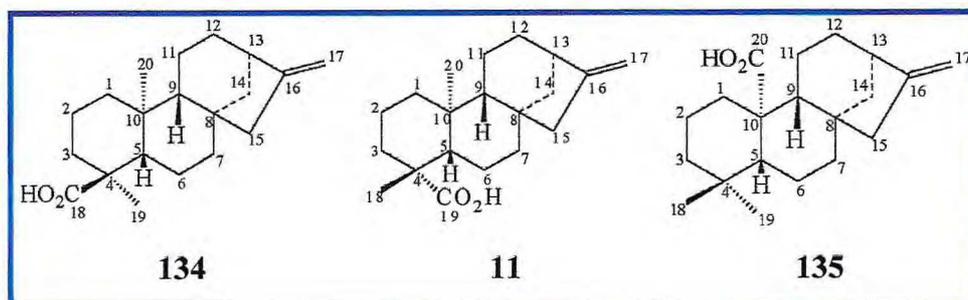
Tabela 6.22

Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OC3-RAC(2) com padrão de hidrogenação (RMN ^{13}C -BB e DEPT; δ ; CDCl_3 ; 125,75 MHz)

C	CH	CH_2	CH_3
184,6	57,2	103,0	29,0
155,8	55,2	49,0	15,6
44,3	43,9	41,3	-
43,8	-	40,8	-
39,7	-	39,7	-
-	-	37,8	-
-	-	33,1	-
-	-	21,9	-
-	-	19,1	-
-	-	18,5	-
C_5	C_3H_3	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}$	C_2H_6
TOTAL $\text{C}_{20}\text{H}_{30}$			



Com os dados obtidos, foi possível propor que a fórmula molecular de OC3-RAC(2) era $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$, apresentando 6 deficiências de hidrogênio, duas das quais foram relacionadas à carbonila e à ligação dupla exocíclica carbono-carbono. As outras deficiências foram relacionadas aos quatro anéis de um diterpeno tetracíclico, já que os espectros de ^1H e ^{13}C mostraram perfis característicos de esqueleto caurênico. Desta forma, foram propostas três posições prováveis para o grupo carboxila (11, 134 e 135), já que nos espectros analisados apareceram absorções indicativas de dois grupos metila.



Com o auxílio do espectro bidimensional HETCOR de OC3-RAC(2). (Figura 6.114), foi possível relacionar os hidrogênios observados no espectro de prótio aos seus respectivos átomos de carbono através de acoplamento a uma ligação $^1J_{C,H}$. Neste espectro observou-se o acoplamento do carbono metilênico em δ 103,0 com os hidrogênios em δ 4,72 e 4,78 da ligação dupla exocíclica, bem como os acoplamentos entre os hidrogênios metílicos em δ 1,23 e 0,96 com os carbonos em δ 29,0 e 15,6, respectivamente (Tabela 6.23, página 162).

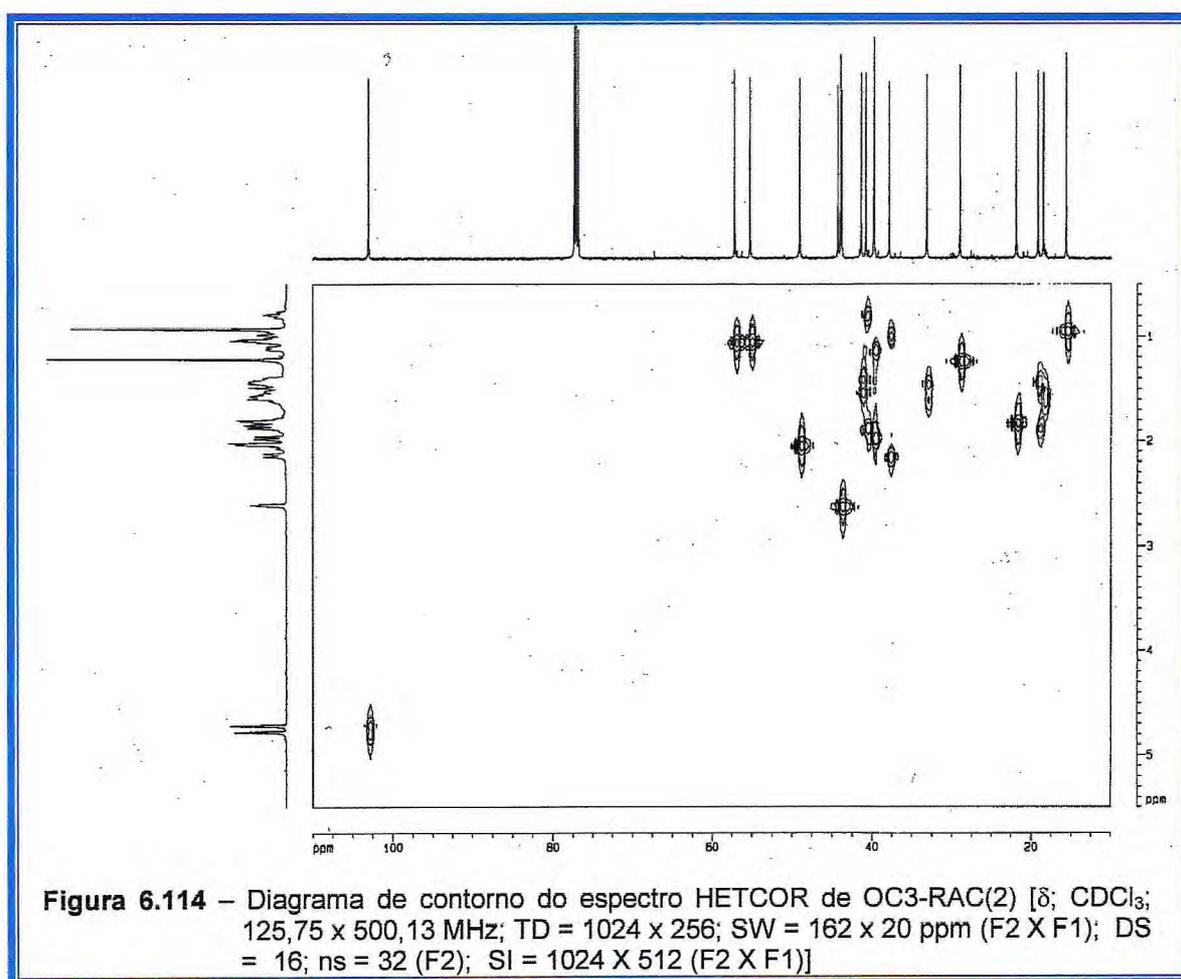


Tabela 6.23
Dados do espectro HETCOR de OC3-RAC(2)
[δ ; 500,13 x 125,75 MHz (F2 X F1), CDCl₃]

CH		CH ₂		CH ₃	
δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
57,2	1,06	103,0	4,72; 4,78	29,0	1, 23
55,2	1,05	49,0	2,04	15,6	0, 96
43,9	2,62	41,3	1,41; 1,54	-	-
-	-	40,8	0,81; 1,88	-	-
-	-	39,7	1,14; 1,98	-	-
-	-	37,8	1,00; 2,15	-	-
-	-	33,1	1,47; 1,62	-	-
-	-	21,9	1,84	-	-
-	-	19,1	1,42; 1,88	-	-
-	-	18,5	1,60	-	-

No espectro bidimensional COLOC (Figura 6.115 a, página 163), foi observado o acoplamento $^3J_{C,H}$ dos prótios de grupos metila que absorvem em δ 1,23 com o carbono carboxílico em δ 185,1 (acoplamento A, Figura 6.114) e com o carbono metínico em δ 57,2 (acoplamento B), mostrando que a carbonila encontra-se ligada ao carbono 4, sendo assim, teríamos um ácido C-18 ou C-19. No mesmo espectro, observou-se o acoplamento do prótio em δ 1,00 com o carbono em δ 57,2 (acoplamento C) e dos prótios metílicos em δ 1,23 com o carbono em δ 37,8 (acoplamento D), sendo possível propor que a absorção em δ 57,2 era referente ao carbono metínico C-5.

Comparação entre os dados de carbono-13 de OC3-RAC(2) e do caur-16-eno isolado de *C. langsdorffii* em estudo (ver determinação estrutural item 6.5.4.1., página 151), bem como dos ácidos caur-16-en-18-óico (**134**) e caur-16-en-19-óico (**11**) encontrados na literatura permitiu a elaboração da Tabela 6.24 (página 164). Nesta Tabela, observou-se que o carbono C-4 do ácido (**134**), encontra-se mais desprotegido do que no ácido (**11**) e os sinais das carboxilas destes ácidos são semelhantes: 185,0 e 185,1, respectivamente. Os deslocamentos químicos descritos para OC3-RAC(2) mostraram-se bastante semelhantes aos relacionados com o ácido (**11**) o que resultou na proposta de que OC3-RAC(2) trata-se do ác. caur-16-en-19-óico já descrito na literatura [Hutchison, Lewer e Macmillan, 1984].

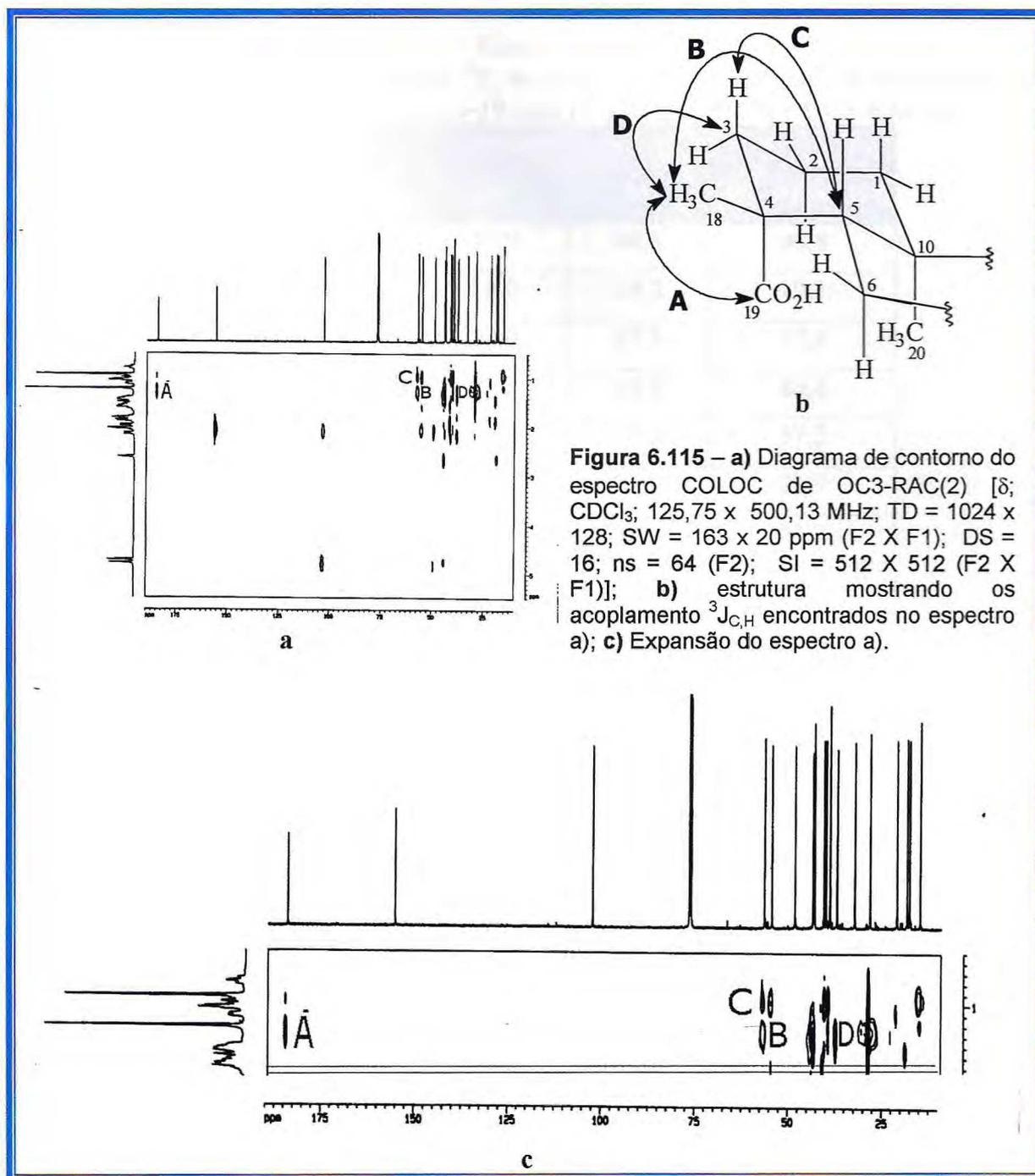
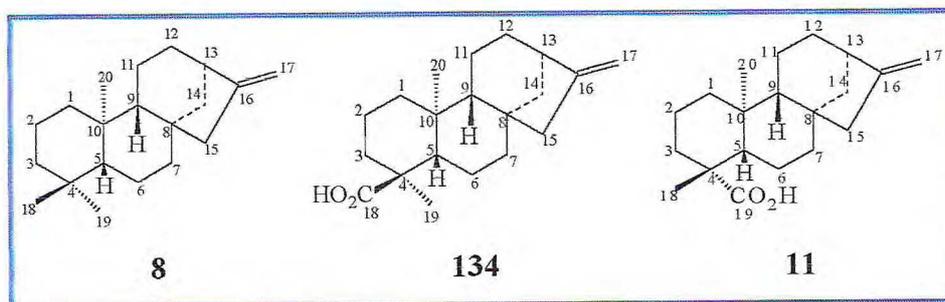


Tabela 6.24
 Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de caur-16-eno (8), ác. caur-16-en-18-óico (134)
 [Monte, 1988], ác. caur-16-en-19-óico (11) [Ohno, 1979] e OC3-RAC(2)

C	δC			
	8	134	11	OC3-RAC(2)
1	41,3	39,9	40,8	40,8
2	18,7	18,0	19,2	19,1
3	42,2	37,0	37,8	37,8
4	33,3	47,6	43,9	43,8
5	56,4	50,0	57,2	57,2
6	20,3	23,3	21,9	21,9
7	40,5	40,7	41,4	41,3
8	44,3	44,4	44,3	44,3
9	56,1	56,2	55,3	55,2
10	39,4	39,8	39,8	39,7
11	18,2	18,0	18,5	18,5
12	33,3	33,3	33,2	33,1
13	44,1	44,0	43,9	43,9
14	39,9	39,5	39,8	39,7
15	49,3	49,1	49,1	49,0
16	156,1	155,3	155,9	155,8
17	102,8	103,2	103,1	103,0
18	33,7	185,0	29,0	29,0
19	21,7	17,8	185,1	184,6
20	17,6	16,1	15,6	15,6



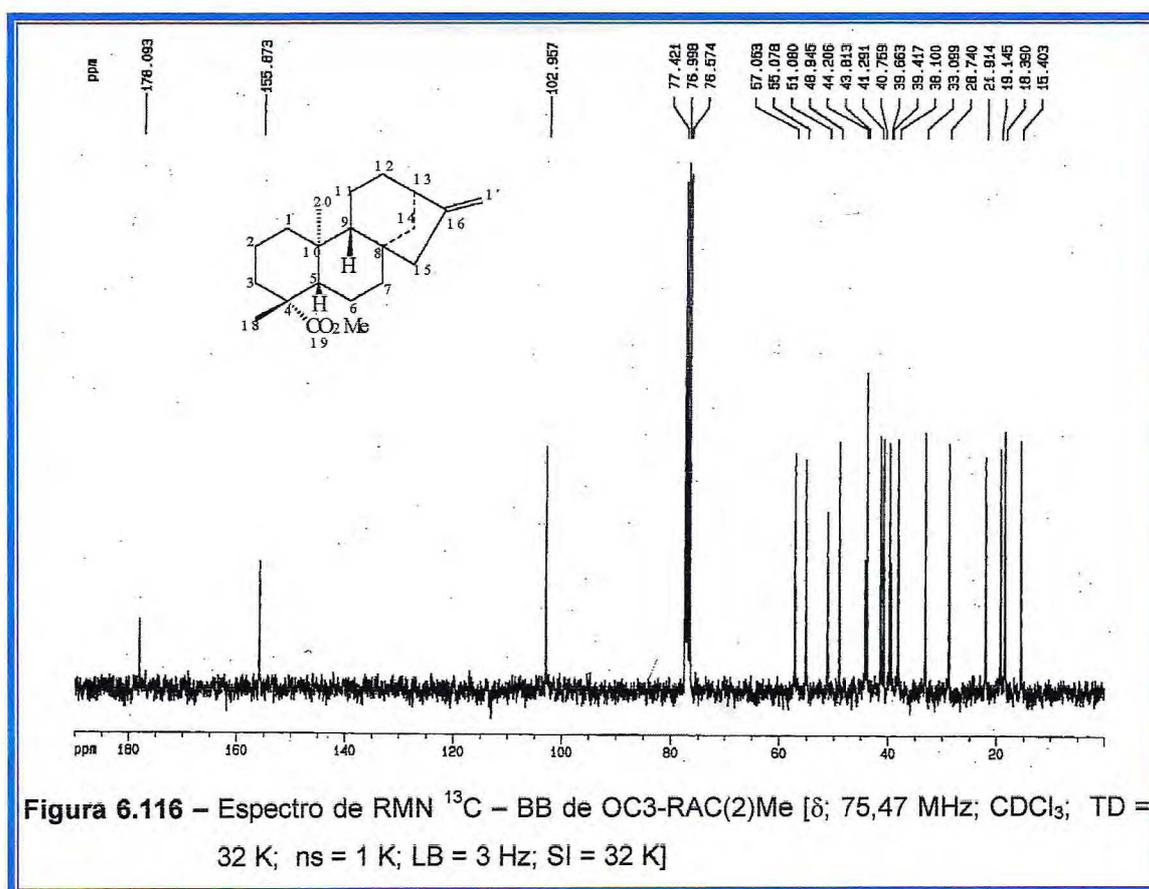
6.5.4.2.1. Confirmação da estrutura de OC3-RAC(2)

Metilação de OC3-RAC(2) com diazometano obtido *in situ* da hidrólise alcalina do diazald, forneceu um sólido incolor de p.f. 82,6-82,8°C, homogêneo em CCD e $[\alpha]_D^{25} = -94^\circ$ (CHCl_3), denominado OC3-RAC(2)Me (ver procedimento experimental, página 223).

O espectro de RMN ^{13}C -BB de OC3-RAC(2)Me (Figura 6.116) apresentou uma absorção a δ 51,0 referente ao grupo metoxila resultante da metilação. A absorção do carbono carbonílico em δ 184,6 para OC3-RAC(2) (Figura 6.111, página 158), apareceu em δ 178,1 para OC3-RAC(2)Me.

No espectro de RMN ^1H (Figura 6.117, página 166), verificou-se a ausência da absorção característica de ácido carboxílico em δ 11,98 presente no espectro de RMN ^1H de OC3-RAC(2) (Figura 6.113, página 160) e o aparecimento de uma absorção em δ 3,61 referente ao grupo metoxila do éster metílico obtido.

Comparação dos dados de ^{13}C de OC3-RAC(2)Me com os dados do ácido caur-16-en-19-óico (OC3-RAC(2)) e dados para o caur-16-enoato de metila (78) encontrados na literatura [Yamasaki *et al*, 1976], permitiu a proposição de que OC3-RAC(2)Me trata-se do éster metílico do ácido caurenóico denominado caur-16-enoato de metila (Tabela 6.25, página 167), confirmando a estrutura de OC3-RAC(2).



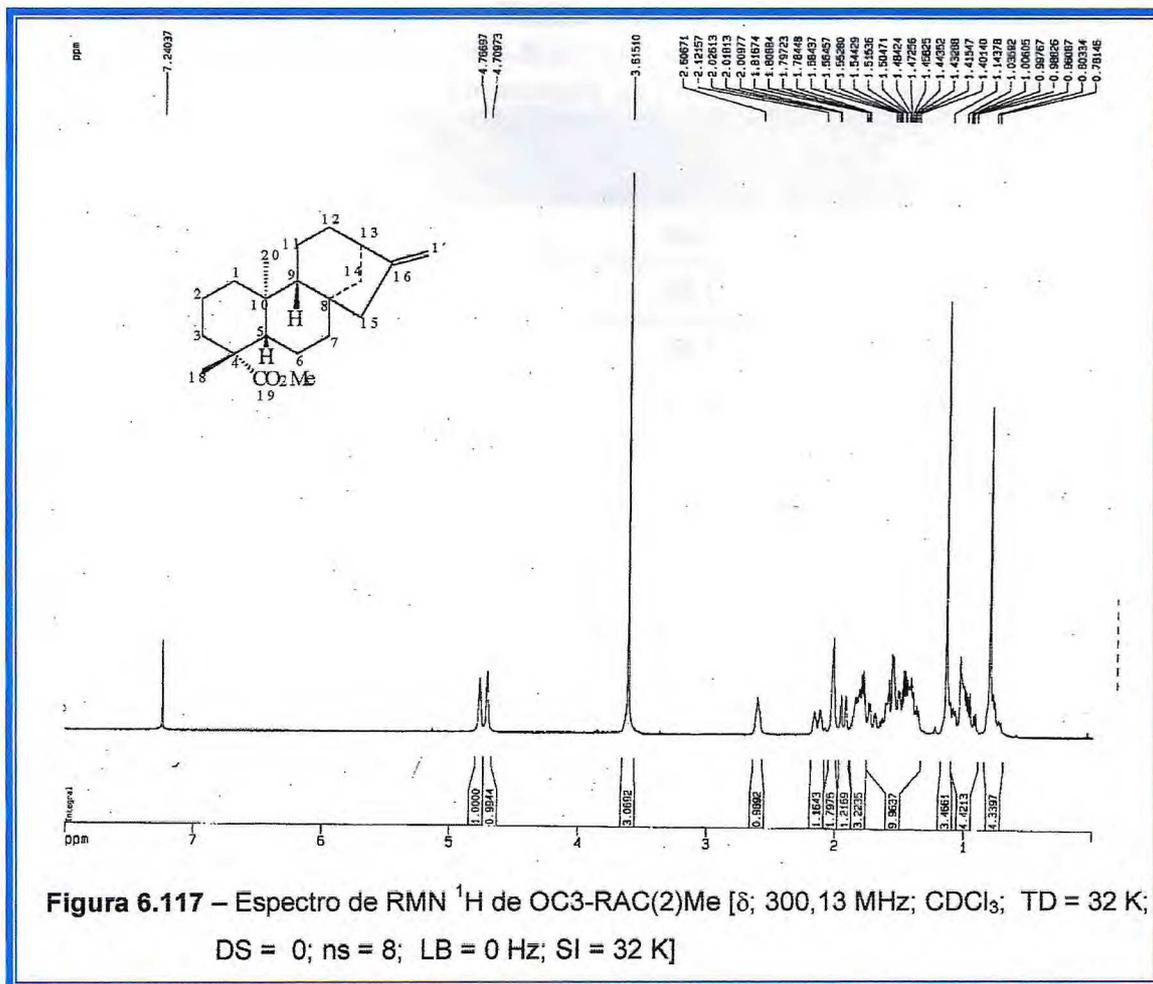
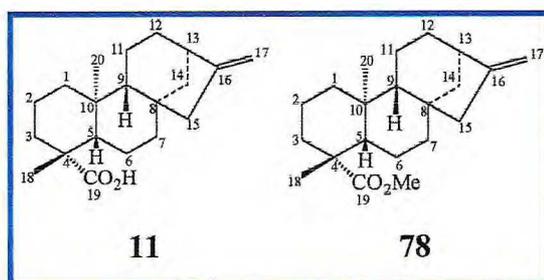


Figura 6.117 – Espectro de RMN ¹H de OC3-RAC(2)Me [δ; 300,13 MHz; CDCl₃; TD = 32 K; DS = 0; ns = 8; LB = 0 Hz; SI = 32 K]

Tabela 6.25

Comparação dos dados de ^{13}C do OC3-RAC(2), OC3-RAC(2)Me (δ ; CDCl_3 ; 75,47 MHz) e caurenoato de metila (78) encontrado na literatura [Yamasaki *et al.*, 1976].

C	δ_{C}		78
	OC3-RAC(2)	OC3-RAC(2)Me	
1	40,8	40,7	40,9
2	19,1	19,1	19,2
3	37,8	38,1	38,1
4	43,8	43,8	43,9
5	57,2	57,0	57,2
6	21,9	21,9	21,9
7	41,3	41,3	41,4
8	44,3	44,2	44,3
9	55,2	55,1	55,2
10	39,7	39,4	39,5
11	18,5	18,4	18,4
12	33,1	33,1	33,2
13	43,9	43,8	43,9
14	39,7	39,7	39,7
15	49,0	48,9	49,0
16	155,8	155,9	155,8
17	103,0	102,9	103,1
18	29,0	28,7	28,8
19	184,6	178,1	178,0
20	15,6	15,4	15,4
OMe	-	51,1	51,1



6.5.4.3. Determinação estrutural de OC4-RAC(2)

Tratamento cromatográfico de OCA-4ResC(AC)-H, forneceu 3,7 g de um sólido branco amorfo, p.f. 98,5-100 °C, solúvel em clorofórmio, rotação óptica $[\alpha]_D^{25} -46$ (CHCl₃, 0,065%), denominado OC4-RAC(2), cuja análise por CCD em gel de sílica, utilizando a mistura binária hexano:acetato de etila (90:10) como eluente e revelação com solução alcoólica de vanilina, apresentou r.f. 0,33 e um formato alongado indicativo de ácido carboxílico (ver procedimento experimental, página 224).

O espectro na região do IV (Figura 6.118) de OC4-RAC(2) mostrou uma banda larga de estiramento O-H entre 3.433 e 2.500 cm⁻¹ e um estiramento C=O em 1.693 cm⁻¹, característicos de ácido carboxílico confirmando a previsão anterior através da CCD.

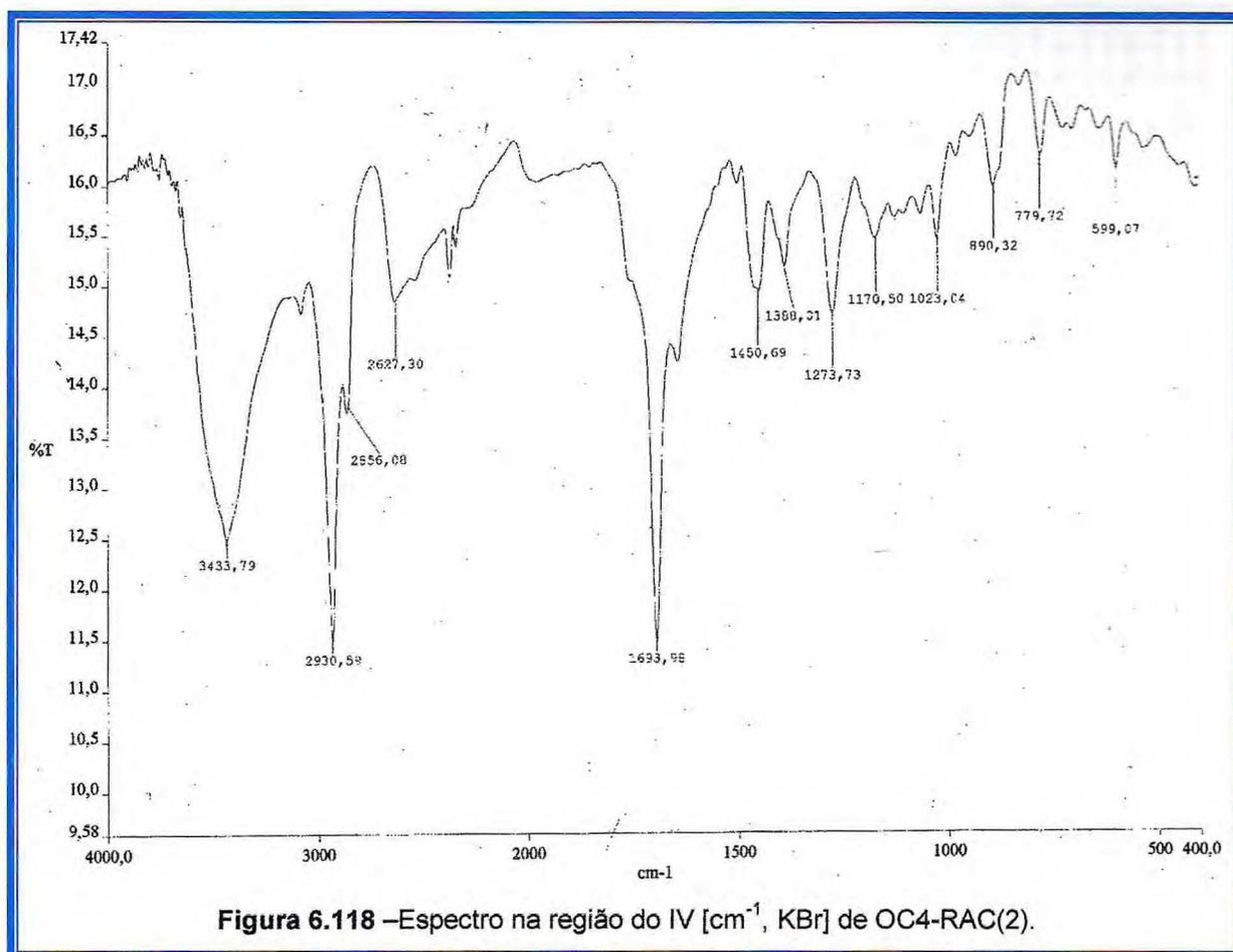
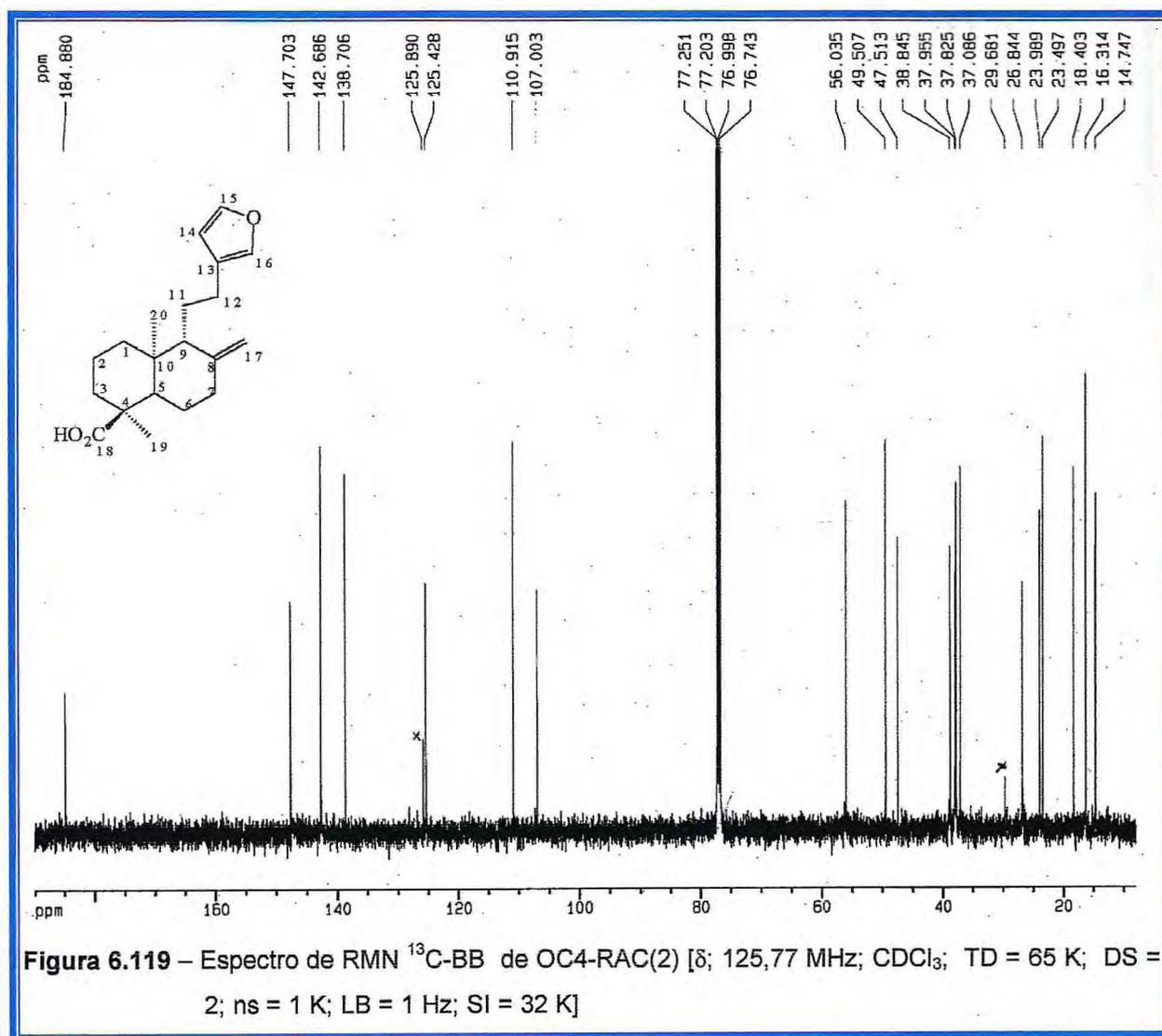


Figura 6.118 –Espectro na região do IV [cm⁻¹, KBr] de OC4-RAC(2).

