

UNIVERSIDADE DE ÉVORA
Departamento de Química

COMPONENTES DITERPÉNICOS DO HALIMIUM VERTICILLATUM

(BROT.) SENNEN



57 304

JESUS MIGUEL LOPEZ RODILLA

1 9 8 8

Dissertação apresentada
à Universidade de Évora para
a obtenção do grau de Doutor

" A my mujer e hijo "

Este trabalho foi realizado no Departamento de Química da Universidade de Évora e no Departamento de Química Orgânica da Universidade de Salamanca, sob a orientação conjunta do Professor Doutor Júlio Gonzalez Urones (Faculdade de Química, Salamanca) e Professor Doutor Fernando M. S. Brito Palma (Faculdade de Ciências de Lisboa) a quem quero expressar o meu sincero agradecimento pela sua constante e acertada orientação.

Igualmente, desejo agradecer a colaboração dos Doutores Isidro Sanchez Marcos e David Diez Martin pela ajuda e tempo dedicado à realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Para além dos agradecimentos já expressos às pessoas mais directamente ligadas à orientação deste trabalho, quero ainda agradecer:

. Ao Professor Doutor Carlos Ferreira de Miranda todo o carinho dedicado à criação de condições laboratoriais que permitiram que parte importante deste trabalho fosse realizado no Departamento de Química da Universidade de Évora.

. Ao Professor Doutor César A.N.Viana, da Faculdade de Ciências e do Centro de Electroquímica e Cinética da Universidade de Lisboa, por nos ter recebido numa das suas linhas de investigação, deste modo possibilitando-nos o acesso a meios que complementaram os existentes na Universidade de Évora.

. Ao Professor Eng^o. José Vicente C. Malato Beliz, à Dr^a. Marília Clara de Meneses do Departamento de Ecologia e ao Dr. Rui Brandão do Departamento de Biologia da Universidade de Évora pela sua colaboração na recolha e classificação da planta.

. À Professora Doutora Maria Helena Florêncio do Centro de Espectrometria de Massa da Universidade de Lisboa, a sua preciosa ajuda na obtenção dos espectros de massa, bem como ao Eng^o. Fernando Matos, do Complexo Interdisciplinar, pela realização de espectros de RMN protónica.

. A todos os meus colegas que nos vários laborat^orios onde este trabalho foi realizado tanto nos apoiaram, em parti^ucular aos Dr. Narciso Martin Garrido, Conchy Alonso Alonso, Susana Santos, Eduarda Ara^ujo, Jos^e Maria Arteiro e Ant^onio Neto Vaz.

. Ao INIC por ter subsidiado parte deste trabalho.

I N D I C E

| | Pág. |
|--|------|
| AGRADECIMENTOS | I |
| RESUMO | 3 |
| CAPITULO I | |
| INTRODUÇÃO | 9 |
| 1.1 - Caracterização do <i>Halimium verticillatum</i> | 9 |
| 1.2 - Estudos prévios sobre <i>Cistaceae</i> | 11 |
| 1.2.1 - Estudos prévios sobre o género <i>Cistus</i> ... | 12 |
| 1.2.2 - Estudos prévios sobre o género <i>Halimium</i> | 24 |
| CAPITULO II | |
| MÉTODOS, DISCUSSÃO E RESULTADOS | 35 |
| 2.1 - Extracção e fraccionamento | 35 |
| 2.2 - Parte ácida do extracto descerado | 36 |
| 2.2.1 - 15-Hidroxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₈) | 36 |
| 2.2.2 - 15-Cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₁) | 43 |
| 2.2.3 - 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo (A ₂) | 45 |
| 2.2.4 - 15-Isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₃) | 47 |
| 2.2.5 - 15-Acetoxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₄) | 48 |
| 2.2.6 - 15-Metoxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₅) | 50 |
| 2.2.7 - 7-Labden-15,17-dioato de metilo (A ₆) | 51 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.2.8 | - 15-Formiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₇) | 53 |
| 2.2.9 | - 15-Hidroxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo (A ₉) | 54 |
| 2.2.10 | - 6 β ,15-Dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo (A ₁₀) | 58 |
| 2.2.11 | - 7 β ,15-Dihidroxi-8-labden-17-oato de metilo (A ₁₁) | 63 |
| 2.3 | - Parte neutra de saponificação | 69 |
| 2.3.1 | - 7,16-Valparadieno (N ₁) | 69 |
| 2.3.2 | - 7,8-Epoxi-16-valpareno (N ₂) | 72 |
| 2.3.3 | - Fitol (N ₃) | 75 |
| 2.3.4 | - 7,13E-Labdadien-15-ol (N ₄) | 76 |
| 2.3.5 | - 8 ξ -Hidroxi-7(20),16-valparadieno (N ₅) .. | 77 |
| 2.3.6 | - Sitosterol (N ₆) | 79 |
| 2.3.7 | - 15,17-Diacetoxi-7-labdeno (N ₇) | 79 |
| 2.4 | - Conclusões | 81 |

CAPITULO III

| | |
|--|----|
| PARTE EXPERIMENTAL | 89 |
| 3.1 - Instrumentação | 89 |
| 3.2 - Técnicas cromatográficas gerais | 90 |
| 3.3 - Reacções gerais mais utilizadas | 91 |
| 3.4 - Extracção e fraccionamento | 92 |
| 3.5 - Produtos da parte ácida | 94 |
| 3.5.1 - Cromatografia das fracções 13-14 | 95 |
| 3.5.2 - Cromatografia das fracções 17-22 | 96 |

| | Pág. |
|---|------|
| 3.5.3 - Cromatografia das fracções 23-25 | 96 |
| 3.5.4 - Caracterização espectroscópica dos produtos ácidos isolados | 96 |
| 3.5.5 - Caracterização química de alguns produtos | 109 |
| 3.5.6 - Configuração absoluta de A ₈ | 115 |
| 3.6 - Produtos da parte neutra | 120 |
| 3.6.1 - Cromatografia das fracções 10-15 | 122 |
| 3.6.2 - Cromatografia das fracções 28-43 | 122 |
| 3.6.3 - Cromatografia das fracções 51-86 | 122 |
| 3.6.4 - Cromatografia das fracções 127-134 | 123 |
| 3.6.5 - Caracterização espectroscópica dos produtos neutros isolados | 124 |
| 3.6.6 - Caracterização química de N ₇ | 129 |
| 3.7 - TABELAS DE RMN DE ¹³ C E ESPECTROS DOS COMPOSTOS | 131 |
| BIBLIOGRAFIA | 213 |



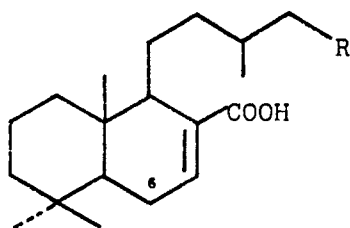
R E S U M O



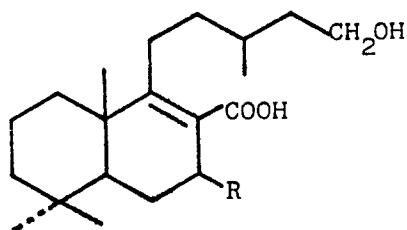
RESUMO

Estudou-se o extracto de *n*-hexano do *Halimium verticillatum* (Brot.) Sennen (Corroios, Setúbal).

Da parte ácida deste extracto isolaram-se vários ácidos com esqueleto labdânico da série normal (A₁ - A₁₁):



| | R | |
|-----------------|---|-------|
| A ₁ | CH ₂ O Cin* | |
| A ₂ | CH ₂ O Cin* Z | |
| A ₃ | CH ₂ OOCCCH(CH ₃) ₂ | |
| A ₄ | CH ₂ OOCCCH ₃ | |
| A ₅ | CH ₂ OCH ₃ | |
| A ₆ | COOCH ₃ | |
| A ₇ | CH ₂ OOCH | |
| A ₈ | CH ₂ OH | |
| A ₁₀ | CH ₂ OH | 6β-OH |



| | R | |
|-----------------|---------------------|--|
| A ₉ | 7α-OCH ₃ | |
| A ₁₁ | 7β-OH | |

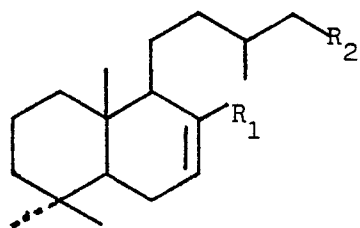
* Cin = Cinamoilo

Todos estes ácidos têm a cadeia lateral saturada e como particularidade apresentam um grupo carboxilo em C - 17 conjugado com uma dupla ligação Δ^7 ou Δ^8 .

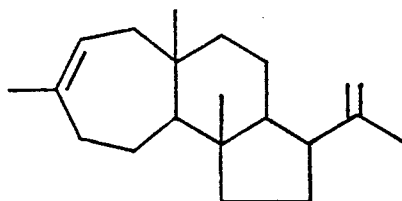
O composto maioritário, A_8 , tem o grupo hidroxilo de C-15 livre enquanto em todos os outros compostos este grupo está esterificado pelo ácido cinâmico ou acético, ou ainda, menos frequentemente, por outros ácidos.

A estrutura de A_{11} foi confirmada por síntese a partir de A_8 .

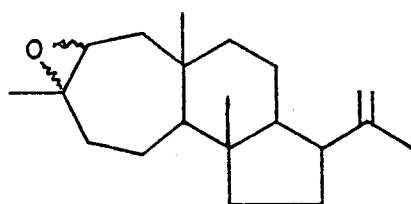
Da parte neutra do extracto de *n*-hexano isolaram-se vários compostos com esqueleto labdânico da série normal (N_4, N_7), com dupla ligação Δ^7 , e ainda um diterpeno e dois derivados (N_1, N_2, N_5) com um novo esqueleto carbonado, que designámos por *valparano*.



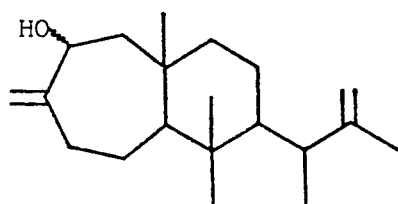
| | R_1 | | R_2 |
|-------|----------|---------------|----------|
| N_4 | CH_3 | Δ^{13} | CH_2OH |
| N_7 | CH_2OH | | CH_2OH |



N₁: 7,16-valparadieno

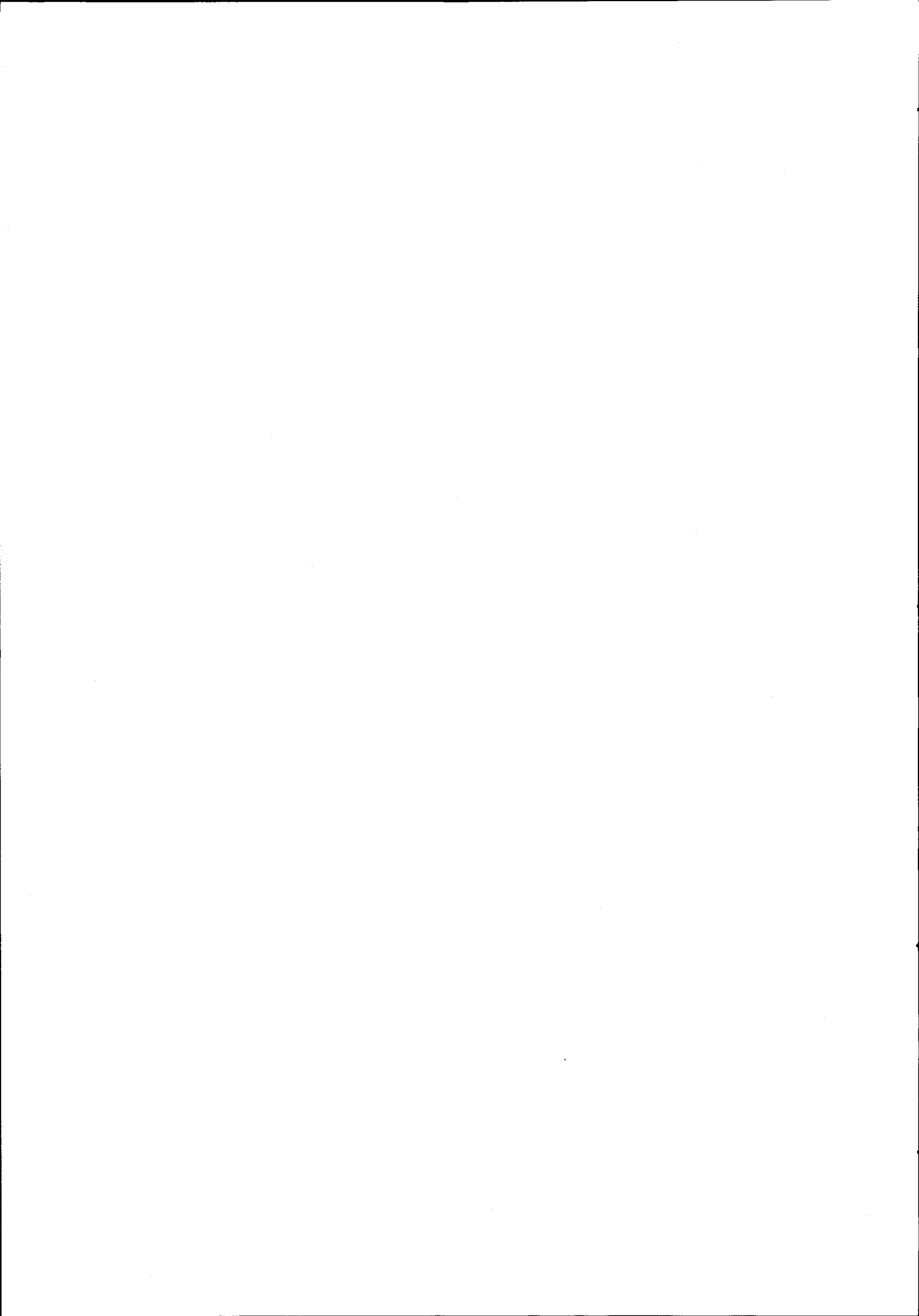


N₂: 7,8-epoxi-16-valpareno



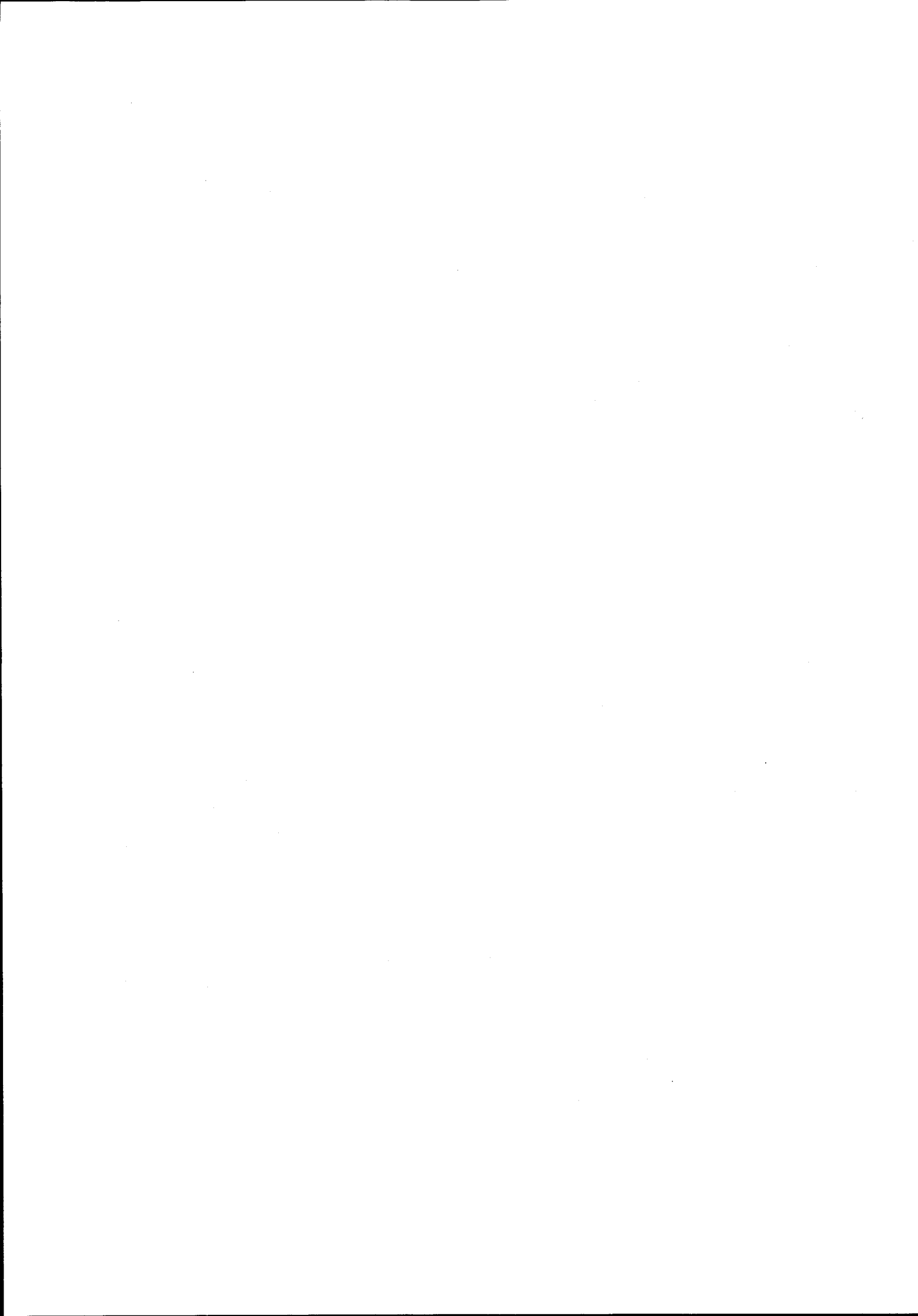
N₅: 8ξ-hidroxi-7(20),16-valparadieno

Com exceção do composto N₄ todos os outros são no
vos produtos naturais.



CAPITULO - I

INTRODUÇÃO



CAPITULO I - INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi realizado no Departamento de Química da Universidade de Évora, no âmbito do projecto "Estudo da composição Química de Plantas Endémicas da Flora Portuguesa" do CECUL, em colaboração com o Departamento de Química Orgânica da Universidade de Salamanca, onde, desde há vários anos, se tem vindo a proceder a um estudo sistemático da composição química de plantas da zona Oeste de Espanha especialmente da família das Cistáceas.

Aqui se descrevem os compostos isolados do extracto de hexano do *Halimium verticillatum* (Brot.) Sennen.¹

1.1 - Caracterização do *Halimium verticillatum*

O *Halimium verticillatum* é uma planta da família das *Cistaceae*, que se apresenta na forma de arbusto ou sub-arbusto nanofanerófito de 25 a 60 cm, com ramos folhosos curtos e erecto-patentes, esparsamente estrelado-pilosos.

- A planta foi classificada pelo Prof. Eng^o. José Vicente Malato Beliz, do Departamento de Ecologia da Universidade de Évora, onde se encontram depositadas alguns exemplares.

As folhas estão distribuídas ao longo dos ramos, são recurvado-patentes e curtas, de 8 a 12 mm. São decussadas sem estípulas, de margem por vezes revoluta.

Os floros dispõem-se em racimos verticilados com 3-5 verticilos, cada um de cimeiras (3-) 4-5(-7) - floros. Os pedicelos são iguais e filiformes, de cor branca e com diâmetro de até 6 mm. O cálice apresenta sépalas pubescentevilosas, com as duas externas muito menores que as três internas.

As cápsulas têm diâmetro de 5-6 mm, são pubescentes, glandulosas e escassamente vilosas. As sementes são tetraédricas e tuberosas.

A planta desenvolve-se em matas ou matos geralmente xerofílicos, em solos sobretudo siliciosos.

É uma planta endêmica da Estremadura Portuguesa, ocorrendo a baixa altitude, apenas ao Sul do rio Tejo.





1.2 - Estudos prévios sobre Cistaceae

Da família das *Cistaceae* foram quimicamente estudados dois gêneros: *Cistus* e *Halimium*.

Os *Cistus* da Península Ibérica apresentam normalmente flores brancas ou amarelas, embora existam três espécies que possuem flores cor de rosa: o *Cistus albidus* L., o *Cistus Crispus* e o *Cistus heterophyllus*.

Os *Halimium* têm flores brancas ou amarelas. Até agora, tem sido dedicado maior interesse químico aos de flor branca, de que existem três espécies: o *Halimium umbellatum*,

o *Halimium viscosum* e o *Halimium verticillatum*.¹

1.2.1 - Estudos prévios sobre o género *Cistus*

Na maioria das plantas já estudadas, tanto do género *Cistus* como do *Halimium*, os compostos químicos mais abundantes são diterpenos policíclicos. Excepcionalmente, o *Cistus salvifolius*² e o *Cistus crispus*³ são constituídos maioritariamente por "ceras". Os outros *Cistus* podem dividir-se em dois grupos, dependendo da percentagem de parte ácida e de parte neutra dos seus extractos:

i) Predomina a parte ácida em:

- *C. ladaniferus* L. (51%)⁴
- *C. psilosépalus* L. (59%)⁵
- *C. populifolius* L. (66%)⁶
- *C. monspeliensis* L. (69%)⁷
- *C. laurifolius* L. (66%)^{8,9}
- *C. clusii* Dunal L. (65%)¹⁰

ii) Predomina a parte neutra em:

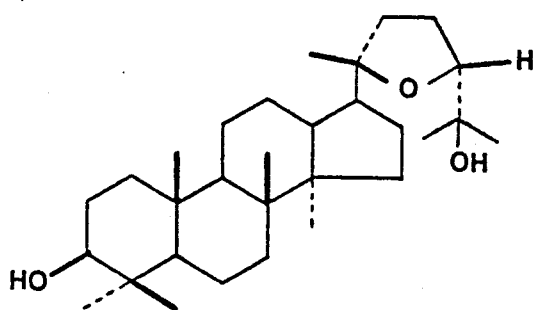
- *C. albidus* L. (84%)¹¹
- *C. palhinhae* Ingram (69%)¹²
- *C. libanotis* L. (66%)¹³

Nos *Halimium* de flor branca predomina sempre a parte ácida sobre a neutra, tendo-se encontrado as seguintes percentagens:

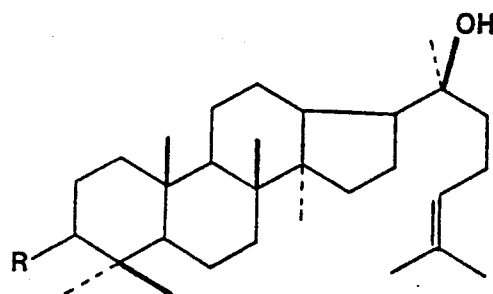
H. umbellatum (85%)¹⁴

H. viscosum (73%)¹⁵⁻²²

Da parte neutra dos *Cistus albidus*¹¹ e *libanotis*¹³, pertencentes ao grupo ii), isolaram-se fundamentalmente triterpenos tetracíclicos com esqueleto damarano funcionalizados com um grupo hidroxilo ou carbonilo no carbono 3. Outros grupos funcionais presentes localizam-se na cadeia lateral (Figuras 1 e 2).

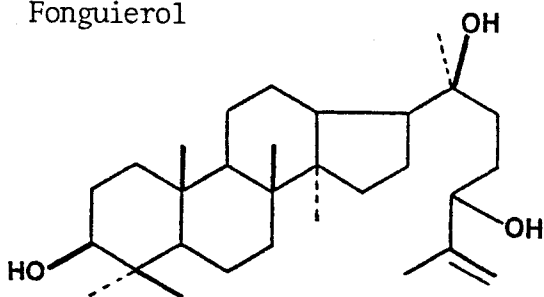


ocotilol II



R=0 Dipterocarpol
R=β-OH Damarenediol II

Fonguierol



Isofonguierol

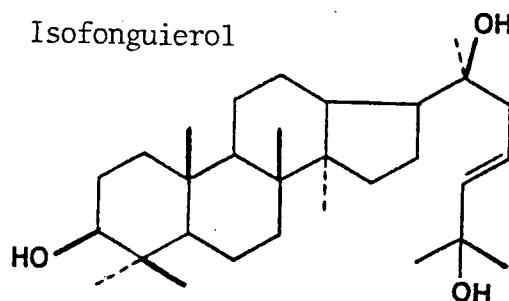
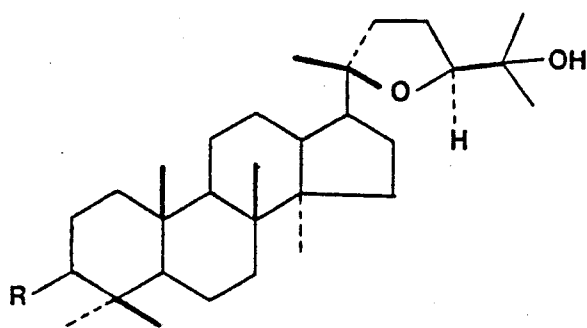
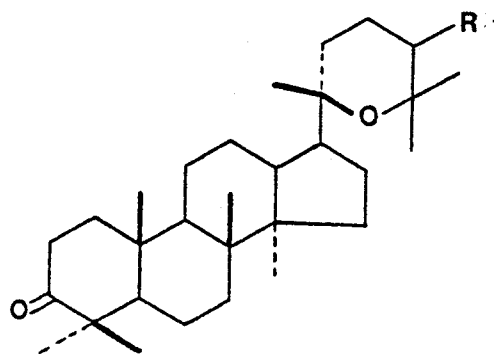


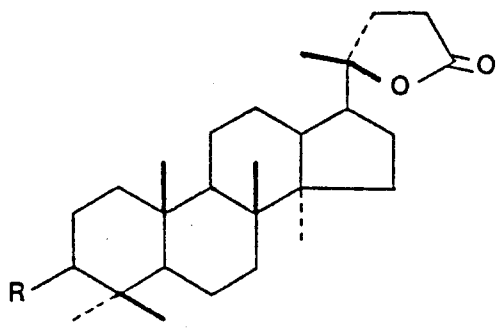
Figura 1 - Compostos isolados da parte neutra do *Cistus albidus*.



R=O cabraleona
R=β-OH 3β - cabraleadiol



R=OAc 20S,25-epoxi-24β-acetoxi-3-dama-
ranona
R=OH 20S,25-epoxi-24β-hidroxi-3-dama-
ranona



R=O Cabraleolactona
R=β-OH 3β-cabraleohidroxilactona

Figura 2 - Compostos isolados da parte neutra do *Cistus libanotis* L.

Da parte ácida do *Cistus libanotis* L¹³ isolaram-se dois triterpenos damarânicos com o anel A aberto (Figura 3).

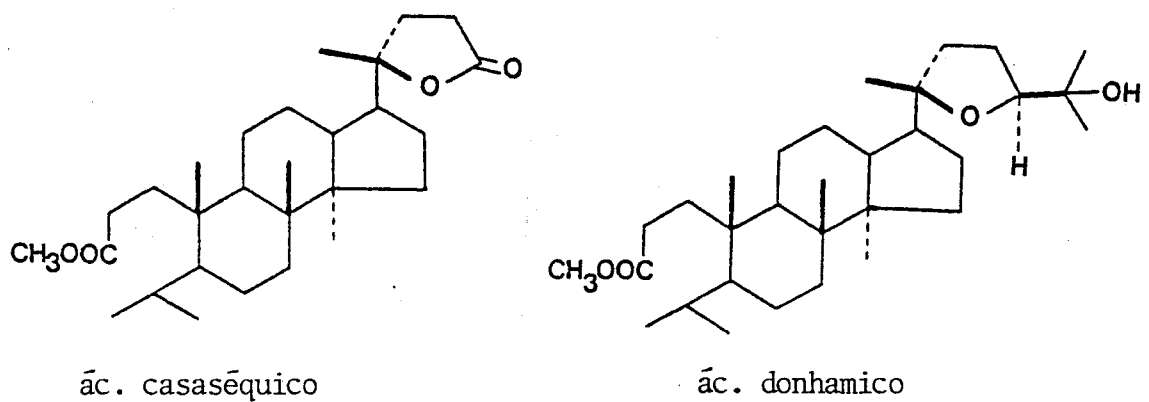


Figura 3 - Triterpenos da parte ácida do *Cistus libanotis* L.

No que respeita aos *Cistus* cujos extractos são mais ricos em parte ácida (grupo i), eles contêm diterpenos bicíclicos com os seguintes esqueletos¹³:

- . Labdanos das duas séries estereoquímicas (Figuras 4a e 4b).
- . Ent-clerodanos (Figura 5)
- . Ent-5-epi-clerodanos (Figura 6)
- . Ent-labdanos reordenados (Figura 7)

Os compostos isolados, com esqueleto labdano da série normal, Figura 4, estão funcionalizados no C-15, com frequência no anel B e, ainda, alguns no anel A. Poucos apresen-

tam dupla ligação no C-13 como se pode verificar no Esquema 1.

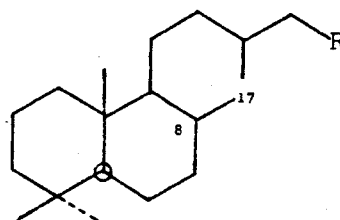


Figura 4a - Esqueleto labdano normal

Os compostos isolados com esqueleto labdano da série antípoda (Figura 4b), somente estão funcionalizados na ca deia, em C-13 e C-15 e no anel B. Frequentemente existe um terceiro anel pirânico, formado a partir da união de C-8 a C-13 através de um átomo de oxigênio (Esquema 2).

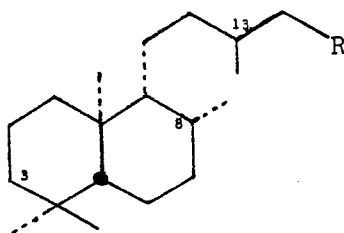


Figura 4b - Esqueleto labdano não normal

Esquema 1

| R : COOH | | | | R : CH ₂ OH | | | | | |
|----------|------------------------------|------|---|------------------------------|-------|----------------------------|---|---------|---------------------|
| Anel | A | Anel | B | Cistus (*) | A | Anel | B | Ca-deia | Cistus (*) |
| | 8α-OH | | | C1d(25-28); Cps(29) | | 8α-OH | | | C1d(33,34); Cps(29) |
| | Δ ⁸ (17) | | | Ca1(11); Cp1(12,24); Clb(13) | | Δ ⁸ (17) | | | Cp1(12,24); Cps(36) |
| | Δ ⁷ ; 6:0 | | | C1d(30); Cps(29); Cp1(12,24) | | Δ ⁷ ; 6:0 | | | C1d(4); Cps(29) |
| | Δ ⁷ | | | C1d(25) | | Δ ⁷ ; 6:0 | | | C1d(4) Cps(29) |
| 3:0 | Δ ⁷ | | | Clf(8) | 18-OH | 8α-OH | | | C1d(33,34) |
| | Δ ⁷ | | | C1d(31); Cps(29); Cp1(12,24) | | 8α-OH; 6β-OH | | | Cps(29) |
| | 8α-OH; 6β-OH | | | Cps(5,29) | | Δ ⁸ (17); 6β-OH | | | Cps(29) |
| | Δ ⁸ (17); 6β-OH | | | Cps(5,29) | | Δ ⁷ | | | Clf(9) |
| | Δ ⁸ (17); 6β-OAc | | | Cps(5,29) | | Δ ⁷ | | | Clf(9) |
| | 8α-OH | | | C1d(32); Cp1(12,24) | | 8α-OH | | | Clf(9) |
| | 8α-OCH ₃ | | | C1d(32); Cp1(12,24) | | Δ ⁷ | | | Clu(10) |
| | Δ ⁸ ; 7:0 | | | C1d(32) | | Δ ⁷ | | | |
| | Δ ⁶ , 8(17) | | | C1d(32) | | Δ ⁷ | | | |
| | Δ ⁸ ; 7:0; 6β-OAc | | | C1d(32) | | 8α-OH | | | |
| | Δ ⁸ (17); 7α-OH | | | C1d(32) | | Δ ⁷ | | | |
| | Δ ⁸ | | | C1d(32) | | Δ ⁷ | | | |
| | Δ ⁸ (17) | | | Clb(13) | | Δ ⁷ | | | |

(*) C1d. C. ladaniferus L. Cps. C. psilosepalus Sweet Cpp. C. populifolius L.
 Ca1. C. albidus L. Cp1. C. palinhae Ingram Clf. C. laurifolius L.
 Clu. C. clusii Dunal. Clb. C. libanotis L.

Esquema 2

| | | Cistus (*) | |
|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------|
| | 6 β -OAc; 8 β -OH | Δ^{13} ; R:COOH | Clf (36) |
| | 6 β -OAc; 8 β -13-epoxi | R:COOH | Clf (36) |
| | Δ^7 | Δ^{13} ; R:COOH | Clb (13) |
| | 7 α -OH; $\Delta^8(17)$ | Δ^{13} ; R:COOH | Clb (13) |
| | 8 β ,13 S-epoxi | R:COOH | Clb (13) |
| | 7 : 0; Δ^8 | Δ^{13} ; R:COOH | Clb (13) |
| | 8 β -OH | Δ^{13} ; R:COOH | Clb (13) |
| | 8 β ,13R-epoxi | Δ^{14} | Cpp(35); Cps(29) |
| | | | Clu (10) |
| | 8 β ,13S-epoxi | R:C(OCH ₃) ₂ | Clu (10) |
| 3 α -OH | 8 β ,13R-epoxi | Δ^{14} | Clu (10) |

(*) - Clf: C. laurifolius L.; Cps: C. psilopsépalus Sweet
 Cpp: C. populifolius L.; Clu: C. alusii Dunal
 Clb: C. libanotis L.;

Do *Cistus populifolius* L. somente se isolaram com postos com esqueleto ent-clerodano (Figura 5) com um grupo hidroxilo ou carboxílico em C-15 e outras funções no anel A. (Esquema 3).

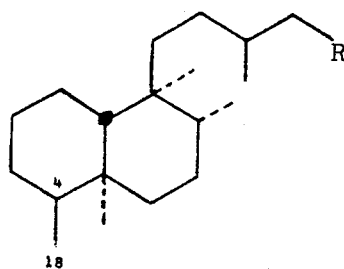


Figura 5 - Esqueleto ent-clerodano

Esquema 3

| Anel | A | R | Bibliografía |
|----------------------------------|---|--------------------|--------------|
| Δ^3 | | COOH | (37) |
| $\Delta^{1,3}$ | | COOH | (37) |
| $\Delta^{2,4(18)}$ | | COOH | (37) |
| $2\alpha\text{-OAc}; \Delta^3$ | | COOH | (6, 38) |
| $2\alpha\text{-OH}; \Delta^3$ | | COOH | (37) |
| $2\beta\text{-OH}; \Delta^3$ | | COOH | (37) |
| $2\alpha\text{-OCH}_3; \Delta^3$ | | COOH | (37) |
| $2\beta\text{-OCH}_3; \Delta^3$ | | COOH | (37) |
| $2 : 0; \Delta^3$ | | COOH | (6, 38) |
| $2\alpha\text{-OH}; \Delta^3$ | | CH ₂ OH | (35) |
| $2 : 0; \Delta^3$ | | CH ₂ OH | (35) |

Os compostos que apresentam esqueleto ent-5-epi-clerodano, (Figura 6), isolaram-se dos *Cistus monspeliensis* e *laurifolius*. Apresentam funções em C-15 e C-18, encontrando-se também no *Cistus laurifolius* alguns compostos funcionalizados em C-2 (Esquema 4).

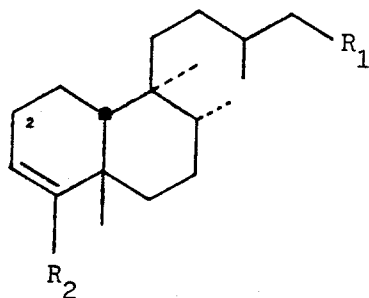


Figura 6 - Esqueleto ent-5-epi-clerodano

Esquema 4

| R ₁ | R ₂ | C-2 | Cistus |
|---------------------|----------------------|--------|----------------------|
| COOH | CH ₂ OAc | | Clf(8); Cmp(2,39,40) |
| COOH | CH ₂ OH | | Clf(8); Cmp(2,39,40) |
| COOH | COOH | | Clf(8); Cmp(2,39,40) |
| CH ₂ OAc | COOH | | Clf(8); Cmp(2,39,40) |
| CH ₂ OH | COOH | | Clf(8); Cmp(2,39,40) |
| COOH | CH ₂ O Ac | 2β-OMe | Clf(8) |
| COOH | CH ₂ OAc | 2β-OH | Clf(8) |
| COOH | CH ₂ OAc | 2 : 0 | Clf(8) |
| CH ₂ OH | CH ₂ OH | | Cmp(39,40) |

(*) Clf: C. laurifolius L.

Cmp: C. monspeliensis L.

Do *Cistus laurifolius* ainda se isolaram compostos que têm esqueleto ent-labdano, com uma dupla ligação entre C-5 e C-10. Este esqueleto é conhecido por ent-labdano reordenado $\Delta^{5(10)}$ (Figura 7), com funções que se localizam em C-3 e C-15 (Esquema 5).

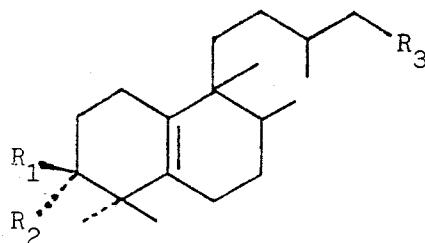
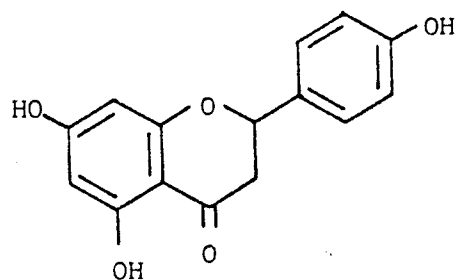


Figura 7 - Esqueleto ent-labdano $\Delta^{5(10)}$

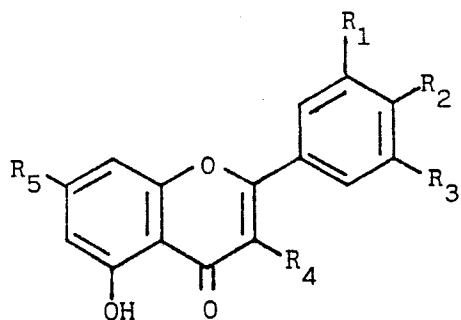
Esquema 5

| R_1 | R_2 | R_3 |
|-----------------|-------|--------------------|
| $R_1, R_2: = 0$ | | COOH |
| OH | H | COOH |
| OH | H | CH ₂ OH |

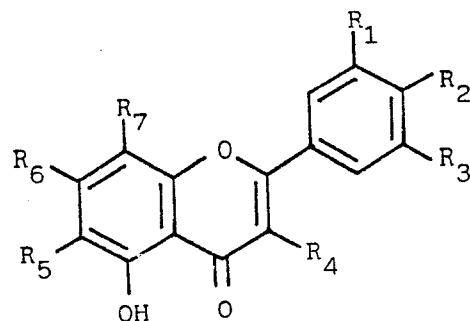
Entre os flavonóides isolados das plantas do gênero *Cistus* encontram-se flavonas e flavonóides com um alto grau de metoxilação. Nos Esquemas 6 e 7 apresentam-se, respectivamente, os compostos isolados e as plantas de que procedem.



Composto XIV



Compostos I-XIII



Compostos XV-XXIV

Esquema 6

- | | |
|--|-------------------------------------|
| I - $R_1, R_3 = H; R_2, R_4, R_5 = OCH_3$ | (metil-jaranol) |
| II - $R_1, R_3, R_4 = H; R_2, R_5 = OCH_3$ | (7,4'-dimetilapigenina) |
| III - $R_1, R_3 = H; R_2 = OH; R_4, R_5 = OCH_3$ | (jaranol) |
| IV - $R_1, R_3, R_4 = H; R_2 = OH; R_5 = OCH_3$ | (genkwanina) |
| V - $R_1, R_3 = H; R_2, R_5 = OH; R_4 = OCH_3$ | (3-metilkampferol) |
| VI - $R_1, R_3 = H; R_5 = OH; R_2, R_4 = OCH_3$ | (3,4'-dimetilkampferol) |
| VII - $R_1, R_3, R_4 = H; R_5 = OH; R_2 = OCH_3$ | (4'-metilapigenina) |
| VIII - $R_3 = H; R_1, R_2, R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,7,3',4'-tetrametilquercetina) |
| IX - $R_3 = H; R_1, R_4, R_5 = OCH_3; R_2 = OH$ | (3,7,3'-trimetilquercetina) |
| X - $R_3 = H; R_1, R_2, R_5 = OCH_3; R_4 = OH$ | (3',4',7-trimetilquercetina) |
| XI - $R_3, R_4 = H; R_1, R_2, R_5 = OCH_3$ | (3',4',7-trimetilluteonina) |
| XII - $R_3, R_4 = H; R_1, R_5 = OCH_3; R_2 = OH$ | (3',7-dimetilluteonina) |
| XIII - $R_1 = OH; R_2, R_3, R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,7,4',5'-tetrametilmircetina) |
| XIV - | (naringenina) |
| XV - $R_3, R_5 = H; R_1, R_2, R_4, R_6, R_7 = OCH_3$ | (3,7,8,3',4'-pentametilgossypetina) |
| XVI - $R_3, R_5 = H; R_6 = OH; R_1, R_2, R_4, R_7 = OCH_3$ | (3,8,3',4'-tetrametilgossypetina) |
| XVII - $R_3, R_5 = H; R_2, R_6 = OH; R_1, R_4, R_7 = OCH_3$ | (3,8,3'-trimetilgossypetina) |
| XVIII - $R_1, R_3, R_5 = H; R_2, R_4, R_6, R_7 = OCH_3$ | (3,7,8,4'-tetrametilherbacetina) |
| XIX - $R_1, R_3, R_5 = H; R_6 = OH; R_2, R_4, R_7 = OCH_3$ | (3,8,4'-trimetilherbacetina) |
| XX - $R_1, R_3, R_5 = H; R_2, R_6 = OH; R_4, R_7 = OCH_3$ | (3,8-dimetilherbacetina) |
| XXI - $R_3, R_7 = H; R_2, R_6 = OH; R_1, R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,6,3-trimetilquercetagenina) |
| XXII - $R_3, R_7 = H; R_1, R_2, R_6 = OH; R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,6-dimetilquercetagenina) |
| XXIII - $R_1, R_3, R_7 = H; R_6 = OH; R_2, R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,6,4'-trimetil-6 OH-kampferol) |
| XXIV - $R_1, R_3, R_7 = H; R_2, R_6 = OH; R_4, R_5 = OCH_3$ | (3,6-dimetil-6 OH-kampferol) |

1.2.2 - Estudos prévios sobre o gênero *Halimium*

À semelhança dos *Cistus* que têm maior percentagem de parte ácida, também os *Halimium* contêm diterpenos bicíclicos. Dos estudos até agora realizados, propõe-se a divisão dos *Halimium* em três grupos distintos, de acordo com o esqueleto diterpênico que apresentam⁴⁴:

i) *Halimium viscosum* (La Fregeneda) de cuja parte ácida se isolaram compostos com esqueleto ent-halimano, que corresponde a um ent-labdano reordenado apresentando uma dupla ligação entre C-1 e C-10 (Figura 8a). Esta situação não se encontrou nos *Cistus*.

ii) *Halimium umbellatum*^{14,19} e *Halimium viscosum* (Villarino), em que se encontraram compostos com esqueleto ent-halimano funcionalizados na cadeia lateral, quer com uma dupla ligação Δ^{13} , quer com essa dupla ligação oxidada em maior ou menor extensão (Figura 8b). Daí que se tivessem isolado compostos com a cadeia lateral degradada em dois ou quatro carbonos.

iii) *Halimium viscosum* (Valparaíso), de cuja parte ácida se isolaram fundamentalmente diterpenos com esqueleto labdânico da série normal (Figura 8c). Estes compostos apresentam como particularidade a presença duma função carboxílica em C-17, situação não encontrada nem nos *Cistus* nem nos outros *Halimium*:

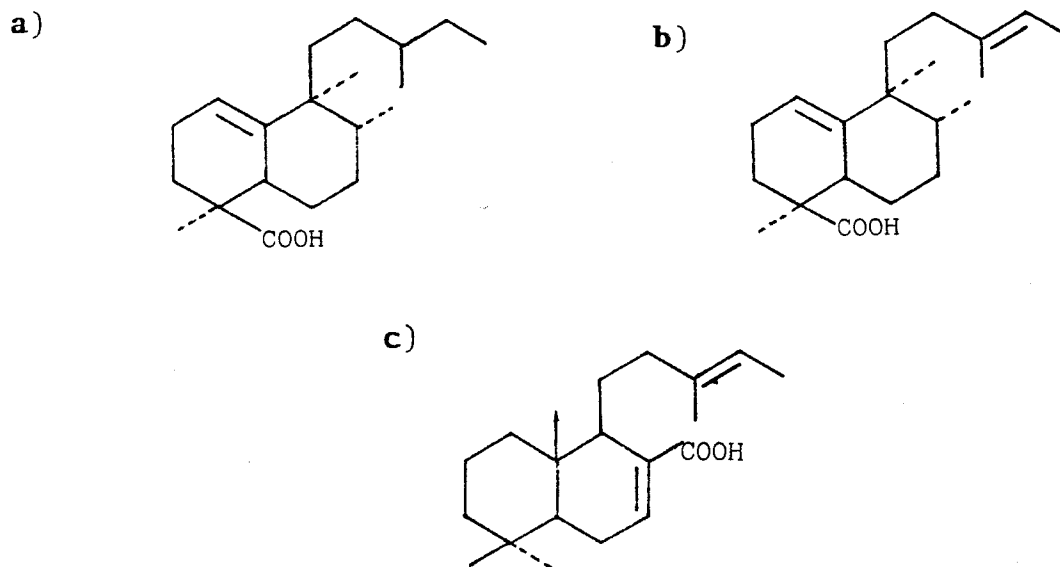


Figura 8 - Esqueletos diterpênicos de: a) *H. viscosum* (La Fregeneda) b) *H. umbellatum* e *viscosum* (Villarino) e c) *H. viscosum* (Valparaiso).

Nas partes ácidas do *Halimium umbellatum* e do *Halimium viscosum*, (Villarino) e (La Fregeneda), (grupos i) e ii), encontrar-se vários ácidos com esqueleto ent-halimano, (Figura a), como se indica no seguinte Esquema 8.

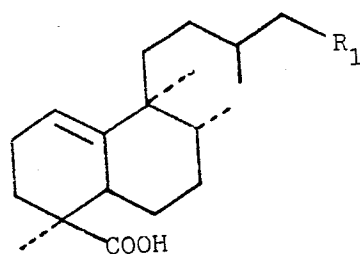


Figura 9 - Esqueleto ent-halimano



Esquema 8

| | <u>R₁</u> |
|-------------------------------|-------------------------|
| Δ ¹³ E | COOH |
| Δ ¹³ Z | COOH |
| Δ ¹³ E | CH ₂ OH (*) |
| Δ ¹³ E | CH ₂ OAc (*) |
| Δ ¹³ E | CHO |
| Δ ¹³ Z | CHO |
| Δ ¹³⁽¹⁶⁾ 14(R)OH | CH ₂ OH (*) |
| Δ ¹³⁽¹⁶⁾ , 14(S)OH | CH ₂ OH (*) |
| 13,14-epoxi | CH ₂ OH |
| 13-OH, 14-OAc | CH ₂ OH |
| 13-OH, 14-OH | CH ₂ OH |

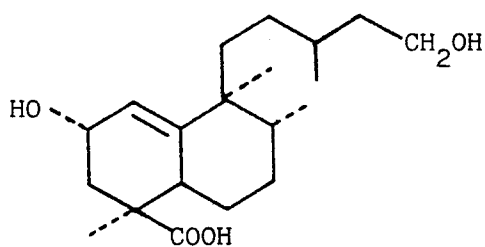
(*) H. umbellatum^{14,19}

H. viscosum (Villarino)^{19,21,22}

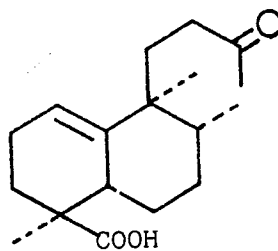
| <u>R₁</u> |
|-----------------------|
| CH ₂ OH |
| CH ₂ OAc |
| CH ₂ O Cin |

H. Viscosum (La Fregeneda)¹⁸

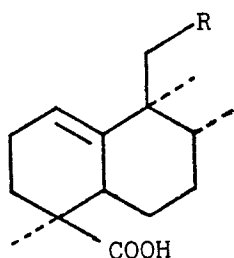
Esquema 8 (cont.)



H. viscosum
(la Fregeneda)¹⁸



H. umbellatum¹⁹
H. viscosum (Villarino)^{21,22}



H. viscosum
(Villarino)^{21,22}

R

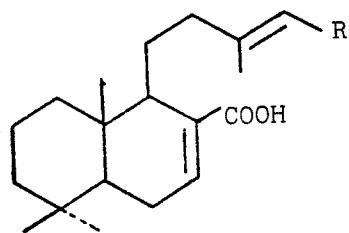
CH₂OH

COOH

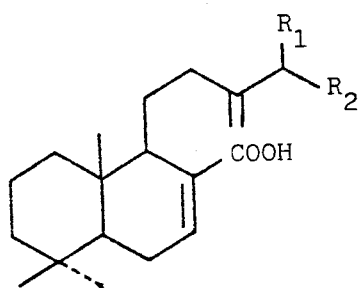
CH₂OAc

No *Halimium viscosum* (Valparaíso)⁴⁴ (grupo **iii**) os compostos maioritários apresentam, para além da função carboxílica característica em C-17, uma ligação dupla entre C-7 e C-8, a cadeia lateral insaturada Δ^{13} , com um grupo hidroxilo ou acetoxilo em C-15. Estes compostos descrevem-se detalhadamente no Esquema 9^{20,23}.

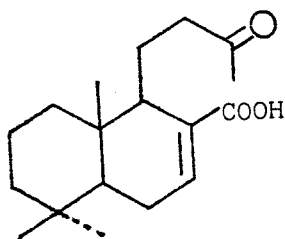
Esquema 9



| R | |
|---|----------------|
| $\text{CH}_2\text{OOC}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ | $n=10, 12, 14$ |
| CH_2OOCH | |
| $\text{CH}_2\text{OOCCH}(\text{CH}_3)_2$ | |
| CH_2OAc | |
| CH_2OH | |

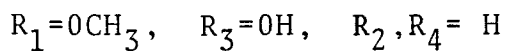
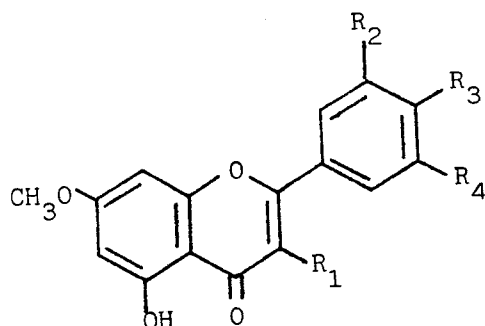


| R ₁ | R ₂ |
|----------------|-------------------------|
| OH | CH_2OAc |
| OAc | CH_2OH |
| OH | CH_2OH |

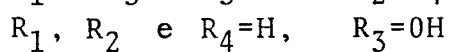


Do *Halimium umbellatum*⁴³ isolaram-se ainda cinco flavonóides, dois dos quais existem também no gênero *Cistus*: jaranol e genkwanina. Todos estes flavonóides apresentam um alto grau de metoxilação (Esquema 10).

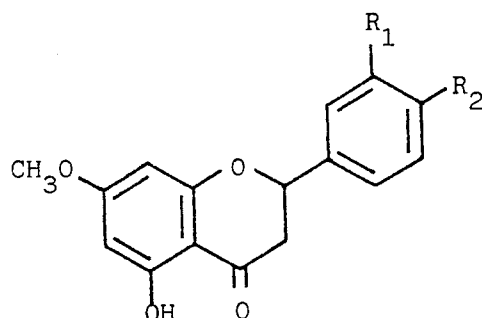
Esquema 10



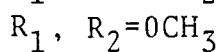
(jaranol)



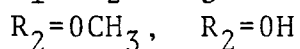
(genkwanina)



(Sakuranetina)



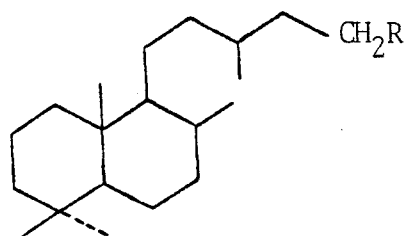
(5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxiflavona)



(5,4'-dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona)

Os compostos mais abundantes nas partes neutras de todos os *Halimium* são também diterpenos bicíclicos, todos eles com esqueleto labdânico da série normal^{15,18} (Esquema 11):

Esquema 11



| | R | |
|--|-----|--|
| Δ^7 , 3 β -OH | OH | <u>H.umbellatum</u> ¹⁵ |
| $\Delta^{7,13}$, 3 β -OH | OH | <u>H.viscosum</u> (Villarino) ¹⁵ |
| Δ^7 , 3 β -OH | OH | |
| Δ^7 , 3 β -OH | OAc | |
| $\Delta^{7,13}$, 3 β -OH | OH | <u>H.viscosum</u> (La Fregeneda) ^{16,17,18} |
| $\Delta^{8(17)}$, 3 β -OH, 7 α -OH | OH | |
| Δ^8 , 3 β -OH, 7 α -OMe | OH | |

Para além dos compostos maioritários atrás referidos, da parte neutra do *Halimium viscosum* (La Fregeneda) isolaram-se ainda, uma lactona com esqueleto ent-labdano reordenado⁴⁴ (Figura 10) e um álcool diterpênico com um novo esqueleto carbonado que foi denominado **tormesol**⁴⁴ (Figura 11).

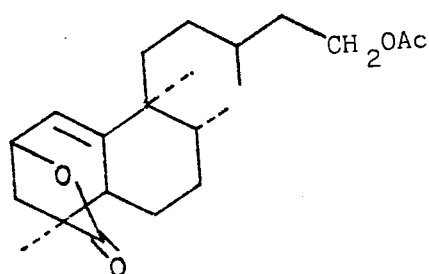


Figura 10 - Esqueleto ent-labdano reordenado

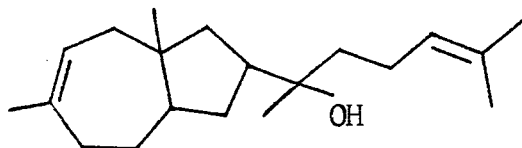
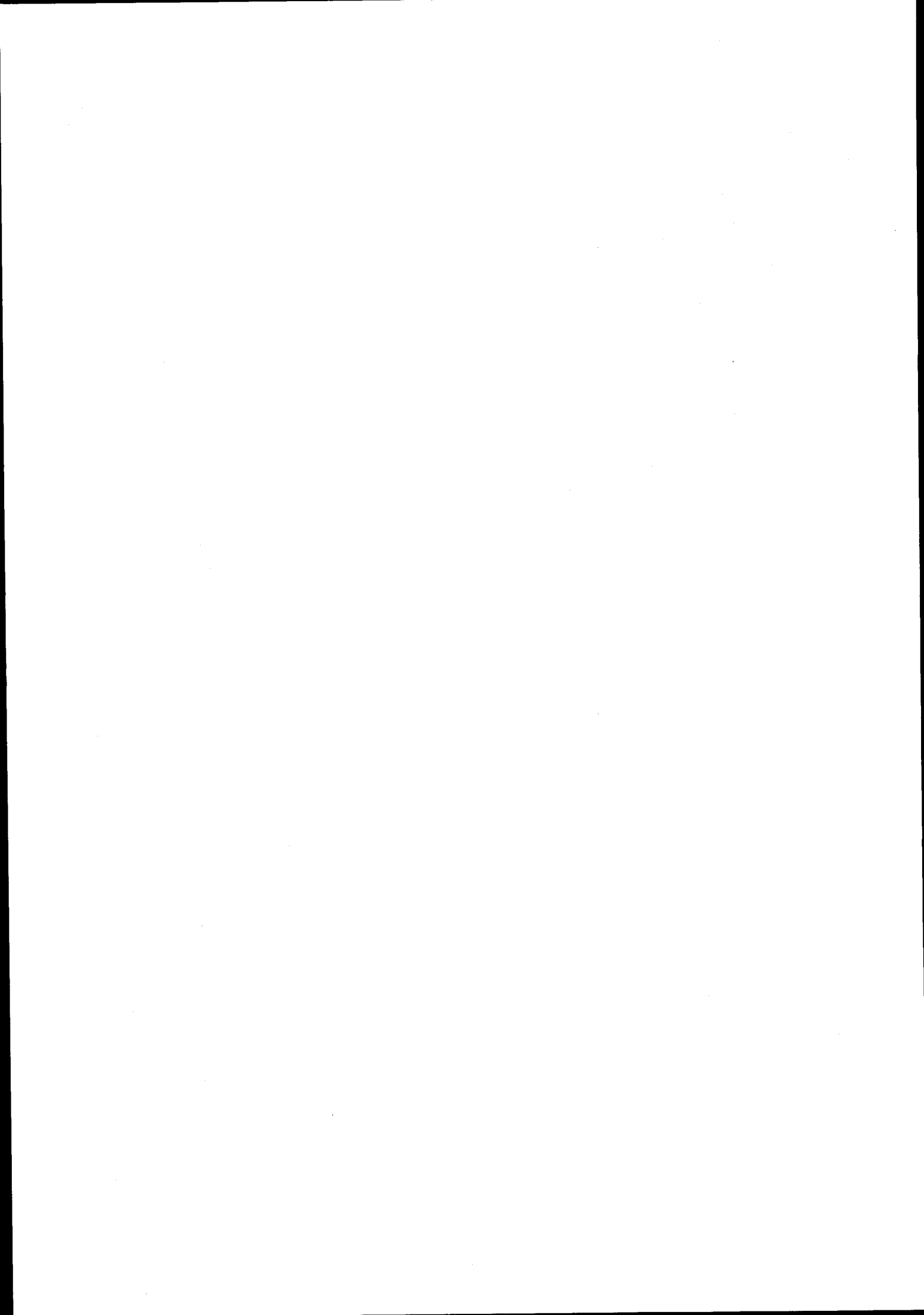
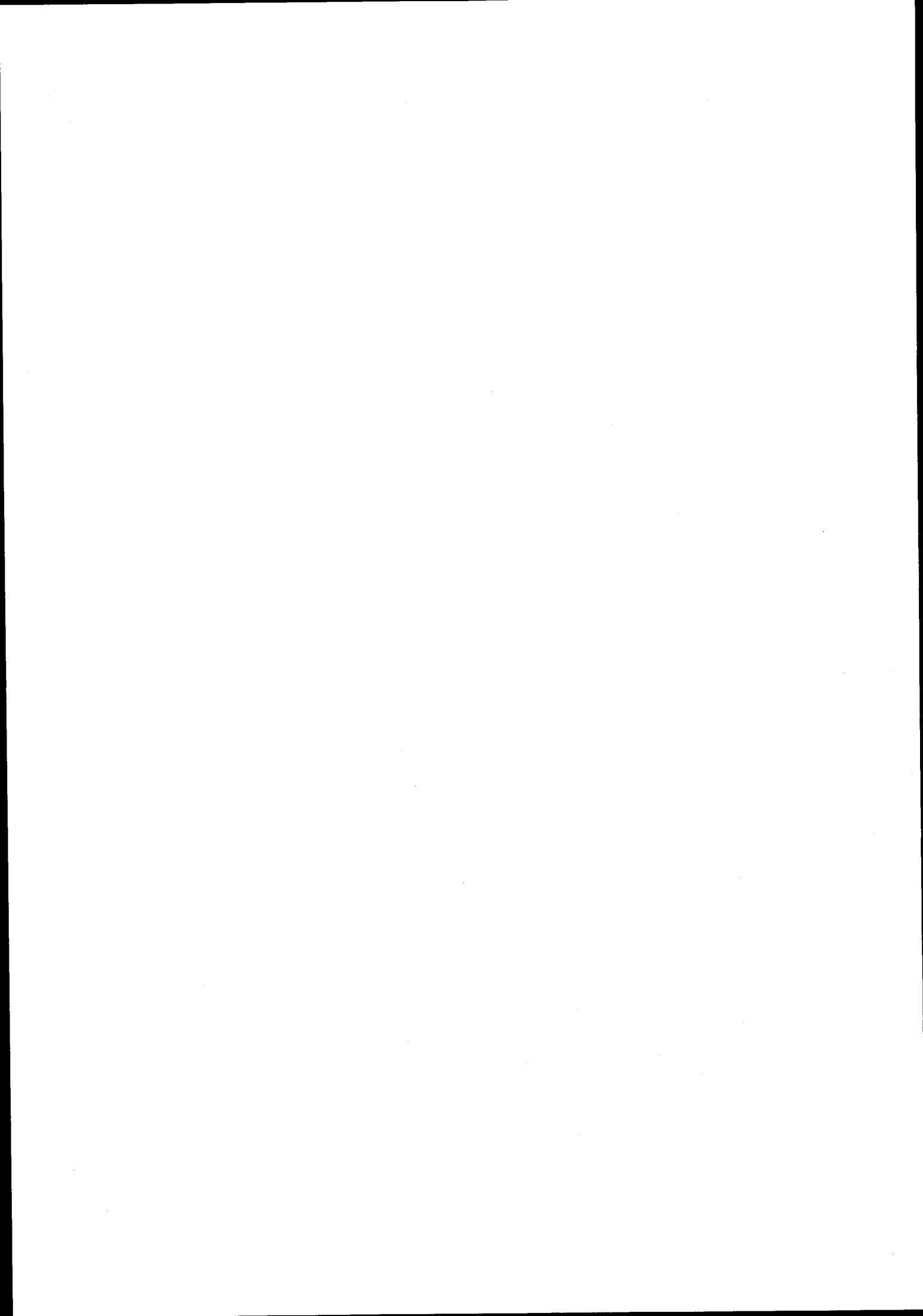


Figura 11 - Tormesol



C A P I T U L O - I I

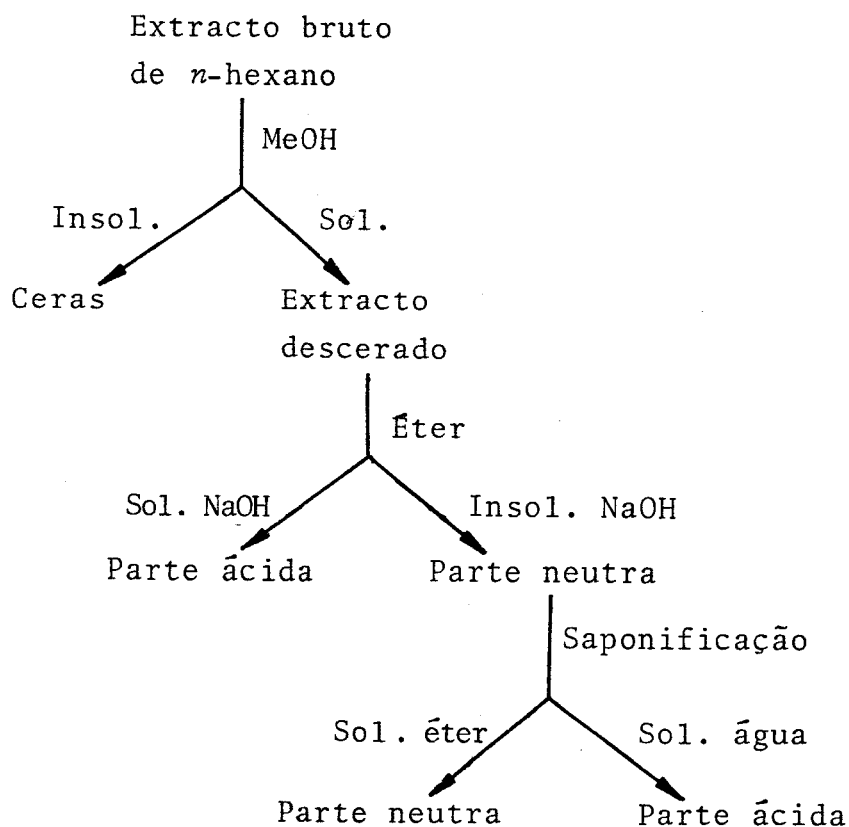
MÉTODOS, DISCUSSÃO E RESULTADOS



CAPITULO-II - MÉTODOS, DISCUSSÃO E RESULTADOS

2.1 - Extracção e fraccionamento

A parte aérea do *Halimium verticillatum*, recolhido em Maio em Corroios (Setúbal), foi seca ao ar na obscuridade e as folhas trituradas e extraídas num Soxhlet com *n*-Hexano. O extracto assim obtido foi fraccionado de acordo com o seguinte esquema:



Estas operações descrevem-se detalhadamente nos parágrafos 3.4 e 3.6.

O estudo da composição da fracção ácida do extracto descerado e da fracção neutra de saponificação constituiu o objecto do nosso trabalho.

2.2 - Parte ácida do extracto descerado

A parte ácida do extracto de *n*-Hexano descerado, após esterificação com diazometano, foi cromatografada em coluna sobre sílica-gel (Cromatografia A, parágrafo 3.5), utilizando como eluente misturas de *n*-Hexano/Acetato de etilo de polaridade crescente.

Esta cromatografia para além de compostos puros (A_4, A_8, A_9, A_{10}) forneceu também algumas misturas. A partir destas misturas, por posteriores cromatografias em coluna sobre sílica-gel ou sílica-gel/nitrato de prata, ou por cromatografia em camada fina preparativa, obtiveram-se os outros constituintes puros ($A_1, A_2, A_3, A_5, A_6, A_{11}$), como se descreve detalhadamente no capítulo III.

Os compostos são numerados por ordem de eluição, isto é, por polaridade crescente.

2.2.1 - 15-Hidroxi-7-labden-17-oato de metilo (A_8)

O produto puro maioritário foi obtido das fracções 42-50 da cromatografia A (parágrafo 3.5) e é aqui designado por A_8 . É um óleo incolor em cujo espectro de IV (figura 3.22)

aparecem bandas de grupo hidroxilo a 3440 e 1040 cm^{-1} , de grupo carbonilo a 1710 cm^{-1} , de ligações duplas carbono-carbono a 1640 cm^{-1} e de éster metílico a 1240 cm^{-1} . É, por tanto, um hidroxí-éster insaturado.

O seu espectro de UV (figura 3.24) apresenta uma banda de absorção com $\lambda_{\text{máx}} = 216\text{ nm}$ característica de um grupo carboxilo conjugado com uma ligação dupla.

