



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências

# Preparação de derivados bioativos a partir de guaienos

Sofia Maria Pombal da Silva

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Química Industrial**  
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof. Doutor Jesus Lopez Rodilla

Covilhã, Junho de 2014

"Ser cientista é abdicar, e muito. Ser cientista é adorar o trabalho que se faz (cliché?, mas é verdade). Ser cientista é ser-se um ginasta do tempo e esperar trabalhar longas horas sem picar o ponto.

(.....)

Ser cientista é rir e dar pulos de alegria quando temos aqueles resultados! É ter dias maus, muitos. Mas quando temos os bons? Ninguém nos pára. Ser cientista é nunca esquecer aquela primeira memória"

*Andreia Penado*

# Agradecimentos

Após meses de dedicação a este trabalho que culmina nesta tese, é com enorme emoção que escrevo estas poucas linhas de agradecimento a todos aqueles que, de alguma forma, me ajudaram a levar este trabalho a bom porto.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Professor Doutor Jesus Miguel L. Rodilla, do Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, pela confiança que em mim depositou e deposita bem como por toda a orientação científica que me prestou. Sem ele não estaria a concluir este trabalho.

À Professora Doutora Maria Lúcia Silva, do Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, pelo apoio prestado durante a realização deste trabalho e pelas palavras de incentivo nos momentos de derrota.

Ao Professor Catedrático Doutor David Díez Martín, do Departamento de Química Orgânica da Universidade de Salamanca, pelo conhecimento científico transmitido, bem como ao Doutor César Raposo do Servicio General de Espectrometria de Massas, pela realização dos espectros de massa.

Às colegas de laboratório, Maria Domingues, Cláudia Spranger e restantes elementos pelos bons tempos passados e por toda a ajuda que me deram; ao Rafael Couto e à Vera Costa pela amizade, palavras de incentivo e ajuda disponibilizada. Sem o vosso apoio este trabalho não teria chegado a tão bom porto.

Agradecimento muito especial às minhas grandes companheiras de aventuras Carolina Fontes e Cláudia Sousa pelo que me ensinaram e pelas noites/dias de alegria e tristeza, passados numa casa onde predominavam “Sete desconhecidos, Sete nome e Três amizades”, sem vocês não seria possível chegar até aqui.

Por fim, mas não menos importante, a minha família, em especial à minha mãe e ao meu irmão, pois sem o vosso espírito de sacrifício e sem o vosso incentivo nada seria possível.

A todos os amigos, Ubianos ou não, agradeço o apoio e a paciência que tiveram para comigo. Nestes anos, amizades foram feitas e outras desfeitas mas os verdadeiros amigos perduraram.

Obrigado por tudo!

## Resumo

As reações químicas são utilizadas desde a antiguidade e ao longo dos anos novos conhecimentos têm sido adquiridos, permitindo assim melhorar os processos já existentes e a criação de novos métodos para serem aplicados nas mais diversas áreas científicas.

No presente trabalho, foram realizados três tipos de reações: epoxidação, oxidação e esterificação. O objetivo da sua realização deve-se ao facto da necessidade de estabilizar os produtos já conhecidos designados de guaiol e bulnesol. Para a sua realização foram utilizadas diferentes condições: tipo de substrato, quantidade de substrato, tempo de reação e temperatura.

Para tal, realizou-se a reação de oxidação utilizando dióxido de selênio e na qual se obteve o produto 2-hidroxibulnesol, utilizando como substrato de partida uma mistura equilibrada de guaiol e bulnesol.

A reação de epoxidação foi realizada com n-bromosuccinimida e obtiveram-se dois produtos o 5,11-epoxiguaiano e o 10,11-epoxiguai-1-en-9-ol. Foi uma reação realizada com a mistura de guaiol e bulnesol.

As reações de esterificação foram realizadas utilizando reagentes desde cadeias longas (C6) até cadeias pequenas (C3) permitindo assim verificar qual o tipo de condição que melhor podia satisfazer o nosso objetivo. Os produtos obtidos neste tipo de reação foram: 6'-bromo-hexanoato de guaílo e 6'-bromo-hexanoato de bulnesílo utilizando o cloreto 6-bromohexanoílo; 5'-bromovaleroato de guaílo e 5'-bromovaleroato de bulnesílo utilizando o cloreto 5-bromovalerílo; silaciclobutano-3-carboxilato de guaiol, 4'-bromobutirato de guaílo e 4'-bromobutirato de bulnesílo utilizando o cloreto 4-bromobutirílo; acrilato de guaílo e acrilato de bulnesílo utilizando o cloreto de acrilóilo e o acetato de guaiol e de bulnesol utilizando o anidrido acético.

Foi ainda realizada uma reação na qual se utilizou o acrilato de guaílo e acrilato de bulnesílo com o polietilenoglicol (PEG 400), na qual se obteve o 3'-PEGpropanoato de guaílo e o 3'-PEGpropanoato de bulnesílo.

Após a realização das reações todos os produtos foram submetidos à separação de cromatografia em coluna e todos foram analisados por ressonância magnética nuclear (RMN). Contudo apenas os produtos puros foram submetidos a espectroscopia de infravermelho (IV) e à espectroscopia de massa de alta resolução.

## Palavras-chave

Guaiol; bulnesol; oxidação; epoxidação; esterificação;

# Abstract

The chemical reactions are used since antiquity and over the years new knowledge has been acquired, for improving processes that existing and create new methods to be applied in various scientific fields.

In this study, three types of reactions were performed: epoxidation, oxidation and esterification. The purpose of their realization is due to the fact that need to stabilize the known products designated guaiol and bulnesol. For realization this work are used different conditions: type of substrate, amount of substrate, time of reaction and temperature.

The oxidation reaction was used selenium dioxide and the obtained product is 2-hydroxybulnesol, using as substrate with mixture of guaiol and bulnesol.

The epoxidation reaction was realized with n-bromosuccinimide and the obtained products are 5,11-epoxyguaiane and 10,11-epoxyguai-1-en-9-ol. This reaction was made with a guaiol and bulnesol mixture.