Análise do espectro de RMN ^{13}C -BB de OC4-RAC(2) (Figura 6.119) possibilitou a visualização de 20 sinais, que foram comparados com os sinais observados no espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.120, página 170), possibilitando a identificação de cinco carbonos não-hidrogenados, cinco carbonos metínicos, oito carbonos metilênicos e dois carbonos metílicos, permitindo a confecção da Tabela 6.26, página 170. Esta Tabela mostra uma absorção em δ 184,9 que foi relacionada a uma carbonila de ácido carboxílico, enquanto que os sinais em δ 147,7 e 107,0 referentes a um carbono não-hidrogenado e um metileno de dupla exocíclica, respectivamente, indicaram a presença de uma ligação dupla exocíclica neste composto. A presença de três sinais de carbonos metínicos em δ 110,9; 142,7 e 138,7, permitiram propor que OC4-RAC(2) apresentava um anel furânico β -monossustituído.



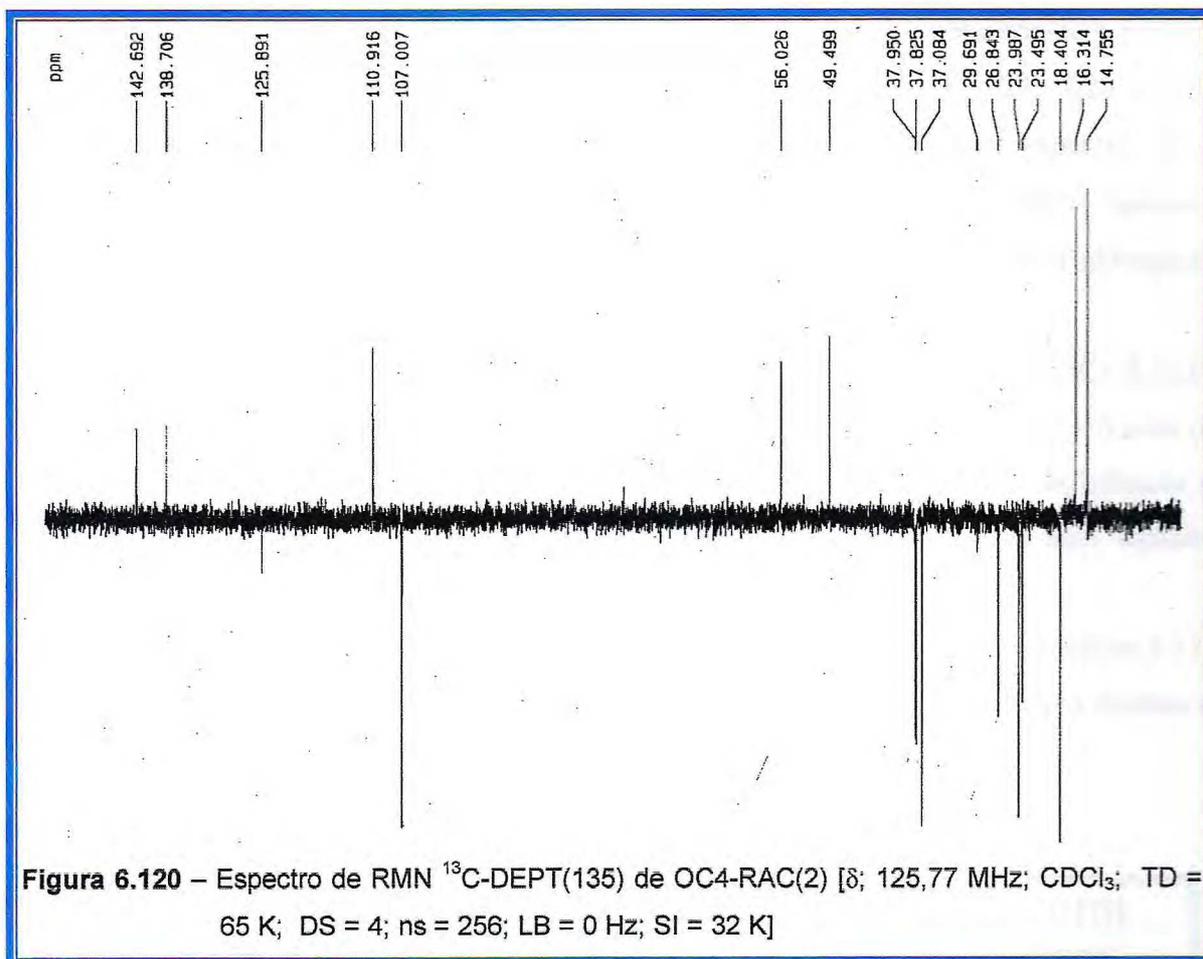


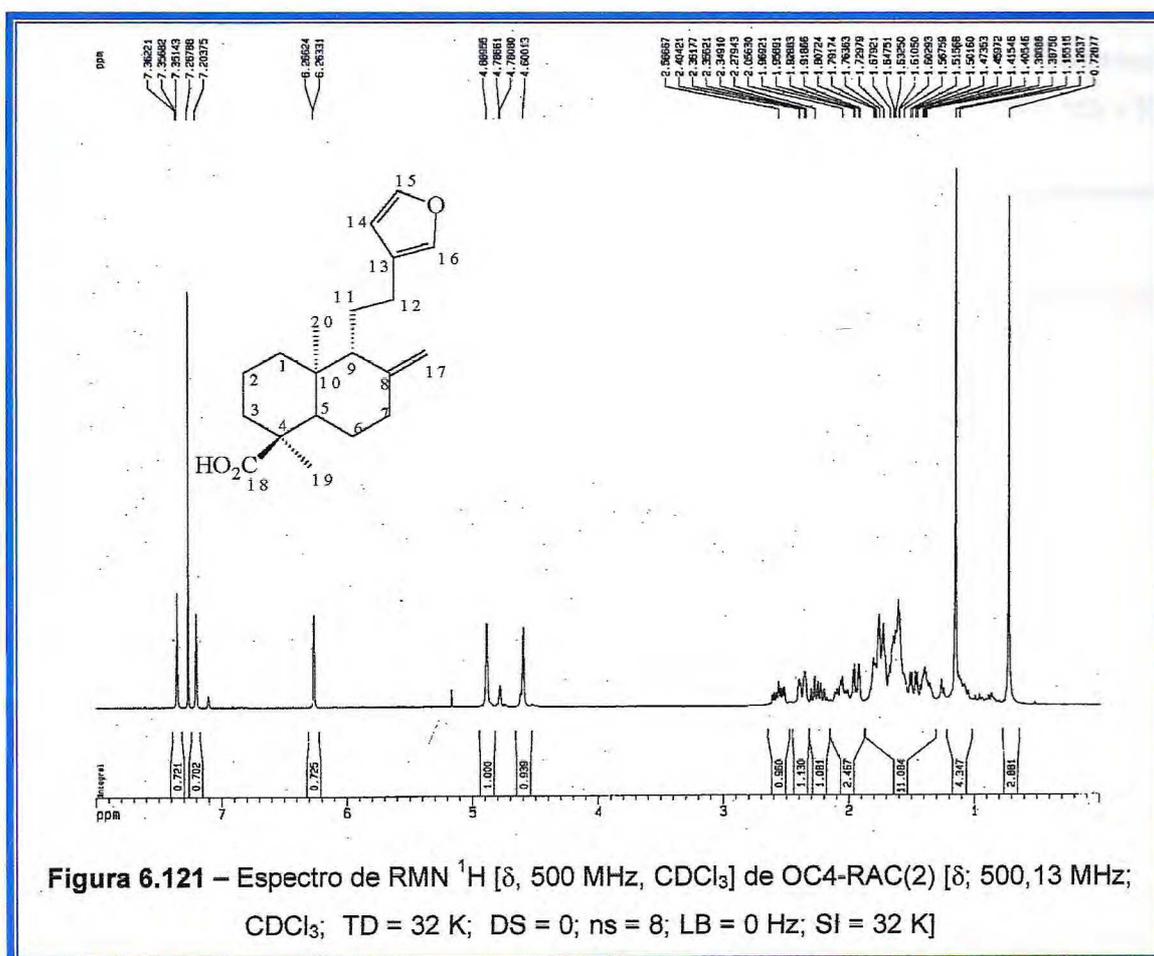
Tabela 6.26
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OC4-RAC(2)
com padrão de hidrogenação (δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz)

C	CH	CH_2	CH_3
184,9	142,7	107,0	16,3
147,7	138,7	37,9	14,7
125,4	110,9	37,8	-
47,5	56,0	37,1	-
38,8	49,5	26,8	-
-	-	24,0	-
-	-	23,5	-
-	-	18,4	-
C_5	C_5H_5	C_8H_{16}	C_2H_6
TOTAL $\text{C}_{20}\text{H}_{27}$			

No espectro de RMN ^1H de OC4-RAC(2) (Figura 6.121), observou-se a presença de três sinais na região de hidrogênios aromático, aparecendo em δ 6,27; 7,20 e 7,36, indicativos da presença de anel furânico neste composto. No mesmo espectro foram observados dois singletos em δ 0,72 e 1,15, relacionados a grupos metílicos ligados a carbonos quaternários, bem como dois singletos em δ 4,89 e 4,60, referentes a hidrogênios geminais de ligação dupla exocíclica.

A partir da análise dos espectros descritos, foi possível propor que OC4-RAC(2) apresentava a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ e que tratava-se de um ácido diterpênico com um anel furânico. Com estes dados, deduziu-se que este composto apresentava 7 deficiências de hidrogênio: uma da carboxila, uma da ligação dupla exocíclica e três do anel furânico, restando assim duas deficiências que foram relacionadas a dois anéis.

O espectro de correlação heteronuclear HETCOR de OC4-RAC(2) (Figura 6.122, página 172) possibilitou o correlacionamento dos hidrogênios aos seus respectivos átomos de carbono, resultando na correlação descrita na Tabela 6.27, página 173.



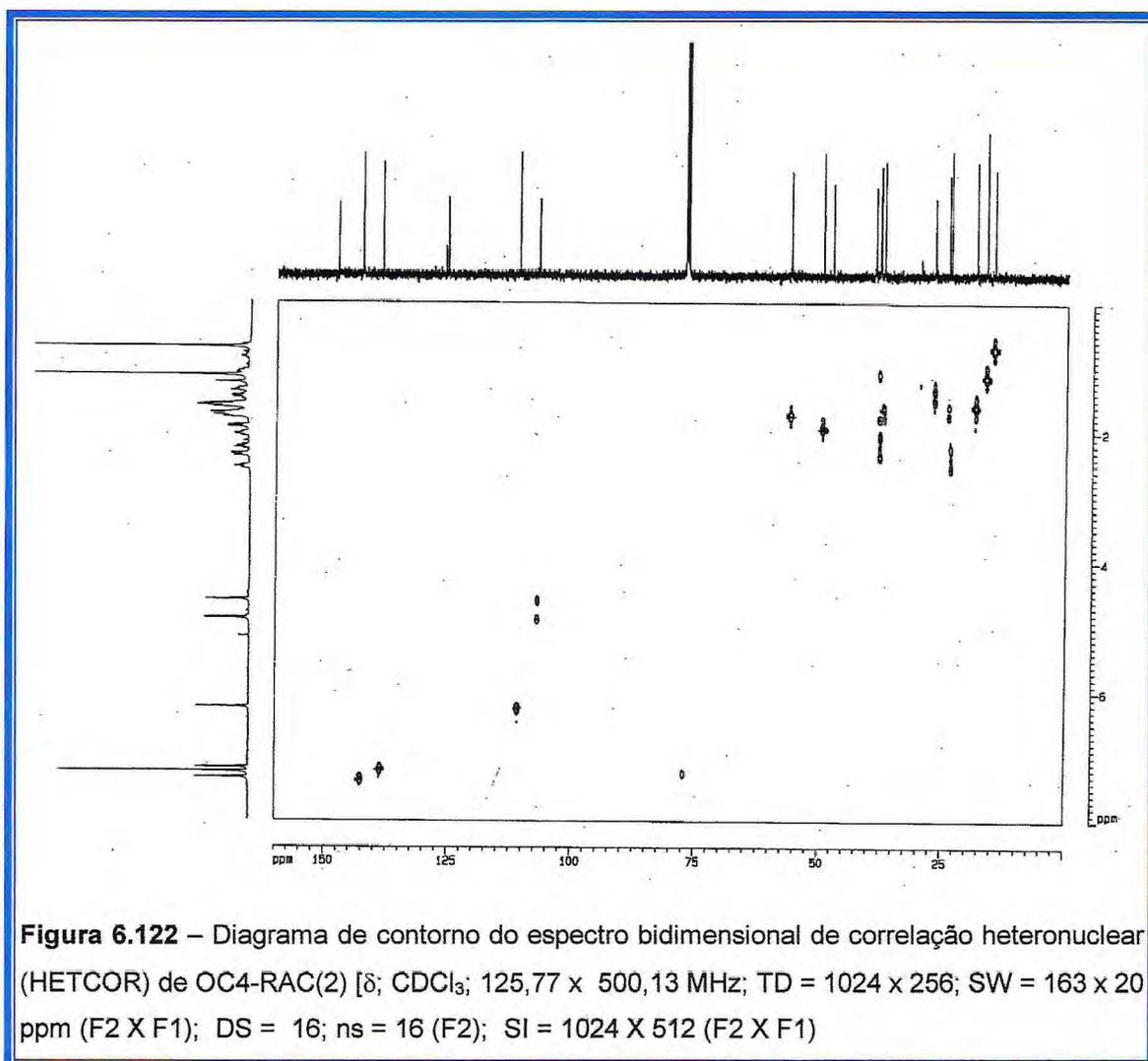


Figura 6.122 – Diagrama de contorno do espectro bidimensional de correlação heteronuclear (HETCOR) de OC4-RAC(2) [δ ; CDCl₃; 125,77 x 500,13 MHz; TD = 1024 x 256; SW = 163 x 20 ppm (F2 X F1); DS = 16; ns = 16 (F2); SI = 1024 X 512 (F2 X F1)]

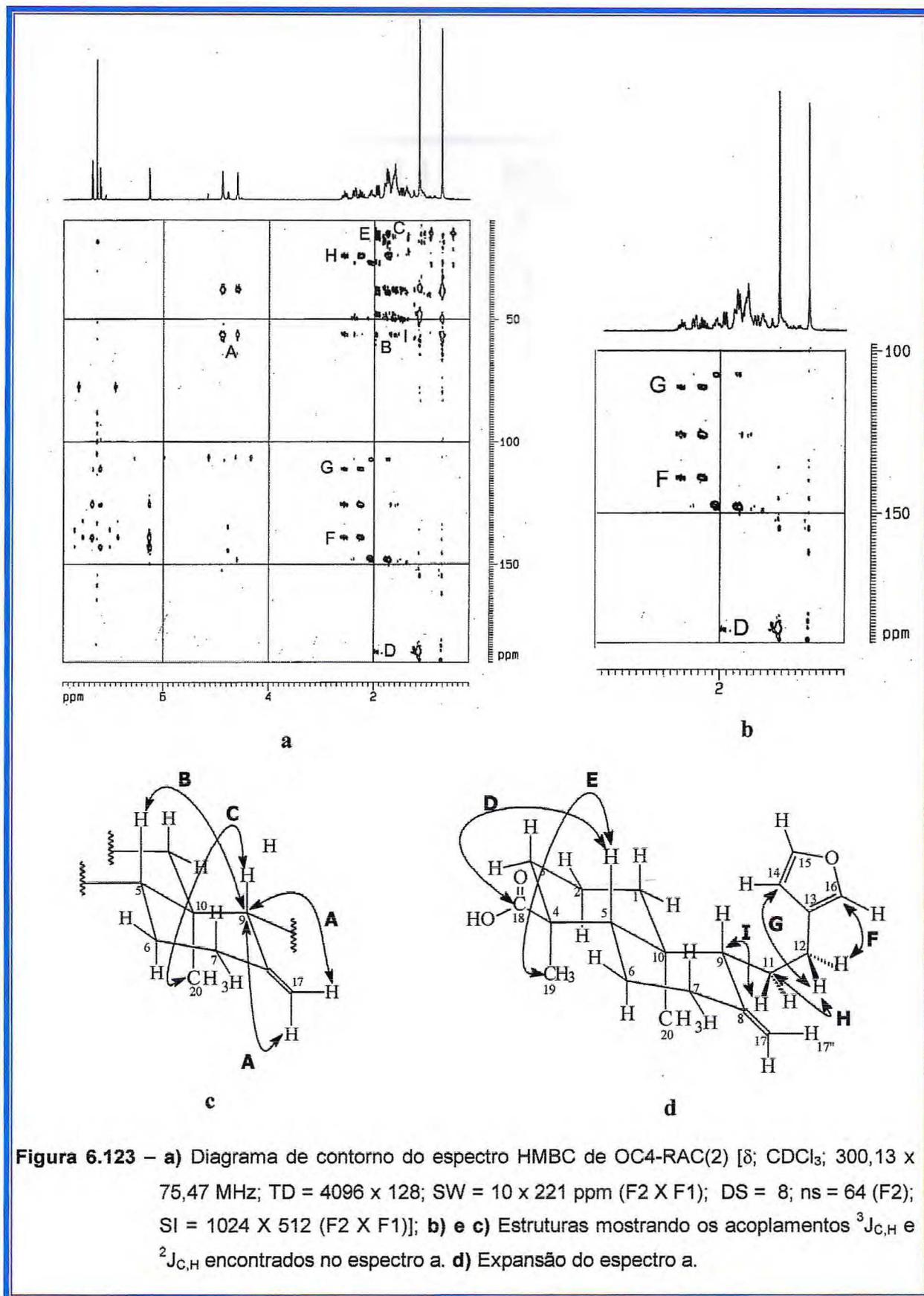
Tabela 6.27
Dados de RMN bidimensional de correlação heteronuclear C,H – HETCOR de OC4-RAC(2) [δ ; CDCl₃; 125,77 X 500,13 MHz(F2 X F1)]

δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
184,9	-	38,8	-
147,7	-	37,9	1,09;1,78
142,7	7,36	37,8	2,06; 2,36
138,7	7,20	37,1	1,62
125,4	-	26,8	1,36; 1,51
110,9	6,27	24,0	1,59; 1,75
107,0	4,60; 4,89	23,5	2,23; 2,57
56,0	1,73	18,4	1,60
49,5	1,94	16,3	1,15
47,5	-	14,9	0,72

Análise do espectro bidimensional HMBC de OC4-RAC(2) (Figura 6.123 a, página 174), mostrou que os prótios que absorvem em δ 4,89, 4,60 e 1,94 apresentavam correlações de acoplamento $^3J_{C,H}$ com o carbono metínico em δ 56,0 (Figura 6.123 c - acoplamentos A e B, página 174). No mesmo espectro, observou-se o acoplamento do prótio metínico em δ 1,73 com o carbono metílico em δ 14,9 (Figura 6.123 a, c, acoplamento C), bem como do prótio metínico em δ 1,94 com os carbonos em δ 184,9 e 16,3 (Figura 6.123 d, acoplamentos D e E). A posição do anel furânico foi encontrada a partir dos dados dos acoplamentos entre os prótios metilênicos em δ 2,23 e 2,57 com os carbonos em δ 138,7 e 110,9 ($^3J_{C,H}$) e com o carbono 24,0 ($^2J_{C,H}$) (Figura 6.123 b e d, acoplamento F, G e H) e o acoplamento $^2J_{C,H}$ do prótio metilênico em δ 1,59 com o carbono em δ 56,0 (Figura 6.123 d, acoplamento I). Desta forma foi possível propor que a carboxila encontra-se situada no carbono 4 e o anel furânico na cadeia lateral ligada ao carbono 9, permitindo a proposição da estrutura (73) para OC4-RAC(2).

Metilação de OC4-RAC(2) com diazometano forneceu um líquido viscoso incolor, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, $[\alpha]_D^{28} -32$, denominado OC4-RAC(2)Me (ver procedimento experimental, página 224), cujo espectro de RMN 1H (Figura 6.124, página 175) mostrou um sinal em δ 3,63 com integração relativa a 3 hidrogênios, relativo ao grupo metoxila como já era esperado. No espectro de RMN ^{13}C (Figura 6.125, página 176), observou-se um sinal característico de carbono oxigenado em δ 51,9 indicativo da presença de metoxila, sendo possível propor que OC4-RAC(2)Me tratava-se do polialtato de metila (84).

Comparação dos dados de RMN ^{13}C de OC4-RAC(2) e OC4-RAC(2)Me com os dados encontrados na literatura para o ácido poliáltico, mostrou que as absorções entre os três compostos eram bastante semelhantes, exceto nas correlações dos carbonos 11 e 12, (Tabela 6.28). Desta forma, foi possível propor a correlação inequívoca dos dados de carbono-13 para OC4-RAC(2) e OC4-RAC(2)Me a partir dos dados do ácido poliáltico.



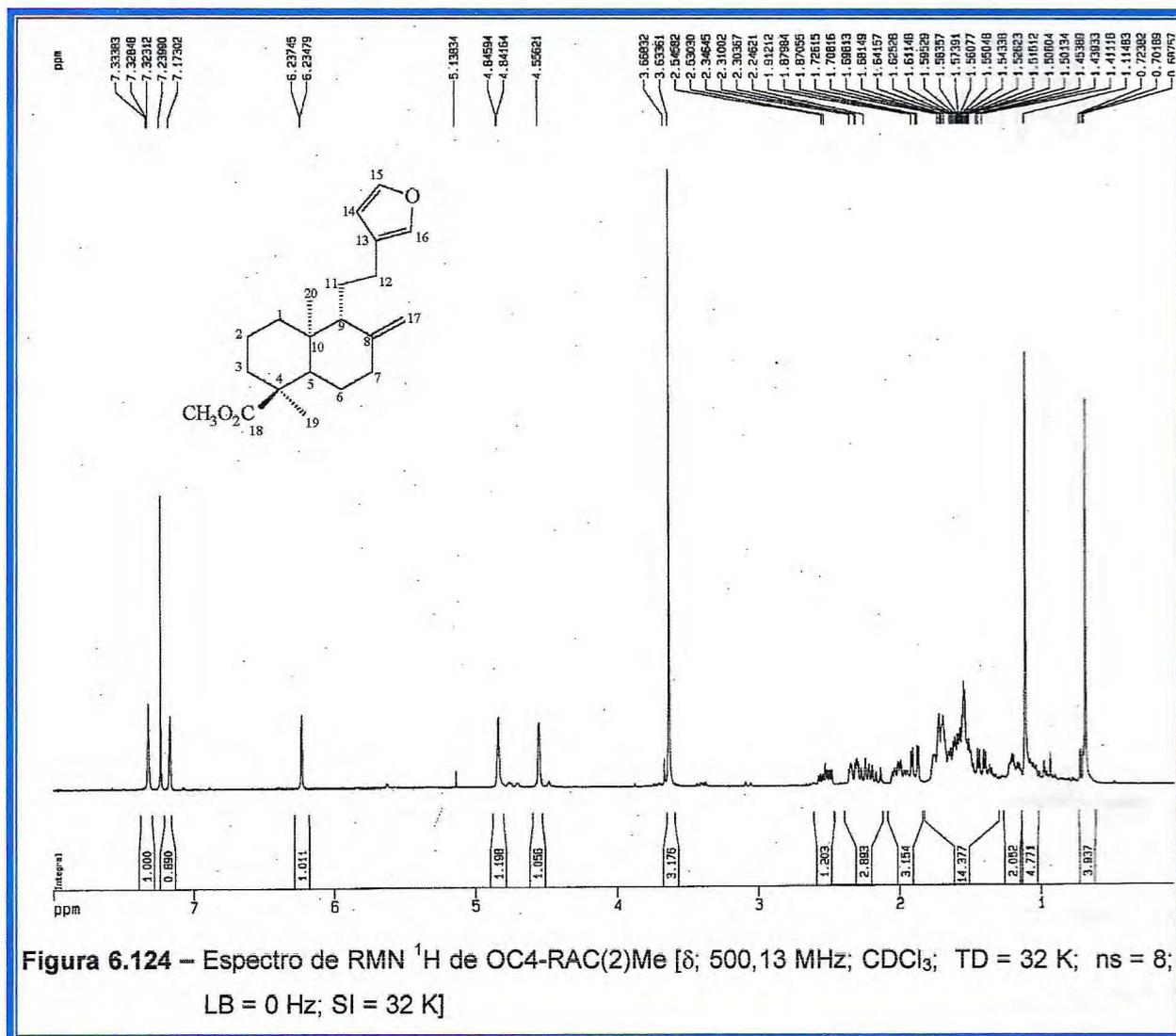


Figura 6.124 – Espectro de RMN ¹H de OC4-RAC(2)Me [δ; 500,13 MHz; CDCl₃; TD = 32 K; ns = 8; LB = 0 Hz; SI = 32 K]