No espectro de RMN protónica (figura 3.22) aparecem os seguintes sinais, $\delta(\text{ppm})$:

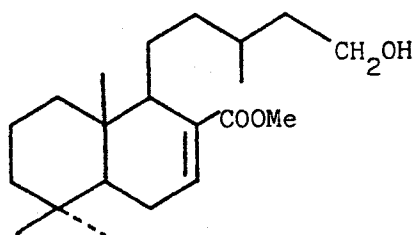
- 6,56, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo carboxilo.
- 3,64, m, 2H, geminais de um hidroxilo primário.
- 3,63, s, 3H, de um grupo metoxycarbonilo.
- 0,82, d($J=7,7\text{ Hz}$), 3H, de um metilo.
- 0,84; 0,80 e 0,75, 3s, 3x3H, de três metilos.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.23, Tabela 3. II) aparecem 21 sinais. A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer) permite concluir que destes sinais cinco correspondem a grupos metilos; oito a metilenos; quatro a metinos, sendo um deles olefínico; e os restantes quatro a carbonos quaternários, dos quais um carboxílico e outro olefínico, com os seguintes desvios químicos, $\delta(\text{ppm})$:

| CH ₃ | CH ₂ | CH | C | |
|-----------------|-----------------|---------------------------|--------|--------------------|
| 51,25 | 60,62 | 136,59 (Sp ²) | 169,68 | (C = O) |
| 33,09 | 42,08 | 51,10 | 135,55 | (Sp ²) |
| 21,88 | 39,68 | 49,53 | 36,88 | |
| 19,70 | 39,55 | 30,56 | 32,69 | |
| 14,32 | 38,33 | | | |
| | 25,61 | | | |
| | 23,88 | | | |
| | 18,54 | | | |

O espectro de massa (figura 3.27) apresenta um pico molecular M⁺ a 336, correspondente à fórmula molecular C₂₁H₃₆O₃ de um ácido diterpênico bicíclico na forma de éster metílico, com uma dupla ligação e um grupo hidroxilo. O pico base, m/e 109, corresponde a um fragmento de composto com esqueleto labdânico⁴⁸ com o anel A não funcionalizado.

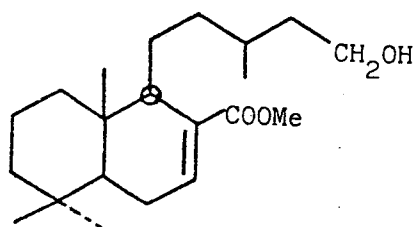
A presença do esqueleto labdânico e a posição dos grupos -CH₂CH₂-OH, -CH=C-COOMe, 3 grupos CH₃-C- e um CH₃-CH, leva a propor para A₈ a seguinte estrutura:



com o grupo hidroximetilo na cadeia lateral e o carbono 17 na forma de ácido carboxílico conjugado com a dupla ligação entre C-7 e C-8.

A estrutura atribuída a A_8 foi confirmada quimicamente por transformação deste em duas substâncias de estereoquímica conhecida, cativol (5) e acetato de catívilo (6) (parágrafo 3.5.6), de acordo com o esquema 2.1.

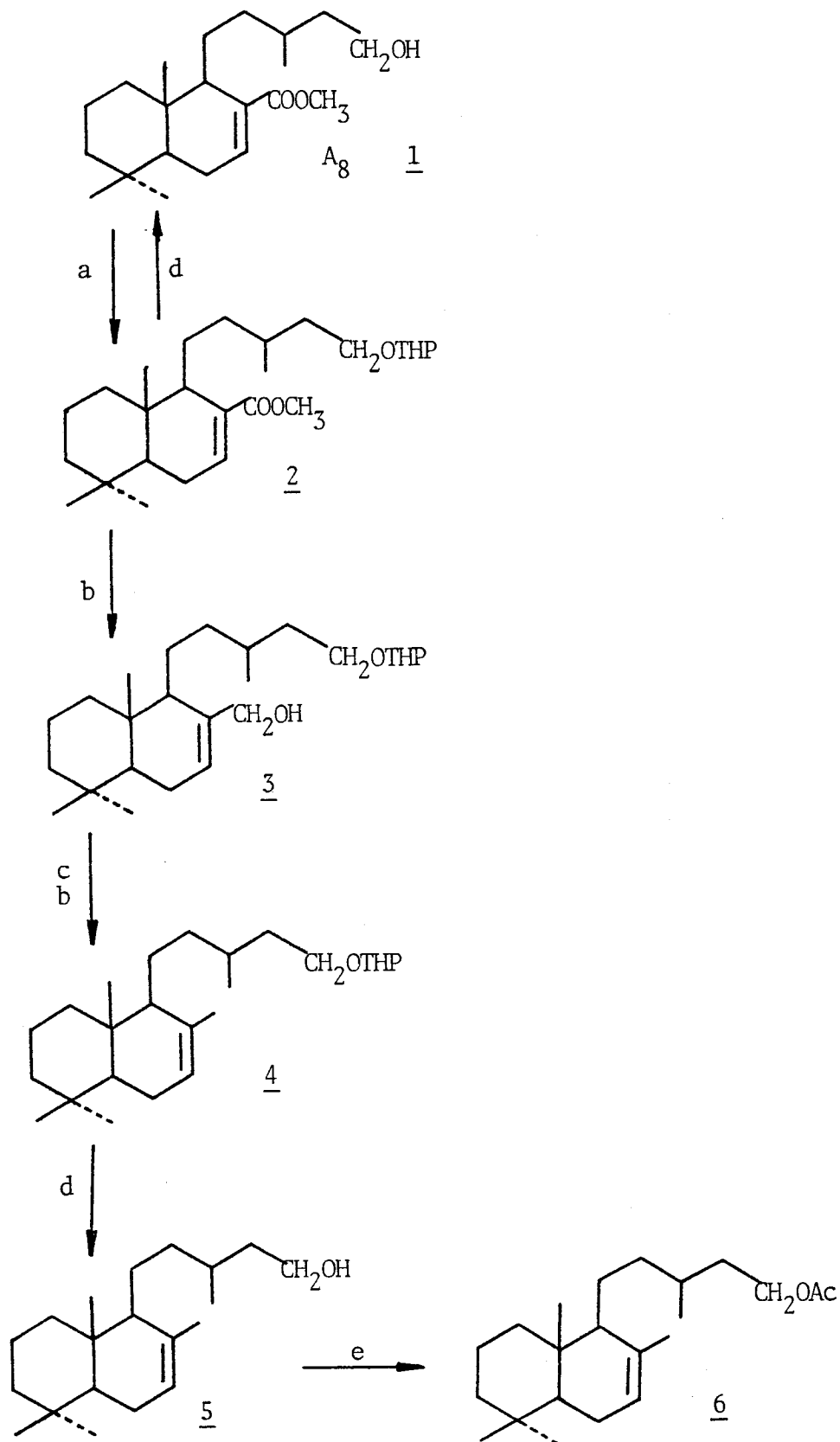
A verificação da identidade entre os produtos naturais e de síntese, levou a atribuir a A_8 a seguinte estereoquímica:



O novo produto natural encontra-se portanto na planta na forma de ácido 15-hidroxi-7-labden-17-óico.

A atribuição dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de A_8 realizou-se por correlação bidimensional heteronuclear a uma ligação e a várias, como a seguir se apresenta:

Esquema 2.1 - Preparação do cativol a partir de A₈

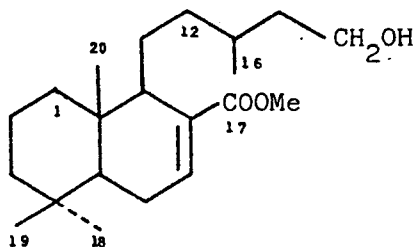


a: DHP, TsOH benzeno; b: LAH, Et₂O; c: MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂; d: TsOH, MeOH;
e: Ac₂O, Py

CORRELAÇÕES

| | RMN ^{13}C | RMN ^1H | HCCORR (L-R) | |
|-----------------|---------------------|------------------|-----------------|-------|
| | | | CH | 49,53 |
| CH ₃ | 14,32 | 0,75 | CH | 51,10 |
| | | | CH ₂ | 39,55 |
| | | | C | 36,88 |
| | | | CH | 49,53 |
| CH ₃ | 33,09 | 0,80 | CH ₂ | 42,08 |
| CH ₃ | 21,88 | 0,84 | C | 32,69 |
| | | | CH ₂ | 38,33 |
| CH ₃ | 19,70 | 0,82(d) | CH ₂ | 39,68 |
| | | | CH | 30,56 |

No espectro H-CCORR (figuras 3.25 e 3.26) observa-se que o metilo que aparece a 14,32 ppm está relacionado com dois grupos CH, um grupo CH₂ e um carbono quaternário, o qual tendo em conta a estrutura proposta para A₈:



Só pode atribuir-se a C-20. Obrigatoriamente o metileno a 39,55 ppm e o carbono quaternário a 36,88 ppm, deverão ser atribuídos, respectivamente a C-1 e C-10.

Existindo unicamente dois carbonos quaternários alifáticos o que aparece a 32,69 ppm fica, conseqüentemente, atribuído a C-4.

Por enquanto, ficam interconvertíveis os metinos a 51,10 e 49,53 ppm. Aos metilos de C-4 correspondem os sinais a 33,09 e 21,88 ppm que apresentam correlação com o sinal do metino em C-5, a 49,53 ppm, e com o metileno de C-3, a 42,08 ppm. Sem dúvida, pode atribuir-se o sinal a 51,10 ppm ao metino de C-9.

Os restantes sinais, um metilo a 19,70 ppm e um metino a 30,56 ppm, só podem ser atribuídos, respectivamente, às posições 16 e 13 da cadeia.

Os sinais que aparecem a 38,33 e 39,68 ppm, por correlação com compostos semelhantes^{46,47} são atribuídos a C-12 e C-14, respectivamente.

O carbono olefínico que aparece desblindado a 135,55 ppm e o metino a 136,59 ppm atribuem-se inequivocamente às posições 8 e 7, respectivamente. As atribuições dos metilenos das posições 2, 6 e 11 fazem-se por correlação²⁰.

Na **tabela 3.II** apresenta-se a interpretação completa do espectro de RMN de ^{13}C do composto A_8 , o qual será utilizado como referência para a interpretação dos espectros dos restantes compostos da parte ácida.

2.2.2 - 15-Cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A₁)

Da fracção 2 da cromatografia B (parágrafo 3.5.1) eluíu-se um produto puro em cujo espectro de IV (figura 3.1) se destacam bandas de grupo éster a 1710 e 1240 cm^{-1} , de ligações duplas a 1640 e 1500 cm^{-1} e outras a 1310, 1160 e 980 cm^{-1} .

O espectro de UV (figura 3.3) apresenta bandas com $\lambda_{\text{máx}}$ a 207, 217 e 277 nm características de grupo carboxilo conjugado com dupla ligação e anel aromático.

No espectro de RMN de ^1H (figura 3.1) observam-se sinais a, $\delta(\text{ppm})$:

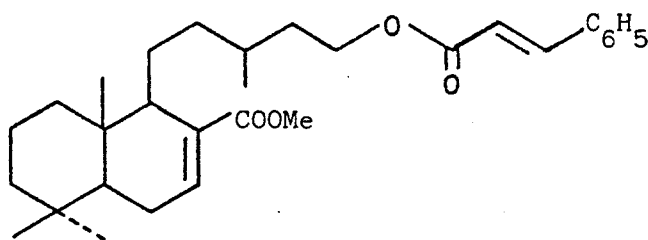
- 7,67 e 6,40 centros de dois dubletos de 1H cada um, pertencentes a um sistema AB ($J=16$ Hz), característicos de dois átomos de hidrogénio oleofínicos ($-\text{OCO} - \underline{\text{CH}} = \underline{\text{CH}} - \text{Ar}$).
- 7,52 e 7,36, m, 2H e 3H, respectivamente, aromáticos.
- 6,62, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo carboxilo.
- 4,24, m, 2H, geminais, de um agrupamento $-\text{CH}_2\underline{\text{CH}}_2-\text{OCOR}$.
- 3,70, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 0,92, d($J=6,4$ Hz), 3H do Me-16.
- 0,88; 0,84 e 0,80, 3s, 3x3H, dos Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente.

Ao comparar os espectros de RMN de ^1H de A_1 e A_8 observa-se que se mantêm os sinais correspondentes ao sistema diterpênico anterior, ou seja, que se mantêm três metilos como singlete, um metilo como dubleto na cadeia lateral e um átomo de hidrogênio olefínico β em relação ao metoxicarbonilo. Os outros sinais indicam a existência de um anel benzênico monosubstituído, conjugado com uma ligação dupla, e de outro grupo carboxilo que esterifica o grupo hidroxilo de C-15.

A interpretação do espectro de RMN de ^{13}C de A_1 (figura 3.2; tabela 3.I) fez-se por correlação com o espectro de A_8 . Para além dos sinais do sistema diterpênico de A_8 existem ainda sinais que nos permitem detectar um anel aromático monosubstituído, dois grupos metino olefínicos e um grupo éster.

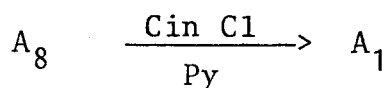
A hidrólise alcalina de A_1 produziu A_8 e ácido cinâmico, identificado como cinamato de metilo.

Com estes resultados podemos concluir que A_1 é o cinamato de A_8 , o 15-cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo:



A partir da constante de acoplamento $J_{2',3'} = 16\text{Hz}$, obtida do espectro de RMN de ^1H , atribuiu-se a configuração E à dupla ligação 2', 3'.

A confirmação estrutural de A_1 realizou-se por tratamento de A_8 com cloreto de cinamoílo em piridina¹⁶:



Esta reacção forneceu um composto idêntico a A_1 .

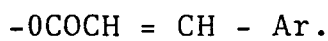
2.2.3 - 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo (A_2)

A fracção 3 da cromatografia B (parágrafo 3.5.1) é constituída por uma mistura de A_1 e de outro composto, A_2 , que foi resolvida por CC (eluente: benzeno).

O produto A_2 apresenta no espectro IV (figura 3.5) bandas de grupos éster a 1710 e 1240 cm^{-1} , de duplas ligações a 1620 cm^{-1} e outra a 1160 cm^{-1} .

No espectro de RMN de ^1H (figura 3.5) observam-se sinais a, δ (ppm):

- 7,88 e 7,32, m, 2H e 3H, respectivamente, aromáticos.
- 6,93 e 6,95, centros de dois dubletos de um sistema AB ($J=12,7$ Hz), característicos dos hidrogéneos olefínicos de um agrupamento



- 6,63, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupocarboxílo.

2.2.4 - 15-Isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A₃)

Da fracção 4 da cromatografia B (parágrafo 3.5.1) separa-se um óleo incolor em cujo espectro de IV (figura 3.7) se observam bandas de grupos éster a 1740, 1720 e 1240 cm^{-1} e de ligação dupla a 1650 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (figura 3.7) apresenta os seguintes sinais a, $\delta(\text{ppm})$:

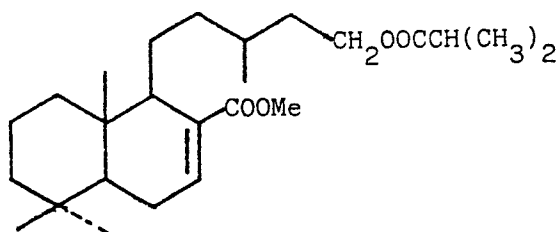
- 6,61, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 4,18, m, 2H, geminais, de um agrupamento
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2- \text{OCOR}$.
- 3,69, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 2,6, hepteto ($J=6,4 \text{ Hz}$), 1H, de um grupo isopropílico.
- 1,16, d ($J=6,8 \text{ Hz}$), 6H, dos dois metilos isopropílicos.
- 0,89, s, 3H, do Me-19.
- 0,88, d ($J=6,8 \text{ Hz}$), 3H, do Me-16.
- 0,85 e 0,81, 2s, 2x3H, dos Me-18 e Me-20, respectivamente.

Estes valores indicam que se mantém o sistema diterpénico identificado em A₈ mas que o ácido que esterifica o hidroxilo primário em C-15 é diferente. Os sinais a 1,16 e 2,6 ppm permitem-nos concluir que A₃ é um isopropilato. Con-

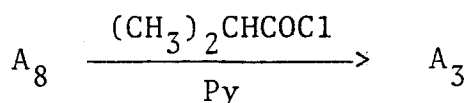
sistentemente, no espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.8, tabela 3.1) observa-se o aparecimento de um grupo metino, de dois grupos metilo e de um grupo carboxilo, para além dos sinais de A_8 .

Por hidrólise alcalina suave de A_3 obteve-se A_8 .

Portanto, identificamos A_3 como sendo o 15-isobut \bar{u} loxi-7-labden-17-oato de metilo:



O tratamento de A_8 com o cloreto de isobutanóilo em piridina⁵⁰ produziu um produto com as mesmas características espectroscópicas de A_3 :



2.2.5 - 15-Acetoxi-7-labden-17-oato de metilo (A_4)

Das fracções 15-16 da cromatografia A (parágrafo 3.5) isolou-se um óleo incolor em cujo espectro de IV (figura 3.10) se observam bandas de grupo éster a 1710 e 1240 cm^{-1} e de dupla ligação a 1640 cm^{-1} .

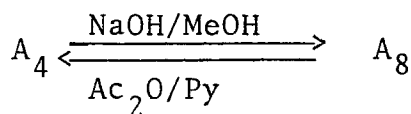
No espectro de RMN de ^1H (figura 3.10) deste com-

posto aparecem os seguintes sinais, δ (ppm):

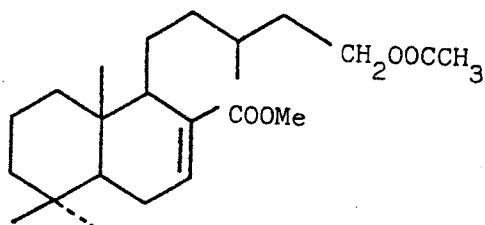
- 6,60, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 4,07, m, 2H, geminais, de um agrupamento
$$-\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{OCOR}.$$
- 3,68, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 2,01, s, 3H, de um grupo acetoxilo.
- 0,89, s, 3H, do Me-19.
- 0,87, d ($J=7,5$ Hz), 3H, do Me-16.
- 0,85 e 0,81, 2s, 2x3H, do Me-18 e Me-20, respectivamente.

Novamente encontramos os sinais correspondentes a A_8 , sem modificação da cadeia lateral, e um sinal a 2,01ppm correspondente a um grupo acetoxilo. Isto indica que o resto ácido que esterifica o grupo hidroxilo primário é o ácido acético. O espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.11, tabela 3.I) confirma estas conclusões pois para além dos sinais de A_8 apresenta um sinal de grupo metilo e outro de grupo éster.

A hidrólise alcalina de A_4 produz A_8 e a acetilação de A_8 produz A_4 :



Consequentemente, A₄ foi identificado como sendo o 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo, com a seguinte estrutura:



2.2.6 - 15-Metoxi-7-labden-17-oato de metilo (A₅)

Das fracções 17-22 da cromatografia A (parágrafo 3.5), por CCFP (parágrafo 3.5.2), isolam-se dois compostos, dos quais, o que apresenta maior R_f, A₅, é um óleo incolor que exhibe as seguintes bandas no espectro IV (figura 3.14): de grupo éster a 1710 e 1240 cm⁻¹, de ligação dupla a 1640 cm⁻¹ e outras a 1120 e 1060 cm⁻¹.

O espectro de RMN de ¹H (figura 3.14) apresenta os seguintes sinais, δ(ppm):

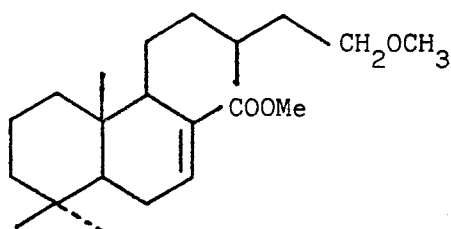
- 6,62, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 3,70, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 3,39, t (J=6,4 Hz), 2H, da posição 15.
- 3,32, s, 3H, de um grupo metoxilo.

- 0,90, s, 3H, do Me-19.
- 0,87, d (J=6,8 Hz), 3H, do Me-16.
- 0,86 e 0,82, 2s, 2x3H, do Me-18, Me-20, respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H deste composto diferencia-se do de A_8 nos sinais a 3,39 ppm, tripleto (J=6,4 Hz), dos hidrogêneos da posição 15, e a 3,32 ppm, singlete, de um grupo metoxilo. Trata-se portanto de um éter metílico.

Em concordância, o espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.15; tabela 3.II) apresenta para além dos sinais do composto A_8 , um sinal correspondente a um metilo desblindado de um grupo $-\text{OCH}_3$.

Consequentemente, A_5 é o 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo:



2.2.7 - 7-Labden-15,17-dioato de metilo (A_6)

O produto de R_f inferior da CCFP das fracções 17-22 da cromatografia A (parágrafo 3.5 e 3.5.2) é outro óleo

incolor, que apresenta no espectro de IV (figura 3.17) bandas de grupos éster a 1720, 1710 e 1240 cm^{-1} e de ligação dupla a 1640 cm^{-1} .

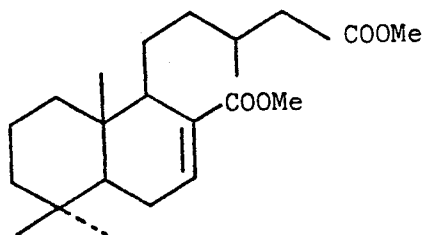
O espectro de RMN de ^1H deste composto apresenta sinais a, $\delta(\text{ppm})$:

- 6,63, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 3,71 e 3,66, 2s, 2x3H, de dois grupos metoxicarbonilos.
- 0,92, d ($J=6,5$ Hz), 3H, do Me-16.
- 0,91, 0,87 e 0,82, 3s, 3x3H, do Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente.

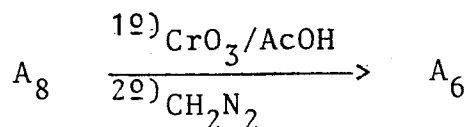
Este composto difere de A_8 porque apresenta um grupo -COOMe em vez do grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ da cadeia lateral.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.8, tabela 3.II) desaparece o sinal do metileno em C-15 do composto A_8 e aparecem dois novos sinais devido ao grupo $-\text{COOCH}_3$.

Em face destes resultados identificamos A_6 como sendo o 7-labden-15,17-dioato de metilo:



Por oxidação de A₈ com CrO₃ em ácido acético⁵¹ obtém-se um produto com as mesmas características espectroscópicas de A₆:



o que confirma quimicamente a estrutura proposta.

2.2.8 - 15-Formiloxi-7-labden-17-oato de metilo (A₇)

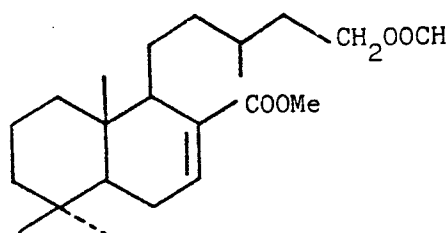
Das fracções 23-25 da cromatografia A isola-se por CCFP (parágrafo 3.5.3) um óleo incolor que apresenta no espectro de IV (figura 3.20) bandas de grupo éster a 1745 e 1260 cm⁻¹ e de dupla ligação a 1640 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H deste composto (figura 3.20) encontramos sinais a, δ(ppm):

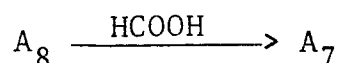
- 8,04, s, 1H, de um grupo formilo.
- 6,63, m, 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 4,19, m, 2H, geminais, de um agrupamento
-CH₂CH₂-OCOR.
- 3,70, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 0,90 e 0,86, 2s, 2x3H, dos metilos Me-19 e Me-18.
- 0,85, d (J=6,7 Hz), 3H, do Me-16.
- 0,82, s, 3H, do Me-20.

Note-se a desblindagem do metileno de C-15 para 4.19 ppm e a presença de um singlete a 8,04 ppm, mantendo-se os outros sinais típicos de A₈.

No espectro de RMN de ¹³C (figura 3.21, tabela 3.II) verifica-se o aparecimento de um sinal a 161,40 ppm, que se atribui ao grupo formilo. Consequentemente, identificamos A₇ como sendo o 15-formiloxi-7-labden-17-oato de metilo:



O tratamento de A₈ com ácido fórmico⁵³ conduz a um produto idêntico ao produto natural:



2.2.9 - 15-Hidroxi-7-metoxi-8-labden-17-oato de metilo (A₉)

Das fracções 55-57 da cromatografia A (parágrafo 3.5) obtém-se um composto de purificação muito difícil que, no entanto, foi possível identificar. É um óleo incolor que apresenta no espectro IV (figura 3.5) bandas de grupo hidro-

xilo a 3400 cm^{-1} , de grupo éster a 1710 e 1240 cm^{-1} e outra a 1060 cm^{-1} , característica de álcool primário.

No espectro de RMN de ^1H (figura 3.38) observam-se os seguintes sinais a, δ (ppm):

- 4,11, t ($J=3,4\text{ Hz}$), 1H, geminal com um grupo metoxilo.
- 3,74, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 3,67, m, 2H, geminais com um grupo hidroxilo.
- 3,31, s, 3H, de um grupo metoxilo.
- 0,91, d ($J=6,3\text{ Hz}$), 3H do Me-16.
- 0,98, 0,92 e 0,87, 3s, 3x3H, do Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente.

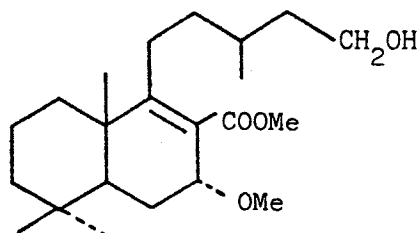
Ao comparar os espectros de RMN de ^1H dos compostos A_9 e A_8 observa-se que se mantêm os sinais correspondentes à cadeia lateral e ao sistema bicíclico, com exceção do desaparecimento do hidrogênio olefínico β em relação ao grupo metoxicarbonilo.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.38, tabela 3.III) aparecem 22 sinais que mediante a técnica DEPT se atribuem a seis grupos metilo, oito grupos metileno, três grupos metino e cinco carbonos tetrasubstituídos. Destes últimos, um carbono é carboxílico e dois são olefínicos.

O espectro UV do derivado acetilado deste composto mostra que existe uma dupla ligação tetrasubstituída em conjugação com o grupo metoxicarbonilo, o que está em concordância com a existência dos dois carbonos olefínicos. Para além

disto, o espectro de RMN de ^1H apresenta um próton alílico de um agrupamento $\text{CH} - \text{OCH}_3$ a 4,11 ppm.

Como consequência propõe-se para A_9 a estrutura do 15-hidroxi-7-metoxi-8-labden-17-oato de metilo:



Determina-se como α a estereoquímica do grupo metoxilo em C-7, em função das constantes de acoplamento do seu átomo de hidrogênio geminal.

Para purificar A_9 e comprovar a estrutura proposta acetilaram-se as fracções 58-66 da cromatografia A (parágrafo 3.5). A mistura acetilada foi purificada por CCFP, de que se isolou um único produto, 7. É um óleo incolor que apresenta no espectro de IV (figura 3.40) bandas de grupo éster a 1720 e 1240 cm^{-1} , de dupla ligação tetrasubstituída a 1610 cm^{-1} e outra a 1080 cm^{-1} .

No espectro de UV (figura 3,42) observa-se uma banda de $\lambda_{\text{máx}} = 222 \text{ nm}$, característica de um éster α, β -insaturado.

O espectro de RMN de ^1H (figura 3.40) deste derivado acetilado apresenta os seguintes sinais, δ (ppm):

- 4,10, m, 1H+2H, de um hidrogênio geminal com um grupo metoxilo e de dois hidrogênios geminais com o grupo acetoxilo.
- 3,74, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 3,31, s, 3H, de um grupo metoxilo,
- 2,04, s, 3H, de um grupo acetoxilo.
- 0,90, d (J=6,3 Hz), 3H, do Me-16.
- 0,97, 0,91 e 0,87, 3s, 3x3H, dos Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente.

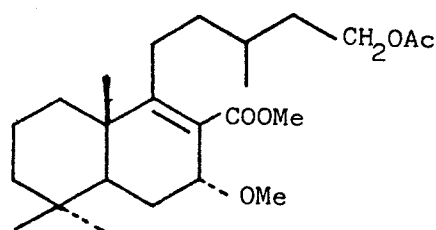
O espectro de RMN de ^1H do composto A_9 difere do seu derivado acetilado 7 por apresentar a mais o sinal do grupo acetoxilo, a 2,04 ppm, e os hidrogênios geminais ao grupo acetoxilo em posição 15 sobrepostos com o hidrogênio geminal ao grupo metoxilo em posição 7.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.41, tabela 3.III) apresenta 24 sinais, que, pela técnica DEPT, foram atribuídos a sete grupos metilo, oito grupos metileno, três grupos metino e seis carbonos tetrasubstituídos, dos quais dois são carboxílicos e dois são olefínicos.

Tanto A_9 como 7 não exibem agrupamento $\text{C}=\text{C}-\text{H}$; exibem a dupla ligação tetrasubstituída, como o indicam os sinais dos carbonos quaternários a 159,73 e 126,72 ppm, que correspondem, respectivamente, às posições 8 e 9 do esqueleto bicíclico. A dupla ligação endocíclica aparece sempre conjugada com o grupo carboxílico em C-17. Também aparece um metino muito desblindado a 74,71 ppm o qual corresponde à posição 7, geminal com o grupo metoxilo.

O metilo do grupo metoxilo aparece a 58,59 ppm e o do grupo metoxicarbonilo a 51,39 ppm.

O acima exposto leva-nos a admitir 7 como sendo o 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo, com a estrutura:



2.2.10 - 6,15-Dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo (A₁₀)

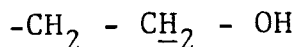
O produto eluído das fracções 72-78 da cromatografia A (parágrafo 3.5) comporta-se como espécie única em CCF, é um óleo incolor e apresenta no espectro IV (figura 3.44) bandas de grupo hidroxilo a 3400 cm⁻¹, de grupo éster a 1710 e 1240 cm⁻¹ e de dupla ligação a 1640 cm⁻¹.

O espectro de RMN de ¹H deste composto exhibe os seguintes sinais a, δ (ppm):

- 6,42, t (J=2,4 Hz), 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 4,36, ddd (J₁=2,4 Hz, J₂ = 3,4 Hz e J₃=10,7 Hz), 1H, geminal com um grupo hidroxilo secundário.

- 3,71, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.

- 3,66, m, 2H, de um agrupamento

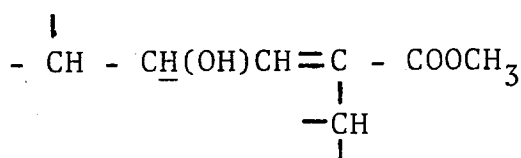


- 1,13 e 1,08, 2s, 2x3H, de dois grupos metilo desblindados do sistema bicíclico.

- 0,87, d (J=6,8 Hz), 3H, do Me-16.

- 0,85, s, 3H, de outro metilo do sistema bicíclico.

Ao comparar o espectro de RMN de ^1H de A_{10} com o de A_8 verificamos que, apesar da presença dos sinais do sistema bíclico e da cadeia lateral, existem diferenças significativas: dois dos singletos dos grupos metilo aparecem muito desblindados (a 1,13 e 1,08 ppm); o hidrogênio olefínico β em relação ao grupo metoxicarbonilo aparece como um triplo a 6,42 ppm (J=2,4 Hz); aparece um sinal a 4,36 ppm como ddd (J₁=2,4 Hz, J₂=3,4 Hz e J₃=10,7 Hz), correspondente ao agrupamento:

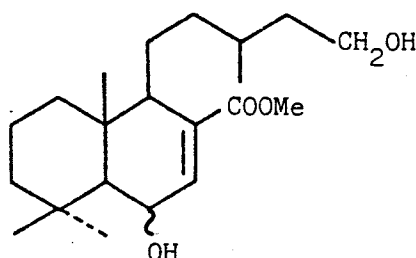


Portanto, podemos situar o grupo hidroxilo secundário na posição 6 do sistema bicíclico.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.45, tabela 3.III) aparecem 21 sinais que, pelo método DEPT, se verificam correspondem a: cinco grupos metilo, sete grupos metileno, cinco grupos metino, sendo um deles olefínico, e quatro carbo-

nos totalmente substituídos, sendo um carboxílico e outro olefínico.

Este espectro de A_{10} apresenta uma diferença significativa relativamente ao de A_8 : desaparece o sinal do metileno na posição 6 ($\delta=23,88$ ppm) para ser substituído por um metino desblindado ($\delta=68,93$ ppm). Esta observação confirma que o grupo hidroxilo secundário se liga ao carbono 6. Consequentemente A_{10} é o 6,15-dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo, com a seguinte estrutura:



A acetilação e posterior recromatografia em coluna das fracções 79-86 da cromatografia A (parágrafo 3.5) fornece uma pequena quantidade de um óleo incolor, 8, cujo espectro de IV (figura 3.46) apresenta bandas de grupo éster a 1720 e 1220 cm^{-1} , de dupla ligação a 1650 cm^{-1} e outra a 1020 cm^{-1} .

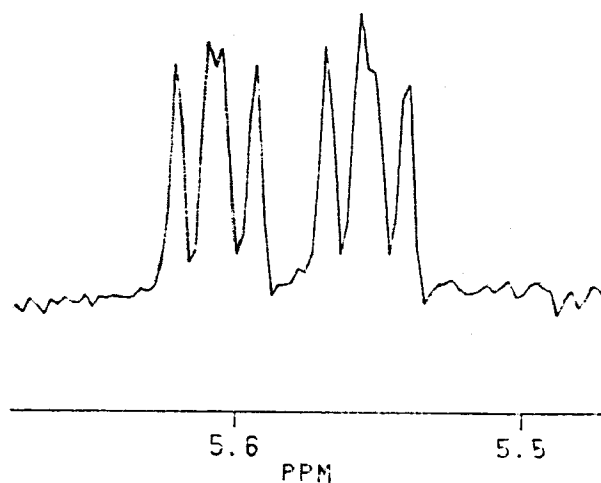
O espectro de UV (figura 3.48) apresenta uma banda de absorção com $\lambda_{\text{máx}}=213$ nm, característica de um éster α,β -insaturado.

No espectro de RMN de ^1H (figura 3.46) observam-se

os seguintes sinais a, δ (ppm):

- 6,25, t ($J=2,4$ Hz), 1H, olefínico, β em relação a um grupo éster.
- 5,58, ddd ($J_1=2,4$ Hz, $J_2=3,4$ Hz e $J_3=10,7$ Hz), 1H, geminal com um grupo acetoxilo.
- 4,11, m, 2H, de um agrupamento
- $\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{OCOCH}_3$.
- 3,71, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 2,06 e 2,03, 2s, 2x3H, de metilos de dois grupos acetoxilos.
- 0,97, 0,95 e 0,91, 3s, 3x3H de metilos do sistema bicíclico.
- 0,88, d ($J=6,2$ Hz), 3H, do Me-16.

Observa-se que, relativamente a A_{10} , o composto 8 apresenta uma menor desblindagem dos metilos 19 e 20 e sinais devidos a dois grupos metilo de grupos acetoxilos. Isto comprova a existência de dois grupos hidroxilo em A_{10} . Não há modificação da cadeia lateral e o multiplete centrado a 4,11 ppm indica a existência do grupo acetoxilo na posição 15. O hidrogênio da posição 6, geminal ao outro grupo acetoxilo, aparece mais desblindado a $\delta=5,58$ ppm como ddd ($J_1=2,4$ Hz, $J_2=3,4$ Hz e $J_3=10,7$ Hz):



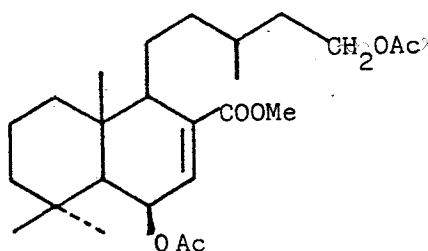
No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.47, tabela 3.IID) aparecem 25 sinais que, pelo método DEPT, se atribuem a sete grupos metilo; sete grupos metileno; cinco grupos metino, sendo um olefínico; e seis carbonos tetrasubstituídos, sendo três carboxílicos e um olefínico. O sinal a 71,17 ppm é atribuído a C-6.

Todos os resultados anteriores confirmam a estrutura proposta para A_{10} . A estereoquímica β do grupo hidroxilo em C-6 de A_{10} e do acetoxilo em C-6 de 8 é suportada por:

- constante de acoplamento do hidrogênio geminal.
- desblindagem dos grupos metilo 19 e 20 do dihidroxiderivado A_{10} , por estarem ambos em posição 1,3-sym - diaxial com o grupo hidroxilo do anel.

- dificuldade de acetilação a temperatura ambiente devido a impedimento estereoquímico.

Como consequência propõe-se para 8 a estrutura do 6 β ,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo:



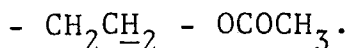
2.2.11 - 7,15-Diacetoxi-8-labden-17-oato de metilo (A₁₁)

O produto que se elui das fracções mais polares (92-94) da cromatografia A (parágrafo 3.5), por acetilação e posterior recromatografia, produz um óleo incolor, A₁₁, cujo espectro IV (figura 3.50) apresenta bandas de grupo éster a 1720 e 1230 cm⁻¹ e outra a 1020 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H (figura 3.50) observaram-se sinais a, δ (ppm):

- 5,71, m, 1H, de hidrogênio geminal a um grupo acetoxilo secundário.

- 4,07, m, 2H, de um agrupamento



- 3,68, s, 3H, de um grupo metoxicarbonilo.
- 2,03 e 1,98, 2s, 2x3H, de metilos de dois grupos acetoxilo.
- 1,11, s, 3H, de metilo do sistema bicíclico.
- 0,95, d (J=6,1 Hz), 3H, do Me-16.
- 0,91 e 0,85, 2s, 2x3H, de metilos do sistema bicíclico.

O espectro de RMN de ^1H do composto A_{11} , relativamente ao de A_4 , mantém os sinais correspondentes ao sistema bicíclico e cadeia lateral e o grupo hidroxilo na posição 15 acetilado. Não aparece o hidrogênio olefínico β em relação ao grupo metoxicarbonilo.

Se se compara o espectro de A_{11} com o de 7, verifica-se que ambos exibem a dupla ligação entre as posições 8 e 9 e que varia o sinal do hidrogênio geminal com o grupo acetoxilo secundário que aparece mais desblindado (5,71 ppm), o que nos leva a admitir que este grupo se liga a C-7.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.51, tabela 3.IV) aparecem 25 sinais que, pela técnica DEPT, se atribuem a sete grupos metilo, oito grupos metileno, três grupos metino e sete carbonos totalmente substituídos, dos quais três são carboxílicos e dois olefínicos.

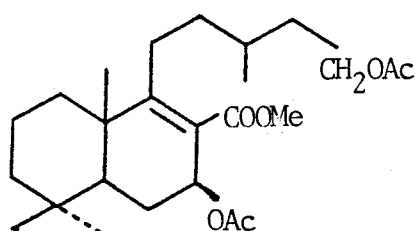
Tendo em conta que A_{11} mantém o mesmo esquema de substituição no anel A do sistema bicíclico e a mesma cadeia lateral que todos os outros produtos anteriormente descritos,

o agrupamento $-\text{CH}(\text{OAc})\text{C}=\text{C}$ deve situar-se no anel

$$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \\ | \\ \text{COOCH}_3 \end{array}$$

B, com a dupla ligação entre as posições 8 e 9 e o grupo acetoxilo situado em C-7.

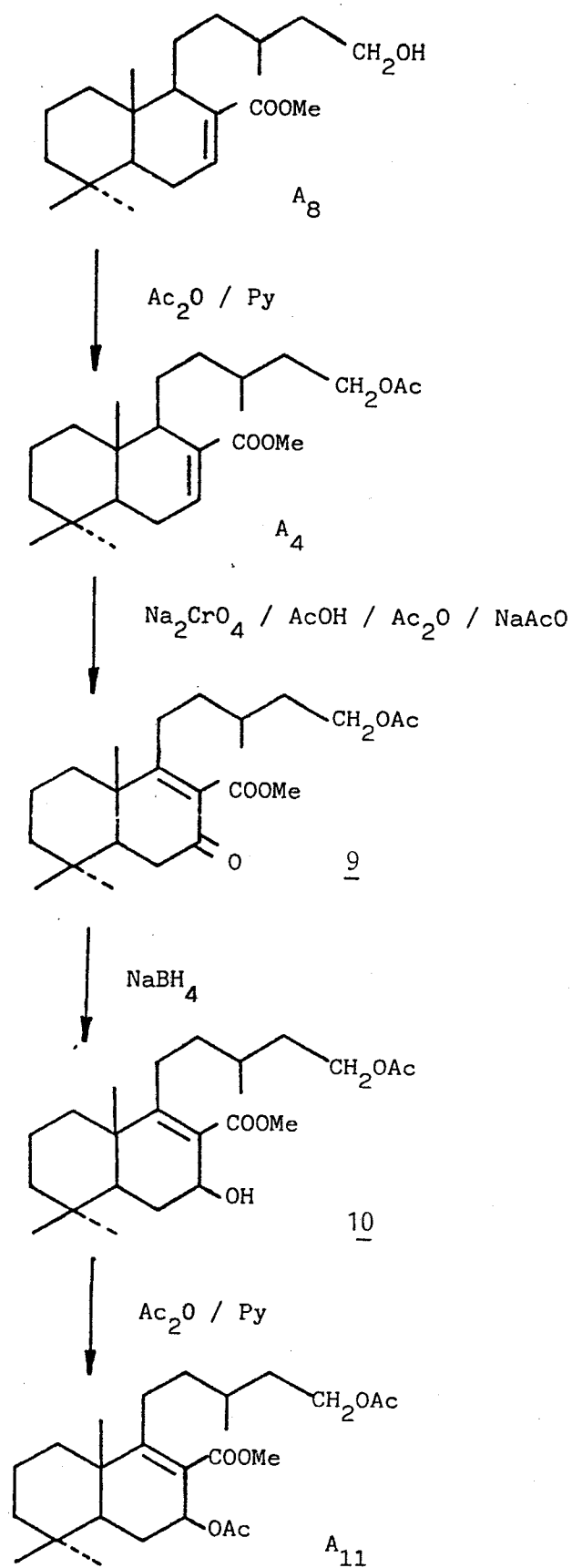
A estereoquímica β do grupo acetoxilo de C-7 é-nos indicada pelos constantes de acoplamento do hidrogênio que lhe é geminal. Portanto, propomos que A_{11} seja identificado como o 7 β ,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo, com a seguinte estrutura:



A confirmação da estrutura de A_{11} realizou-se de acordo com o esquema 2.2.

A oxidação alílica de A_4 com cromato de sódio⁵² dá lugar à formação de 9, um óleo incolor que apresenta no espectro de IV (figura 3.53) bandas de grupo éster a 1740 e 1240 cm^{-1} e de ligações duplas a 1670 e 1620 cm^{-1} . O valor de 1670 cm^{-1} para uma das duplas ligações indica-nos que está conjugada com um grupo carbonilo. Esta conclusão é confirmada pelo espectro de UV (figura 3.55) do composto que apresenta uma banda de absorção com $\lambda_{\text{máx.}} = 242 \text{ nm}$, característica de um grupo carbonilo α, β -insaturado.

Esquema 2.2 - Preparação de A₁₁ a partir de A₈



No espectro de RMN de ^1H (figura 3.53) observam-se os seguintes sinais, δ (ppm):

- 4,05, t ($J=6,8$ Hz), 2H, geminais do grupo acetoxilo em C-15.
- 3,76, s, 3H, de um metoxicarbonilo.
- 2,00, s, 3H, do metilo do acetoxilo.
- 1,13 e 0,90, 2s, 2x3H, de dois metilos do sistema bicíclico.
- 0,88, d ($J=6,7$ Hz), 3H, de Me-16.
- 0,86, s, 3H, de Me-18.

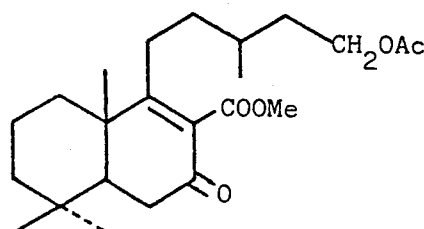
Ao comparar o espectro de RMN de ^1H de 9 com o de A₄, nota-se o desaparecimento do hidrogênio olefínico β em relação ao grupo metoxicarbonilo e o deslocamento para campo mais baixo (1,13 ppm) de um dos grupos metilo.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.54) (tabela 3.V) aparecem 23 sinais que, mediante o método DEPT, se determina corresponderem a seis grupos metilo, oito metilenos, dois metinos e sete carbonos tetrasubstituídos. Estes últimos são atribuídos a um grupo carbonilo (196,17 ppm), dois grupos éster (170,97 e 172,01 ppm), dois carbonos sp^2 (167,87 e 132,51 ppm) e dois carbonos sp^3 .

Com estes resultados podemos concluir que nesta oxidação alílica há uma migração da ligação dupla da sua posição normal 7,8 para a posição 8,9, continuando em conjugação com o grupo carboxilo. A oxidação alílica produz-se em C-7 onde aparece o grupo carbonilo, também conjugado com a

dupla ligação.

Conseqüentemente, identificamos 9 como sendo o 15-acetoxi-7-oxo-8-labden-17-oato de metilo, que tem a seguinte estrutura:



O produto da redução de 9 com NaBH_4 em metanol é o composto 10, que apresenta no espectro de IV (figura 3.56) uma banda larga a 3400 cm^{-1} típica de grupo hidroxilo. Isto indica-nos a transformação do grupo carbonilo em hidroxilo.

De realçar no espectro de RMN de ^1H (figura 3.57) o sinal a 5,58 ppm, dd ($J_1=7,3 \text{ Hz}$; $J_2=10,2 \text{ Hz}$), 1H devido ao hidrogênio geminal com o grupo hidroxilo secundário alílico em C-7, com estereoquímica β . O composto 10 é portanto o 15-acetoxi-7 β -hidroxi-8-labden-17 oato de metilo.

O tratamento de 10 com $\text{Ac}_2\text{O/py}$ produz A_{11} , o que confirma a estrutura e estereoquímica propostas para este composto.

2.3 - Parte neutra da saponificação

A parte neutra da saponificação (parágrafo 2.1) foi cromatografada em coluna sobre sílica-gel (cromatografia N, parágrafo 3.6) tendo-se obtido quatro produtos puros (N_1 , N_2 , N_3 e N_6) e algumas misturas. Por recromatografia destas misturas obtiveram-se os compostos N_4 , N_5 e N_7 .

A descrição detalhada do isolamento e purificação destes compostos é apresentada no capítulo III.

Os compostos são numerados por ordem crescente de polaridade.

2.3.1 - 7,16-Valparadieno (N_1)

As fracções 10-15 da cromatografia N (parágrafo 3.6.1.) apresentam em C.C.F. um produto maioritário que foi purificado por C.C. sobre sílica-gel/ $AgNO_3$. É um óleo incolor cujo espectro IV (figura 3.58) apresenta bandas de ligação dupla a 3080, 1640 e 890 cm^{-1} . Trata-se portanto de um hidrocarboneto insaturado.

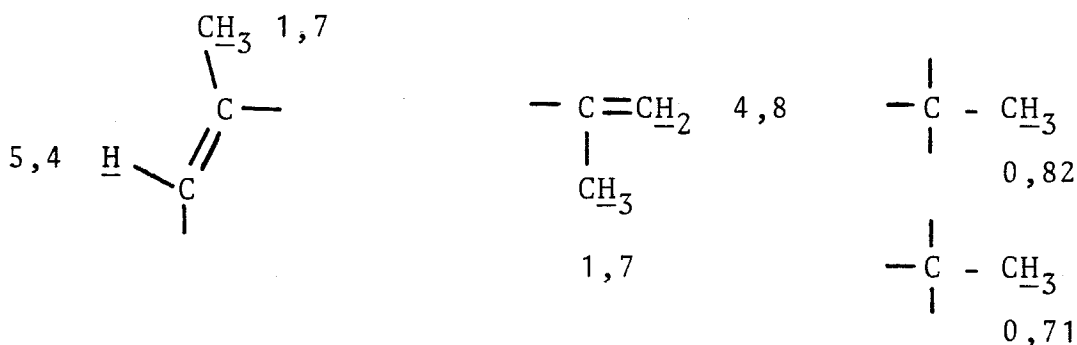
No espectro de RMN de 1H (figura 3.58) apresenta os seguintes sinais, δ (ppm):

- 5,37, m, 1H, olefínico.
- 4,80, s, 2H, olefínicos de metileno terminal.
- 2,72, m, 1H
- 1,76 e 1,74, 2s, 2x3H, dois metilos em ligação dupla.

- 0,82 e 0,72, 2s, 2x3H, de dois metilos quaternários.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.59, tabela 3.VII) aparecem 20 sinais que pela técnica DEPT atribuímos a: quatro grupos metilo, oito metilenos (um olefínico), quatro metinos (um olefínico) e quatro carbonos tetrasubstituídos (dois olefínicos).

Do espectro de RMN de ^1H podemos destacar os seguintes agrupamentos:



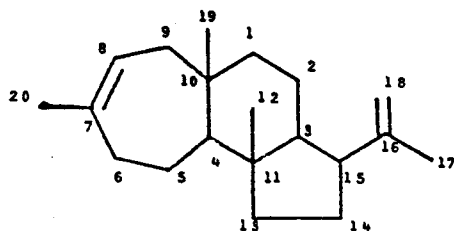
Estes fragmentos são confirmados pelo espectro de RMN de ^{13}C :



No espectro de massa (figura 3.60) observa-se o ião molecular M^+ a 272, correspondendo-lhe a fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$ de um hidrocarboneto diterpênico.

O esqueleto deste composto deverá ser tricíclico visto apresentar somente duas duplas ligações.

As propriedades físicas e espectroscópicas de N_1 coincidem com as de um produto simultaneamente separado da parte neutra do *H. viscosum* (Valparaíso)*. O estudo das correlações homonuclear ^{13}C - ^{13}C (2D-INADEQUATE) e heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma e várias ligações (HCCORR) levou a propor para N_1 , a estrutura:



Na tabela 3.VII apresenta-se a interpretação completa de espectro de RMN de ^{13}C deste composto.

Trata-se pois de um novo esqueleto carbonado, sem precedentes bibliográficos, de que ainda não foi possível estabelecer a estereoquímica completa. Não obstante, denominamos o esqueleto de Valparano, pelo que N_1 , será o 7,16-Valparadieno.

* J.G.Urones, Departº Química Orgânica, da Universidade de Salamanca, Comunicação pessoal.

Biogeneticamente este esqueleto pode proceder de um álcool diterpênico insaturado com esqueleto bicíclico [5,3,0], denominado tormesol⁴⁴, através da expansão anelar, via carbocatião, e posterior ciclização, conforme o Esquema 2.3.

Admitindo ser esta a origem biogenética do composto, mantemos para o esqueleto de Valparano a numeração do tormesol.

2.3.2 - 7,8-Epoxi-16-Valpareno (N₂)

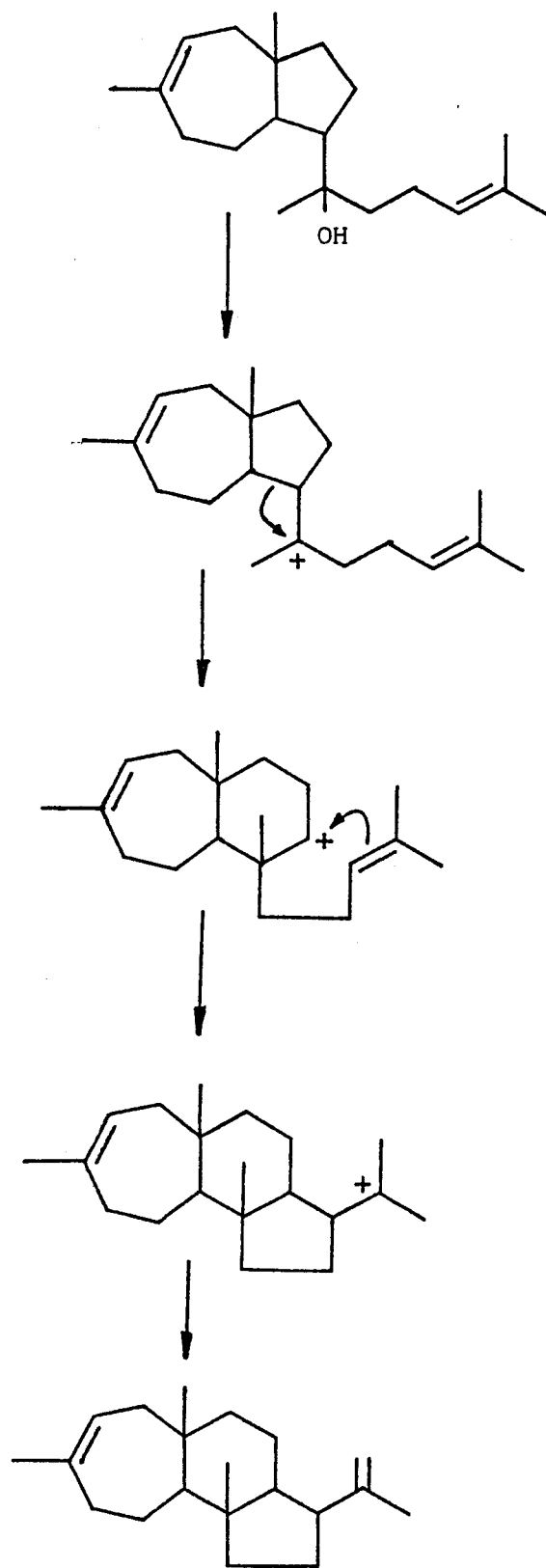
Das fracções 28-43 da cromatografia N (parágrafo 3.6.2) purifica-se por CCFP um produto sólido incolor com p.f. 129-130°C, que apresenta no espectro de IV (figura 3.61) bandas de dupla ligação a 3090, 1650, 890 e 770 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H (figura 3.61) observam-se os seguintes sinais, δ(ppm):

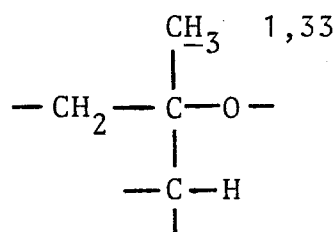
- 4,80, s, 2H, de metileno terminal.
- 2,71, m, 1H, geminal a um epóxido.
- 1,75, s, 3H, metilo em ligação dupla.
- 1,33, s, 3H, de um metilo.
- 1,01 e 0,76, 2s, 2x3H, de dois metilos quaternários.

Observa-se que, relativamente a N₁, em N₂ se mantêm os quatro grupos metilo (três quaternários e um olefínico) e o metileno terminal. Como alteração significativa nota-se o desaparecimento de uma dupla ligação e a desblindagem de um metilo quaternário para 1,33 ppm o que indica que deve

Esquema 2.3 - Biogênese do valparano



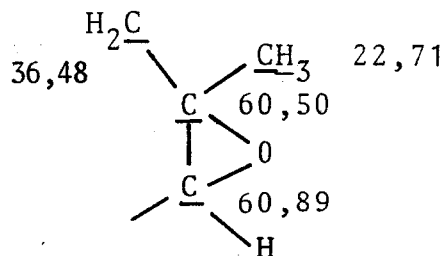
estar próximo duma função oxigenada:



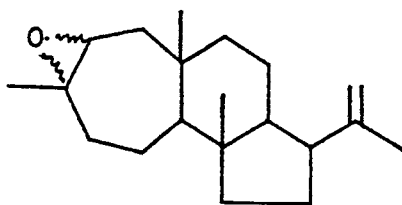
No espectro de IV não existe nenhuma banda de grupo hidroxilo.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.62, tabela 3.VII) aparecem sinais de 20 átomos de carbono que, pelo método DEPT, são atribuídos a: quatro grupos metilo, oito metilenos (um olefínico terminal), quatro metinos e quatro carbonos tetra-substituídos (um olefínico).

A estrutura parcial anterior pode completar-se por que encontramos um metino e um carbono quaternário a 60,89 e 60,50 ppm, respectivamente, que indicam estar unidos a um átomo de oxigênio:



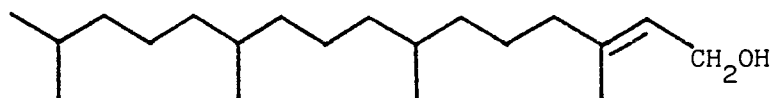
Por conseguinte, este composto deve ser o 7,8-epoxi-16-valpareno:



A comparação do espectro de RMN de ^{13}C deste composto com o de N_1 permite a sua atribuição completa (tabela 3.VII).

2.3.3 - Fitol (N_3)

Das fracções 44-50 da cromatografia N (parágrafo 3.6) isolou-se um dos produtos maioritários (N_3), que pelas suas constantes espectroscópicas e por comparação com uma amostra autêntica foi identificado como sendo o bem conhecido fitol;



2.3.4 - 7,13 E-labdadien-15-ol (N₄)

A fracção 5 da cromatografia M (parágrafo 3.6.3), fornece um único produto, um óleo incolor cujo espectro de IV (figura 3.64) exhibe bandas características de grupo álcool a 3360 e 1010 cm^{-1} e de ligação dupla a 1670 cm^{-1} .

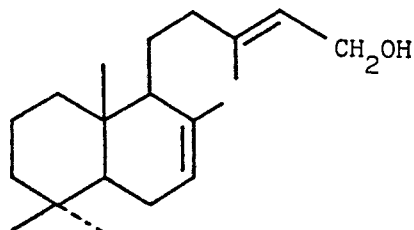
No seu espectro de RMN de ^1H (figura 3.64) aparecem os seguintes sinais, δ (ppm):

- 5,42, t (J=6,8 Hz), 1H, hidrogénio olefínico da cadeia lateral.
- 5,40, m, 1H, hidrogénio olefínico do anel.
- 4,15, d (J=6,8 Hz), 2H, geminais com o grupo hidroxilo.
- 1,69 e 1,68, 2s, 2x3H, de dois metilos em ligação dupla, Me-16 e M-17.
- 0,87, 0,84 e 0,74, 3s, 3x3H, de Me-19, Me-18 e Me-20.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.65) (tabela 3. VIII) aparecem sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Mediante a técnica DEPT, determinou-se que: cinco correspondem a grupos metilo, sete a metilenos, quatro a metinos, (dois olefínicos) e quatro carbonos tetrasubstituídos (dois olefínicos).

As propriedades físicas e espectroscópicas deste produto coincidem com as descritas na bibliografia para o 7,13 E-labdadien-5-ol, que já foi isolado como produto natu-

ral e obtido por síntese²⁰:



2.3.5 - 8 ϵ -Hidroxi-7(20),16-valparadieno (N₅)

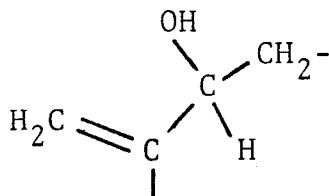
Da fracção 6 da cromatografia M (parágrafo 3.6.3) isola-se por cristalização em hexano um sólido incolor de p.f. 129-130°C. O espectro de IV (figura 3.66) apresenta bandas características de grupo hidroxilo a 3350 cm⁻¹ e de dupla ligação terminal a 3090, 1640 e 890 cm⁻¹.

No espectro de RMN de ¹H deste composto (figura 3.66) é-nos dado observar os seguintes sinais, δ (ppm):

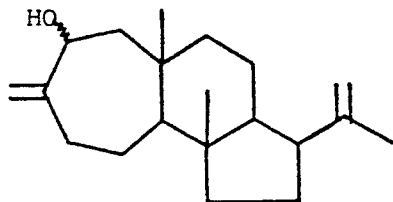
- 5,00 e 4,92, 2s, 2x1H, de um metileno terminal.
- 4,79, s, 2H, de outro metileno terminal.
- 4,24, dd ($J_1=6,3$ Hz, $J_2=10,5$ Hz), 1H, geminal com um grupo hidroxilo alílico.
- 1,75, s, 3H, de metilo em ligação dupla.
- 0,91 e 0,71, 2s, 2x3H, de metilos quaternários.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.67) (tabela 3. VII), apresenta sinais de 20 átomos de carbono que pelo método DEPT se atribuem a: três grupos metilo, nove metilenos (dois olefínicos terminais), quatro metinos (um geminal com um grupo hidroxilo a 71,89 ppm) e quatro carbonos tetrasubstituídos (dois olefínicos).

As características espectroscópicas deste composto e a comparação destas com as de N_1 e N_2 , indicam que se trata de um diterpeno tricíclico com duas duplas ligações e fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$. A multiplicidade do sinal do hidrogênio geminal com o grupo hidroxilo leva-nos a situá-lo em C-8 e a incorporá-lo no seguinte agrupamento:

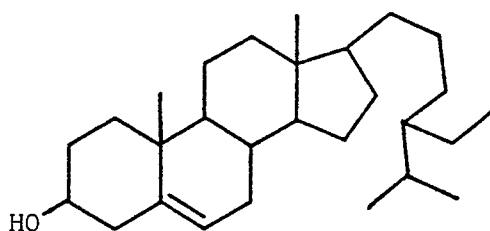


Conseqüentemente, propõe-se para N_5 a estrutura de 8ξ-hidroxi-7(20),16-valparadieno:



2.3.6 - Sitosterol (N₆)

As fracções 87-101 da cromatografia N₆ (parágrafo 3.6) são constituídas principalmente por β -sitosterol que após cristalização em metanol foi comparado por CCF e espectroscopicamente com uma amostra autêntica de produto natural:

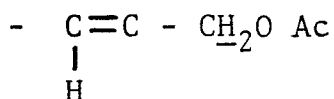


2.3.7 - 15,17-Diacetoxi-7-labdeno (N₇)

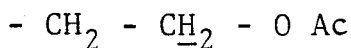
Nas fracções 127-134 da cromatografia N (parágrafo 3.6), após acetilação com $\text{Ac}_2\text{O/py}$, isolou-se por CC (cromatografia P, parágrafo 3.6.4) um produto, na forma de óleo incolor, em cujo espectro de IV (figura 3.69) se observam bandas características de grupo éster a 1740 e 1240 cm^{-1} .

No espectro de RMN de ^1H observam-se os seguintes sinais, $\delta(\text{ppm})$:

- 5,78, m, ^1H , hidrogênio olefínico H-7.
- 5,54 e 4,40, d ($J=12,2 \text{ Hz}$), 2H, de um sistema AB de um agrupamento:



- 4,07, t (J=6,8 Hz), 2H, geminais com um grupo acetoxilo do agrupamento.



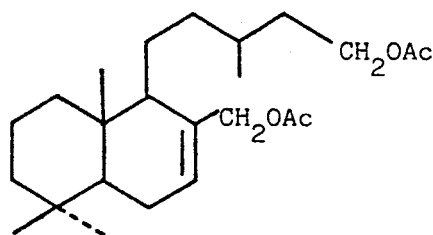
- 2,04 e 2,02, 2s, 2x3H, dos metilos do grupo acetoxilo.

- 0,91, d (J=6,5 Hz), 3H, de Me-16.

- 0,86, 0,84 e 0,74, 3s, 3x3H, de Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 3.70) (tabela 3. VIII) apresenta sinais de vinte e quatro átomos de carbono, que, pelo método DEPT, se verifica corresponderem a: seis grupos metilos, nove metilenos, quatro metinos (um olefínico) e cinco carbonos tetrasubstituídos (dois de ésteres e um olefínico).

Com estes resultados, propomos que o diacetato do produto natural, N_7 , é o 15,17-diacetoxi-7-labdeno, com a seguinte estrutura:



A confirmação da estrutura proposta fez-se por via química a partir do produto maioritário isolado da parte ácida do extracto descerado, A₈ (parágrafo 3.2), segundo o Esquema 2.4.

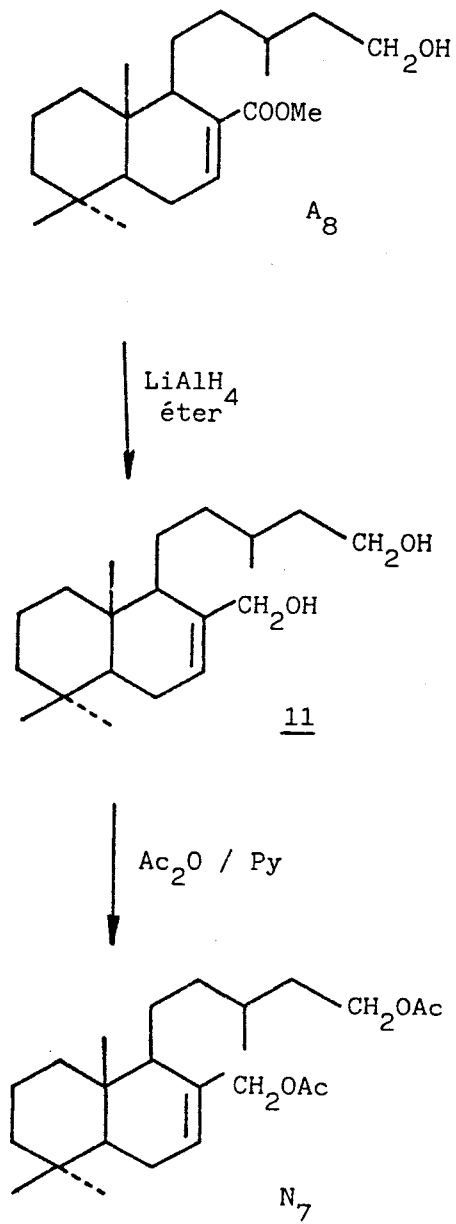
A redução de A₈ com LAH fornece um diol, 11, que por acetilação produz N₇ (parágrafo 3.5.5), o que confirma a estrutura e estereoquímica propostas para este composto.

2.4 - Conclusões

- i) - Os componentes isolados da parte solúvel em NaOH (79,0% do extracto descerado) são ácidos com esqueleto labdânico da série normal, que foram separados na forma de éster metílico. Todos eles se caracterizam por possuir a função carboxílica em C-17, o que tem escassos precedentes bibliográficos, e um hidroxilo livre ou esterificado em C-15.

- ii) O componente maioritário A₈ é um hidroxiéster que representa 40% da parte ácida e se identifica como 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo (O produto natural é o correspondente ácido). Esta estrutura e a sua estereoquímica foram determinadas por transformação em 7-en-15-labdanol (cativol) por tratamento sucessivo com DHP, LAH, ClMs, LAH e hidrólise ácida.

Esquema 2.4 - Preparação de N₇ a partir de A₈



A atribuição do espectro de RMN de ^{13}C deste composto fez-se por correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma e várias ligações (HCCO $\overline{\text{RR}}$) e serviu de base à interpretação dos espectros de RMN de ^{13}C dos outros componentes isolados.

iii) - Isolaram-se e identificaram-se espectroscopicamente cinco produtos naturais que possuem o grupo hidroxilo de C-15 esterificado com diferentes ácidos: cinâmico, Z - cinâmico, isobutírico, acético e fórmico:

A₁ : 15-cimamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo.

A₂ : 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo.

A₃ : 15-isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo.

A₄ : 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo.

A₇ : 15-formiloxi-7-labden-17-oato de metilo.

A confirmação estrutural de todos eles fez-se por via química (hidrólise e síntese).

iv) - Dois componentes minoritários são A₅ e A₆, que foram identificados pelas suas propriedades espectroscópicas.

A₅, o éter metílico de A₈, é o 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo.

A₆, o ester metílico do ácido resultante da oxidação de C-15, é o 7-labden-15,17-dioato de metilo.

v) - Como componentes mais polares separam-se três compostos:

A₉ : 15-hidroxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo.

A₁₀ : 6 β ,15-dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo.

A₁₁ : 7 β ,15-dihidroxi-8-labden-17-oato de metilo.

A₉ e A₁₁, possuem uma dupla ligação tetra-substituída Δ^8 conjugada com o grupo metoxicarbonilo, um hidroxilo em C-15 e um metoxilo ou hidroxilo em C-7.

A estrutura e estereoquímica destes três compostos foi determinada por via espectroscópica e confirmada por via química no caso de A₁₁, por oxidação de A₄ com Na₂CrO₄, que fornece um composto carbonílico α , β -insaturado com migração da ligação dupla para Δ^8 , seguida de redução deste produto.

vi) - Da parte neutra de saponificação do extracto de *n*-hexano, para além dos já conhecidos fitol e β -sitosterol, isolaram-se cinco compostos diterpênicos. Destes, dois têm esqueleto labdânico da série normal:

N₄ : 7,13E-labdadien-15-ol.