The esterification reaction were performed using reagent from long chain (C6) to small chains (C3) allowing see what the type of conditions that could better. The obtained products are: guaiol 6'-bromohexanoate and bulnesol 6'-bromohexanoate using 6-Bromohexanoyl chloride; guaiol 5'-bromovaleroate and bulnesol 5'-bromovaleroate using 5-Bromovaleryl chloride; guaiol silaciclobutane-3-carboxilate, guaiol 4'-bromobutirate and bulnesol 4'-bromobutirate using 4-Bromobutyryl chloride; guaiol acryloate and the bulnesol acryloato using a acryloyl chloride; and the guaiol acetate and bulnesol acetate using acetic anhydride.

It was also conducted in a reaction which used the guaiol acryloate and the bulnesol acryloate with polyethylene glycol (PEG 400) and the obtained products are guaiol 3'-PEGpropanoate and bulnesol 3'-PEGpropanoate.

After all reactions, the products were subject to a separation in column chromatography and they were analyzed for nuclear magnetic resonance (NMR). However, only pure products were subject to analyze to infrared spectroscopy (IR) and high mass resolution spectroscopy.

## Keywords

Guaiol; bulnesol; oxidation; epoxidation; esterification.

# Índice

CAPÍTULO I .....	1
Introdução .....	1
Capítulo II .....	4
Introdução teórica .....	4
2.1. Óleos essenciais .....	5
2.1.2 Fatores de variabilidade .....	6
2.1.3 Citotoxicidade .....	6
2.1.4 Efeitos cancerígenos dos óleos essenciais .....	6
2.1.5 Óleo sintético vs óleo natural .....	7
2.2 Métodos de extração de óleos essenciais .....	9
2.2.1 Destilação .....	9
2.2.1.1 Destilação com água .....	9
2.2.1.2 Destilação por arraste de vapor .....	10
2.2.2 Hidrodifusão .....	11
2.2.3 Extração com solventes orgânicos .....	11
2.2.4 Extração por fluido supercrítico .....	11
2.2.5 Enfloração .....	12
2.2.6 Prensagem .....	12
2.3 Análise dos componentes dos óleos essenciais .....	13
2.3.1 Cromatografia gasosa .....	13
2.3.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa .....	15
2.3.3 Espectroscopia de infravermelho .....	16
2.3.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	16
2.4 Terpenos .....	17
2.5 <i>Bulnesia sarmientoi</i> .....	21
2.6 Guaiol e Bulnesol .....	22
2.6.1. Fontes de obtenção .....	22
2.6.2 Aplicações .....	22
CAPÍTULO III .....	25
Materiais e métodos .....	25
3.2 Reagentes .....	27
3.3. Técnicas cromatográficas .....	27
3.3.1. Cromatografia em camada fina .....	27
3.3.2. Cromatografia em coluna .....	27
3.4. Extração dos produtos .....	28
3.5. Separação dos componentes .....	28
3.6. Caracterização dos produtos .....	28
3.7. Cálculos .....	29
CAPÍTULO IV .....	30
Resultados e discussão .....	30
4.1. Oxidação de guaiol e bulnesol com $\text{SeO}_2$ .....	33
4.1.1. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol .....	33
4.2. Epoxidação de guaiol e bulnesol com NBS .....	37
4.3. Esterificação de guaiol e bulnesol .....	40
CAPÍTULO V .....	61
Conclusão .....	61
CAPÍTULO VI .....	65

Bibliografia.....	65
Apêndice.....	70

# Lista de Figuras

Figura 1. Esquema de uma montagem para destilação com água.....	9
Figura 2. Esquema de uma montagem para extração em Clevenger .....	10
Figura 3. Sistema de destilação por arraste de vapor. ....	10
Figura 4. Esquema de uma montagem de extração em Soxhlet. ....	11
Figura 5. Exemplo de enfloração.....	12
Figura 6. Esquema de cromatografia gasosa. ....	13
Figura 7. Exemplo de isopreno. ....	17
Figura 8. Acoplamento cabeça-a-cauda de dois isoprenos .....	17
Figura 9. Formação dos pirofosfatos de isopentenilo e de dimetilalilo a partir de acetil CoA. ....	17
Figura 10. Formação de pirofosfato de geranilo .....	18
Figura 11. Formação de limoneno a partir de pirofosfato de geranilo .....	18
Figura 12. Compostos maioritários da <i>Bulnesia sarmientoi</i> .....	21
Figura 13. Epóxidos de guaiol.....	23
Figura 14. Produtos de desidratação do guaiol .....	23
Figura 15. Produto da oxidação do guaiol .....	24
Figura 16. Atribuição da numeração do guaiol e do bulnesol. ....	31
Figura 17. Representação dos compostos obtidos na reação de oxidação. ....	34
Figura 18. Estrutura proposta para o composto 1.....	35
Figura 19. Estrutura proposta para o composto 2.....	37
Figura 20. Representação dos compostos obtidos na reação de epoxidação.....	38
Figura 21. Estrutura proposta para o composto 3.....	39
Figura 22. Estrutura proposta para o composto 4.....	40
Figura 23. Representação dos compostos 5 e 6. ....	42
Figura 24. Estruturas propostas para o composto 5 e 6.....	43
Figura 25. Representação dos compostos 7 e 8. ....	45
Figura 26. Estruturas propostas para o composto 7 e 8.....	46
Figura 27. Representação dos compostos obtidos na reação de esterificação, 9, 10 e 11. ....	47
Figura 28. Estrutura proposta para o composto 9.....	49
Figura 29. Estruturas propostas para o composto 10 e 11. ....	50
Figura 30. Estruturas dos compostos 12 e 13 .....	51
Figura 31. Estrutura proposta para o composto 12. ....	52
Figura 32. Estrutura proposta para o composto 13. ....	54
Figura 33. Estruturas dos compostos 14 e 15. ....	55
Figura 34. Estruturas propostas para o composto 14 e 15. ....	56
Figura 35. Estruturas dos compostos 16 e 17. ....	58
Figura 36. Estrutura proposta para o composto 16. ....	59
Figura 37. Estrutura proposta para o composto 17. ....	60
Figura 38. Espectro de <sup>1</sup> H-RMN do guaiol. ....	71