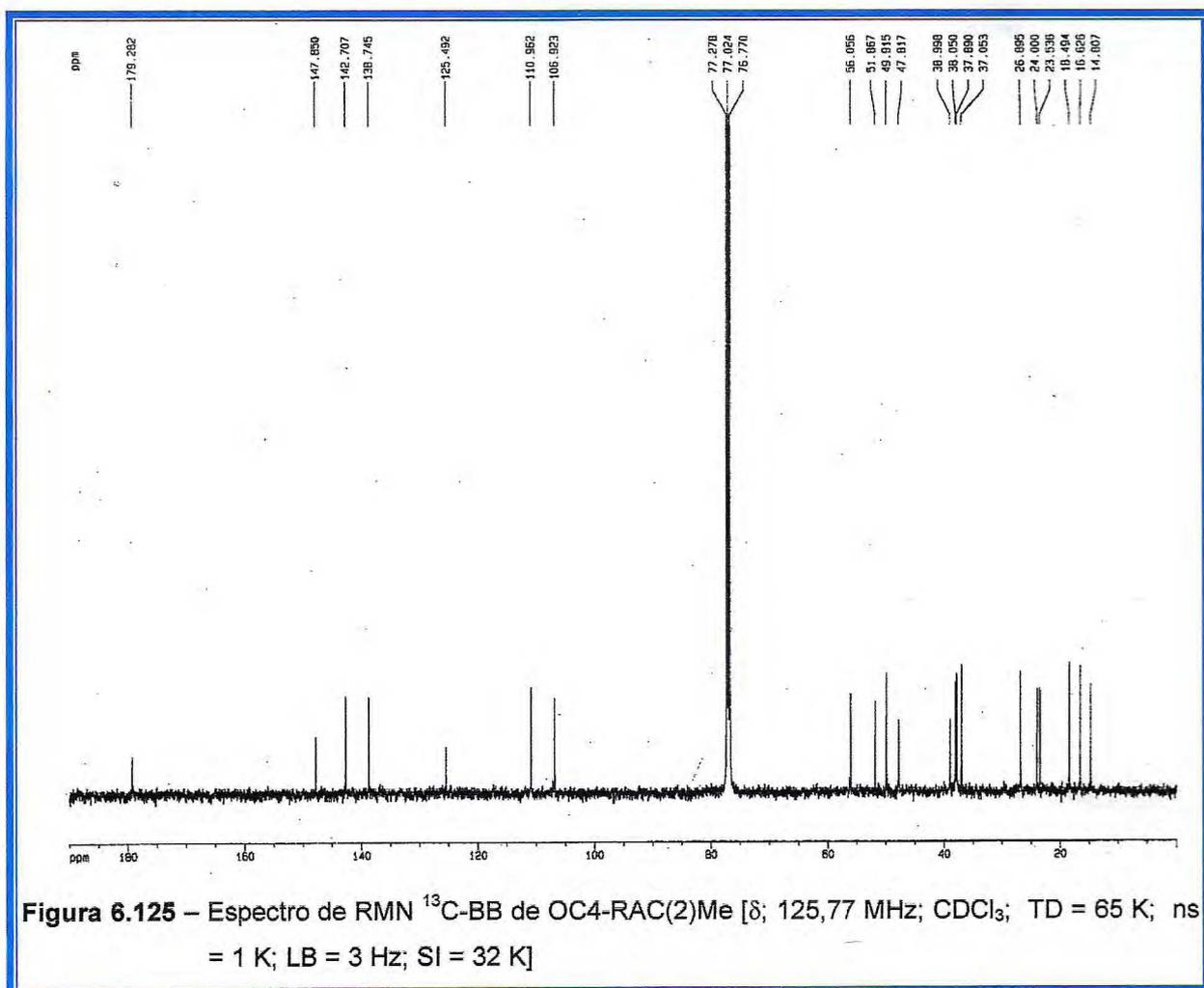
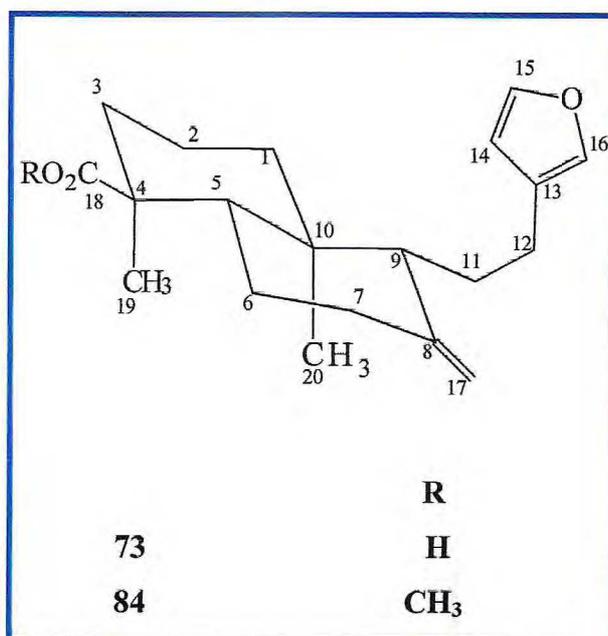


Tabela 6.28
Dados de RMN ^{13}C -BB de ac. poliáltico [Carreras, 1998],
OC4-RAC(2) (73) e OC4-RAC(2)Me (84) [δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz]

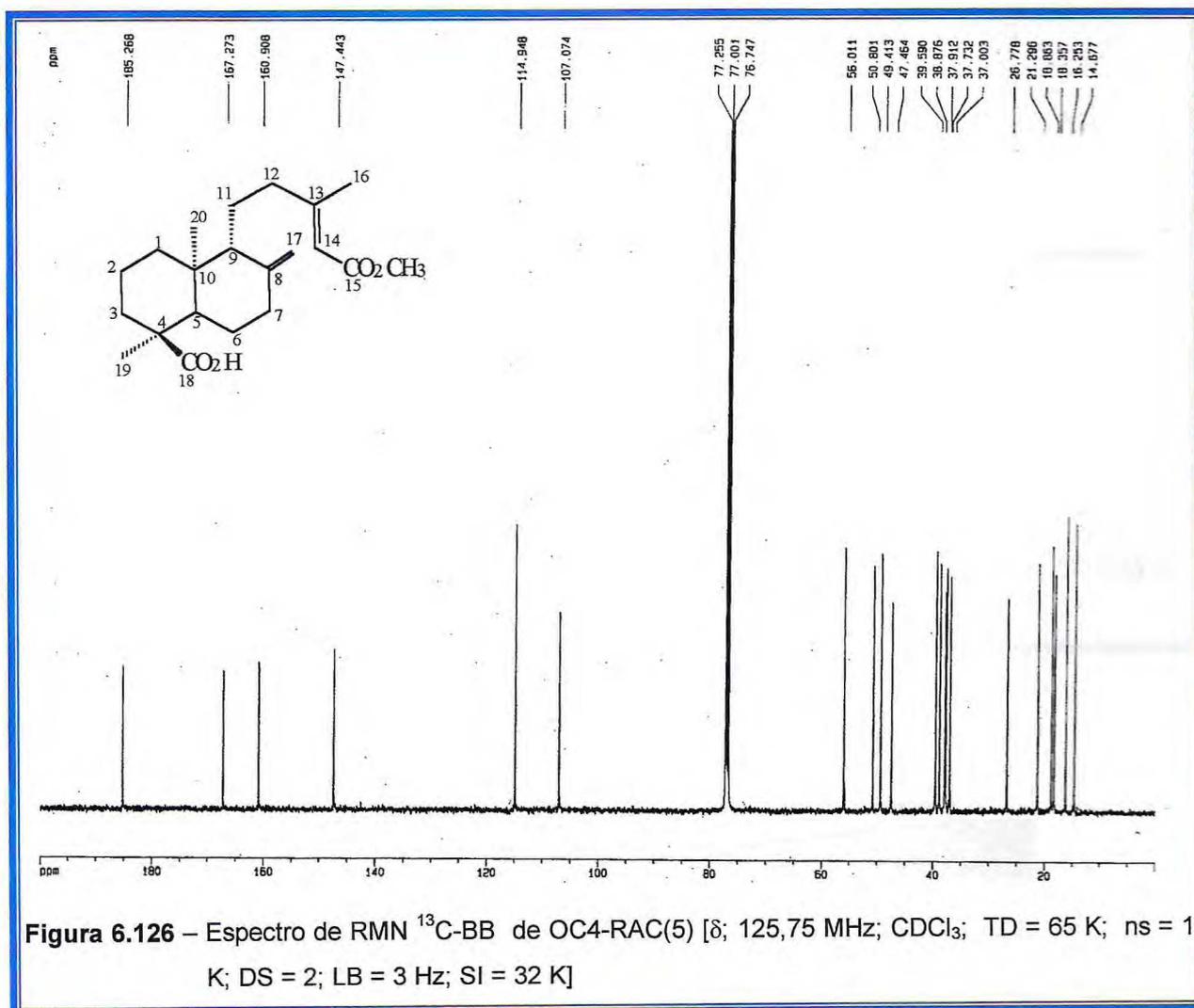
C	δC		
	ác. poliáltico	73	84
1	37,7	37,9	38,0
2	18,2	18,4	18,5
3	36,9	37,1	37,0
4	47,3	47,5	47,8
5	49,3	49,5	49,9
6	26,6	26,8	26,9
7	37,6	37,8	37,9
8	147,5	147,7	147,8
9	55,9	56,0	56,0
10	38,6	38,8	39,0
11	23,3	24,0	24,0
12	23,8	23,5	23,5
13	125,2	125,4	125,5
14	110,7	110,9	110,9
15	142,4	142,7	142,7
16	138,4	138,7	138,7
17	106,8	107,0	106,9
18	185,5	184,9	179,3
19	16,1	16,3	16,6
20	14,5	14,9	14,8
OCH_3			51,9



6.5.4.4. Determinação estrutural de OC4-RAC(5)

A análise cromatográfica da fração ácida do OCCRATO-4 - OCA-4ResC(AC) forneceu 47,7 mg de um líquido incolor, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, r.f. 0,1 em clorofórmio:acetato de etila 20% denominada OC4-RAC(5) (ver procedimento experimental, página 228).

O espectro de RMN ¹³C-BB (Figura 6.126, página 179) apresentou 21 linhas espectrais que ao serem comparadas com os sinais obtidos do espectro de RMN ¹³C-DEPT (135) (Figura 6.127, página 180), mostraram a presença de seis absorções relativas a carbonos não-hidrogenados, três a carbonos metínicos, oito a carbonos metilênicos e quatro referentes a carbonos metílicos (Tabela 6.29, página 180).



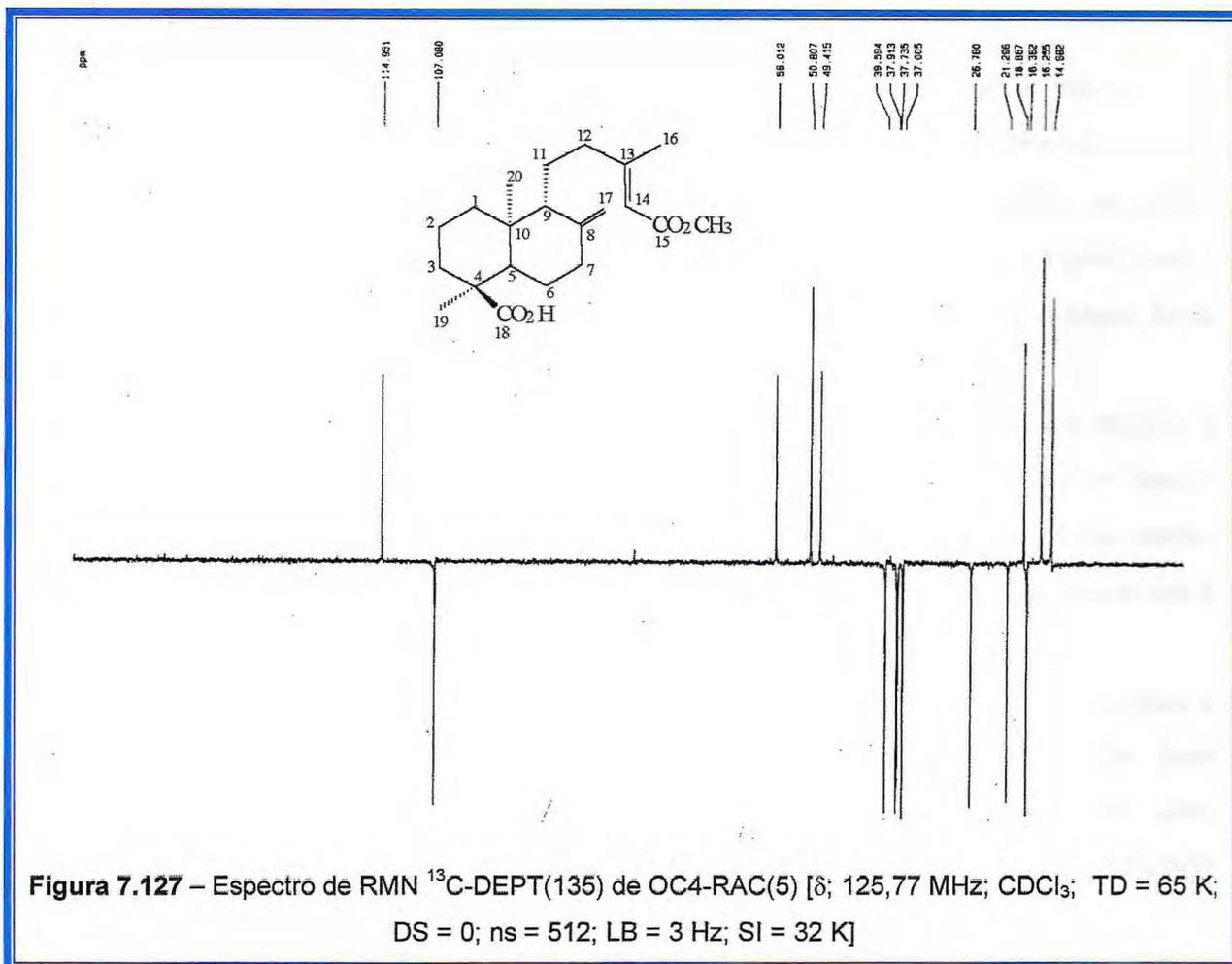


Tabela 6.29
 Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OC4-RAC(5)
 com padrão de hidrogenação (δ ; CDCl_3 ; 125,77 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
185,3	114,9	107,1	50,8
167,3	56,0	39,6	18,9
160,9	49,4	37,9	16,2
147,4	-	37,7	14,7
47,5	-	37,0	-
38,9	-	26,8	-
-	-	21,3	-
-	-	18,4	-
C ₆	C ₃ H ₃	C ₈ H ₁₆	C ₄ H ₁₂
TOTAL C ₂₁ H ₃₁			

O carbono em δ 185,3 no espectro de RMN ^{13}C -BB mostrou-se indicativo de carbonila de ácido carboxílico. O sinal em δ 167,3 foi relacionado a uma carbonila de éster metílico, já que foi observado no mesmo espectro um sinal em δ 50,8 referente a um grupo metoxila. O sinal em δ 160,9 indicou a presença de um carbono olefínico conjugado com a carbonila, e as absorções em δ 147,4 e 107,1 foram relacionadas a carbonos de ligação dupla terminal.

O espectro de RMN ^1H (Figura 6.128), apresentou sete singletos: um relativo a prótios metoxílicos em δ 3,71; um relativo a prótios de metila ligada a carbono de ligação dupla C=C ou à carbonila em δ 2,18; dois em δ 1,17 e 0,73 relativos a prótios de metilas ligadas a carbonos quaternários e três singletos relacionados a hidrogênios olefínicos em δ 5,67 ; 4,88 e 4,54.

A partir dos dados obtidos foi possível propor que OC4-RAC(5) apresentava a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_4$, e assim, 6 deficiências de hidrogênio. Destas deficiências, duas foram associadas a duas carbonilas e outras duas às ligações duplas, restando duas deficiências que foram relacionadas a dois anéis, possibilitando afirmar que este composto tratava-se de um diterpeno bicíclico apresentando uma carboxila e uma carbometoxila.

Análise do espectro GS-HMQC de OC4-RAC(5) (Figura 6.129), possibilitou relacionar os carbonos hidrogenados observados no espectro de RMN ^{13}C com seus respectivos hidrogênios, permitindo a elaboração da Tabela 6.30, página 184.

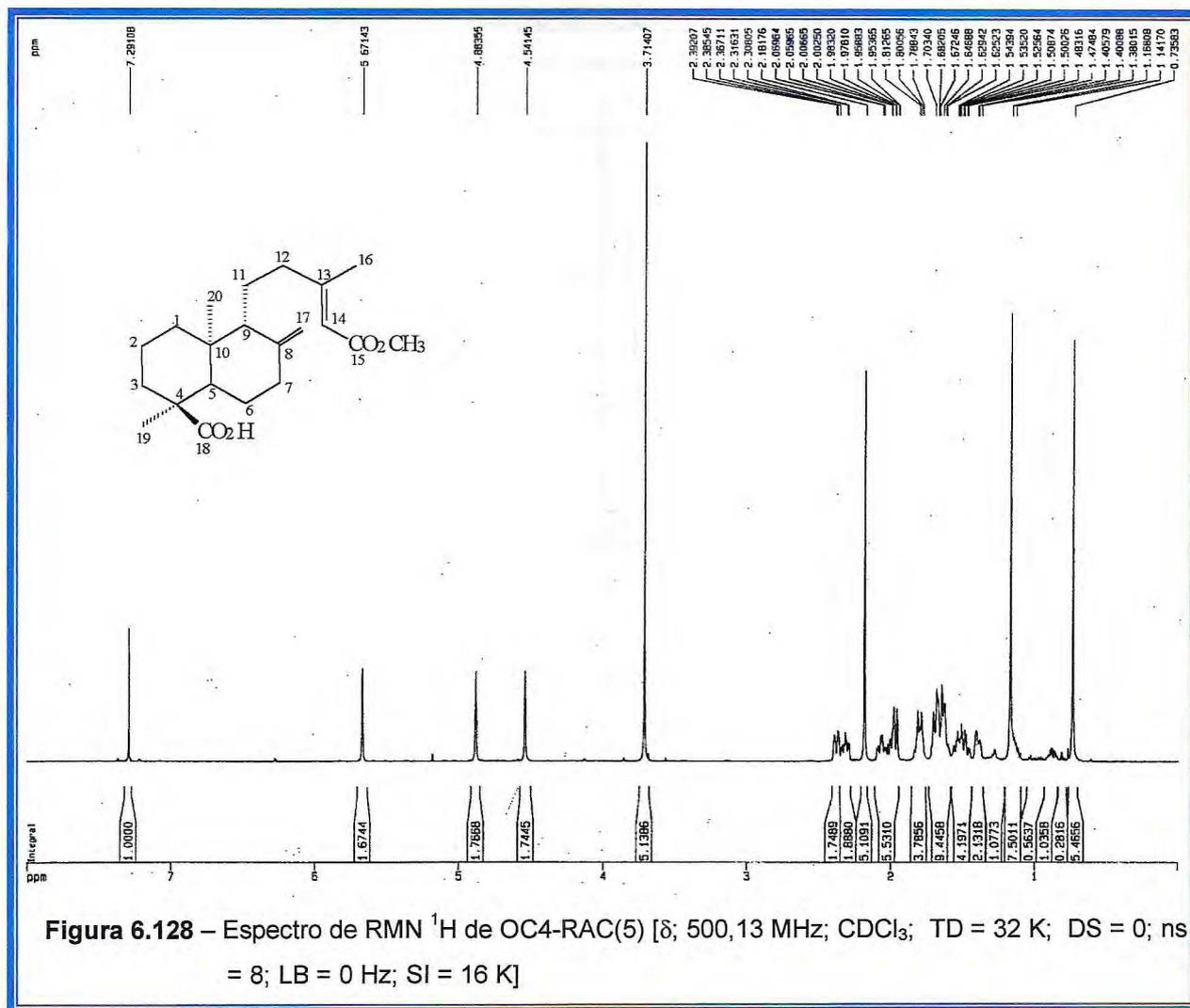


Figura 6.128 – Espectro de RMN ¹H de OC4-RAC(5) [δ; 500,13 MHz; CDCl₃; TD = 32 K; DS = 0; ns = 8; LB = 0 Hz; SI = 16 K]

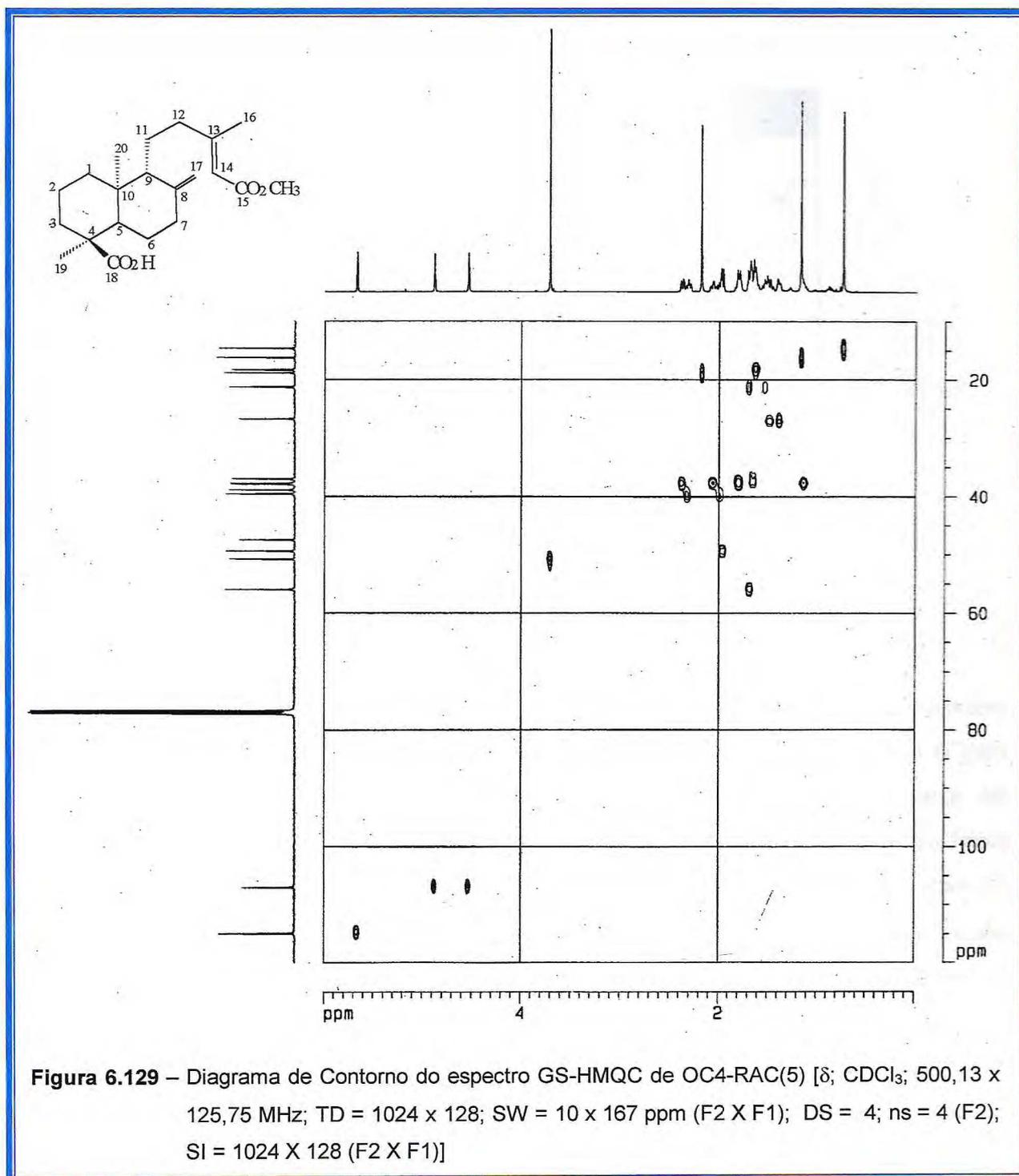


Tabela 6.30
Dados do espectro GS-HMQC de OC4-RAC(5)
[δ ; 500,13 X 125,77 MHz (F2 X F1); CDCl₃]

δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
185,3	-	38,9	-
167,3	-	37,9	2,39; 2,06
160,9	-	37,7	1,80; 1,15
147,4	-	37,0	1,65
114,9	5,67	26,8	1,49; 1,40
107,1	4,88; 4,54	21,3	1,70; 1,52
56,0	1,70	18,9	2,18
50,8	3,71	18,4	1,63
49,4	1,95	16,2	1,17
47,5	-	14,7	0,73
39,6	2,30; 1,98		

O diagrama de contorno do espectro bidimensional de correlação heteronuclear C,H à longa distância com detecção inversa via seleção de gradiente (GS-HMBC) (Figura 6.130, página 185), foi utilizado na proposição da estrutura de OC4-RAC(5) a partir das correlações referentes aos acoplamentos à longa distância $^2J_{C,H}$ e $^3J_{C,H}$. Neste espectro foram observados os acoplamentos $^3J_{C,H}$ do prótio metínico em δ 1,95 com o carbono carboxílico em δ 185,3 (Figura 6.130, acoplamento A) e dos prótios metílicos em δ 1,17 com este mesmo carbono (Acoplamento B), permitindo inferir que a carboxila encontra-se localizada no carbono 4. O acoplamento $^3J_{C,H}$ dos prótios metílicos em δ 0,73 com o carbono metínico em δ 49,5 (Acoplamento C), bem como do prótio metínico em δ 1,70 com o carbono metílico em δ 14,7 (Acoplamento D), confirmaram que os carbonos em δ 49,4 e 56,0 referiam-se aos carbonos 5 e 9, respectivamente. No mesmo espectro, também foi observado o acoplamento $^3J_{C,H}$ dos prótios metilênicos de ligação dupla exocíclica em δ 4,88 e 4,54 com o carbono em δ 56,0 (acoplamento E) permitindo a proposição de que a ligação dupla exocíclica encontrava-se localizada no carbono 8. A cadeia lateral do diterpeno foi correlacionada a partir dos sinais de acoplamento dos prótios metilênicos em δ 2,30 e 1,98 com o carbono em δ 56,0 referente ao carbono 9 (acoplamento F), bem como dos acoplamentos dos prótios metílicos em δ 2,18 com o carbono em δ 39,6 (acoplamento G) e dos prótios metilênicos em δ 2,30 e 1,98 com o

carbono metínico em δ 114,9 (acoplamento H). A posição da carbometoxila foi proposta a partir do acoplamento do prótio metínico em 5,67 com o carbono carbonílico em δ 167,3 (acoplamento I).

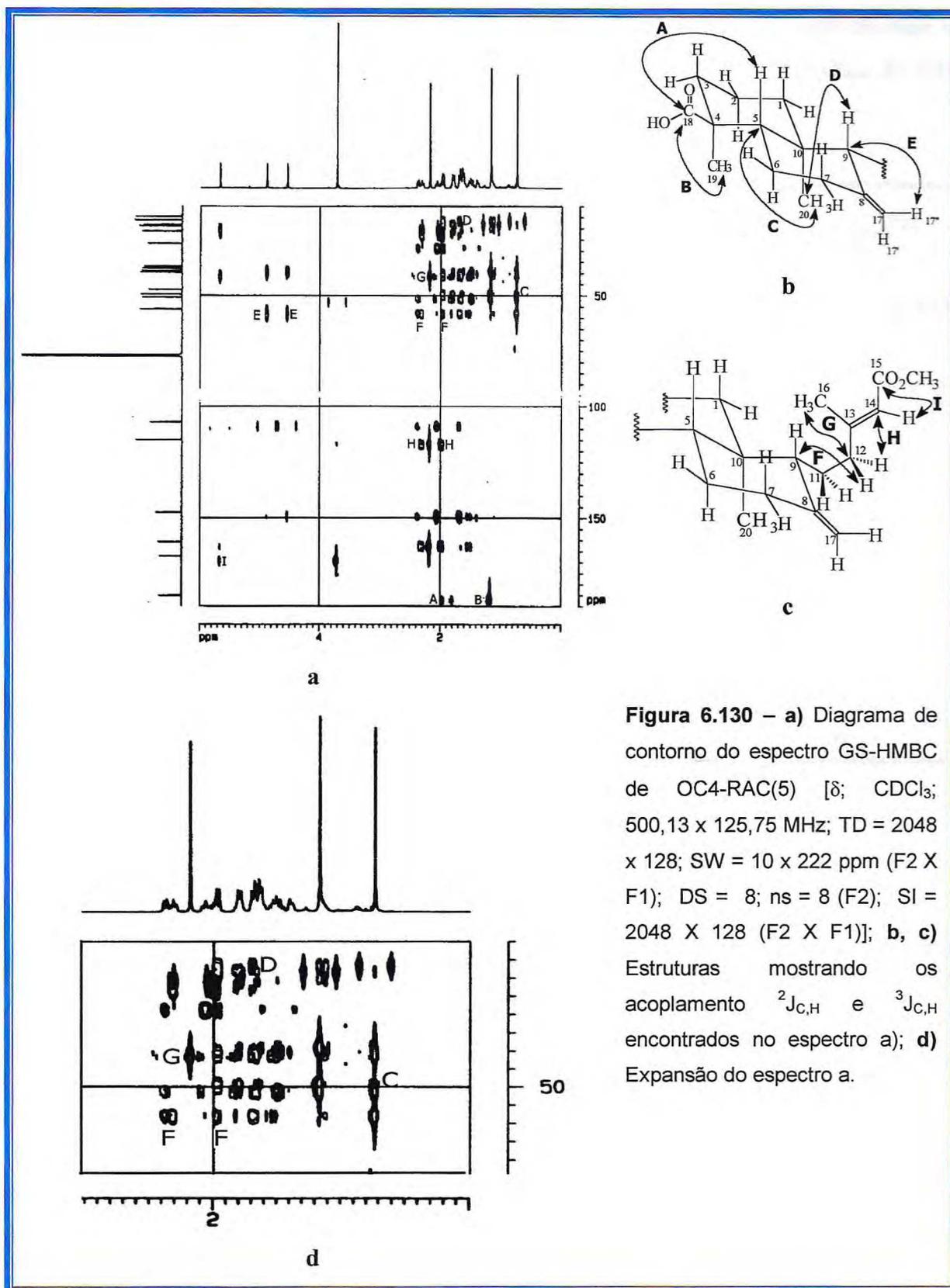


Figura 6.130 – a) Diagrama de contorno do espectro GS-HMBC de OC4-RAC(5) [δ ; CDCl_3 ; 500,13 x 125,75 MHz; TD = 2048 x 128; SW = 10 x 222 ppm (F2 X F1); DS = 8; ns = 8 (F2); SI = 2048 X 128 (F2 X F1)]; b, c) Estruturas mostrando os acoplamento $^2\text{J}_{\text{C,H}}$ e $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ encontrados no espectro a); d) Expansão do espectro a.

Comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de OC4-RAC(5) com os dados de diterpenos labdânicos (136) e (137), bem como com os diterpenos *ent*-labdânicos (83) e (138) (Tabela 6.31, página 187), mostrou que OC4-RAC(5) era bastante semelhante ao diterpeno (83), cuja determinação estrutural foi descrita anteriormente. Desta forma, foi possível prever que (83) seria o produto metilado de OC4-RAC(5), já que foi obtido a partir do óleo de copaíba metilado. Sendo assim, OC4-RAC(5) foi identificado como o éster metílico do ácido *ent*-4-epi-agático (82).