N₇ : 15,17-diacetoxi-7-labdeno (O produto natural é o correspondente diol).

Os restantes três diterpenos apresentam um novo esqueleto carbonado tricíclico, cuja estereoquímica se desconhece, que foi denominado Valparano:

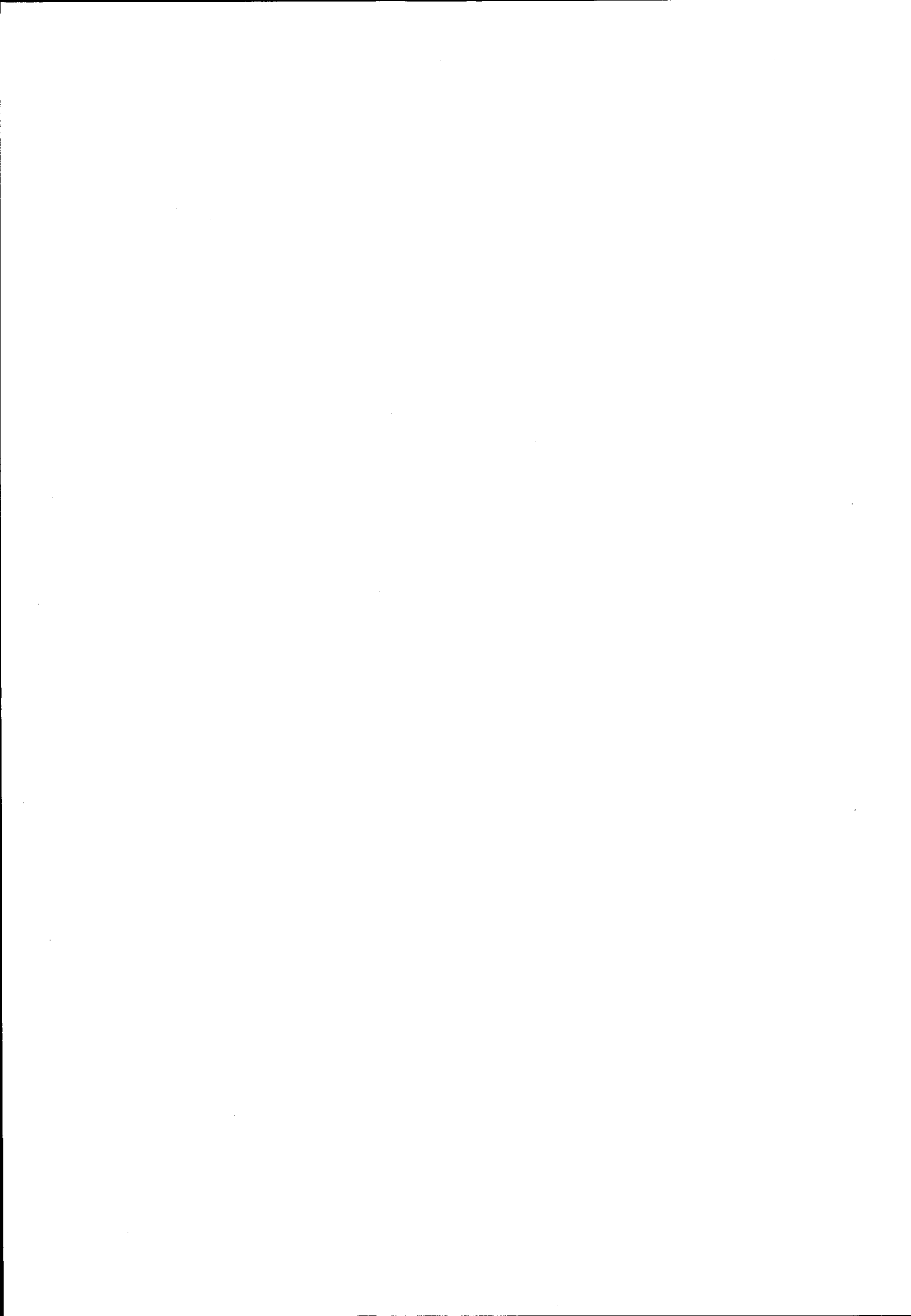
N₁ : 7,16-valparadieno

N₂ : 7,8-epoxi-16-valpareno

N₅ : 8ξ-hidroxi-7(20),16-valparadieno.

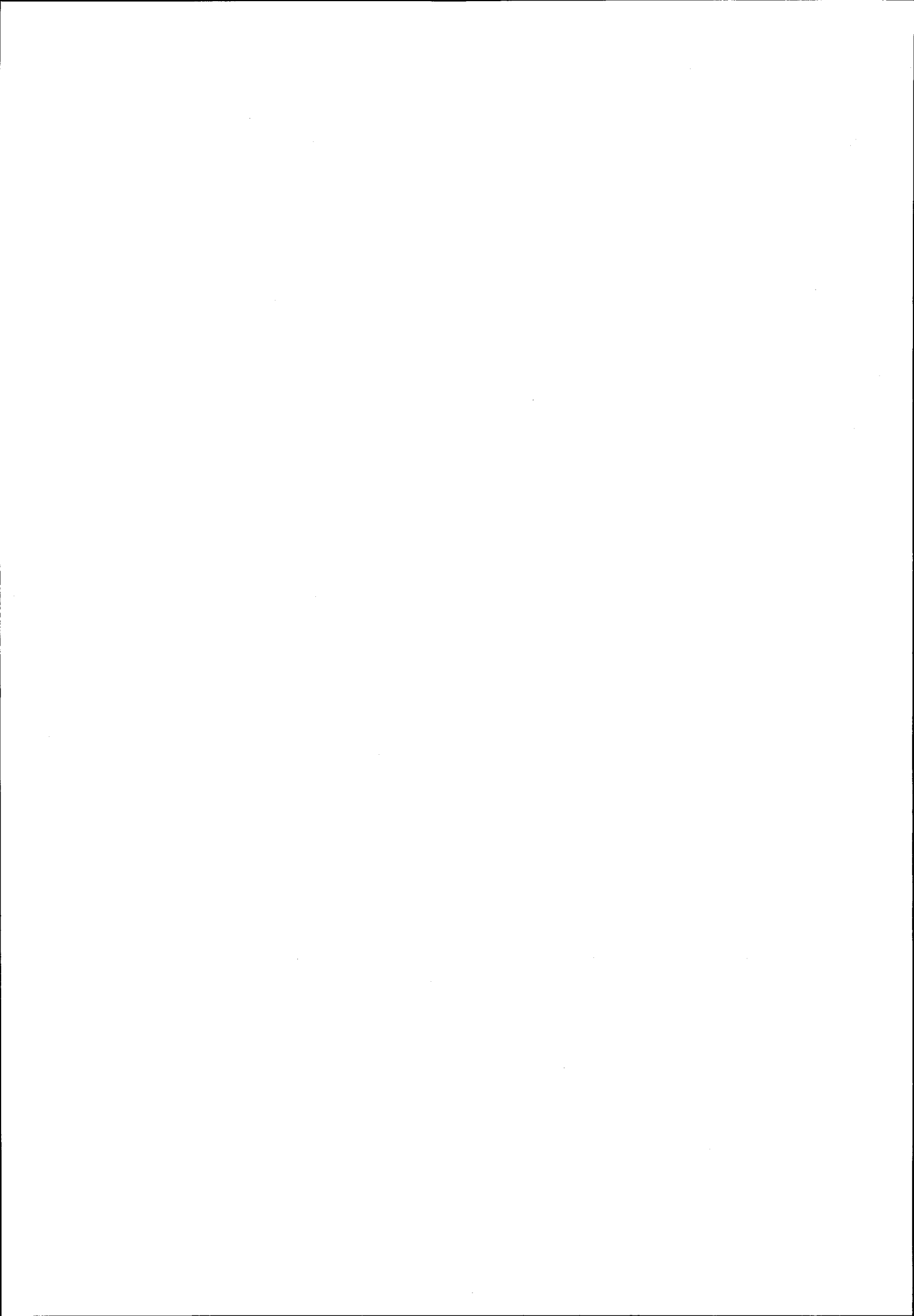
vii) - Na sua composição, o *Halimium Verticillatum*, difere tanto dos *Cistus* como dos outros *Halimium*. Apenas o *Halimium Viscosum* (Valparaíso) apresenta algumas semelhanças, principalmente na parte neutra de onde se extraíram compostos idênticos.

Embora da sua parte ácida se tivessem também extraído compostos labdânicos estes distinguem-se dos extraídos do *Halimium Verticillatum* por apresentarem a cadeia lateral insaturada.



C A P I T U L O - I I I

PARTE EXPERIMENTAL



CAPITULO III - PARTE EXPERIMENTAL

3.1 - Instrumentação

Poderes rotatórios - Foram medidos num Polarímetro digital Perkin-Elmer 241, em cubas de 1 dm de comprimento em solução de clorofórmio. A concentração a que se realizaram as determinações são especificadas em cada caso.

Espectros de infravermelho - Realizaram-se em Espectrofotômetros Beckman IR-33 ou Hitachi 260-10, em filme capilar em janelas de NaCl ou em pastilha de KBr.

Espectros de RMN - Realizaram-se em Espectrômetros Hitachi-Perkin-Elmer R-24 (60 MHz), Jeol FX90 (90 MHz) e Bruker WP-200-SY (200 MHz), utilizando TMS como referência interna e CDCl_3 como solvente mais habitual. Os desvios químicos, δ , são expressos em ppm e as constantes de acoplamento, J, em Hz.

Espectros de ultravioleta - Realizaram-se num Espectrofotômetro Beckman DK-2 ou Hitachi 100-60, utilizando cubas de 1 cm de espessura e etanol como solvente.

Espectros de massa - Foram realizados num espectrômetro MS 9 Kratos modernizado com consola VG Micro Mass, utilizando uma fonte de impacto electrónico a uma temperatura de 200°C (Energia de ionização : 70 eV).

3.2 - Técnicas Cromatográficas Gerais

Cromatografia em camada fina (CCF) - Realizaram-se em placas de sílica-gel Merck G-60, com 0,25 ou 0,50 mm de espessura, activadas durante 1,5 horas a 120°C. As placas foram reveladas por pulverização com uma solução de ácido sulfúrico em etanol a 30% ou de ácido fosfomolibdico em etanol a 5%, seguida de aquecimento a 120°C durante alguns minutos.

As substâncias fluorescentes foram visualizadas por irradiação com luz ultravioleta de c.d.o. $\lambda=365$ nm.

Cromatografia em camada fina preparativa (CCFP) - Utilizou-se sílica-gel Merck (60 PF₂₅₄₊₂₃₆) em placas de 20 x 20 cm e 0,75 ou 1,0 mm de espessura, activadas durante 1,5 horas a 120°C. Para a recuperação das substâncias orgânicas fez-se uma percolação com éter ou acetato de etilo.

Cromatografia em coluna húmida (CC) - Realizaram-se em sílica-gel Merck 60, 0,063-0,2 mm (refª 7734) ou numa mistura de sílica-gel/Ag NO₃ a 20% em peso. Por cada grama de substância a cromatografar utilizaram-se normalmente 60 g de adsorvente.

Estas cromatografias efectuaram-se em colunas de vidro, cheias com uma papa do adsorvente no eluente inicial (n-hexano). Na preparação destas colunas houve o cuidado de agitar a fim de evitar a formação de bolhas de ar.

A eluição realizou-se com solventes de polaridade crescente, controlando-se a composição das fracções eluídas por CCF.

3.3 - Reacções Gerais mais Utilizadas

Esterificação com solução etérea de diazometano -

- A amostra a esterificar era dissolvida em éter seco, adicionando-se de seguida um excesso de solução etérea de diazo metano.

Repetia-se o processo até cessar o desprendimento de azoto, após o que a mistura era deixada na obscuridade, a temperatura ambiente, durante 8 horas. Passado este tempo lavava-se várias vezes com HCl 2N e com uma solução de Na HCO₃ para separar os ácidos não metilados.

Finalmente lavava-se com H₂O até a neutralidade, secava-se a solução etérea com Na₂SO₄ anidro e concentrava -se.

Acetilação - O álcool era dissolvido em 1 ml de piridina, adicionando-se a esta solução 2 ml de anidrido acético. Deixava-se decorrer a reacção à temperatura ambiente, comprovando-se a acetilação total do produto por CCF. Quando a reacção terminava, vertia-se a mistura reaccional sobre água e gelo moído e extraía-se com éter.

A solução etérea era lavada sucessivamente com soluções de HCl 2N, NaHCO₃ e H₂O até neutralidade e finalmente seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada.

Saponificação - A amostra a saponificar era dissolvida em KOH/MeOH a 5% e seguia-se a reacção por CCF. Uma vez finalizada a hidrólise adicionava-se água até duplicar o vo-

lume da mistura e concentrava-se de seguida a fim de eliminar a maior parte do metanol. Extraía-se com éter e lavava-se várias vezes com H₂O até neutralidade. Finalmente secava-se com Na₂SO₄ anidro e concentrava-se.

Preparação do diazometano - Num balão de fundo redondo colocavam-se 4,8 g de KOH, 9 ml de H₂O, 28 ml de metanol e 8 ml de éter. A esta mistura adicionava-se, gota a gota, uma solução de 17,2 g de N-nitroso-N-metiltolilsulfonamida em 100 ml de éter, com agitação e aquecimento a 60-65°C. O diazometano libertado recolhia-se em éter seco.

3.4 - Extração e Fraccionamento

O *Halimium verticillatum* foi recolhido em Corroios, península de Setúbal, na margem Sul do rio Tejo, no mês de Maio.

A planta foi seca ao ar na obscuridade e a parte aérea finamente triturada. Um kilograma de planta assim preparada foi extraída num Soxhlet, em fracções de 0,5 Kg, com n-hexano, durante 24 horas. Por evaporação do n-hexano obteve-se um extracto bruto de 41,4 g, que representa 4,4% do peso de planta seca.

Dissolveu-se o extracto bruto em abundante quantidade de metanol à ebulição e deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. As "ceras" precipitadas foram separadas por filtração e lavadas com metanol a frio.

Concentrou-se o filtrado e repetiram-se as operações de arrefecimento e filtração até não aparecer mais precipitado.

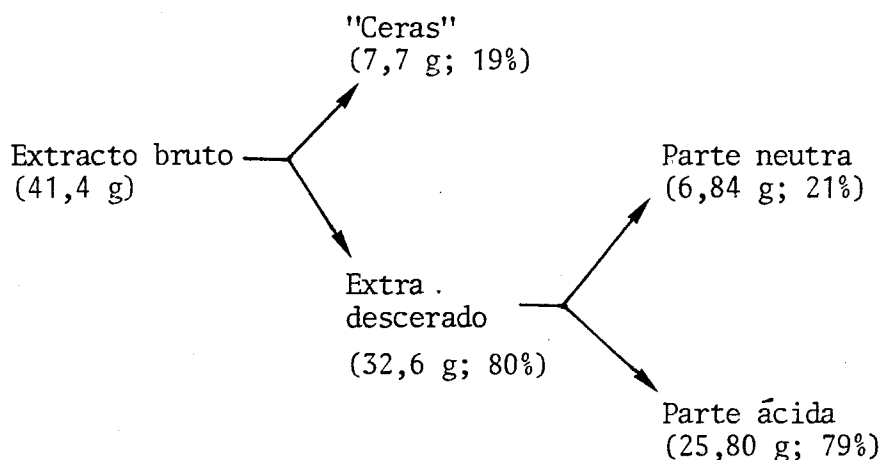
Neste processo, obteve-se um total de 7,7 g de "ceras" as quais representam 19,0% do extracto bruto.

Evaporando o metanol obtiveram-se 32,6 g de extracto descerado.

O referido extracto descerado foi dissolvido em éter e extraído várias vezes com uma solução aquosa de NaOH a 4%. A solução etérea foi lavada com água até à neutralidade, seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada, tendo fornecido 6,84 g de Parte neutra (20,9% do extracto descerado).

As soluções alcalinas foram combinadas, aciduladas com HCl concentrado e os produtos orgânicos extraídos com éter. Esta solução etérea foi lavada com água até à neutralidade, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada, dela se obtendo 25,80 g de Parte ácida (79,0% do extracto descerado).

Fraccionamento do extracto bruto de n-hexano:



3.5 - Produtos da Parte Ácida

5 g da mistura de ácidos (parte solúvel em NaOH a 4%) foram esterificados com diazometano e a mistura de ésteres assim obtida foi cromatografada sobre sílica-gel (300 g) (cromatografia A) obtendo-se os seguintes resultados:

Cromatografia A

| Fracção | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|---------|-----------------|---------|------|--|
| 1 - 3 | n-Hexano | 0,04 | 0,8 | Misturas |
| 4 - 9 | n-Hx/AcOEt 98:2 | 0,20 | 4,1 | Est. metílicos de ácidos gordos |
| 10-12 | n-Hx/AcOEt 95:5 | - | - | - |
| 13-14 | " | 0,51 | 10,2 | A ₁ +A ₂ +A ₃ |
| 15-16 | " | 0,12 | 2,5 | A ₄ |
| 17-22 | n-Hx/AcOEt 9:1 | 0,16 | 3,2 | A ₅ +A ₆ |
| 23-25 | " | 0,11 | 2,3 | A ₆ +A ₇ |
| 26-36 | " | 0,15 | 3,1 | Misturas |
| 37-41 | n-Hx/AcOEt 8:2 | 0,10 | 2,0 | " |
| 42-50 | " | 1,96 | 39,3 | A ₈ |
| 51-54 | " | 0,09 | 1,9 | A ₈ +A ₉ |
| 55-57 | n-Hx/AcOEt 7:3 | 0,12 | 2,5 | A ₉ |
| 58-66 | " | 0,20 | 4,0 | A ₉ |
| 67-76 | " | 0,15 | 3,0 | Misturas |
| 77-78 | n-Hx/AcOEt 6:4 | 0,10 | 2,0 | A ₁₀ |
| 79-86 | " | 0,29 | 5,8 | A ₁₀ |
| 87-91 | n-Hx/AcOEt 1:1 | 0,12 | 2,4 | Misturas |
| 92-94 | " | 0,14 | 2,8 | A ₁₁ |
| 95-98 | AcOEt | 0,27 | 5,4 | Misturas |

Nesta cromatografia obtiveram-se puros os produtos designados por A₄ (fracções 15-16), A₈ (fracções 42-50), A₉ (fracções 55-57), A₁₀ (fracções 77-78) e A₁₁ (fracções 92-94). Os dados físicos que permitiram a identificação destes produtos serão apresentados no parágrafo 3.5.4.

3.5.1 - Cromatografia das fracções 13-14

0,515 g das fracções 13-14 da cromatografia A foram recromatografados numa coluna de sílica-gel (51 g) (cromatografia B) utilizando benzeno e benzeno-éter como eluente, obtendo-se os seguintes resultados:

Cromatografia B

| Fracção | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|---------|-------------------|---------|------|--------------------------------|
| 1 | Benzeno | - | - | - |
| 2 | " | 0,07 | 13,2 | A ₁ |
| 3 | Benzeno-éter 99:1 | 0,32 | 62,4 | A ₁ +A ₂ |
| 4 | " | 0,07 | 14,1 | A ₃ |
| 5 | " | - | - | - |
| 6-8 | Benzeno-éter 9:1 | 0,04 | 9,5 | Misturas |

Desta cromatografia foram isolados como produtos puros e caracterizados os compostos A₁, A₂ e A₃ cujas características espectroscópicas e outras se apresentam no parágrafo 3.5.4.

3.5.2 - Cromatografia das fracções 17-22

Por não se terem conseguido resolver por CC, as fracções 17-22 da cromatografia A foram resolvidas por CCFP com benzeno-éter 95:5 como eluente, tendo-se obtido os produtos A_5 (de R_f superior) e A_6 (de R_f inferior), cujas características espectroscópicas se apresentam no parágrafo 3.5.4.

3.5.3 - Cromatografia das fracções 23-25

As fracções 23-25 da cromatografia A foram resolvidas por CCFP utilizando benzeno-éter 95:5 como eluente, voltando a obter-se A_6 (neste caso, de R_f superior) e um novo produto A_7 (de R_f inferior). As propriedades que permitiram a caracterização destes produtos apresentam-se no parágrafo 3.5.4.

3.5.4 - Caracterização espectroscópica dos produtos ácidos isolados

Neste parágrafo apresentam-se as constantes físicas e espectroscópicas dos produtos isolados que serviram de base à sua completa caracterização.

A₁: 15-cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo

Da fracção 2 da cromatografia B eluíram-se 70,0 mg de um óleo incolor:

$$[\alpha]_D^{25} = -33,5^{\circ} \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,30\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$: 1700, 1640, 1310, 1240, 1160, 760 (fig. 3.1)

Espectro de UV (etanol) $\lambda_{\text{max}} \text{ (nm)}$: 207, 217 e 277, ($\epsilon_1=5200$; $\epsilon_2=5700$ e $\epsilon_3=5300$) (fig. 3.3).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) $\delta \text{ (ppm)}$: 7,67 (1H,d,J=16 Hz, um hidrogênio de um sistema AB); 7,52 (2H, m, dois hidrogênios aromáticos); 7,36 (3H,m, aromáticos); 6,40 (1H,d,J=16 Hz, do outro hidrogênio do sistema AB de um cinamato); 6,62 (1H,m, H-7); 4,24 (2H, m, H-15); 3,70 (3H,s, COC Me); 0,92 (3H,d,J=6,4 Hz, Me-16); 0,88, 0,84 e 0,80 (3H,s,Me-19, Me-18 e M-20 respectivamente). (fig. 3.1).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig. 3.2) (ver tabela 3.I).

EM (70 eV) m/Z (int./rel): M⁺ 466; 434 (14%); 343 (10%); 311 (5%); 131 (100%); 124 (20%); 109 (41%); 103 (8%); 81 (7%); 69 (8%) (fig. 3.4).

A₂: 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo

Da fracção 3 da cromatografia B separam-se dois produtos por CC sobre sílica-gel eluída com benzeno. O primeiro produto coincide com A₁, já descrito, e do segundo produto isolaram-se 38,3 mg, na forma de óleo incolor:

$$[\alpha]_D^{25} = -25,5^\circ \text{ (CHCl}_3\text{, C=2,10\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1710, 1620, 1240, 1160 (fig 3.5).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7,58 (2H, m, aromáticos); 7,32 (3H, m, aromáticos); 6,93 (1H, d, J=12,7 Hz, um hidrogênio de um sistema AB); 5,95 (1H, d, J=12,7 Hz, outro hidrogênio do sistema AB, cinamato); 6,63 (1 H, m, H-7); 4,13 (2H, m, H-15); 3,68 (3H, s, COO **Me**); 0,90 (3 H, s, Me-19); 0,85 (3H, d, J=6,8 Hz, Me-16); 0,86 e 0,81 (3H, s, Me-18 e Me-20, respectivamente). (fig. 3.5).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig 3.6) (ver tabela 3.I).

EM (70 eV) m/Z (int./rel): M⁺ 466; 434 (16%); 343 (9%); 311 (8%); 131 (100%); 124 (25%); 109 (50%); 103 (10%); 81 (10%); 69 (8%).

A₃: 15-isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo

Da fracção 4 da cromatografia B, eluida com benzeno-éter 99:1, obtiveram-se 70,0 mg de um óleo incolor com as seguintes propriedades:

$$[\alpha]_D^{25} = -38,5^{\circ} \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,22\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1740, 1720, 1650, 1240, 1190, 1160, 1070, 760, (fig. 3.7).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ(ppm): 6,61 (1H,m, H-7); 4,18 (2H,m, H-15); 3,69 (3H,s, COO Me); 2,50 (1H,m, H-2'); 1,13 (6H,d,J=7,1 Hz, H-3'); 0,89 (3H,s, Me-19); 0,88 (3H,d, J=6,0 Hz, Me-16); 0,85 e 0,81 (3H,s, Me-18 e Me-20, respectivamente). (fig. 3.7).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig. 3.8)
(ver tabela 3.I).

EM (70 eV) m/Z (int/rel): M⁺ 406; 374 (17%); 283 (10%); 251 (15%); 124 (70%); 109 (100%); 81 (14%); 69 (15%); 55 (13%) 41 (13%); 28 (35%) (fig. 3.9).

A₄: 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo

Das fracções 15-16 da cromatografia A, eluídas com n-Hexano/Acetato de etilo 95:5, obtiveram-se 0,120 g de um óleo incolor que apresentou as seguintes propriedades espectroscópicas:

$$[\alpha]_D^{25} = -84,5^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, C=1,18\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1710, 1640, 1240 e 1050 (fig.3.10).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 217 ($\epsilon=4200$) (fig 3.12).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6,60 (1H,m, H-7); 4,07 (2H,m, H-15); 3,68 (3H,s, COO **Me**); 2,01 (3H,s, OOC **CH₃**); 0,89 (3H,s, Me-19); 0,87 (3H,d,J=7,6 Hz, Me-16); 0,85 e 0,81 (3H,s, Me-18 e Me-20, respectivamente). (fig 3.10).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig.3.11) (ver tabela 3.I).

EM (70 eV) m/Z (int./rel.): M⁺ 378, 346 (40%); 255 (21%); 223 (29%); 222 (18%); 124 (76%); 109 (100%); 81 (11%); 69 (10%). (fig.3.13).

A₅: 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo

A CCFP das fracções 17-22 da cromatografia A forneceu 0,060 g do produto de R_f mais elevado, um óleo incolor com as seguintes propriedades espectroscópicas:

$$[\alpha]_D^{25} = -44,03^\circ \text{ (CHCl}_3\text{, C=0,67\%)}.$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1710, 1640, 1240, 1120, 1060 (fig. 3.14).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 216 ($\epsilon=3800$).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,62 (1H,m, H-7); 3,70 (3H,s, COO Me); 3,39 (2H,t,J=6,4 Hz, H-15); 3,32 (3H,s, OCH₃); 0,90 (3H,s, Me-19); 0,87 (3H,d,J=6,8 Hz, Me-16); 0,86 e 0,82 (3H,s, Me-18 e Me-20, respectivamente). (fig.3.14).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig. 3.15) (ver tabela 3.II).

EM (70 eV) m/z (int/rel.): M⁺ 350; 319 (9%); 194 (11%); 124 (46%); 109 (100%); 95 (10%); 81 (17%); 69 (14%); 55 (13%); 45 (13%); 41 (13%). (fig. 3.16).



A₆: 7-labden-15,17-dioato de metilo

A CCFP anteriormente referida produziu como produto de Rf inferior, 0,040 g de outro óleo incolor com as propriedades espectroscópicas abaixo apresentadas:

$$[\alpha]_D^{25} = -21,8^{\circ} \text{ (CHCl}_3\text{, C=0,77\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1720, 1710, 1640, 1240, 1060. (fig. 3.17).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 215 ($\epsilon=4000$).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,63 (1H,m, H-7); 3,71 (3H, s, COO **Me**); 3,66 (3H,s, COO **Me**); 0,92 (3H,d,J=6,5 Hz, Me-16); 0,90, 0,87 e 0,82 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente). (fig.3.17).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig. 3.18)
(ver tabela 3.II).

EM (70 eV), m/z (int./rel.): M⁺ 364; 346 (9%); 333 (14%); 332 (34%); 209 (12%); 208 (16%); 149 (17%); 124 (60%); 109 (100%); 95 (18%); 81 (22%); 69 (30%); 57 (20%); 55 (27%)
(fig. 3.19).

A₇: 15-formiloxi-7-labden-17-oato de metilo

Das fracções 23-25 da cromatografia A por CCFP obtiveram-se 50 mg de outro óleo incolor que apresentou as seguintes características espectroscópicas:

$$[\alpha]_D^{25} = -56,5^{\circ} \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,21\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1745, 1650, 1260, 1200, 1090, 800 (fig. 3.20).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,04 (1H, s, OOCH); 6,63 (1H, m, H-7); 4,19 (2H, m, H-15); 3,70 (3H, s, COO Me); 0,85 (3H, d, J=6,7 Hz, Me-16); 0,90, 0,86 e 0,82 (3H, s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.20).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig.3.21)
(ver tabela 3.II).

A₈: 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

O produto maioritário existente nesta parte ácida isolou-se das fracções 42-50 da cromatografia A, por eluição com n-Hexano/Acetato de etilo 8:2. Obtiveram-se 1,96 g de um óleo incolor com as seguintes propriedades espectroscópicas:

$$[\alpha]_D^{25} = -51,0^{\circ} \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,27\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3400, 1710, 1640, 1240, 1060 (fig. 3.22).

Espectro de UV (etanol) λ_{\max} (nm): 216 ($\epsilon=4000$) (fig. 3.24)

Espectro de RMN ^1H (200 MHz , CDCl_3) δ (ppm): 6,63 (1H,m, H-7); 3,71 (3H,s, COO Me); 3,69 (2H,m, H-15); 0,91 (3H,s, Me-19); 0,89 (3H,d, $J=7,5 \text{ Hz}$, Me-16); 0,87 e 0,83 (3H,s, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.22).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz , CDCl_3): (fig.3.23) (ver tabela 3.II).

EM (70 eV) m/z (int/vel.): M^+ 336; 305 (9%); 304 (24%); 213 (13%); 181 (15%), 180 (13%); 124 (48%); 109 (100%); 95 (10%); 81 (17%); 69 (16%); 55 (20%); 43 (13%); 41 (18%). (fig. 3.27).

A₉: 15-hidroxi-7-metoxi-8-labden-17-oato de metilo

Das fracções 55-57 da cromatografia A, eluídas com n-Hexano/Acetato de etilo 7:3 obteve-se um óleo incolor cujas propriedades espectroscópicas são:

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3400, 1710, 1240, 1140, 1060, 1020 (fig. 3.38).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4.11 (1H,t, $J=3,4 \text{ Hz}$, H-7); 3,74 (3H,s, COO Me); 3,67 (2H,m, H-15); 3,31 (3H, s, OCH_3); 0,91 (3H,d, $J=6,3 \text{ Hz}$, Me-16); 0,98, 0,92 e 0,87 (3H, s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.38).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig.3.39)
(ver tabela 3.III).

7: 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo

Por acetilação das fracções 58-66 da cromatografia A e posterior purificação do produto acetilado obteve-se um óleo incolor que corresponde ao derivado acetilado em C-15 de A_9 . As suas propriedades são

$$[\alpha]_D^{25} = +21,36^\circ \text{ (CHCl}_3, C=1,10\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1720, 1620, 1230, 1080 (fig. 3.40).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 222 ($\epsilon=4.700$)
(fig. 3.42).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4.10 (3H,m, H-7 e H-15); 3,74 (3H,s, COO Me); 3,31 (3H, s, OCH_3); 2,04 (3H, s, OOCCH_3); 0,90 (3H,d, $J=6,3 \text{ Hz}$, Me-16); 0,97 0,91 e 0,87 (3H, s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.40).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.41)
(ver tabela 3.III).

EM (70 eV) m/z (int/rel): M^+ 408; 349 (40%); 334 (11%); 284 (20%); 269 (15%); 234 (16%); 233 (100%); 201 (31%); 163 (38%); 119 (16%); 109 (22%); 95 (13%); 83 (16%); 81 (17%); 69 (25%); 57 (12%); 55 (29%); 43 (34%); 41 (22%) (Fig. 3.43).

A₁₀: 6,15-dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo

Das fracções 77-78 da cromatografia A conseguiu-se isolar com n-Hexano/Acetato de etilo 6:4 outro óleo incolor que apresentou as seguintes propriedades espectroscópicas:

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3.400, 1710, 1240, 1050 (fig. 3.44).

Espectro de RMN. ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6,42 (1H, t, $J=2,4$ Hz, H-7); 4,36 (1H, ddd, $J_1=2,4$ Hz, $J_2=3,4$ Hz, $J_3=10,7$ Hz, H-6); 3,71 (3H, s, COO Me); 3,66 (2H, m, H-15); 1,13 e 1,06 (3H, s, Me-19 e Me-20, respectivamente); 0,87 (3H, d, $J=6,8$ Hz; Me-16); 0,85 (3H, s, Me-18). (fig. 3.44).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.45)
(ver tabela 3.III).

8: 6 β ,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo

Por acetilação das fracções 79-86 da cromatografia A e posterior purificação, isolou-se um óleo incolor que a partir das suas propriedades espectroscópicas foi identificado como sendo o derivado diacetilado de A₁₀:

$$[\alpha]_D^{25} = +55,0 \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,50\%)}$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1720, 1660, 1220, 1130, 1020 (fig. 3.46).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 213 ($\epsilon=4100$) (fig. 3.48).

Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,25 (1H,t, J=2,5 Hz, H-7), 5,58 (1H, ddd, J₁=2,5 Hz, J₂=3,4 Hz, J₃=10,7 Hz, H-6); 4,11 (2H,m, H-15); 3,71 (3H,s, COO Me); 2,06 e 2,03 (3H,s, 2 (OOCCH₃)); 0,97, 0,95 e 0,91 (3H,s, Me - 19, Me-18 e Me-20, respectivamente); 0,88 (3H,d, J=6,2 Hz, Me-16). (fig. 3.46).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig 3.47) (ver tabela 3.III).

EM (70 eV) m/z (int/rel); M⁺ 436; 404 (15%); 362 (36%); 346 (13%); 345 (30%); 344 (20%); 329 (26%); 280 (20%); 275 (12%); 269 (12%); 238 (21%); 233 (35%); 201 (21%); 163

(15%); 125 (16%); 119 (18%); 109 (48%); 105 (15%); 95 (20%); 81 (26%); 69 (31%); 55 (33%); 43 (100%); 41 (25%). (fig. 3.49).

A₁₁: 7 β ,15-diacetoxi-8-labden-17-oato de metilo

Das fracções 92-94 da cromatografia A eluídas com n-Hexano/Acetato de etilo 1:1 isolou-se um produto muito im puro. Por acetilação destas fracções e purificação por CC obteve-se o derivado diacetilado do produto natural A₁₁, um óleo incolor com as seguintes características:

$$[\alpha]_D^{25} = +24,0 \text{ (CHCl}_3\text{, C=1,32\%)}.$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 1720, 1230, 1140, 1020 (fig. 3.50).

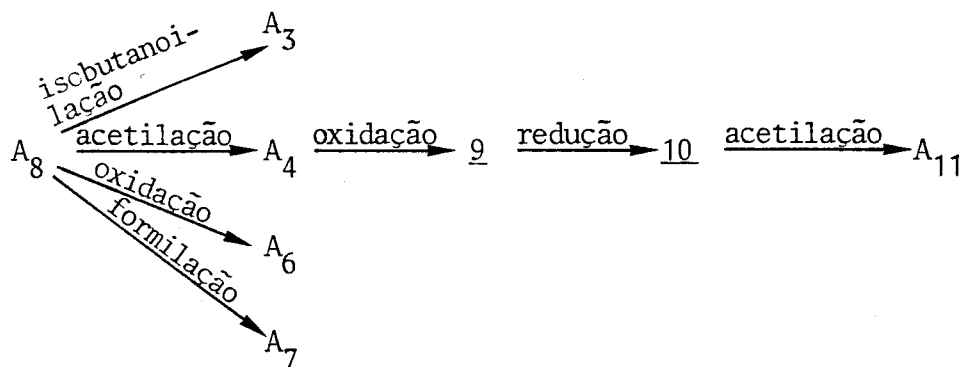
Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,71 (1H,m, H-7); 4,07 (2H,t, J=6,8 Hz, H-15); 3,68 (3H, s, COOMe); 2,03 e 1,98 (3H, s, 2(COCC₃H₇)); 1,11 (3H, s, Me-20); 0,95 (3H, d, J=6.1Hz, Me-16); 0,91 e 0,85 (3H, s, Me-19 e Me-18, respectivamente) (fig. 3.50).

Espectro de RMN ¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): (fig.3.51)
(ver tabela 3.IV).

EM (70 eV) m/z (int/rel): M⁺ 436; 404 (11%); 393 (12%); 362 (28%); 361 (100%); 345 (16%); 344 (24%); 326 (15%); 319 (48%); 284 (36%); 269 (32%); 233 (60%); 201 (28%); 177 (18%); 163 (44%); 119 (22%); 109 (36%); 105 (20%); 81 (22%); 69 (32%); 55 (40%); 43 (92%); 41 (28%). (fig. 3.52).

3.5.5 - Caracterização química de alguns produtos

Como prova adicional das estruturas atribuídas aos compostos A₃, A₄, A₆, A₇, A₈ e A₁₁ por via espectroscópica, realizaram-se as transformações químicas abaixo esquematizadas:



A₃: (Por isobutanoílação de A₈)

A estrutura de A₃, proposta com base nos dados espectroscópicos foi confirmada por via química a partir da isobutanoílação de A₈: 0,115 g do hidroxiéster A₈ dissolveram-se em 1 ml de piridina, aqueceu-se a solução com um banho de gelo e, com agitação, juntaram-se 0,5 ml de cloreto de isobutanoílo. Retirou-se o banho de gelo e deixou-se decorrer a reacção à temperatura ambiente durante uma noite⁵⁰. Passado este tempo juntou-se éter, lavou-se a solução etérea três vezes com HCl 2N, com uma solução de NaHCO₃ e finalmente com água até à neutralidade. Secou-se sobre Na₂SO₄ anidro e concentrou-se. O produto foi purificado por CC tendo-se obtido 0,105 g de um óleo incolor com propriedades idênticas ao produto natural A₃.

A₄: (Por acetilação de A₈)

A acetilação de A₈ com 2 ml de anidrido acético em 1 ml de piridina produziu 50 mg de um óleo incolor com propriedades idênticas ao produto natural A₄. Esta transformação química constitui prova adicional da estrutura atribuída a A₄.

A₆: (Por oxidação de A₈)

Como prova adicional da estrutura de A₆, foi este preparado por oxidação de A₈. Assim, num erlenmeyer de 50 ml juntaram-se 0,5 ml de ácido acético a 90% e 61,7 mg de CrO₃, agitou-se durante 15 minutos e adicionaram-se 0,100 g de A₈ dissolvidos em 1 ml de CH₂Cl₂ e 1 ml de ácido acético glacial.

Manteve-se esta mistura à temperatura ambiente com agitação durante 1 hora. Finalizada a reacção juntou-se metanol e removeu-se o solvente orgânico num evaporador rotatório. A esterificação do resíduo obtido com diazometano produziu 0,105 g de produto que após cromatografia sobre 10 g de sílica-gel (eluente n-Hexano/Acetato de etilo 95:5) forneceu 50 mg de um produto idêntico a A₆.

A₇: (Por formilação de A₈)

A formilação de A₈ produziu A₇: dissolveram-se 50 mg de A₈ em 0,5 ml de ácido fórmico e após 1 minuto procedeu-se à extracção do produto pelo processo habitual. Obtiveram-se 50 mg de A₇.

A₁₁: (Por oxidação alílica de A₄)

Num balão de 50 ml dissolveram-se 200 mg de A₄ em 1,1 ml de benzeno seco e juntaram-se 177 mg de cromato de sô

dio anidro, 0,9 ml de ácido acético glacial, 1,5 ml de anidrido acético e 136 mg de acetato de sódio anidro. Aqueceu-se a 45°C controlando a reacção por CCF. Finalizada a reacção após 4 horas, verteu-se o produto de reacção sobre água fria e decorrida 1 hora extraíu-se com éter. A solução etérea foi lavada com uma solução de NaHCO₃ a 5% e água, seca sobre Na₂SO₄ anídoro e concentrada, fornecendo 0,258 g de produto de reacção que foram cromatografados sobre 26 g de sílica-gel (Cromatografia E):

Cromatografia E

| Fracções | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|----------|---------------|---------|------|--------------------------|
| 1 | Hx/AcOEt 95:5 | 0,0117 | 5,5 | Misturas |
| 2 | " | 0,0352 | 16,7 | A ₄ |
| 3 | Hx/AcOEt 9:1 | 0,0430 | 20,5 | A ₄ + Mistura |
| 4 | " | 0,0271 | 12,9 | Mistura |
| 6-8 | " | 0,0796 | 38,0 | <u>9</u> |
| 9 | " | 0,0269 | 12,8 | Mistura |

As fracções 6-8 forneceram 0,0796 g do composto 9 que foi identificado como sendo o 15-acetoxi-7-oxo-8-labden-17-oato de metilo:

$$[\alpha]_D^{25} = +36,8^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, \quad C=0,76\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1740, 1670, 1620, 1340, 1240, 1150, 1030 (fig. 3.53).

Espectro de UV (etanol) λ_{max} (nm): 242 ($\epsilon=98000$) (fig. 3.55).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4,05 (2H,t, $J=6,8$ Hz, H-15); 3,76 (3H,s, COO Me); 2,00 (3H,s, OOC CH₃); 1,13 e 0,90 (3H,s, Me-20 e Me-19); 0,88 (3H,d, $J=6,7$ Hz. Me-16); 0,86 (3H,s, Me-18) (fig. 3.53).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.54) (ver tabela 3.V).

10: (Por redução de 9 com NaBH_4)

Dissolveram-se 64,0 mg da cetona 9 em 10 ml de me tanol. Com agitação constante juntou-se a esta solução 14,0 mg de NaBH_4 à temperatura ambiente. Controlou-se a reacção por CCF e, após finalização desta, destruiu-se o excesso de hi dreto com uma gota de HCl 2N e água, evaporou-se o solvente e extraíu-se com éter. Lavou-se a solução, etérea com água até à neutralidade, secou-se sobre Na_2SO_4 e concentrou-se. Obti- veram-se 79,7 mg de produto que foram cromatografados sobre sílicia-gel (Cromatografia F):

Cromatografia F

| Fracções | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|-----------------|----------------|----------------|----------|-------------------|
| 2-4 | n-Hx/AcOEt 9:1 | 0,0124 | 17,5 | Misturas |
| 5-6 | " | 0,0087 | 12,3 | <u>9</u> |
| 7-9 | n-Hx/AcOEt 8:2 | 0,0227 | 32,1 | <u>10</u> |
| 10-11 | " | 0,0081 | 11,4 | Misturas |

Das fracções 7-9 obtiveram-se 0,0227 g de 10, identificado como sendo o 15-acetoxi-7-hidroxi-8-labden-17-oato de metilo:

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹): 3400, 1740, 1720, 1250, 1120, 1100, 1050, (fig. 3.56).

Espectro de RMN. ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,58 (1H,dd, J=7,3 Hz, J₂=10,2 Hz, H-7); 4,10 (2H,dd, J=7,3 Hz, J₂=6,8 Hz, H-15); 3,68 (3H,s, COO Me); 2,03 (3H,s, OOC CH₃); 1,11 (3H, s, Me-20); 0,95 (3H,d, J=6,1 Hz, Me-16); 0,91 e 0,85 (3H, s, Me-19 e Me-18, respectivamente). (fig. 3.57).

A₁₁ : (Por acetilação de 10)

Acetilaram-se as fracções 7-9 da cromatografia F pelo método habitual. A purificação do produto por CC, utilizando o n-Hexano/Acetato de etilo 9:1 como eluente, produziu o de-

duto (eluente: n-Hexano/Acetato de etilo 95:5) forneceu 1.07 g de um óleo incolor, 2, com as seguintes características:

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1720, 1650, 1270, 1250, 1080, 980, 910, 870, 760 (fig. 3.28).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6,57 (1H,m, H-7); 4,53 (1H,m, H-2'); 3,77 (2H,m); 3,40 (2H,m); 3,66 (3H,s, COO Me); 0,85 (3H,d, $J=7,7$ Hz, Me-16); 0,87, 0,83 e 0,78 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.28).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.29)
(ver tabela 3.VI).

3: 15-tetrahidropiramiloxi-7-labden-17-ol

Dissolveram-se 1,06 g de 2 em 5 ml de éter seco, juntaram-se 53,0 mg de LiAlH_4 e manteve-se a mistura à temperatura ambiente durante 18 horas. Procedendo do modo habitual obtiveram-se 0,807 g de produto de reacção que foram purificados por CC sobre sílica-gel (eluente: n-Hexano/Acetato de etilo 9:1). Obtiveram-se 0,543 g de um óleo incolor, 3, com as seguintes propriedades espectroscópicas:

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3420, 1330, 1210, 1140, 1040, 910, 880, 870 (fig. 3.30).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,74 (1H,m, H-7); 4,54 (1H,m, H-2'); 4,02 (2H,m); 3,85 (2H,m); 3,50 (2H,m); 0,91 (3H,d, $J=6,8$ Hz, Me-16); 0,87, 0,86 e 0,72 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.30).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.31)
(ver tabela 3.VI).

4: 15-tetrahidropirani-oxi-7-labdeno

A uma solução de 0,549 g de 3 em 6 ml de CH_2Cl_2 numa atmosfera de N_2 , mantida entre -10 e 0°C , juntaram-se 0,3 ml de trietilamina e 0,11 ml de $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$. Agitou-se a mistura durante 6 horas, adicionou-se água fria e extraíu-se com éter. A solução etérea foi lavada com HCl 2N e água e seca sobre Na_2SO_4 anidro. A evaporação do solvente forneceu 0,615 g de produto que foi dissolvido em 5 ml de éter seco e reduzido com LiAlH_4 durante 24 horas. Obtiveram-se 0,400 g de produto de reacção que foram cromatografados em coluna de sílica-gel (eluente: n-Hexano/Acetato de etilo 95:5) produzindo 0,204 g de um óleo incolor, 4, com as seguintes características:

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1330, 1210, 1160, 1140, 1100, 1050, 940, 840 (fig. 3.32).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,36 (1H,m, H-7); 4,57 (1H,m, H-2'); 3,82 (2H,m); 3,44 (2H,m); 1,66 (3H,s, Me-17); 0,92 (3H,d, $J=6,2$ Hz, Me-16); 0,87, 0,85 e 0,75 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20 respectivamente). (fig. 3.32).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.33) (ver tabela 3.VI).

5: 7-en-15-labdanol (cativol)

0,205 g de 4 foram dissolvidos em 50 ml de metanol a que se juntaram 12,5 mg de ácido paratoluenosulfônico. Deixou-se a mistura à temperatura ambiente com agitação durante 5 horas, evaporou-se o solvente, juntou-se éter e lavou-se com uma solução de NaHCO_3 a 5% e água. Secou-se sobre Na_2SO_4 anidro e após evaporação do solvente obtiveram-se 0,200 g de produto que foram purificados por CC sobre sílica - gel (eluente: n-Hexano/Acetato de etilo 9:1) fornecendo 0,173 g de um óleo incolor, 5, com as seguintes características espectroscópicas:

$$[\alpha]_D^{25} = +1,4^\circ \text{ (CHCl}_3, C=0,85\%)$$

Espectro de IV $v_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3360, 1080, 980, 840 (fig. 3.34).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,39 (1H,m, H-7); 3,68 (2H,m, H-15); 1,67 (3H,s, Me-17); 0,93 (3H, d, $J=6,2$ Hz, Me-16); 0,88, 0,85 e 0,76 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.34).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.35) (ver tabela 3.VI).

6: 15-acetoxi-7-labdeno (acetato de cativilo)

A acetilação de 40 mg de 5 forneceu, após purificação por CCFP, 30 mg de um óleo incolor, 6, com as seguintes características:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1.26^{\circ} (\text{CHCl}_3, C=0,63\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1750, 1250, 1060, (fig. 3.36).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,38 (1H,m, H-7); 4,13 (2H,m, H-15); 2,04 (3H,s, OOC CH_3); 1,66 (3H,s, Me-17); 0,93 (3H,d, $J=6,2$ Hz, Me-16); 0,88, 0,85 e 0,75 (3H,s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig.3.36).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3); (fig. 3.37) (ver tabela 3.VI).

3.6 - Produtos da Parte Neutra

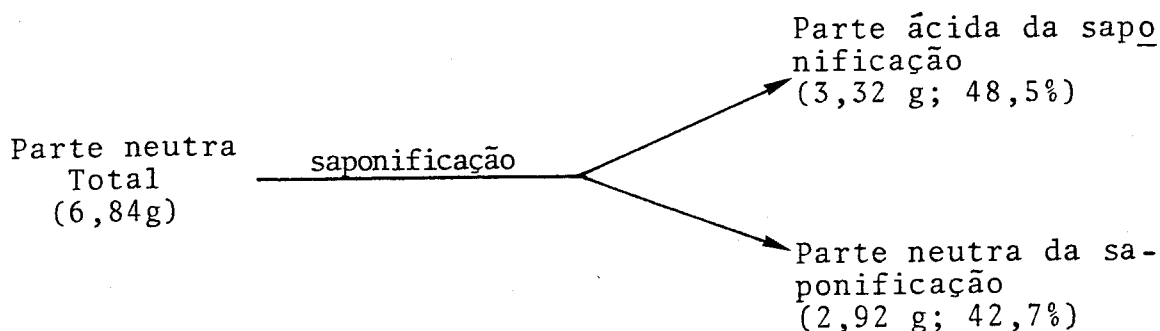
A parte neutra do extracto de n-hexano descerado forneceu 6,8 g (21%) de produtos. O espectro de IV desta mistura bruta de produtos revelou a existência de vários ésteres pelo que se procedeu à sua saponificação para mais fácil tratamento.

Dissolveram-se os 6,8 g de parte neutra extraídos em NaOH/MeOH a 5% e deixaram-se em repouso durante 12 horas. Passado este tempo, evaporou-se o metanol, juntou-se HCl aquoso e extraiu-se com éter. Lavou-se a solução etérea com uma solução de NaOH a 4% para separar os ácidos dos produtos neutros da saponificação.

A fase etérea com os produtos neutros de saponificação foi lavada com água até à neutralidade e seca sobre Na_2SO_4 anidro.

Os produtos ácidos foram recuperados da solução alcalina por acidulação com HCl concentrado e extracção com éter. Esta fase etérea foi também lavada com água até à neutralidade e seca sobre Na_2SO_4 anidro.

A remoção do éter de ambas as soluções forneceu os seguintes pesos e percentagens de produtos:



Os 2,92 g da parte neutra de saponificação foram cromatografados sobre 190 g de sílica-gel em coluna de vidro, obtendo-se os seguintes resultados:

Cromatografia N

| Fracções | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|----------|---------------|---------|------|--|
| 5-9 | n-Hexano | 0,1592 | 5,3 | Produtos lineares |
| 10-15 | " | 0,0866 | 2,9 | N ₁ |
| 16-20 | " | 0,0105 | 0,3 | Misturas |
| 28-43 | n-Hx/Éter 9:1 | 0,137 | 4,6 | N ₂ |
| 44-50 | n-Hx/Éter 8:2 | 0,116 | 3,9 | N ₃ |
| 51-86 | n-Hx/Éter 7:3 | 0,681 | 23,0 | N ₃ + N ₄ + N ₅ |
| 87-96 | n-Hx/Éter 6:4 | 0,467 | 15,8 | N ₆ |
| 97-101 | n-Hx/Éter 1:1 | 0,065 | 2,2 | Misturas |
| 102-116 | " | 0,150 | 5,0 | " |
| 117-126 | Éter | 0,416 | 14,0 | " |
| 127-134 | Éter/MeOH 9:1 | 0,203 | 6,8 | N ₇ |
| 135-137 | " | 0,045 | 1,5 | Misturas |
| 138-140 | " | 0,254 | 8,5 | " |

Das fracções 87-96 desta cromatografia obteve-se o composto N₆ (β -sitosterol) que foi purificado por recristalição em metanol (ver propriedades espectroscópicas deste composto em 3.6.5).

3.6.1 - Cromatografia das fracções 10-15

A CC das fracções 10-15 da cromatografia N, sobre sílica-gel/Ag NO₃ a 20% (eluente: n-Hexano) fornecem 80,0 mg de um óleo incolor N₁, cujas propriedades espectroscópicas são apresentadas no parágrafo 3.6.5.

3.6.2 - Cromatografia das fracções 28-43

A CCFP das fracções 28-43 da cromatografia N, permitiu obter 20,0 mg de um produto sólido N₂ (p.f. 129-130°C). As propriedades físicas deste composto apresentam-se no parágrafo 3.6.5.

3.6.3 - Cromatografia das fracções 51-86

As fracções 51-86 foram cromatografadas em coluna sobre sílica-gel/AgNO₃ a 20% (68 g) e eluída com misturas de n-Hexano/Acetato de etilo (cromatografia M):

Cromatografia M

| Fracções | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|----------|-----------------|---------|------|-------------------|
| 1 | n-Hexano | - | - | - |
| 2 | " | 0,0293 | 20,9 | Produtos lineares |
| 3-4 | n-Hx/AcOEt 95:5 | 0,0437 | 31,2 | N ₃ |
| 5 | " | 0,0209 | 14,9 | N ₄ |
| 6 | " | 0,0331 | 23,6 | N ₅ |
| 7-9 | " | 0,0110 | 8,3 | Mistura |

Desta cromatografia obtiveram-se puros os compostos N₃, N₄ e N₅ cujas características físicas são apresentados em 3.6.5.

3.6.4 - Cromatografia das fracções 127-134

As fracções 127-134 da cromatografia N, depois de acetiladas, foram cromatografadas sobre sílica-gel, eluindo-se com misturas de n-Hexano/Acetato de etilo (cromatografia P):

Cromatografia P

| Fracções | Eluente | Peso(g) | % | Composição |
|----------|-----------------|---------|------|----------------|
| 2-3 | n-Hx/AcOEt 98:2 | - | - | - |
| 4-6 | n-Hx/AcOEt 95:5 | 0,0733 | 36,6 | N ₇ |
| 7-8 | " | 0,0110 | 5,5 | Misturas |
| 9-12 | n-Hx/AcOEt 1:1 | 0,0285 | 14,2 | " |
| 13-15 | " | 0,0156 | 7,8 | " |
| 16-20 | n-Hx/AcOEt 8:2 | 0,0523 | 26,1 | " |

Das fracções 4-6 desta cromatografia isolou-se o composto N₇, o derivado diacetilado do produto natural, cujas propriedades espectroscópicas se apresentam no parágrafo 3.6.5.

3.6.5 - Caracterização espectroscópica dos produtos neutros isolados

N₁: 7,16-valparadieno

Das fracções 10-15 da cromatografia N, após purificação por CC sobre sílica-gel/AgNO₃ a 20% obtiveram-se 80,0 mg de um óleo incolor:

$$[\alpha]_D^{25} = +11,42^{\circ} (\text{CHCl}_3, C=6,16\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3080, 1640, 890 (fig. 3.58).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,37 (1H,m, H-8); 4,80 (2H,s, H-18, metileno terminal); 2,72 (1H, m, H-15); 1,76 e 1,74 (3H,s, Me-17 e Me-20); 0,82 e 0,72 (3H, s, Me-19 e Me-12, respectivamente) (fig. 3.58).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.59) (ver tabela 3.VII).

EM: M^+ 272 (fig. 3.60).

N_2 : 7,8-epoxi-16-valpareno

A CCFP das fracções 28-43 da cromatografia **N** forneceu 20,0 mg de um sólido incolor (p.f. 120-130°C):

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -23,85^{\circ} (\text{CHCl}_3, \text{C}=2,36\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3090, 1650, 890, 770 (fig. 3.61).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4,80 (2H,S, H-18, metileno terminal); 2,71 (1H,m, H-8); 1,75 (3H, s, Me-17); 1,33 (3H,s, Me-20); 1,01 e 0,76 (3H,s, Me-19 e Me-12, respectivamente) (fig. 3.61).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.62)
(ver tabela 3.VII).

N_3 : Fitol

As fracções 44-50 da cromatografia N e 3-4 da cromatografia M (ver parágrafo 3.6.3) produziram no total 0,160 g de um óleo incolor:

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3860, 1750, 1010 (fig. 3.63).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,40 (1H, t q, $J_1=6,8$ Hz, $J_2=1,2$ Hz, H-2); 4,15 (2H, d q, $J_1=6,8$ Hz, $J_2=0,7$ Hz, H-1); 1,65 (3H, m, de um metilo sobre dupla ligação); 0,86 (3H, d, $J=6,6$ Hz, dois metilos de um grupo isopropilo); 0,85 (3H, d, $J=6,3$ Hz, metilo) 0,84 (3H, d, $J=6,3$ Hz, outro metilo) (fig. 3.63).

N_4 : 7,13 E - labdadien-15-ol

Da fracção 5 da cromatografia M isolaram-se 20,9 mg de um óleo incolor com as seguintes propriedades espectroscópicas²⁰:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +5,0^{\circ} (\text{CHCl}_3, C=0,98\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3360, 1670, 1010 (fig. 3.64).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,42 (1H,t, $J=6,8$ Hz, H-14); 5,40 (1H,m, H-7); 4,15 (2H,d, $J=6,8$ Hz, H-15); 1,69 (3H,s, Me-16); 1,68 (3H,s, Me-17); 0,87 (3H,s, Me-19); 0,84 (3H,s, Me-18); e 0,74 (3H,s, Me-20) (fig. 3.64).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.65) (ver tabela 3.VIII).

N_5 : 8 ξ -hidroxi-7(20),16-valparadieno

A fracção 6 da cromatografia **M** fornece 33,1 mg de um sólido incolor (p.f. 129-130°C):

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +23,64^{\circ} (\text{CHCl}_3, C=0,74\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3350, 3090, 1640, 890 (fig. 3.66).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,00 e 4,92 (1H,s, cada um deles, H-20); 4,79 (2H,s, metileno terminal, H-18); 4,24 (1H,dd, $J_1=6,3$ Hz $J_2=10,5$ Hz, H-8); 1,75 (3H,s, Me-17); 0,91 e 0,71 (3H,s, Me-19 e Me-12, respectivamente) (fig. 3.66).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.67)
(ver tabela 3.VII).

N_6 : β -sitosterol

A recristalização em metanol das fracções 87-96 da cromatografia N, forneceu um sólido branco (p.f. 135-136°C) com as seguintes características:

$$[\alpha]_D^{25} = -35,6^\circ (\text{CHCl}_3, C=1,1\%)$$

Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 3400, 3020, 1640, 1060, 1035, 845 (fig. 3.68).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,30 (1H,m); 3,50 (1H,m); 1,00 (3H,s); 0,90 (3H,s); 0,85 (6H,d); e 0,69 (3H,s) (fig. 3.68).

N_7 : 15,17-diacetoxi-7-labdeno

As fracções 4-6 da cromatografia P produziram 36,6 mg de um óleo incolor com as seguintes propriedades:

$$[\alpha]_D^{25} = -9,7^\circ (\text{CHCl}_3, C=0,83\%)$$

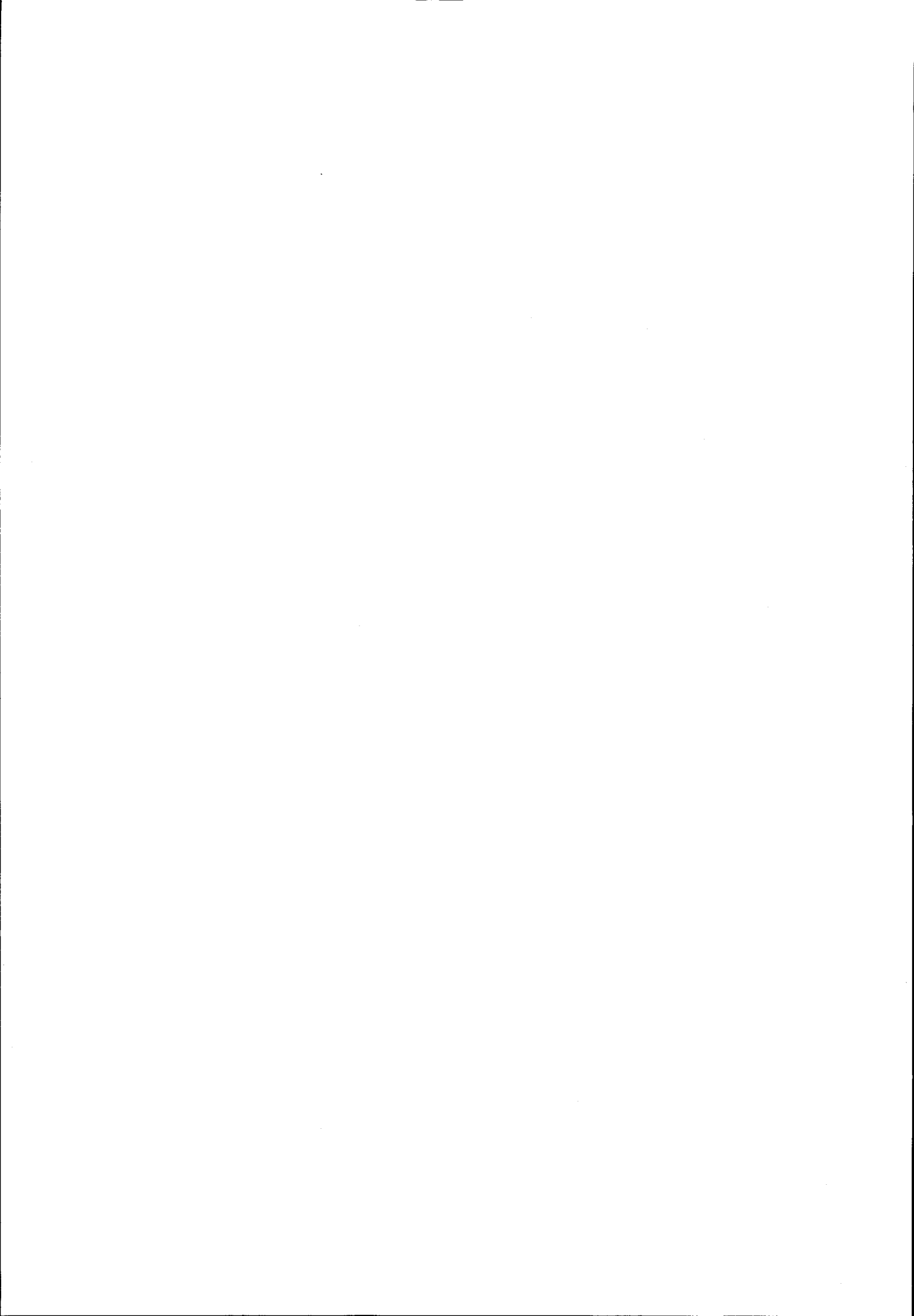
Espectro de IV $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}): 1740, 1240, (fig.3.69).

Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,78 (1H, s largo, H-7); 5,54 e 4,40 (1H, d cada um $J_{\text{AB}}=12,2$ Hz, H-17); 4,07 (2H, t, $J=6,8$ Hz, H-15); 2,04 e 2,02 (3H, s, cada um, OOCCH_3); 0,91 (3H, d, $J=6,5$ Hz, Me-16); 0,86, 0,84 e 0,74 (3H, s, Me-19, Me-18 e Me-20, respectivamente) (fig. 3.69).

Espectro de RMN ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): (fig. 3.70) (ver tabela 3.VIII).

3.6.6 - Caracterização química de N_7

Para confirmar por via química a estrutura atribuída a N_7 , foi este composto preparado por redução de A_8 : Dissolveram-se 100 mg de A_8 em 3 ml de éter seco, juntaram-se 15 mg de LiAlH_4 e agitou-se a mistura durante 3 horas à temperatura ambiente. Após destruição do excesso de hidreto, extraiu-se com éter e secou-se a solução etérea com Na_2SO_4 anidro. Obtiveram-se 72 mg de produto que foram acetilados e purificados por CC. Recuperaram-se 70 mg do derivado acetilado que apresentava propriedades físicas e espectroscópicas idênticas a N_7 .