Figura 39. Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN do guaiol. ....	71
Figura 40. Espectro de IV do guaiol. ....	72
Figura 41. Espectro de $^1\text{H}$ -RMN do bulnesol. ....	72
Figura 42. Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN do bulnesol.....	73
Figura 43. Espectro de IV do bulnesol. ....	73
Figura 44. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 1.....	74
Figura 45. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 1. ....	74
Figura 46. Espectro de IV do composto 1. ....	75
Figura 47. Espectro de massa de alta resolução do composto 1. ....	75
Figura 48. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 2. ....	76
Figura 49. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 2. ....	76
Figura 50. Espectro de IV do composto 2. ....	77
Figura 51. Espectro de massa de alta resolução do composto 2. ....	77
Figura 52. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 3.....	78
Figura 53. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 3. ....	78
Figura 54. Espectro de infravermelho do composto 3. ....	79
Figura 55. Espectro de massa de alta resolução do composto 3. ....	79
Figura 56. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 4.....	80
Figura 57. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 4. ....	80
Figura 58. Espectro de infravermelho do composto 4. ....	81
Figura 59. Espectro de massa de alta resolução do composto 4. ....	81
Figura 60. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 5 e 6. ....	82
Figura 61. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 5 e 6. ....	82
Figura 62. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 7 e 8. ....	83
Figura 63. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 7 e 8. ....	83
Figura 64. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 9.....	84
Figura 65. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 9. ....	84
Figura 66. Espectro de IV do composto 9. ....	85
Figura 67. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 10 e 11. ....	85
Figura 68. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 10 e 11. ....	86
Figura 69. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 12. ....	86
Figura 70. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 12. ....	87
Figura 71. Espectro de IV do composto 12. ....	87
Figura 72. Espectro de massa de alta resolução do composto 12. ....	88
Figura 73. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 13. ....	88
Figura 74. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 13. ....	89
Figura 75. Espectro de IV do composto 13. ....	89
Figura 76. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 14 e 15. ....	90
Figura 77. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 14 e 15. ....	90
Figura 78. Espectro de IV do composto 14 e 15.....	91

Figura 79. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 16. ....	91
Figura 80. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 16. ....	92
Figura 81. Espectro de IV do composto 16. ....	92
Figura 82. Espectro de massa de alta resolução do composto 16. ....	93
Figura 83. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 17. ....	93
Figura 84. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 17. ....	94
Figura 85. Espectro de IV do produto composto 17. ....	94
Figura 86. Espectro de massa de alta resolução do composto 17. ....	95

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Componentes dos óleos essenciais de maior consumo internacional .....	5
Tabela 2. Exemplos de óleos essenciais testados à sua capacidade citotóxica sobre organismos padrão .....	7
Tabela 3. Classificação dos Terpenos .....	19
Tabela 4. Algumas propriedades farmacológicas de mono-, sesqui-, e diterpenos .....	20
Tabela 5. Dados de RMN $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ para o guaiol.....	32
Tabela 6. Dados de RMN- $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ para o bulnesol.....	32
Tabela 7. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de oxidação.....	33
Tabela 8. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 1. ....	34
Tabela 9. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 2. ....	36
Tabela 10. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de oxidação. ....	37
Tabela 11. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 3.....	38
Tabela 12. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e de $^1\text{H}$ do composto 4.....	39
Tabela 13. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	41
Tabela 14. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 5.....	43
Tabela 15. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	44
Tabela 16. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 7.....	45
Tabela 17. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	47
Tabela 18. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 9.....	48
Tabela 19. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 11. ....	49
Tabela 20. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	51
Tabela 21. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 12. ....	52
Tabela 22. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 13. ....	53
Tabela 23. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	54
Tabela 24. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ composto 14. ....	55
Tabela 25. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação. ....	57
Tabela 26. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ e $^1\text{H}$ do composto 16. ....	58
Tabela 27. Sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto 17. ....	59

## Lista de Acrónimos

ISSO	Organização Internacional de Padrões
GC	Cromatografia Gasosa
GC-MS	Cromatografia Gases-Massa
IV	Infravermelho
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Tr	Tempo retenção
m/z	Relação massa/carga
<sup>1</sup> H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Protão
<sup>13</sup> C RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
OPP	Pirofosfato alílico primário
mL	Militros
mg	Miligrama
g	Gramas
%	Porcentagem
CC	Cromatografia em coluna
CCF	Cromatografia em camada fina
h	Horas
Na	Sódio

# CAPÍTULO I

## Introdução

# 1. Introdução

Os hábitos culturais das mais diversas sociedades desde sempre foram influenciados pela Química. Atualmente, no nosso quotidiano é possível encontrar muitos produtos que apenas foram possíveis de ser comercializados por serem o resultado da investigação em química orgânica e áreas afins, abrangendo desde alimentos, medicamentos, detergentes, combustíveis, entre outros.

As plantas constituem uma fonte de substâncias biologicamente ativas bastante importante, sendo que muitas delas podem servir de modelos para a síntese de um grande número de compostos, devido à sua diversidade estrutural e às suas propriedades físico-químicas e biológicas.

Os avanços que nas últimas décadas se fizeram em torno dos processos químicos analíticos, nomeadamente, novos métodos cromatográficos e espetrométricos, aperfeiçoando cada vez mais o equipamento, de modo a possibilitar um melhor conhecimento da composição química das plantas e estrutura dos seus componentes ativos.

O uso dos constituintes das plantas está cada vez mais direcionado para a saúde, permitindo assim a descoberta de novos compostos bioativos que permitem a sua aplicação nas mais diversificadas área da saúde, por exemplo a sua aplicação na área oncológica, criando assim tratamentos menos agressivos e mais económicos e permitindo a todos os cidadãos o seu uso. Neste contexto, o projeto seguidamente apresentado teve em vista a obtenção de novos compostos com potencial atividade biológica, através da transformação química, adição e/ou modificação de grupos funcionais capazes de serem manipulados e permitirem obter novos derivados biologicamente ativos a partir de produtos naturais, nomeadamente a partir de um composto terpenico com esqueleto de guaiano, o guaiol.

Os procedimentos realizados ao longo deste são essencialmente reações de oxidação, epoxidação e esterificação. Cada produto reacional obtido foi purificado e analisado através de técnicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de carbono e protão,  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ , respetivamente, e através de cromatografia gasosa-massas (GC-MS) e de massa de alta resolução.