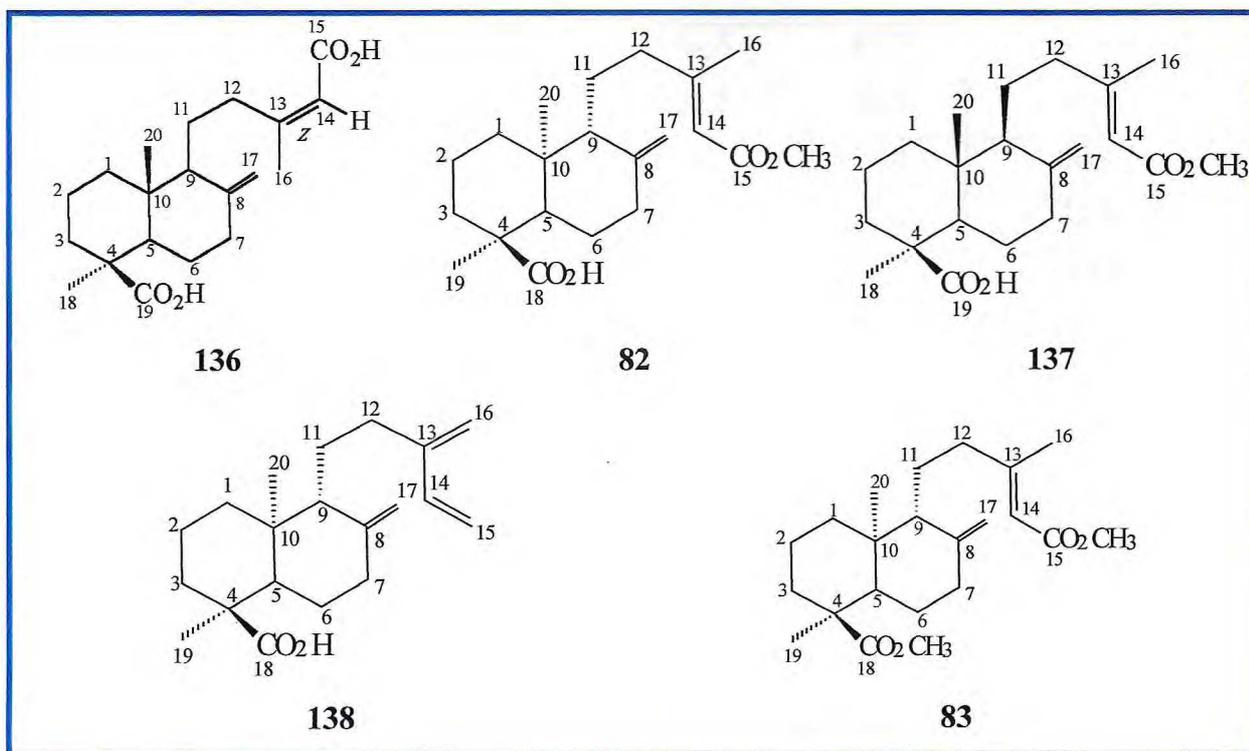


Tabela 6.31
Comparação dos dados de RMN ^{13}C -BB de OC4-RAC(5)
com os dados dos diterpenos (136), (82), (137) e (138) encontrados na literatura.

C	δ_c				
	136	82	137	138	OC4-RAC(5)
1	40,5	37,8	39,9	37,8	37,7
2	21,2	18,5	20,8	18,4	18,4
3	39,4	37,0	39,4	37,1	37,0
4	45,2	47,8	44,5	47,5	47,5
5	57,8	49,9	56,8	49,5	49,4
6	27,6	26,9	27,1	26,8	26,8
7	40,0	38,1	39,0	37,8	37,9
8	149,5	147,6	148,9	147,8	147,4
9	57,6	56,1	56,3	56,4	56,0
10	41,7	39,0	41,1	38,8	38,9
11	23,8	21,4	22,5	22,1	21,3
12	33,7	39,7	40,4	30,1	39,6
13	162,1	160,8	161,1	146,9	160,9
14	117,4	115,1	115,8	139,0	114,9
15	169,9	167,3	177,2	113,2	167,3
16	25,6	18,9	18,7	115,6	18,9
17	107,1	107,0	106,7	107,0	107,1
18	29,6	179,2	29,3	185,3	185,3
19	181,3	16,6	176,8	16,3	16,2
20	13,4	14,8	13,2	14,7	14,7
OCH ₃ (C-15)	-	50,8	50,7	-	50,8
OCH ₃ (C-18)	-	51,9	-	-	-

136 – Ácido labda-8(17),13(Z)-dieno-15,19-dióico [Lin, 1998]

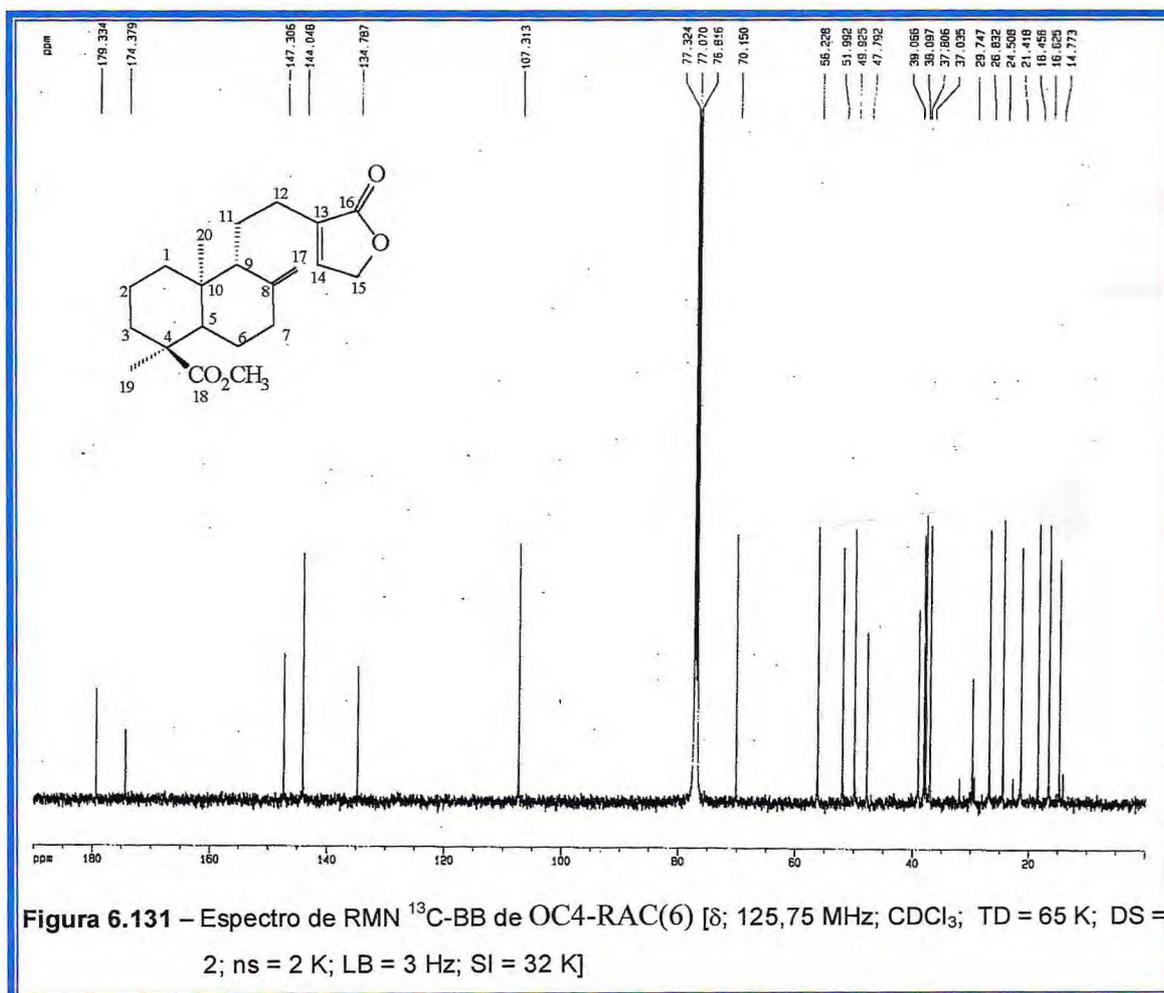
137 - Éster metílico do ácido agático [Bastard *et al*, 1984]

138 – Ácido *ent*-labda-8(17),13(16),14-trien-18-óico [Martins, 1996]

6.5.4.5. Determinação estrutural de OC4-RAC(6)

O polialtato de metila obtido no item 7.6.6.2 (parte experimental, página 226) foi submetido a reação de epoxidação com ácido *m*-cloroperbenzóico com o objetivo de obter epóxidos a partir da ligação dupla C8-C17. A análise por RMN da fração 10 isolada a partir da cromatografia centrifugacional do produto da reação, mostrou que este não era o epóxido esperado, sendo sua determinação estrutural descrita a seguir.

A fração 10 (9,7 mg) foi obtida como cristais incolores, p.f. 146,9-149,7 °C, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD, denominado OC4-RAC(6), cuja análise por RMN ^{13}C -BB (Figura 6.131) permitiu observar 21 carbonos dentre os quais um carbono que absorve em δ 70,1 atribuído a um carbono metilênico oxigenado após comparação com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT(135) (Figura 6.132, página 189). Os deslocamentos químicos dos carbonos observados, bem como seus respectivos padrões de hidrogenação encontram-se descritos na Tabela 6.32, página 189.



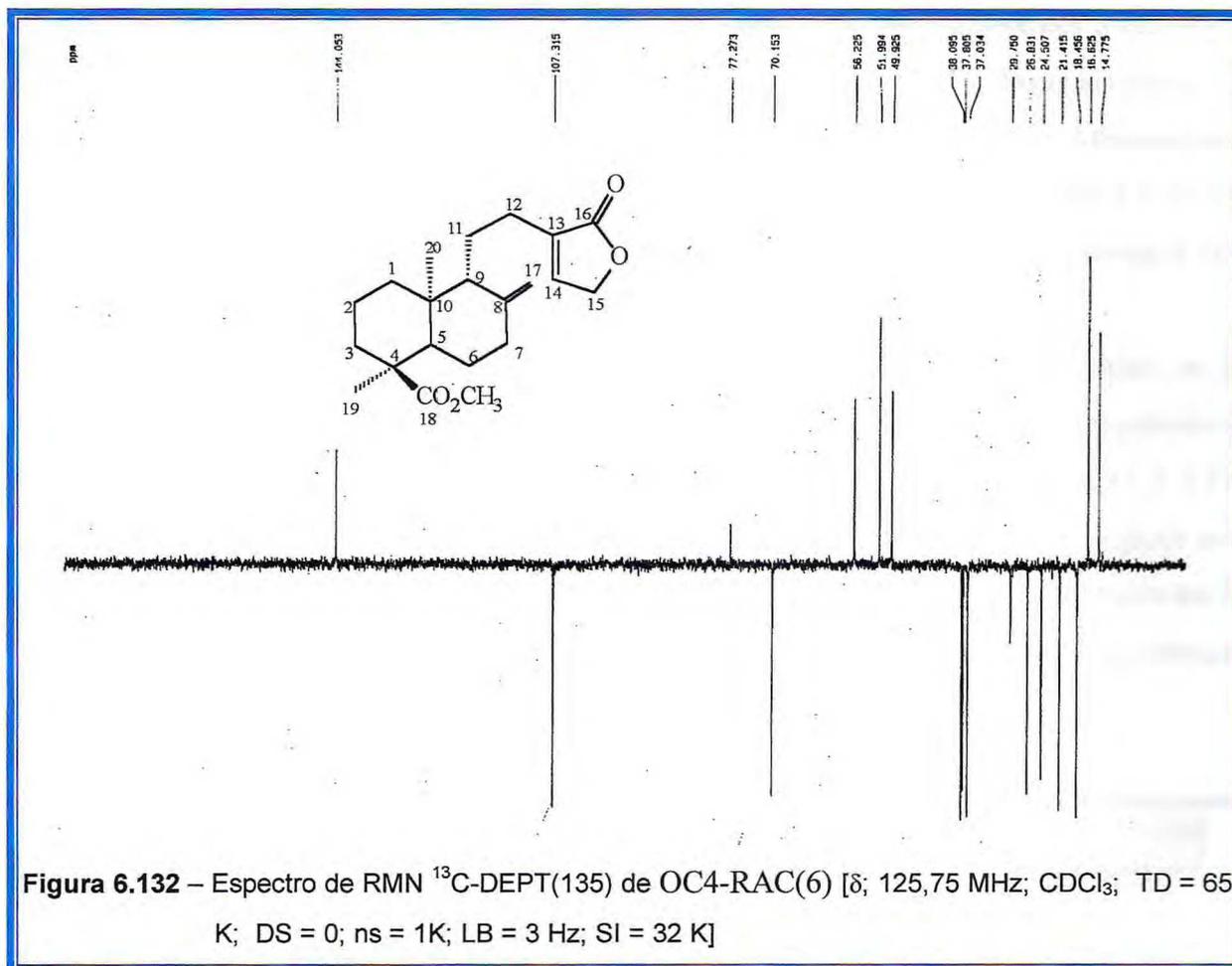


Tabela 6.32
Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de OC4-RAC(6)
com padrão de hidrogenação (δ ; CDCl_3 ; 125,75 MHz)

C	CH	CH ₂	CH ₃
179,3	144,1	107,3	52,0
174,4	56,2	70,1	16,6
147,3	49,9	38,1	14,8
134,8	-	37,8	-
47,8	-	37,0	-
39,1	-	26,8	-
-	-	24,5	-
-	-	21,4	-
-	-	18,4	-
C₆	C₃H₃	C₉H₁₈	C₃H₉
TOTAL C₂₁H₃₀			

Na Tabela 6.32 (página 189), observou-se duas absorções referentes a carbonos não hidrogenados em δ 179,3 e 174,4 atribuídas a carbonilas de éster, um dos quais alusivo a éster metílico, comprovado pela absorção de carbono metoxílico em δ 52,0. Observou-se também quatro sinais referentes a carbonos insaturados, dois dos quais em δ 147,3 e 107,3 referentes a uma ligação dupla exocíclica, e outros dois em δ 144,0 e 134,8 referentes a um carbono metínico e outro não-hidrogenado, respectivamente.

O espectro de RMN ^1H de OC4-RAC(6) (Figura 6.133) mostrou um singlete em δ 4,76 ($J=2$ Hz) com integração relativa a dois hidrogênios, atribuído a hidrogênios metilênicos oxigenados. No mesmo espectro observou-se a presença de dois sinais em δ 4,85 e 4,57 referentes a hidrogênios metilênicos de ligação dupla exocíclica, assim como, um tripleto em δ 7,08 (t, $J = 1,3$ Hz). Três singletos referentes a hidrogênios metílicos foram observados em δ 3,64; 1,12 e 0,69, sendo o primeiro indicativo de hidrogênios metoxílicos e os dois últimos considerados como hidrogênios de metilas ligadas a carbonos não-hidrogenados.

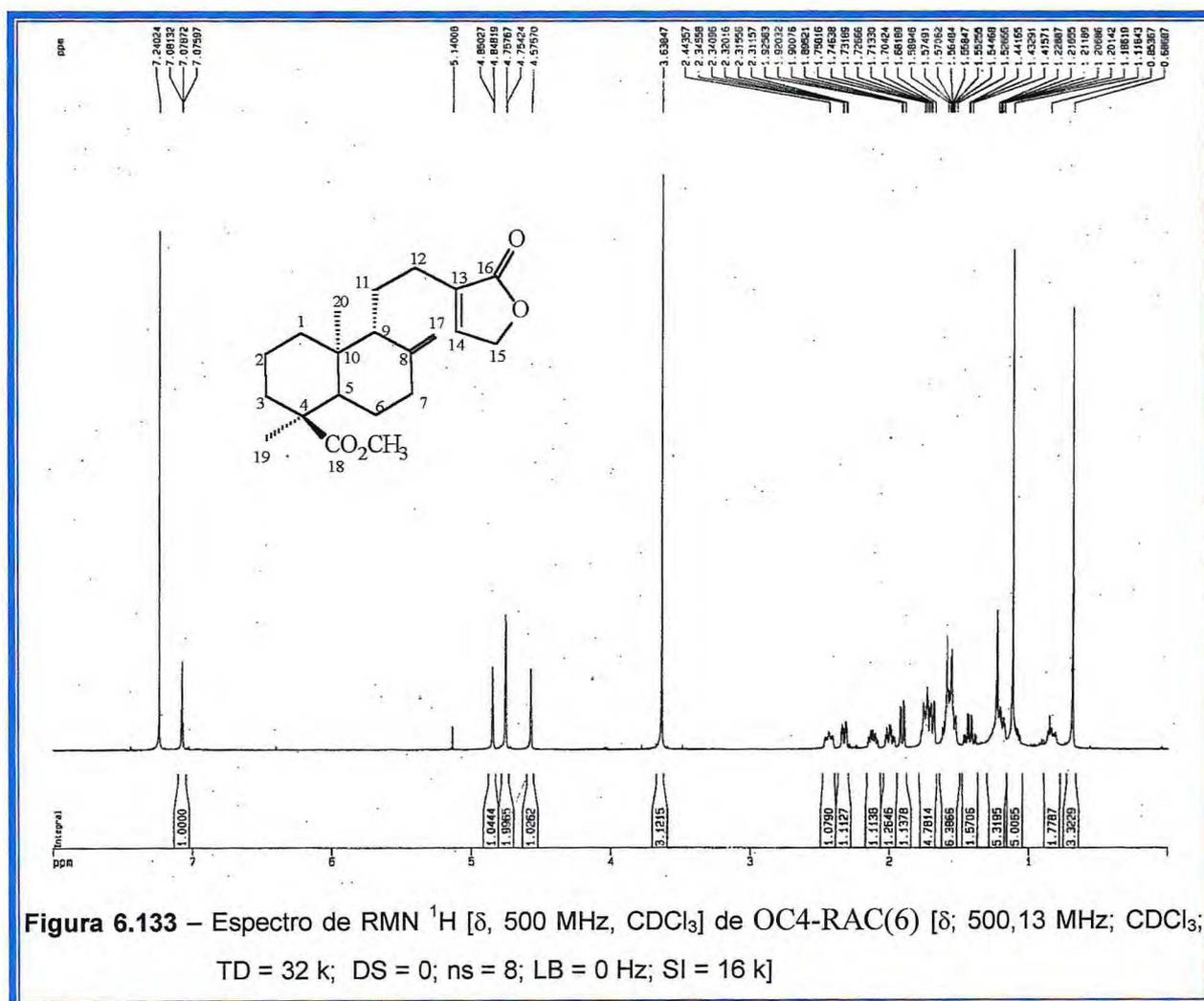
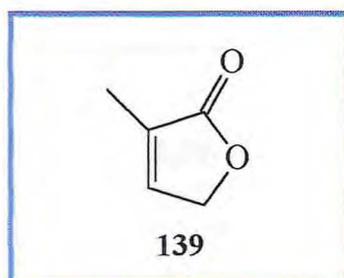
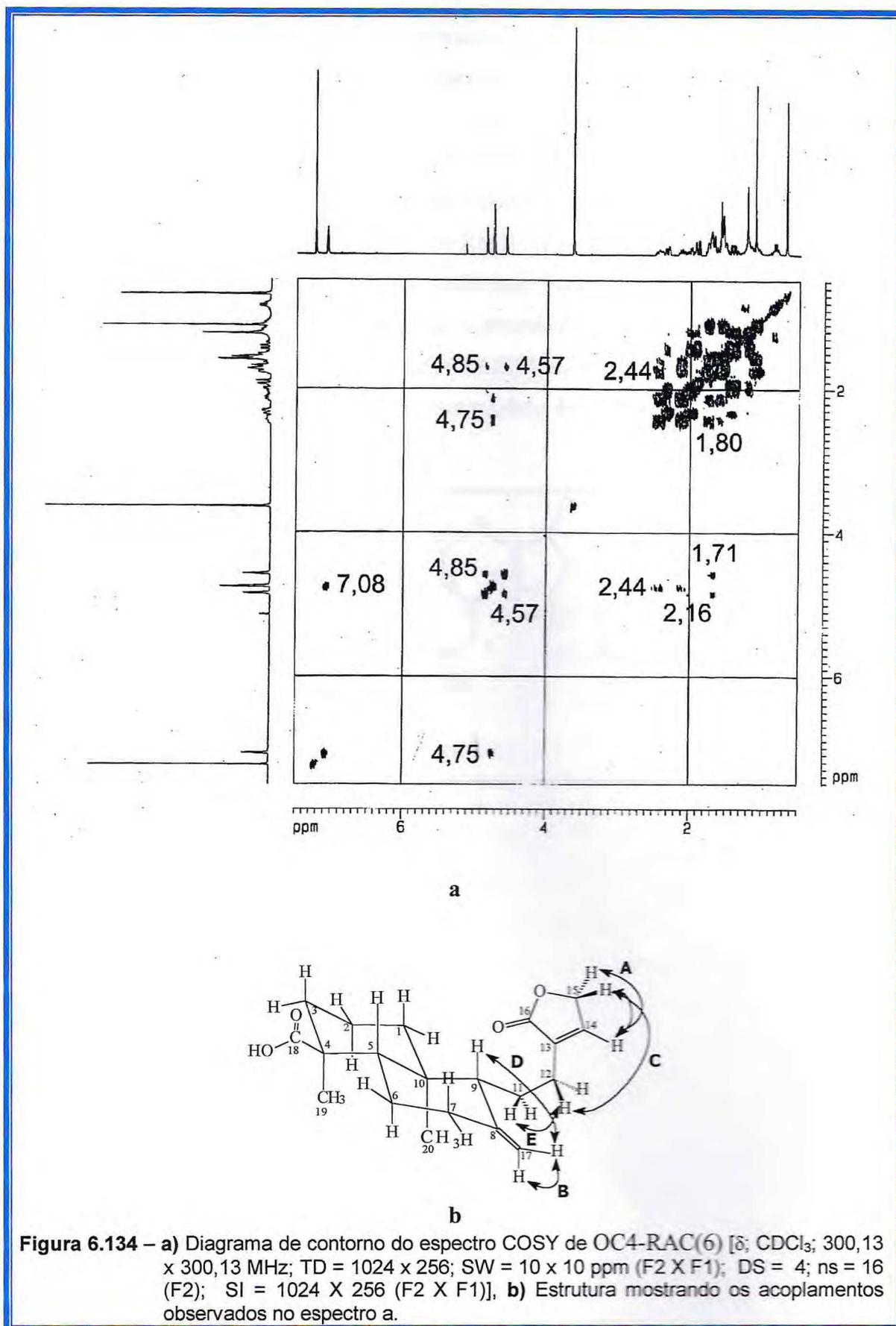


Figura 6.133 – Espectro de RMN ^1H [δ , 500 MHz, CDCl_3] de OC4-RAC(6) [δ , 500,13 MHz; CDCl_3 ; TD = 32 k; DS = 0; ns = 8; LB = 0 Hz; SI = 16 k]

A partir da análise dos dados obtidos dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , foi possível propor que a fórmula molecular de OC4-RAC(6) seria $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ apresentando 7 deficiências de hidrogênio, duas referentes às carbonilas supracitadas e duas às ligações duplas. As três deficiências restantes foram atribuídas a três anéis, possibilitando a proposição que OC4-RAC(6) trata-se de um diéster diterpênico tricíclico.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY (Figura 6.134, página 192) mostrou um acoplamento $^3J_{\text{H,H}}$ dos prótios metilênicos em δ 4,75 com o prótio metínico de ligação dupla conjugada com a carbonila em δ 7,08 (Figura 7.133, acoplamento A), o que permitiu sugerir a presença de um butenolídeo α -substituído (**139**) na cadeia lateral da molécula. No mesmo espectro observou-se um acoplamento entre os prótios metilênicos em δ 4,85 e 4,57 (acoplamento B), bem como o acoplamento entre os prótios metilênicos em δ 4,75 e os prótios em δ 2,44 e 2,16 (acoplamento C). Observou-se ainda o acoplamento dos prótios em δ 4,85 e 4,57 com o prótio metínico em δ 1,71 (acoplamento D) e do prótio metilênico em δ 2,44 com o prótio em δ 1,80 (acoplamento E).





Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de OC4-RAC(6) com dados encontrados na literatura para o nivenolídeo (**140**) e o pinusolídeo (**141**) (Tabela 6.33) (página 194), bem como a comparação entre os pontos de fusão do OC4-RAC(6) (146,9-149,7 °C) com os encontrados para o pinusolídeo (82-83 °C) e éster metílico do nivenolídeo (150-151 °C) [Rojas, 1978], permitiu a proposição de que OC4-RAC(6) trata-se do éster metílico do nivenolídeo (**85**), cujos dados de RMN ^{13}C não foram encontrados na literatura.

Comparação entre os espectros de RMN ^1H de OC4-RAC(6) e da fração 17-20 obtida de OCA-4ResC(AC)-H:AE (ver procedimento experimental página 228) a partir do óleo de copaíba OCCRATO-4, mostrou que o nivenolídeo (**140**) está presente neste óleo. Desta forma foi possível propor que o OC4-RAC(6) seria uma impureza do polialtato de metila que foi submetido à epoxidação e não um produto de síntese.

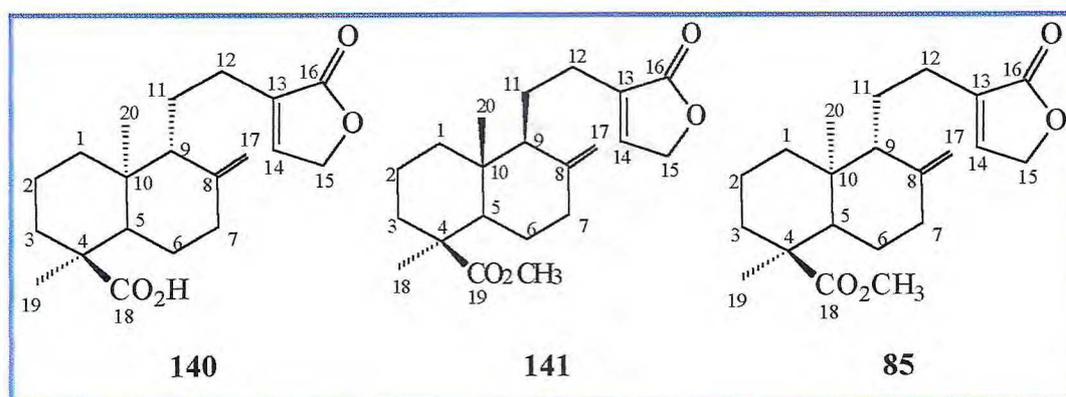


Tabela 6.33
Comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB de
nivenolídeo (140), pinusolídeo (141) e OC4-RAC(6)

C	140	141	OC4-RAC(6)
1	37,9	39,2	38,1
2	18,2	19,9	18,4
3	36,9	38,2	37,8
4	47,4	44,3	47,8
5	49,3	56,2	52,0
6	26,6	26,1	26,8
7	37,6	38,6	38,1
8	147,0	147,4	147,3
9	56,1	55,6	56,2
10	38,8	40,2	39,1
11	21,2	21,8	21,4
12	24,3	24,6	24,5
13	134,5	134,8	134,8
14	144,0	143,8	144,0
15	70,1	70,0	70,1
16	174,3	174,3	174,4
17	107,3	106,6	107,3
18	185,3	28,8	179,3
19	16,2	177,7	16,6
20	14,6	12,5	14,8
OCH ₃	-	51,1	50,0

6.5.5. Determinação estrutural de SVC-H(1) obtida das sementes de *Copaifera langsdorffii*

Do extrato hexânico obtido por extração à quente em sohxlet das sementes de *Copaifera langsdorffii*, obteve-se material cristalino incolor, solúvel em clorofórmio denominado SVC-H(1) (p.f. 67,5-67,7 °C) (ver procedimento experimental, página 230).

As absorções na região do IV de SVC-H(1) (Figura 6.135) em 1706, (estiramento C=O), 1.250 e 1.175 cm^{-1} (estiramentos C-O-C), sugerem a presença de um grupo R-oxicarbonila neste composto. A posição do estiramento C=O em 1.707 cm^{-1} sugere que a carbonila do éster é conjugada. As absorções em 3047 (estiramento =C-H), 1.601, 1.563 (estiramentos C=C), 929, 827 e 754 cm^{-1} (deformações angulares =C-H) permitem propor que SVC-H(1) trata-se de um éster α,β -insaturado apresentando um anel aromático.

O espectro de RMN ^{13}C – BB (Figura 6.136, página 196) de SVC-H(1) mostrou 9 linhas espectrais que ao serem comparadas com os espectros DEPT (135) (Figura 6.137, página 196) e DEPT (90) (Figura 6.138, página 197), puderam ser relacionadas a 6 carbonos metínicos e três carbonos não hidrogenados (Tabela 6.34, página 197). A absorção em δ 160,6 foi relacionada a uma carbonila de éster α,β -insaturado.