TABELAS DE RMN DE ^{13}C E ESPECTROS DOS COMPOSTOS



TABELA I

| C | A ₁ | A ₂ | | A ₃ | A ₄ |
|--------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| 1 | 39,73 | 39,73 | | 39,76 | 39,71 |
| 2 | 18,63 | 18,63 | | 18,63 | 18,61 |
| 3 | 42,16 | 42,12 | | 42,16 | 42,13 |
| 4 | 32,83 | 32,84 | | 32,82 | 32,82 |
| 5 | 49,63 | 49,66 | | 49,83 | 49,62 |
| 6 | 23,96 | 23,97 | | 23,94 | 23,94 |
| 7 | 136,66 | 136,64 | | 136,62 | 136,68 |
| 8 | 135,63 | 135,65 | | 135,63 | 135,60 |
| 9 | 51,22 | 51,20 | | 51,20 | 51,13 |
| 10 | 37,02 | 37,03 | | 37,00 | 36,99 |
| 11 | 25,62 | 25,57 | | 25,66 | 25,58 |
| 12 | 38,26 | 38,23 | | 38,28 | 38,22 |
| 13 | 31,04 | 30,87 | | 31,00 | 30,93 |
| 14 | 35,57 | 35,31 | | 35,53 | 35,41 |
| 15 | 63,19 | 63,00 | | 62,85 | 63,10 |
| 16 | 19,61 | 19,50 | | 19,55 | 19,52 |
| 17 | 169,73 | 169,77 | | 169,73 | 169,75 |
| 18 | 33,20 | 33,19 | | 33,18 | 33,18 |
| 19 | 22,00 | 22,00 | | 21,98 | 21,98 |
| 20 | 14,48 | 14,46 | | 14,44 | 14,45 |
| <u>COOMe</u> | 51,22 | 51,21 | | 51,20 | 51,20 |
| 1' | 166,30 | 166,27 | Me ₂ CHCOO | 34,08 | |
| 2' | 136,66 | 120,12 | Me ₂ CHCOO | 19,00 | |
| 3' | 144,49 | 142,73 | Me ₂ CHCOO | 177,08 | |
| 4' | 134,66 | 135,09 | OOCCH ₃ | | 20,98 |
| 5' | 128,88 | 128,90 | OOCCH ₃ | | 171,06 |
| 6' | 128,06 | 128,02 | | | |
| 7' | 130,17 | 129,69 | | | |
| 8' | 128,06 | 128,02 | | | |
| 9' | 128,88 | 128,90 | | | |

TABELA II

| C | A ₅ | A ₆ | A ₇ | A ₈ |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | 39,73 | 39,68 | 39,72 | 39,55 |
| 2 | 18,63 | 18,62 | 18,63 | 18,54 |
| 3 | 42,19 | 42,16 | 42,16 | 42,08 |
| 4 | 32,85 | 32,84 | 32,84 | 32,69 |
| 5 | 49,68 | 49,65 | 49,64 | 49,53 |
| 6 | 23,96 | 23,97 | 23,97 | 23,88 |
| 7 | 136,45 | 136,78 | 136,79 | 136,59 |
| 8 | 135,80 | 135,55 | 135,58 | 135,55 |
| 9 | 51,18 | 51,21 | 51,22 | 51,10 |
| 10 | 37,04 | 37,04 | 37,03 | 36,88 |
| 11 | 25,64 | 25,62 | 25,62 | 25,61 |
| 12 | 38,43 | 38,13 | 38,22 | 38,33 |
| 13 | 30,97 | 31,32 | 30,86 | 30,56 |
| 14 | 36,52 | 41,49 | 35,32 | 39,68 |
| 15 | 71,29 | 173,68 | 62,60 | 60,62 |
| 16 | 19,70 | 19,79 | 19,49 | 19,70 |
| 17 | 169,89 | 169,73 | 169,75 | 169,68 |
| 18 | 33,20 | 33,18 | 33,19 | 33,09 |
| 19 | 22,00 | 21,97 | 21,99 | 21,88 |
| 20 | 14,44 | 14,41 | 14,45 | 14,32 |
| COOCH ₃ | 51,26 | 51,28 | 51,37 | 51,25 |
| COOCH ₃ | | 51,33 | | |
| OCH ₃ | 58,48 | | | |
| HCOO | | | 161,11 | |

TABELA III

| C | A ₉ | 7 | A ₁₀ | 8 |
|----------------------|----------------|--------|-----------------|--------|
| 1 | 39,92 | 36,04 | 39,56 | 39,41 |
| 2 | 18,82 | 18,84 | 18,44 | 18,33 |
| 3 | 41,33 | 41,33 | 43,64 | 43,31 |
| 4 | 33,12 | 33,12 | 32,90 | 32,97 |
| 5 | 44,99 | 45,02 | 51,53 | 50,76 |
| 6 | 22,47 | 22,31 | 68,93 | 71,17 |
| 7 | 74,70 | 74,71 | 139,29 | 137,39 |
| 8 | 126,72 | 126,72 | 135,96 | 134,58 |
| 9 | 159,73 | 159,73 | 57,04 | 53,24 |
| 10 | 40,79 | 40,80 | 36,51 | 36,50 |
| 11 | 28,00 | 27,48 | 25,85 | 25,63 |
| 12 | 37,86 | 38,22 | 38,62 | 38,53 |
| 13 | 30,85 | 31,31 | 30,59 | 30,84 |
| 14 | 36,00 | 35,85 | 39,70 | 35,34 |
| 15 | 60,68 | 63,02 | 61,13 | 63,03 |
| 16 | 19,55 | 19,14 | 19,74 | 19,49 |
| 17 | 170,16 | 170,24 | 169,49 | 168,95 |
| 18 | 33,11 | 32,88 | 33,21 | 35,69 |
| 19 | 21,82 | 21,83 | 22,53 | 22,68 |
| 20 | 18,39 | 18,42 | 15,48 | 15,49 |
| COOCH ₃ | 51,38 | 51,39 | 51,06 | 51,51 |
| 7-OCH ₃ | 56,59 | 58,59 | | |
| 15-OOCC ₃ | | 20,98 | | 20,96 |
| 15-OOCC ₃ | | 171,06 | | 171,06 |
| 6-OOCC ₃ | | | | 21,65 |
| 6-OOCC ₃ | | | | 172,00 |

TABELA IV

| C | A ₈ | A ₉ | A ₁₁ |
|-----------------------|----------------|----------------|-----------------|
| 1 | 39,55 | 39,92 | 37,94 |
| 2 | 18,54 | 18,82 | 18,60 |
| 3 | 42,08 | 41,33 | 41,36 |
| 4 | 32,69 | 33,12 | 33,04 |
| 5 | 49,53 | 44,99 | 49,43 |
| 6 | 23,88 | 22,47 | 25,28 |
| 7 | 136,59 | 74,70 | 72,79 |
| 8 | 135,55 | 126,72 | 125,43 |
| 9 | 51,10 | 159,73 | 158,88 |
| 10 | 36,88 | 40,79 | 40,24 |
| 11 | 25,61 | 28,00 | 25,88 |
| 12 | 38,33 | 37,86 | 35,71 |
| 13 | 30,56 | 30,85 | 31,04 |
| 14 | 39,68 | 36,00 | 35,20 |
| 15 | 60,62 | 60,68 | 62,69 |
| 16 | 19,70 | 19,55 | 19,31 |
| 17 | 169,68 | 170,16 | 168,83 |
| 18 | 33,09 | 33,11 | 33,28 |
| 19 | 21,88 | 21,82 | 21,86 |
| 20 | 14,32 | 18,39 | 20,11 |
| COOCH ₃ | 51,25 | 51,38 | 51,21 |
| 15-OOCCH ₃ | | | 170,99 |
| 15-OOCCH ₃ | | | 20,93 |
| 7-OOCCH ₃ | | | 170,25 |
| 7-OOCCH ₃ | | | 21,05 |

TABELA V

| C | A ₄ | 9 | A ₁₁ |
|-----------------------|----------------|--------|-----------------|
| 1 | 39,71 | 38,88 | 37,94 |
| 2 | 18,61 | 18,50 | 18,60 |
| 3 | 42,13 | 40,60 | 41,36 |
| 4 | 32,88 | 33,37 | 33,04 |
| 5 | 49,62 | 50,04 | 49,43 |
| 6 | 23, 94 | 35,00 | 25,28 |
| 7 | 136,68 | 196,17 | 72,29 |
| 8 | 135,60 | 132,51 | 125,43 |
| 9 | 51,13 | 167,87 | 158,88 |
| 10 | 36,99 | 41,16 | 40,24 |
| 11 | 25,58 | 27,88 | 25,88 |
| 12 | 38,22 | 35,23 | 35,71 |
| 13 | 30,93 | 31,08 | 31,04 |
| 14 | 35,41 | 35,10 | 35,20 |
| 15 | 63,10 | 62,64 | 62,89 |
| 16 | 19,52 | 19,12 | 19,31 |
| 17 | 169,75 | 170,97 | 168,83 |
| 18 | 33,18 | 32,46 | 33,28 |
| 19 | 21,98 | 21,41 | 21,86 |
| 20 | 14,45 | 18,42 | 20,11 |
| COOCH ₃ | 51,20 | 51,96 | 51,21 |
| 15-OOCCH ₃ | 20,98 | 20,93 | 20,93 |
| 15-OOCCH ₃ | 171,06 | 172,01 | 170,99 |
| 7-OOCCH ₃ | | | 21,05 |
| 7-OOCCH ₃ | | | 170,25 |

TABELA VI

| C | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 39,70 | 39,20 | 39,98 | 39,81 | 39,73 |
| 2 | 18,60 | 18,87 | 18,92 | 18,92 | 18,91 |
| 3 | 42,16 | 42,40 | 42,48 | 42,45 | 42,47 |
| 4 | 32,78 | 33,00 | 33,02 | 33,02 | 29,70 |
| 5 | 49,64 | 50,09 | 50,36 | 50,41 | 50,36 |
| 6 | 23,90 | 23,76 | 23,92 | 23,93 | 23,92 |
| 7 | 136,25 | 125,16 | 122,05 | 122,17 | 122,22 |
| 8 | 135,76 | 139,63 | 135,65 | 135,92 | 135,43 |
| 9 | 51,04 | 52,77 | 55,55 | 55,62 | 55,52 |
| 10 | 36,98 | 36,87 | 37,00 | 37,04 | 37,01 |
| 11 | 25,53 | 24,37 | 24,44 | 24,97 | 24,42 |
| 12 | 38,38 | 38,57 | 39,31 | 39,37 | 39,35 |
| 13 | 30,80 | 30,99 | 31,02 | 30,62 | 30,88 |
| 14 | 36,59 | 36,53 | 36,58 | 40,02 | 35,35 |
| 15 | 62,17 | 62,87 | 62,32 | 61,35 | 63,10 |
| 16 | 19,71 | 20,04 | 20,00 | 19,84 | 19,72 |
| 17 | 169,66 | 65,72 | 22,18 | 22,10 | 22,12 |
| 18 | 33,15 | 33,17 | 33,23 | 33,20 | 33,19 |
| 19 | 21,95 | 21,92 | 21,90 | 21,87 | 21,87 |
| 20 | 14,40 | 13,68 | 13,63 | 13,65 | 13,63 |
| COOCH ₃ | 51,26 | | | | |
| 15-OOCH ₃ | | | | | 171,11 |
| 15-OOCH ₃ | | | | | 20,96 |
| 2' | 98,72 | 99,40 | 99,02 | | |
| 3' | 31,06 | 33,17 | 30,88 | | |
| 4' | 25,58 | 25,58 | 25,61 | | |
| 5' | 19,66 | 19,79 | 19,73 | | |
| 6' | 66,02 | 65,97 | 66,13 | | |

TABELA VII

| C | N ₁ | N ₂ | N ₅ |
|----|----------------|----------------|----------------|
| 1 | 45,11 | 44,80 | 45,95 |
| 2 | 22,18 | 21,49 | 21,63 |
| 3 | 55,42 | 55,70 | 55,22 |
| 4 | 64,08 | 63,99 | 60,73 |
| 5 | 24,63 | 23,79 | 24,96 |
| 6 | 34,93 | 36,48 | 32,82 |
| 7 | 141,00 | 60,50 | 155,15 |
| 8 | 122,88 | 60,89 | 71,89 |
| 9 | 46,30 | 47,01 | 53,70 |
| 10 | 36,24 | 37,89 | 36,09 |
| 11 | 46,85 | 46,70 | 46,38 |
| 12 | 16,21 | 16,21 | 16,02 |
| 13 | 41,62 | 41,92 | 41,78 |
| 14 | 27,29 | 27,12 | 27,22 |
| 15 | 46,67 | 46,45 | 46,38 |
| 16 | 148,60 | 148,33 | 148,45 |
| 17 | 24,98 | 24,91 | 24,96 |
| 18 | 110,27 | 110,22 | 110,25 |
| 19 | 20,78 | 20,01 | 20,10 |
| 20 | 25,67 | 22,71 | 112,28 |

TABELA VIII

| C | N ₄ | N ₇ |
|----------------------------|----------------|----------------|
| 1 | 39,92 | 39,18 |
| 2 | 18,88 | 18,82 |
| 3 | 42,44 | 42,31 |
| 4 | 30,01 | 32,99 |
| 5 | 50,33 | 48,86 |
| 6 | 23,91 | 23,82 |
| 7 | 123,56 | 128,77 |
| 8 | 135,25 | 134,29 |
| 9 | 54,68 | 52,84 |
| 10 | 36,94 | 36,94 |
| 11 | 25,67 | 23,89 |
| 12 | 42,11 | 38,86 |
| 13 | 140,33 | 30,71 |
| 14 | 122,41 | 35,37 |
| 15 | 59,45 | 62,94 |
| 16 | 16,37 | 19,58 |
| 17 | 22,12 | 67,71 |
| 18 | 33,18 | 33,08 |
| 19 | 21,86 | 21,83 |
| 20 | 23,63 | 13,67 |
| Me <u>C</u> OO | | 170,73 |
| Me <u>C</u> OO | | 171,06 |
| <u>CH</u> ₃ COO | | 20,94 |
| <u>CH</u> ₃ COO | | 21,06 |

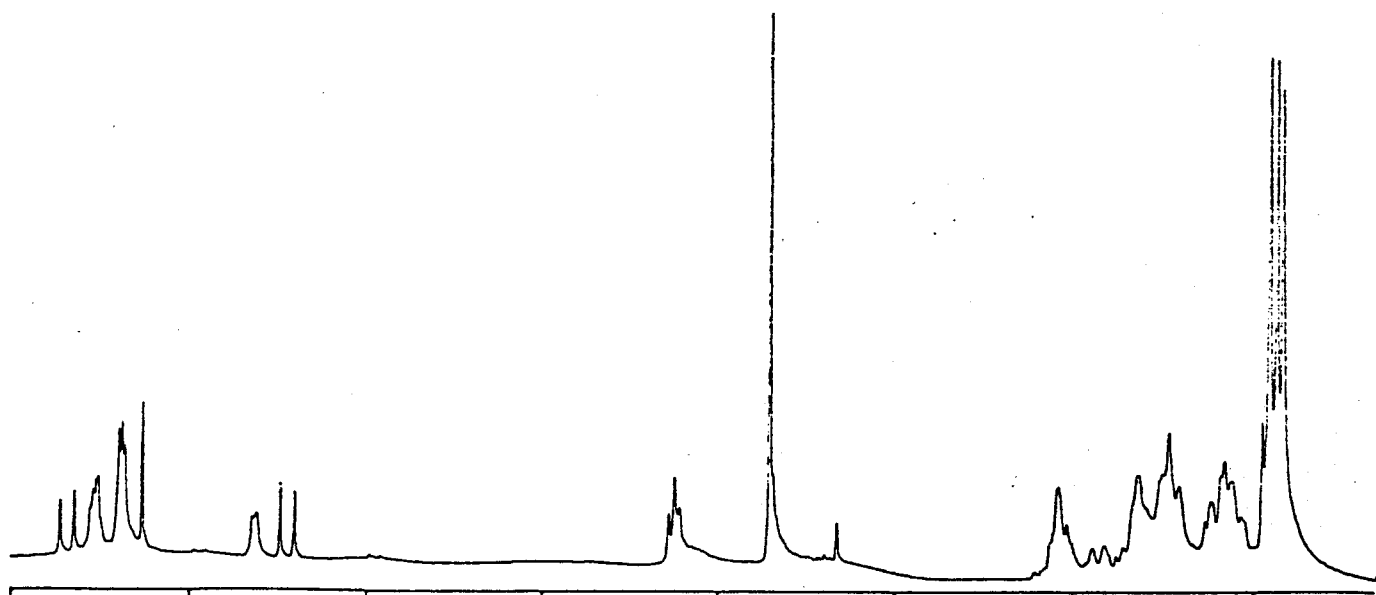
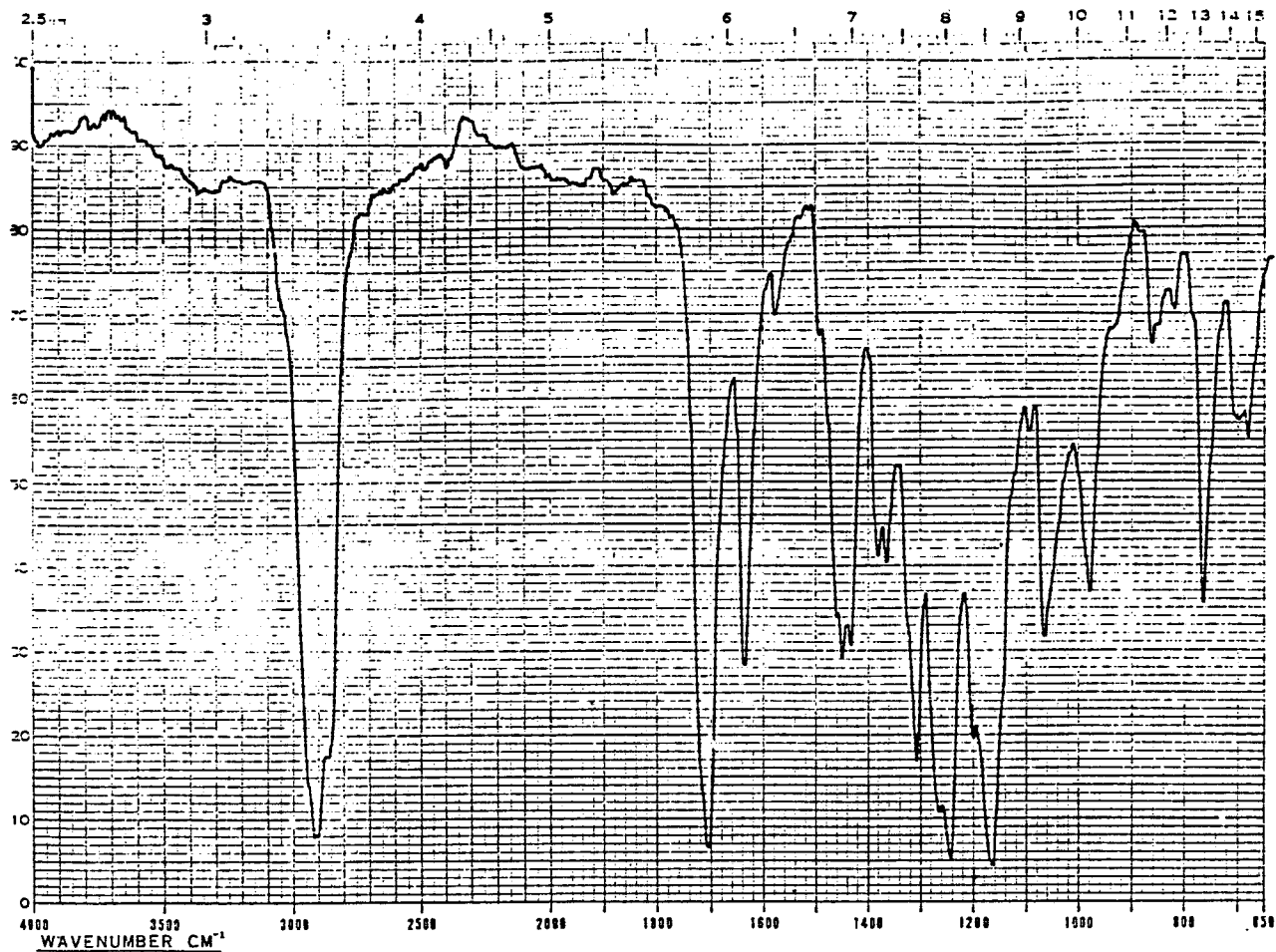


Figura 3.1 : IV e RMN ¹H do 15-cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo

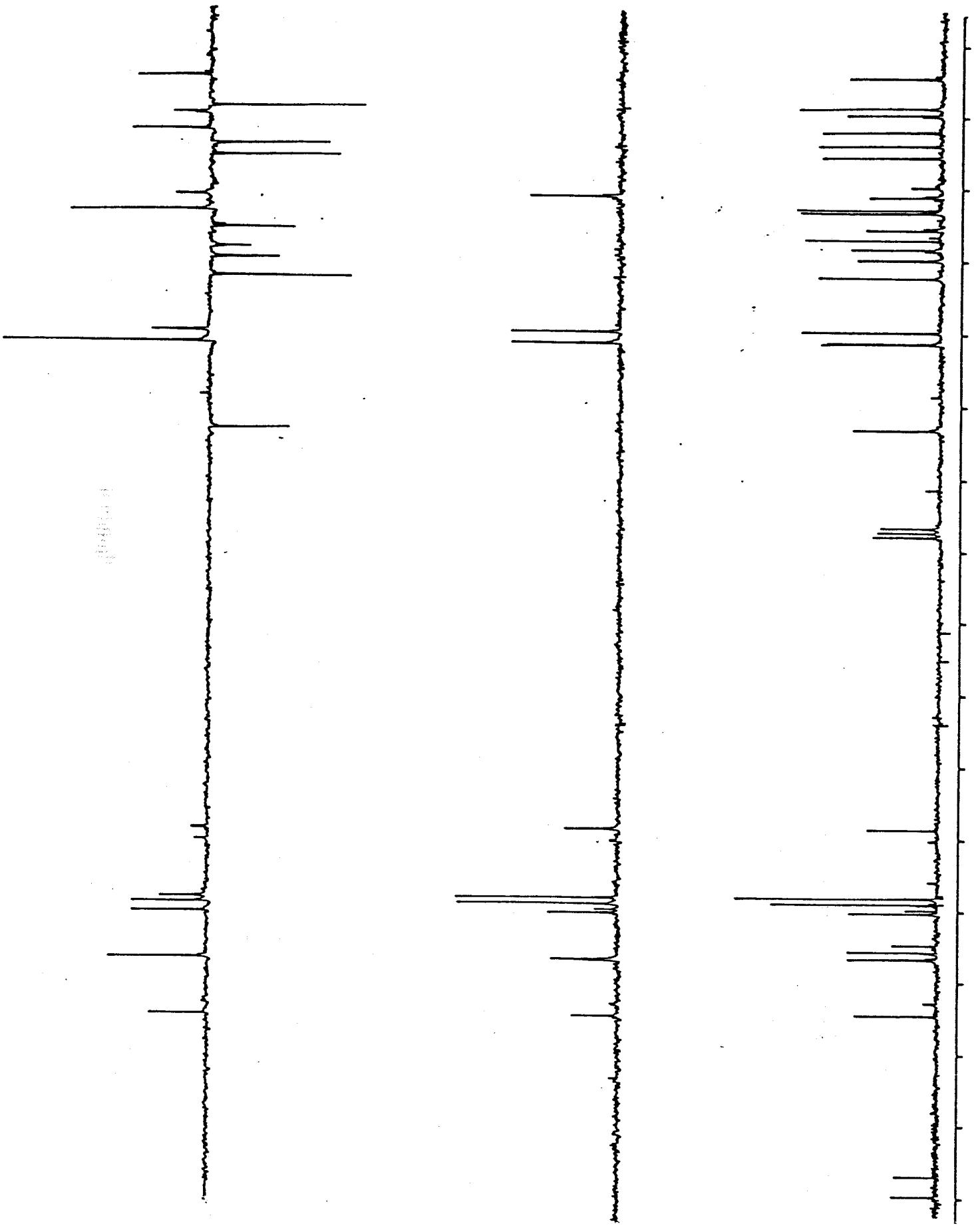


Figura 3.2 : RMN ^{13}C do 15-cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo

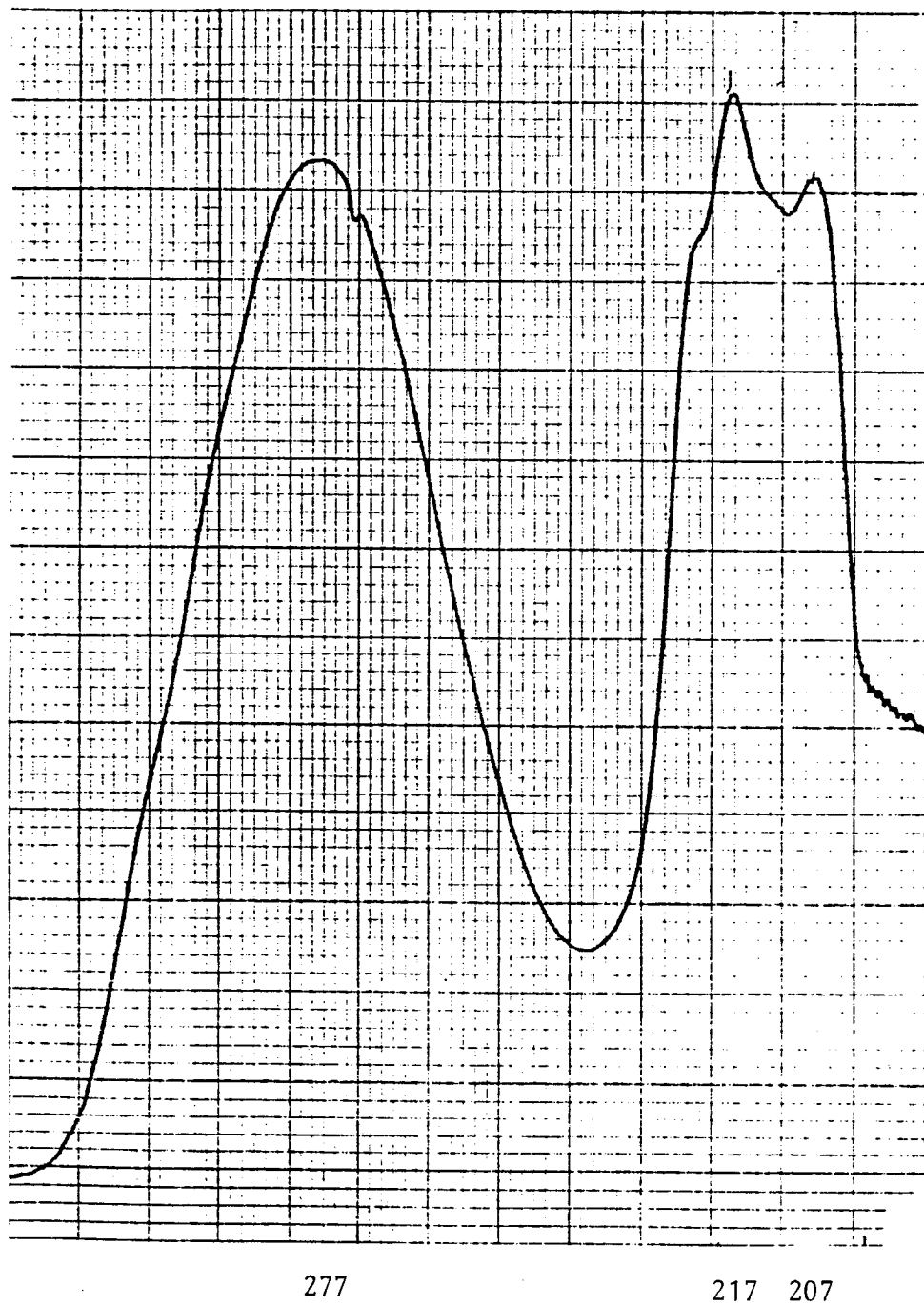


Figura 3.3 : UV do 15-cinamoiloxi-7-labden-17-oato de metilo

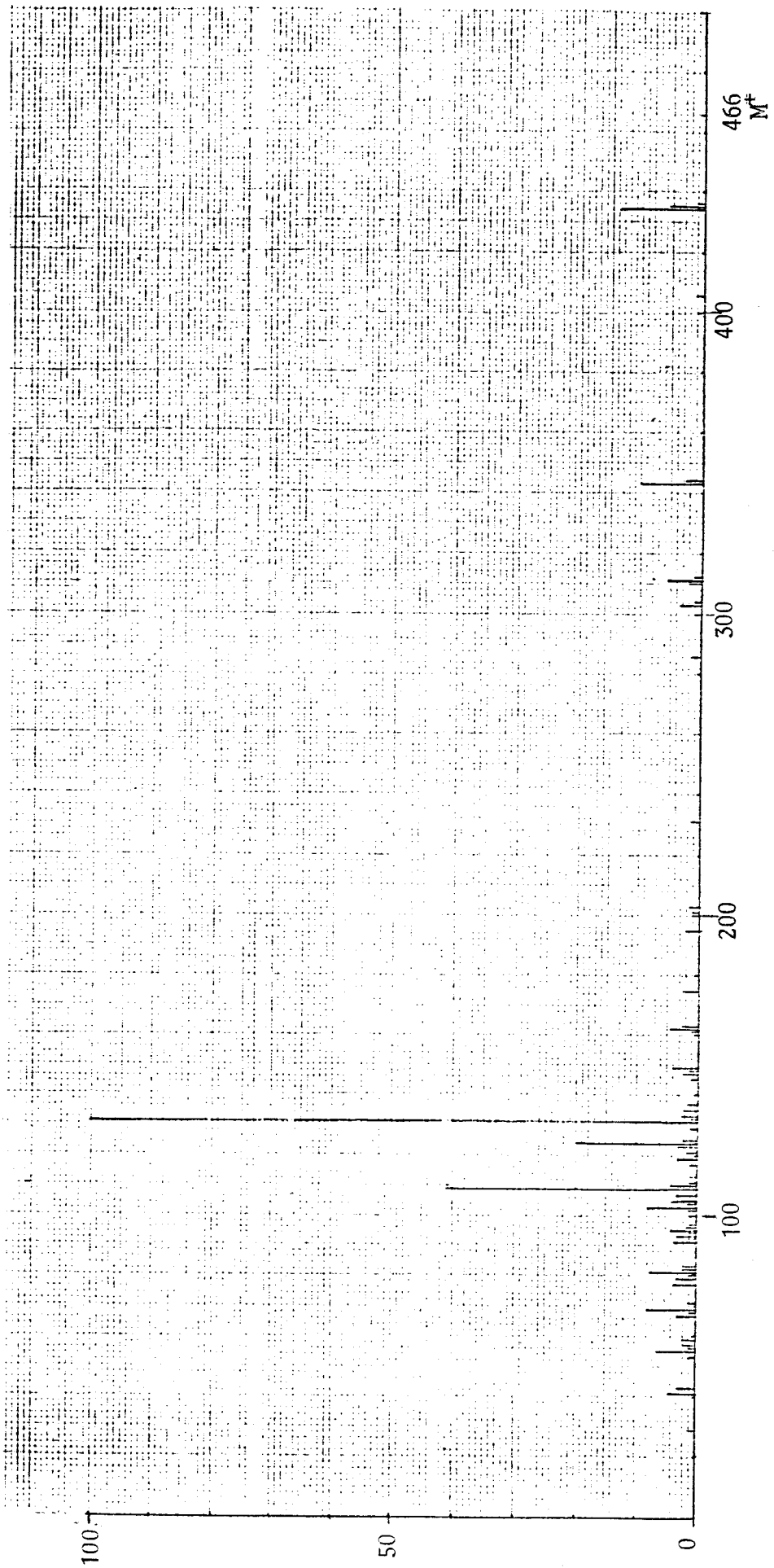


Figura 3.4 : EM do 15-cinamoiłoxi-7-labden-17-oato de metilo

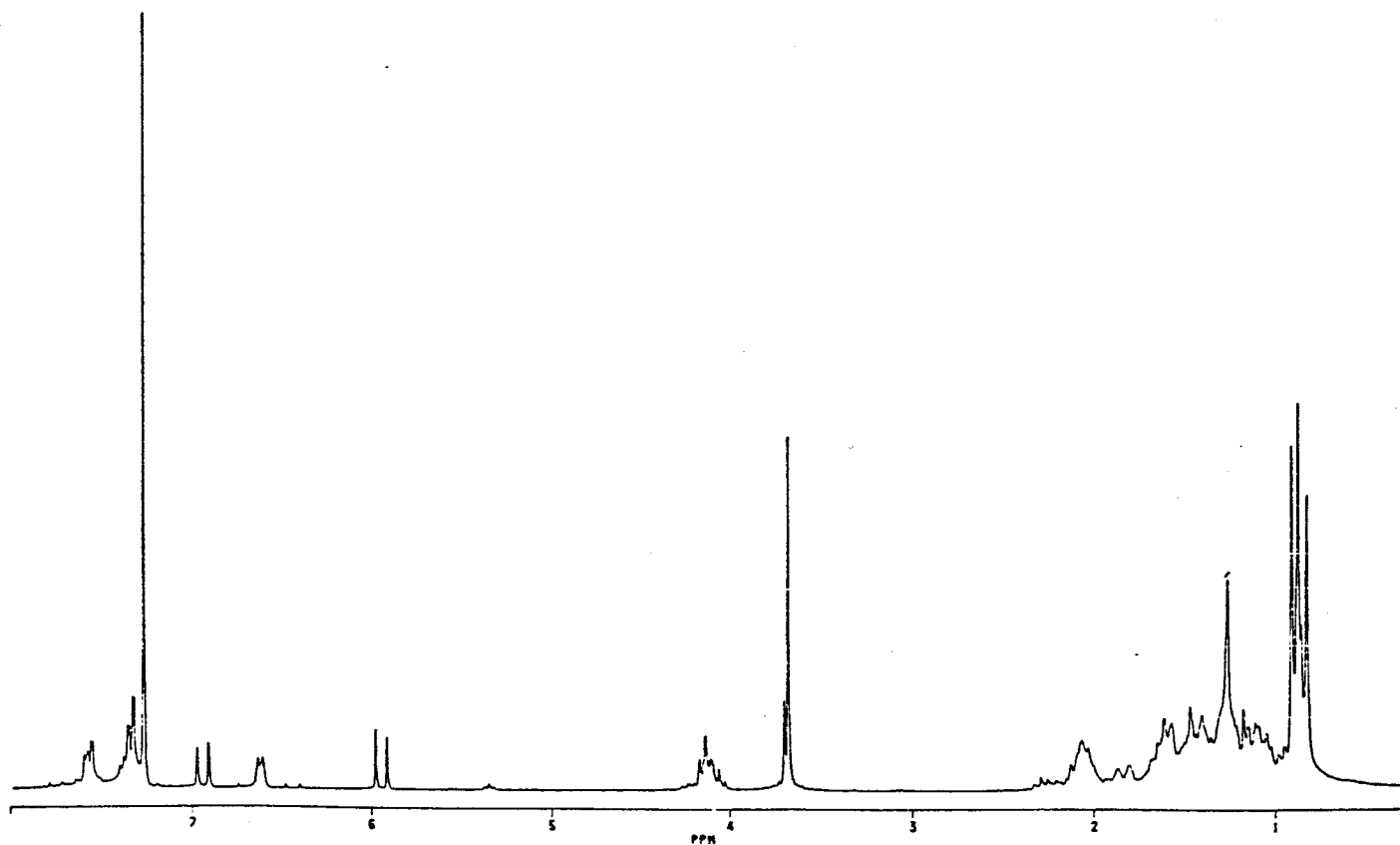
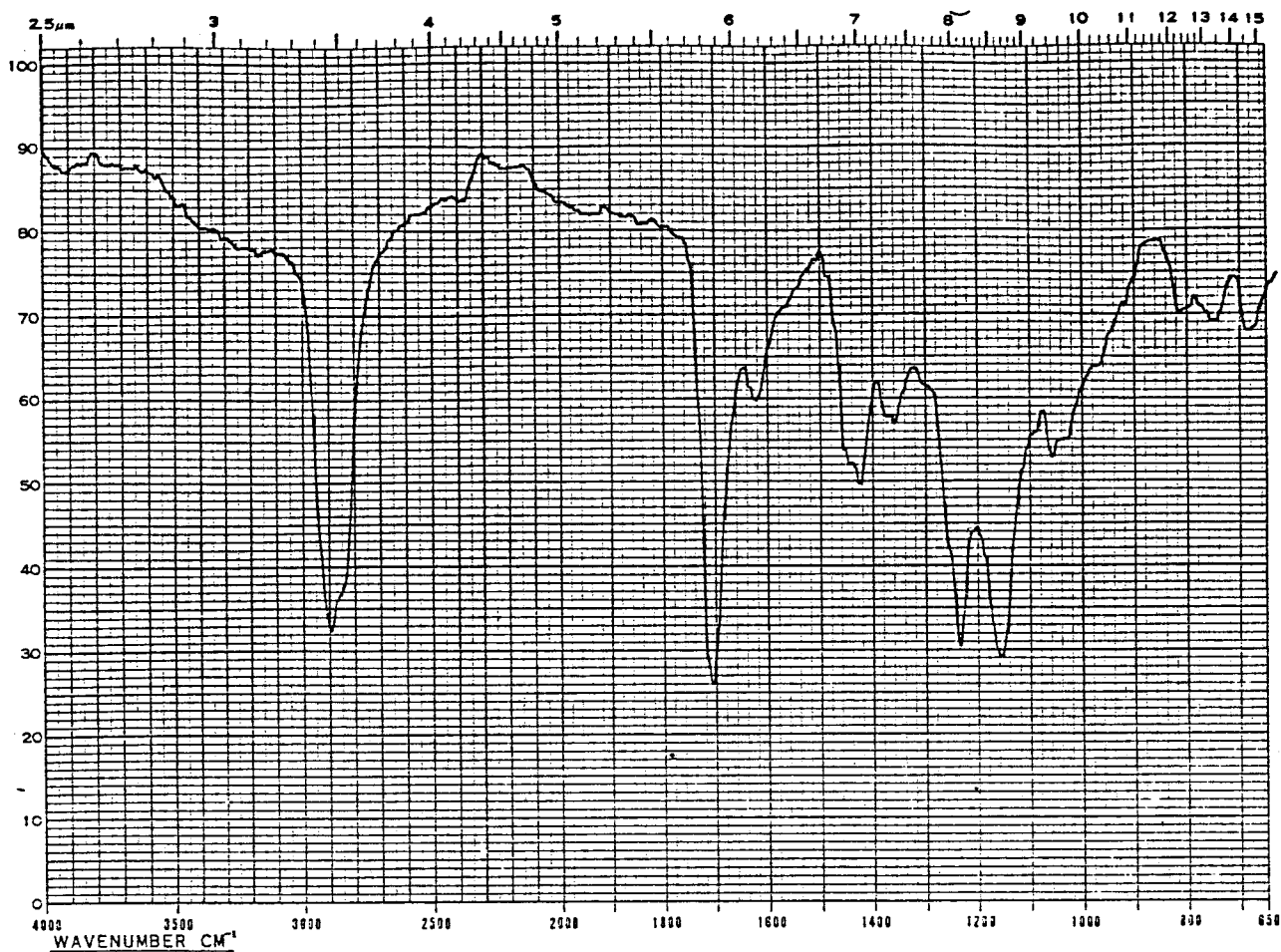


Figura 3.5 : IV e RMN ¹H do 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo

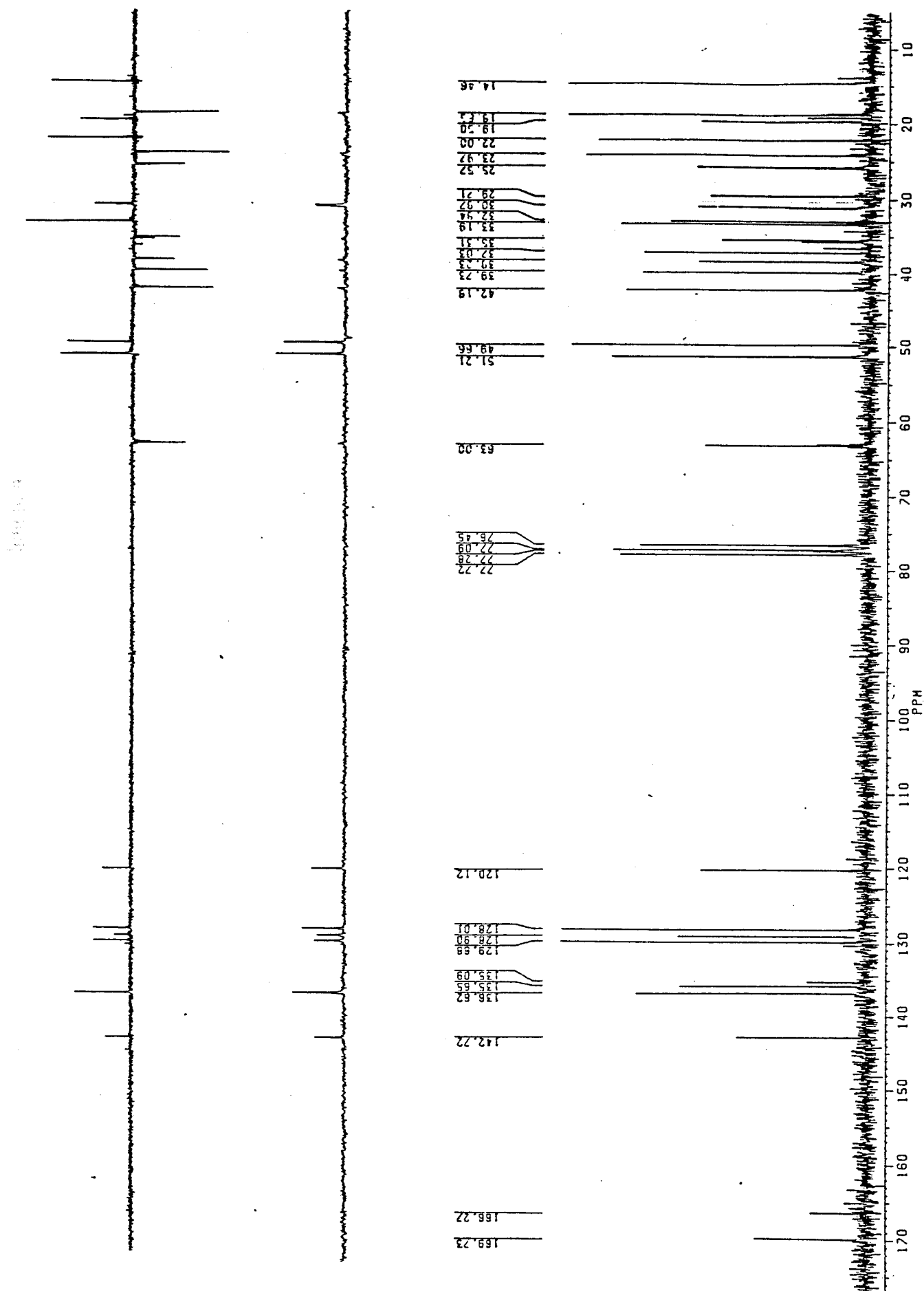


Figura 3.6 : RMN ^{13}C do 15-(Z-cinamoiloxi)-7-labden-17-oato de metilo

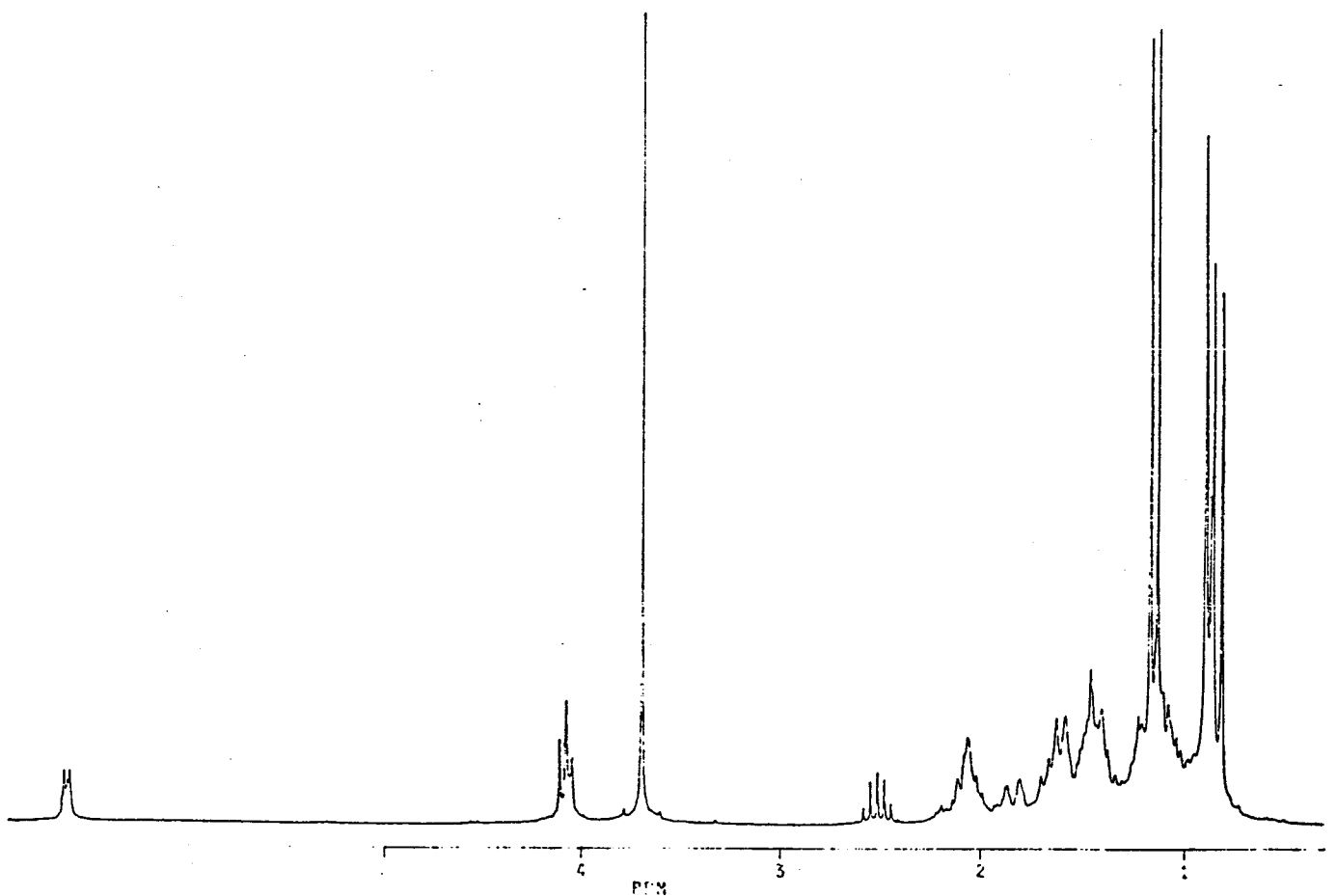
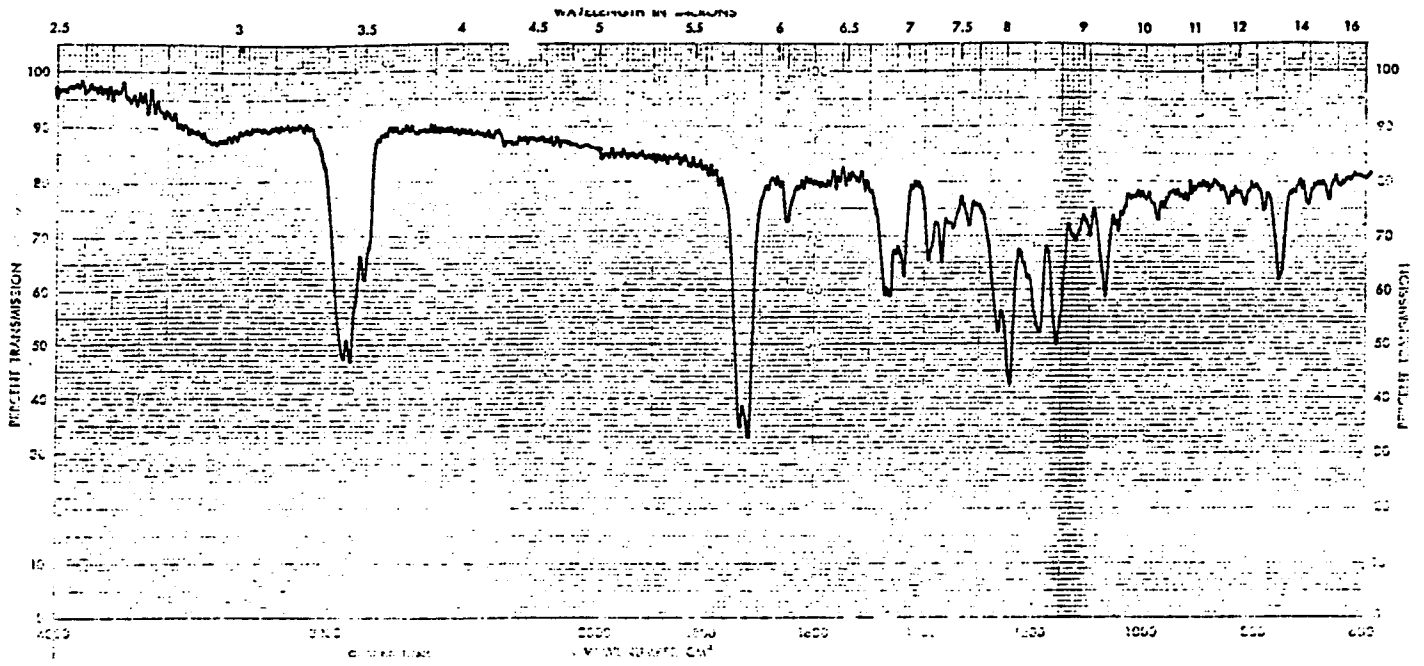


Figura 3.7 : IV e RMN ¹H do 15-isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo

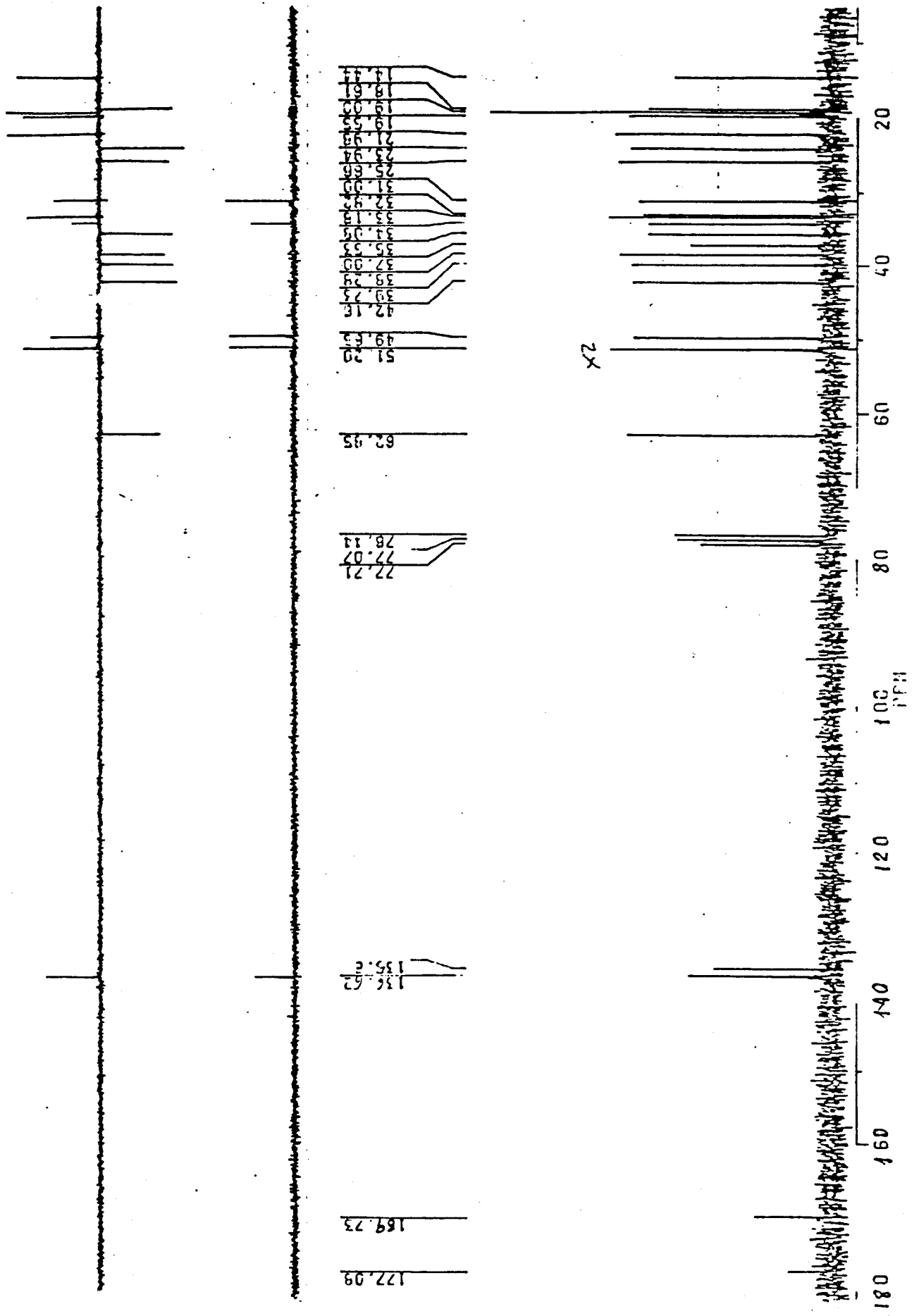


Figura 3.8 : RMN ¹³C do 15-isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo

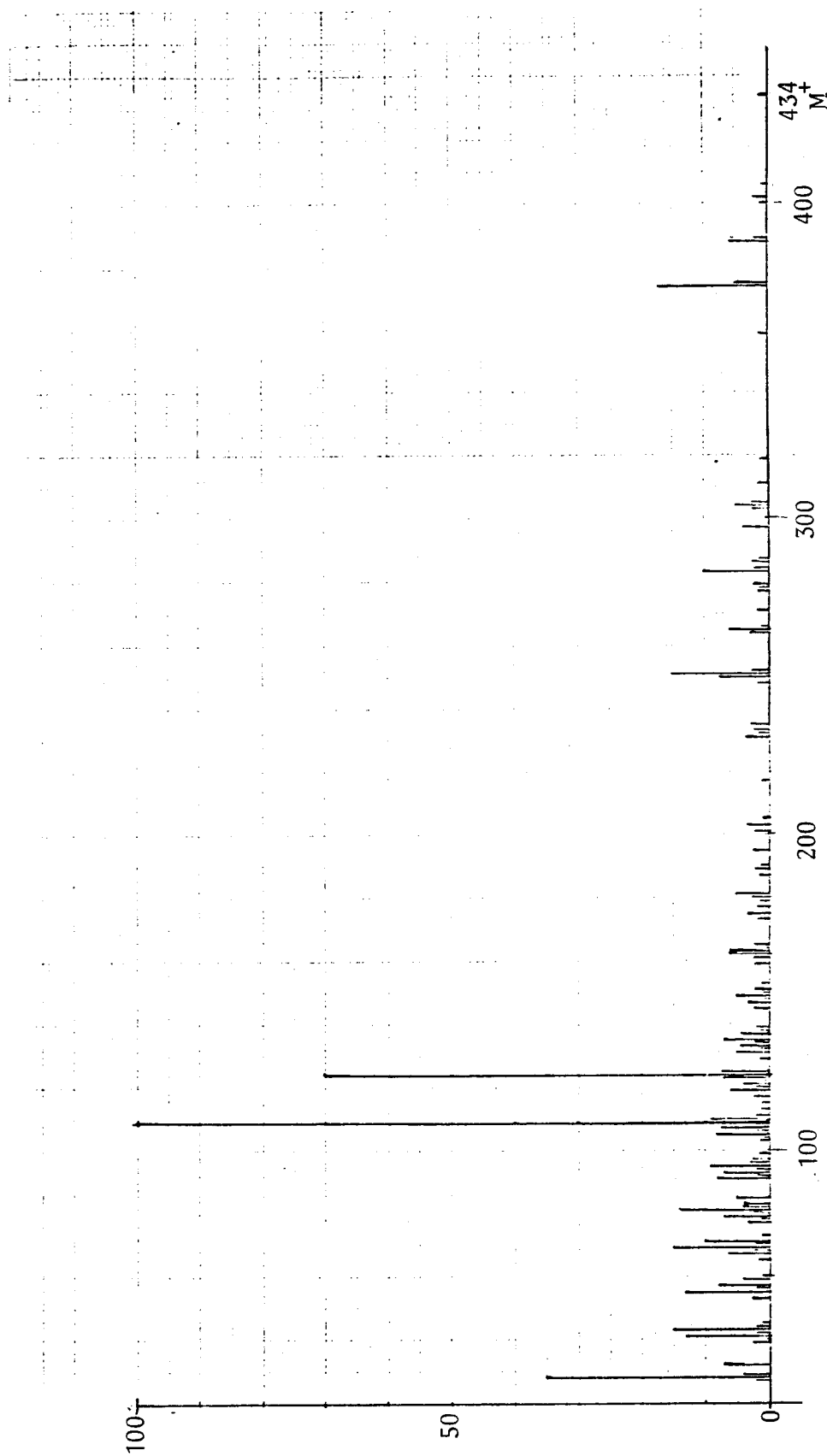


Figura 3.9 : EM do 15-isobutiloxi-7-labden-17-oato de metilo

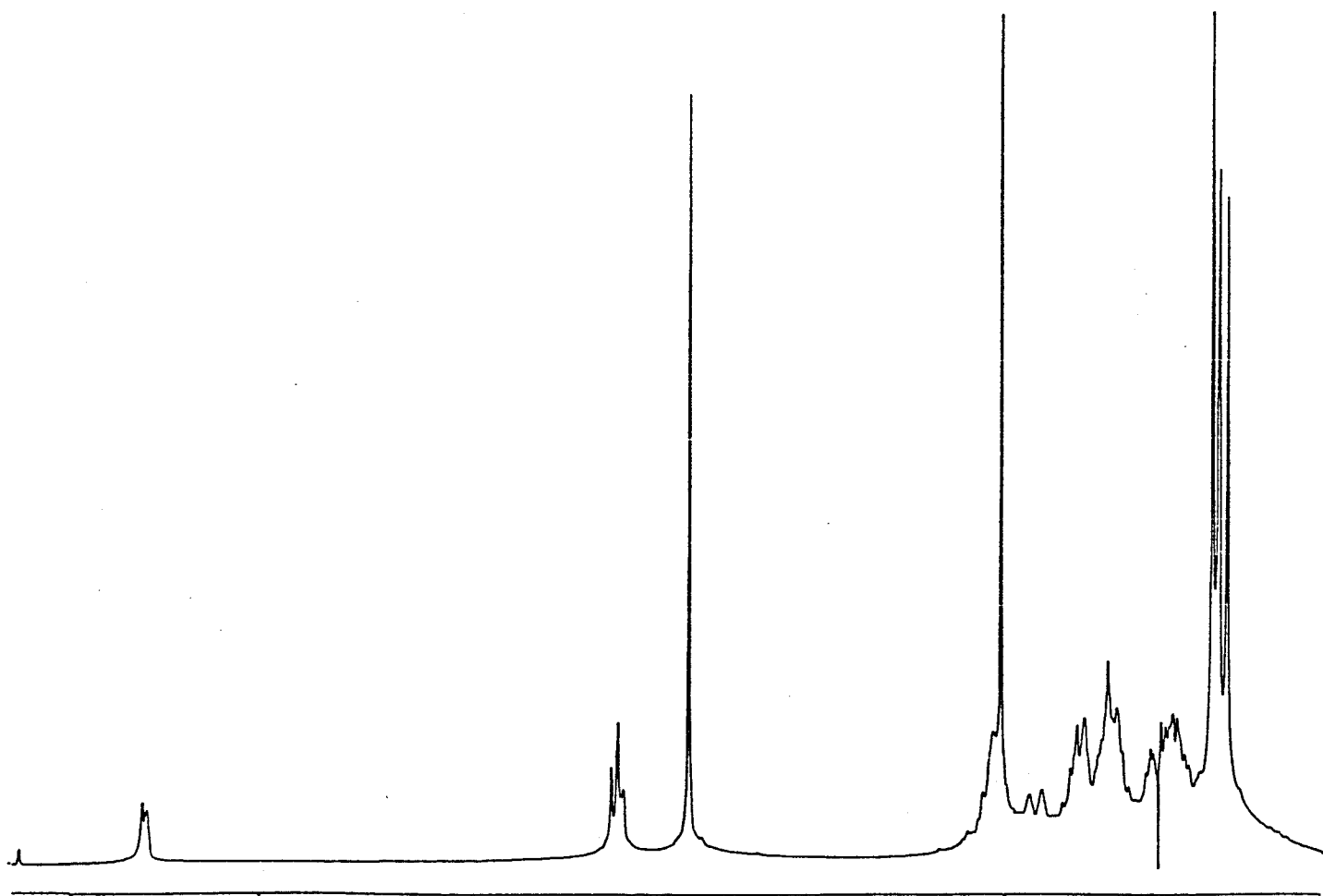
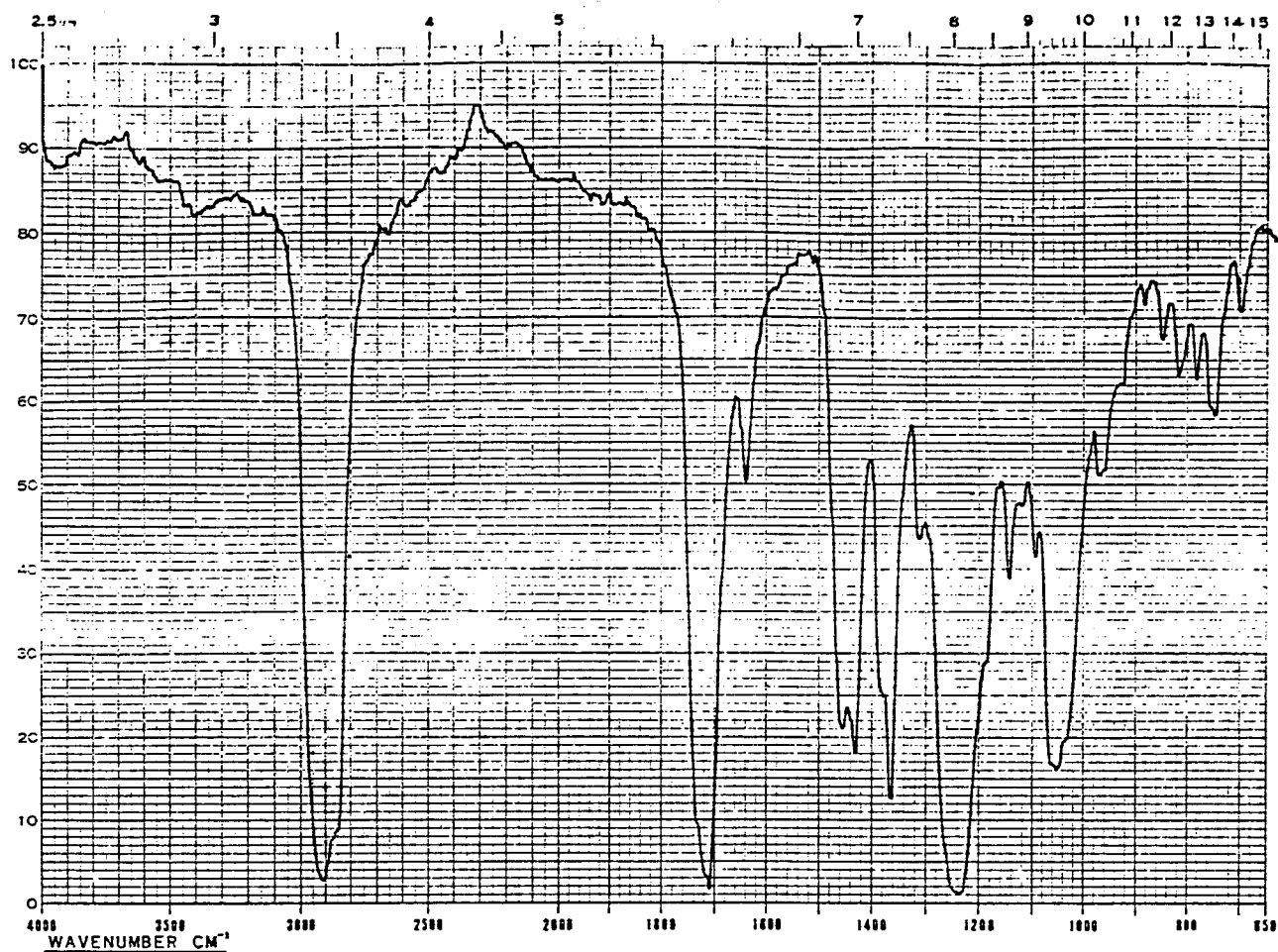


Figura 3.10 : IV e RMN ¹H do 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo

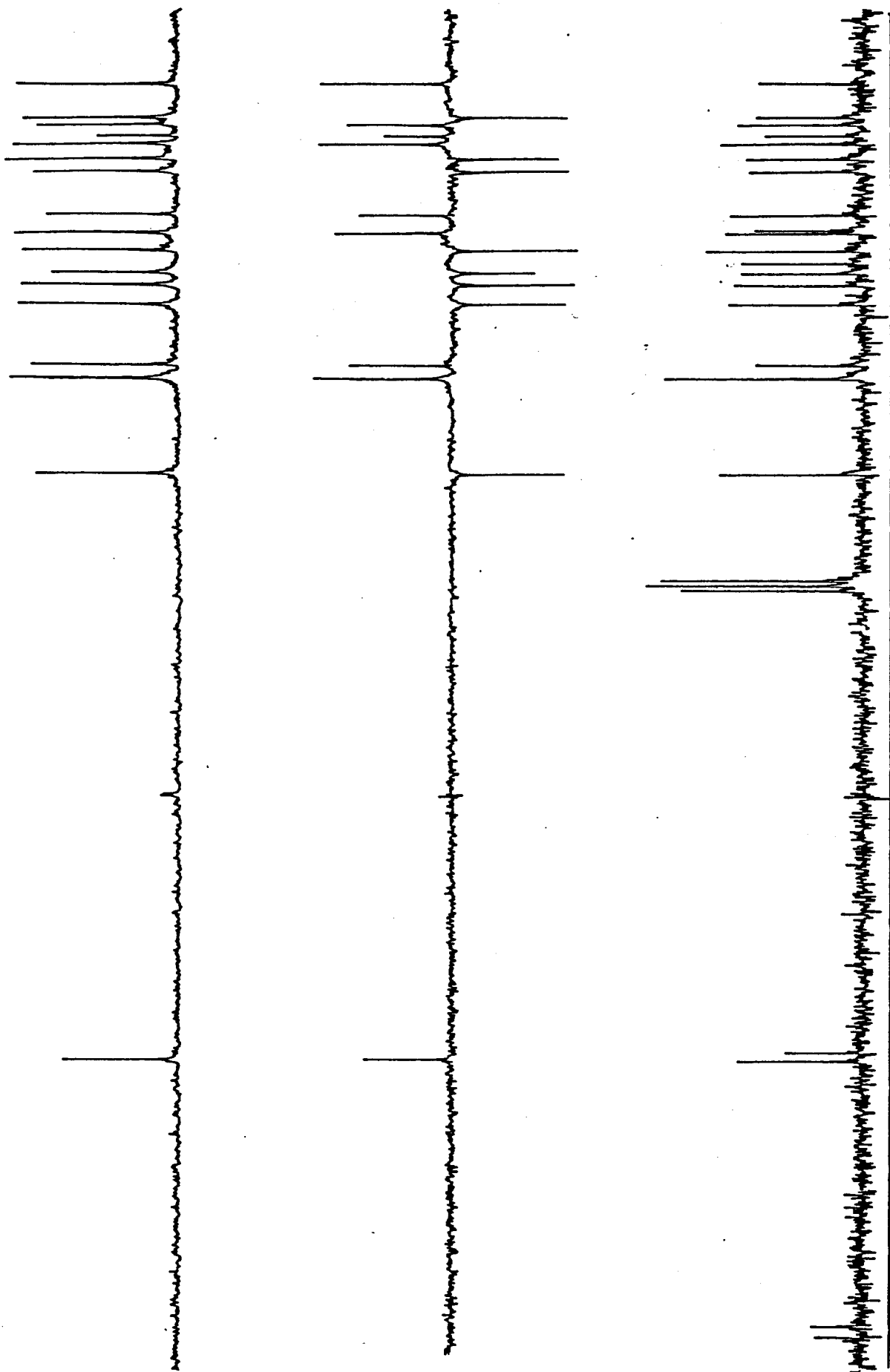
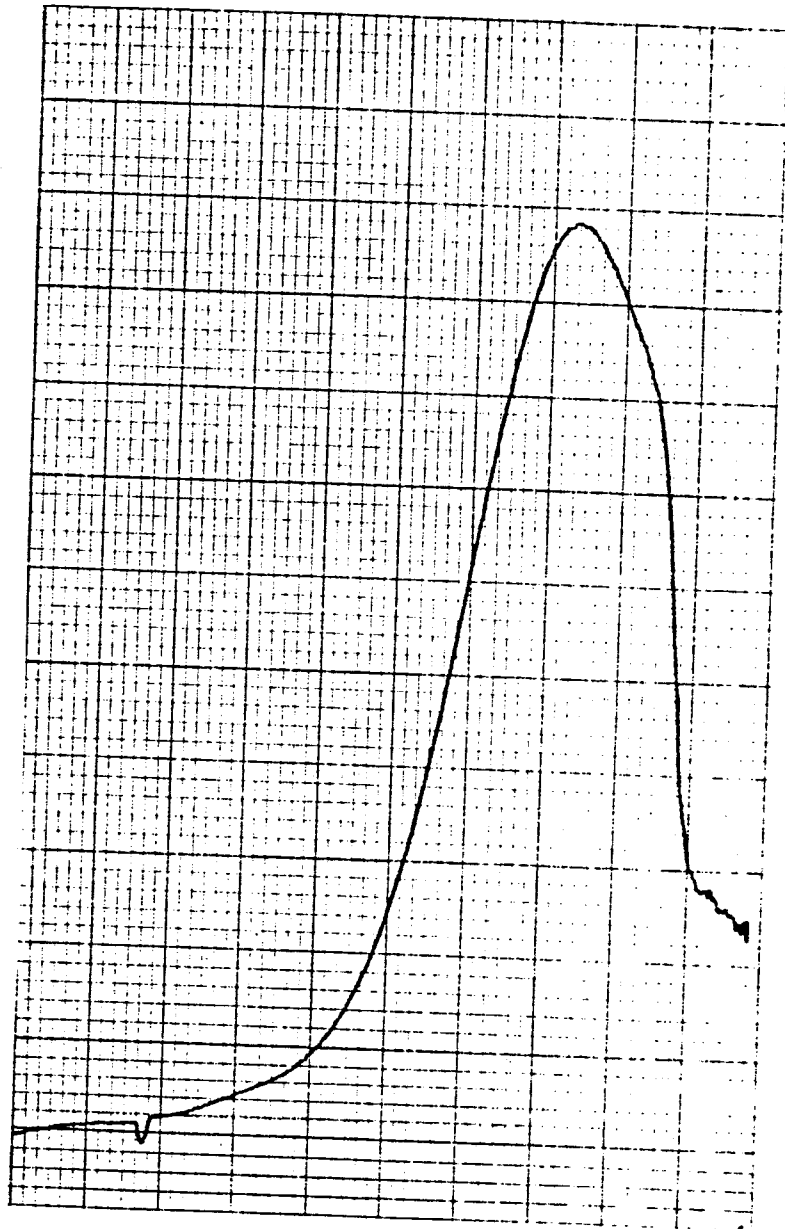