Este trabalho encontra-se estruturado em 5 capítulos, sendo o primeiro, uma breve introdução ao trabalho desenvolvido.

No segundo capítulo encontram-se os fundamentos teóricos para a realização deste trabalho e está dividido em 6 partes. Na primeira parte descreve-se brevemente o que são os óleos essenciais. Na segunda parte são descritos diferentes métodos de extração de óleos essenciais, permitindo assim um melhor conhecimento desde técnicas mais simples a técnicas mais sofisticadas. Na terceira parte descreve-se um pouco o tipo de métodos que podem ser utilizados na análise dos óleos essenciais. Na quarta parte dá-se a descrição do que são compostos terpenicos, origem e obtenção. Na quinta parte pode ser lida uma breve descrição da planta *Bulnesia sarmientoi* onde se pode observar que os compostos a manipular durante o

restante trabalho são os seus constituintes maioritários. Na sexta e última parte são descritos os produtos que serão utilizados como substratos na realização deste trabalho.

No terceiro capítulo são descritos os materiais e métodos que ao longo do trabalho foram realizados. Finalizando o trabalho tem-se o quarto capítulo onde são descritos os resultados obtidos e a discussão desses e por fim, no último e quinto capítulo as conclusões tiradas sobre o trabalho realizado.

## Capítulo II

### Introdução teórica

## 2.1. Óleos essenciais

O uso de óleos e o conhecimento das suas propriedades curativas é conhecido desde as antigas civilizações, podendo considerar-se um dos mais antigos métodos de medicina e de cosmética<sup>[1,2,3]</sup>.

Os óleos essenciais são definidos pela Organização Internacional de Padrões (ISO) como produtos obtidos a partir de partes de plantas através de destilação por arraste de vapor de água; bem como produtos obtido por prensagem de pericarpos de frutos, sendo, na generalidade, misturas complexas de substâncias voláteis e lipofílicas, usualmente odoríferas e líquidas à temperatura ambiente. Este tipo de óleo pode ainda ser definido por óleo etéreo ou por essência. Estes nomes são baseados em algumas características físicas e no seu aspeto oleoso à temperatura ambiente. No entanto, a sua característica mais acentuada é a volatilidade, o que os distingue dos óleos fixos, que são caracterizados por misturas de substâncias lipídicas, normalmente obtidas de sementes<sup>[4]</sup>.

Os óleos essenciais são normalmente incolores, podendo, no entanto apresentar uma cor amarelada quando extraídos recentemente. Por não serem muito estáveis, em contacto com o ar, luz, calor, humidade ou metais, adquirem um sabor ácido e picante. A maioria das essências possui índice de refração e são ópticamente ativas, sendo estas características utilizadas na identificação e no controlo de qualidade<sup>[1]</sup>.

Os óleos apresentam características muito definidas tais como: aroma agradável e intenso, solubilidade em álcoois e solventes orgânicos apolares; porém, em água poucos se conseguem dissolver e a pequena quantidade que é solúvel em água permite dar o aroma à solução aquosa, criando assim a designada água perfumada ou hidrolato<sup>[1]</sup>.

As essências de origem vegetal podem ser aplicadas em massagens, perfume, bem como inaladas ou ingeridas por via oral, como se de um medicamento tradicional se tratasse.

Na tabela 1 encontram-se alguns componentes dos óleos essenciais de maior consumo internacional.

Tabela 1. Componentes dos óleos essenciais de maior consumo internacional<sup>[4]</sup>.

<b>Composto maioritário</b>	<b>Planta de obtenção</b>	
	<b>Nome comum</b>	<b>Nome científico</b>
<b>Pineno</b>	Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<b>Mirceno</b>	Pinus	<i>Pinus spp</i>
<b>Mentol</b>	Hortelã	<i>Mentha spp</i>
<b>Eucaliptol</b>	Eucalipto	<i>Eucalyptus spp</i>
<b>Cariofileno</b>	Erva-cidreira-brasileira	<i>Lippia alba</i>
<b>Canfora</b>	Ecanforeira	<i>Cinnamomun camphora</i>
<b>Timol</b>	Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>

### **2.1.2 Fatores de variabilidade**

A composição química da essência de cada planta é determinada geneticamente, dado que, em geral, é específica para cada órgão e característica no seu estágio de desenvolvimento, podendo assim variar com alterações das condições ambientais<sup>[5]</sup>.

Os óleos essenciais podem ser extraídos de diferentes partes da planta, ou seja, das flores, das folhas, das cascas, dos caules, do tronco, dos rizomas, dos frutos ou mesmo até das sementes. Apesar de os óleos existirem em todos estes locais da planta, podem ter composições bastante variadas. Um exemplo deste caso é o óleo da casca de canela que é rico em aldeído cinâmico, enquanto o óleo das suas folhas e raízes é rico em eugenol e cânfora, respetivamente<sup>[4]</sup>.

A variação da composição química das essências de cada planta é devida a determinados fatores, tais como: condições climáticas a que a planta está exposta; a composição do solo e o adubo que podem influenciar dramaticamente o desenvolvimento da planta; o ataque por parte de insetos e outros animais, podendo assim atacar direta ou indiretamente as raízes, os caules, as folhas e as flores <sup>[2]</sup>.

### **2.1.3 Citotoxicidade**

Os óleos essenciais podem coagular o citoplasma, podendo danificar os lípidos e as proteínas; também a parede celular e a membrana celular podem sofrer danos, levando à lise celular<sup>[6,7]</sup>.

A propriedade citotóxica tem um elevado interesse na aplicação dos óleos essenciais, não só para humanos, mas também contra agentes patogénicos em animais, como parasitas, e também para a preservação de produtos agrícolas ou marinhos. Os óleos essenciais têm uma elevada eficácia contra a grande variedade de organismos, incluindo bactérias, fungos, parasitas, ácaros, larvas, insetos e moluscos<sup>[8]</sup>.

Existe uma enorme variedade de óleos essenciais ou de compostos neles existentes que foram testados contra uma grande variedade de organismos (tabela 2).