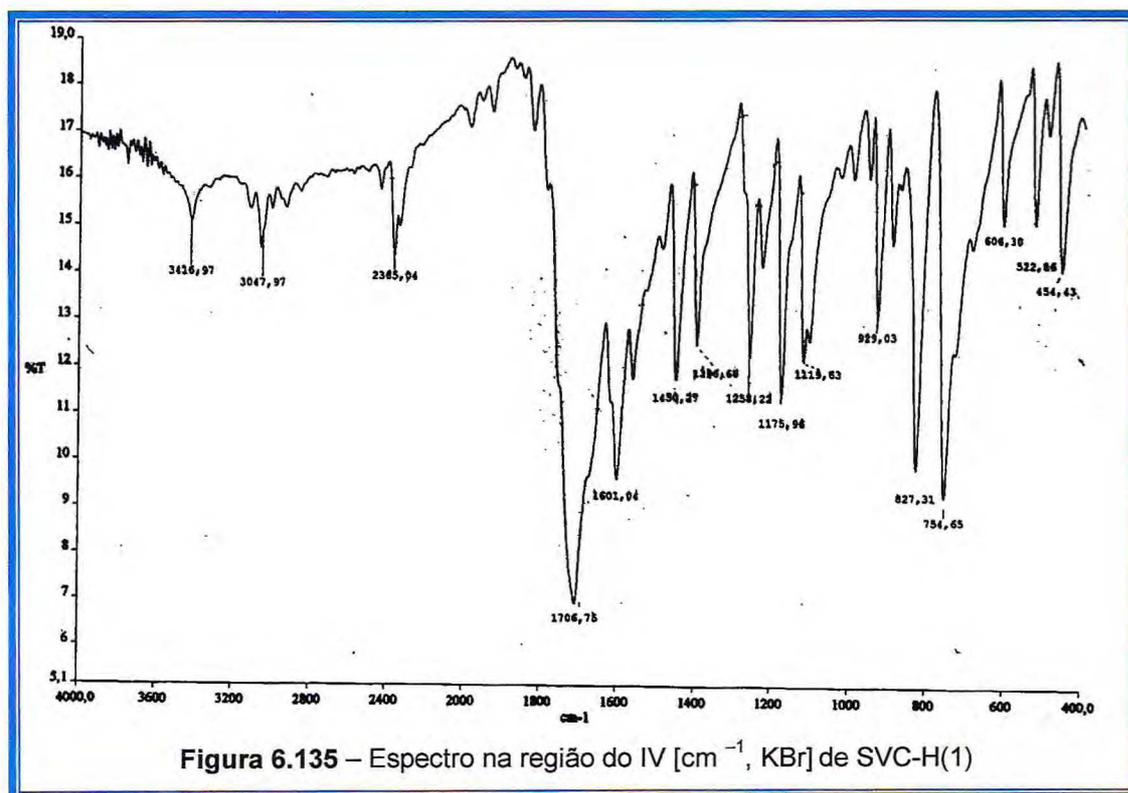
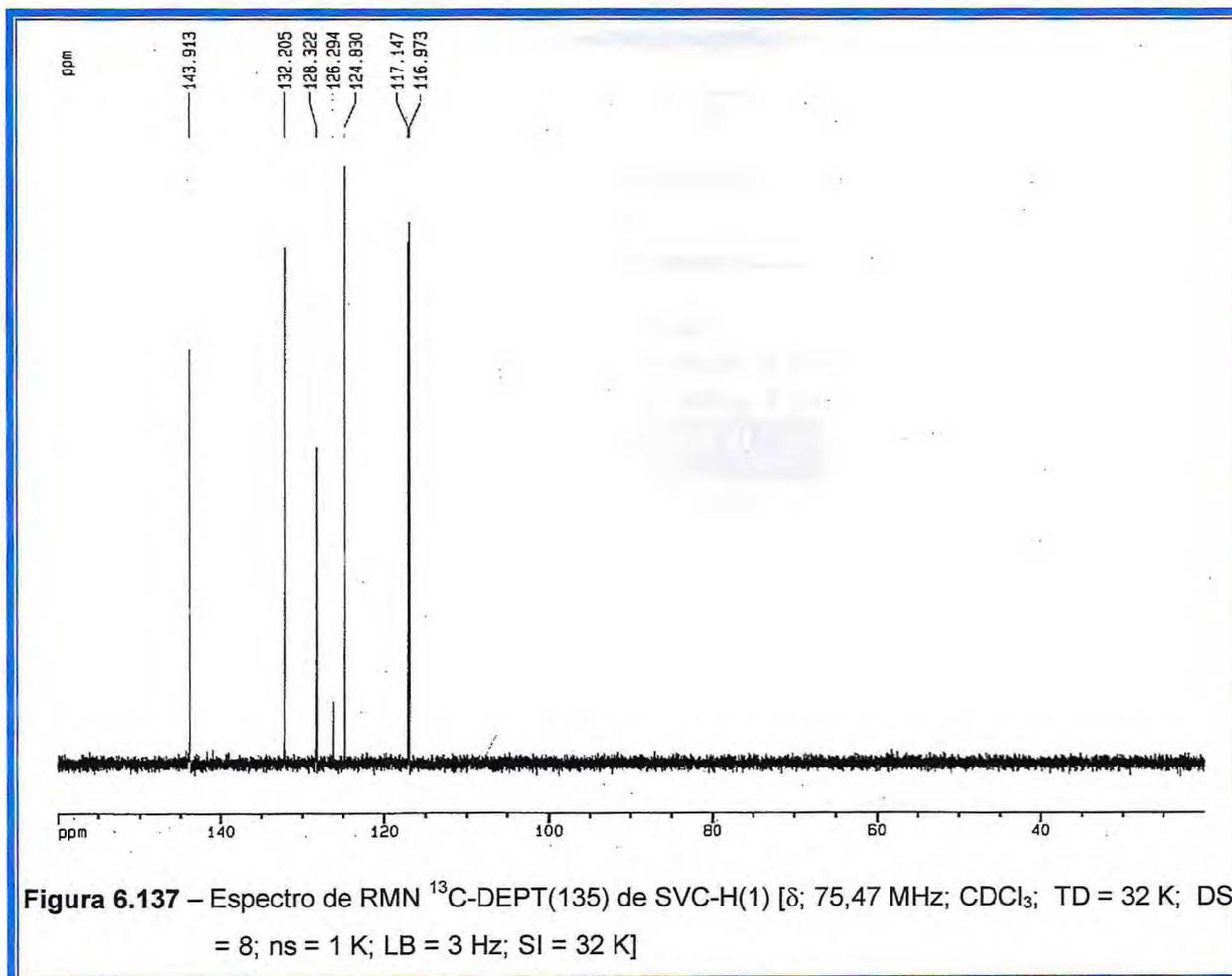
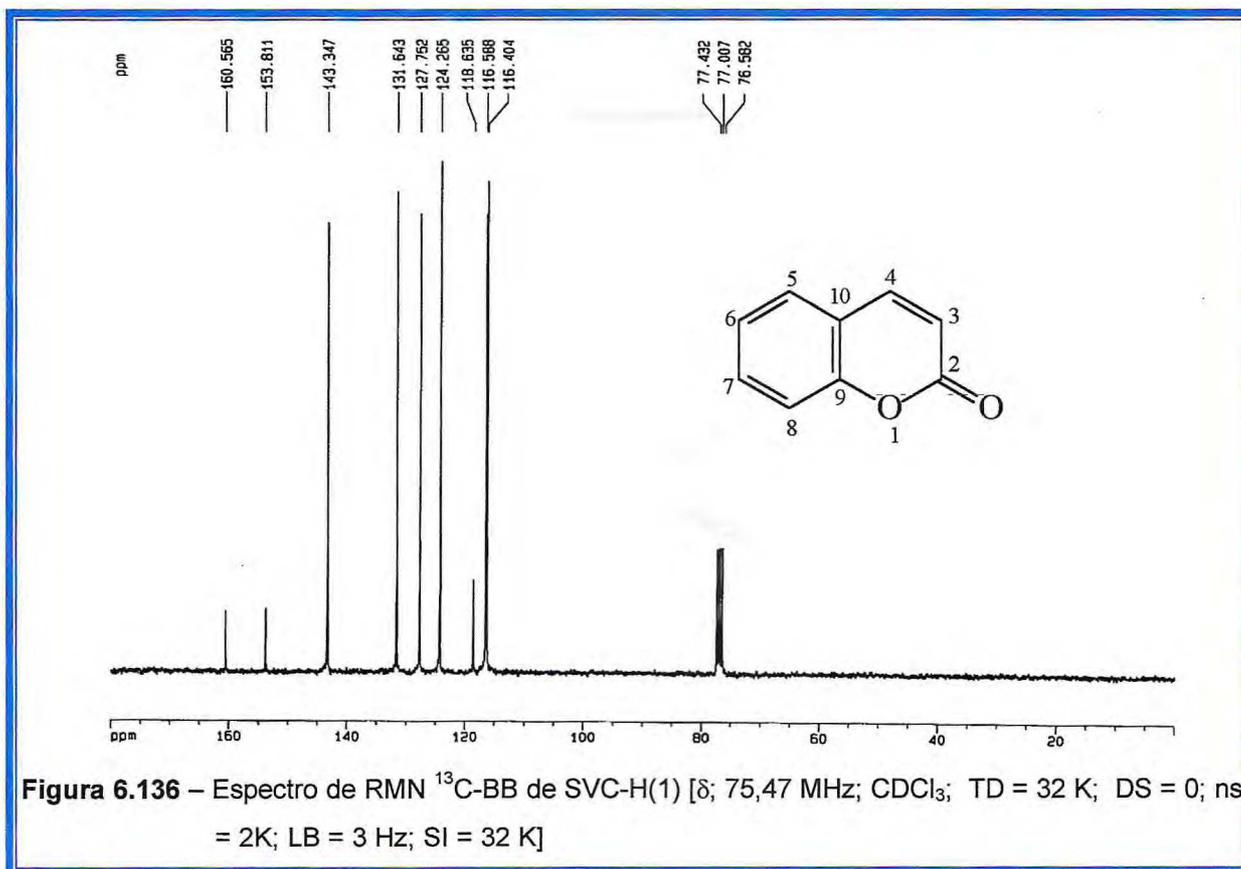


Figura 6.135 – Espectro na região do IV [cm^{-1} , KBr] de SVC-H(1)



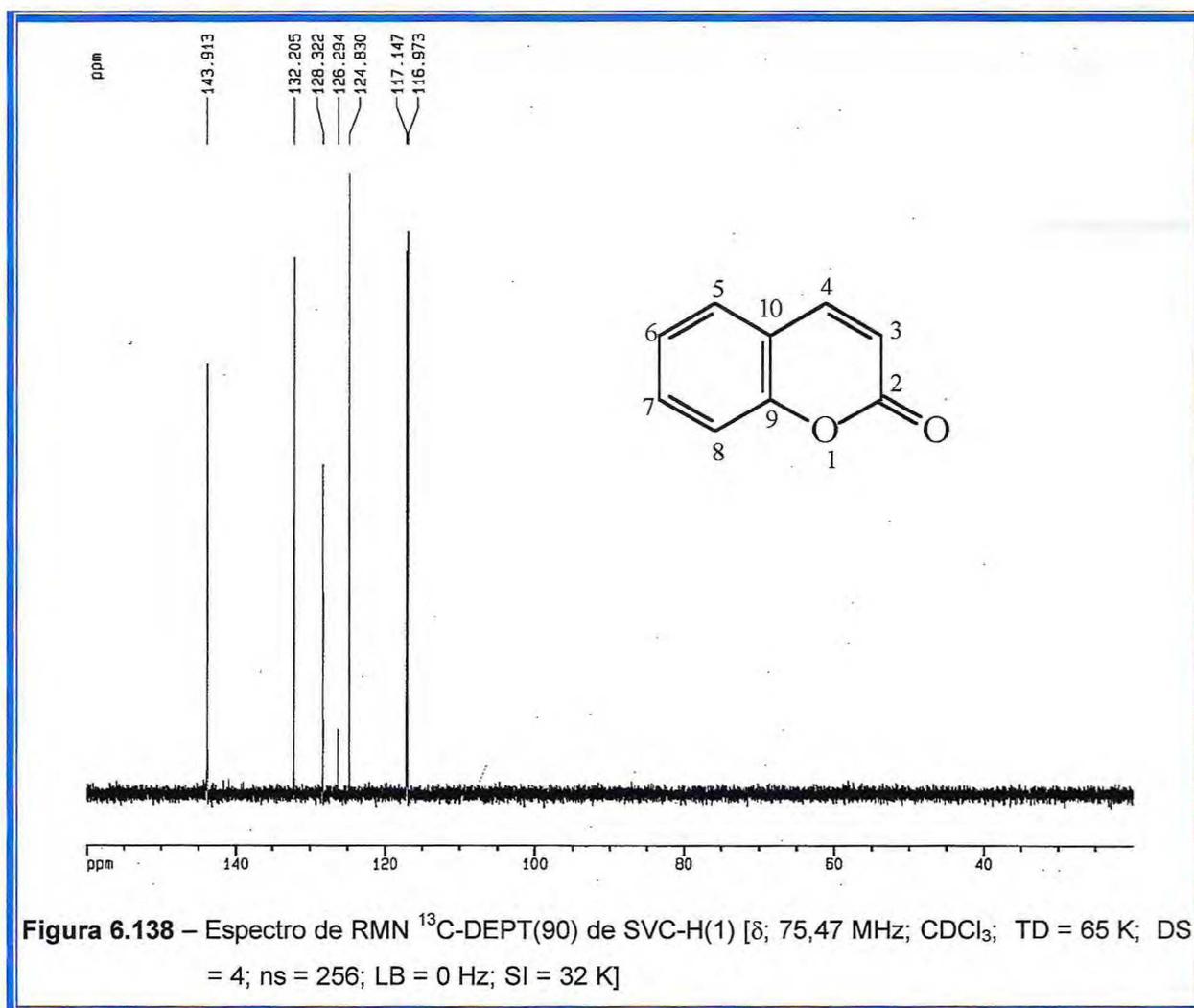
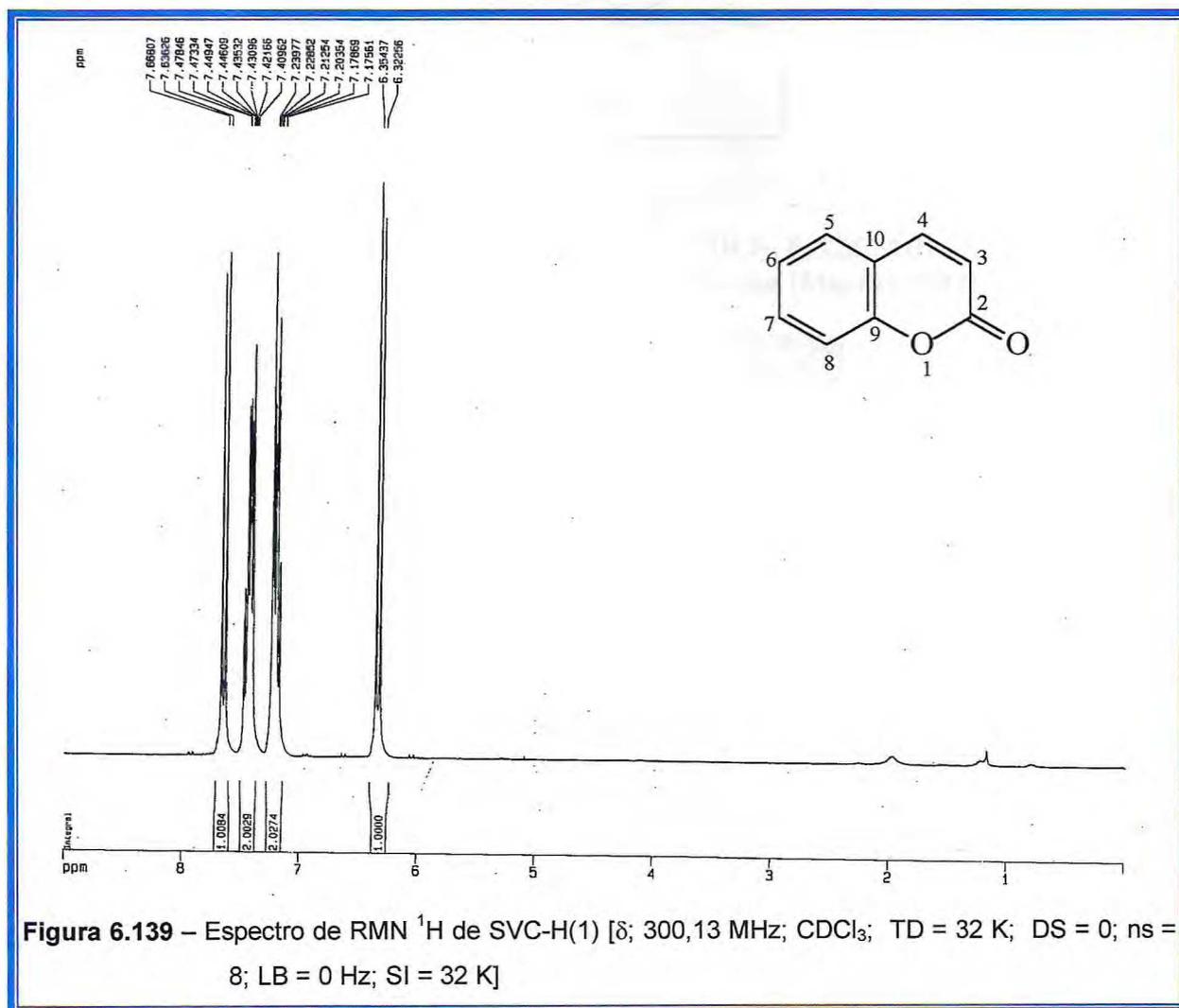


Tabela 6.34
 Dados obtidos dos espectros de RMN ^{13}C de
 SVC-H(1) (δ ; 75,47 MHz; CDCl_3)

C	CH
160,6	143,3
153,8	131,6
118,6	127,7
-	124,3
-	116,6
-	116,4
C_3	C_6H_6
Total C_9H_6	

O espectro de RMN ^1H (Figura 6.139), mostrou a presença de 4 absorções referentes a hidrogênios de carbonos insaturados, sendo dois dubletos em δ 7,64 ($J=9,5$ Hz) e 6,33 ($J=9,5$ Hz) com integração para 1 hidrogênio cada, e dois multipletos em δ 7,41 e 7,23 com integração para 2 hidrogênios cada.



Com os dados obtidos foi possível propor que SVC-H(1) apresentava a fórmula molecular $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$ apresentando 7 deficiências de hidrogênio, sendo que 4 foram relacionadas ao anel benzênico *orto*-dissubstituído e três ao sistema lactônico insaturado ligado a anel benzênico, resultando na proposição da estrutura (**142**) para este composto.

Comparação dos dados de RMN ^{13}C -BB de SVC-H(1) com os dados descritos na literatura para a cumarina (**142**) [Murray, Mendes e Brown, 1982] permitiu confeccionar a Tabela 6.35 (página 199). Esta Tabela mostra que os deslocamentos químicos dos dois

compostos em análise são bastante semelhantes, o que permitiu a confirmação da estrutura (142) para SVC-H(1).

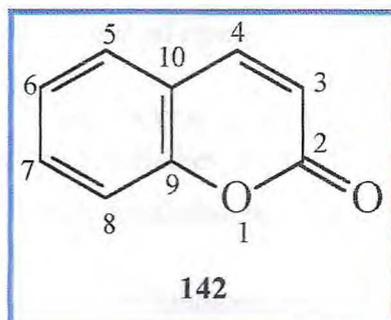


Tabela 6.35

Comparação entre os dados de ^{13}C de SVC(1) (CDCl_3 , δ , 125 MHz) com os dados encontrados na literatura para a cumarina [Murray,1982]

C	SVC(1)	cumarina
2	160,6	160,4
3	116,4	116,4
4	143,3	143,6
5	127,7	128,1
6	124,3	124,4
7	131,6	131,8
8	116,6	116,4
9	153,8	153,9
10	118,6	118,8

Referências Bibliográficas

- ADAMS, R.P.; *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*, USA (1991)
- ALENCAR J.W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovats indices as a preselection routine in mass spectra library search of volatiles. *J. Nat. Prod.*, v. 47, p.890-892, 1984.
- ALENCAR, J. W. et al. Kovats indices simulation in essential oil analysis. *Química Nova*, v. 13, p. 282-284, 1990.
- BASTARD, J. et al. CMR Spectroscopy of labdanic diterpenes and related substances. *J. Nat. Products*. v. 47, n. 4, p. 592-599, 1984.
- BOHLMANN, F. et al. Gutierrezial and further diterpenes from *Gutierrezia sarothrae*, *Phytochemistry*, v. 23, n. 9, 2007-2012, 1984.
- CARRERAS, C.R.; ROSSOMANDO, P.C.; GIORDANO, O. S. Ent-labdanes in *Eupatorium buniifolium*, *Phytochemistry*, v. 48, n. 6, p. 1031-1034, 1998.
- CHAN, K.K. et al. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies of coumarin and related compounds, *Tetrahedron*, v. 33, p. 899-906, 1977.
- CHANG, C. H.; FLOSS, G. AND STECK, W. Carbon-13 magnetic resonance spectroscopy of coumarins. carbon-13-proton long-range couplings, *J. Org. Chem.*, v. 42, n.8, p. 1337-1340, 1977.
- CREWS, P.; RODRIGUEZ, J.; JASPARS, M. *Organic Structure Analysis*. USA: Oxford University Press, 1998.
- DIAZ, C.E. et al. The microbiological transformation of some trachylobane diterpenoids by *Gibberella Fujikuroi*. *Phytochemistry*, v. 23, p. 2813-2816, 1984.
- FERRARI, M.; PAGNONI, U.M.; PELIZZONI, F. Terpenoids from *Copaifera langsdorffii*. *Phytochemistry*, v. 10, p. 905-907, 1971.
- GOTTLIEB, O. R.; IACHAN, A. Estudo do bálsamo de copaíba, *Rev. Quim. Ind*, v. 14, n. 163, p. 20-21, 1945.
- GRAMOSA, N.V. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste: *Capparis flexuosa* e Estudo químico da autoxidação do β -cariofileno em óleos essenciais. 1994. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 1994.
- HANSON, J. R. et al. The ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra of kauranoid diterpenes; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, p. 114-115, 1976.
- HUTCHISON, M.; LEWER, P.; MACMILLAN, J.; Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of eighteen derivatives of ent-kaur-16-en-19-oic acid, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, p. 2363-2366, 1984.
- IMMAMURA, P.M. et al. ^{13}C NMR Spectral analysis of eperuane diterpenes. *Phytochemistry*, v. 16, p. 1842-1844, 1977.
- IWAMOTO, M. et al. Labdane-type diterpenes and a nordrimane-type sesquiterpene from the stem bark of *Thuja Standishii*. *J. Nat. Prod.* v. 63, p. 1381-1983, 2.000.
- KHAN, M. A.; GRAY, A.I.; WATERMAN, P.G. Kaur-16-en diterpenes from the stem of *Lasianthea fruticosa*. *Rev. Latinoamer. Quím.* v. 20/2, 75-76, 1989.

- LEVY, G.C.; LICHTER, R. L.; NELSON, G. L.; *Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 2nd ed, John Wiley, New York, 1980.
- LIN, S.J. et al. In vitro biotransformations of isocupressic acid by cow rumen preparations: formation of agathic and dihydroagathic acids. *J. Nat. Prod.* v. 61, p. 51-56, 1998.
- Lobitz, G.O. et al. Kaurene diterpenes from *Mykania vitifolia*, *Phytochemistry*, v. 49, n. 3, p. 805-809, 1998.
- MARTINS, D. Alcalóides, flavonóides e terpenóides de *Xylopiá aromática*. 1996. Tese (Doutorado em Química) – USP, Instituto de Química, São Paulo, 1996.
- MORS, W.B.; MONTEIRO, H.J. Duas cumarinas nas sementes de *Copaifera langsdorffii*, *An. assoc. bras. Quím.* v.18, p. 181-182, 1959.
- MURRAY, R. D. H.; MENDEZ, J.; BROWN, S. A. *The Natural Coumarins*. New York: John Wiley, p. 44, 1982.
- PRETSCH, E. et al. *Tables of spectral data for structure determination of organics compounds – chemical laboratory practice*, Germany: Springer-Verlag, p. H345, 1983.
- RAHMAN, A-U AND AHMAD, V.U. *¹³C-NMR of natural products-diterpenes*, v. 2, New York: Plenum Press, 1992.
- ROJAS, E.T.; RODRIGUEZ-HAHN, L. Nivenolide, a diterpene lactone from croton niveus, *Phytochemistry*, v. 17, p. 574-575, 1978.
- SANTIAGO, G.M.P. Síntese de sesterpenos a partir do ácido copálico: síntese de ésteres (s)-o-metilmandelatos do hyrtiosal e *ent*-hyrtiosal e estudo sobre a síntese do *ent*-queilantenodiol. 1997. Tese (Doutorado em Química) – UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1997.
- YAMASAKI, K. et al. Structures of stevia diterpene-glucosides: application of ¹³C nmr, *Tetrahedron Letters*, v. 13, p. 1005-1008, 1976.
- YANG, H. O.; SUH, D-Y; HAN, B. H. Isolation and characterization of platelet-activating factor receptor binding antagonist from *Biota orientalis*. *Planta med.* v.61, p. 37-40, 1995.
- VICKERY, M.L. AND VICKERY, B. *Secondary Plant Metabolism*. Hong Kong: The Macmillan Press, 1981.
- WEHRLI, F.W.; NISHIDA, T. The use of carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy in natural products chemistry. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe-Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, v. 36, p. 1-228, 1979.

Capítulo

7

Parte Experimental

7.1. Coleta do material.....	203
7.2. Métodos	203
7.3. Outras determinações.....	207
7.4. Procedimento dos ensaios biológicos.....	207
7.5. Controle de qualidade dos óleos de copaíba comerciais.....	207
7.6. Estudo do óleo de copaíba.....	207
7.7. Estudo dos óleos essenciais de <i>Copaifera langsdorffii</i>	228
7.8. Obtenção dos extratos das sementes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	230



Sistemas de extração de óleos essenciais.
Fotógrafo: Nilce V. Gramosa (Agosto de 1998).

7. Parte Experimental

7.1. Coleta do material

O óleo de copaíba, assim como as folhas, o lenho e os frutos de *Copaifera langsdorffii* selecionados para estudo, foram coletados na localidade de Barreiro Grande - Crato – Ceará, pelo Prof. Edilberto R. Silveira. A classificação botânica foi realizada pelo Prof. Afrânio G. Fernandes, do Deptº de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). As exsicatas da planta encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra do (Deptº de Biologia – UFC), registradas sob os números 24.461 e 24.489.

7.2. Métodos

7.2.1. Cromatográficos

7.2.1.1. Cromatografia líquida em coluna (CC)

As cromatografias de adsorção em coluna foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh) VETEC e florisil (100-200 mesh) ALDRICH.

O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e quantidades de sílica a serem utilizadas.

Para a eluição foram utilizados os solventes: hexano, éter de petróleo, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, etanol e metanol e misturas binárias desses solventes em ordem crescente de polaridade.

7.2.1.2. Cromatografia de camada delgada (CCD)

Utilizou-se sílica gel 60 G (Carlo Erba) para cromatografias em lâminas de vidro e placas de sílica gel com indicador de fluorescência (254 nm) sobre poliéster (2-25 µm, camada de 250 µm) SIGMA.

A revelação das placas de CCD foi feita pela exposição das placas em lâmpada de irradiação na faixa do ultravioleta (UV), Vilber Lourmat, modelo CN-15LM, com dois comprimentos de onda (312 e 365 nm), pulverização com solução de vanilina e ácido perclórico em etanol, seguido de aquecimento em estufa a aproximadamente 100°C cerca de 5 minutos, e/ou saturação em cuba com iodo.

7.2.1.3. Cromatografia de líquida de alta eficiência (CLAE)

Cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo SPD – 10A Shimatzu, com detector de ultravioleta a comprimento de onda 254 nm e coluna Phenomenex type spherex sílica, 1,50 x 3,20mm, 5 μ , fase normal e os solventes usados foram clorofórmio e metanol para HPLC da Aldrich.

7.2.1.4. Cromatografia centrifugacional (CR)

Na cromatografia centrifugacional utilizou-se Cromatotron modelo 7924-T e placa de sílica Kieselgel 60PF₂₅₄ gipshaltig, fluxo de eluição de 2,5 mL/min e fluxo de N₂ 15 mL/min com gradiente de polaridade, obtendo-se 20 frações de 35 mL.

7.2.2. Espectrométricos

7.2.2.1. Espectrometria na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do IV foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 da central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica-UFC utilizando pastilhas de KBr para análise das amostras sólidas e filmes para os óleos.

7.2.2.2. Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa dos óleos essenciais foram obtidos em espectrômetro de massa Hewlett-Packard, modelo HP - 5971A, acoplado a cromatógrafo gás-líquido, modelo HP - 5890A série II (CGL-EM), provido de coluna capilar DB-5 (dimetilpolisiloxano) com 30,0 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,1 μ m, utilizando um gradiente de aumento de temperatura do injetor de 35 a 180°C/4°C/min e 180 a 280°C/20°C/min.

O espectro de massa da alta resolução foi obtido em espectrômetro VG-AUTOSPEC Fysions instruments.

7.2.2.3. Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)

Quantidades variadas de amostras (sólidos cristalinos, líquidos e resinas) foram dissolvidas em 0,6 mL de CDCl_3 e acondicionadas em tubos de RMN de 5mm a 303 K e pressão atmosférica. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados para RMN ^1H pelo pico do hidrogênio pertencente a fração de clorofórmio não deuterada (δ 7,24) e para RMN ^{13}C pelo pico central do tripleto a δ 77,0 do clorofórmio deuterado. Os equipamentos de RMN utilizados nas análises foram os espectrômetros Bruker pertencentes à Central Analítica e ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (Cenauremn) da Universidade Federal do Ceará, nos seguintes modelos:

1. Bruker AC-200 operando na frequência do hidrogênio a 200 MHz e na frequência do carbono a 50,3 MHz, em um campo de 4.6975 Tesla, equipado com sonda dual (^1H , ^{13}C) de 5 mm.
2. Bruker Avance DPX-300 operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e na frequência do carbono a 75,47 MHz, em um campo de 7.0463 Tesla, equipado com sonda inversa multinuclear de 5 mm. Nos experimentos unidimensionais ^1H , ^{13}C foram utilizadas para as aquisições: larguras espectrais $\text{SW}_\text{H} = 24$ ppm e $\text{SW}_\text{C} = 230$ ppm, período de relaxação de 1.0s (D_1), pulso de 90° para ^1H de 9.0 μs com potência de 6.40 dB e para ^{13}C de 12,0 μs com potência de 0,0 dB.
3. Avance DRX-500 operando na frequência de hidrogênio a 500,13 MHz e na frequência do carbono a 125,75 MHz em um campo de 11.7440 Tesla, utilizando sonda dual de 5 mm, para experimentos unidimensionais (^1H e ^{13}C), bidimensionais de correlação homonuclear (^1H , ^1H -COSY e NOESY) e correlação heteronuclear (HETCOR e COLOC). Para experimentos bidimensionais de correlação homonuclear com detecção inversa (^1H , ^1H -COSY e NOESY), de correlação heteronuclear (HMQC e HMBC) e com gradiente (GS-COSY, GS-HMQC e GS-HMBC), utilizou-se sonda inversa multinuclear de 5 mm com gradiente no eixo z e unidade de gradiente de 10 A. Nos experimentos unidimensionais ^1H , ^{13}C foram utilizadas para as aquisições: larguras espectrais $\text{SW}_\text{H} = 24$ ppm e $\text{SW}_\text{C} = 230$ ppm, período de relaxação de

1.0s (D₁), pulso de 90° para ¹H de 10,0 μs com potência de -3,0; 2,0 ou 6,4 dB, dependendo do experimento, e para ¹³C de 6,5 μs com potência de 3,0 dB.