Figura 3.11 : RMN ^{13}C do 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo



217

Figura 3.12 : UV do 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo

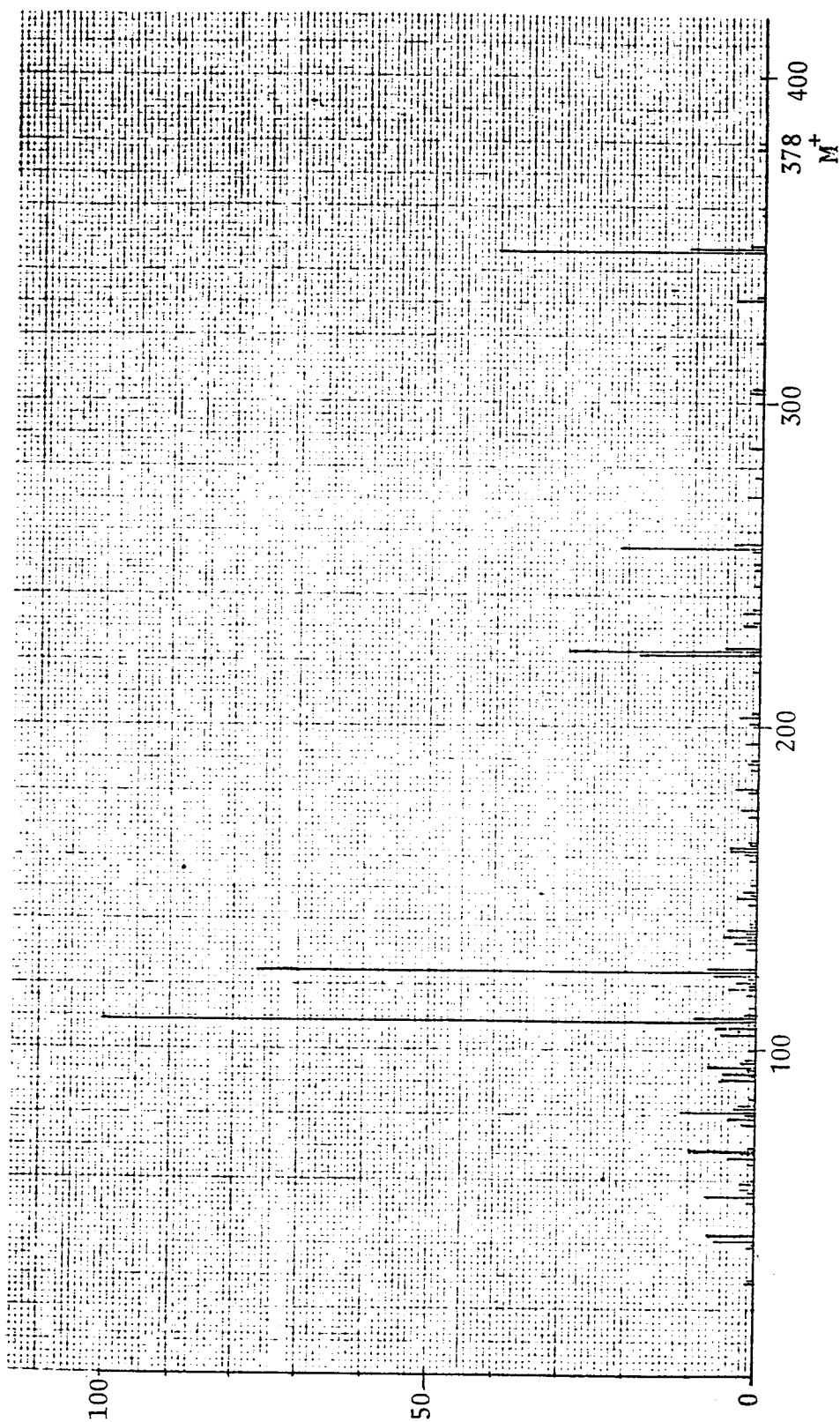


Figura 3.13 : EM do 15-acetoxi-7-labden-17-oato de metilo

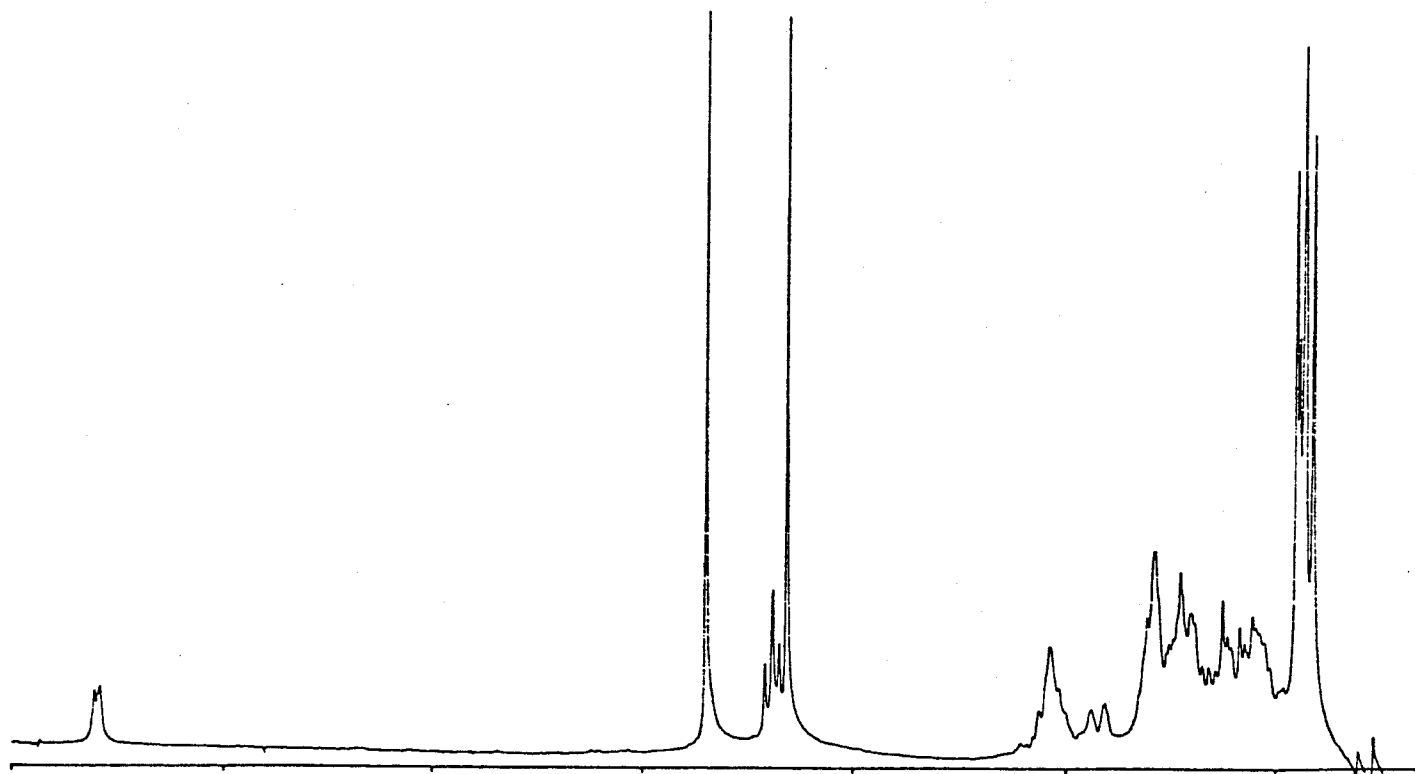
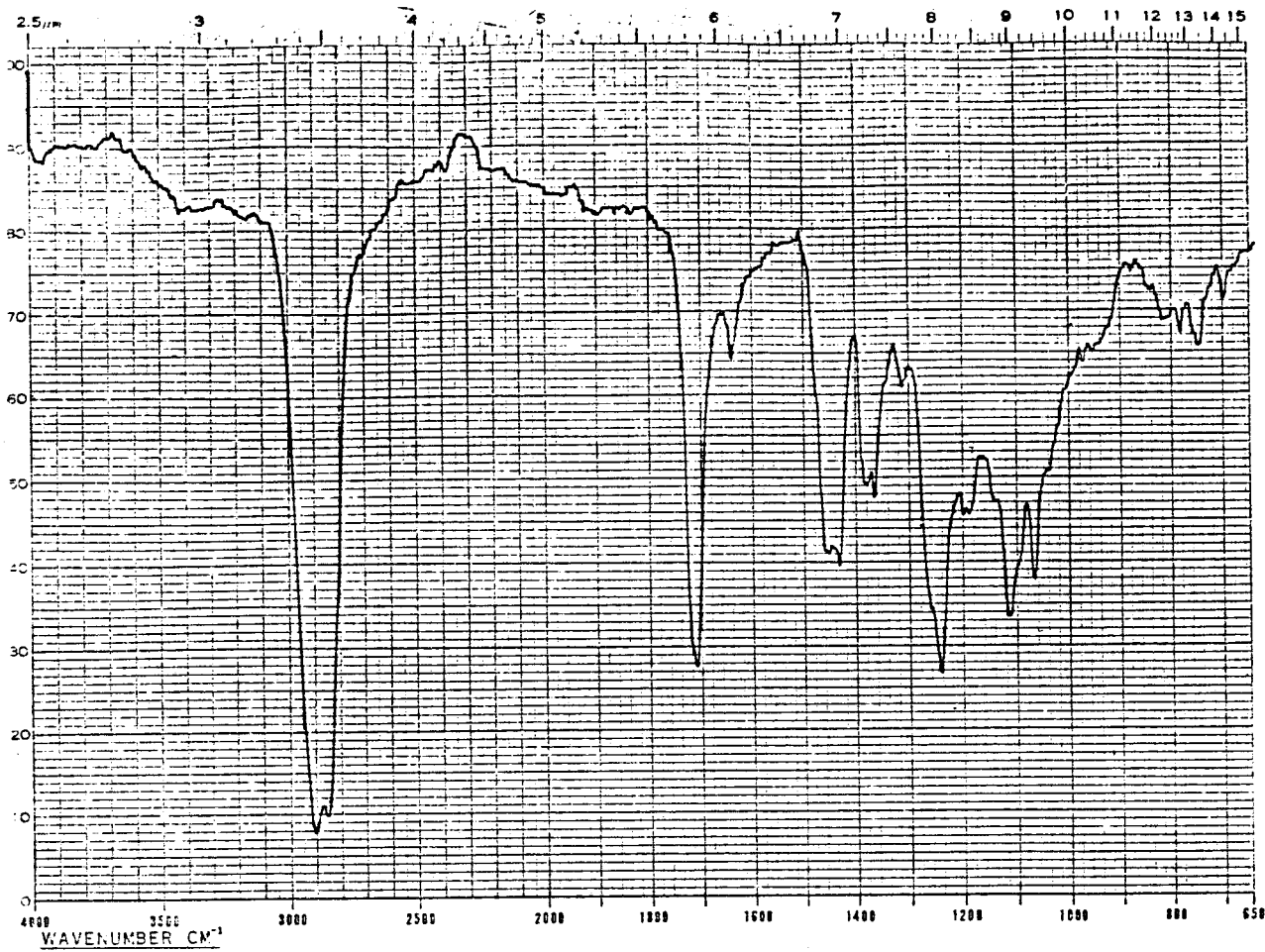


Figura 3.14 : IV e RMN ¹H do 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo

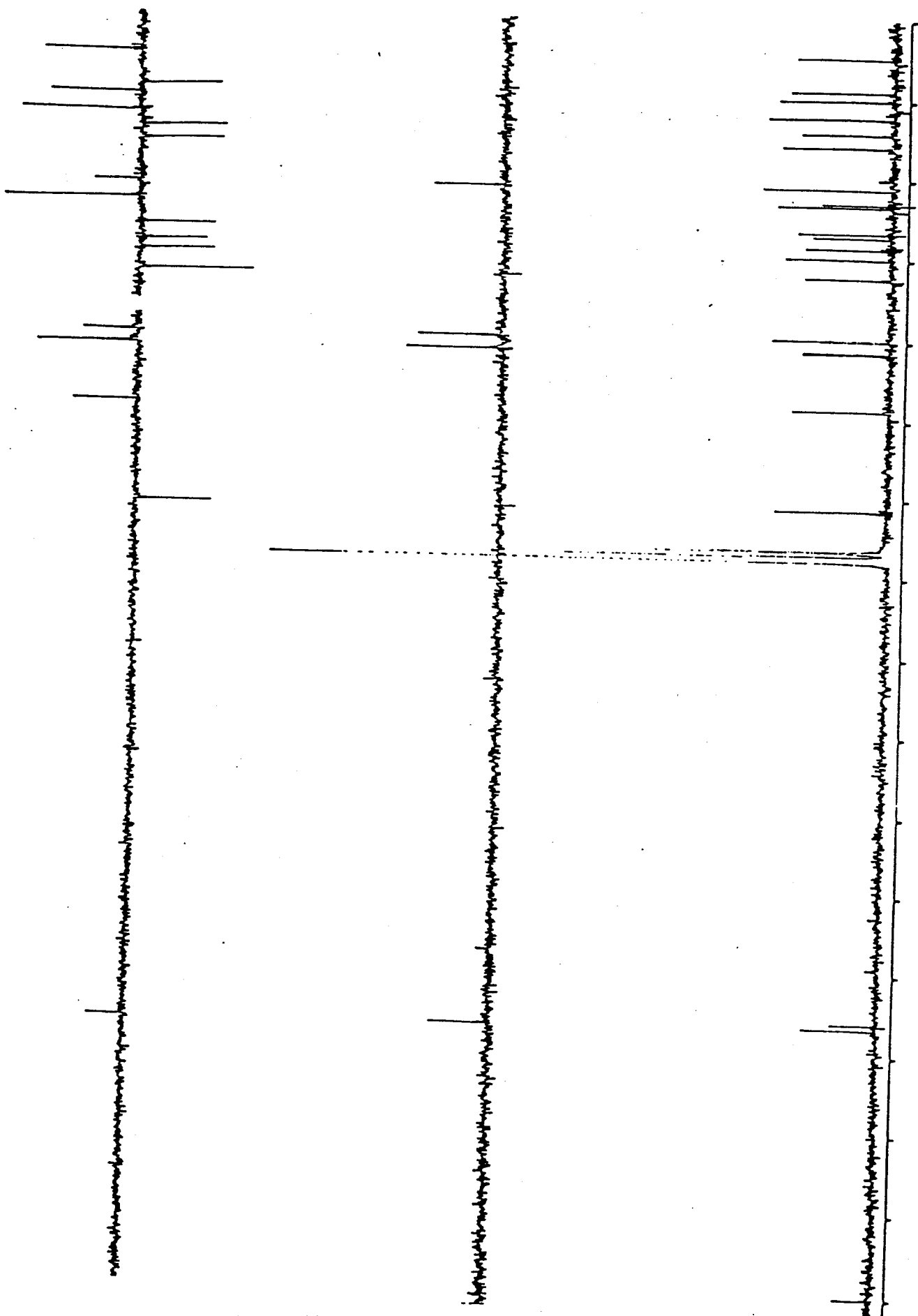


Figura 3.15 : RMN ^{13}C do 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo

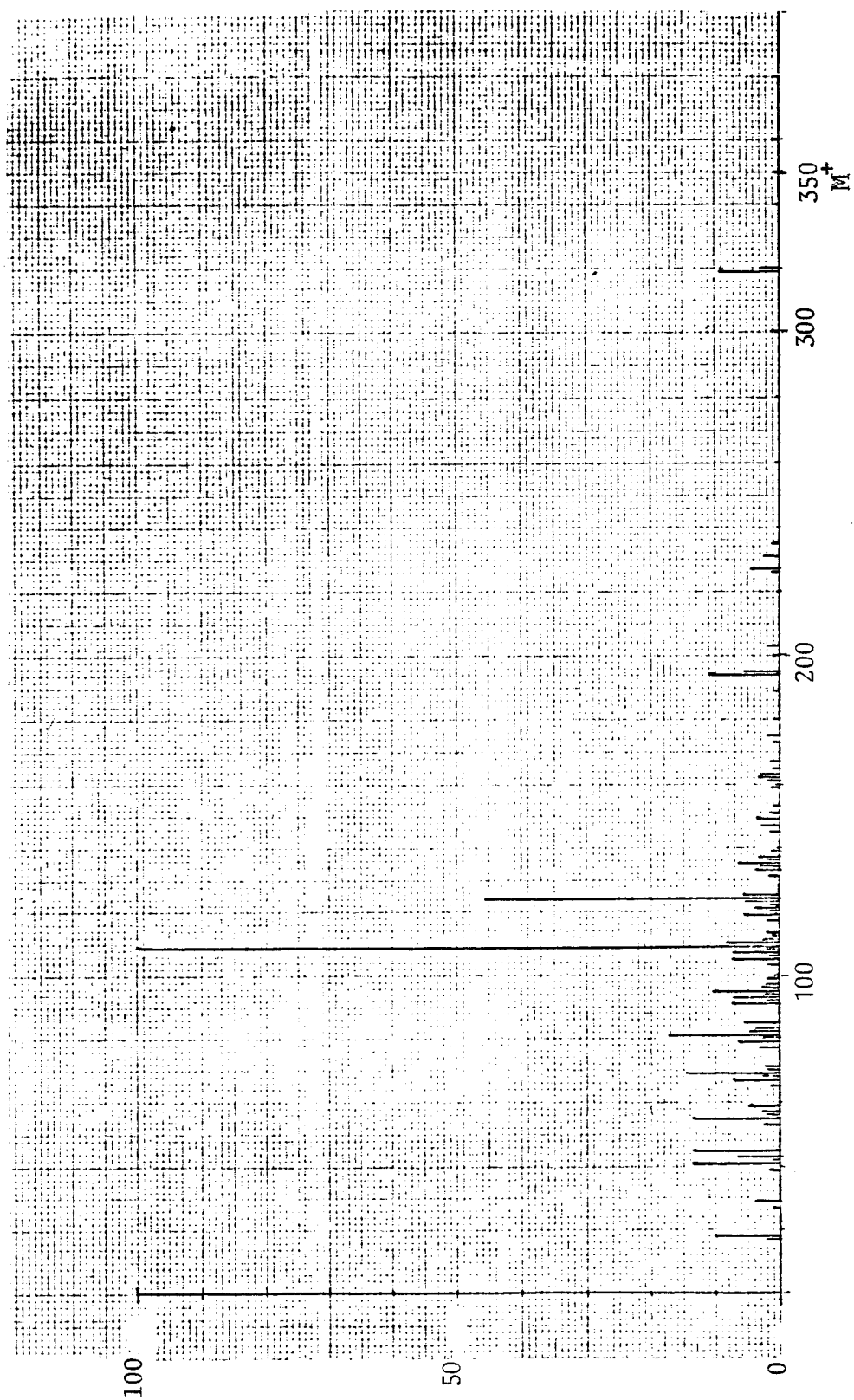


Figura 3.16 : EM do 15-metoxi-7-labden-17-oato de metilo

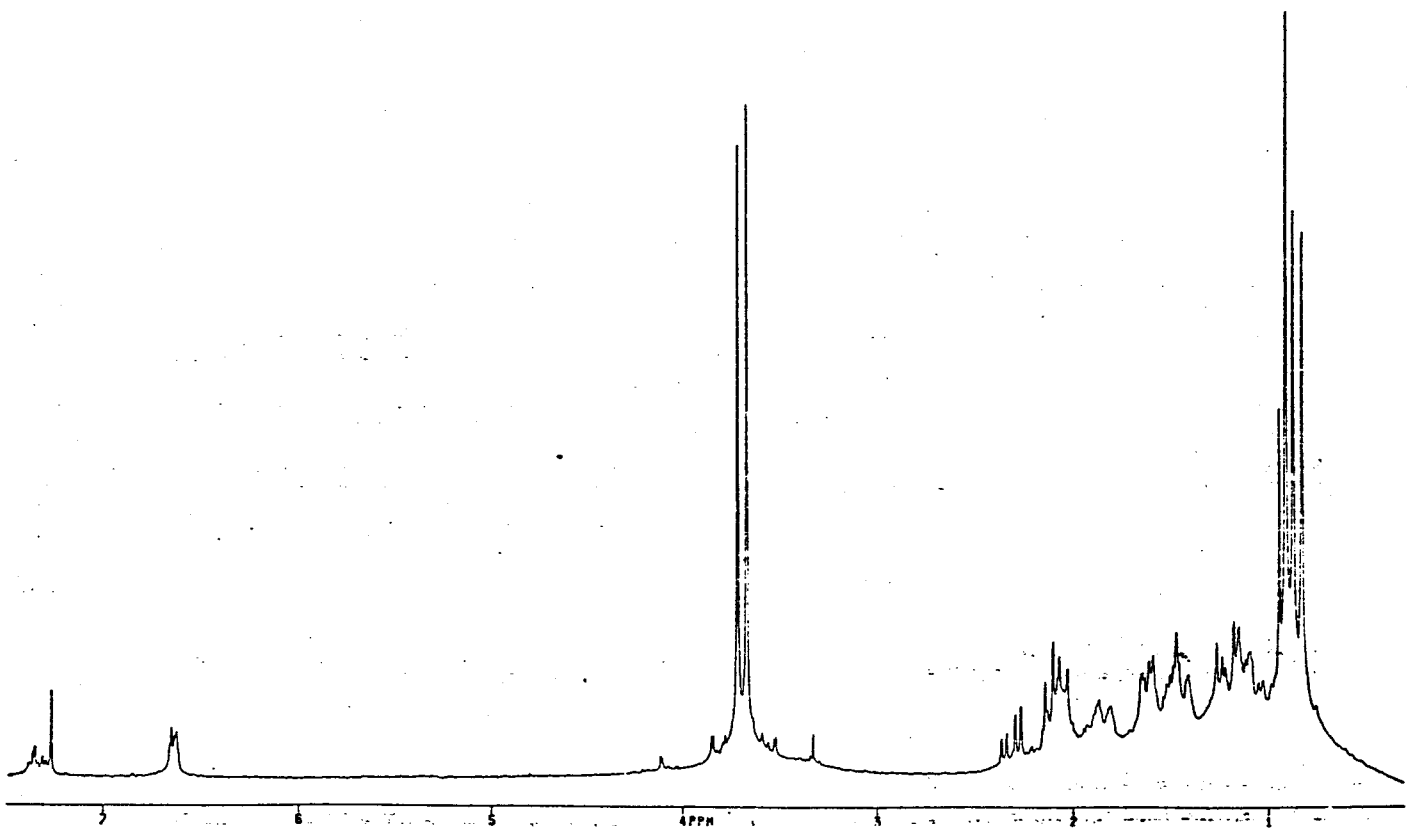
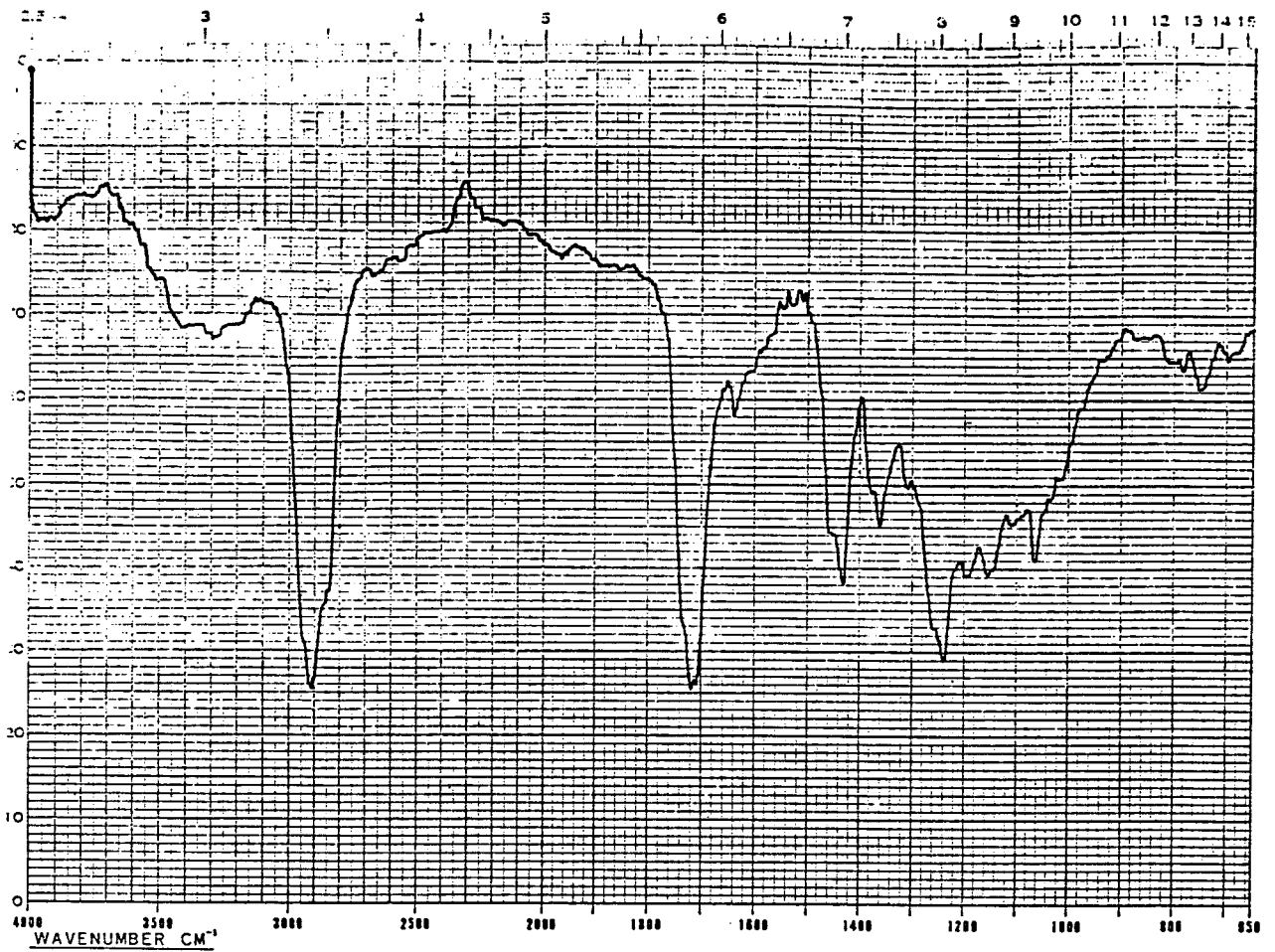


Figura 3.17 : IV e RMN ¹H do 7-iodo-15,17-dioato de metilo

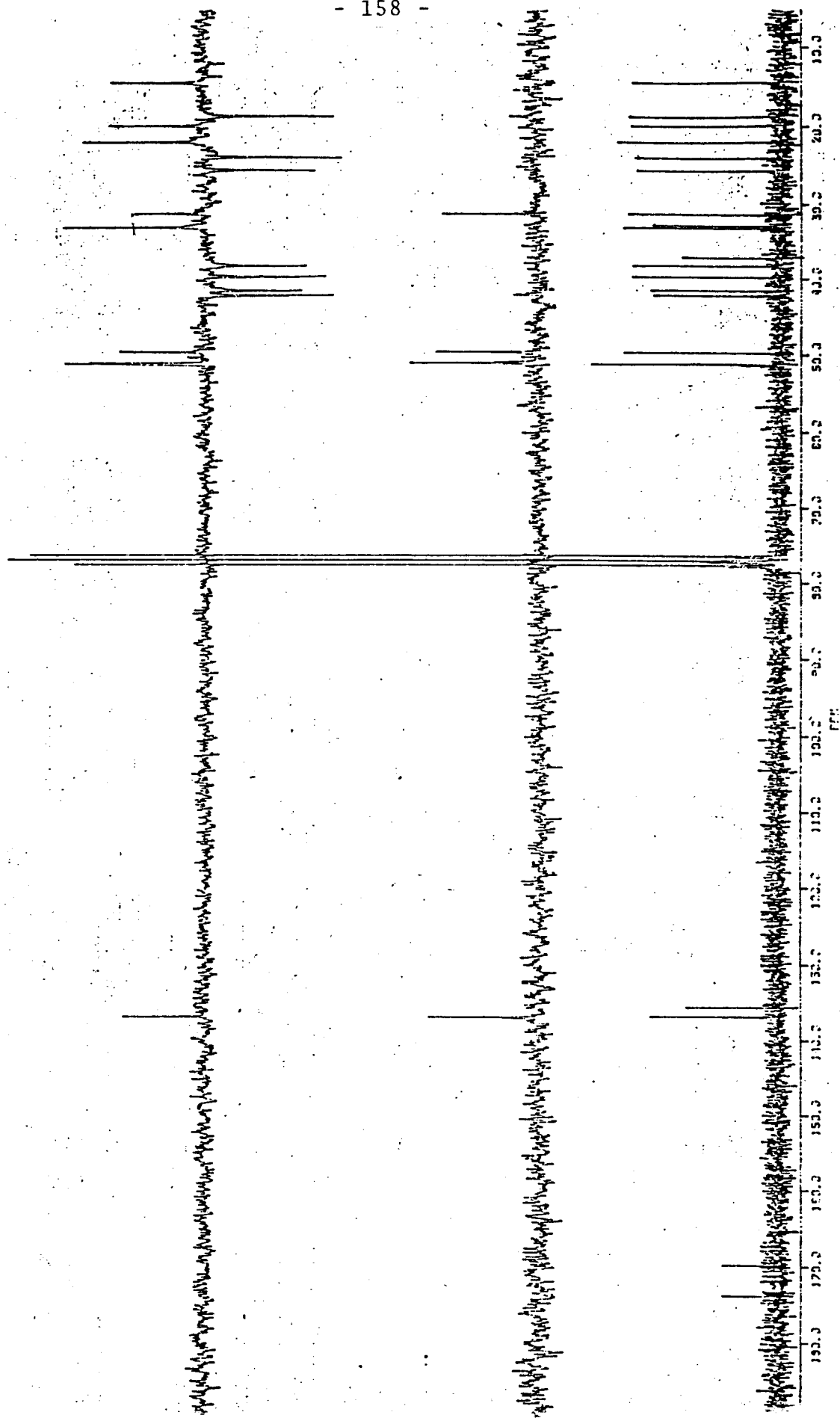


Figura 3.18 : RMN ^{13}C do 7-labden-15,17-dioato de metilo

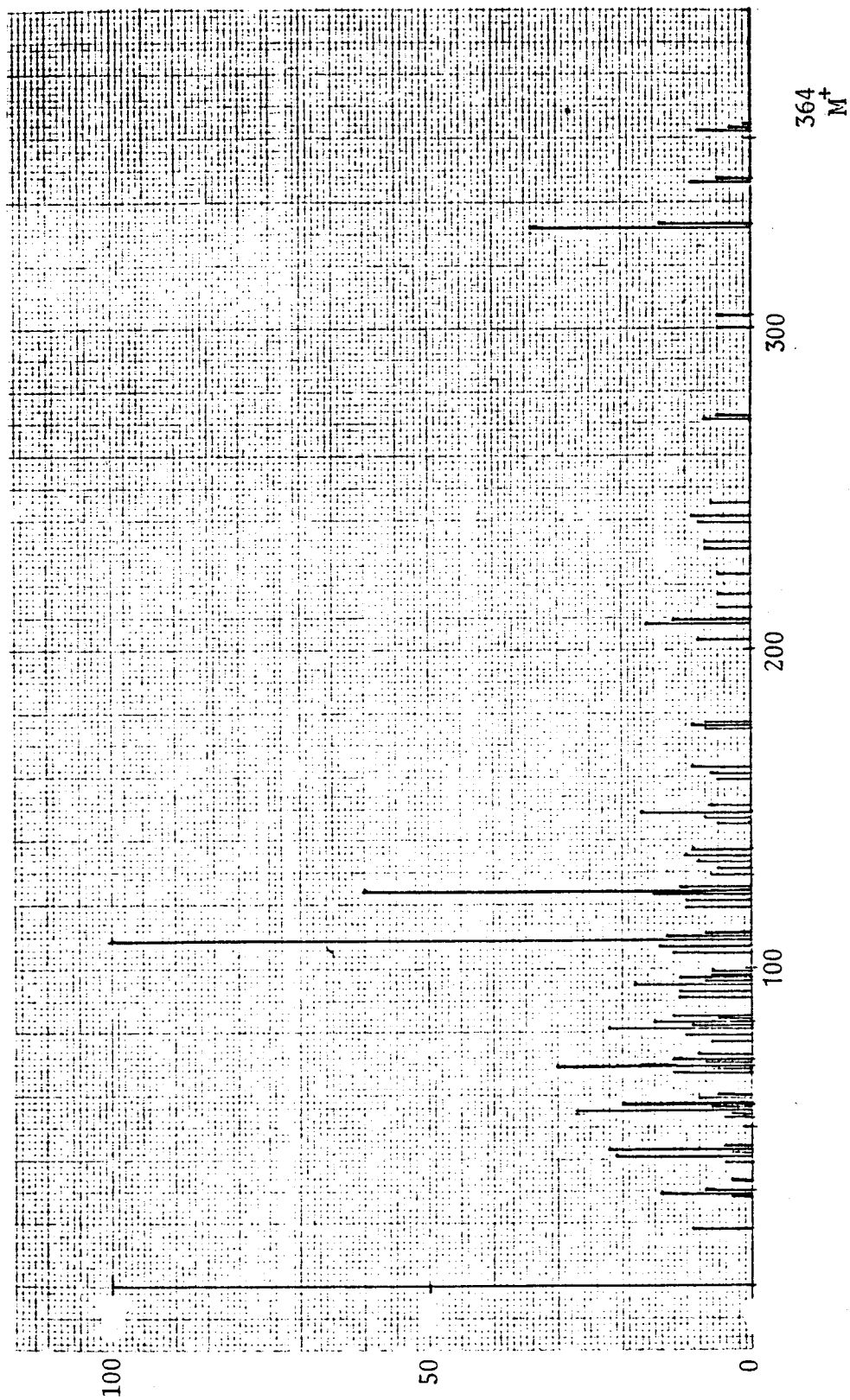


Figura 3.19 : EM do 7-iodoben-15,17-dioato de metilo

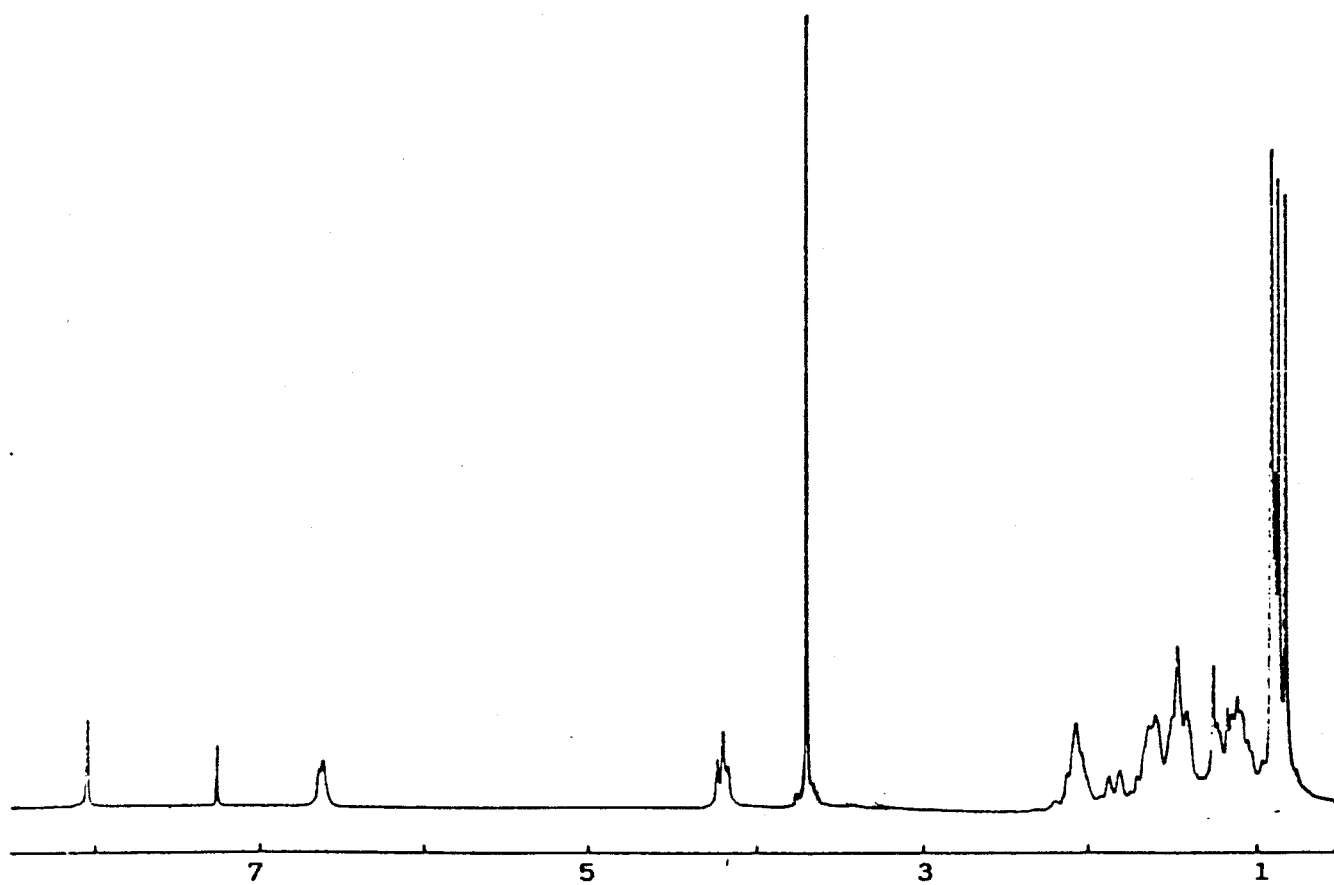
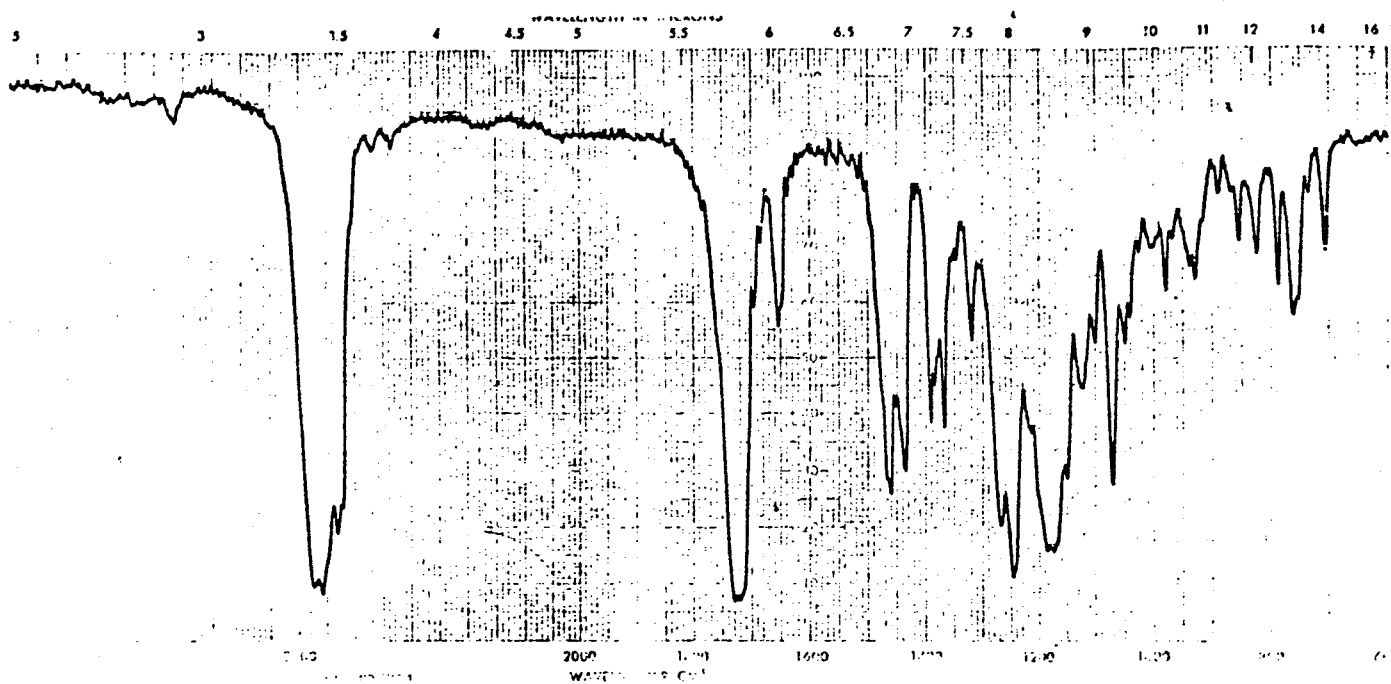


Figura 3.20 :IV e RMN ¹H do 15-formiloxi-7-labden-17-oato de metilo



Figura 3.21 : RMN ^{13}C do 15-formiloxi-7-labden-17-oato de metilo

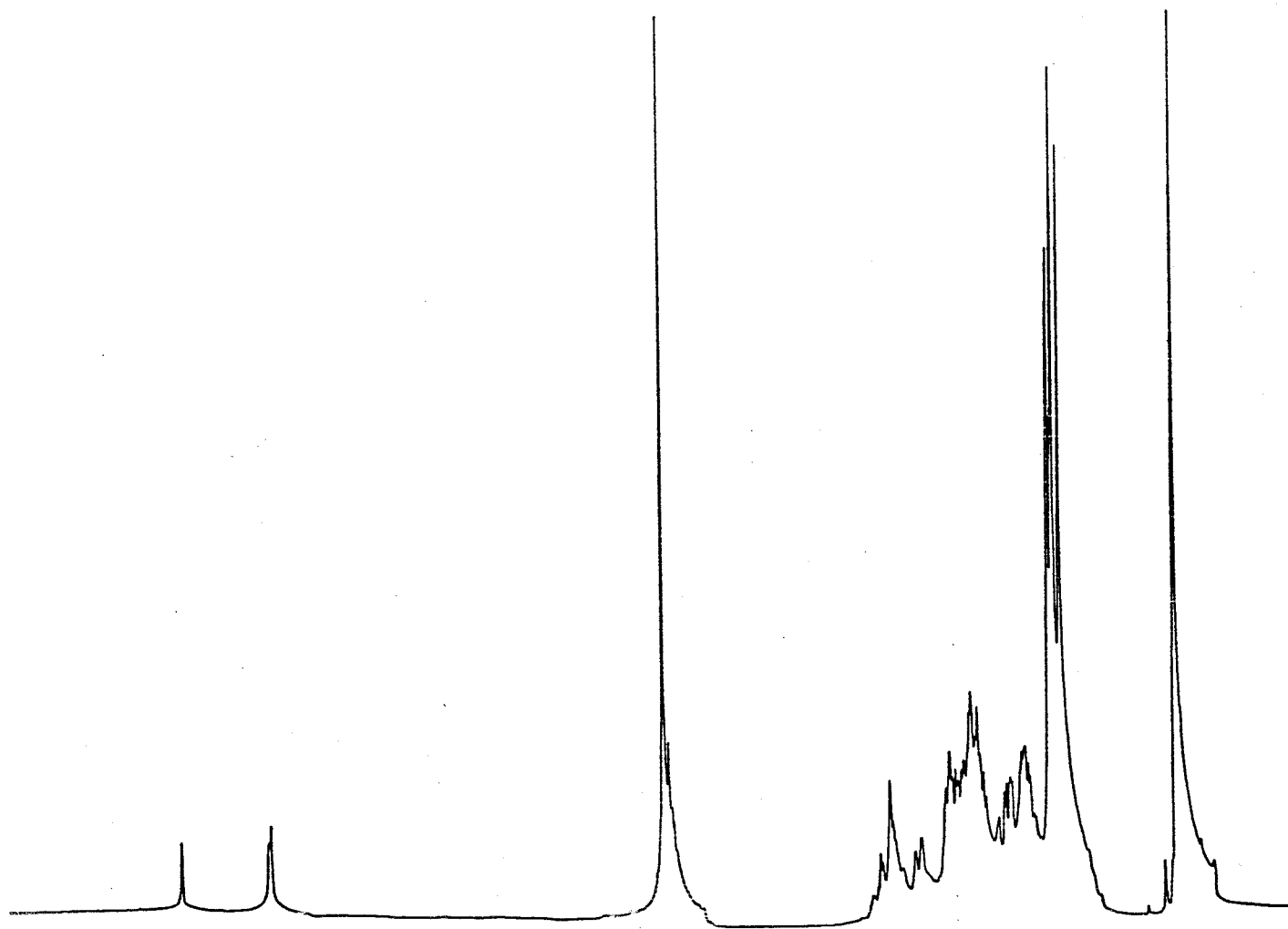
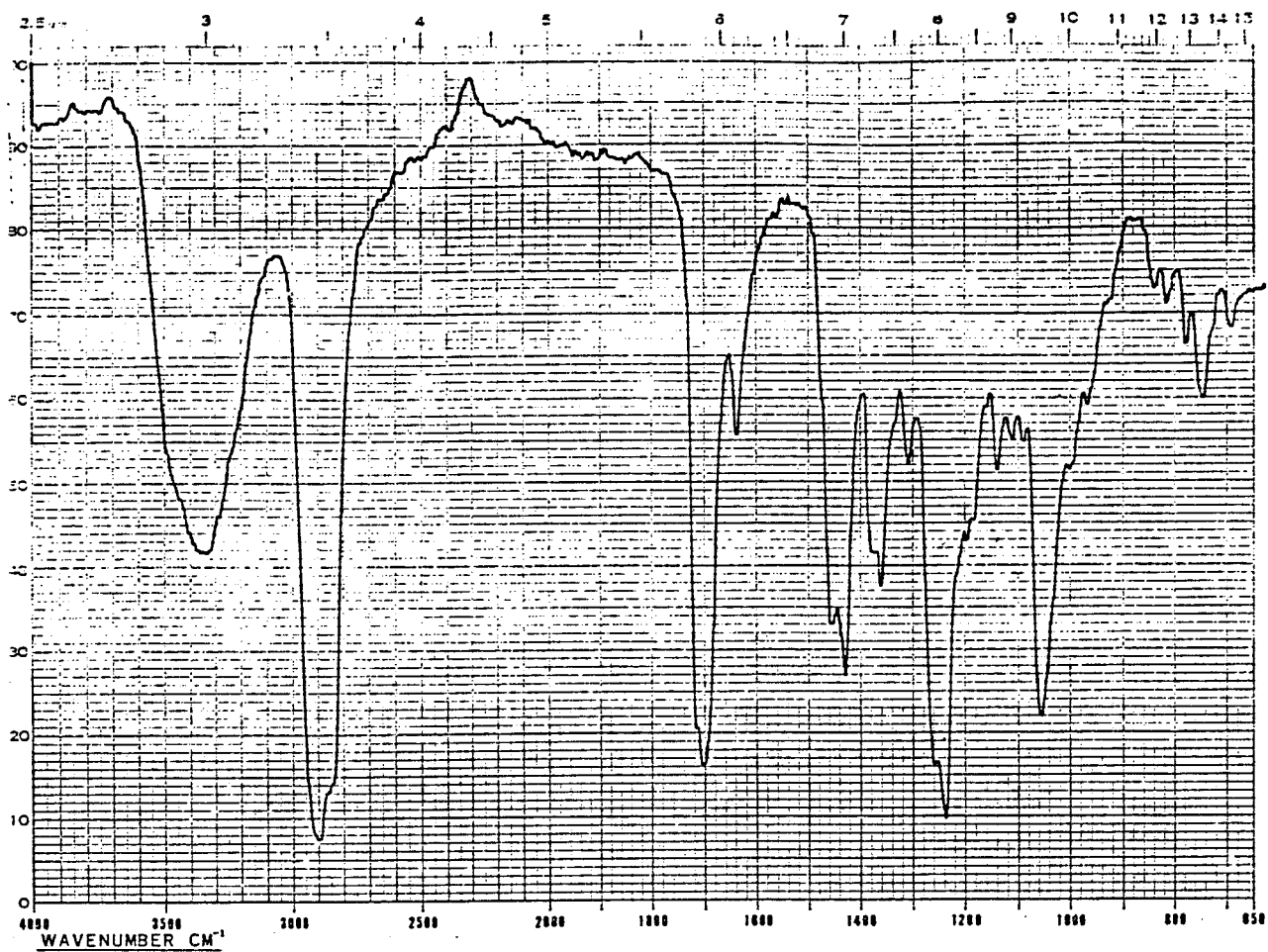


Figura 3.22 : IV e RMN ¹H do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

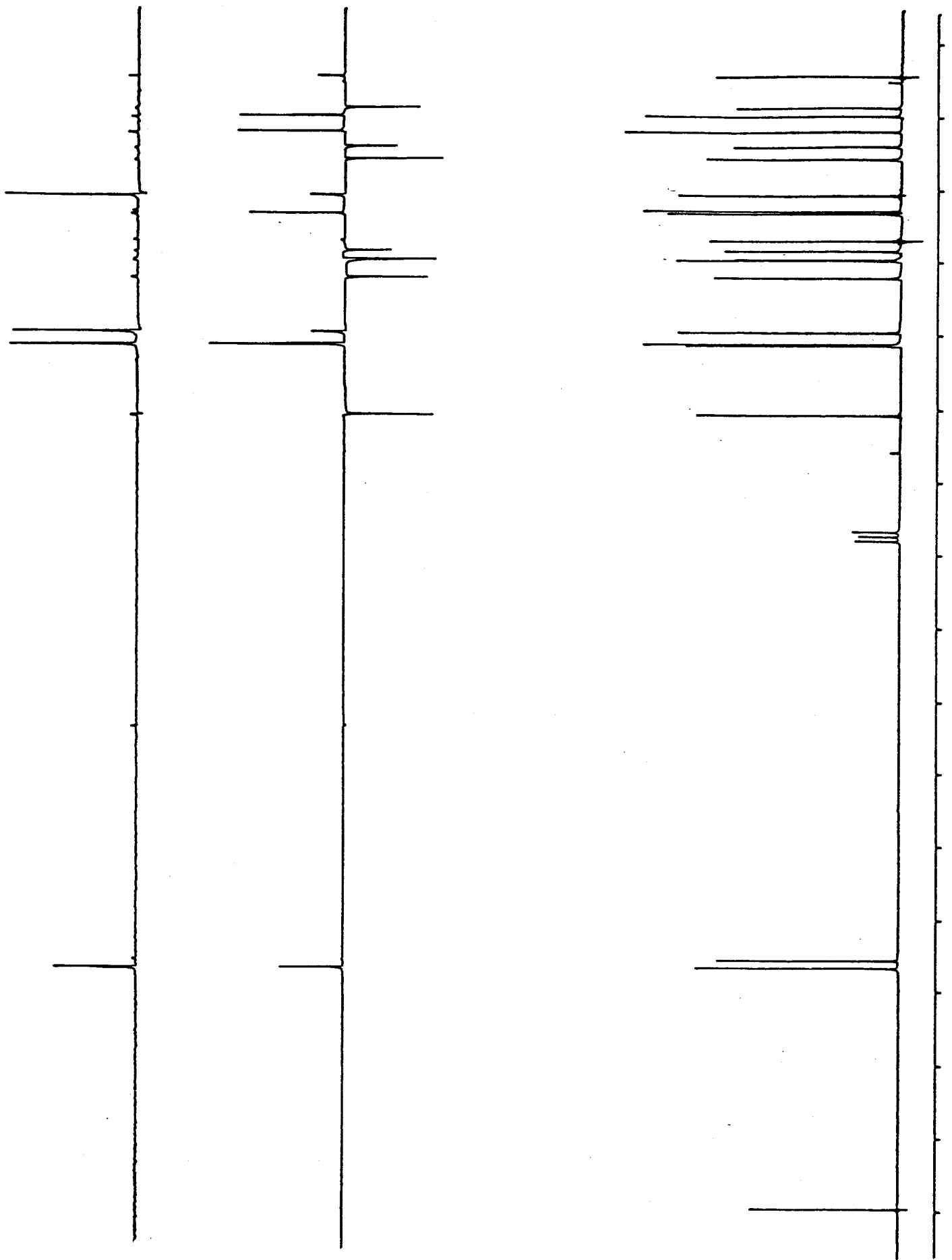
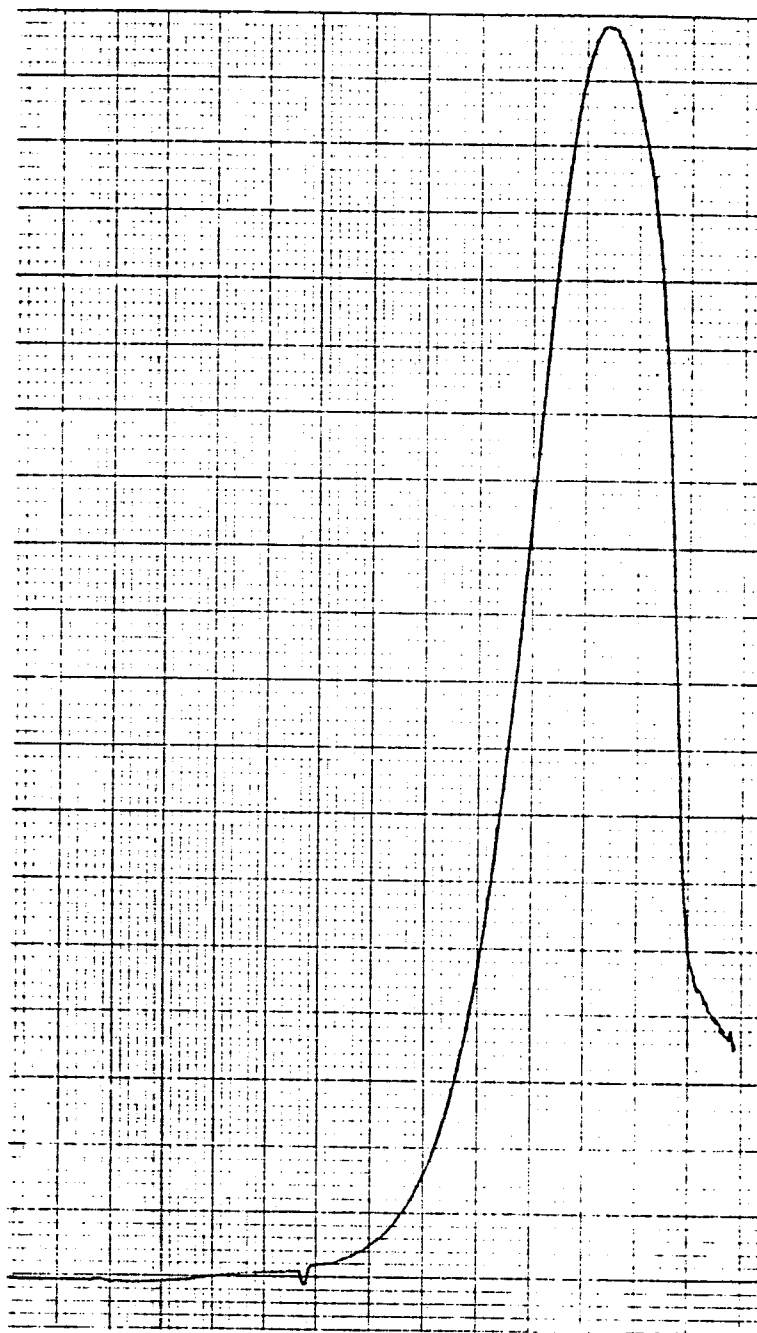


Figura 3.23 : RMN ^{13}C do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo



216

Figura 3.24 : UV do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

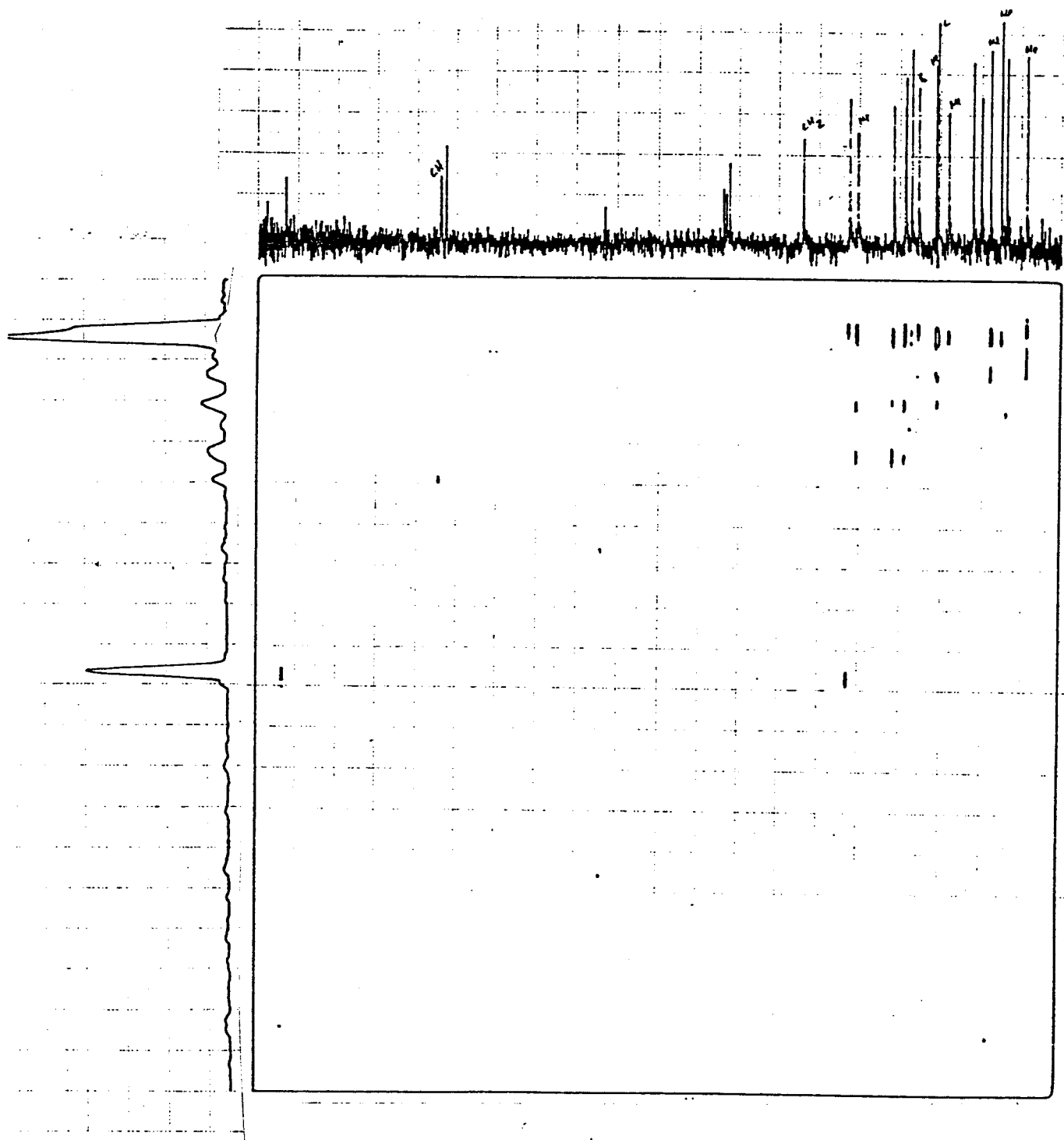


Figura 3.25 : HCCORR, bidimensional $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$, do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

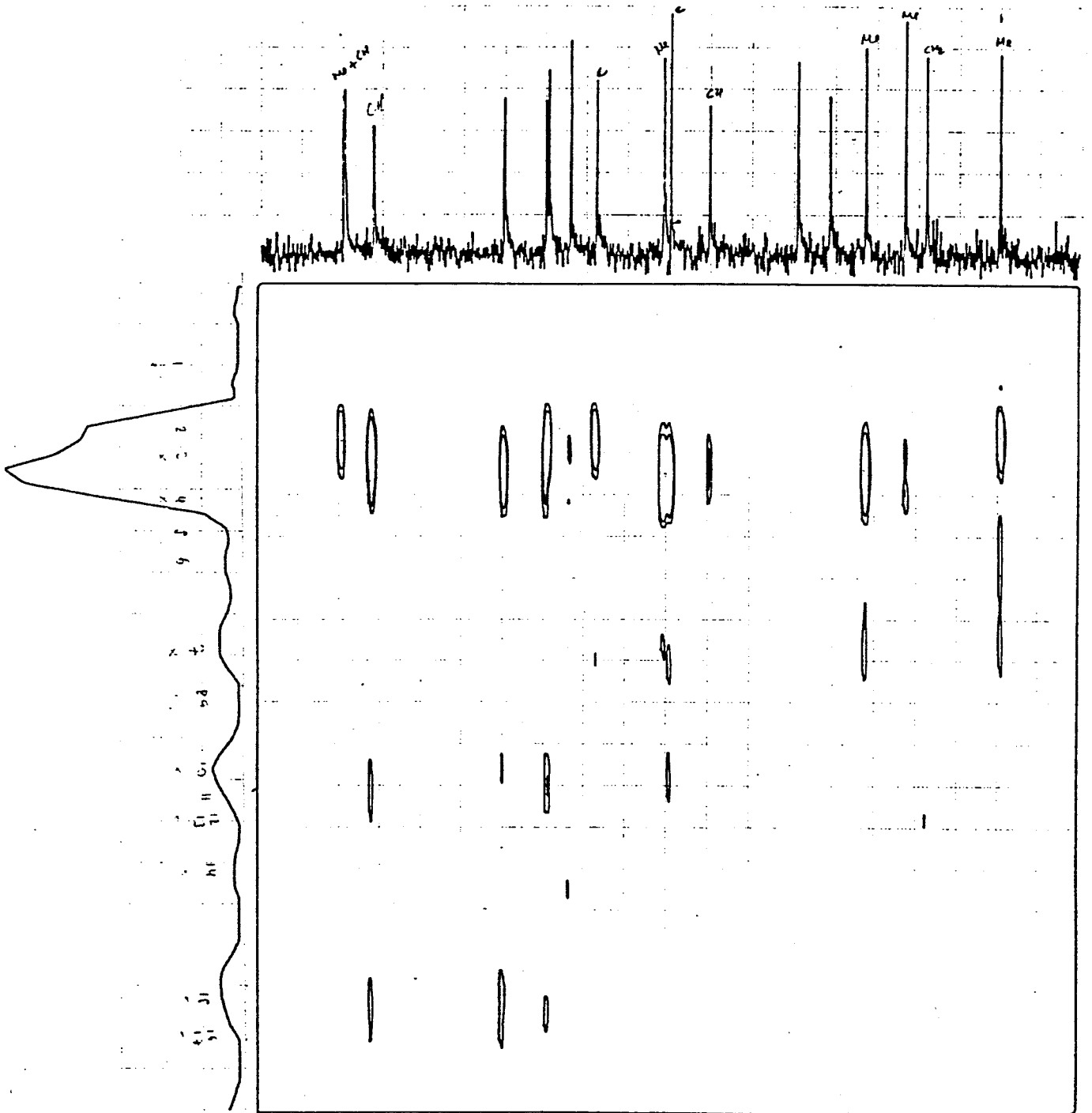


Figura 3.26 : HCCORR, bidimensional $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$, do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