### **2.1.4 Efeitos cancerígenos dos óleos essenciais**

Alguns dos componentes dos óleos essenciais podem ser considerados como agentes secundários cancerígenos após a sua ativação no metabolismo<sup>[8]</sup>. Existem outras moléculas fotossensibilizantes como flavonas, cianinas, porfirinas, hidrocarbonetos que podem causar eritema ou cancro da pele, após uma extensa exposição à luz ultravioleta<sup>[9,10]</sup>.

Tabela 2. Exemplos de óleos essenciais testados à sua capacidade citotóxica sobre organismos padrão<sup>[8]</sup>.

<b>Óleo essencial / componente</b>	<b>Organismo</b>
<b>Tamarix boveana</b>	<i>Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus, Salmonella typhimurium, Fusarium oxysporum, Aspergillus niger, Penicillium sp., Alternaria sp.</i>
<b>Melissa officinalis</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Salmonella, Sarcina lutea, Micrococcus flavus, Staphylococcus, Bacillus subtilis, Trichophyton</i>
<b>Limoneno</b>	<i>Microsporium canis, Epidermophyton floccosum, Candida albicans</i> <i>Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae</i>
<b>Cânfora</b>	<i>Aspergillus terreus, Cladosporium cladosporioides, Fusarium tricinctum, Penicillium ochrochloron, Penicillium funiculosum, Phonopsis helianthi, Trochoderma viride, Trichophyton mentagrophytes, Microsporium canis, Epidermophyton floccosum</i>

### 2.1.5 Óleo sintético vs óleo natural

Usualmente os óleos essenciais apresentam problemas de qualidade, que podem ter origem na diversidade da sua composição, na adulteração, na falsificação ou até mesmo na incorreta identificação do produto, já que a maioria dos produtores de óleos essenciais comercializados não identifica corretamente a planta de onde foi extraído e/ou obtido.

A adulteração e a falsificação de óleos essenciais já se conhecem desde, possivelmente, a época dos ditos “alquimistas”. Este tipo de falsificação pode implicar severos danos para a saúde, já que a composição dos óleos naturais pode ser completamente distinta dos óleos sintéticos, causando assim intoxicações bastante severas<sup>[1]</sup>.

Outra diferença entre estes óleos é a proibição do seu uso a nível psicológico e homeopático, dado que os óleos naturais não transportam consigo a energia da planta, perdendo assim a sua utilidade terapêutica. Contudo, é importante diferenciar os produtos quando adquiridos, para que os seus benefícios sejam garantidos, uma vez que existem enormes dificuldades em distinguir os dois tipos de produtos. Existem alguns fatores que se devem ter em conta quando se adquire um óleo, tais como<sup>[4]</sup>:

- Não podem ser vendidos em vidro transparente, uma vez que, quando expostos à luz, oxidam facilmente;

- Não podem ter cores extravagantes, como roxo e lilás, salvo exceção de algum caso como a camomila (coloração azul), sendo que os óleos naturais têm uma coloração que vai desde o transparente ao amarelo claro;
- Não se podem dissolver facilmente em água, uma vez que são óleos. Se se adicionar uma gota em água e a mesma ficar turva, é indício de falsificação. Contudo, este tipo de teste já começa a desaparecer uma vez que os óleos naturais, hoje em dia, têm vindo a ser adulterados por óleos designados de carreadores, que posteriormente, apresentam características semelhantes aos naturais, não se misturando em água;
- Não podem cheirar a álcool ou óleo de cozinha;
- O preço é bastante elevado;
- Têm maior durabilidade na pele.

Para se falsificarem os óleos, pode-se recorrer à<sup>[4]</sup>:

- Adição de compostos sintéticos de baixo preço, tal como álcool benzílico, ésteres do ácido ftálico e até mesmo hidrocarbonetos clorados;
- Adição de substâncias sintéticas, que usualmente são os componentes principais do óleo em questão;
- Falsificação completa do óleo através de uma mistura de substâncias sintéticas.

## 2.2 Métodos de extração de óleos essenciais

Quando se considera a qualidade e a composição de um óleo essencial, é fundamental considerar o método de extração a utilizar, uma vez que cada óleo essencial tem as suas próprias características e a sua própria localização no produto natural; ou seja a mesma planta, normalmente, tem produtos nas raízes que não tem nas folhas e vice-versa.

A eficiência na extração e o rendimento final de óleo dependerá do método utilizado para a sua extração<sup>[11]</sup>.

### 2.2.1 Destilação

A destilação é o processo mais utilizado para a extração de óleos essenciais. Este tipo de processo pode ser realizado de duas maneiras: com vapor de água ou por hidrofusão<sup>[11,12]</sup>.

#### 2.2.1.1 Destilação com água

Este processo de extração consiste no uso de um balão de destilação, onde é colocada a amostra emergida em água; um condensador, de forma a arrefecer e condensar o vapor de água produzido; e, por fim, o recetor onde será recolhido o óleo, como demonstra a figura 1.

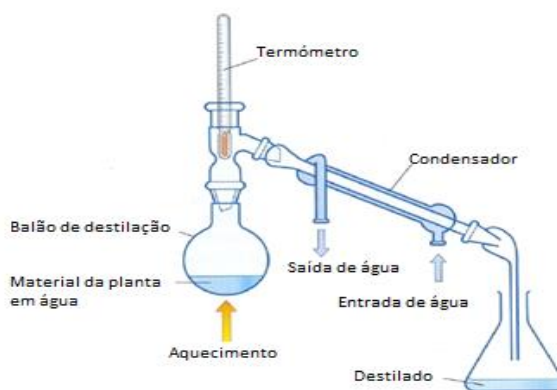


Figura 1. Esquema de uma montagem para destilação com água<sup>[11,12]</sup>.

Outro exemplo deste tipo de extração, mais usado e que está recomendado pela Farmacopeia Europeia, é a hidrodestilação em *Clevenger*. Este processo é bastante idêntico ao anterior, a diferença é que não é necessário colocar todos os materiais de condensação e recetor, uma vez que o próprio sistema de *Clevenger* inclui tudo isso, como mostra a figura 2<sup>[11,12]</sup>.