O número de pontos no qual o FID é amostrado e os dados armazenados (TD) foi igual a 32 K para RMN ¹H, enquanto que para ¹³C variou com o experimento. O número de transientes (ns) geralmente utilizado para ¹H foi 8, enquanto que para ¹³C variou de acordo com o experimento. Para espectros obtidos com gradiente, utilizou-se pulsos senoidais de gradiente de 1 ms de duração e 400 ms de recuperação. Para processamento foram utilizados os ajustes padrões para a fase e linha de base, SI = 16 ou 32 K e alargamento de linha (lb) igual a 0,0 Hz para ¹H e variado para ¹³C. Os processamentos de matrizes de dados de 1024 x 512 (HMQC e HMBC) e 1024 x 1024 (COSY e NOESY) (F2 X F1) com *zero filling* e *linear prediction*.

Os experimentos unidimensionais de RMN ¹H foram obtidos usando a seqüência de pulsos zg30 e zgpr (para saturação do sinal do solvente).

Os experimentos de RMN ¹³C foram efetuados a partir de: seqüência de pulsos zgpg30, desacoplamento por CPD (Composite pulse decoupling) utilizando a seqüência waltz16 e atenuação do desacoplador de 95 μs.

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ¹³C foi determinado a partir da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) variando o ângulo de nutação (θ) de 90° e/ou 135°, utilizando as seqüências de pulsos dept90 e dept135, respectivamente, desacoplamento por CPD, utilizando a seqüência waltz16 e atenuação do desacoplador de 100 μs.

As seqüências de pulsos usadas para os experimentos bidimensionais foram:

COSY: cosydftp

NOESY: noesytp

HMQC: invbtp

GS-HMQC: inv4gstp

HMBC: inv4lplrnd

GS-HMBC: inv4gslplrnd

HETCOR: hxco

COLOC: coloc

7.3. Outras determinações

7.3.1. Ponto de fusão:

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho de microdeterminação Mettler provido de placa aquecedora modelo FP-52 e unidade de controle FP-5.

7.3.2. Rotação ótica:

Utilizou-se Polarímetro digital Perkin-Elmer 341 para obtenção da rotação óptica.

7.4. Procedimento dos ensaios biológicos

Os estudos da atividade antiinflamatória, antinociceptiva e antiulcerogênica, foram realizados no Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará e encontram-se citados no capítulo 4 (página 55).

7.5. Controle de qualidade dos óleos de copaíba comerciais

Os óleos de copaíba comerciais utilizados para estudo foram adquiridos pelo Prof. Edilberto R. Silveira nas farmácias e drogarias de Fortaleza e Belém. Algumas amostras foram cedidas pelos proprietários das empresas responsáveis pelo envasamento do óleo de copaíba para o mercado, assim como dos seus respectivos fornecedores, no intuito de obter dados relativos a autenticidade do produto.

O procedimento utilizado no controle de qualidade encontra-se descrito no Capítulo 5 (página 62).

7.6. Estudo do óleo de copaíba

Quatro frações do Óleo de Copaíba foram coletadas na localidade de Barreiro-Grande, município do Crato-Ceará, denominadas OCCRATO, OCCRATO-2, OCCRATO-3 e OCCRATO-4 (Tabela 7.1). Comparação através de CCD e da RMN destes óleos permitiu afirmar que os quatro óleos analisados eram semelhantes, principalmente em relação à presença de diterpenos furânicos de esqueleto labdano e de β -cariofileno.

Tabela 7.1
Óleos de Copaíba coletados no Crato

Óleo de Copaíba	Data da Coleta	Peso (g)
OCCRATO	04/96	86,0
OCCRATO-2	08/96	10,0
OCCRATO-3	10/97	46,0
OCCRATO-4	08/98	387,0

7.6.1. Extração da fração volátil

Alíquotas dos óleos de copaíba obtidos de exemplares de *Copaifera langsdorffii*, encontradas na localidade de Barreiro Grande-Crato-Ceará (OCCRATO, 36,8 g; OCCRATO-3, 35,1 g e OCCRATO-4, 103,8 g), foram submetidas à extração de seus constituintes voláteis por hidrodestilação, obtendo-se 4,0 mL (7,3%), 6,3 mL (9,4%) e 17,4 mL (10,2%), respectivamente, de óleos essenciais de coloração amarela-pálida (Tabela 7.2, Fluxograma 7.1).

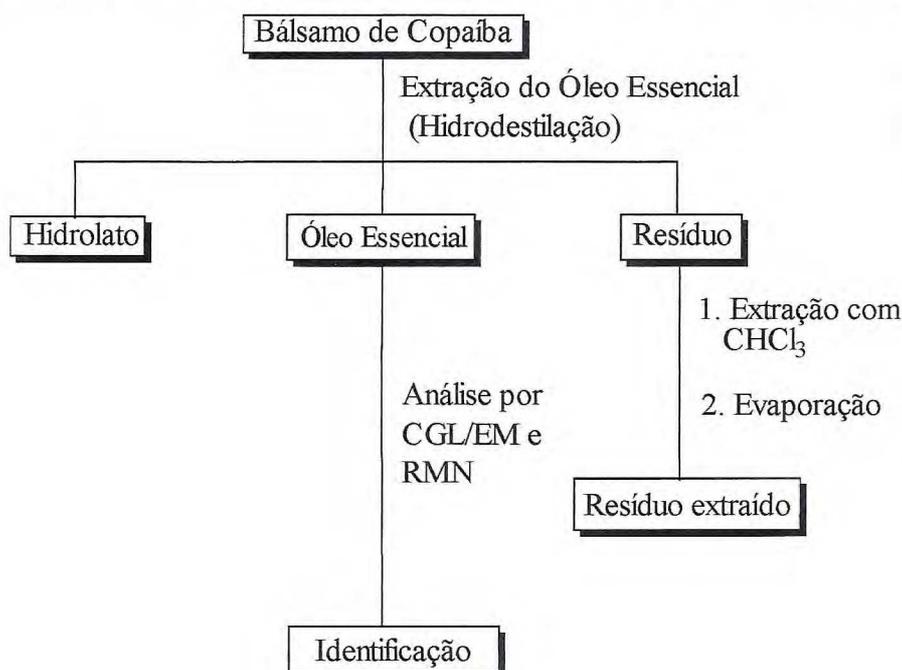
Os óleos essenciais obtidos foram acondicionados em frascos de vidro e mantidos sob refrigeração e atmosfera inerte, sendo em seguida encaminhados às análises por CGL-EM e RMN, levando à identificação dos componentes descritos na Tabela 6.1 (página 79).

As frações não-voláteis das hidrodestilações dos óleos de copaíba estudados foram extraídas com clorofórmio, sêcas com sulfato de sódio anidro e concentradas em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo óleos viscosos denominados de OCA-ResC (32,1 g, 87,2%); OCA-3ResC (29,5 g, 84,0%) e OCA-4ResC (88,4 g, 85,2%), obtidos dos óleos OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4, respectivamente (Tabela 7.2).

Tabela 7.2
Rendimento dos óleos essenciais do bálsamo de copaíba

Óleo de copaíba (g)	Óleo essencial mL/%	Fração não-volátil g/%
OCCRATO (36,8)	4,0/7,3 - OEOCCRATO	32,1/87,2% - OCA-ResC
OCCRATO-3 (35,1)	6,3/9,4 - OEOCCRATO-3	429,5/84,0% - OCA-3ResC
OCCRATO-4 (103,8)	17,4/10,2 - OEOCCRATO-4	88,4/85,2% - OCA-4ResC

Fluxograma 7. 1

Extração dos óleos essenciais do bálsamo de *Copaifera langsdorffii*

7.6.2. Obtenção das frações ácida e neutra

As frações ácidas e neutras foram obtidas por reações ácido-base dos óleos de copaíba e das frações não-voláteis das hidrodestilações com hidróxido de amônio (Tabela 7.3, Fluxograma 7.2, páginas 210 e 211).

7.6.2.1. Reação do OCCRATO com hidróxido de amônio (NH₄OH)

Uma alíquota de 1,1 g do óleo de copaíba OCCRATO foi acondicionada em um balão de 100 mL, juntamente com 10 mL de hidróxido de amônio e a mistura obtida, mantida sob agitação por aproximadamente 24 horas.

Em seguida foi adicionado 15 mL de água destilada à mistura reacional. A fração não ácida do óleo de copaíba foi extraída 3 vezes (15 mL, 10 mL, 10 mL) com hexano, lavada com água destilada, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo 281,5 mg (26,1%) de um óleo viscoso amarelo claro denominado OCA-NA.

A fase aquosa básica restante foi então acidificada com 0,8 mL de ácido clorídrico concentrado, extraída 3 vezes (15 mL, 15 mL e 10 mL) com clorofórmio, lavada com água

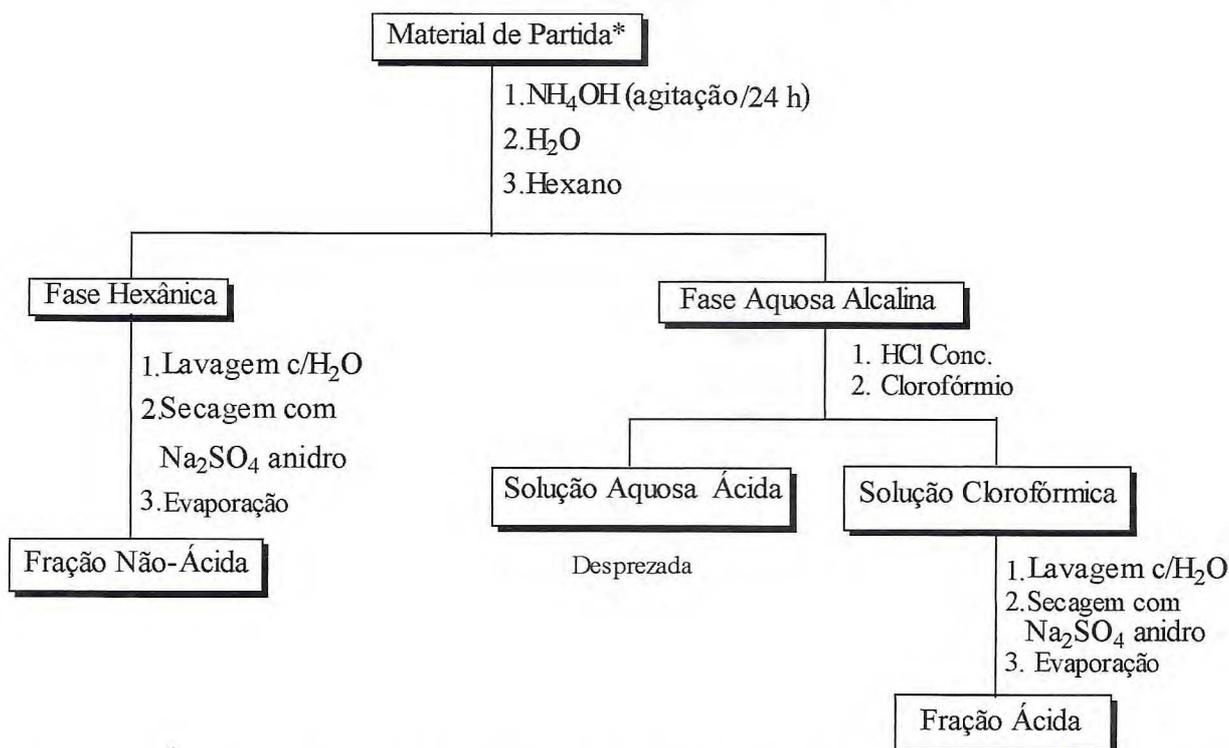
destilada, sêca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo 478,5 mg (51,7%) de um óleo amarelo escuro contendo os constituintes ácidos do óleo de copaíba, denominado OCA-AC.

Outros óleos de copaíba também foram separados em frações ácida e neutra, assim como as frações não-voláteis das hidrodestilações dos óleos de copaíba citados anteriormente, seguindo o mesmo procedimento acima descrito, cujos resultados encontram-se descritos na Tabela 7.3.

Tabela 7.3
Obtenção das frações ácidas e não ácidas dos óleos de copaíba e das frações não-voláteis destes óleos.

Material de Partida	Peso (g)	Fração Não-Ácida (g/%)	Fração Ácida (g/%)
OCCRATO	1,1	0,28/26,6 OCA-NA	0,48/43,5 OCA-AC
OCCRATO-3	9,9	2,7/27,3 OCA-3NA	6,1/61,6 OCA-3AC
OCA-3ResC	29,5	1,3/4,5 OCA-3ResC(NA)	25,3/86,0 OCA-3ResC(AC)
OCCRATO-4	2,1	0,5/23,6 OCA-4NA	1,3/61,3 OCA-4AC
OCA-4ResC	88,0	19,2/21,8 OCA-4ResC(NA)	66,8/75,0 OCA-4ResC(AC)

Fluxograma 7.2
Obtenção das frações ácidas e não-ácidas dos óleos de copaíba (OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4) e das frações não-voláteis destes óleos (OCA-3ResC e OCA-4ResC).



*Alíquotas dos Óleos de Copaíba (OCCRATO, OCCRATO-3 e OCCRATO-4) e das Frações Não-voláteis destes Óleos (OCA-3ResC e OCA-4ResC) foram utilizadas no fracionamento.

7.6.3. Estudo cromatográfico do OCCRATO

7.6.3.1. Tratamento cromatográfico do OCCRATO

42,5 g de óleo de copaíba foram adsorvidos em 270 g de sílica gel e acondicionados em funil de separação de 2.000 mL, sobre 60 g de sílica gel, eluindo-se inicialmente com hexano, seguido de clorofórmio, acetato de etila e metanol (Tabela 7.4).

Análise espectrométrica, por RMN mostrou a presença de diterpenos furânicos nas frações menos polares OCCRATO-H e OCCRATO-C. O interesse pelo isolamento destes constituintes, levou ao tratamento cromatográfico destas frações.

Tabela 7.4
Tratamento cromatográfico de OCCRATO

Eluente	Denominação	Peso (g)	Porcentagem (%)
hexano	OCCRATO-H	17,7	41,6
clorofórmio	OCCRATO-C	13,2	31,0
acetato de etila	OCCRATO-A	6,3	14,8
metanol	OCCRATO-M	0,09	0,2
Total	-	37,3	87,6

7.6.3.1.1. Isolamento de OCH-1 e OCH-2

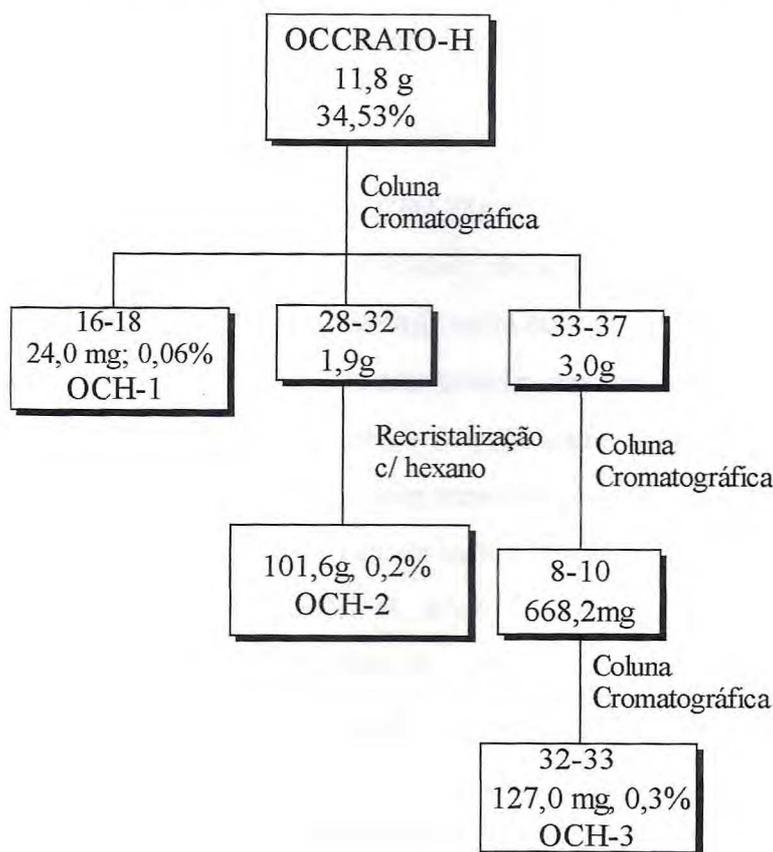
Uma alíquota de 11,8 g de OCCRATO-H foi adsorvida a 15,8 g de sílica gel e acondicionada em um funil cilíndrico de 1.000 mL, sobre 145,2 g de sílica gel. A eluição foi iniciada com hexano, seguido de misturas binárias dos solventes orgânicos: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade.

56 frações de 20 mL foram obtidas e reunidas de acordo com suas semelhanças após análise comparativa por CCD.

A fração 16-18 (24,0 mg, 0,06%), denominada OCH-1, apresentou-se como um sólido branco solúvel em clorofórmio de p.f. 112,5-113,6°C, homogêneo em CCD, $[\alpha]_D^{25} = -37^\circ$ (CHCl₃, c=0,075%), cuja análise espectrométrica por RMN permitiu a identificação deste composto como o aldeído diterpênico *ent*-caur-16-en-19-al (ver determinação estrutural, página 101).

A fração 28-32 (1,9g) apresentou-se como uma mistura de um óleo amarelo escuro e cristais incolores. A recristalização com hexano à quente desta fração forneceu 101,6 mg (0,2%) de cristais incolores (Fluxograma 7.3), denominada OCH-2, que após análise espectrométrica por RMN foi identificada como ácido caurenóico.

Fluxograma 7.3
Tratamento cromatográfico do OCCRATO-H



7.6.3.1.2. Isolamento de OCH-2 e OCH-3

A fração OCCRATO-H (33-37), foi adsorvida a 6,2 g de carvão ativado MERCK e mantida em repouso cerca de 14 horas. A mistura obtida foi acondicionada em funil cilíndrico de 50 mL sobre 7,9 g de sílica gel, eluindo-se inicialmente com hexano, seguido de acetato de etila.

10 frações de 50 mL foram obtidas, resultando em apenas 3 frações após a análise por CCD.

A fração 8-10 foi adsorvida a 736,3 mg de florisil e acondicionada em um funil cilíndrico de 50 mL sobre 49,2 g do mesmo adsorvente. A eluição foi iniciada com clorofórmio, seguida de misturas binárias dos solventes orgânicos: clorofórmio, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 37 frações. As frações semelhantes foram reunidas, seguindo-se a análise por CCD. Das frações obtidas, a fração 32-33 (127mg, 0,3%) apresentou-se como um óleo amarelo claro bastante viscoso, denominado OCH-3, cuja

análise por CCD mostrou tratar-se de um ácido mais polar que o ácido caurenóico, identificado como ácido poliáltico após análise espectrométrica por RMN.

Colunas cromatográficas sucessivas da fração OCCRATO-H, possibilitaram o isolamento de 212,7 mg de OCH-2 (ácido caur-16-en-19-óico) e 9 mg de OCH-3 (ácido poliáltico).

7.6.3.2. Tratamento cromatográfico do OCCRATO-C

Uma alíquota de 10 g do OCCRATO-C, foi adsorvida em 20,0 g de sílica gel e acondicionada em um funil cilíndrico de 1.000 mL sobre 60 g de sílica gel. A coluna foi eluída iniciando-se com hexano PA, seguido de misturas binárias dos solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 60 frações de 35 mL, reunidas após análise por CCD, segundo suas semelhanças.

A fração 35-41 (163 mg, 1,6%) eluída com a mistura hexano: clorofórmio 25% foi analisada espectrometricamente por RMN ^1H , RMN ^{13}C -BB e DEPT (135), revelando a presença de um álcool diterpênico de esqueleto do tipo labdano como constituinte majoritário. Esta fração foi então submetida à acetilação como descrito no item 7.6.3.2.1.

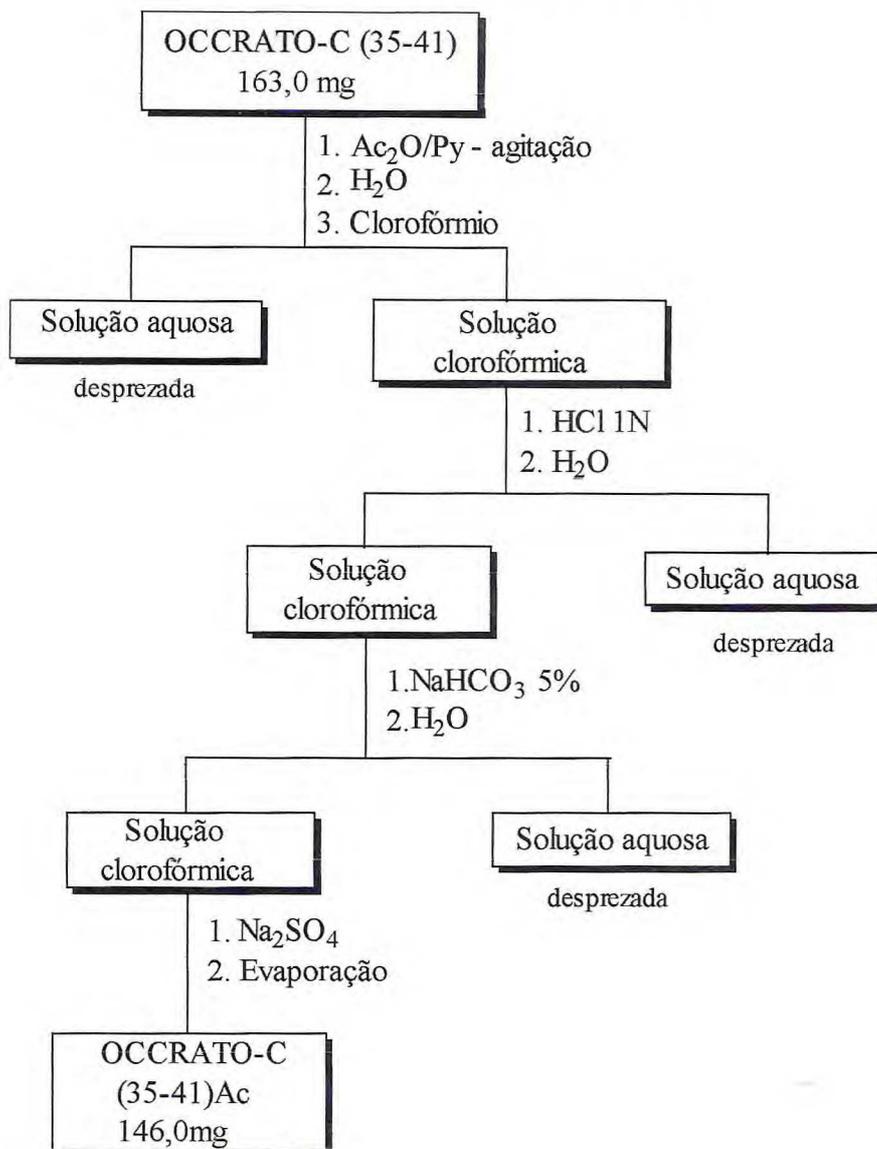
7.6.3.2.1. Acetilação da fração OCCRATO-C(35-41)

163 mg de OCCRATO-C(35-41), foram dissolvidos em 1 mL de piridina e acondicionados em um balão de 50 mL, juntamente com 10 mL de anidrido acético (Fluxograma 7.4, página 205). O sistema reacional foi mantido sob agitação por 16 horas e o progresso da reação acompanhado por CCD.

Após este período, foram adicionados 15 mL de água destilada com gelo à mistura reacional e em seguida a solução formada foi extraída com clorofórmio (3 vezes, 20 mL, 20 mL, 15 mL). A fase clorofórmica obtida foi lavada com HCl 1N e em seguida com 7 mL de água destilada.

O restante do ácido presente na fase clorofórmica foi neutralizado com solução aquosa de bicarbonato de sódio 5%. A fração clorofórmica foi lavada com 10 mL de água destilada, sêca com Na_2SO_4 anidro e concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo 146,0 mg de material acetilado.

Fluxograma 7.4
Acetilação do OCCRATO-C(35-41)



7.6.3.2.2. Isolamento de OCC-AC(1) e OCC-AC(2)

140 mg de OCCRATO-C (35-41)Ac foram adsorvidos em 700 mg de sílica gel e acondicionados em um funil cilíndrico de 50 mL sobre 8,0 g de sílica gel, sendo a coluna eluída isocraticamente com hexano:acetato de etila 90:10, fornecendo 33 frações de 10 mL, reunidas de acordo com as semelhanças observadas por CCD.

A fração 3 (2,4 mg) denominada OCC-AC(1) apresentou-se como um óleo incolor, que após análise espectrométrica por RMN foi caracterizado a derivado acetilado do ácido copaiferólico (ver determinação estrutural, página 106).

A fração 15-17 (2,0 mg) denominada OCC-AC(2), apresentou-se como um óleo incolor, cuja identificação foi efetuada a partir da análise espectrométrica por RMN, sendo relacionada ao ácido copaiferólico que não sofreu reação de acetilação (ver determinação estrutural, página 114).

7.6.3.3. Tratamento cromatográfico da fração OCA-ResC

Uma alíquota de 30,4 g de OCA-ResC foi adsorvida em 111,5 g de sílica gel e acondicionada em um funil cilíndrico de 1000 mL sobre 60,4 g de sílica gel, eluindo-se inicialmente com hexano, seguido de clorofórmio, acetato de etila e metanol. Foram obtidas quatro frações denominadas OCA-ResC-H (14,0 g; 46,0 %), OCA-ResC-C (8,2 g; 27,0 %), OCA-ResC-A (3,5 g; 11,5 %) e OCA-ResC-M (0,2 g; 0,8 %).

7.6.3.3.1. Metilação da fração OCA-ResC-C

Uma alíquota de 7,0 g da fração OCA-ResC-C foi dissolvida em 20 mL de éter etílico e acondicionada em um balão de 250 mL. Este balão foi adaptado ao sistema de destilação, próprio para a metilação com diazometano obtido “*in situ*” a partir da hidrólise alcalina do diazald (*N*-metil, *N*-nitroso- *p*-Toluenosulfonamida). O balão foi mantido sob refrigeração em banho de gelo (33 g de NaCl e 100 g de gelo).

A solução aquosa de hidróxido de potássio 50 % (25 mL), foi acondicionada em um balão de 500 mL e aquecida através de manta aquecedora até a temperatura de 65°C. Adicionou-se gota à gota à solução alcalina, o diazald (10,0 g) dissolvido em éter (90 mL).

A mistura diazometano e éter etílico (solução amarelada) foi destilada diretamente ao balão contendo o substrato por um período de 30 minutos. O balão contendo a solução etérea do substrato e do diazometano foi mantido em repouso à temperatura ambiente por 24 horas, sendo a reação de metilação acompanhada por CCD. Após este período, a mistura reacional foi concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo 7,2 g de material metilado, denominado OCA-ResC-C/Met.

7.6.3.3.2. Tratamento cromatográfico do OCA-ResC-C/Met

Uma alíquota de 6,7 g de OCA-ResC-C/Met foi adsorvida em 10,5 g de sílica gel e acondicionada em um funil cilíndrico de 1.000 mL sobre 60 g de sílica gel.

A eluição foi iniciada com hexano PA, seguido de misturas binárias de hexano:clorofórmio em ordem crescente de polaridade, clorofórmio, acetato de etila e metanol, fornecendo 51 frações de 50 mL (Tabela 7.5).

As frações, após serem analisadas por CCD, foram reunidas de acordo com suas semelhanças.