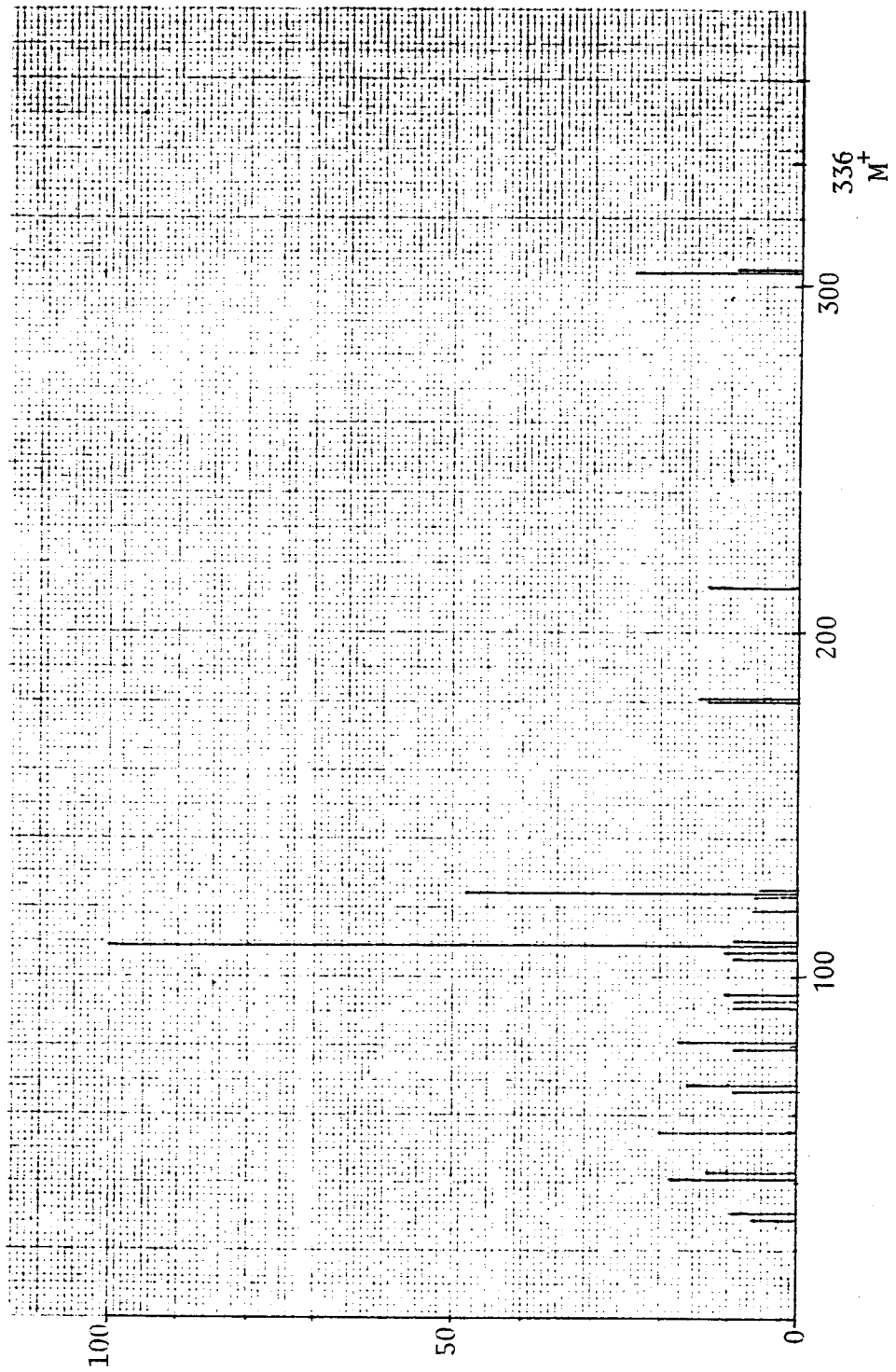


Figura 3.27 : EM do 15-hidroxi-7-labden-17-oato de metilo

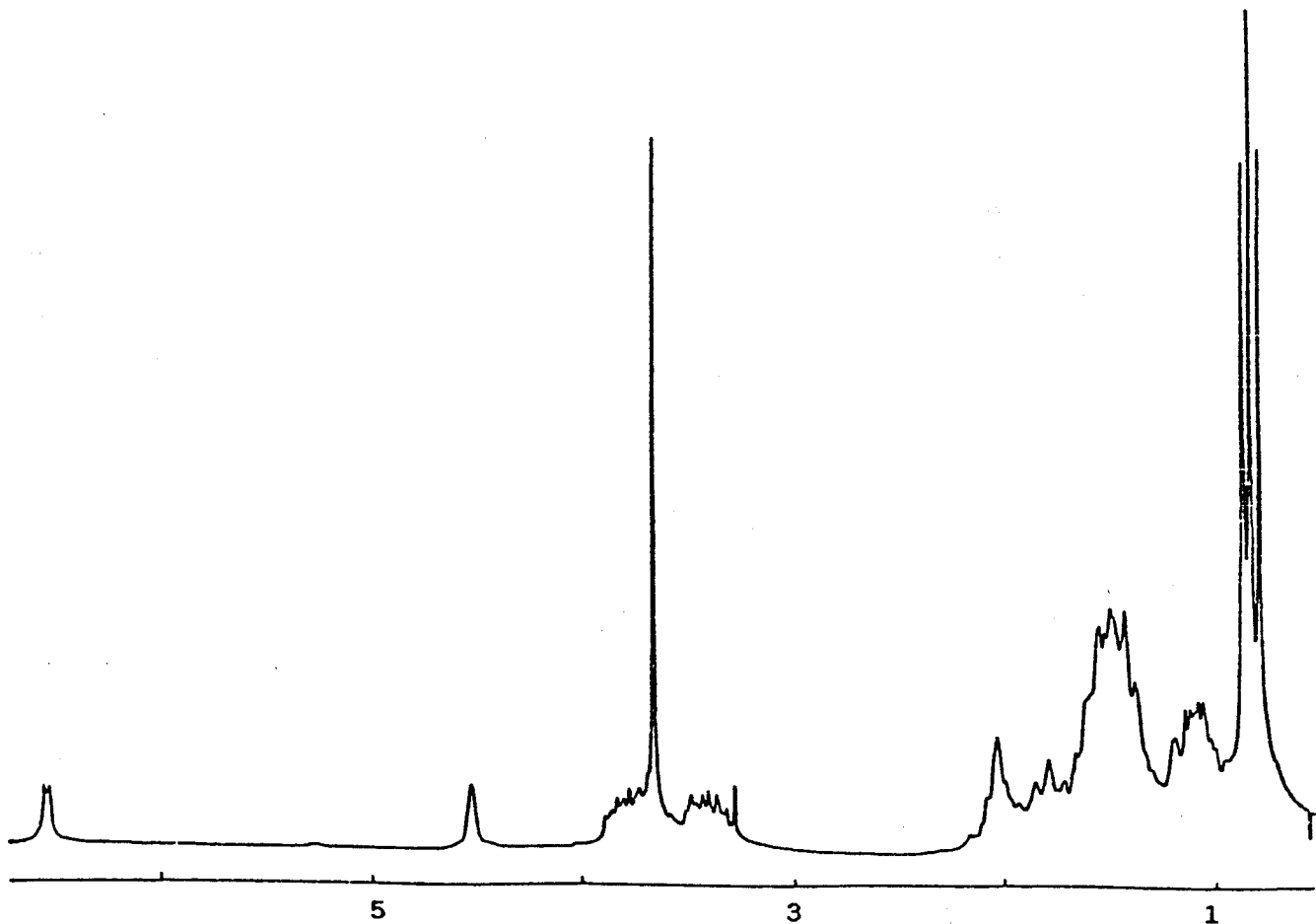
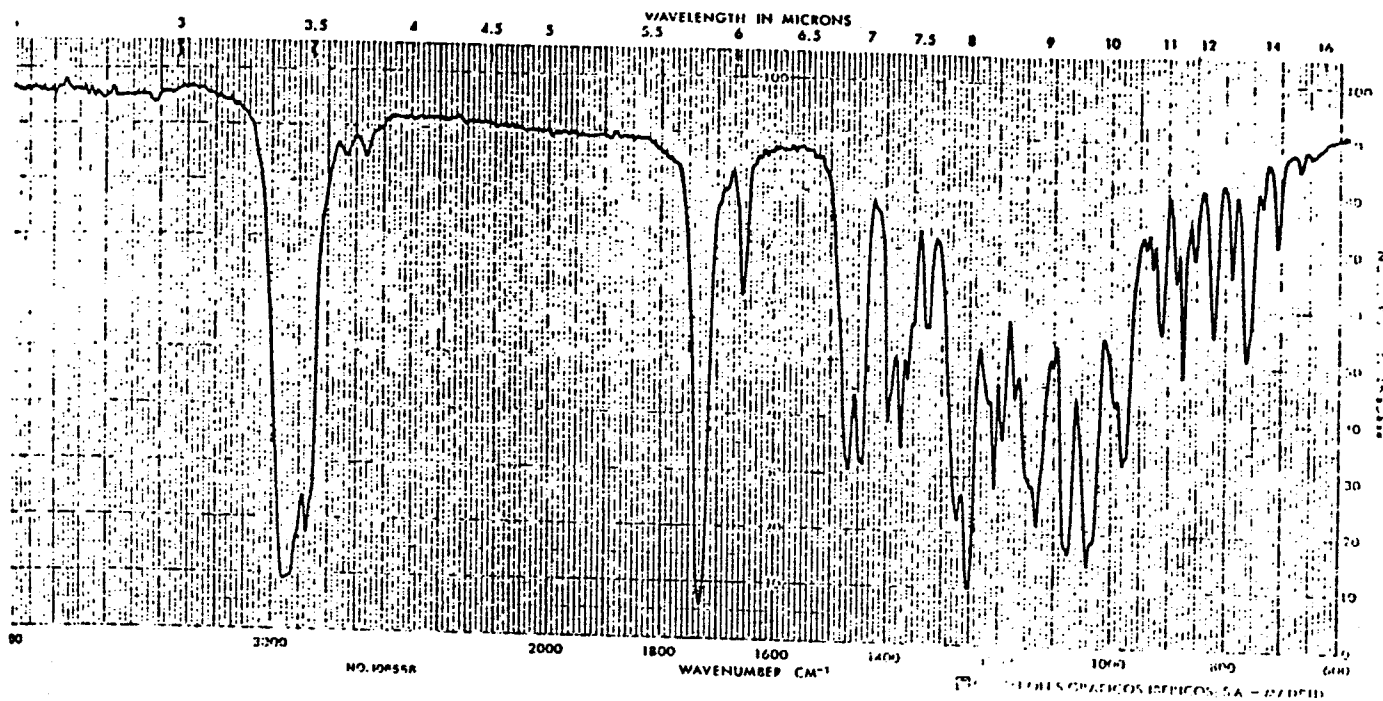


Figura 3.28 : IV e RMN ¹H do 15-tetrahidropirani-7-oxi-17-oato de metilo

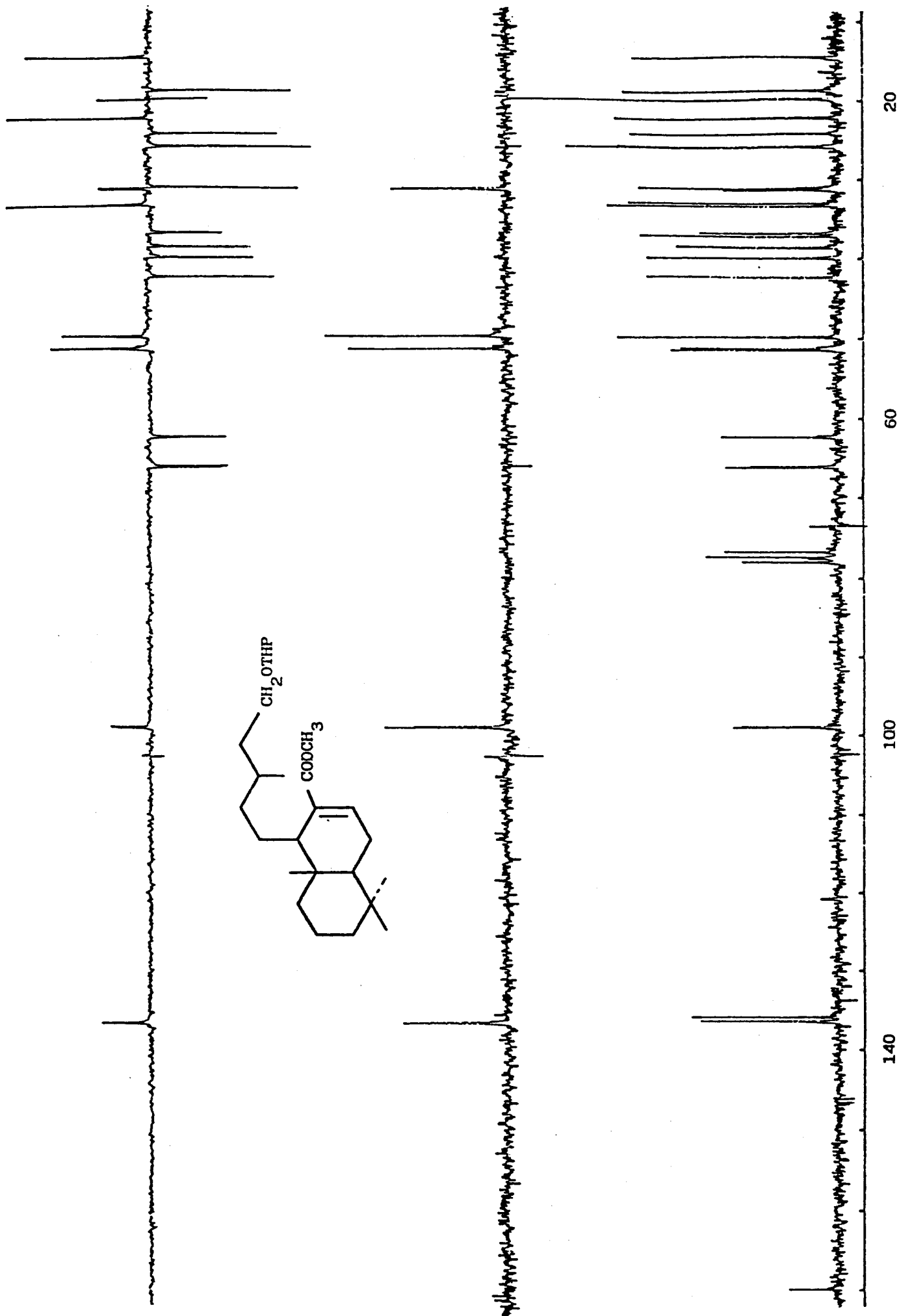


Figura 3.29 : RMN ^{13}C do 15-tetrahidropirani-7-oxi-17-metil-7-labden-17-oato de metilo

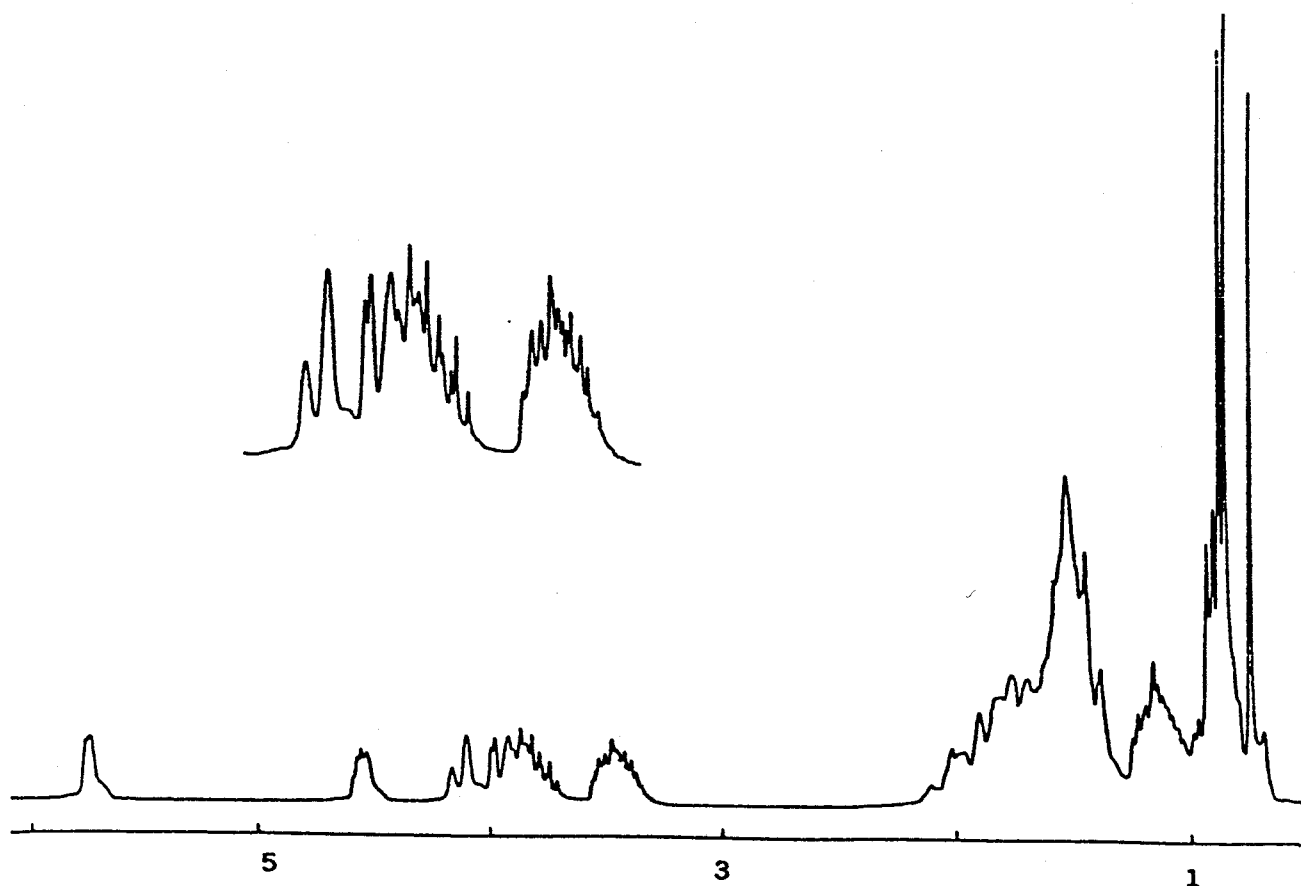
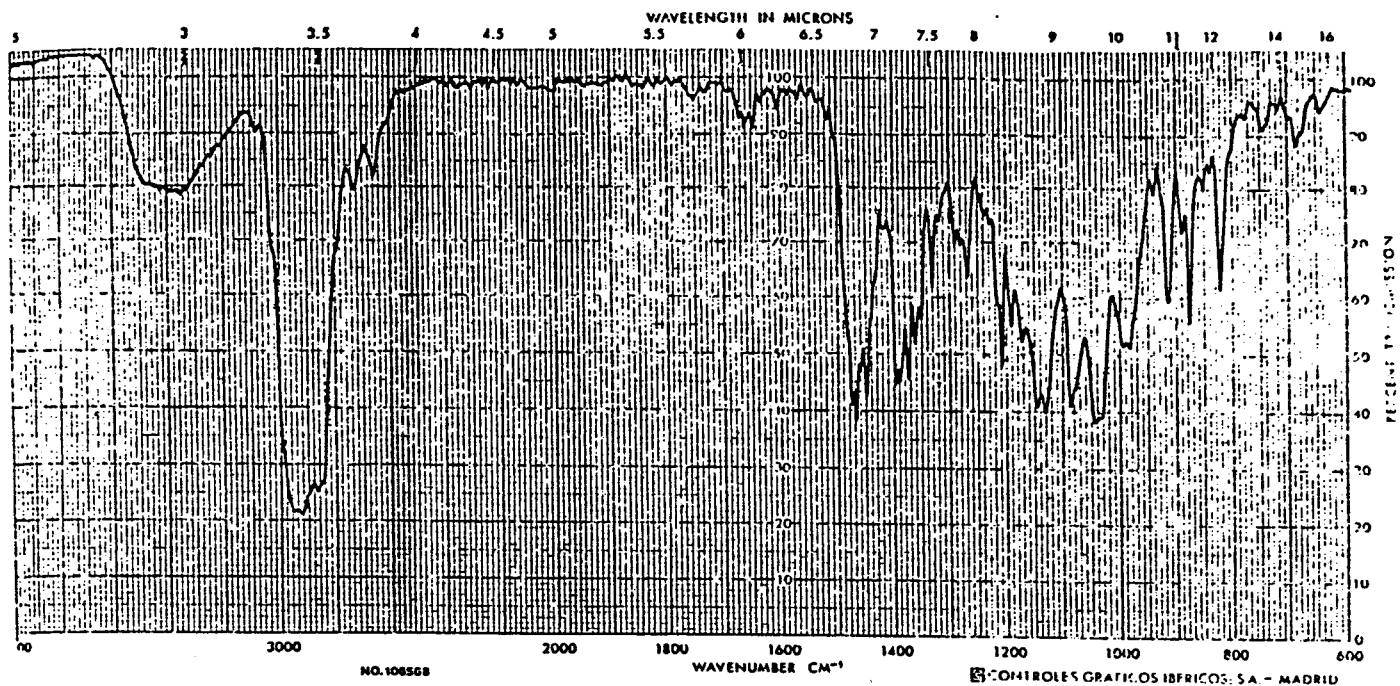


Figura 3.30 : IV e RMN ¹H do 15-tetrahidropirani-oxi-17-hidroxi-7-labdeno

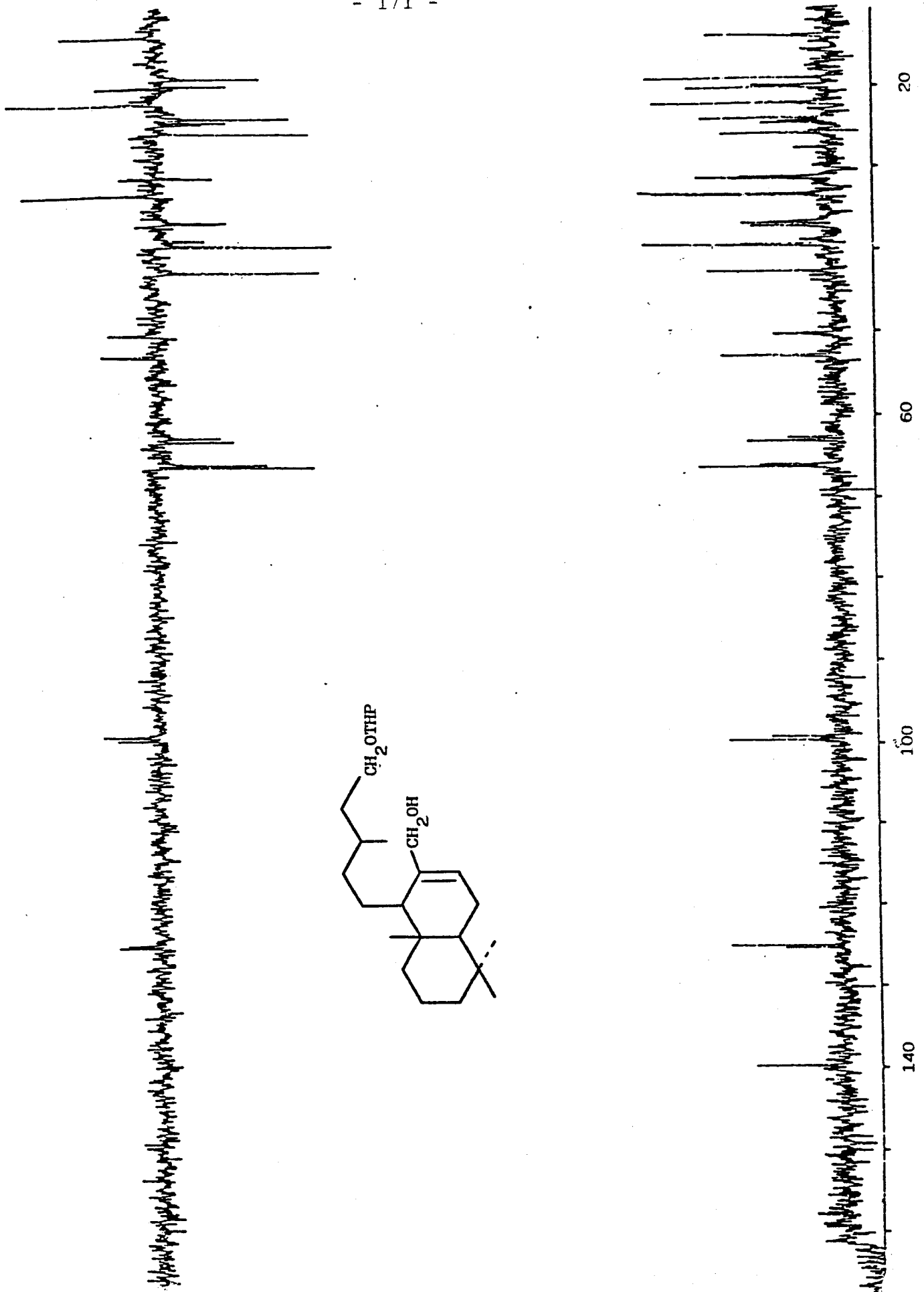


Figura 3.31 : RMN ^{13}C do 15-tetrahydropirani-17-hidroxi-7-labdeno

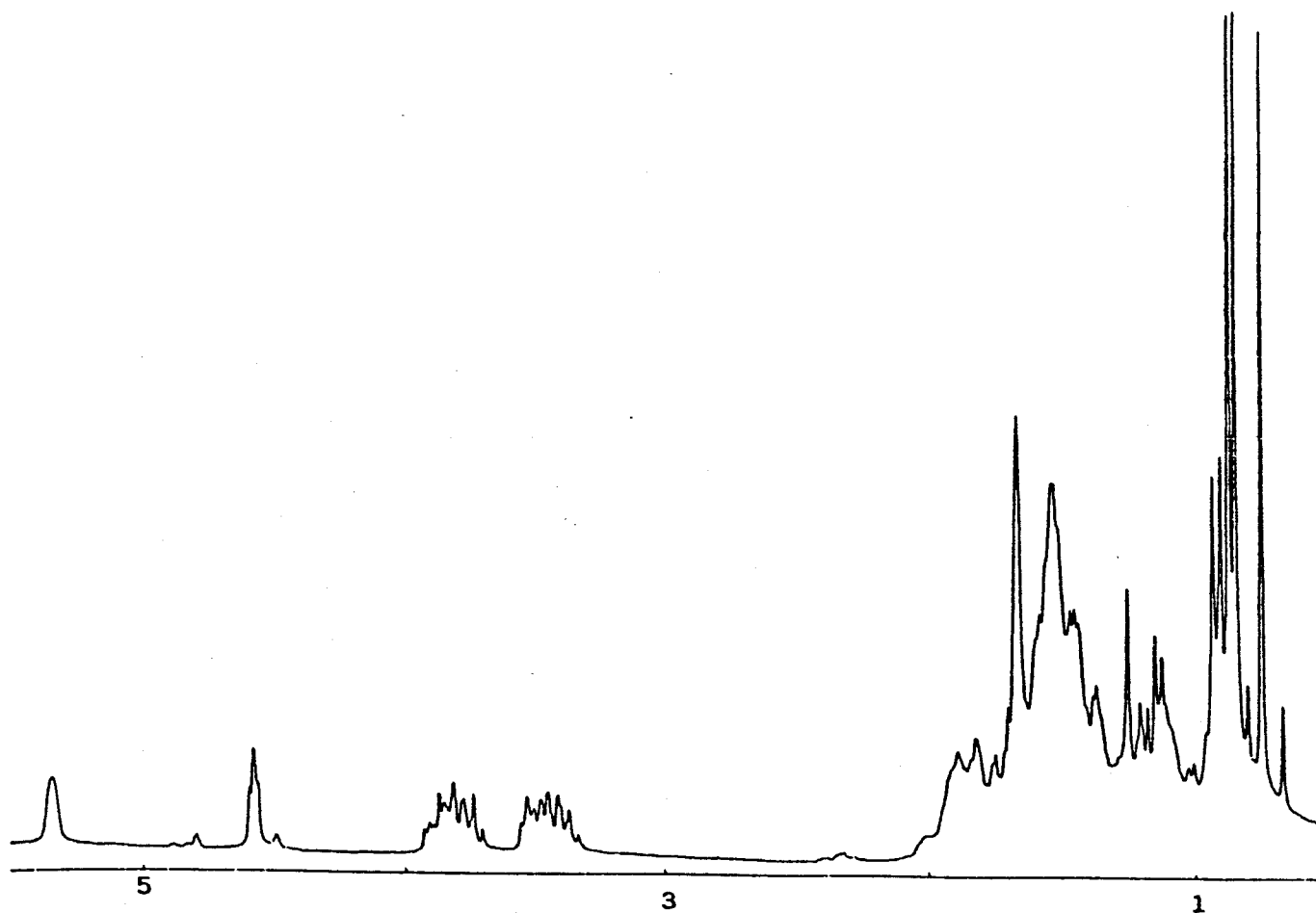
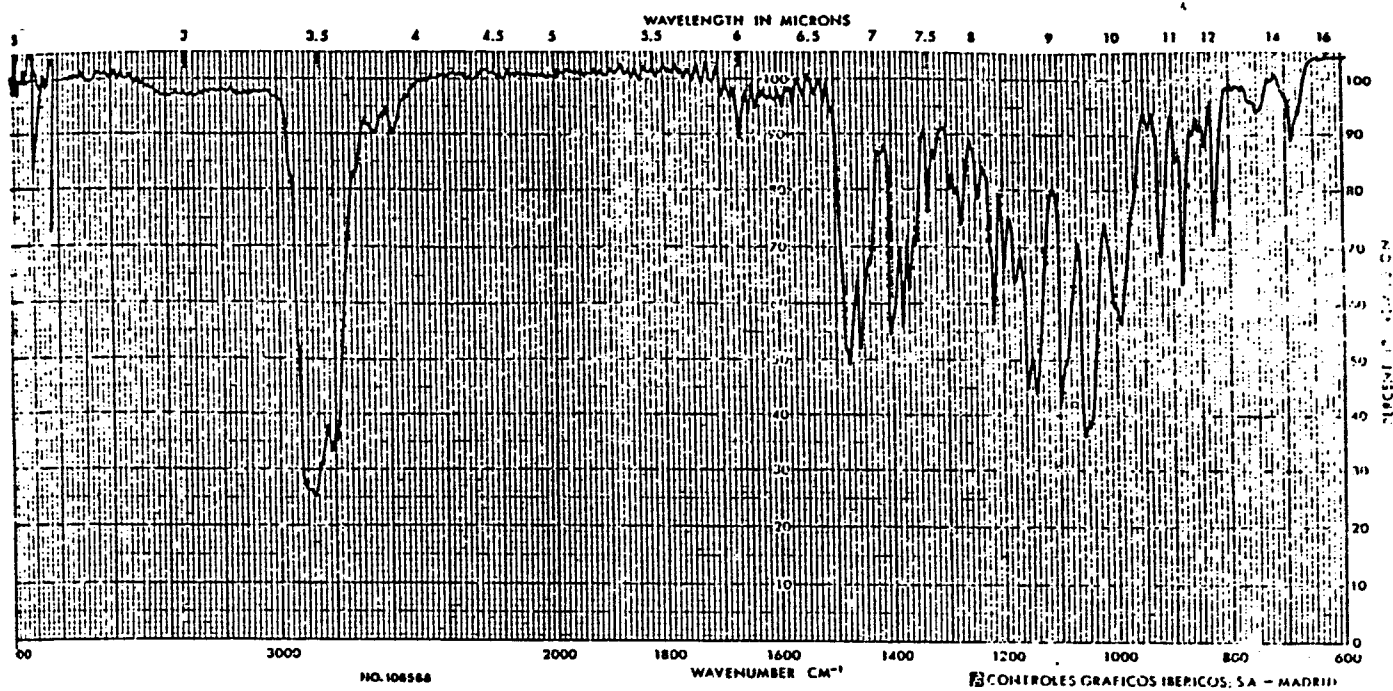


Figura 3.32 : IV e RMN ¹H do 15-tetrahidropirani-7-óxido

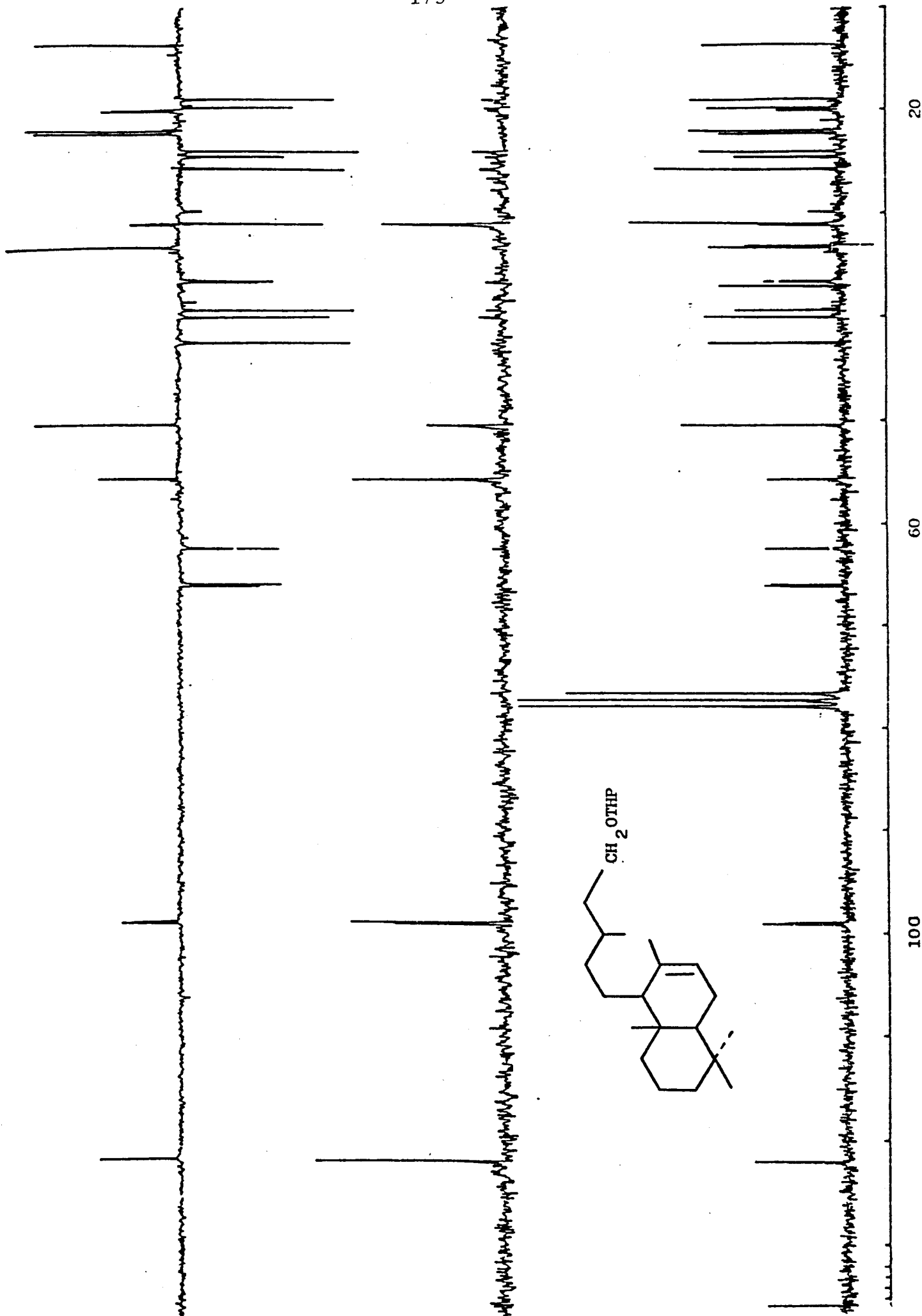


Figura 3.33 : RMN ^{13}C do 15-tetrahidropirani-7-labdene

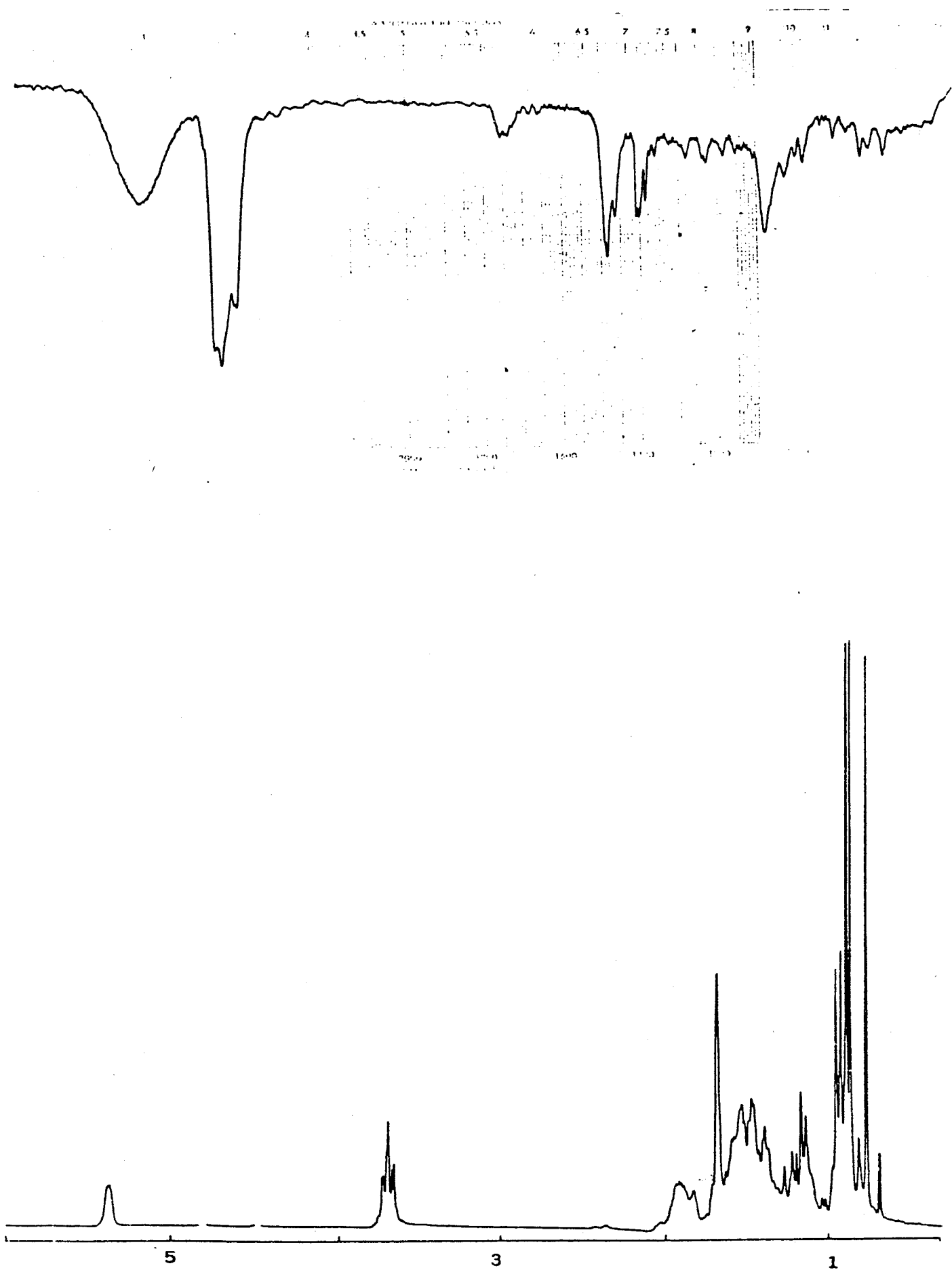


Figura 3.34 : IR e RMN ¹H do 15-hidroxi-7-labdeno (cativol)

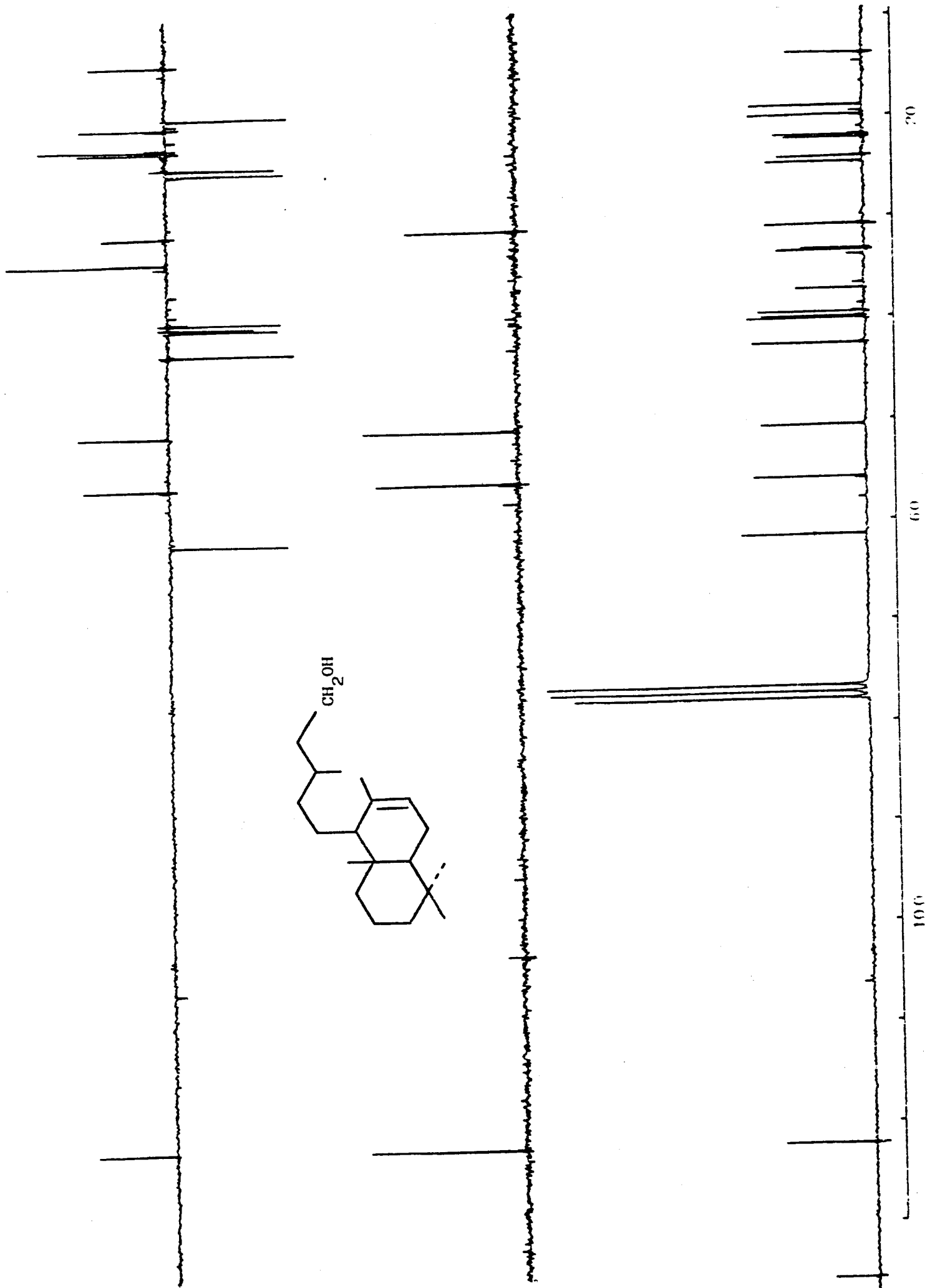


Figura 3.35 : RMN ^{13}C do 15-hidroxi-7-labdene (cativol)

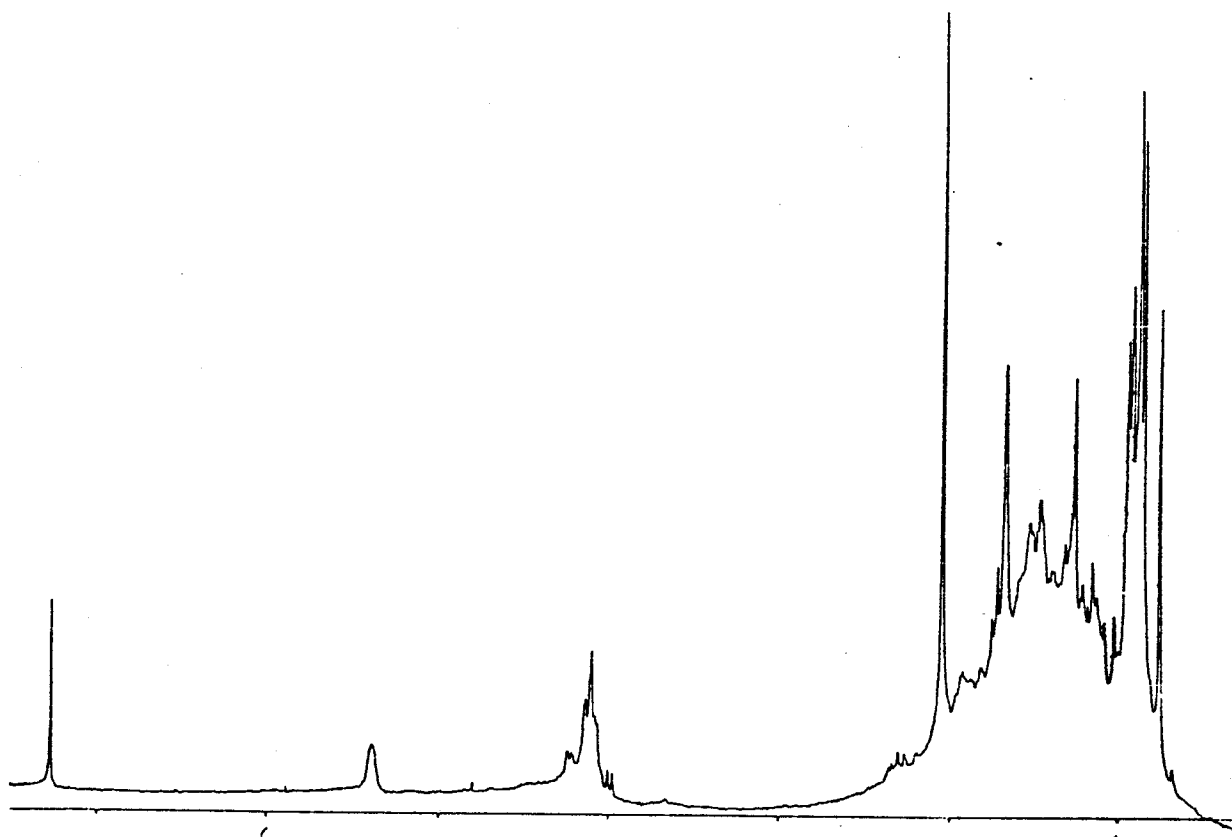
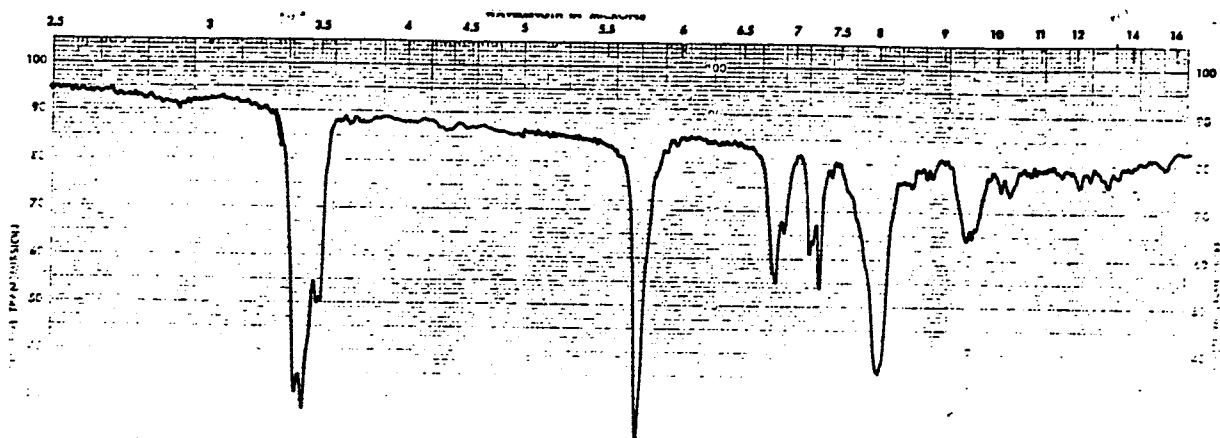


Figura 3.36 : IV e RMN ¹H do 15-acetoxi-7-labdeno

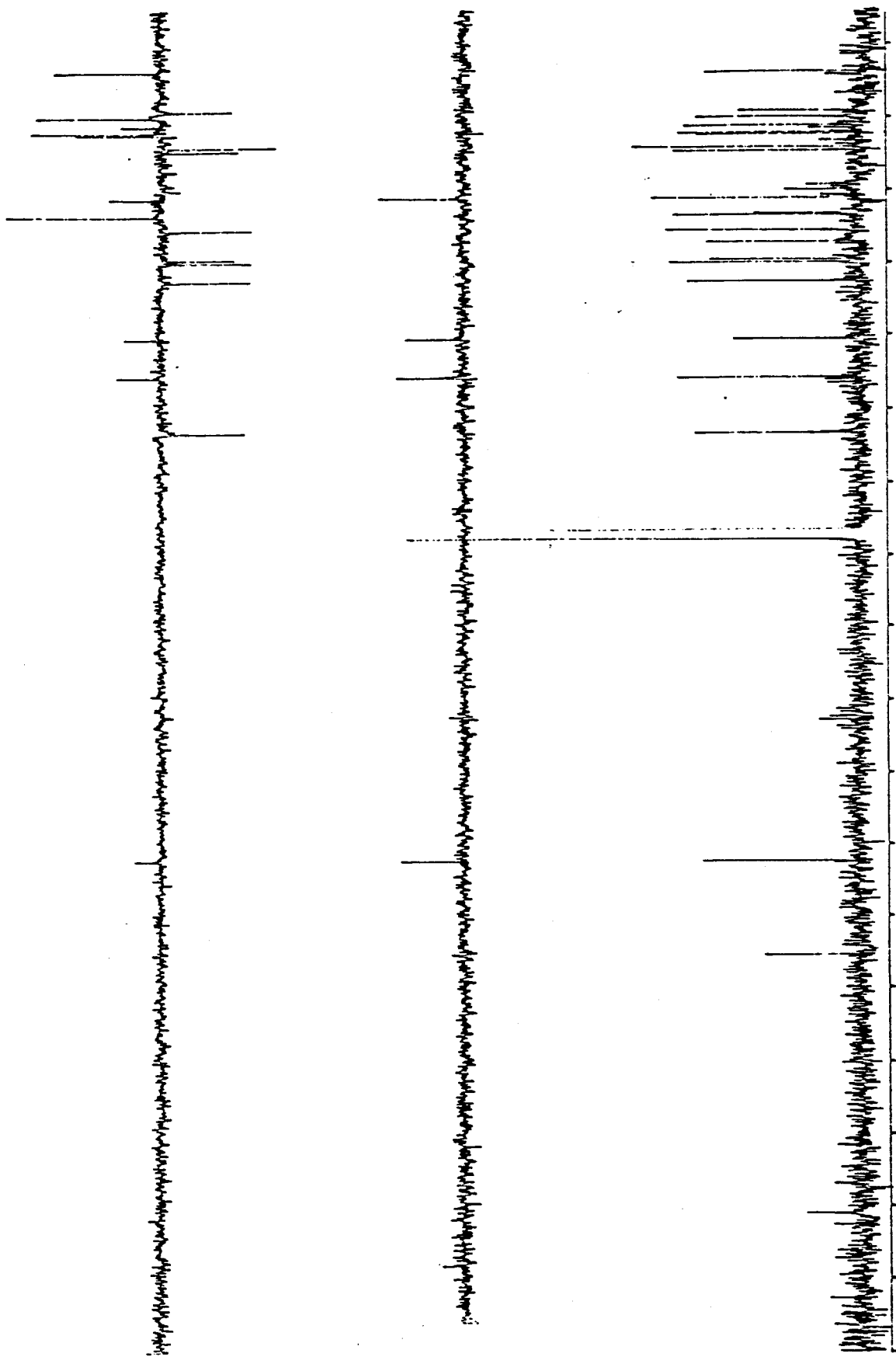


Figura 3.37 : RMN ^{13}C do 15-acetoxi-7-labdeno

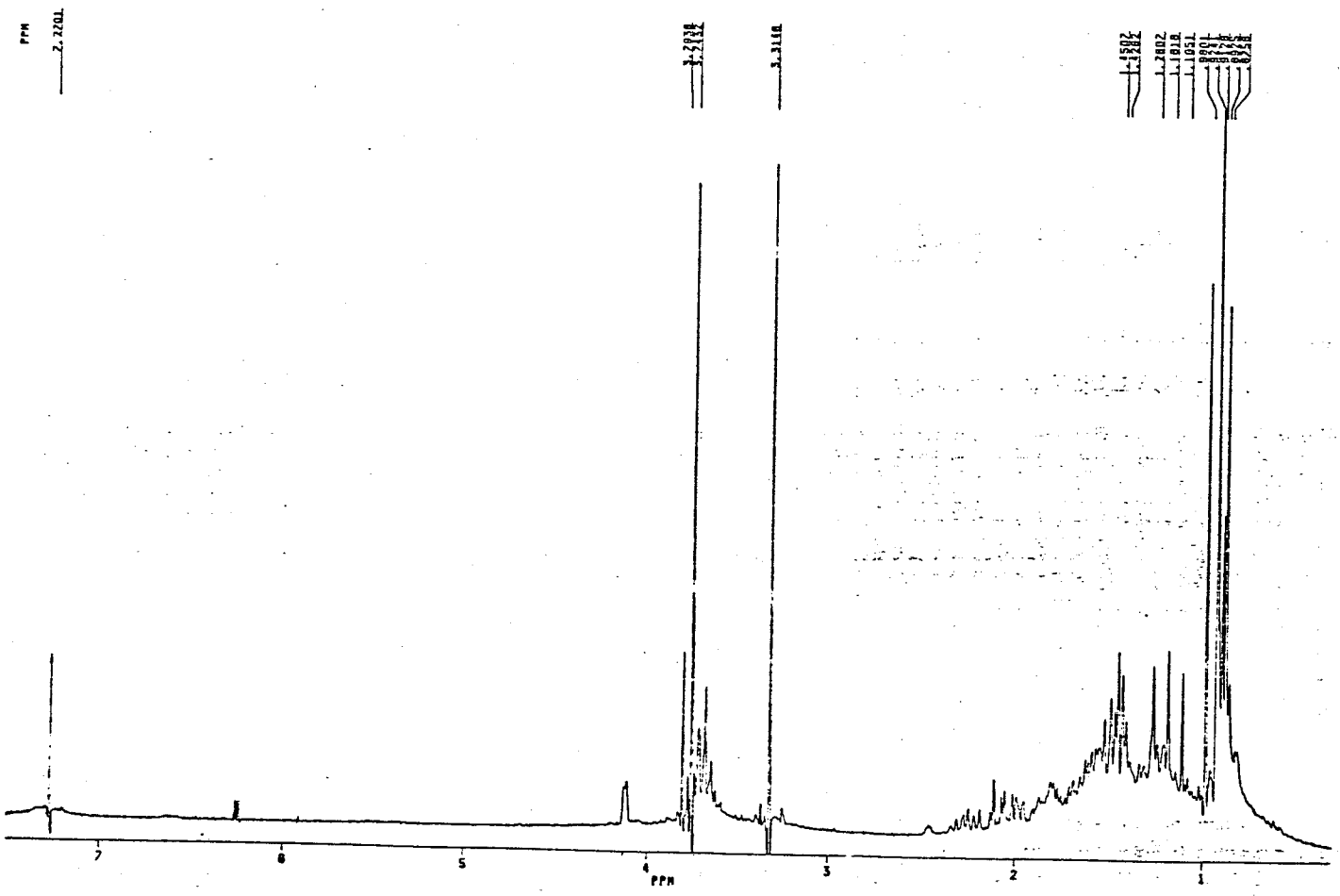
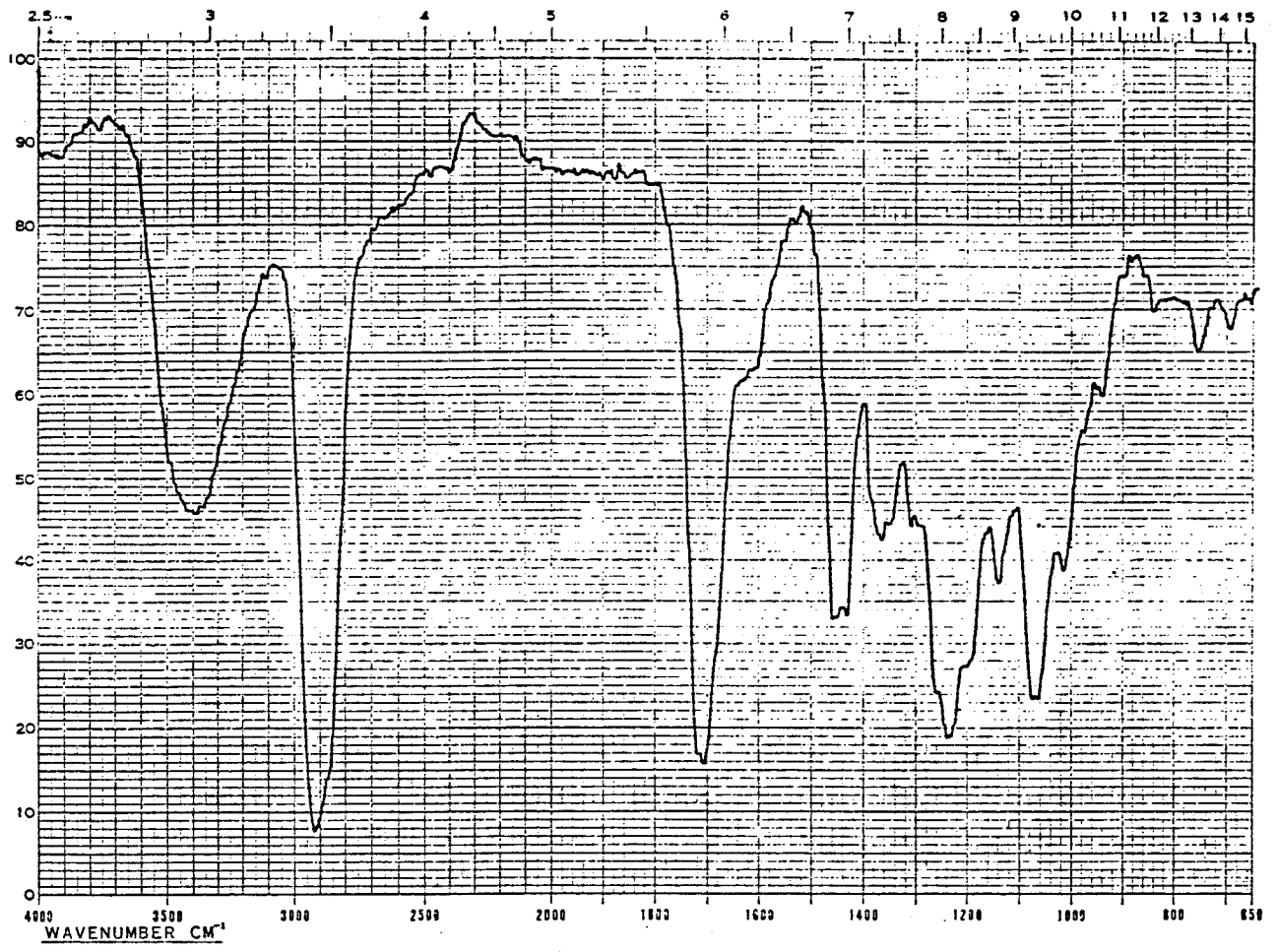


Figura 3.38 : IV e RMN ¹H do 15-hidroxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo

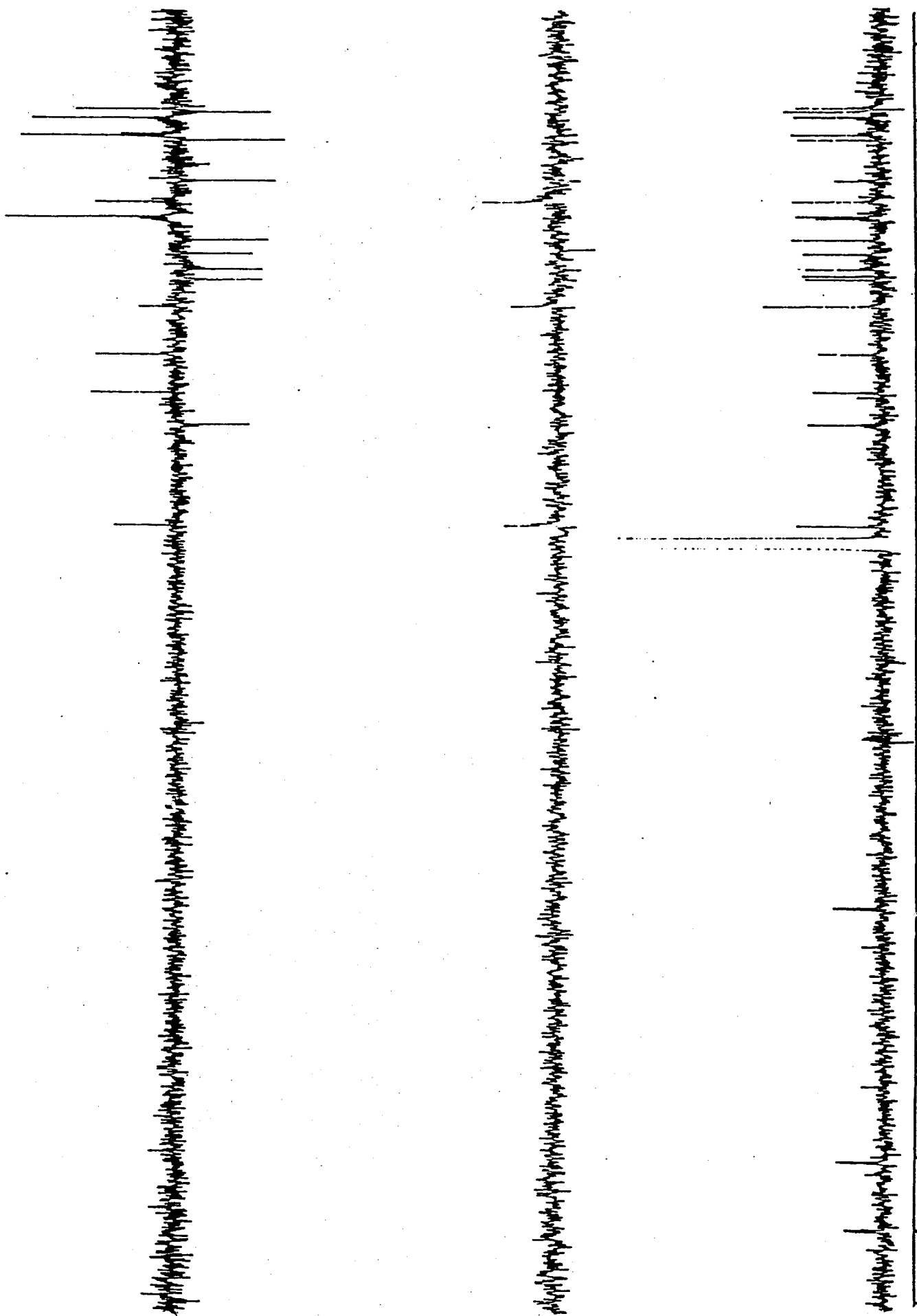


Figura 3.39 : RMN ^{13}C do 15-hidroxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo

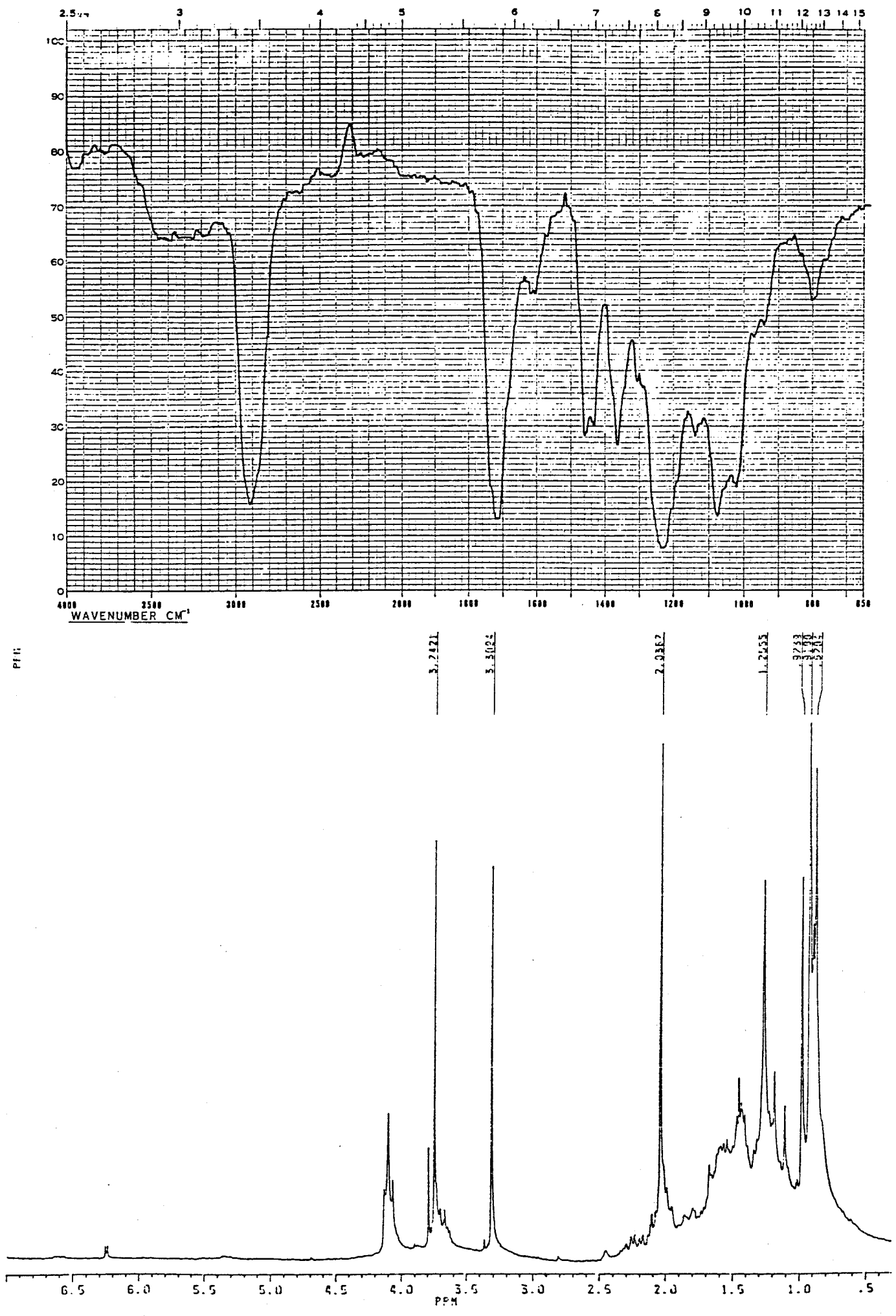
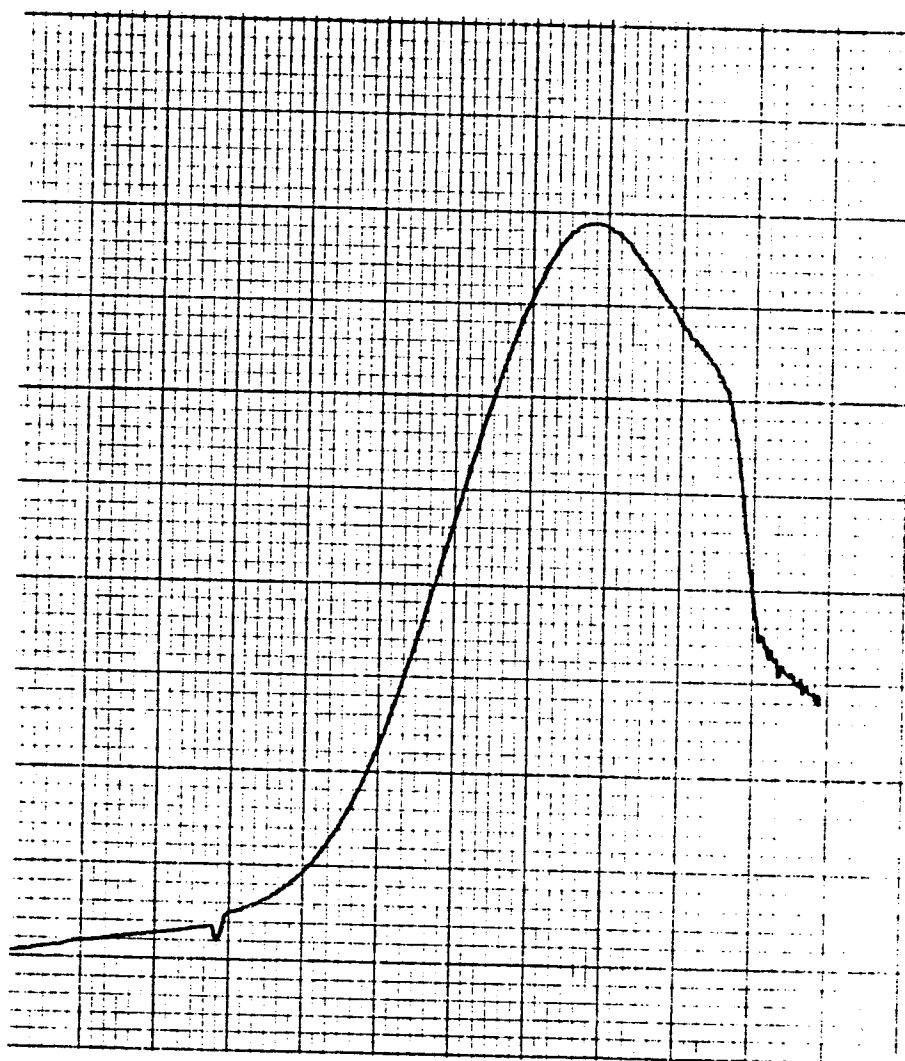


Figura 3.40 : IV e RMN ¹H do 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo



Figura 3.41 : RMN ^{13}C do 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo



222

Figura 3.42 : UV do 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo

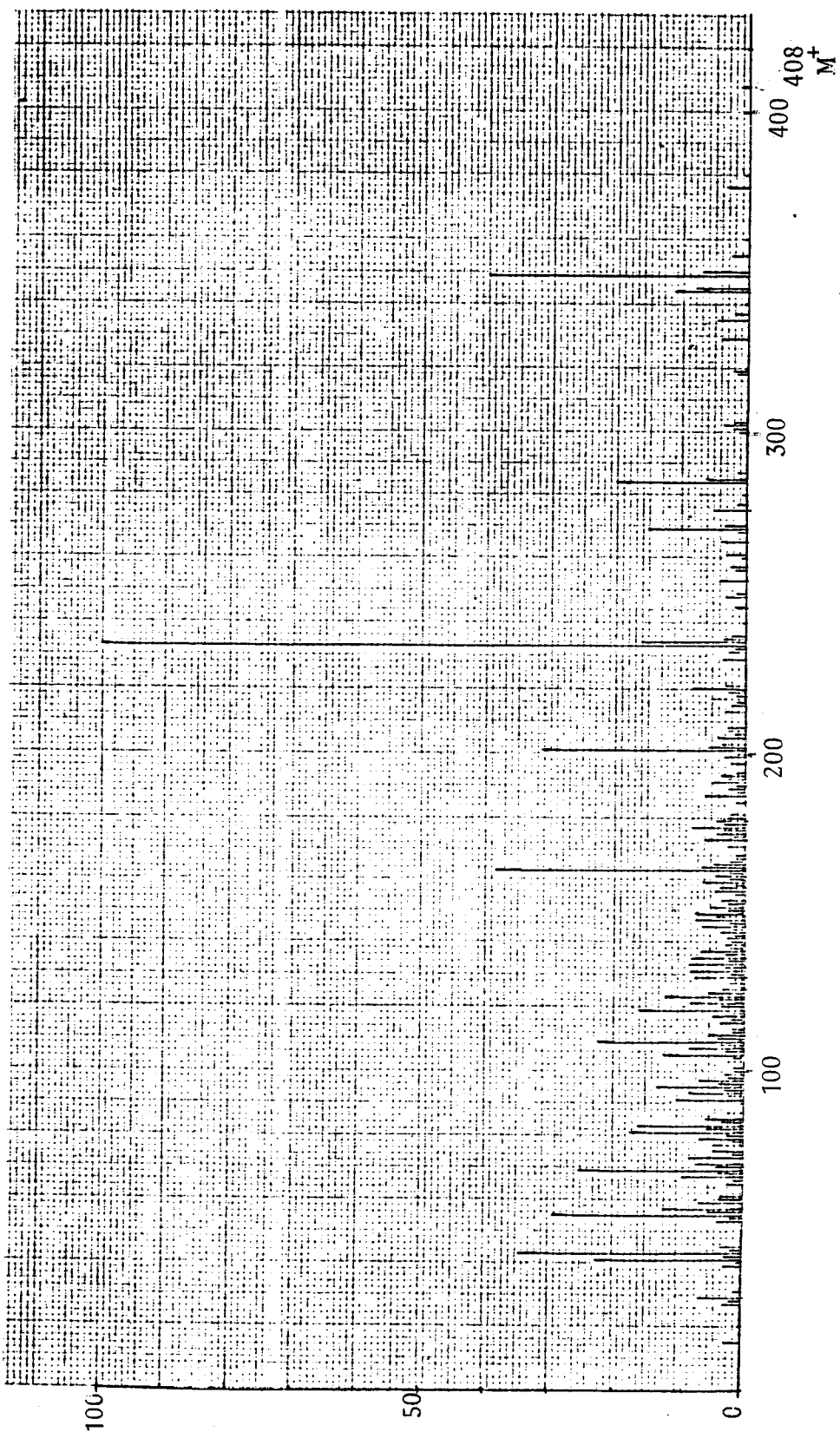


Figura 3.43 : EM do 15-acetoxi-7 α -metoxi-8-labden-17-oato de metilo

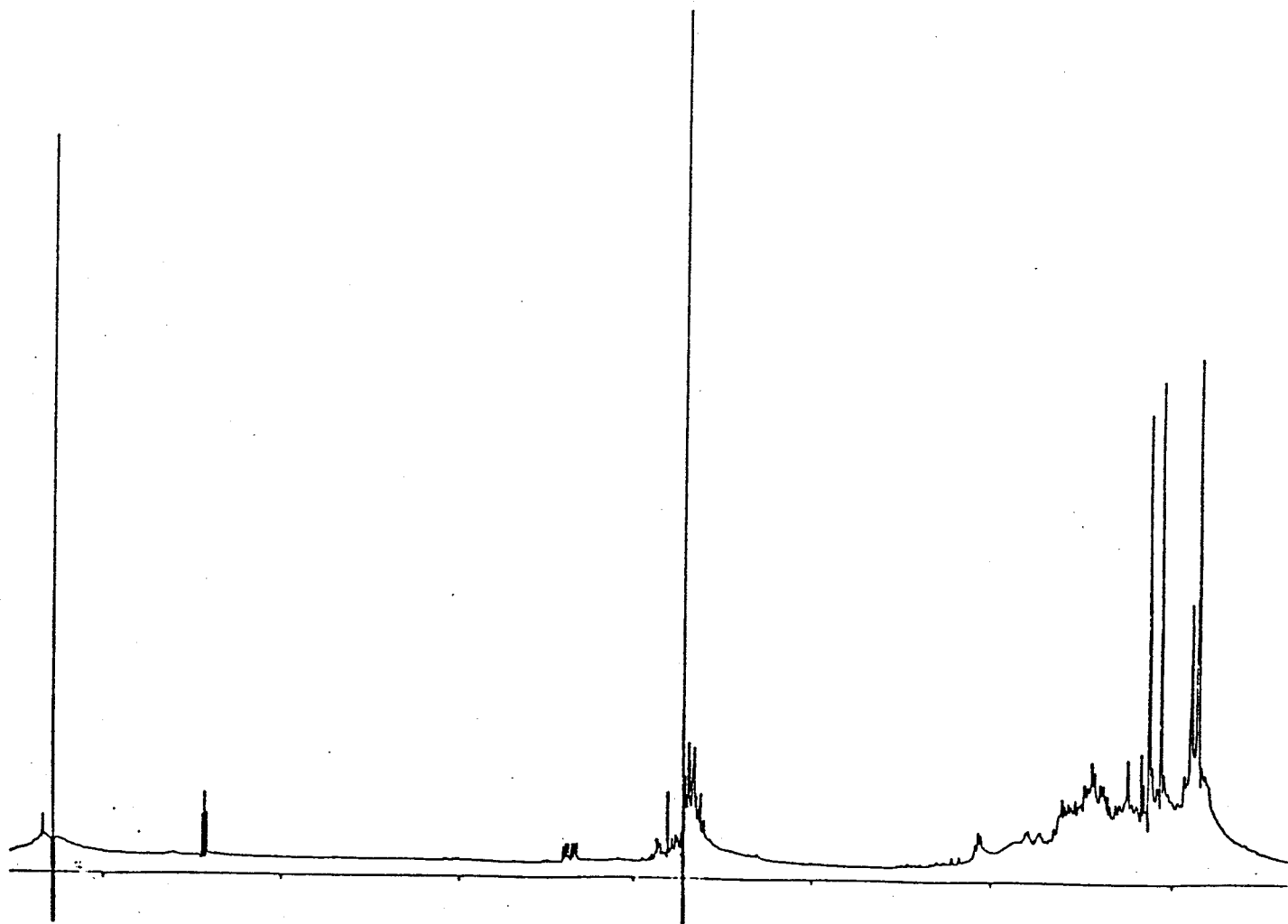
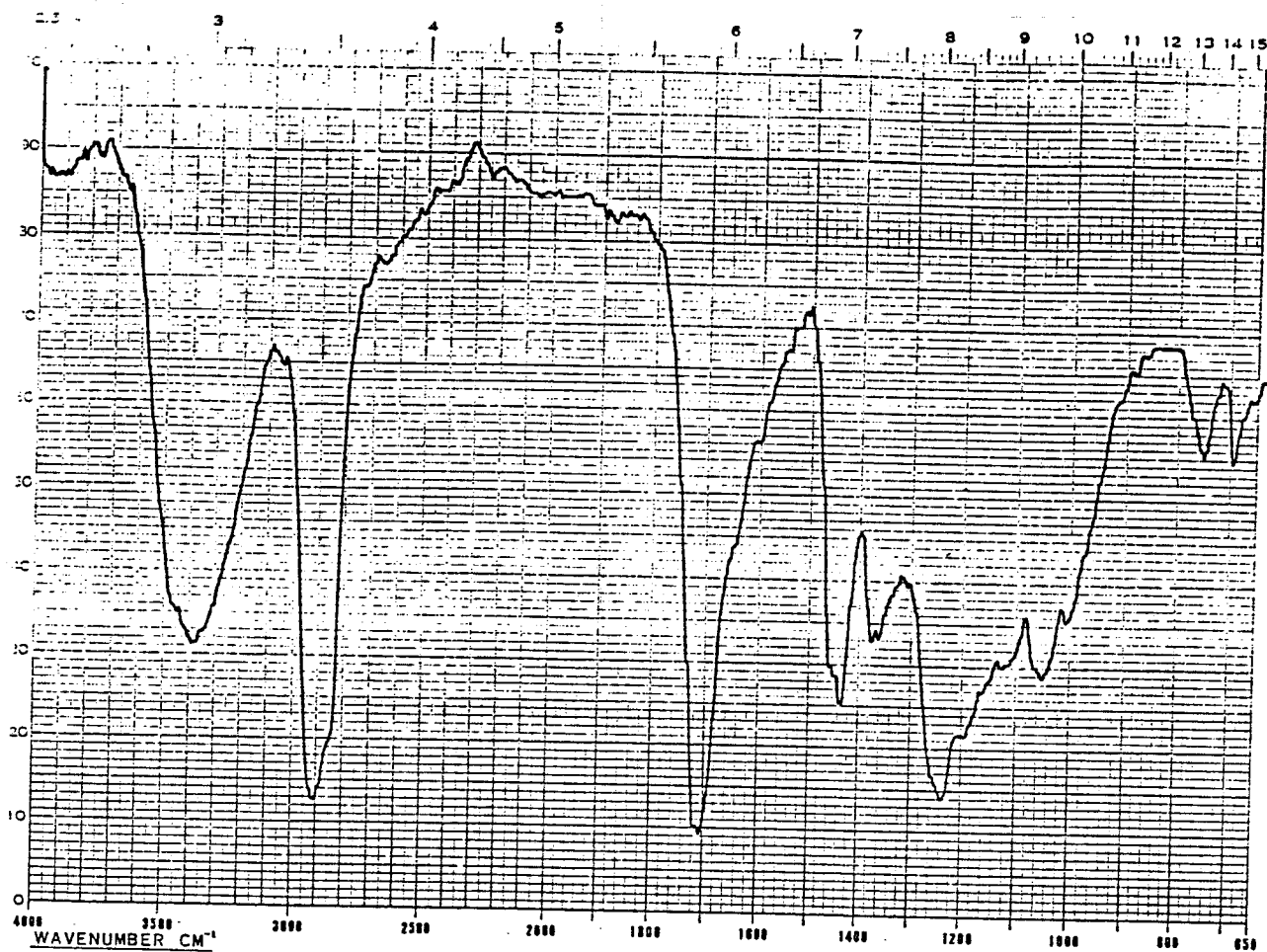


Figura 3.44 : IV e RMN ¹H do 68,15-dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo

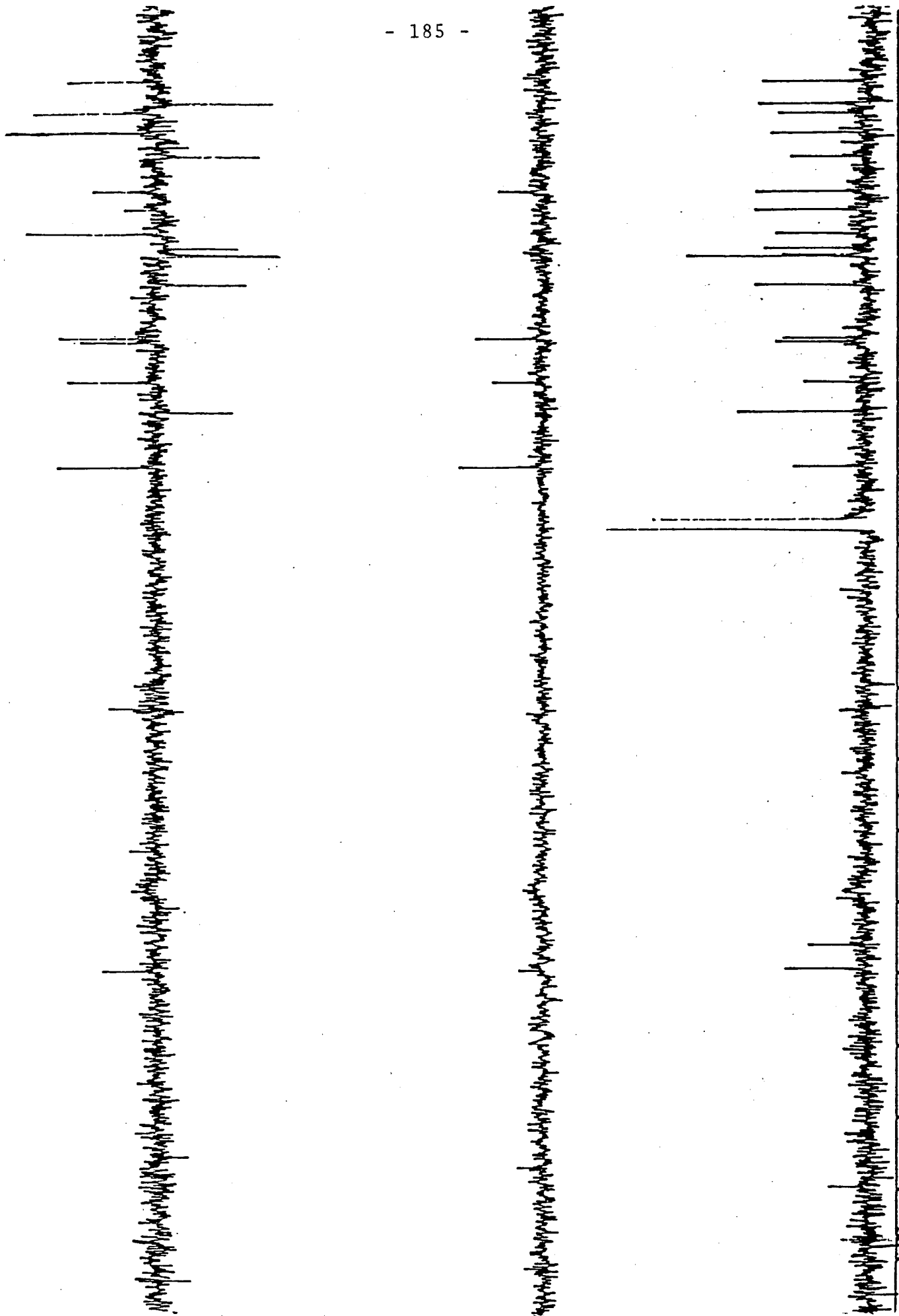


Figura 3.45 : RMN ^{13}C do 6,8,15-dihidroxi-7-labden-17-oato de metilo

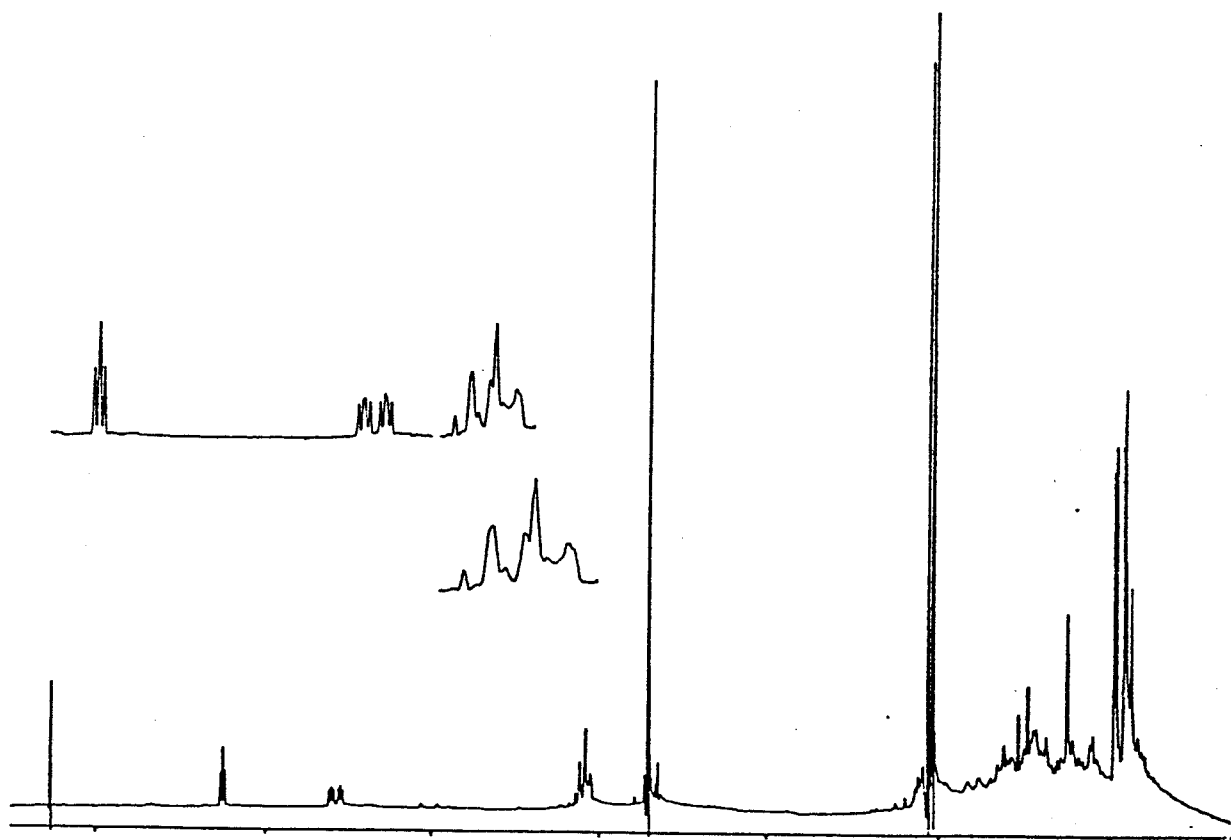
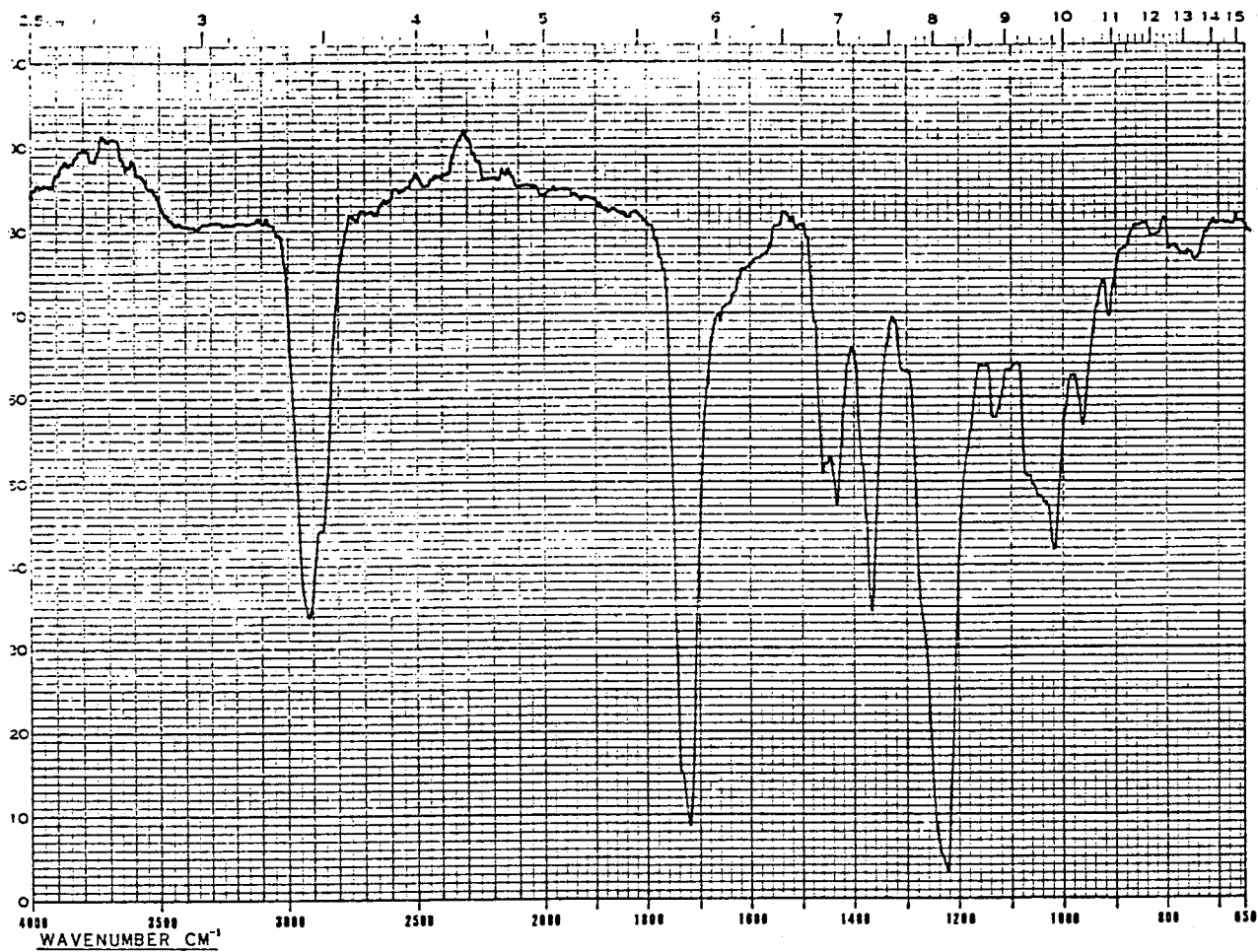


Figura 3.46 : IV e RMN ¹H do 6β,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo

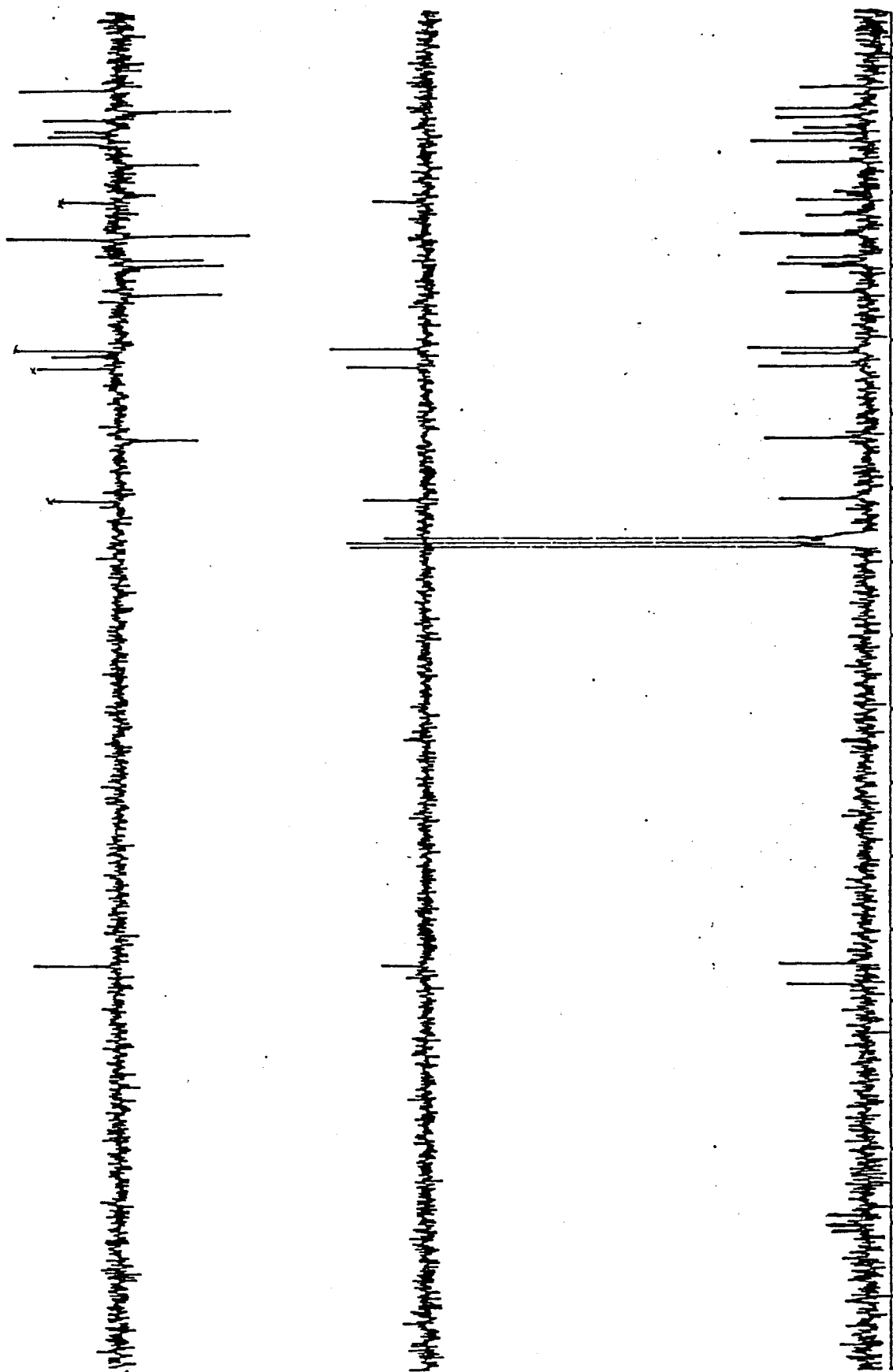
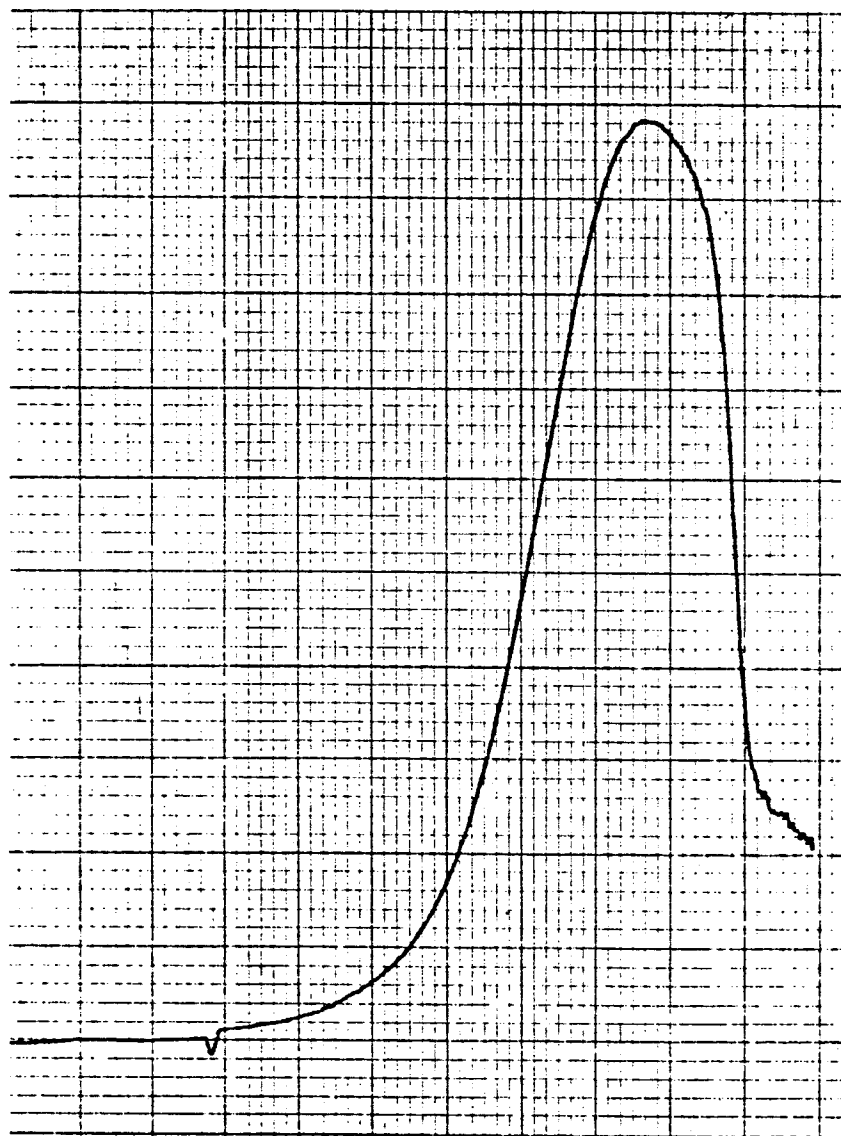


Figura 3.47 : RMN ^{13}C do 6 β ,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo



213

Figura 3.48 : UV do 6 β ,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo

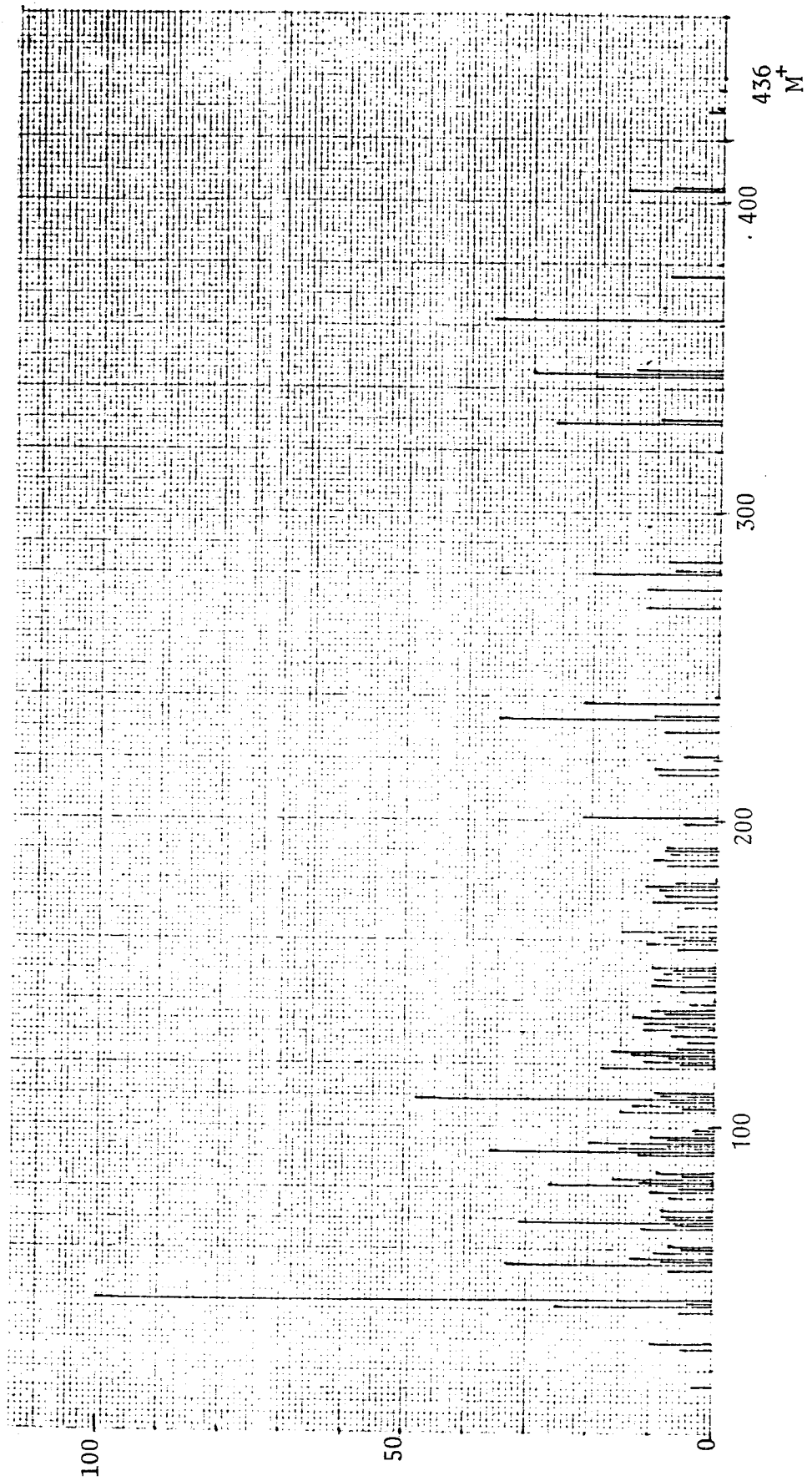


Figura 3.49 : EM do 6β,15-diacetoxi-7-labden-17-oato de metilo

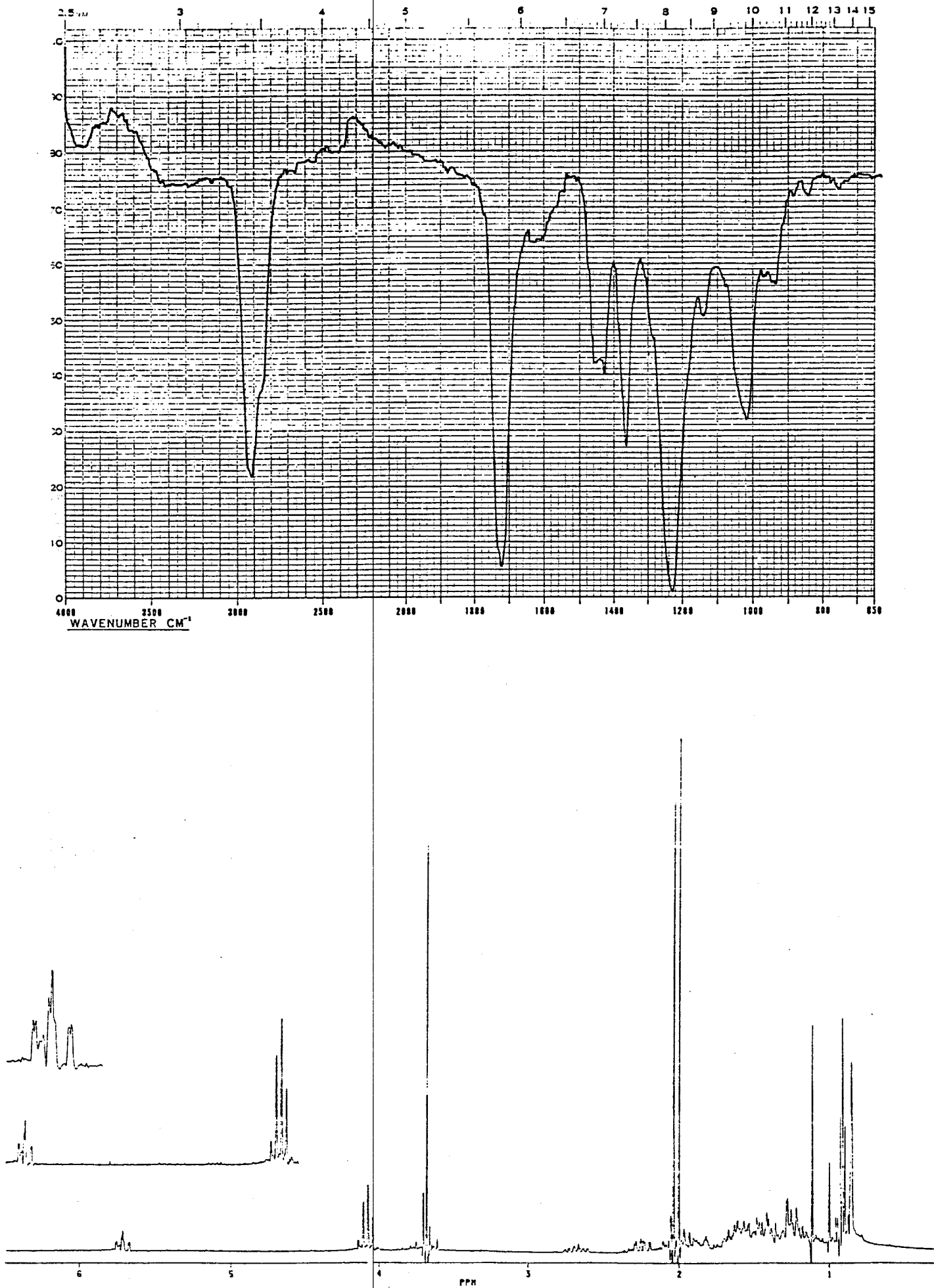


Figura 3.50 : IV e RMN ¹H do 7β,15-diacetoxi-8-labden-17-oato de metilo

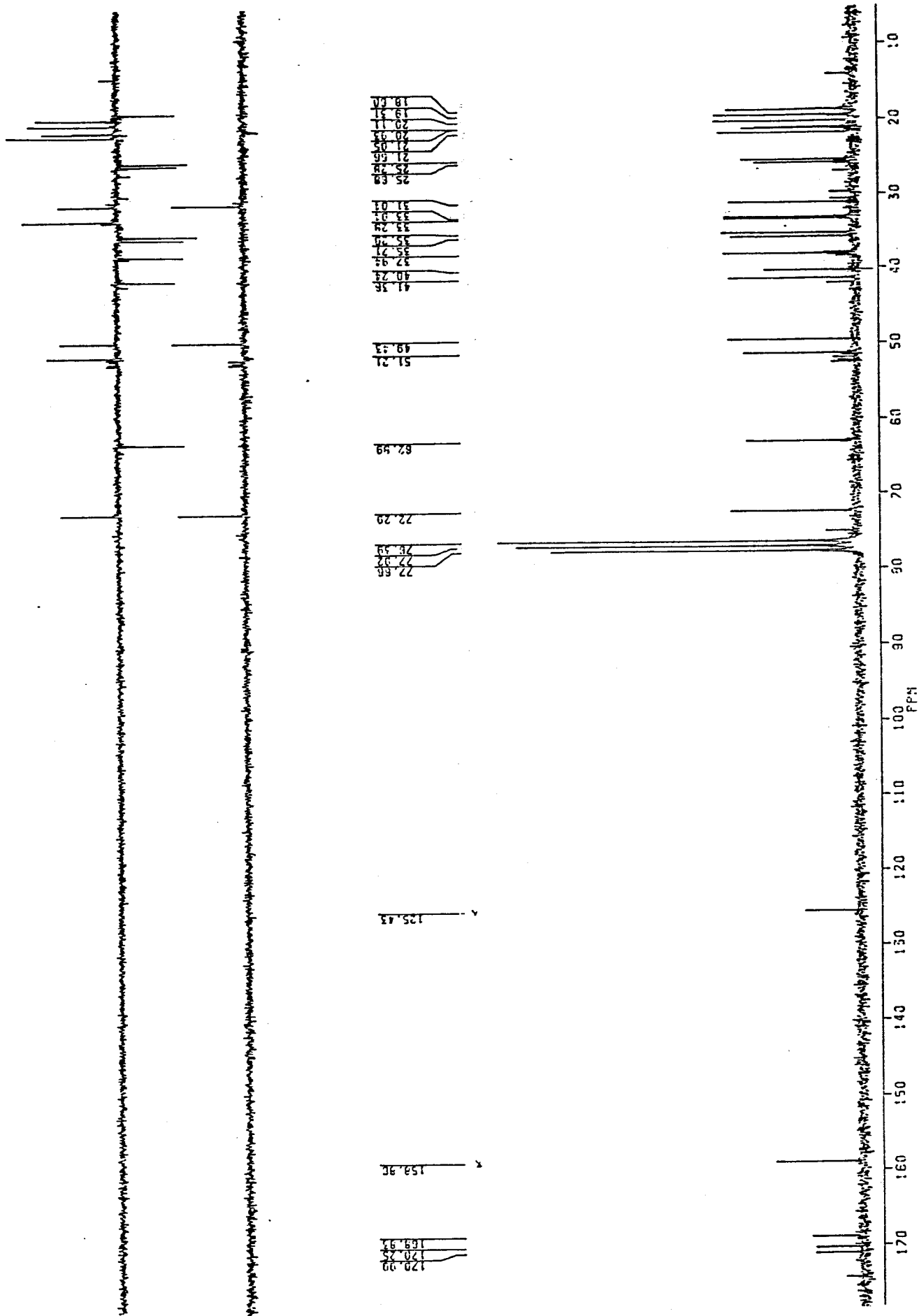


Figura 3.51 : RMN ¹³C do 7,15-diacetoxi-8-labden-17-oato de metilo

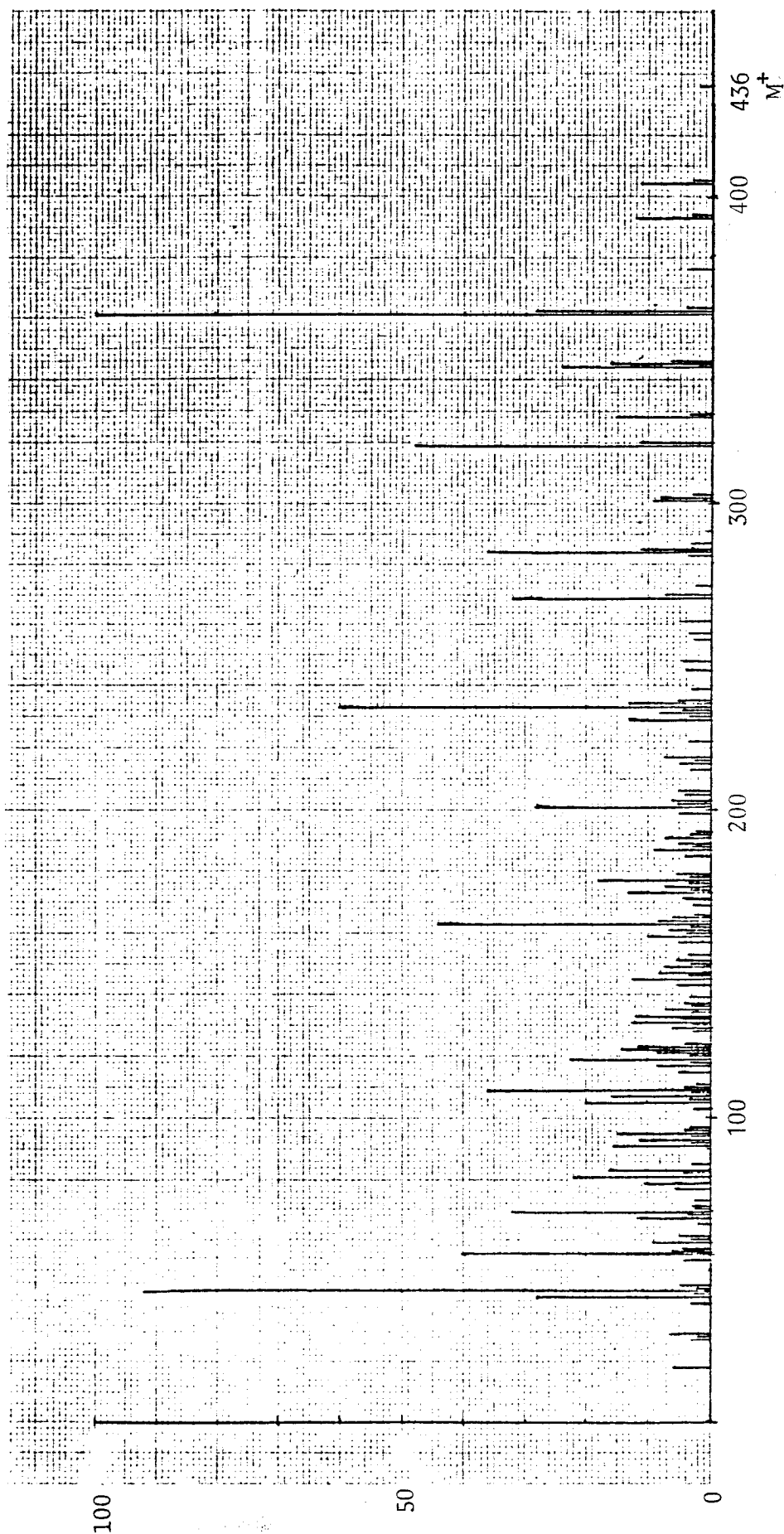


Figura 3.52 : EM do 7β,15-diacetoxi-8-labden-17-oato de metilo

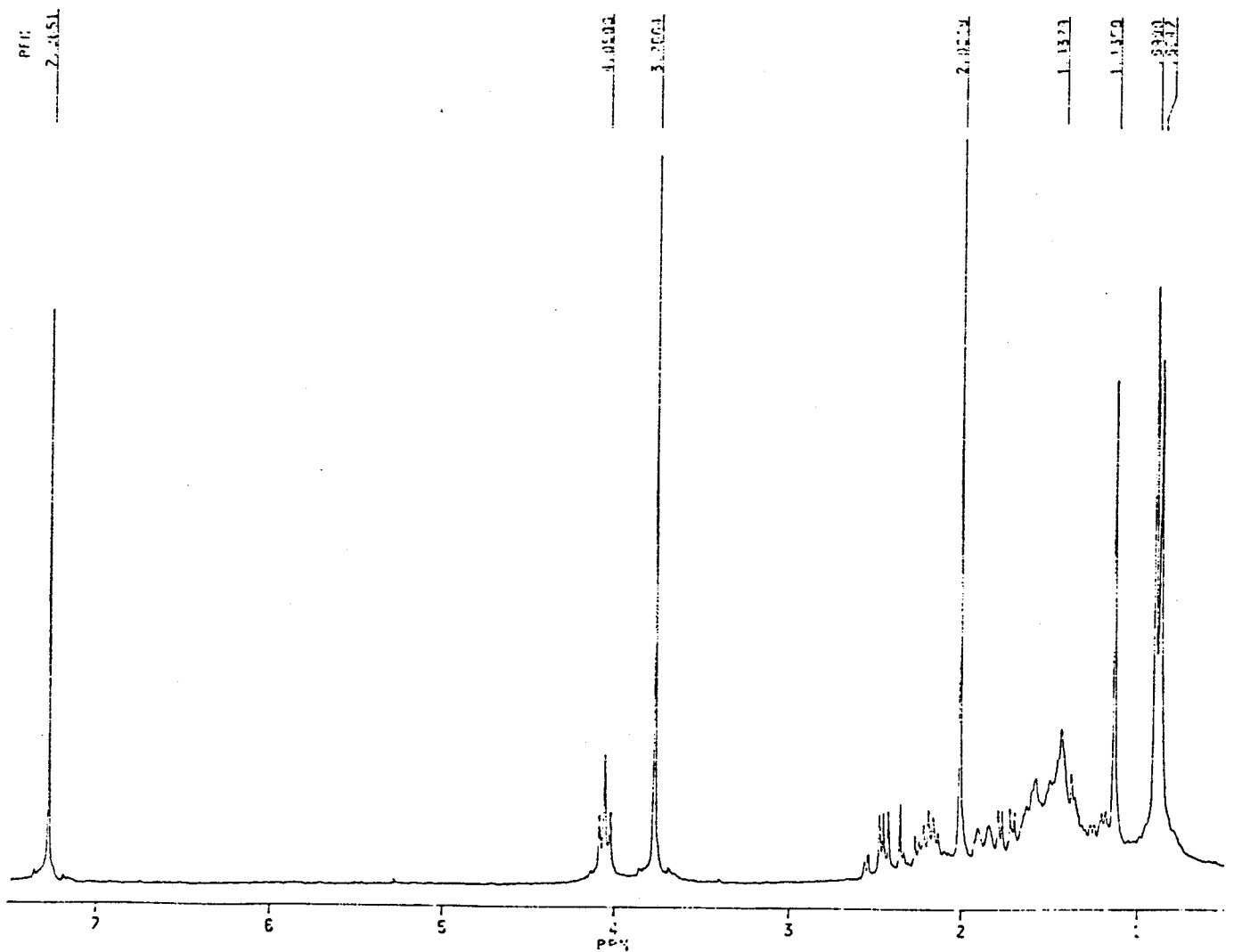
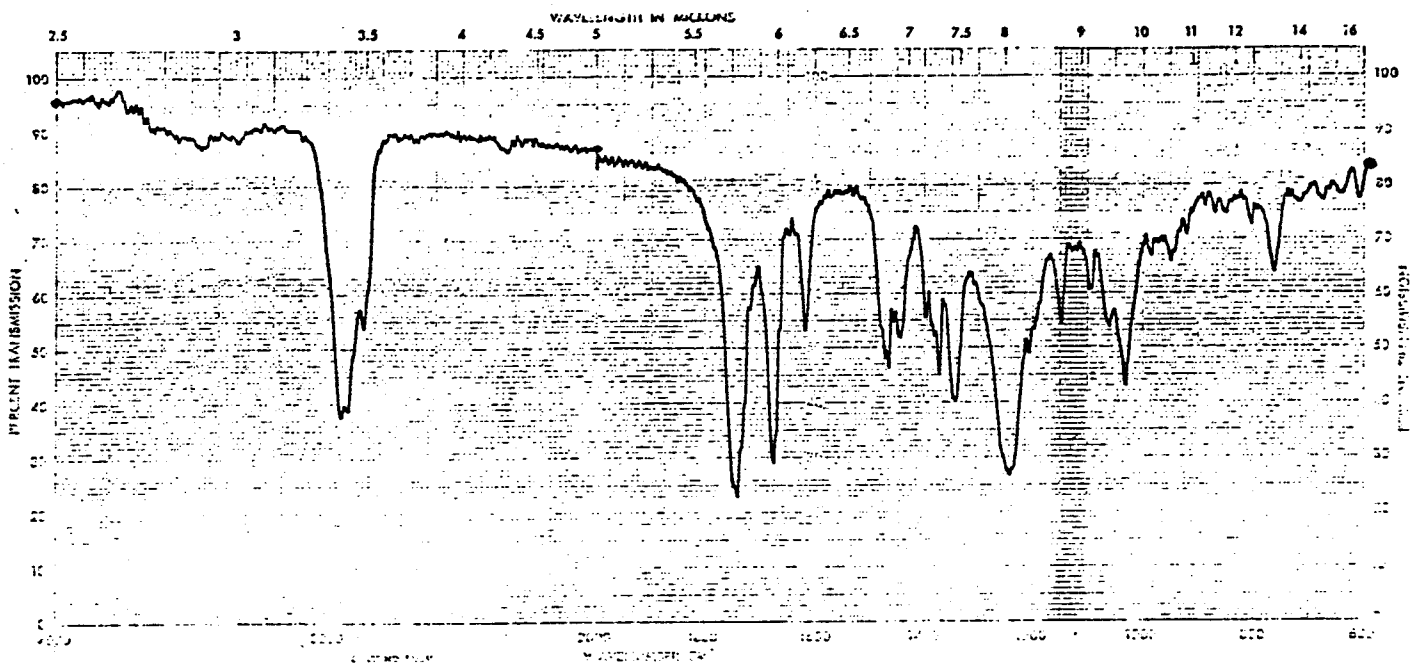
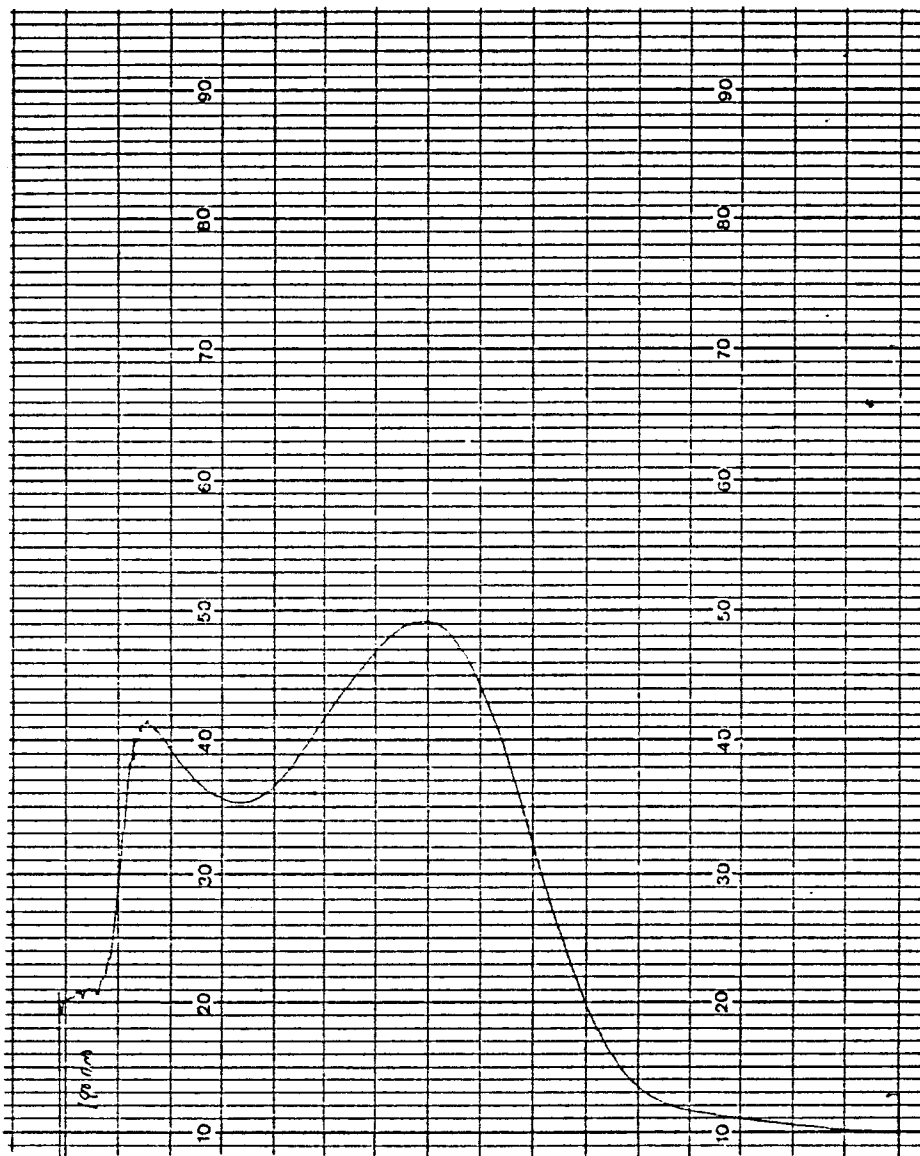


Figura 3.53 : IV e RMN ¹H do 15-acetoxi-7-oxo-8-labden-17-oato de metilo



242

Figura 3.55 : UV do 15-acetoxi-7-oxo-8-labden-17-oato de metilo

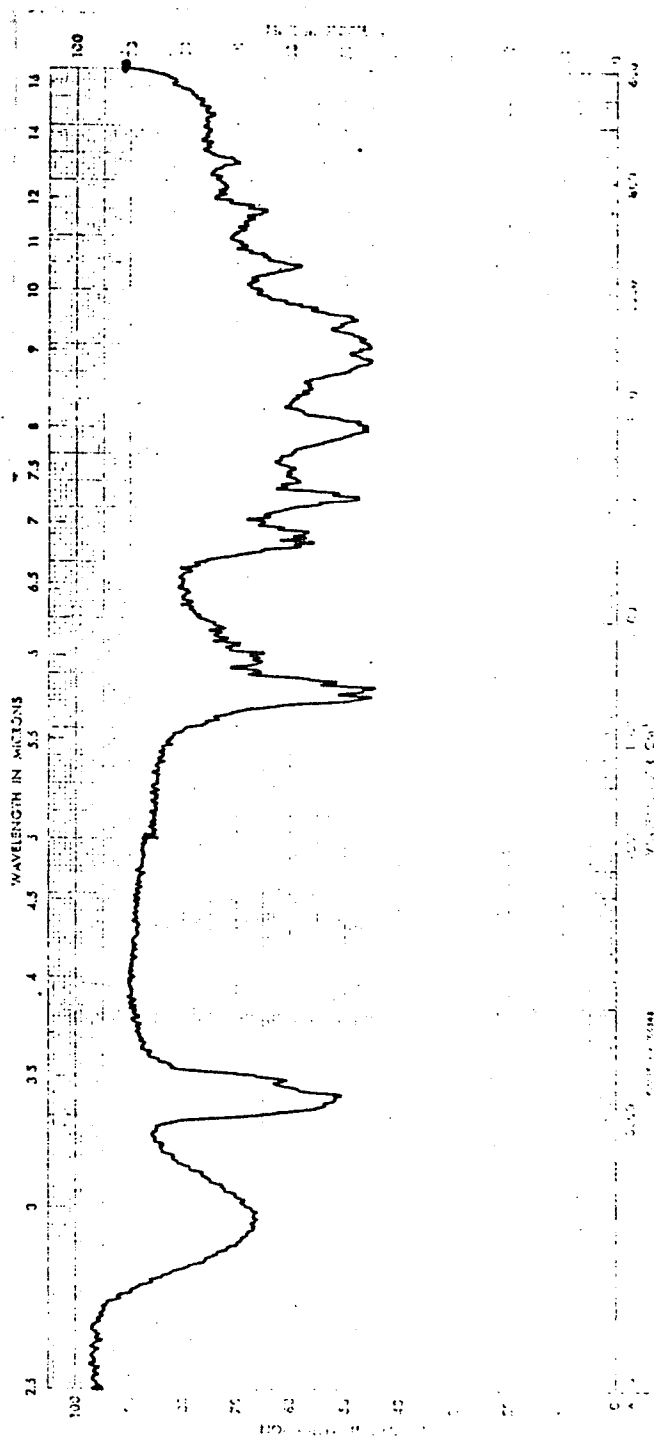


Figura 3.56 : IV do 15-acetoxi-7 β -hidroxi-8-labden-17-oato de metilo



Figura 3.57 : RMN ^1H do 15-acetoxi-7 β -hidroxi-8labden-17-oato de metilo

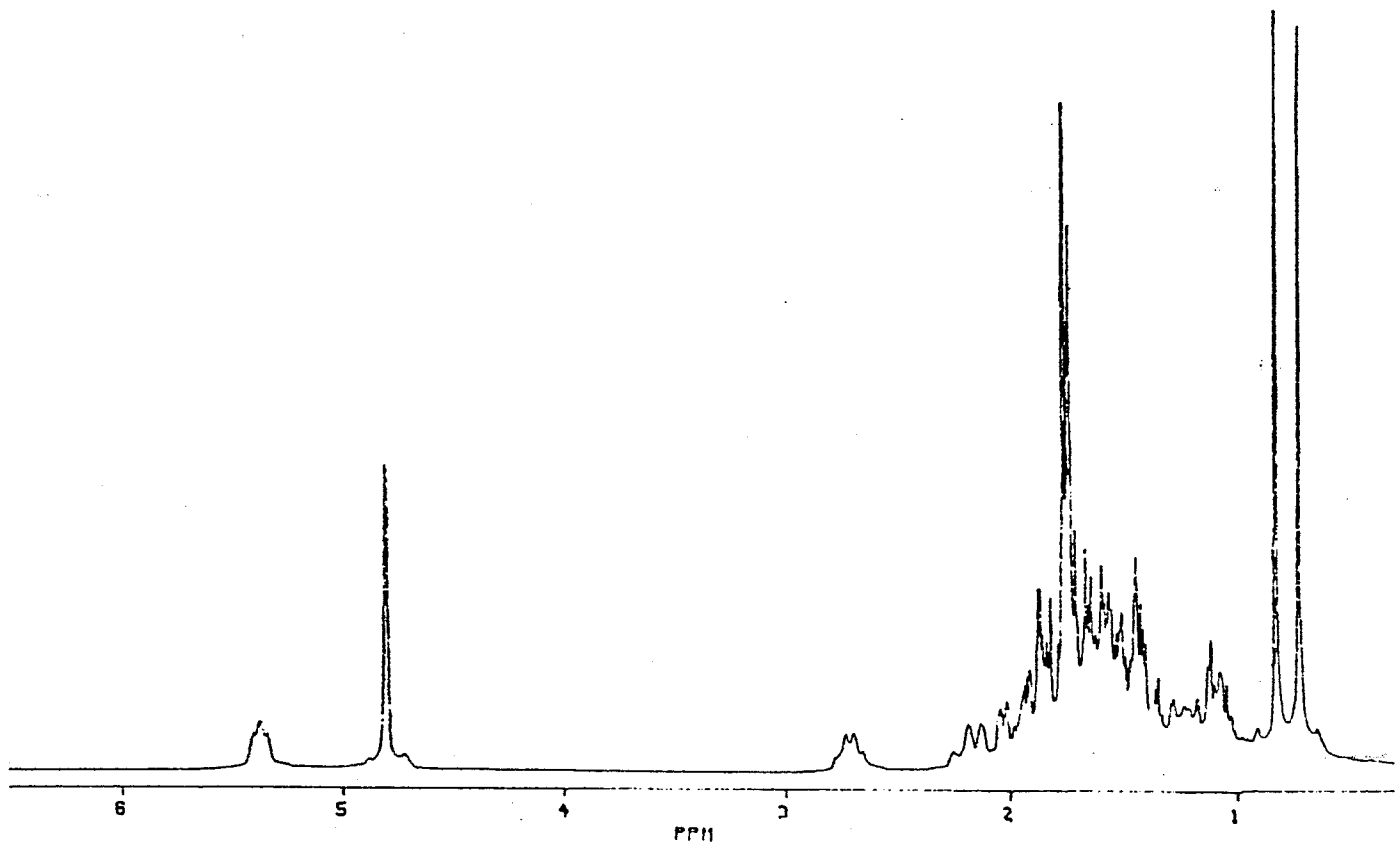
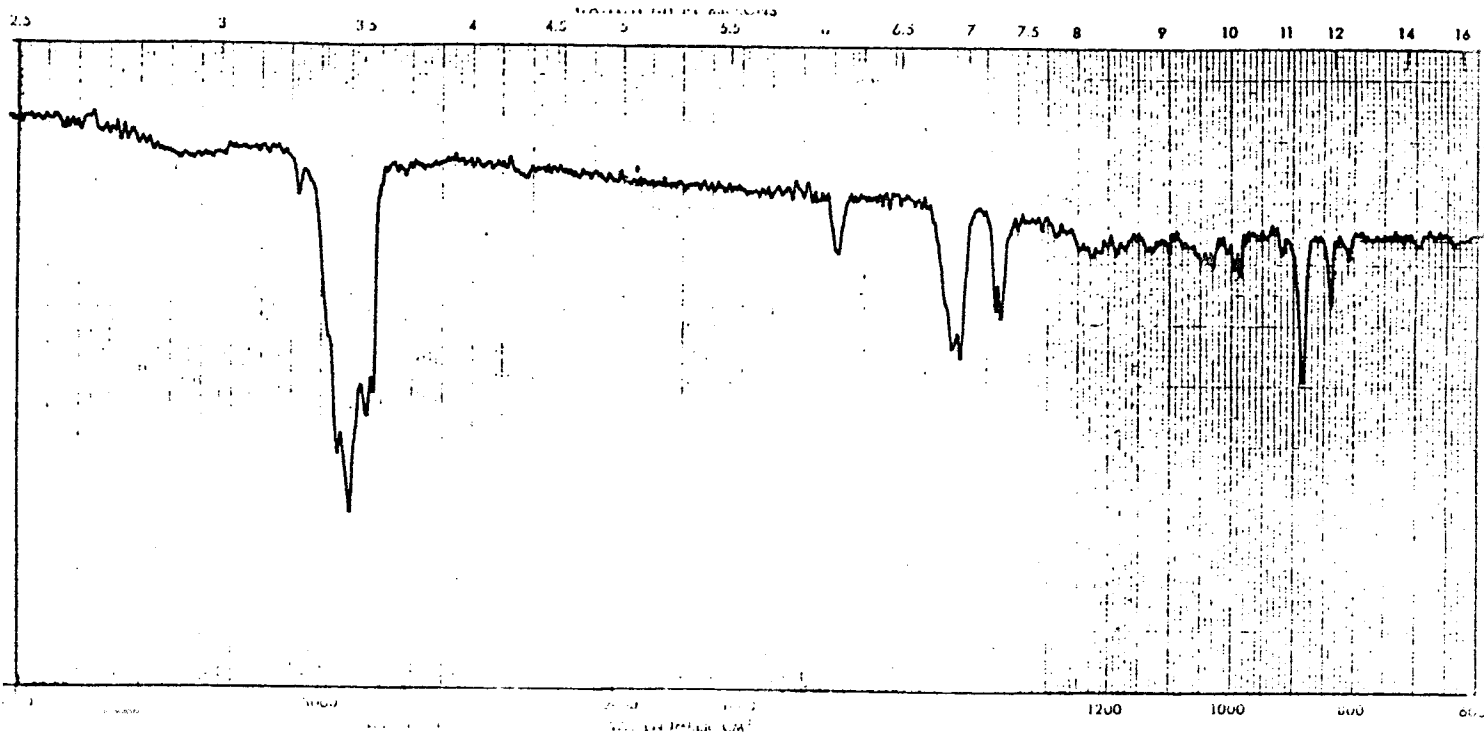