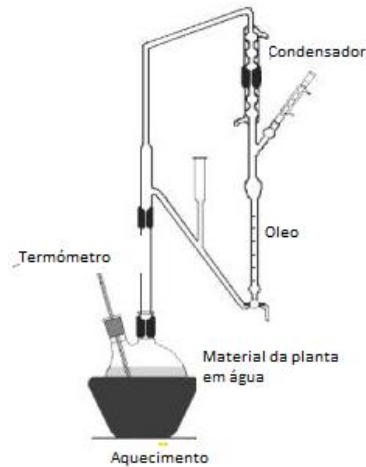


Figura 2. Esquema de uma montagem para extração em Clevenger<sup>[11,12]</sup>..

### 2.2.1.2 Destilação por arraste de vapor

A destilação por arraste de vapor consiste em fazer passar vapor por um recipiente que contém o material da planta, vapor esse que arrasta o óleo essencial, como se pode observar na figura 3.

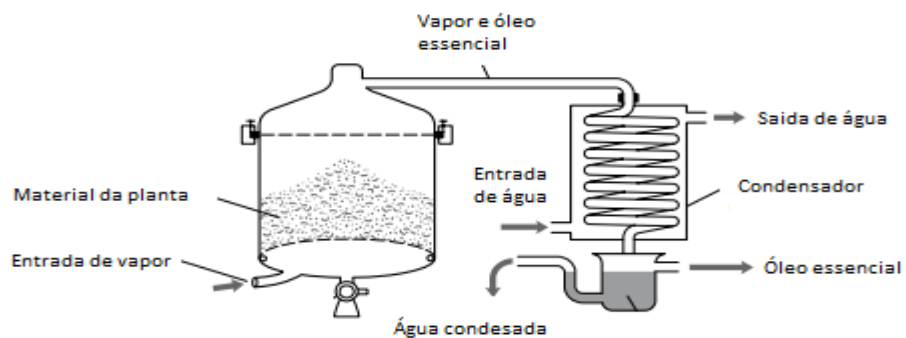


Figura 3. Sistema de destilação por arraste de vapor<sup>[13]</sup>.

Este tipo de extração é rápido, impedindo assim a danificação compostos. É uma boa técnica para a extração de compostos voláteis, principalmente de monoterpenos e diterpenos. Contudo, os óleos essenciais extraídos por este processo necessitam de uma posterior purificação, especialmente para remover resíduos de água. Este tipo de extração é a mais utilizada a nível industrial não só por ser económica, mas também por ser rentável e confiável<sup>[11,12,13]</sup>.

### 2.2.2 Hidrodifusão

A hidrodifusão é uma extração também designada por percolação. Neste processo, o vapor sob pressão atmosférica é dispersado do topo de uma câmara diretamente sobre o material da planta. Desta forma, o vapor satura o material, mas em menor tempo que na destilação a vapor. Este método é também menos severo do que a destilação a vapor, uma vez que os óleos essenciais resultantes têm um aroma semelhante ao da planta original<sup>[11,12,13]</sup>.

### 2.2.3 Extração com solventes orgânicos

Os óleos essenciais podem ser extraídos com solventes orgânicos, como éter, éter de petróleo, diclorometano, acetona, etanol, entre outros. Em alguns processos de extração o material da planta pode ser dividido em pedaços mais pequenos, de forma a permitir uma melhor penetração do solvente

Quando é usado um solvente para extrair os compostos naturais, cria-se uma mistura de óleo essencial com ceras, gorduras, parafinas e pigmentos, necessitando assim de uma purificação posterior.

A extração com solventes orgânicos é normalmente realizada num Soxhlet, em diferentes extrações com diferentes solventes, utilizando sempre temperatura<sup>[11,12,13]</sup>. A figura 4 mostra um esquema de uma montagem de extração em Soxhlet.

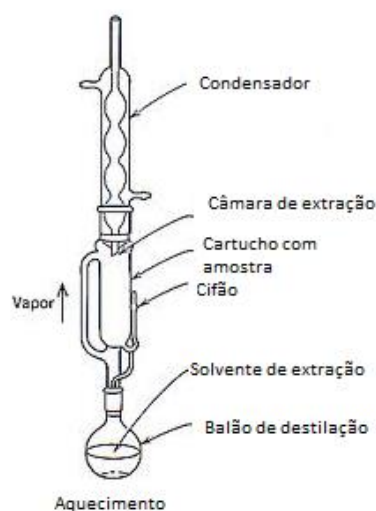


Figura 4. Esquema de uma montagem de extração em Soxhlet <sup>[12]</sup>.

### 2.2.4 Extração por fluido supercrítico

A extração por fluido supercrítico é o método mais utilizado atualmente para extração em investigação de óleos essenciais, uma vez que permite recuperar os aromas naturais de um

modo bastante eficiente. Para tal extração, o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é inicialmente liquefeito por compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a  $31^\circ\text{C}$ , temperatura à qual o  $\text{CO}_2$  atinge um quarto estado físico, no qual a sua viscosidade é análoga à de um gás, sendo a sua capacidade de dissolução elevada como a de um líquido. As partes da planta a serem utilizadas na extração são colocadas em um tanque, no qual é injetado o  $\text{CO}_2$  supercrítico, onde irá agir como solvente. Aquando da diminuição da pressão, o  $\text{CO}_2$  regressa ao estado gasoso, deixando o produto sem qualquer resíduo de  $\text{CO}_2$ .

Diversas extrações por  $\text{CO}_2$  possuem um aroma fresco, claro e característico dos óleos destilados a vapor, que cheiram de forma muito idêntica à planta materna<sup>[11,12,13]</sup>.

### 2.2.5 Enfloração

A enfloração é um método bastante antigo, atualmente utilizado por algumas indústrias de perfumaria. É aplicado, principalmente, em plantas com baixo teor de óleo essencial, mas que têm elevado valor comercial. São plantas extremamente delicadas, não podendo ser extraídas por destilação a vapor. É também um processo caro, difícil e demorado.

É um processo aplicado, principalmente, para extrair óleo essencial a partir de flores. O material a extrair é colocado em gordura animal ou vegetal, sendo este material o absorvente dos óleos essenciais. Todos os dias ou num determinado intervalo de tempo, depois de a gordura absorver todo o óleo essencial possível, as pétalas são removidas e substituídas por outras frescas, recém-recolhidas, como demonstra a figura 5. Este procedimento é repetido até que a gordura comece a ficar saturada com óleo essencial. Com a posterior adição de álcool à mistura é possível separar o óleo da gordura<sup>[11,12,13]</sup>.