Tabela 7.5
Frações resultantes do tratamento
cromatográfico do OCA-ResC-C/Met

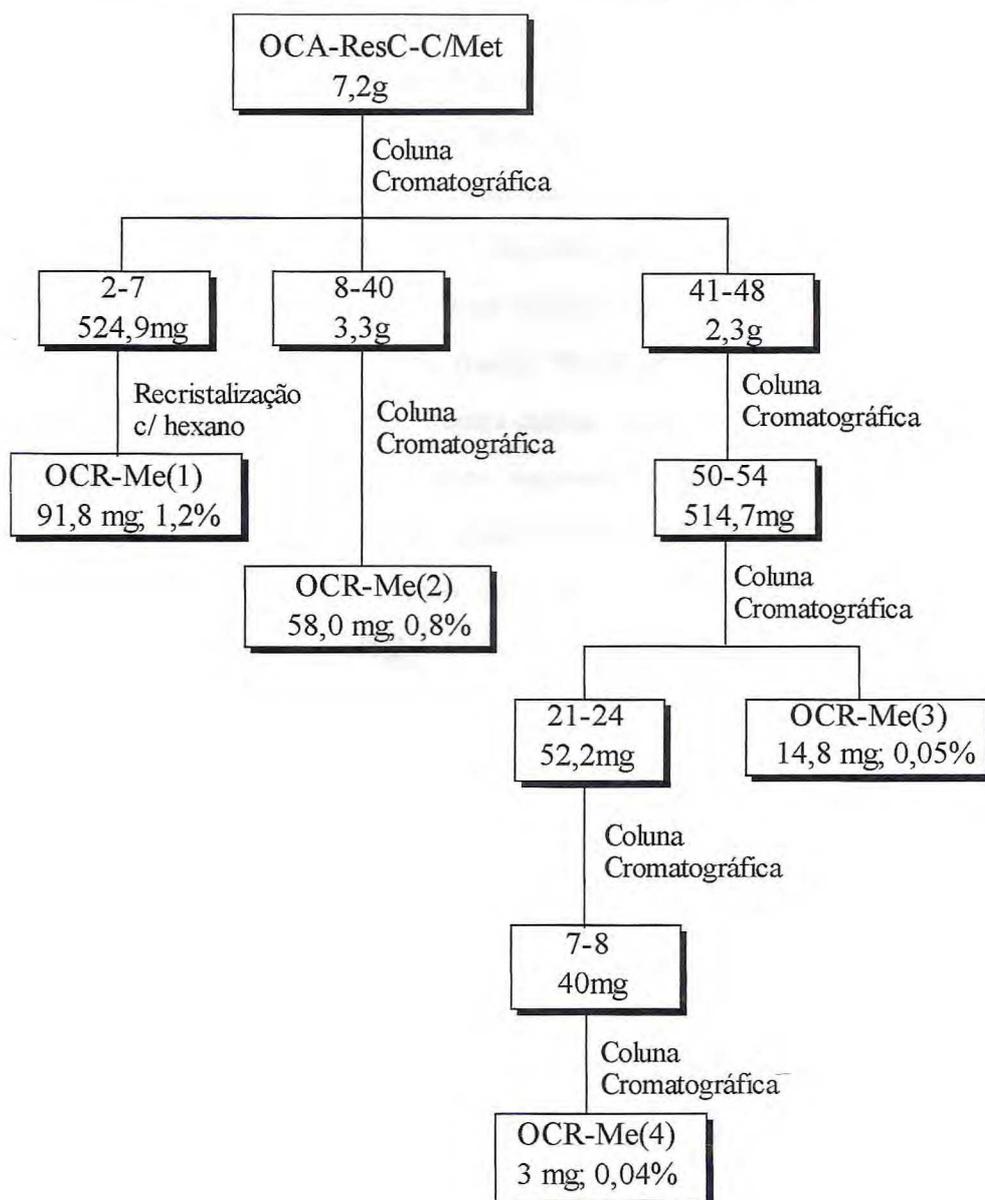
Eluentes	Frações/50 mL
Hexano	1 a 5
Hexano:clorofórmio 90:10	6 a 20
Hexano:clorofórmio 85:15	21 a 30
Hexano:clorofórmio 80:20	31 a 35
Hexano:clorofórmio 75:25	36 a 39
Clorofórmio	40 a 45
Acetato de etila	46 a 48
Metanol	49 a 51

7.6.3.3.3. Isolamento do OCR-Me(1)

A fração OCA-ResC-C/Met (2-7), 524,9 mg, foi recristalizada com hexano, fornecendo 91,8 mg de um sólido branco, denominado OCR-Me(1), que após análise espectrométrica por RMN ^1H , ^{13}C -BB e DEPT (135) pôde ser associado ao caur-16-en-19-oato de metila (Fluxograma 7.5).

Fluxograma 7.5

Tratamento cromatográfico do OCA-ResC-C/Met



7.6.3.3.4. Isolamento do OCR-Me(2)

A fração majoritária OCA-ResC-C/Met (8-40), 3,3 g, foi cromatografada sucessivamente em sílica gel e eluída com misturas binárias de solventes hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade, fornecendo 58 mg de um óleo amarelo-pálido (hexano:acetato de etila 90:10) denominado OCR-Me(2), que após análise espectrométrica por RMN ^1H , ^{13}C -BB e DEPT (135) foi relacionado ao polialtato de metila (Fluxograma 7.5).

7.6.3.3.5. Isolamento do OCR-Me(3)

Os 2,3 g da fração OCA-ResC-C/Met (41-48) foram adsorvidos em 4,0 g de sílica gel e acondicionados em funil cilíndrico de 250 mL sobre 50 g de sílica gel. A eluição foi iniciada com hexano, seguido de misturas binárias de hexano:clorofórmio em ordem de polaridade crescente, acetato de etila e metanol, fornecendo 76 frações de 25 mL.

As frações foram reunidas de acordo com suas semelhanças, após análise por CCD. As frações 50-54 (514,7) e 55-73 (159,5 mg) eluídas com hexano:clorofórmio 95:5 e hexano:clorofórmio 90:10, respectivamente, foram recromatografadas (Fluxograma 7.5).

O tratamento cromatográfico da fração 50-54 em sílica gel acompanhado por CCD, resultou na obtenção de duas frações, dentre outras, sendo uma pura (fração 30) e outra impura (21-24), cujo tratamento cromatográfico encontra-se descrito no item 7.6.3.3.6. A fração 30 (14,8 mg) apresentou-se como um sólido branco, p.f. 139,1-141,0 °C, solúvel em clorofórmio, denominado OCR-Me(3), eluído com hexano:acetato de etila 90:10. Análise espectrométrica por RMN de OCR-Me(3) mostrou tratar-se do *ent*-caur-16-en-19-ol (ver determinação estrutural, página 120)

7.6.3.3.6. Isolamento de OCR-Me(4)

Análise cromatográfica por CCD da fração 21-24 obtida no item 7.6.3.3.5. revelou uma mistura de OCR-Me(3) e um outro composto menos polar.

Cromatografias sucessivas desta fração em sílica gel (3,0 g) e eluição isocrática com hexano:acetato de etila 95:5, acompanhadas por CCD, forneceu a fração 6-9 (3 mg) que se apresentou como um óleo amarelo-pálido, denominado OCR-Me(4), cuja análise espectrométrica por RMN permitiu a proposição da estrutura do éster dimetílico do ácido *ent*-agático para este composto (ver determinação estrutural, página 130).

O tratamento cromatográfico sucessivo de OCA-ResC-C/Met possibilitou o isolamento de mais 7,2 mg do caur-16-en-19-ol descrito no item 7.6.3.3.5.

7.6.4. Estudo cromatográfico do OCCRATO-3

7.6.4.1. Tratamento cromatográfico do OCA-3NA

Uma alíquota de 2,7 g da fração neutra de OCCRATO-3 (OCA-3NA, item 7.6.2., página 209), foi adsorvida em 11,4 g de sílica gel e acondicionada em funil cilíndrico de 125 mL sobre 4,5 g de sílica gel. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, seguido de

clorofórmio e acetato de etila, obtendo-se as frações OCA-3NA-EP, OCA-3NA-C e OCA-3NA-AE. O Tratamento cromatográfico sucessivo da fração OCA-3NA-C forneceu as frações impuras 19 (206,6 mg) e 27-29 (29 mg) que foram recromatografadas, permitindo o isolamento de OC3-N(1) e OC3-N(2), descritos a seguir.

7.6.4.1.1. Isolamento de OC3-N(1)

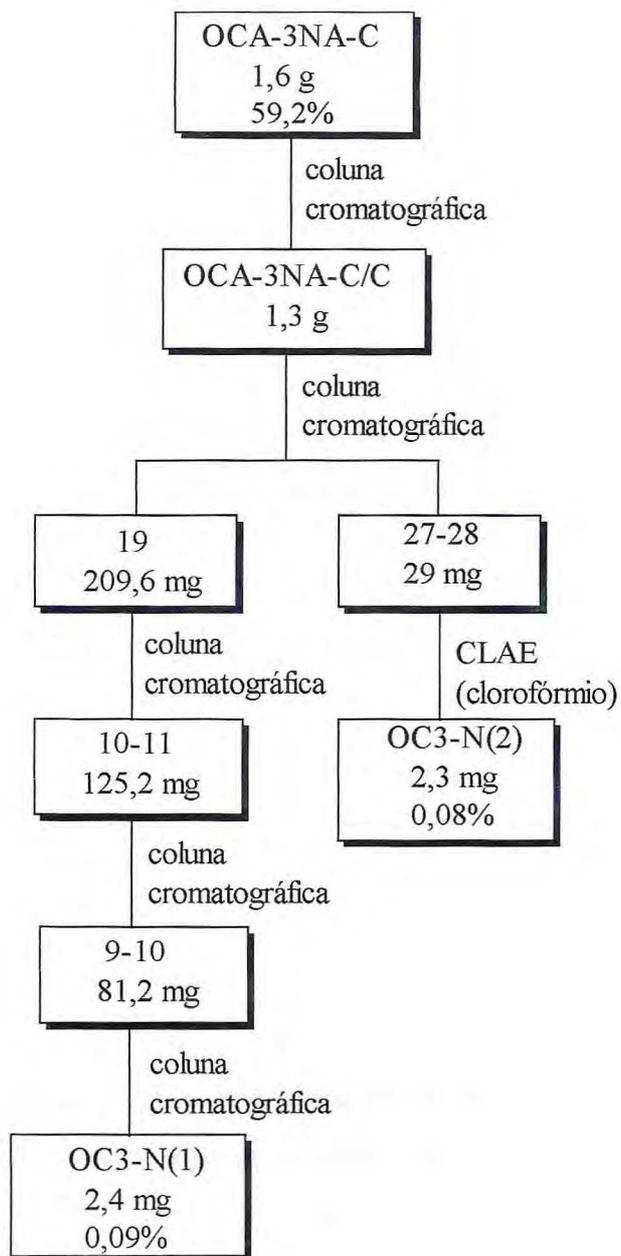
A fração 19 obtida no ítem anterior foi submetida a cromatografias sucessivas em sílica gel (Fluxograma 7.6, página 221), obtendo-se 2,4 mg de um óleo incolor denominado OC3-N(1), que após análise espectrométrica por RMN foi identificado como o óxido de cariofileno (ver determinação estrutural, página 135).

7.6.4.1.2. Isolamento de OC3-N(2)

A fração 27-29 descrita no ítem 7.6.4.1 foi fracionada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A eluição isocrática com clorofórmio e fluxo de 0,7 mL/min, possibilitou a coleta de 6 frações, que foram analisadas por CCD, levando a identificação de uma fração pura apresentando-se como um sólido branco (3 mg; 7,9%) de p.f. 75,9-76,9°C, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, denominado OC3-N(2). Análise espectrométrica por RMN de OC3-N(2) possibilitou a proposição da estrutura do ruilopeziol para este composto (ver determinação estrutural, página 140).

Fluxograma 7.6
Tratamento cromatográfico do OCA-3NA



7.6.5. Estudo cromatográfico do OCA-3ResC(AC)

7.6.5.1. Tratamento cromatográfico de OCA-3ResC(AC)

A fração ácida do resíduo da hidrodestilação do OCCRATO-3 (OCA-3ResC(AC); 25,3 g; ítem 7.6.2., página 209), foi adsorvida em 79,6 g de sílica gel e acondicionada em funil cilíndrico de 500 mL e eluída inicialmente com hexano, aumentando-se progressivamente a polaridade da fase móvel com misturas binárias dos solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol.

Foram coletadas 42 frações de 100 mL, monitoradas por CCD e reunidas de acordo com suas semelhanças. As frações impuras 1-2 (1,0 g) e 3-4 (1,1 g) foram recromatografadas permitindo o isolamento de OC3-RAC(1) e OC3-RAC(2) descritos a seguir.

7.6.5.1.1. Isolamento de OC3-RAC(1)

Tratamentos cromatográficos sucessivos da fração 1-2 (1,0 g) em sílica gel, possibilitou o isolamento de um sólido branco amorfo denominado OC3-RAC(1) (28,3 mg, 0,1%), eluído com éter de petróleo, homogêneo em CCD, r.f. 0,79 em hexano, solúvel em clorofórmio, p.f. 70,6-75,7°C, cuja estrutura foi identificada como o diterpeno caur-16-eno após análise espectrométrica por RMN (ver determinação estrutural, página 151).

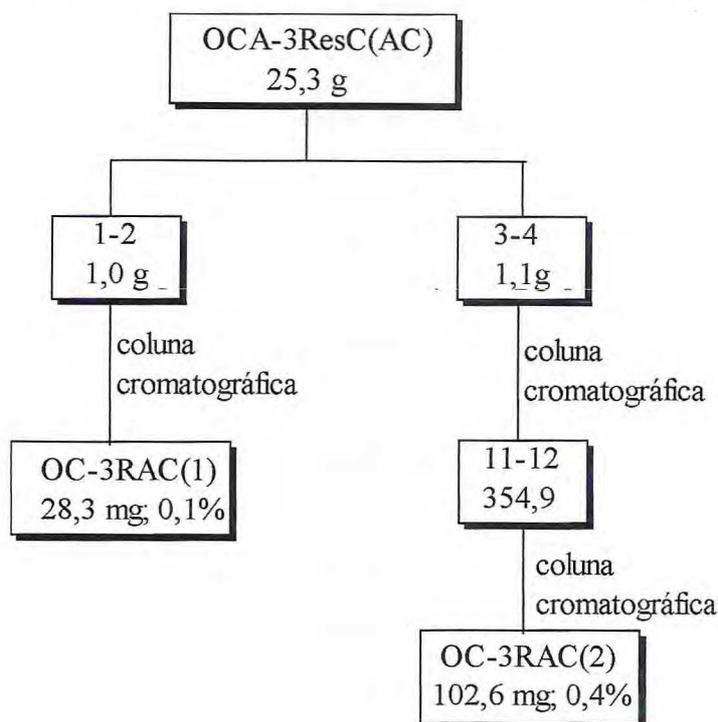
7.6.5.1.2. Isolamento de OC3-RAC(2)

Tratamentos cromatográficos sucessivos da fração 3-4 (1,1 g) (Fluxograma 7.7) em sílica gel, utilizando sistemas binários de solventes hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade, possibilitaram o isolamento de 102,6 mg de cristais incolores de p.f. 176,1-176,2°C, solúvel em clorofórmio, eluído com hexano: acetato de etila 95%, homogêneo em CCD (r.f. 0,21 em clorofórmio) e $[\alpha]_D^{25} = -81^\circ$ (CHCl_3 , c=0,06%) foi então denominado OC3-RAC(2). Análise espectrométrica deste composto possibilitou propor que se tratava do ácido caur-16-en-19-óico (ver determinação estrutural, página 157).

Uma alíquota de 52 mg de OC3-RaC(2) foi metilada com diazometano obtido pela hidrólise alcalina do Diazald como descrito no ítem 7.6.3.3.1, página 216, fornecendo um sólido incolor, homogêneo em CCD, p.f. 82,6-82,8°C, $[\alpha]_D^{25} = -94^\circ$ (CHCl_3 , c=0,075%),

denominado OC3-RAC(2)Me, que após análise espectrométrica foi identificado como o caur-16-en-19-oato de metila (ver determinação estrutural, página 165).

Fluxograma 7.7
Tratamento cromatográfico de OCA-3ResC(AC)



7.6.6. Estudo cromatográfico do OCCRATO-4

7.6.6.1. Tratamento cromatográfico do OCA-4ResC (AC)

Uma alíquota de 66,0 g da fração ácida do óleo de copaíba do Crato (OCCRATO-4), denominada OCA-4ResC (AC), (descrito no item 7.6.2, página 209) foi adsorvida em 101,0 g de sílica gel e acondicionada em funil cilíndrico de 1.000 mL sobre 100 g do mesmo adsorvente e eluída inicialmente com hexano, seguido de hexano:acetato de etila (1:1), acetato de etila e metanol. Foram coletadas 4 frações como descrito na Tabela 7.7.

Tabela 7.6
Rendimento obtido do tratamento cromatográfico de OCA-4ResC (AC)

Solvente	Sigla	Rendimento (%)
Hexano	OCA-4ResC(AC)-H	34,1 g (51,6%)
Hexano:Acetato de etila 1:1	OCA-4ResC(AC)-H:AE	22,3 g (33,8%)
Acetato de etila	OCA-4ResC(AC)-AE	8,10 g (12,3%)
Metanol	OCA-4ResC(AC)-M	1,4 g (2,2%)

7.6.6.1.1. Isolamento de OC4-RAC(1) e OC4-RAC(2)

Colunas Cromatográficas sucessivas da fração OCA-4ResC(AC)-H (34,1g) (Fluxograma 7.8) em sílica gel e eluição com misturas binárias dos solventes hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade, permitiram a obtenção de duas frações puras, segundo a análise por CCD, mostrando o isolamento de 1,5 g (4,4%) de OC4-RAC(1) e 3,7 g (10,8%) de OC4-RAC(2) identificados como os ácidos *ent*-caur-16-en-19-óico (**11**) e poliáltico (**73**), respectivamente, após análise espectrométrica por RMN (ver determinação estrutural de OC4-RAC(2), página 168).

1,0 g de OC4-RAC(2) foi metilado com diazometano obtido *in situ* da hidrólise alcalina do Diazald, fornecendo 622 mg de um óleo amarelo viscoso denominado OC4-RAC(2)Me que após análise por RMN foi identificado com o polialtato de metila.

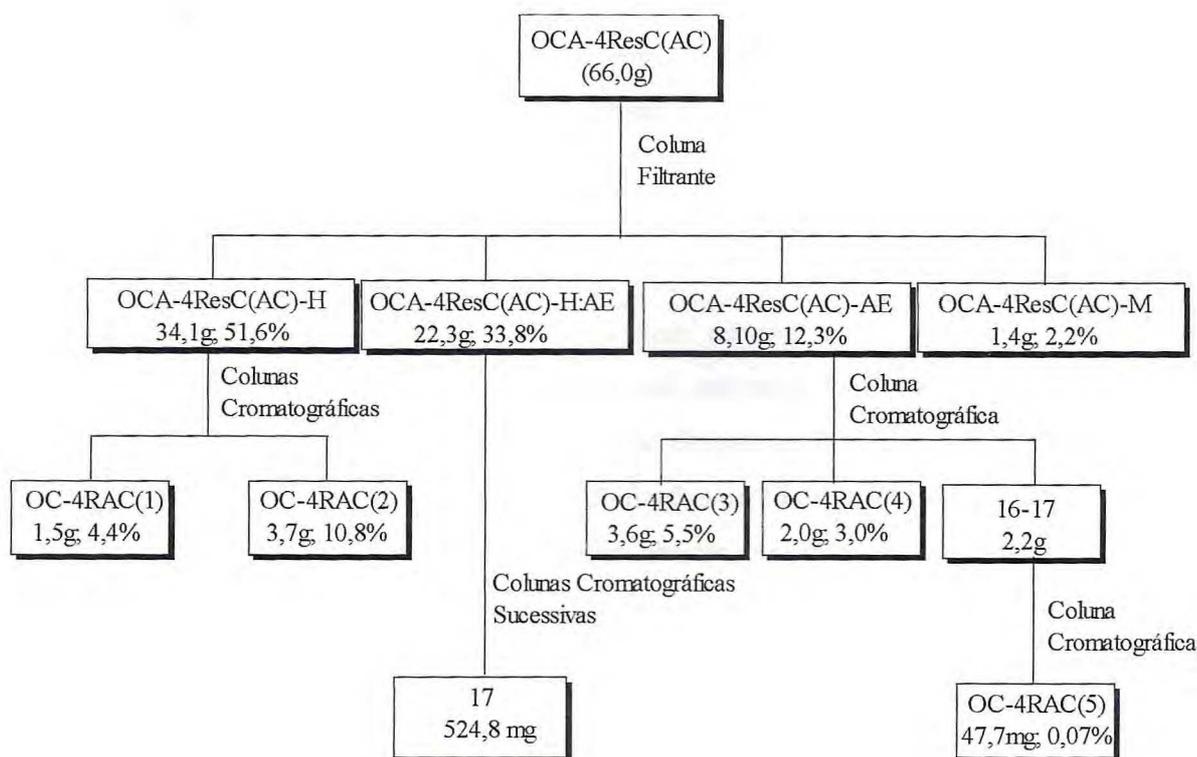
7.6.6.2. Tratamento cromatográfico da fração OCA-4ResC (AC)-AE

A fração OCA-4ResC(AC)-AE (8,1 g), foi fracionada em sílica gel (100 g) através de cromatografia líquida em coluna. A eluição foi iniciada com hexano, seguido de hexano:acetato de etila 9:1, hexano:acetato de etila 1:1, acetato de etila e metanol.

Foram coletadas 23 frações de 125 mL, monitoradas por CCD e reunidas de acordo com suas semelhanças.

As frações 1-12 (3,6 g) e 13-15 (2,0 g) denominadas OC4-RAC(3) e OC4-RAC(4) foram identificadas como ácido poliáltico após análise espectrométrica por RMN ^1H , enquanto que a fração 16-17 (2,2 g) foi recromatografada (Fluxograma 7.8).

Fluxograma 7.8 Estudo cromatográfico do OCA-4ResC(AC)



7.6.6.3. Metilação com diazometano OC4-RAC(4)

A fração OC4-RAC(4) (2,0 g) foi metilada com diazometano, obtendo-se 1,8 g de um óleo amarelo-escuro denominado OC-4RAC(4)Me (Fluxograma 7.9).

O material metilado obtido foi purificado em coluna cromatográfica utilizando-se sílica gel como adsorvente e eluída com hexano. A fração 1 (1,2 g) desta coluna, denominada OC4-RAC(4)Me(1) foi relacionada ao polialtato de metila, segundo análise cromatográfica por CCD, cuja confirmação foi efetivada através de análise espectrométrica por RMN ^1H .

7.6.6.4. Epoxidação de OC4-RA(4)Me(1)

Uma alíquota de 96,4 mg de OC4-RAC(4)Me(1), foi dissolvida em 6 mL de clorofórmio e a solução obtida, transferida para um balão de 50 mL.

Ao substrato, adicionou-se gota à gota uma solução de 158 mg de ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-ACPB) em clorofórmio (4 mL), sob agitação magnética e banho refrigerante (acetoneitrila/ N_2) à -40°C .

O desenvolvimento da reação foi monitorado por CCD até 1h e 43 min de reação. Em seguida, o sistema foi levado à temperatura ambiente e a mistura reacional lavada com solução saturada de carbonato de sódio.

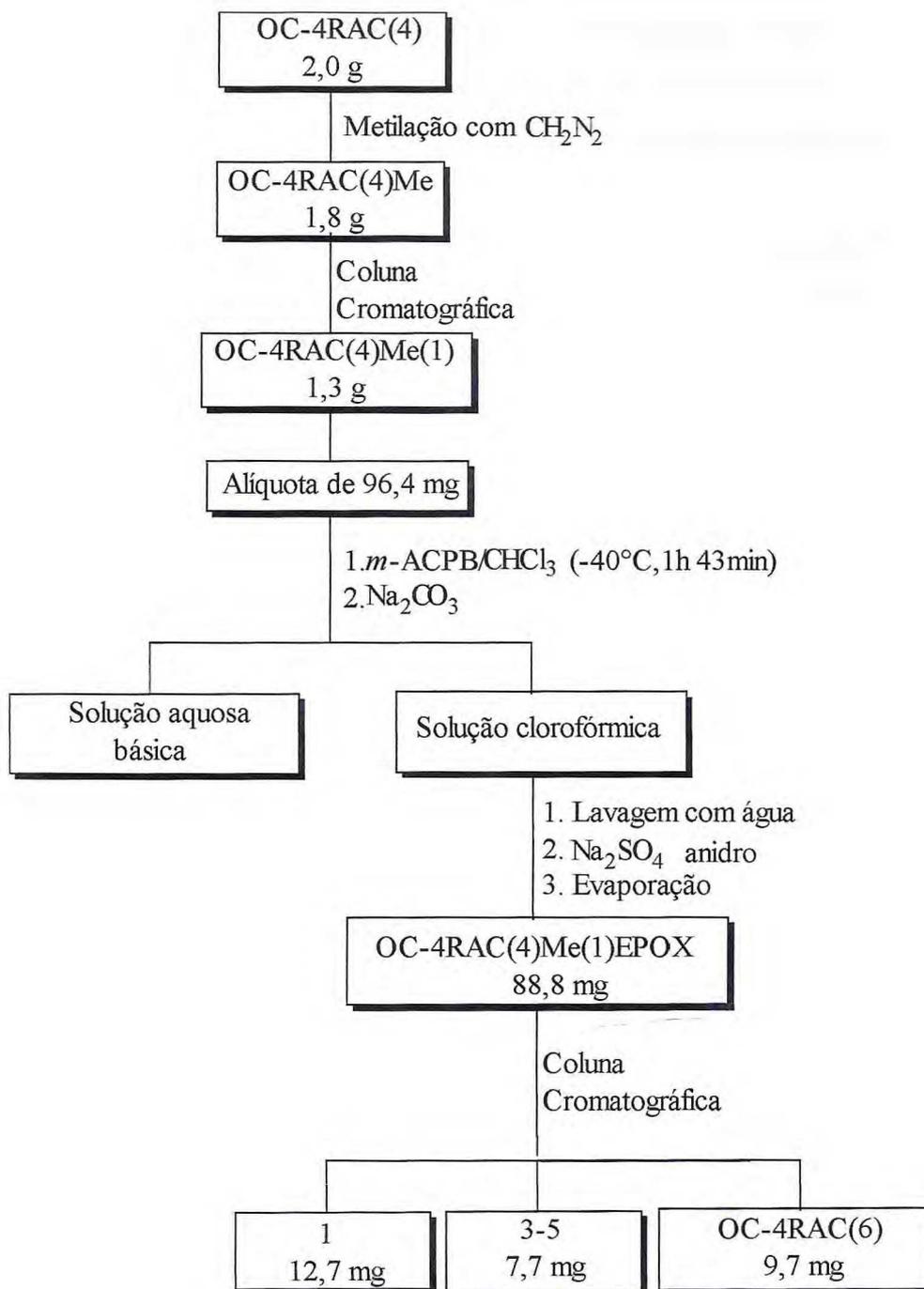
A fase clorofórmica foi então lavada com água destilada, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida, fornecendo 88,6 mg de material epoxidado denominado OC4-RAC(4)Me(1)EPOX.

7.6.6.5. Isolamento de OC4-RAC(6)

O produto da epoxidação obtido no item anterior OC4-RAC(4)Me(1)EPOX foi cromatografado utilizando cromatografia centrifugacional, utilizando Cromatotron modelo 7924-T e placa de sílica Kieselgel 60PF₂₅₄ gipshaltig, fluxo de eluição de 2,5 mL/min e fluxo de N₂ 15 mL/min com gradiente de polaridade, obtendo-se 20 frações de 35 mL (Fluxograma 7.9).

Análise por CCD e RMN das frações obtidas, mostrou que a fração 1 (12,7 mg) tratava-se do polialtato de metila que não sofreu reação, enquanto que a fração 3-5 (7,7 mg), mostrou tratar-se de uma mistura do epóxido do polialtato de metila e ácido *m*-clorobenzóico. Já a fração 10 (9,7 mg) que se apresentou como um sólido incolor, denominado OC-4RAC(6), foi identificada como o diterpeno labdano conhecido como o éster metílico do nivenolídeo (ver determinação estrutural, página 188).

Fluxograma 7.9
Obtenção do OC-4RAC(6)



6.6.6. Isolamento de OC4-RAC(5)

A fração 16-17 (2,2 g) obtida no item 7.6.6.2. foi cromatografada sobre 50 g de sílica gel, fornecendo 50 frações de 25 mL eluídas com misturas binárias dos solventes hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade. As frações semelhantes foram reunidas e após análise por CCD, dentre as quais a fração 45 (47,7 mg), que se apresentou como um óleo amarelado pálido, sendo então denominada OC-4RA(5).

Análise espectrométrica por RMN de OC-4RA(5), permitiu a proposição da estrutura desta substância como um diterpeno labdano identificado como o éster metílico do ácido *ent*-agático (ver determinação estrutural, página 178).

6.6.7. Tratamento cromatográfico de OCA-4ResC(AC)-H:AE

Uma alíquota de 22,0 g de OCA-4ResC(AC)-H:AE foi cromatografada sucessivamente sobre sílica gel e eluída com misturas binárias dos solventes hexano e acetato de etila, fornecendo a fração 17-20 (524,8 mg), que após análise espectrométrica por RMN pôde ser relacionada a uma mistura do nivenolídeo, onde a descrição do isolamento do seu respectivo éster metílico foi citado no item 7.6.6.5 (página 226) com o ácido poliáltico.

Desta forma, foi possível propor a origem do nivenolídeo como sendo um produto natural e não como produto de síntese.

7. Estudo dos óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii*

Um exemplar de *Copaifera langsdorffii*, coletado na localidade de Barreiro-Grande-Crato-Ceará, foi dividido em cascas do caule, casca dos frutos, frutos completos, folhas, lenho do caule e lenho da raiz (Fluxograma 7.10). Os óleos essenciais dos óleos de copaíba coletados no Crato foram descritos no item 7.6., página 207.

Extração dos constituintes voláteis por arraste com vapor d'água das folhas (1.250 g), forneceu 1,0 mL (0,04%) de um óleo essencial de coloração amarelada e odor agradável (Tabela 7.8).

As cascas do caule (650 g), cascas dos frutos (900 g), cascas da raiz (1.020 g), lenho do caule (700 g), lenho da raiz (865 g) e frutos (330 g) foram submetidas a extração por doseamento (hidrodestilação), obtendo-se 0,1 mL (0,003%), 7,5 mL (0,7%), 0,4 mL (0,01%),

0,4 mL (0,008%), 1,0 mL (0,07%) e 1,0 mL (0,3%) de óleos essenciais, respectivamente (Tabela 7.8).

Os óleos essenciais foram transferidos para frascos de vidro e mantidos sob refrigeração e atmosfera inerte.

Análise por CGL-EM dos óleos essenciais obtidos levou a identificação dos componentes descritos na Tabela 6.2 (página 84), cujos espectros de massa encontram-se descritas nas Figuras 6.11 a 6.54, páginas 86 a 94.