Figura 3.58 : IV e RMN ¹H do 7,16-valparadieno

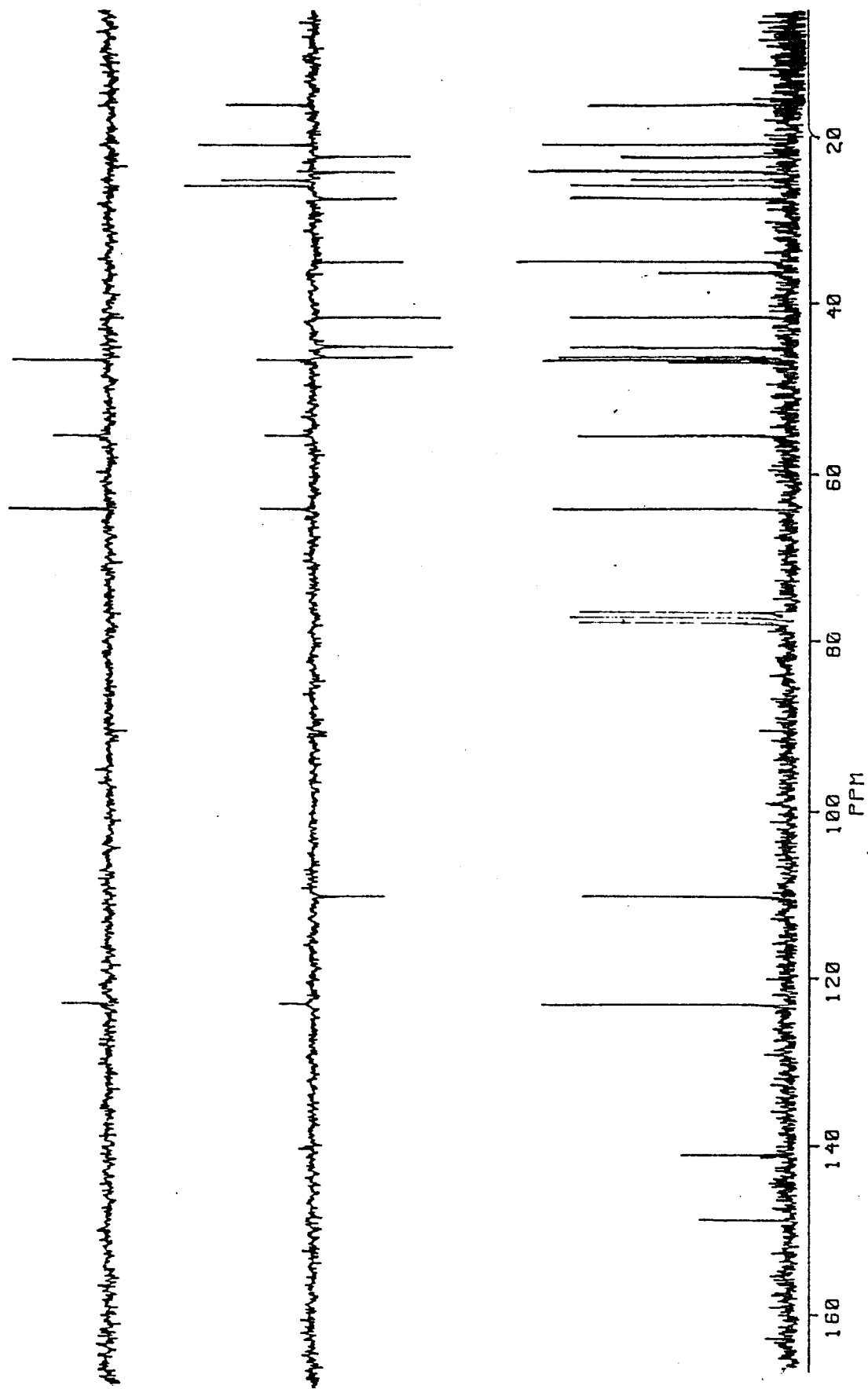


Figura 3.59 : RMN ^{13}C do 7,16-valparadieno

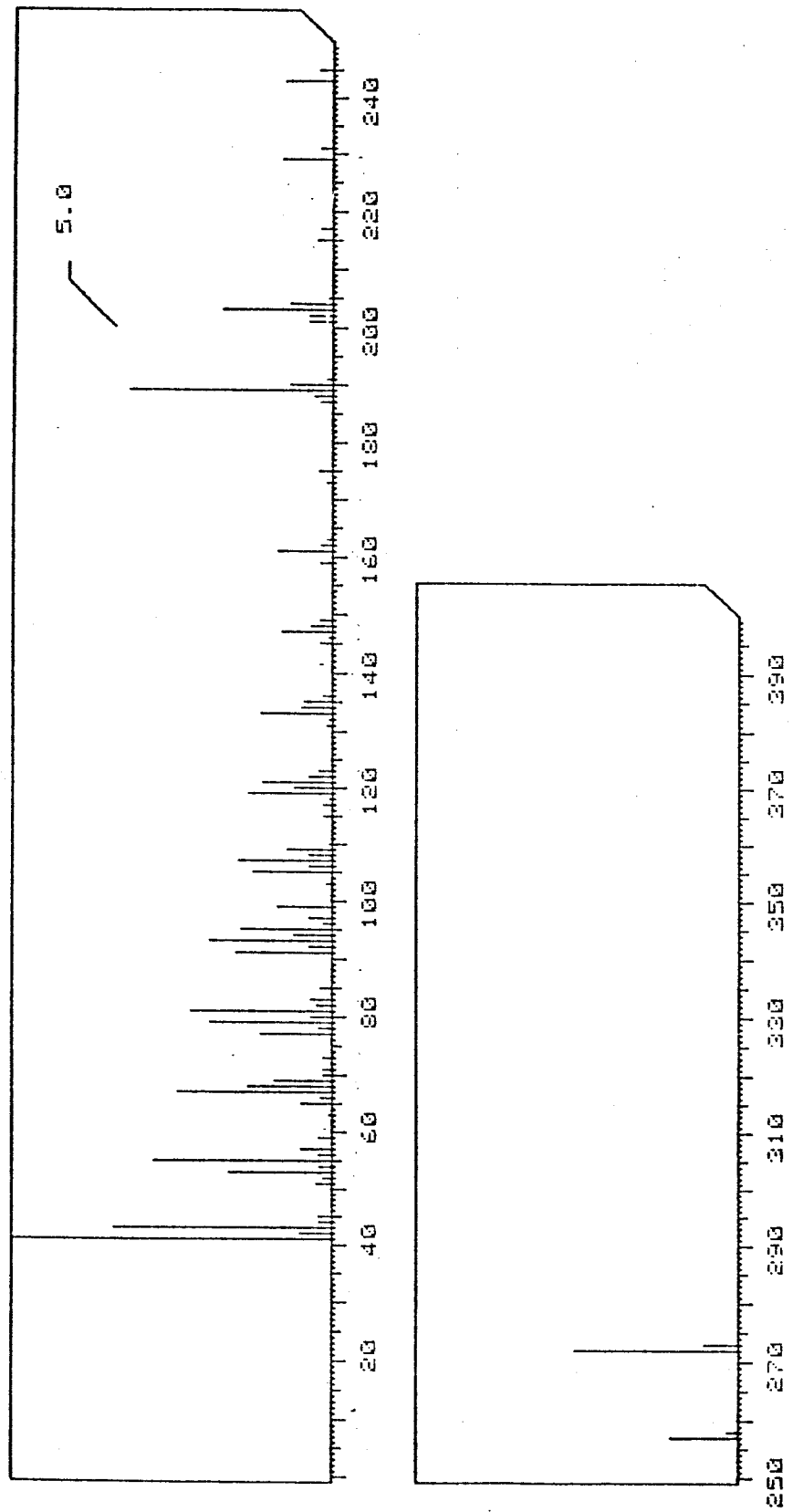


Figura 3.60 : EM do 7,16-valparadieno

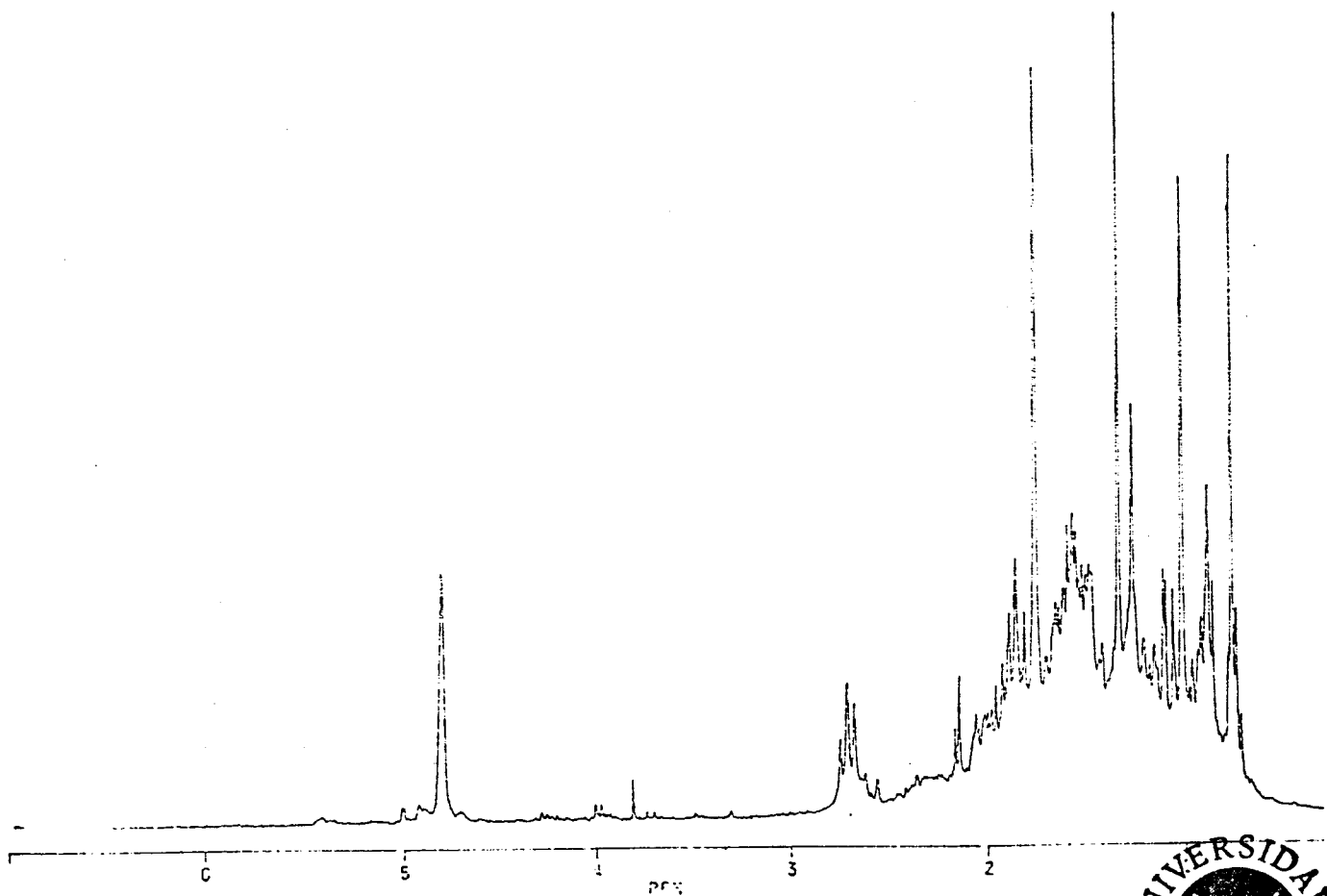
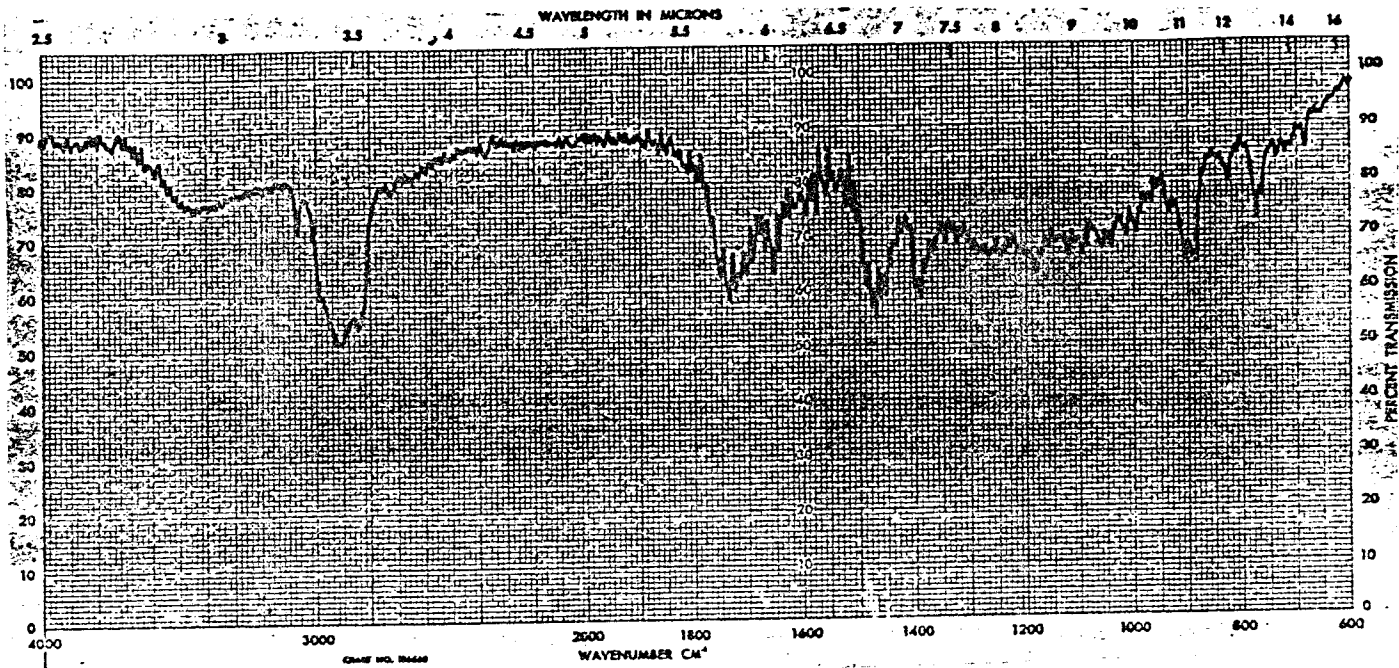


Figura 3.61 : IV e RMN ¹H do 7,8-epoxi-16-valpareno



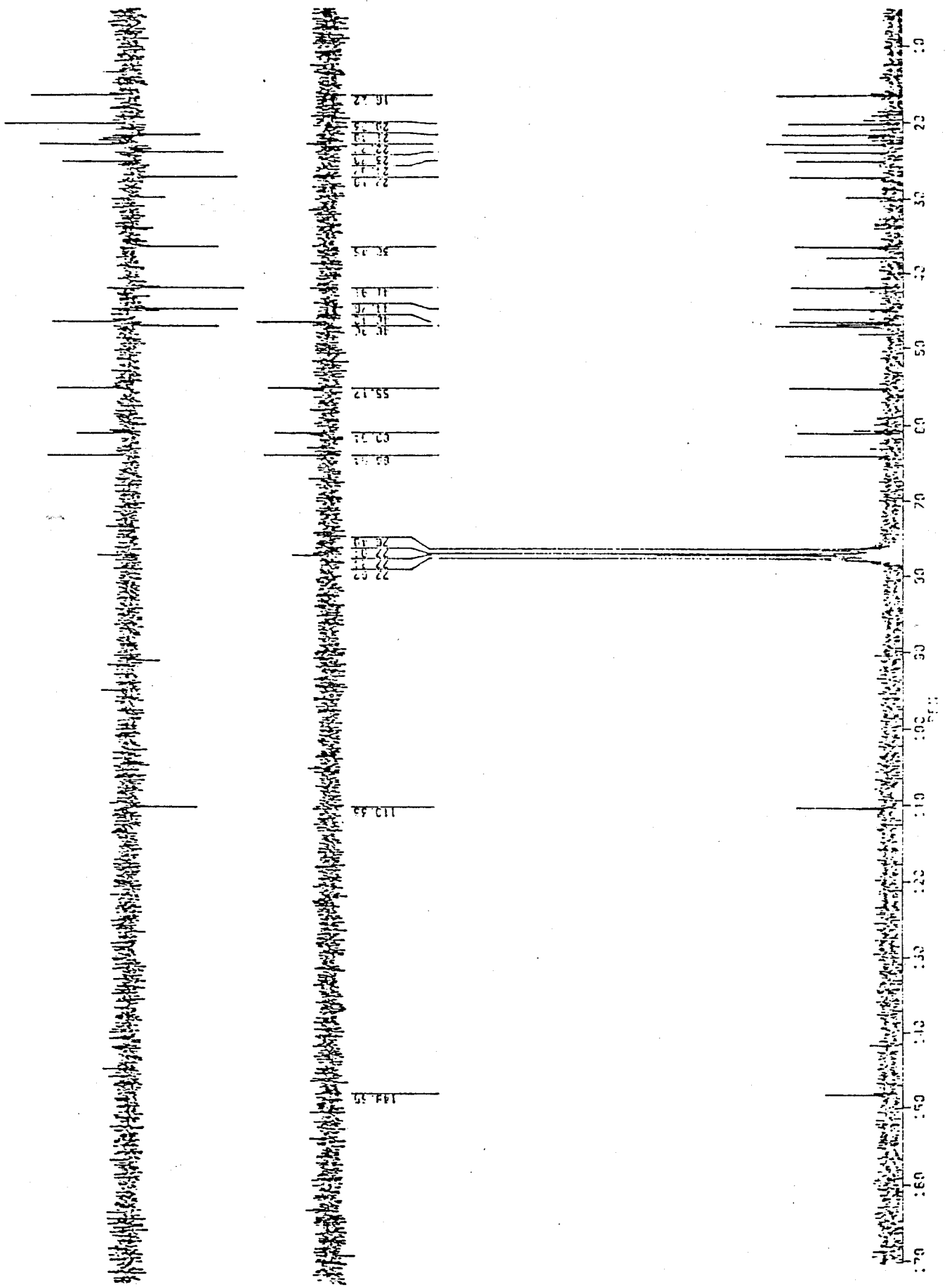


Figura 3.62 : RMN ^{13}C do 7,8-epoxi-16-valpreno

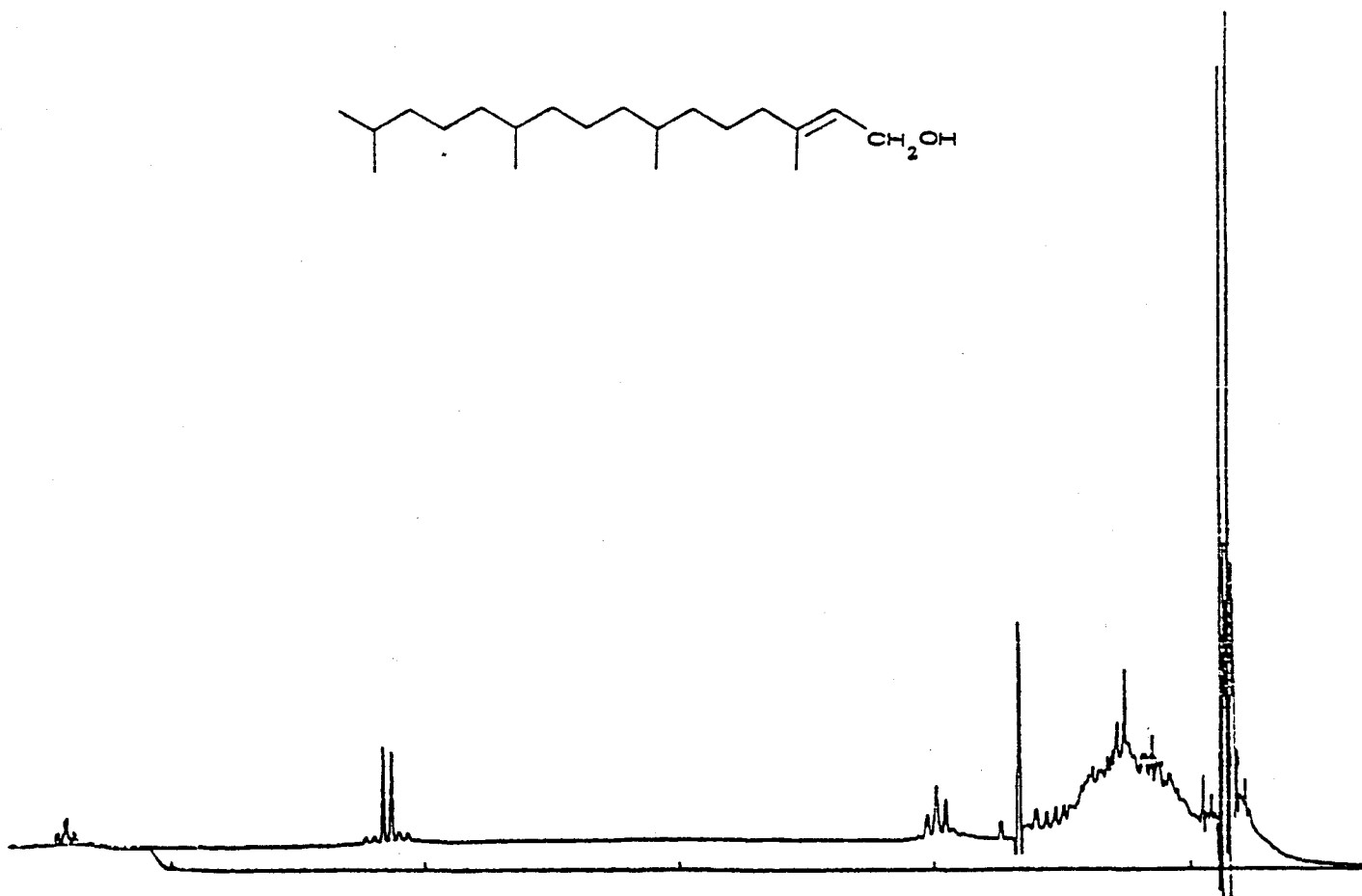
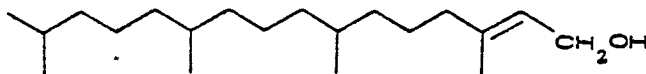
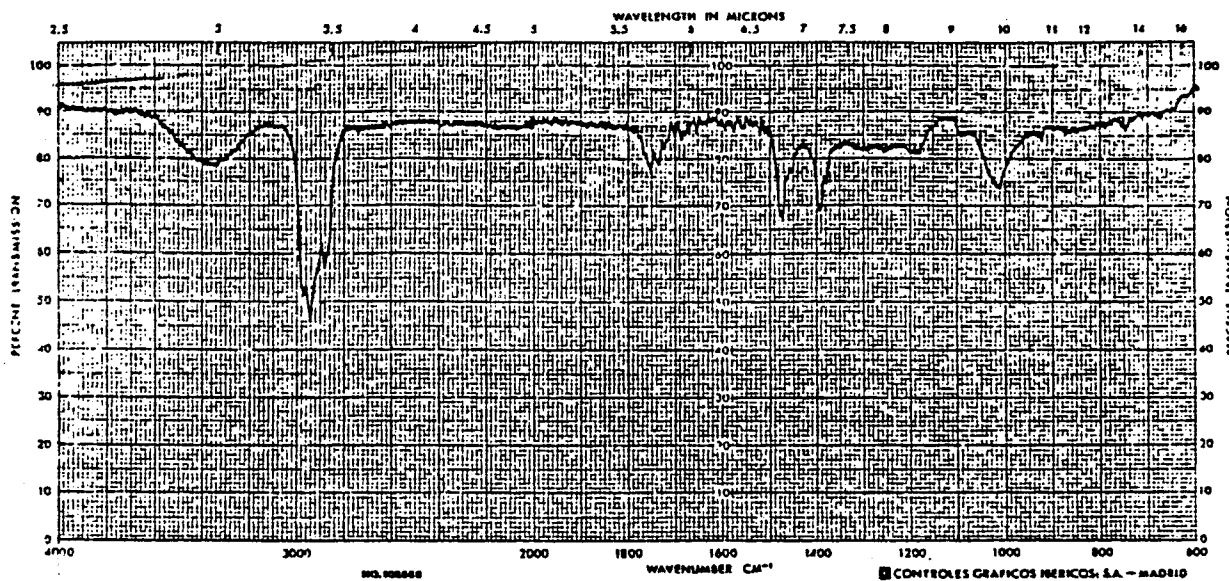


Figura 3.63 : IV e RMN ^1H do fitol

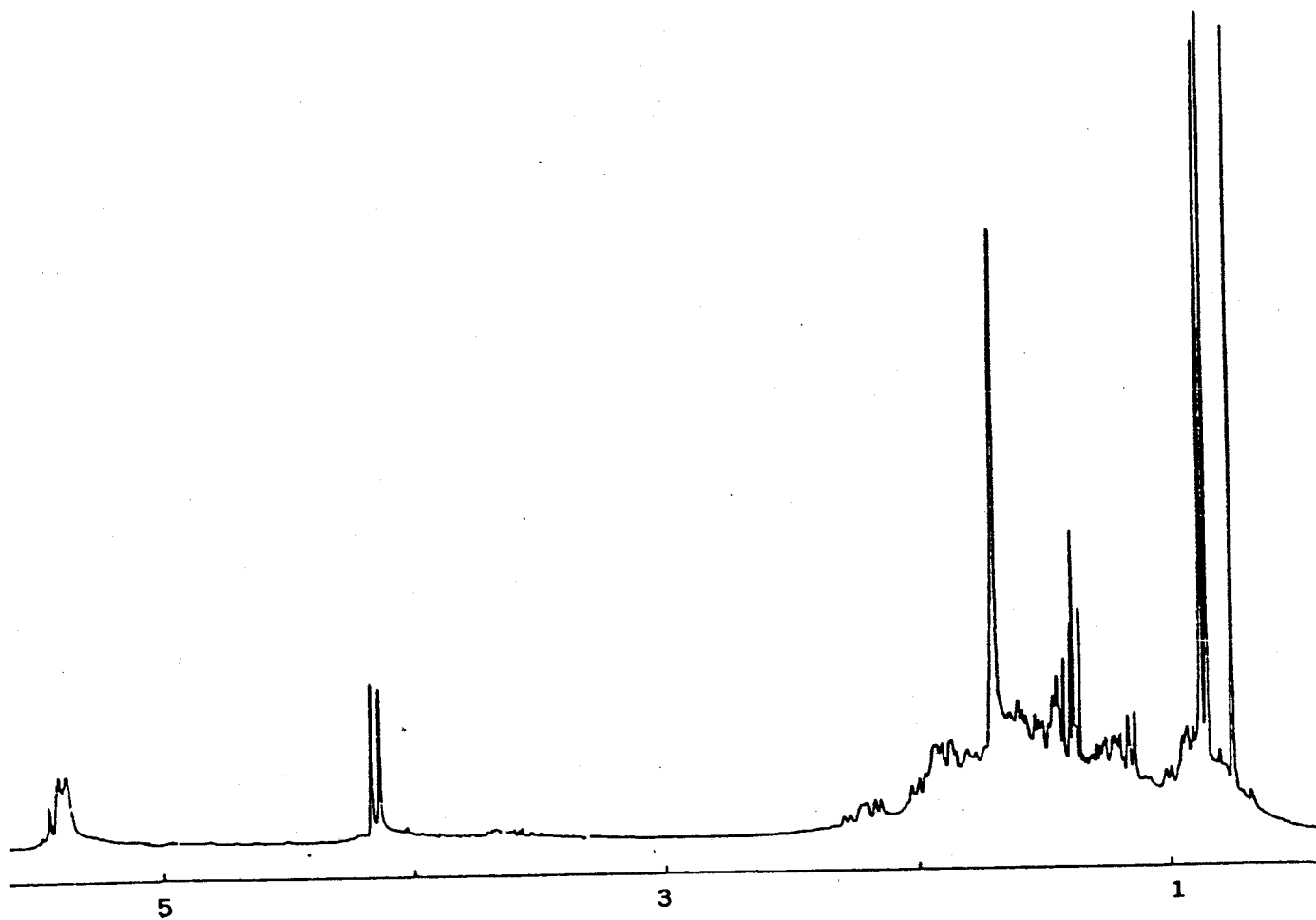
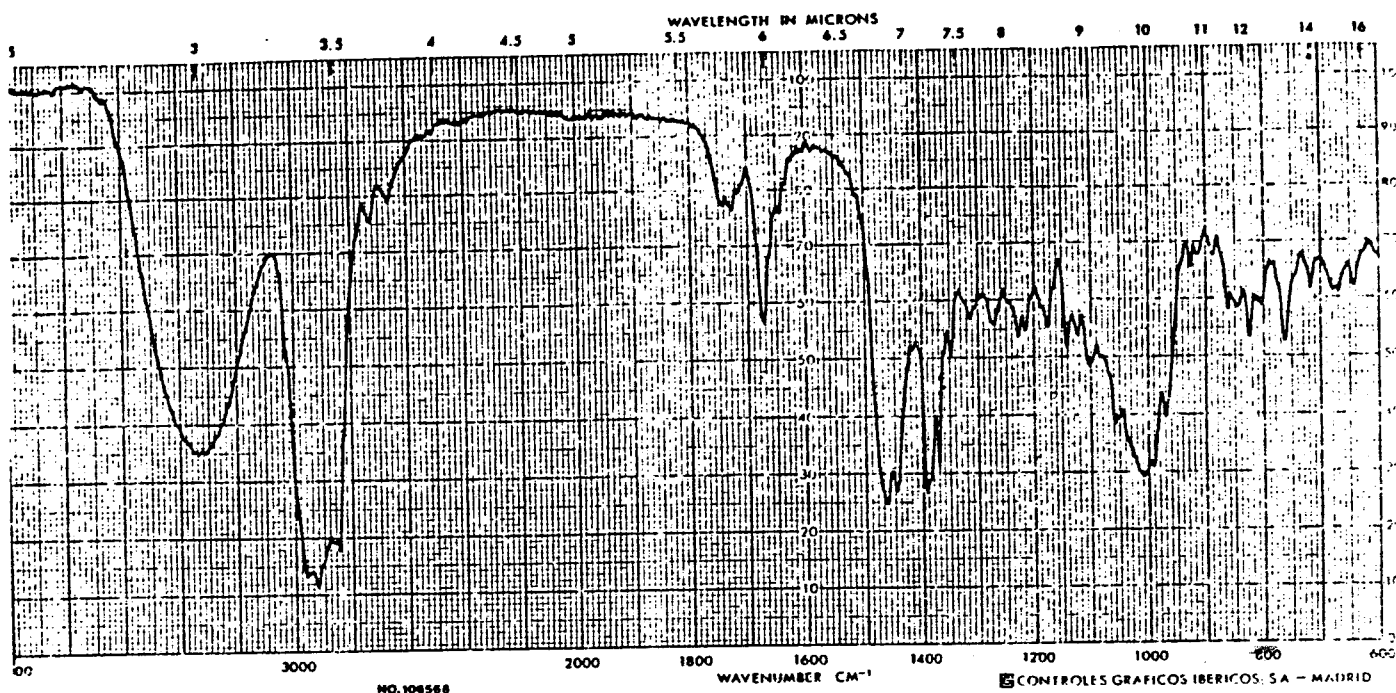
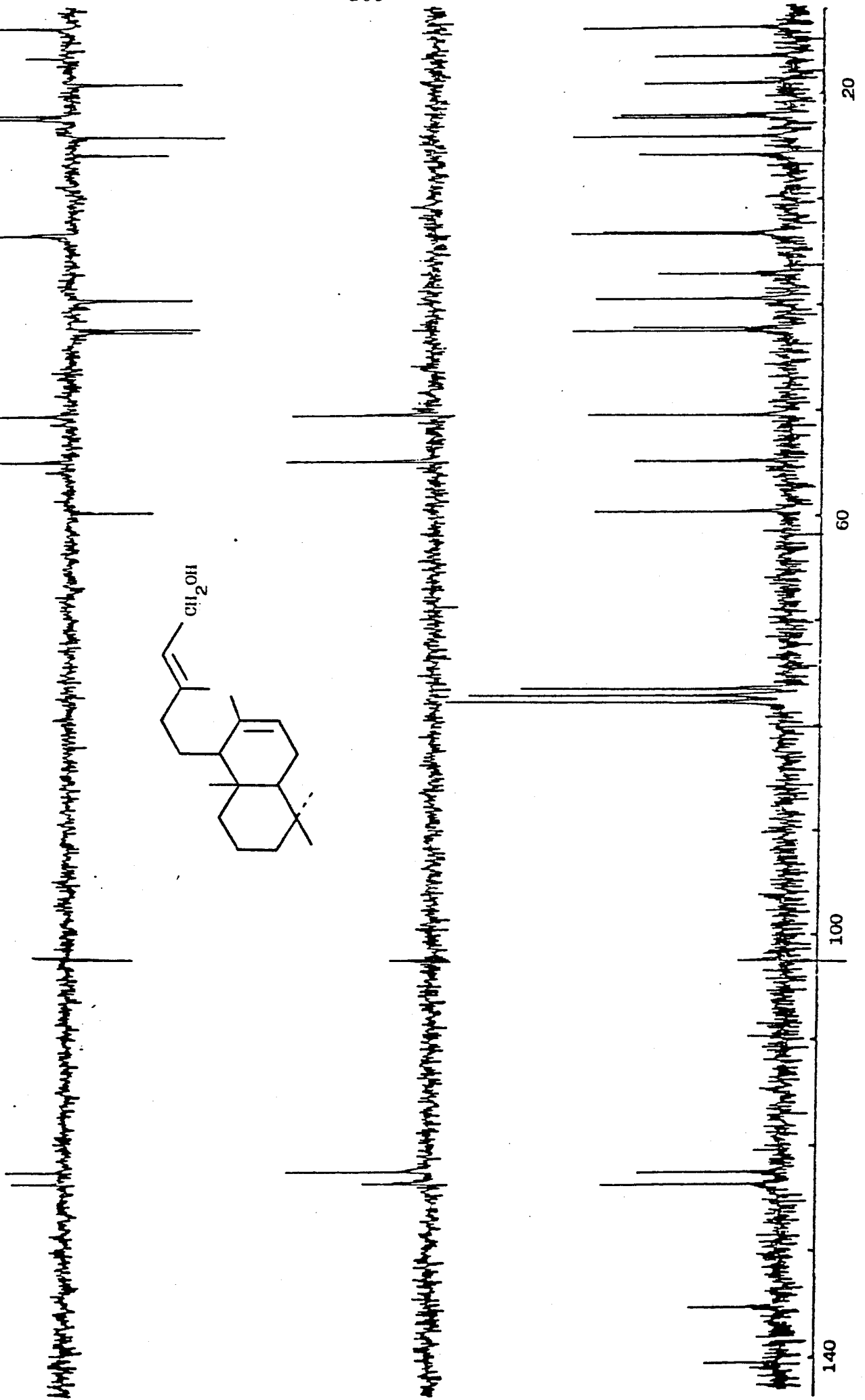


Figura 3.64 : IV e RMN ¹H do 7,13E-labdadien-15-ol

Figura 3.65 : RMN ¹³C do 7,13E-labdadien-15-ol



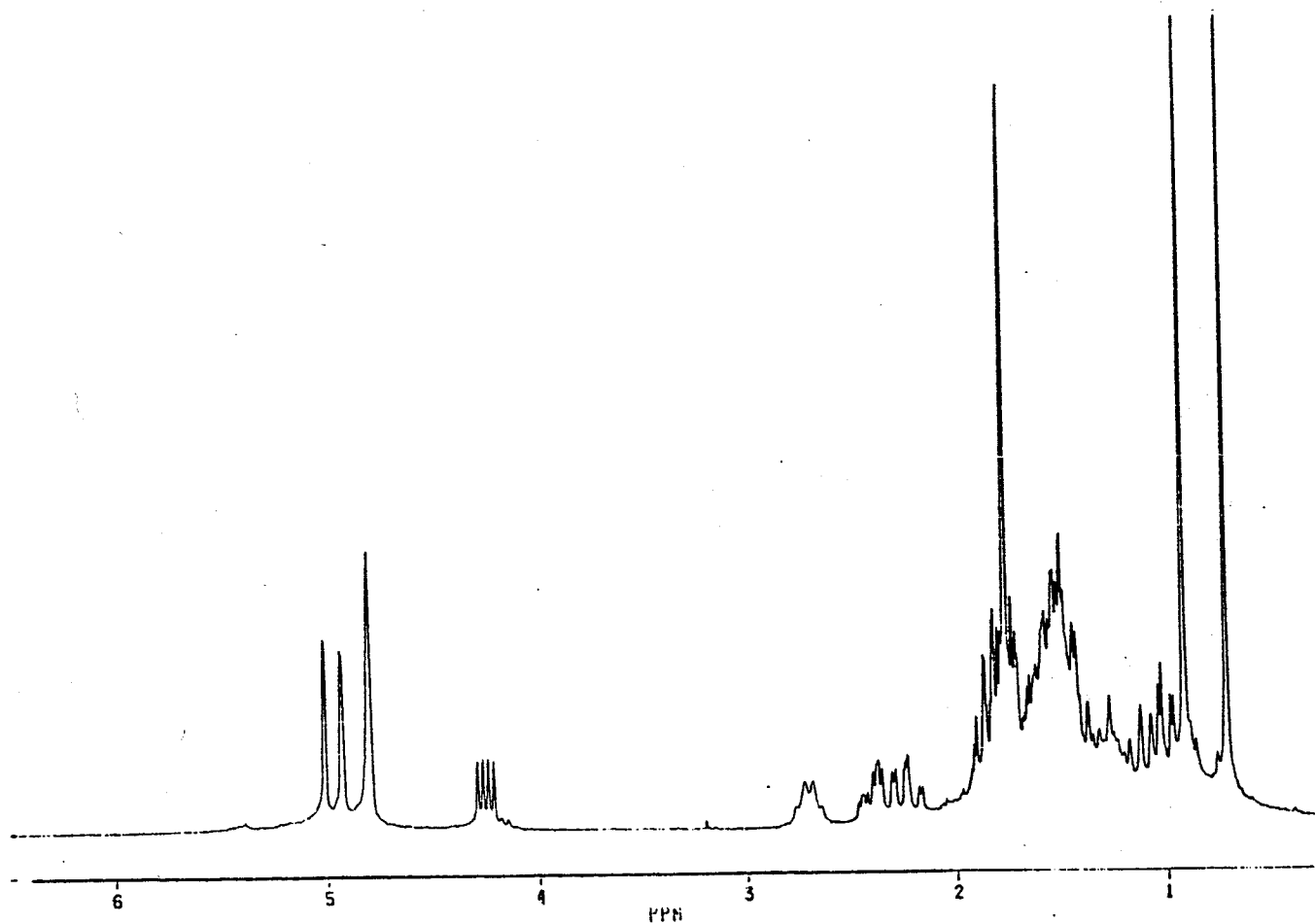
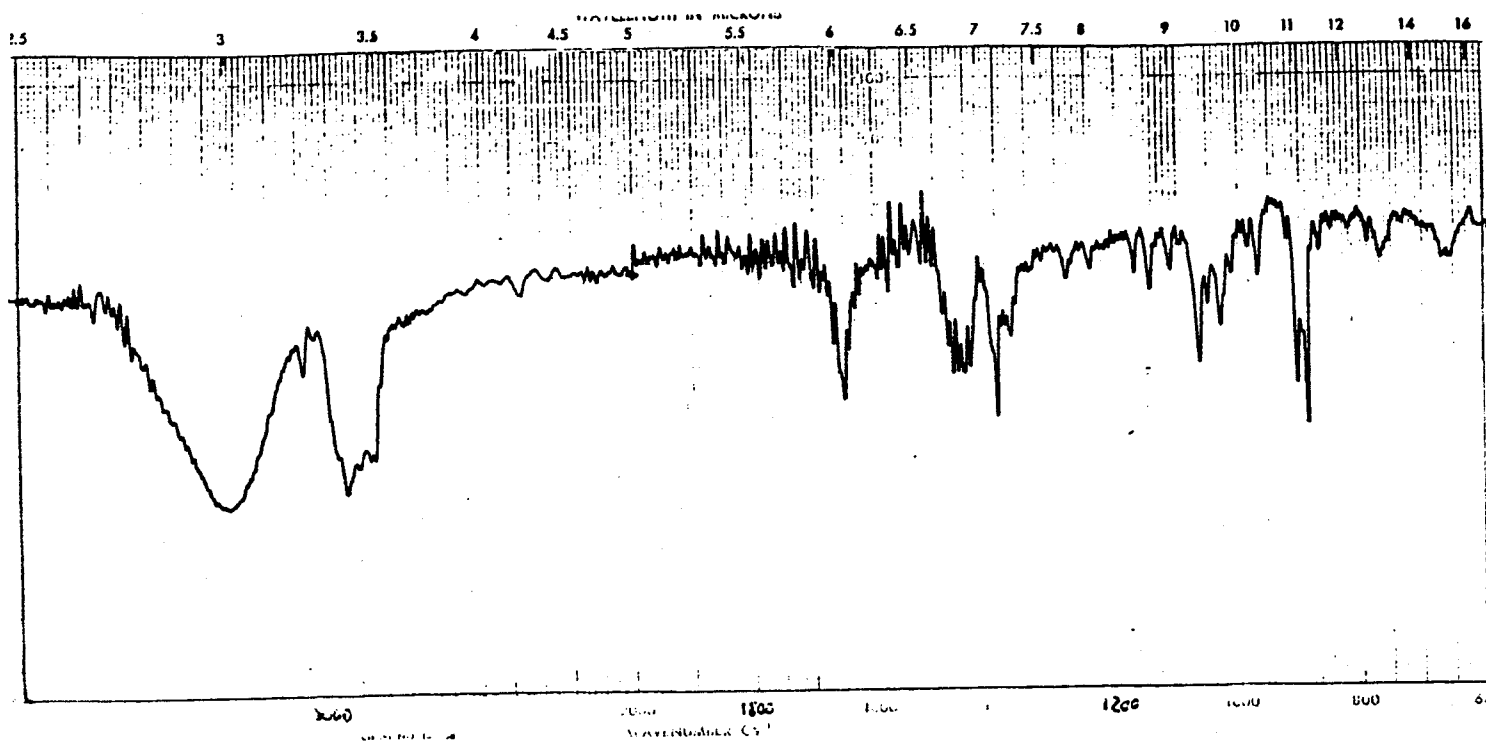


Figura 3.66 : IV e RMN ¹H do 8ξ-hidroxi-7(20),16-valparadieno

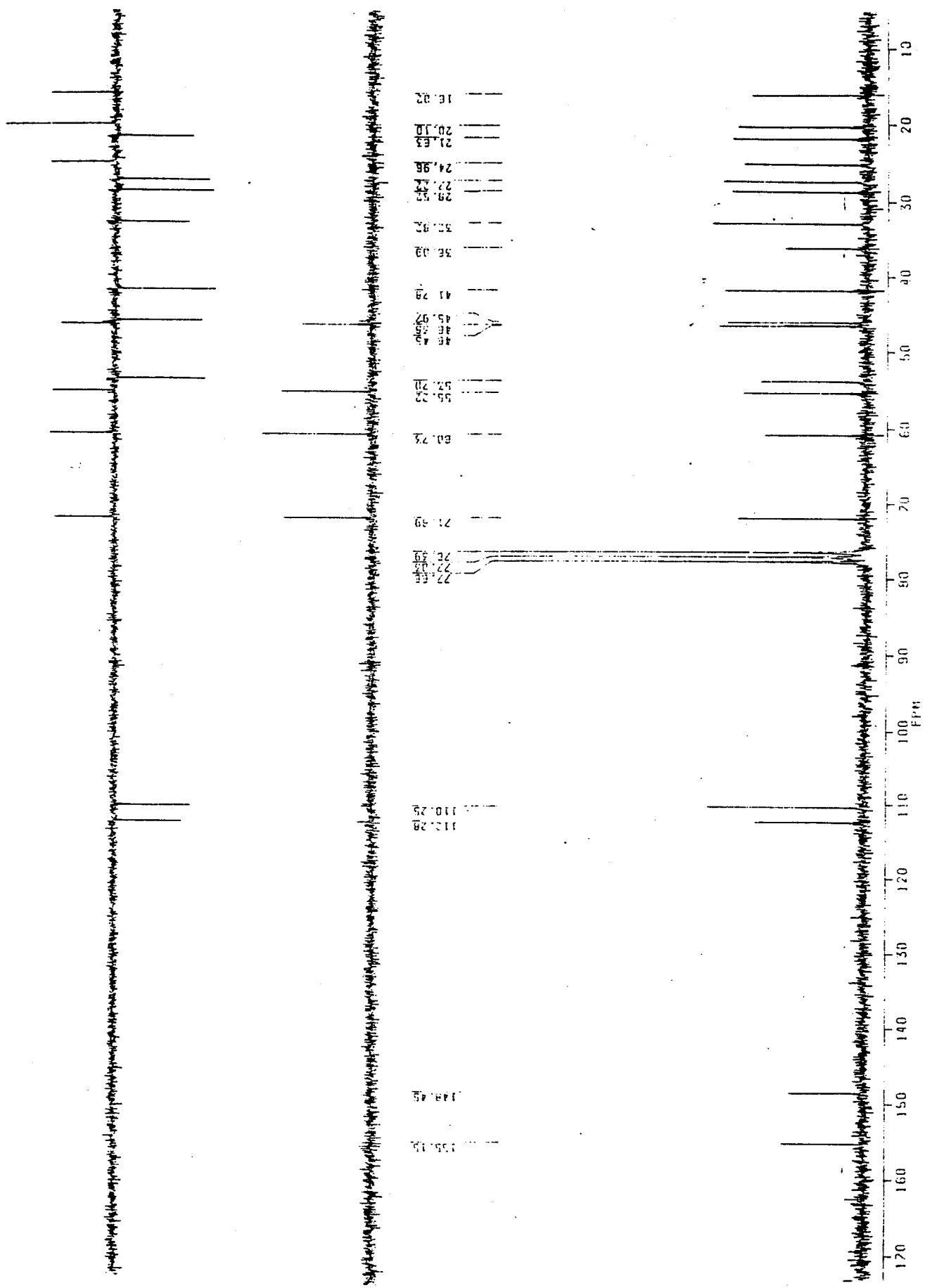


Figura 3.67 : RMN ^{13}C do 8ξ-hidroxi-7(20),16-valparadieno

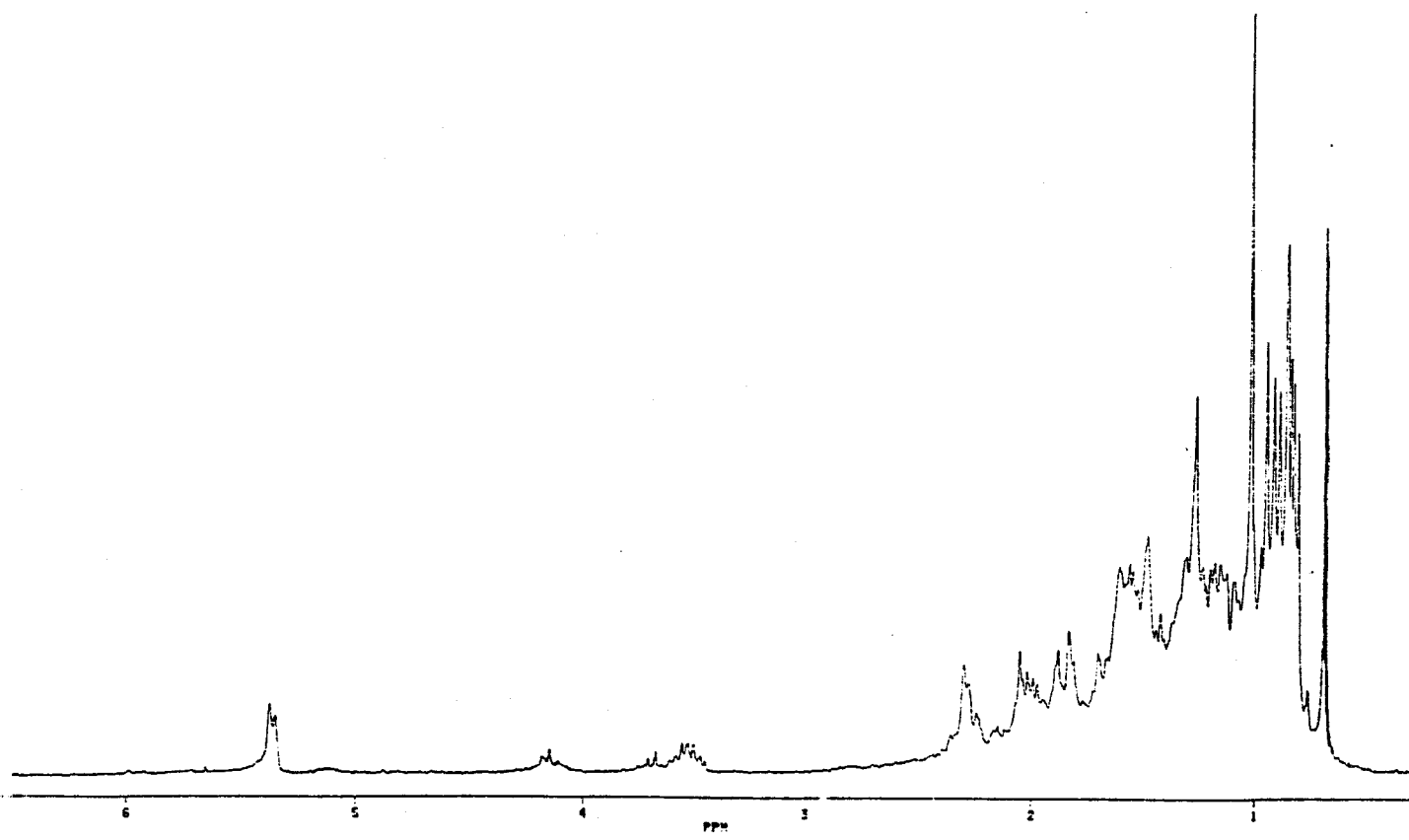
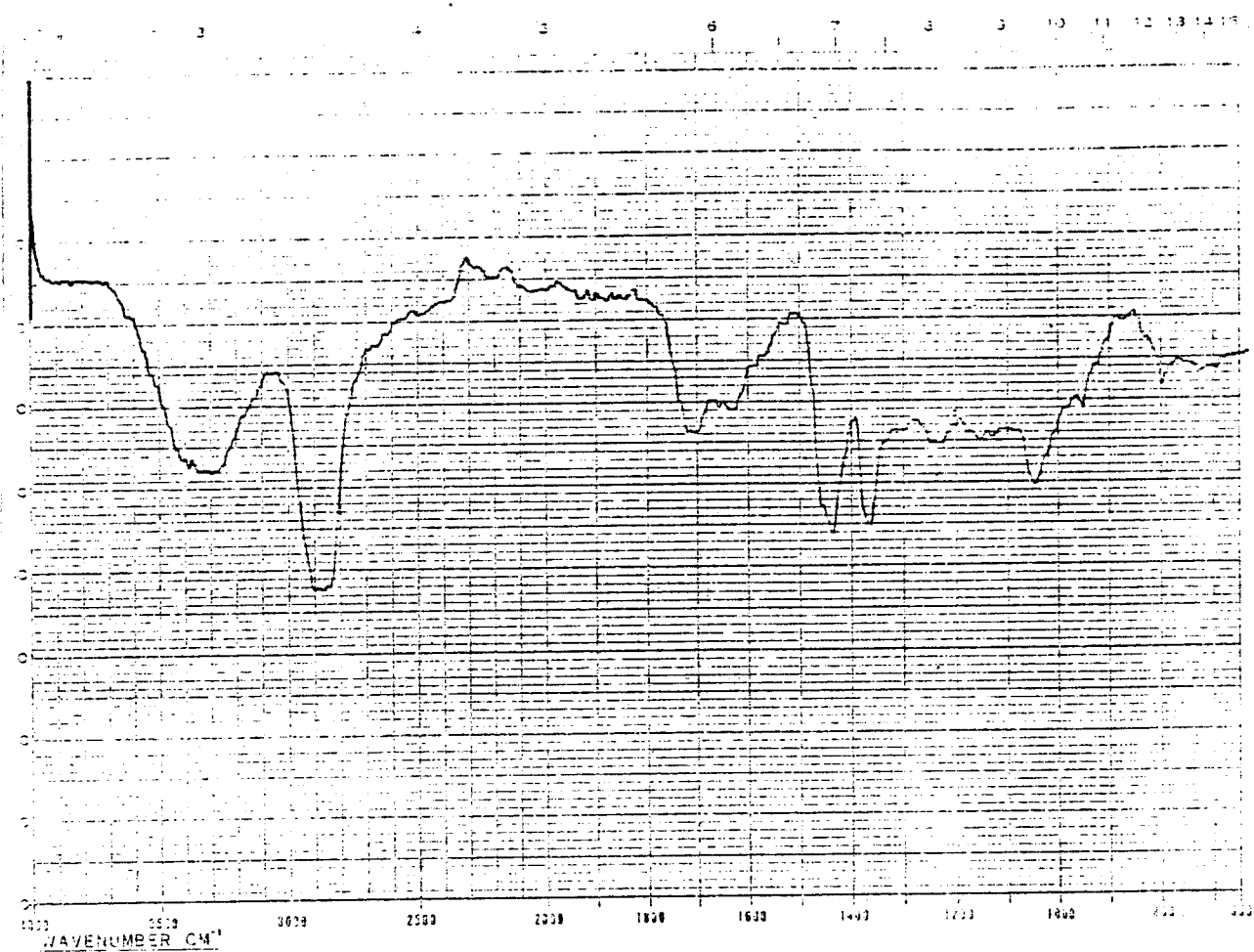


Figura 3.68 : IR e RMN ¹H do β-sitosterol

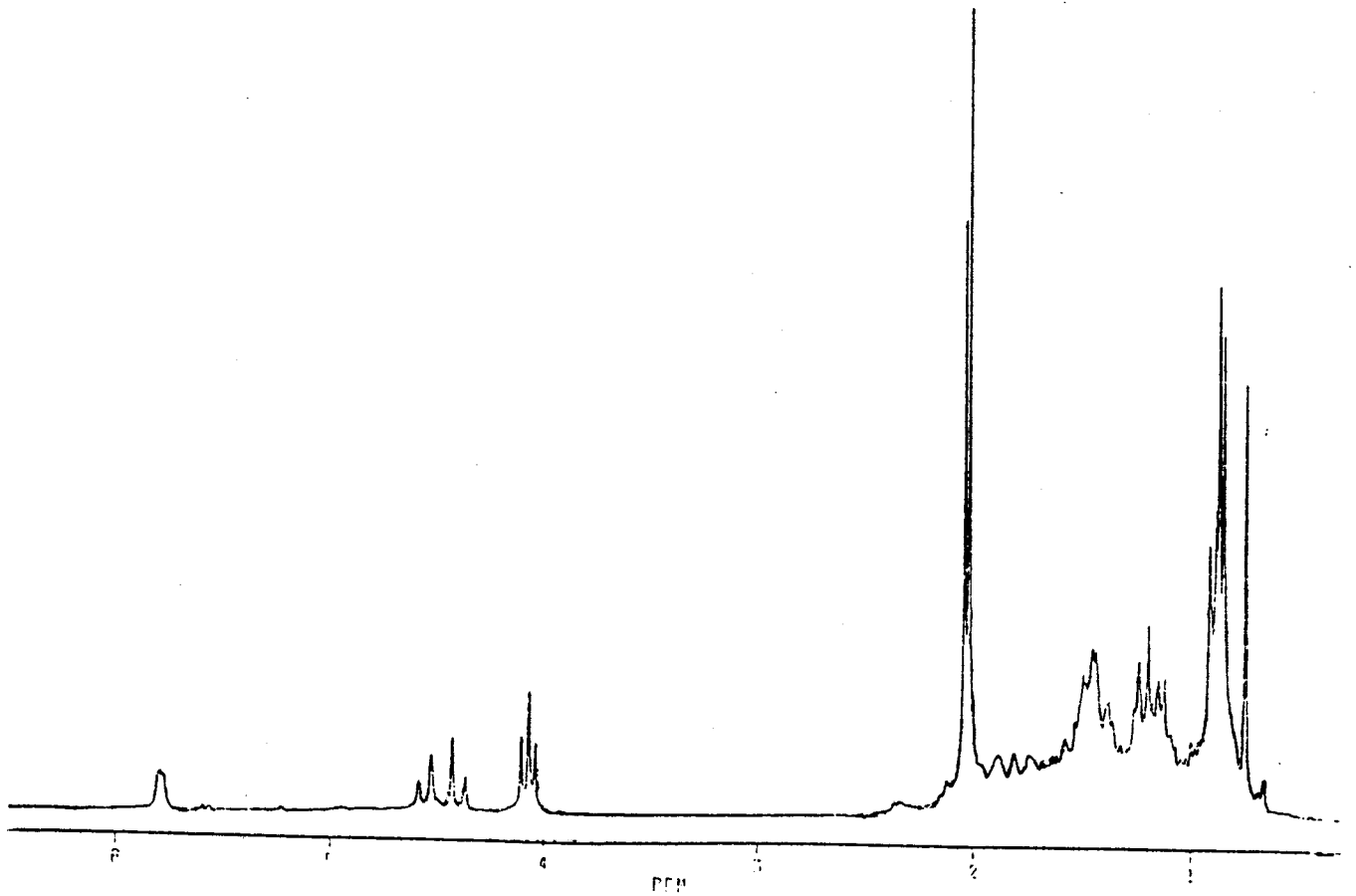
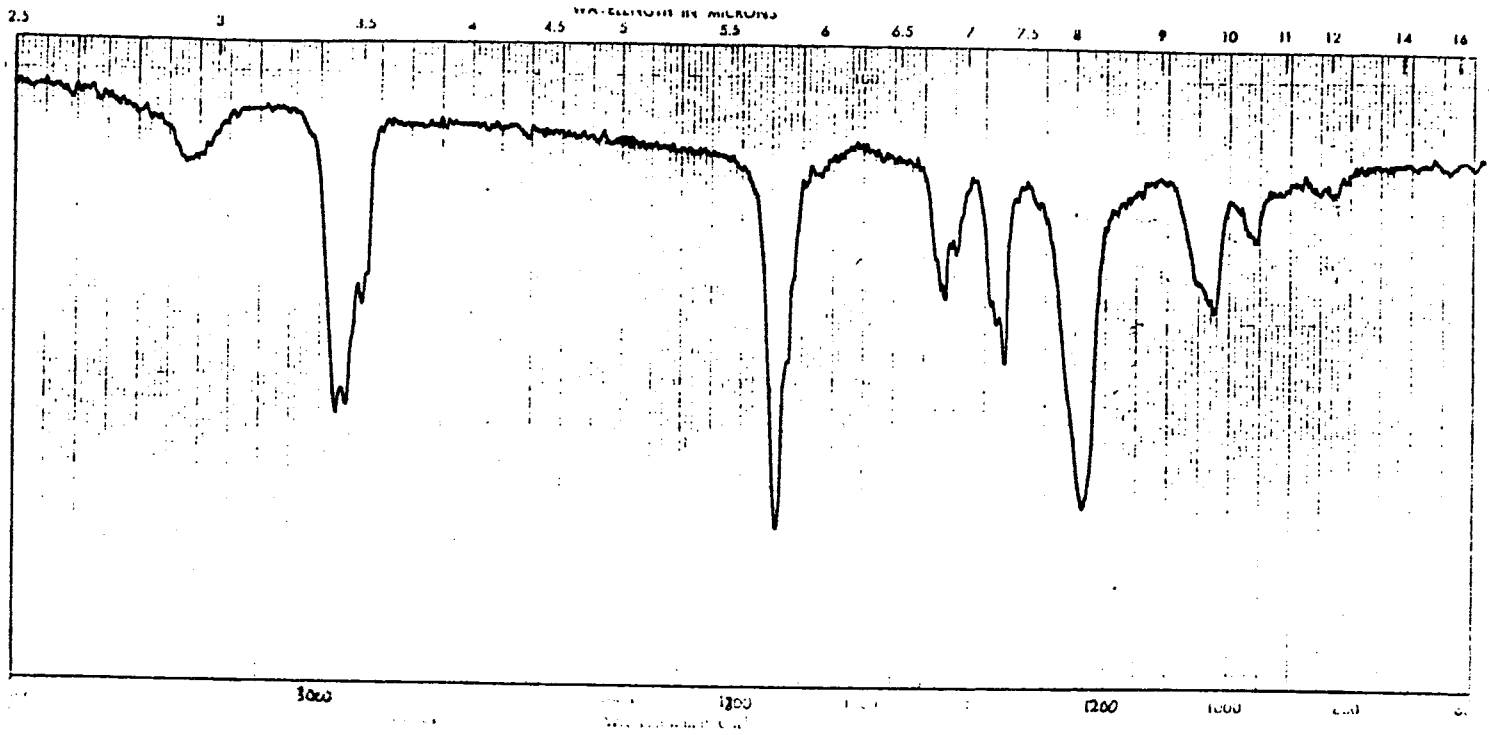
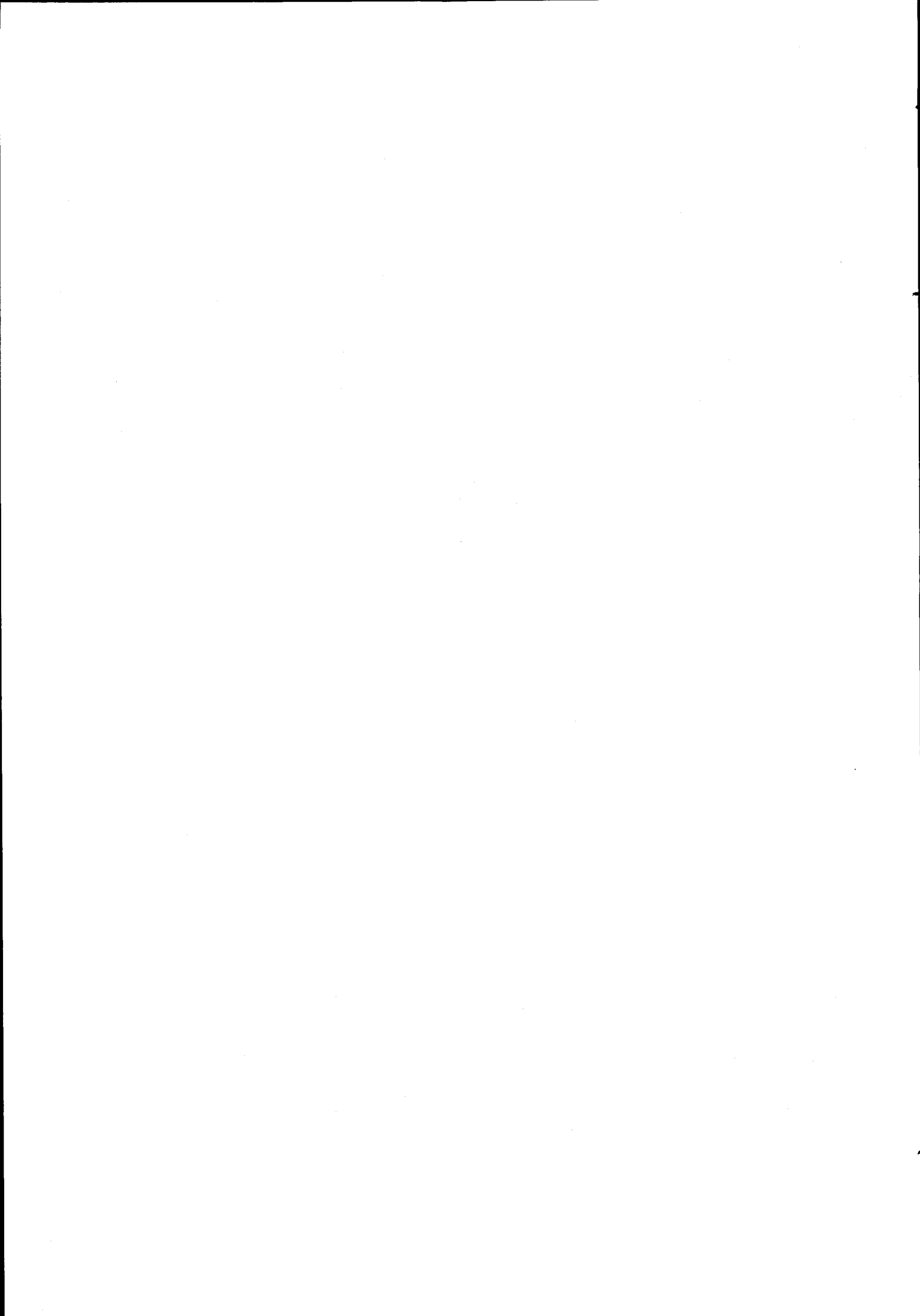


Figura 3.69 : IV e RMN ¹H do 15,17-diacetoxi-7-labdeno



Figura 3.70 : RMN ^{13}C do 15,17-diacetoxi-7-labdeno

BIBLIOGRAFIA



BIBLIOGRAFIA

- 1 - Pinto da Silva A. R., Agrom. Lusit., 1964, **24**(3), 159.
- 2 - Tabacik-Woltzka; C., Bord, M.,; Phytochemistry, 1971, **10**, 3093.
- 3 - Sanchez Marcos, I., Tesina de Licenciatura, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Junho, 1976.
- 4 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Mateos, F. G.; An. Quim. 1977, **73**, 1024.
- 5 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Montes, A.; Ibid, 1976, **72**, 713.
- 6 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Herrero, J. A.; Ibid, 1976, **72**, 867.
- 7 - Cinos de la Mano, M. S.; Tesina de Licenciatura, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Junho, 1976.
- 8 - Bermejo Gonzalez, F.; Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Dezembro, 1978.
- 9 - Sanchez Marcos, I.; Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Outubro, 1979.
- 10 - Sexmero Cuadrado, M^a. J.; Tesina de Licenciatura, Faculdade de Ciências Químicas, Universidade de Salamanca, Junho, 1981.

- 11 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Pinto del Rey, J. A.; An. Quim., 1978, **74**, 345.
- 12 - Nuñez Sanchez, L. J.; Tesina de Licenciatura, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Junho, 1978.
- 13 - Granell Sanchez, F.; Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências Químicas, Universidade de Salamanca, Setembro, 1981.
- 14 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Carrilo Sanchez, H.; An. Quím. 1978, **74**, 488.
- 15 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Llanos, A.; An. Quim., 1977, **73**, 1029.
- 16 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Carrillo, H.; Gonzalez Muñoz, M. A.; An. Quim., 1977, **75**, 140.
- 17 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Carrillo, H.; Gonzalez Muñoz, M. A.; Marcos, I. S., Phytochemistry, 1985, **24**, 791.
- 18 - Gonzalez Muñoz, M. A.; Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências Químicas, Universidade de Salamanca, Outubro, 1981.
- 19 - **a.** Pascual Teresa, J. de; Urones, J.G.; Carrillo, H.;
Ibid, 1974, **70**, 747.
- b.** Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Carrillo, H.;
Ibid, 1975, **71**, 112.

- c. Pascual Teresa, J. de; Urones, J.G.; Carrillo, H.;
An. Quim., 1978, **74**, 89.
- 20 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J.G.; Marcos I. S.; Diez
Martin, D., Alvarez, M. V.; Phytochemistry, 1986,
25, 711.
- 21 - a. Urones, J. G.; Pascual Teresa, J. de; Sanchez Mar-
cos, I., Diez Martin, D.; Martin Garrido, N.;
Alfayate Guerra, R.; Phytochemistry, 1987, **26**,
1077.
- b. Alfayate Guerra, R.; Tesina de Licenciatura, Faculd
dade de Ciências Químicas, Universidade de Salam
anca, Julho, 1985.
- 22 - Alcazar Montero, V.; Tesina de Licenciatura, Faculdade
de Ciências Químicas, Universidade de Salaman-
ca, Setembro, 1986.
- 23 - Urones G., J.; Sanchez Marcos, I.; Diez Martin, D.; Bril
to Palma, F. M. S.; L. Rodilla, J. M.; Phytochem
istry, 1987, **26**, 3037.
- 24 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Nuñez
Sanchez, L. J.; Studia Chemica, 1984, **IX**, 31.
- 25 - Cocker, J. D.; Halsall, T. G.; Borrers, A.; J. Chem.
Soc., 1956, 4259.
- 26 - Cocker, J. D.; Halsall, T. G.; Ibid, 1956, 4426.
- 27 - Cocker, J. D.; Halsall, T. G.; Ibid, 1957, 4401.
- 28 - Halsall, T. G.; Moyle, M.; J. Chem. Soc., 1960, 1324.

- 29 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Montes, A.; An. Quim., 1978, **74**, 959.
- 30 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; San Feliciano, A.; Ibid, 1972, **68B**, 727.
- 31 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Auba-
nell, F. H.; Ibid, 1979, **75**, 335.
- 32 - Ruano Jimenez, L. F.; Tesina de Licenciatura, Faculdade
de Ciências Químicas, Universidade de Salamanca,
Junho, 1980.
- 33 - Tabacik-Wlotzka, C.; Monsseron, M.; Chafai, A.; Bull.
Soc. Chim. Fr., 1963, 2299.
- 34 - Tabacik-Wlotzka, C., Ibid, 1964, 618.
- 35 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Herrero, J. A.;
Bermejo, F.; An. Quim., 1978, **74**, 531.
- 36 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Bermejo, F.;
Ibid, 1978, **74**, 1540.
- 37 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Herrero J. A.;
Ibid, 1978, **74**, 476.
- 38 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Herrero, J. A.;
Cinos, M.; Grande, M.; Ibid, 1978, **74**, 166.
- 39 - Cavero, I.; Livi, O.; Segnini, D.; Annali. Chem. Rome,
1970, **60**(7), 4621.
- 40 - Berti, G.; Livi, O.; Segnini, D.; Tet. Lett., 1970, **17**,
1401.

- 41 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; An. Quim., 1974, **70**, 155.
- 42 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Nieto Pacho, M^a J.; Ibid, 1977, **73**, 1047.
- 43 - Pascual Teresa, J. de; Urones, J. G.; Basabe, P.; Llanos, A.; Sanchez Marcos, I.; Ibid, 1979, **75**, 168.
- 44 - a. Diez Martin, D., Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências Químicas, Universidade de Salamanca, Novembro, 1986.
- b. Phytochemistry (Para publicação).
- 45 - Vogt, T., Proksch, P.; Gülz, G.; Wollenweber, E.; Phytochemistry, 1987, **26**, 1027.
- 46 - Wehrli, T. W.; Nishida, T.; Fortschritte der Chemie. Org. Natur., New York, 1979, Vol. 36.
- 47 - Breitmair, E.; Voelter, W.; "¹³C NMR Spectroscopy", Verlag Chemie Weinheim, 1978.
- 48 - Enrell, C.R.; Ryhase, R.; Arkiv. för Kemi 1964, **23**, 367.
- 49 - San Feliciano, M. A.; Tese de Doutoramento, Faculdade de Ciências, Universidade de Salamanca, Fevereiro, 1973.
- 50 - Ross, M. J.; Rickborn, B.; Org. Synthesis 1971, Vol 51, 11.
- 51 - Jayme, M.; Schaefer, P.C.; Richards, J. H.; J. Am. Chem. Soc., 1970, **92**, 2059.



52 - Hanse, H. O.; "Modern Synthetic Reactions" Ed: Benjamin
Cummings 1972, 280.

53 - Cortese, F.; Bauman, L.; J. Am. Chem. Soc., 1935, 57,
1393.