Figura 5. Exemplo de enfloração.

### 2.2.6 Prensagem

A prensagem é um método empregado para a extração de óleo essencial a partir de frutos cítricos. Os pericarpos desses frutos são prensados e a camada que contém o óleo essencial é então separada. Seguidamente, o óleo é separado da emulsão, formada com a água, através de decantação, centrifugação ou através de destilação fracionada<sup>[11,12,13]</sup>.

## 2.3 Análise dos componentes dos óleos essenciais

É de grande importância que todo o óleo essencial seja da mais alta qualidade e pureza. Já que os óleos têm um vasta gama de aplicabilidade, desde a perfumaria à mais alta tecnologia de tratamento de doenças. Estima-se que apenas 5 % do óleo essencial produzido no mundo é empregue na perfumaria, o que é uma taxa muito pequena. Contudo, a grande taxa de utilização dos óleos essenciais é aplicada na medicina, seja da mais tradicional à mais avançada.

Como descrito anteriormente, os óleos essenciais, após extração, são uma mistura de diversos componentes e, assim sendo, para fins comerciais ou não, os componentes devem ser todos identificados e, se possível, purificados separadamente. Os óleos essenciais, quando analisados, fornecem informação tanto ao nível da qualidade como da quantidade dos componentes presentes.

Para este tipo de análises, a técnica mais utilizada é a Cromatografia Gasosa (GC), que é especialmente útil quando combinada com a Espectrometria de Massa (MS), combinação designada de GC-MS. Podem ainda ser realizadas técnicas espectroscópicas, isto é espectroscopia de Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

### 2.3.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa (GC) é uma técnica utilizada na separação e análise de mistura de compostos voláteis, com várias áreas de aplicabilidade, desde testes ambientais para análise de contaminantes, a testes de deteção de drogas ou de substâncias dopantes.

Permite uma separação de todos os componentes presentes numa amostra, fornecendo assim um espectro representativo dessa separação.

O processo é iniciado com a injeção da amostra, previamente solubilizada em solventes orgânicos, sendo seguidamente vaporizada e introduzida num fluxo de gás adequado, designado de fase móvel. Este fluxo de gás passa por uma coluna cromatográfica que contém a fase estacionária, na qual se processa a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna dissolvidas no gás de arraste e passam por um detetor, dispositivo acoplado à saída da coluna que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de substância eluída. O registo deste sinal em função do tempo é o que se designa por cromatograma. Cada componente produz um espectro específico. A figura 6 mostra a representação esquemática deste tipo de sistema.

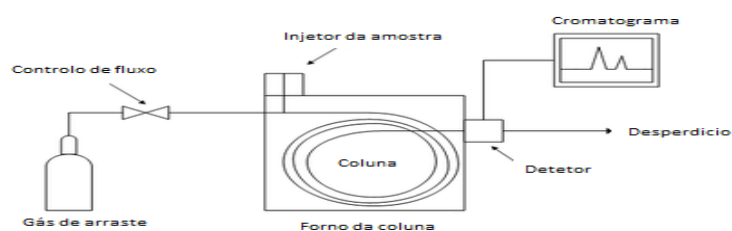


Figura 6. Esquema de cromatografia gasosa<sup>[17]</sup>.

A análise por GC depende de determinadas características físicas e químicas das moléculas, ou seja, à medida que a amostra se move ao longo da coluna, as diferentes características moleculares determinam como cada substância presente irá interagir com a superfície da coluna. Por exemplo, moléculas com uma massa mais reduzida deslocam-se mais suavemente que moléculas de massa mais elevada. Além disso, a geometria das moléculas, bem como a interação entre elas podem afetar o tempo necessário para o composto sair da coluna, (tempo este designado de tempo de retenção).

As colunas cromatográficas são compostas por um tubo metálico e por vezes são empacotadas de modo a promover uma separação máxima. Existem dois tipos, principais, de colunas: colunas empacotadas e colunas capilares.

As colunas empacotadas são constituídas por uma fase estacionária de partículas sólidas, regulares ou não, ou por um filme polimérico depositado na superfície de partículas sólidas, denominado de suporte, que são colocados dentro de um tubo de forma a preenche-lo por completo. Este tipo de coluna tem vantagens: ser mais económica, ter uma maior capacidade de carga e poder ser injetada uma maior quantidade de amostra. Contudo apresenta desvantagens, tais como a: menor eficiência, análise lenta e acima de tudo, se o enchimento não for bem realizado, ou seja, se a coluna não for bem compactada e uniforme, os espaços vazios que resultam vão funcionar como câmaras de diluição da amostra.

Em contrapartida, as colunas capilares são constituídas por um tubo de diâmetro bastante reduzido, onde a fase estacionária está diretamente inserida na parede do tubo. As colunas capilares são as mais usadas, devido a fatores como: uma análise rápida, maior poder de separação (mesmo de misturas complexas) e pelo facto de serem mais compridas, permitem uma maior eficiência de separação. Contudo, são colunas que saturam facilmente e não permitem a injeção de grandes quantidades de amostra.

O tempo de retenção ( $T_r$ ) é o tempo que passa entre a injeção da amostra e a eluição, ou seja, corresponde ao tempo durante o qual o composto é retido pela coluna. Não é um fator viável para se determinar a identidade de um determinado composto, porque, por exemplo, se duas amostras têm diferentes  $T_r$ , as amostras após análise podem não corresponder à mesma substância, uma vez que muitas substâncias podem ter  $T_r$  iguais e não serem, em nada, idênticas.

É importante ter em atenção a temperatura à qual se encontra a coluna. Esta deve ser controlada corretamente. A temperatura ideal da coluna está dependente dos pontos de ebulição da amostra. As temperaturas mínimas a que se encontra a coluna originam bons resultados, mas, no entanto, aumentam o ponto de ebulição, se a amostra apresenta um vasto alcance, então um programa de temperatura será bastante útil.