Tabela 7.7

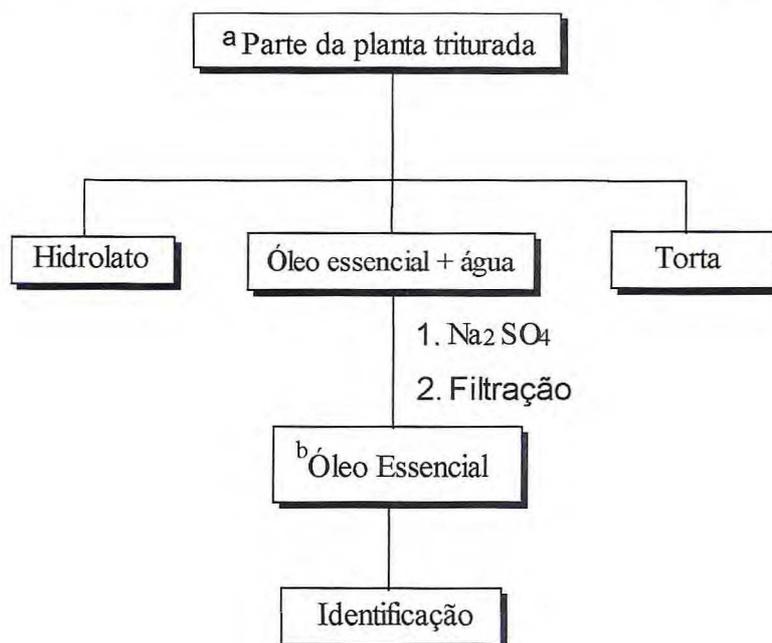
Óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii*

Parte da planta	Sigla	Coloração	Volume (mL)	Rendimento (%)	Método de Extração*
Casca do caule	OECC	amarela-clara	0,1	0,0003	HD
Casca dos frutos	OECF	verde-clara	7,5	0,7	HD
Casca da Raiz	OECR	amarela-clara	0,4	0,01	HD
Folhas	OEFOC	amarela-clara	1,0	0,04	AV
Frutos	OEFR	amarela-escura	1,0	0,3	HD
Lenho do caule	OELC	amarela-clara	0,4	0,008	HD
Lenho da Raiz	OELR	amarela-clara	1,0	0,07	HD

*As siglas HD e AV, representam Hidrodestilação e arraste com vapor d'água, respectivamente.

Fluxograma 7.10

Extração dos óleos essenciais da casca do caule, casca dos fruto, casca da raiz, folha, fruto completo, lenho do caule e lenho da raiz de *Copaifera langsdorffii*



a	b	a	b
Casca do caule	OECC (22 mg)	Frutos completos	OEFR (1,0 g)
Casca dos frutos	OECF (6,3 g)	Lenho do caule	OELC (53,3 mg)
Casca da raiz	OECR (125 mg)	Lenho da raiz	OELR (629,1 mg)
Folhas	OEFOC (458,6 mg)		

7.8. Obtenção dos extratos das sementes de *Copaifera langsdorffii*

As sementes maduras de *Copaifera langsdorffii* (239 g), foram trituradas e em seguida extraídas à quente com clorofórmio por soxhlet, obtendo-se um óleo amarelo escuro, denominado SC-C (18,7 g; 7,85%).

Análise por RMN possibilitou a identificação da presença de cumarina em SC-C, indicada inicialmente pelo seu odor característico, entretanto o seu baixo teor no extrato, impossibilitou o isolamento (Fluxograma 7.11).

7.8.1. Hidrólise alcalina e obtenção dos ésteres metílicos de SC-C

1,0 g do extrato clorofórmico das sementes maduras de copaíba (SC-C), foi acondicionado em um balão de 125 mL, juntamente com 603 mg de KOH dissolvidos em 9 mL de etanol PA. O sistema foi mantido sob refluxo por 4 horas (Fluxograma 7.11).

À mistura reacional, adicionou-se 16 mL de água destilada e extraíram-se duas vezes com 20 mL de hexano PA. A fase hexânica foi lavada com 10 mL de água destilada, sêca com Na₂SO₄ anidro e concentrada em evaporador rotativo, fornecendo 196,5 mg (19,2%) de um óleo amarelo claro, denominado SC-C(I).

A fase aquosa básica resultante da extração com hexano foi acidificada com 2,6 mL de ácido clorídrico concentrado e em seguida, extraída duas vezes com 20 mL de clorofórmio.

A fração clorofórmica foi lavada com 10 mL de água destilada, sêca com Na₂SO₄ anidro e concentrada em evaporador rotativo, obtendo-se 758,0 mg (74,1%) de um óleo amarelo escuro denominado SC-C(AG-C), contendo os ácidos graxos das sementes de *Copaifera langsdorffii*.

Uma alíquota de 655,0 mg de SC-C(AG-C), foi metilada com diazometano, obtendo-se um óleo amarelo-escuro contendo os ésteres metílicos denominado SC-C(EM) (715,0 mg). Este óleo foi posteriormente enviado à análise por CGL-EM, sendo sua composição determinada a partir de dados obtidos em espectroscopia de massa (Resultados descritos no item 6.4, página 95).

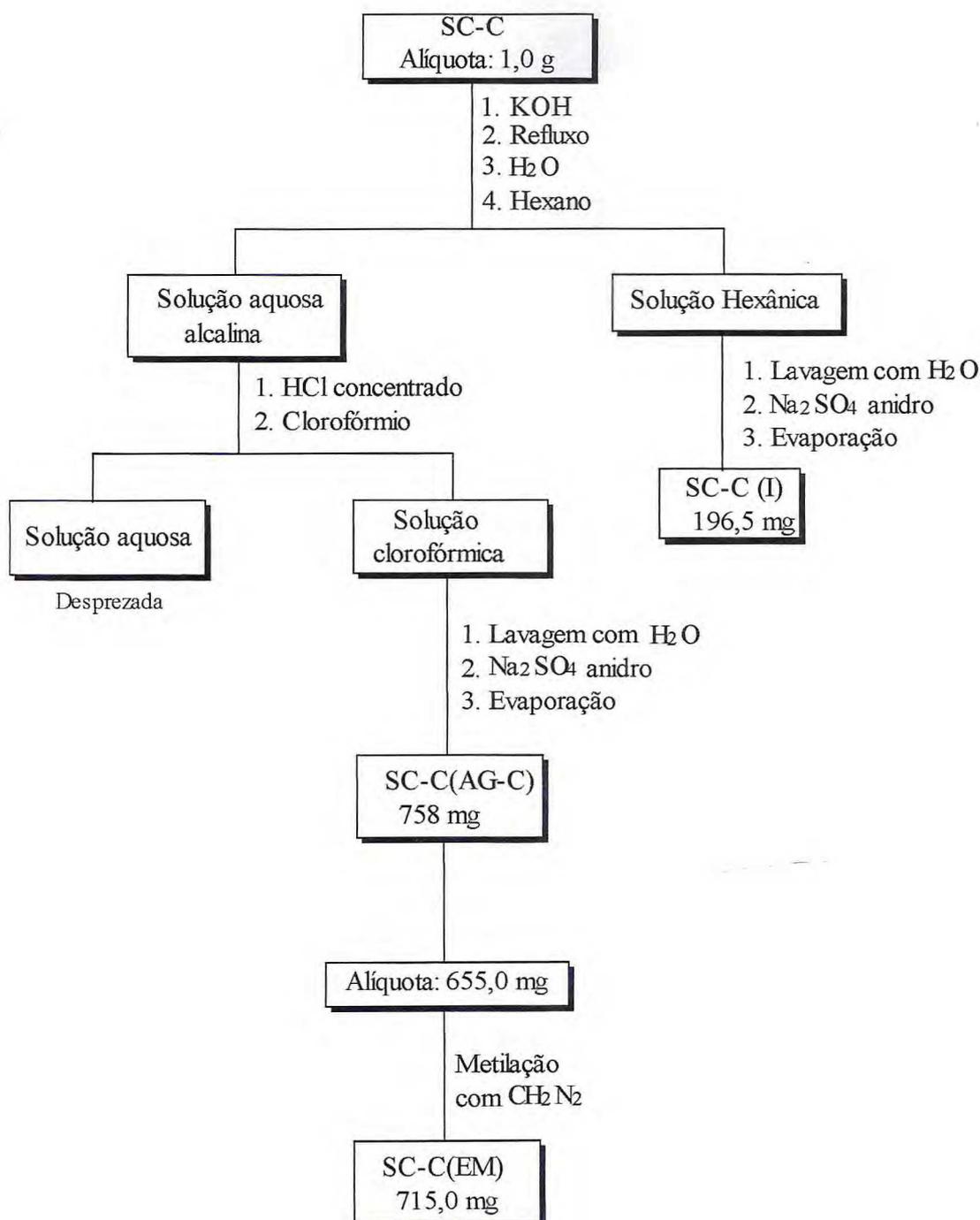
7.8.2. Isolamento de SVC-H(1)

469,0 g das sementes verdes de *Copaifera langsdorffii* foram extraídas com hexano a frio, obtendo-se 11,0 g (2,3%) de uma mistura de óleo amarelo-escuro e sólido branco, denominado SVC-H.

Após recristalização com hexano obteve-se 1,9 g (17%) de um sólido incolor, denominado SVC-H(1), cujos dados espectrométricos possibilitaram a identificação deste composto como sendo a cumarina (ver determinação estrutural, página 195).

Fluxograma 7.11

Obtenção do extrato clorofórmico e hidrólise alcalina de SC-C



Capítulo

8

Conclusões



Copaifera langsdorffii Desf. Fotografia:
Prof. Edilberto R. Silveira (Agosto de 2.001).

8. Conclusões

Conforme a proposta inicial para este trabalho, iniciou-se o estudo químico-farmacológico da copaíba a partir de um espécime identificado botanicamente como *Copaifera langsdorffii* Desf.

Os óleos essenciais obtidos das diversas partes de *C. langsdorffii* foram analisados por CG-EM permitindo a identificação de um total de quarenta e quatro constituintes, sendo quarenta sesquiterpenos e dois diterpenos.

O estudo do óleo fixo das sementes de *Copaifera langsdorffii* permitiu a identificação de onze ácidos graxos a partir dos espectros de massa dos seus respectivos ésteres metílicos: ác. caprílico (1,9 %), ác. cáprico (1,8 %), ác. palmítico (20,2 %), ác. linoleico (2,6 %), ác. oleico (33,1 %), ác. esteárico (7,0 %), ác. gôndico (1,7 %), ác. araquídico (2,7 %), ác. beênico (3,6 %), ác. lignocérico (5,7 %) e ác. cerótico (1,5 %). A cumarina (1,9 g, 17 %) foi isolada a partir do extrato hexânico das sementes verdes de *Copaifera langsdorffii*.

Quatorze constituintes químicos não voláteis foram isolados e identificados a partir do óleo de copaíba. Todos pertencentes à classe dos terpenos, sendo dez destes obtidos como Produtos Naturais e quatro como produtos de derivatização. Dos compostos isolados, seis foram identificados como diterpenos *ent*-caurânicos: cinco como produtos naturais: *ent*-caur-16-eno, *ent*-caur-16-en-19-ol, *ent*-caur-16-en-19-al, ácido *ent*-caur-16-en-19-óico e 19-*nor*-caur-16-en-4 α -ol (ruilopeziol); e um obtido como derivado: *ent*-caurenoato de metila. Sete diterpenos *ent*-labdânicos foram isolados: três como produtos naturais: 18-hidróxi-*ent*-labda-8(17),13(*E*)-dieno-15-oato de metila (*ent*-copaiferolato de metila), ácido poliáltico e ácido *ent*-labda-8(17),13(*E*)-dien-15-metóxicarbonil-18-óico (*ent*-4-*epi*-agatato de metila); e quatro como produtos de reações: 18-acetóxi-*ent*-labda-8(17),13(*E*)-dieno-15-oato de metila (18-acetil-*ent*-copaiferolato de metila), *ent*-labda-8(17),13(*E*)-dien-15,18-oato de dimetila, polialtato de metila e éster metílico do nivenolídeo. Também foi isolado um sesquiterpeno oxigenado: óxido de cariofileno.

Dos quatorze compostos aqui identificados, somente três já haviam sido citados para *C. langsdorffii*: ácido *ent*-caur-16-en-19-óico, ácido poliáltico e óxido de cariofileno. Os diterpenos labdânicos: ácido *ent*-4-*epi*-agático e ácido copaiferólico citados na literatura para *Copaifera* sp e *C. multijuga*, respectivamente, foram isolados de *C. langsdorffii* em estudo, mas como ésteres metílicos naturais a partir do óleo de copaíba.

Os ensaios de atividades farmacológicas foram realizados no Departamento de Farmacologia e Fisiologia (UFC) a partir do óleo de copaíba e óleos essenciais da casca do fruto *C. langsdorffii*. O fato deste trabalho ser efetuado utilizando-se uma espécie identificada botanicamente é de vital importância na associação da composição química com a atividade

farmacológica, o que normalmente não ocorre na maioria dos estudos da copaíba, cuja origem botânica não é citada.

Ensaio de atividades farmacológica efetuados no Departamento de Fisiologia e Farmacologia – UFC mostraram que o óleo de copaíba de *Copaifera langsdorffii* Desf em estudo apresentou atividades: antiinflamatória, antinociceptiva, antiulcerogênica e cicatrizante. O óleo essencial da casca do fruto apresentou atividades antiinflamatória e antinociceptiva.

Dezenove amostras de diversas marcas de óleos de copaíba comerciais adquiridas em farmácias e drogarias de Fortaleza-CE e Belém-PA foram avaliadas espectrometricamente por RMN, resultando na classificação dos óleos de copaíba de acordo com a presença ou ausência do β -cariofileno, β -bisaboleno e de diterpenos furânicos. Das amostras analisadas, quatro não puderam ser relacionadas com óleos de copaíba, permitindo a afirmação de que se tratam de óleos adulterados.

Este é o primeiro relato sobre a identificação por CG-EM de óleos essenciais para o gênero *Copaifera*, exceto para o óleo de copaíba, já que uma citação foi encontrada na literatura para o óleo essencial de *Copaifera* sp [Craveiro, 1981].

Somente uma citação na literatura foi encontrada para os ácidos graxos do gênero *Copaifera* e refere-se a *Copaifera* sp. Desta forma o presente trabalho é o primeiro da espécie *C. langsdorffii*.

Embora este trabalho mostre um grande número de citações bibliográficas com respeito ao estudo da copaíba, nota-se que a maioria das citações refere-se ao óleo de copaíba sem identificação botânica, ou ainda ao óleo de copaíba comercial, que é geralmente uma mistura de óleos de copaíba de várias espécies diferentes. Assim o estudo químico-farmacológico da copaíba que teve início com este trabalho, será o primeiro passo para a continuidade do processo de busca, já que ainda existe muito a ser explorado.

Anexo



Confraternização após defesa de tese. Fotógrafo: José Eduardo P. S. Brasil (10/08/2.001).

CURRICULUM VITAE

Outubro, 2001

DADOS PESSOAIS

Nome: Nilce Viana Gramosa
Filiação: Francisco de Assis Gramosa e Nilza Dorami Viana Gramosa
Data de nascimento: 03/10/1966, Cáceres/MT - Brasil
Carteira de identidade: 10202575 / CFQ / CE / 26/07/1995
CPF: 31705243304

Endereço profissional: Fundação Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Natureza.
Campus Petrônio Portela
Ininga
64049550 Teresina, PI - Brasil
Telefone: (86) 2155692 Fax: 23718112
E-mail: nilce@ufpi.br

Endereço residencial: R. Asdrubal Martins 1258
Fátima
64048200 Teresina, PI - Brasil
Telefone: (86) 2328874
E-mail: nilce@ufpi.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

- 1996 - 2000 Doutorado em Química Orgânica.
Universidade Federal do Ceará, UFC, Ceará, Brasil.
Título: Estudo Químico-Farmacológico de *Copaifera langsdorffii*, Ano de obtenção: 2001.
Orientador: Edilberto Róchã Silveira.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
- 1990 - 1993 Mestrado em Química Orgânica.
Universidade Federal do Ceará, UFC, Ceará, Brasil.
Título: Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Capparis flexuosa* L. e Estudo da Autoxidação do *b*-Cariofileno em Óleos Essenciais, Ano de obtenção: 1994.
Orientador: Telma Leda Gomes de Lemos.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/DF, CNPQ/DF, Brasil.
- 1984 - 1989 Graduação em Química Industrial.
Universidade Federal do Ceará, UFC, Ceará, Brasil.

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Fundação Universidade Federal do Piauí - UFPI

Vínculo institucional

- 2001 - Atual Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor adjunto nível I, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.
- 2000 - 2001 Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor assistente IV, Carga horária: 40.
- 1998 - 2000 Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor assistente III, Carga horária: 40.

- 1996 - 1998 Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor assistente II, Carga horária: 40.
- 1994 - 1996 Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor assistente I, Carga horária: 40.
- 1993 - 1994 Vínculo: Servidor público ou celetista, Enquadramento funcional: Professor auxiliar I, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.

Atividades

- 8/2001 - Atual Outras atividades técnico-científicas, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Atividades realizadas**
1. Orientação de Monitoria.
- 8/2001 - Atual Ensino de pós-graduação, Química.
- Disciplinas ministradas**
1. Seminários gerais.
- 8/2001 - Atual Ensino de graduação, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Disciplinas ministradas**
1. Fundamentos de Química Orgânica -Biologia/Física.
2. Química Orgânica Experimental I.
3. Química Orgânica para Nutrição.
- 8/2001 - Atual Pesquisa e desenvolvimento, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Linhas de pesquisa**
1. Isolamento e Identificação de Constituintes Químicos Fixos e Voláteis de Plantas Hiperacumuladoras de Metais Pesados: Brassica sp.
- 8/2001 - Atual Pesquisa e desenvolvimento, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Linhas de pesquisa**
1. Estudo Químico-Farmacológico-Espectrométrico de Copaifera langsdorffii Desf..
- 6/2001 - Atual Direção e administração, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Cargos ou funções**
1. Representante suplente do Centro de Ciências da Natureza junto à Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí - mandato de 3 anos.
- 3/2001 - 7/2001 Ensino de graduação, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Disciplinas ministradas**
1. Química Orgânica I.
2. Química Orgânica Experimental I.
- 3/2000 - 7/2001 Pesquisa e desenvolvimento, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Linhas de pesquisa**
1. Estudo Químico-Farmacológico-Espectrométrico de Espécies de Copaifera.
- 3/2000 - 2/2001 Ensino de graduação, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.

- Disciplinas ministradas**
 1. Química Orgânica I-Q.
 2. Química Orgânica I.
 3. Introdução à Química Orgânica.
 4. Fundamentos de Química Orgânica.
- 8/1995 - 7/1996 Pesquisa e desenvolvimento, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Linhas de pesquisa**
 1. Estudo Químico dos Óleos Essenciais de Plantas do Cerrado Piauiense.
- 8/1994 - 2/1996 Direção e administração, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Cargos ou funções**
 1. Membro Titular do Colegiado do Curso de Química.
- 9/1993 - 2/1996 Ensino de graduação, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Disciplinas ministradas**
 1. Química Geral.
 2. Introdução à Química Orgânica.
 3. Elementos de Química Orgânica.
 4. Química Orgânica I.
 5. Fundamentos de Química Orgânica.
 6. Química Orgânica 2.
- 7/1995 - 7/1995 Extensão universitária, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Atividades de extensão realizadas**
 1. Palestra: 1ª Olimpíada Piauiense de Química.
- 5/1995 - 6/1995 Direção e administração, Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química.
- Cargos ou funções**
 1. Coordenador de seminários.

4 ÁREAS DE ATUAÇÃO

- 1 Química Orgânica, Química dos Produtos Naturais.
- 2 Química Orgânica, Uso da Ressonância Magnética Nuclear no Controle de Qualidade de Produtos Naturais.

5 IDIOMAS

- Compreende: Espanhol (Razoavelmente), Francês (Pouco), Inglês (Razoavelmente).
 Fala: Inglês (Pouco).
 Lê: Espanhol (Razoavelmente), Francês (Razoavelmente), Inglês (Razoavelmente).
 Escreve: Espanhol (Pouco), Inglês (Pouco).

6 PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTÍSTICA/CULTURAL

6.1 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

6.1.1 Trabalhos resumidos em eventos

- 1 GRAMOSA, Nilce Viana, ESCÓRCIO, S P, CHAVES, Maria Helena. Constituintes Químicos da Espécie *Qualea grandiflora* Mart. In: 24ª REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 2001, Poços de Caldas. 2001.
- 2 PAIVA, L A F, CUNHA, K M de Alencar, SANTOS, F A, GRAMOSA, Nilce Viana, SILVEIRA, E R, RAO, V S N. Effects of *Copaifera langsdorffii* oil-resin and the isolated constituent kaurenoic acid on acetic acid-induced colitis in rats. In: PHARMATECH, 2001, Recife. livro de resumos. 2001.
- 3 GRAMOSA, Nilce Viana, SILVA, Maria Do Socorro Cruz E. Estudo Químico de Plantas Nordestinas: *Copaifera langsdorffii*. In: IX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2000, Teresina. Livro de Resumos. 2000. p.151.
- 4 GRAMOSA, Nilce Viana, BRÍGIDO, Cleiton Lisboa, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas da Chapada do Araripe: Óleos Essenciais de *Copaifera langsdorffii* e *Xylopia nitida*. In: XXXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 1997, Natal. 1997.
- 5 GRAMOSA, Nilce Viana, BRÍGIDO, Cleiton Lisboa, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Óleo de Copaíba: Estudo Químico-Farmacológico e Controle de Qualidade por RMN. In: 8ª COSMÉTICA NORDESTE, 1997, Fortaleza. 1997.
- 6 LIMA FILHO, N N de, ANDRADE, M V C, OLIVEIRA, E H de, SILVA, L M I, MENESES, M E M de, CITÓ, Antônia Maria das Graças Lopes, GRAMOSA, Nilce Viana. Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de Algumas Plantas do Cerrado do Piauí. In: 4ª REUNIÃO ESPECIAL DA SBPC, 1996, Feira de Santana. 1996.
- 7 GRAMOSA, Nilce Viana, BRÍGIDO, Cleiton Lisboa, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Contribuição ao Conhecimento Químico do Óleo de Copaíba do Ceará. In: XIV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 1996, Florianópolis. 1996.
- 8 GRAMOSA, Nilce Viana, BRIGIDO, Cleiton Lisboa, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Contribuição ao Conhecimento Químico do Óleo de Copaíba do Ceará. In: 7º ENCONTRO DE QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS INDUSTRIAIS DO NORTE-NORDESTE, 1996, Fortaleza. 1996.
- 9 GRAMOSA, Nilce Viana, BRÍGIDO, Cleiton Lisboa, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Contribuição ao Conhecimento Químico do Óleo de Copaíba do Ceará. In: XV ENCONTRO UNIVERSITÁRIO DE INICIAÇÃO À PESQUISA, 1996, Fortaleza. 1996.
- 10 GRAMOSA, Nilce Viana, BRÍGIDO, Cleiton Lisboa, UCHÔA, Daniel Esdras de Andrade, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Uso da RMN na Caracterização de Produtos Naturais Comercializados: 1. Óleo de Copaíba. In: XIV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 1996, Florianópolis. 1996.
- 11 GRAMOSA, Nilce Viana, BRIGIDO, Cleiton Lisboa, UCHÔA, Daniel Esdras de Andrade, SILVEIRA, Edilberto Rocha. Uso da RMN na Caracterização de Produtos Naturais Comercializados: 1. Óleo de Copaíba. In: 7º ENCONTRO DE QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS INDUSTRIAIS DO NORTE-NORDESTE, 1996, Fortaleza. 1996.
- 12 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, MELO, Vânia M M. Atividade Antimicrobiana dos Óleos Essenciais de *Capparis flexuosa* e *Copaiba* Comercial. In: VII ENCONTRO DE QUÍMICA DO NORDESTE, 1995, Teresina. 1995.
- 13 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, BRAZ FILHO, Raimundo. Constituintes Químicos Presentes no Óleo Essencial de *Capparis flexuosa* - Feijão Bravo. In: VII ENCONTRO DE QUÍMICA DO NORDESTE, 1995, Teresina. 1995.
- 14 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, MONTE, Francisco José Queiroz. Estudo da Autoxidação do b-cariofileno em Óleos Essenciais. In: I ENCONTRO DE PESQUISADORES, 1995, Teresina. 1995.
- 15 GRAMOSA, Nilce Viana, MENEZES, Maria Elizana M de. Estudo Químico dos Óleos Essenciais de Plantas do Cerrado Piauiense. In: I SEMANA DE QUÍMICA, 1995, Teresina. 1995.

- 3 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, BRAZ FILHO, Raimundo. Novo Constituinte Químico Presente no Óleo Essencial de *Capparis flexuosa* - Feijão Bravo. In: 18ª REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 1995, Caxambu. 1995.
- 7 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, BRAZ FILHO, Raimundo. Novo Constituinte Químico Presente no Óleo Essencial de *Capparis flexuosa* - Feijão Bravo. In: I ENCONTRO DE PESQUISADORES, 1995, Teresina. 1995.
- 8 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, MONTE, Francisco José Queiróz, MORAIS, Selene Maia de, BRAZ FILHO, Raimundo. Novos Constituintes Químicos Presentes no Óleo Essencial de *Capparis flexuosa* (Feijão Bravo). In: 16ª REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 1993, Caxambu. 1993.
- 9 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, MONTE, Francisco José Queiróz. Autoxidação do b-cariofileno em Óleos Essenciais. In: 15ª REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 1992, Caxambu. 1992.
- 10 GRAMOSA, Nilce Viana, ARAÚJO, Francisca Welbaneide Luna de, LEMOS, Telma Leda Gomes de, BRAZ FILHO, Raimundo. Nova Procianidina de *Magonia Glabrata*. In: 14ª REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 1991, Caxambu. 1991.
- 11 GRAMOSA, Nilce Viana, MILITÃO, Júlio Sancho S L T, ANDRADE, Carlos Humberto Sousa, BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Combretum* sp. In: 41ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 1989, Fortaleza. Ciência e Cultura. 1989. v.41. p.485.
- 22 GRAMOSA, Nilce Viana, MILITÃO, Júlio Sancho L T, ANDRADE, Carlos Humberto Sousa. Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Combretum* sp. In: VII ENCONTRO UNIVERSITÁRIO DE INICIAÇÃO À PESQUISA, Fortaleza. 1988.

6.1.2 Artigos completos publicados em periódicos

- 1 PAIVA, L A F, CUNHA, K M de Alencar, SANTOS, F A, GRAMOSA, Nilce Viana, SILVEIRA, Edilberto Rocha, RAO, V S N. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Phytotherapy Research*, n.no prelo, 2001.
- 2 CUNHA, K M de Alencar, PAIVA, L A F, SANTOS, F A, GRAMOSA, Nilce Viana, SILVEIRA, E R, RAO, V S N. Smooth muscle relaxant effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on rat uterus in vitro. *Phytotherapy Research*, n.no prelo, 2001.
- 3 PAIVA, L A F, RAO, V S N, GRAMOSA, Nilce Viana, SILVEIRA, E R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* Oleo-resin on Experimental Gastric Ulcer Models in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.62, p.73-78, 1998.
- 4 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de, BRAZ FILHO, Raimundo. Volatile Constituents Isolated from *Capparis flexuosa* of Brasil. *Journal of Essential Oil Research*, v.9, n.Nov/Dec, p.709-712, 1997.

6.1.3 Artigos resumidos publicados em periódicos

- 1 GRAMOSA, Nilce Viana, LEMOS, Telma Leda Gomes de. Parte 1. Contribuição ao Conhecimento Químico dos Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste - *Capparis flexuosa* L. Parte 2. Estudo da Autoxidação do b-cariofileno em Óleos Essenciais. *Química Nova*, v.18, n.1, p.109.1995.
- 2 GRAMOSA, Nilce Viana, ANDRADE, Carlos Humberto Souza, MILITÃO, Júlio Sancho L T, BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Combretum* sp. *Ciência e Cultura*, v.41, n.supl, p.485.1986.

6.2 ORIENTAÇÕES CONCLUÍDAS

6.2.1 Iniciação científica

- 1 LIMA NETO, José de Sousa. Estudo Químico-Farmacológico-Espectrométrico de Espécies do Gênero Copaifera. 2001. Iniciação científica (Química) - Fundação Universidade Federal do Piauí, Fundação Universidade Federal do Piauí, (Orientador) Nilce Viana Gramosa.
- 2 MENEZES, Maria Elizana M de. Estudo Químico dos Óleos Essenciais de Plantas do Cerrado Piauiense. 1995. Iniciação científica (Farmácia) - Fundação Universidade Federal do Piauí, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/DF, (Orientador) Nilce Viana Gramosa.

7 INDICADORES DE PRODUÇÃO

Produção bibliográfica - 28

Artigos publicados em periódicos - 6

Completos - 4

Resumos - 2

Trabalhos em eventos - 22

Resumos - 22

Orientações concluídas - 2

Iniciação científica - 2

8 OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES

Participação em Bancas Examinadora de Monografia em 07/1997 na UFC.

Participação em Banca para Seleção de Prof. Substituto em 10/1994.

Participação em Banca para Seleção de Prof. Substituto em 09/2.001.

Participação em Banca para Concurso Público de Professor Assistente em 12/1994.

Pesquisadora do Projeto Integrado "Estudo Químico e Farmacológico de Plantas do Estado do Piauí", CNPq, Processo 521252/98-2 (09/99 a 08/01).

Membro do Projeto: Metabólitos Micro e Macromoleculares Biologicamente Ativos - PRONEX (099/98).

Colaboradora do Projeto: Caracterização Química e Bioquímica de Amêndoas Comestíveis de Ocorrência em Cerrados Piauienses e de Sementes de Cultivares de Vigna Unguiculata. CNPq, Processo 468436/00-6.