Finalmente, o detetor é o dispositivo que indica e quantifica os componentes separados pela coluna. Existe uma grande diversidade de detetores. De entre os vários detetores disponíveis pode-se salientar os mais utilizados: detetor por ionização de chama, de condutividade térmica e de captura de eletrões. É ainda importante referir que os diversos detetores irão fornecer diferentes tipos de seletividade, ou seja, alguns apresentam resposta a qualquer

substância diferente do gás de arraste, designados detetores universais. Por outro lado, existem detetores que respondem unicamente a compostos que contenham na sua composição química um determinado elemento químico, designados de detetores específicos. E ainda existem detetores que só respondem a certas classes de compostos, designados de detetores seletivos [14,15,16,17].

### 2.3.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

Atualmente, a análise de misturas orgânicas tornou-se mais simples devido ao acoplamento da espectrometria de massa à cromatografia gasosa (GC-MS).

O aparelho de GC é um aparelho analítico que serve, sobretudo, para separar os compostos nos seus componentes genéricos e quantifica-los, enquanto o aparelho de espectrometria de massas (MS) fornece resultados específicos, mas quantitativamente incertos. Nesse aparelho, à medida que os componentes eluem da coluna, os seus espectros de massa vão sendo registados. É de notar também que o espectrómetro de massa transforma num detetor específico para cada substância, uma vez que origina um sinal único e característico.

A MS é um método analítico que dá informações sobre a massa molecular, composição elementar e estrutura dos compostos orgânicos. A quantidade de substância a utilizar deve ser muito pequena, de tal maneira que o espectrómetro de massa possa ser utilizado como um detetor em GC.

Um espectrómetro de massa é constituído por uma entrada de amostra, uma fonte de ionização, um acelerador molecular e um detetor.

O processo é iniciado com a vaporização da substância em alto vácuo, seguida de uma ionização na fonte de ionização. As moléculas ionizadas e os fragmentos iónicos obtidos são acelerados num campo elétrico e conduzidos através de uma fenda estreita para um capo magnético, onde os iões são desviados de forma a descreverem trajetórias circulares, cujo raio depende da relação massa/carga ( $m/z$ ), resultando na sua separação. Finalmente, são registados quantitativamente, isto é, segundo a sua massa e abundância.

A ionização dá-se por meio da colisão com um feixe de eletrões (impacto eletrónico - IE) dando origem a iões moleculares (iões radicais):  $M + e^- \rightarrow M^{\bullet+} + 2e^-$ . Por sua vez, os iões moleculares decompõem-se em fragmentos carregados positivamente e em fragmentos sem carga:  $M^{\bullet+} \rightarrow A^+ + B^\bullet$

Normalmente, a energia utilizada para o IE é de cerca de 70 eV, mais elevada do que seria necessário para a ionização (8 e 15 eV).

A representação gráfica da abundância dos fragmentos em função do seu número de massa é denominada por espectro de massa. Os números de massa são expressos por valores  $m/z$  e os iões positivos que se formam possuem carga unitária ( $z=1$ ), do que resulta um valor de  $m/z$  igual a  $m$ .

Usualmente, aparecem no espectro de massa vários picos de intensidade muito baixa, em que a maioria deles não deve ser considerada na análise, pois correspondem a fragmentos muito difíceis de identificar; só se devem considerar os picos de intensidade relativamente alta. O pico de maior massa molecular, normalmente, corresponde à própria molécula, porém sem um elétron, esse pico é designado de íão molecular<sup>[14,15,16,17]</sup>..

### 2.3.3 Espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho (IV) é um processo instrumental de medição baseado nas propriedades de absorção e de emissão da energia eletromagnética em alguma região do espectro eletromagnético. O objetivo desta técnica é a determinação dos grupos funcionais de uma dada amostra, uma vez que cada grupo absorve numa frequência característica de radiação, dando assim origem a várias vibrações, designadas de picos. Assim sendo, um gráfico de intensidade de radiação *versus* frequência, representa o espectrograma, permitindo caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou mesmo de uma amostra desconhecida.

Apesar de ser uma técnica altamente sensível, é pouco seletiva no caso de misturas de multi-componentes, tornando assim difícil a medição quantitativa de componentes individuais.

A espectroscopia na região do IV é uma das ferramentas mais utilizadas na identificação de compostos orgânicos e inorgânicos puros, apenas com a exceção de poucas moléculas homonucleares, tais como o O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e Cl<sub>2</sub>, todas as espécies moleculares absorvem radiação na zona do IV<sup>[14,15,16,17]</sup>.

### 2.3.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é das ferramentas mais valiosas para a determinação estrutural de compostos orgânicos, dando assim a sua contribuição para a estrutura do esqueleto da molécula.

Para obtenção dos espectros de RMN a amostra é submetida a um campo magnético externo, de modo a que determinados núcleos que apresentem um momento magnético nuclear possam entrar em ressonância com a radiofrequência aplicada (como por exemplo, núcleos com número de massa ímpar como o <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P), absorvendo assim a energia eletromagnética em frequências características para cada núcleo, conforme a sua vizinhança química.

Os espectros de RMN mais utilizados são os de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C, uma vez que a sua interpretação permite caracterizar o número e o tipo de átomos de hidrogénio (H) e de carbono (C), em função da localização e do desdobramento dos sinais correspondentes à absorção da energia eletromagnética.

A grande variedade de técnicas de RMN permite identificar a proximidade espacial, ou mesmo a conectividade de alguns átomos em particular, auxiliando assim a construção do “quebra-cabeças” constituído pelas diferentes partes da molécula<sup>[14,15,16,17]</sup>.

## 2.4 Terpenos

Os terpenos, também designados de terpenóides ou isoprenóides, são o grupo mais numeroso de produtos naturais derivados de plantas, onde se enquadram cerca de vinte mil estruturas<sup>[18,19,20,21]</sup>.

Os terpenos são derivados de um esqueleto de carbono, a partir de combinações de várias unidades de isopreno (na figura 7, uma unidade de isopreno = cinco átomos de carbono (C<sub>5</sub>)). A direção de acoplamento das unidades de isopreno ocorre, quase sempre, num sentido, o chamado de acoplamento de cabeça-a-cauda, como demonstra a figura 8<sup>[20]</sup>.

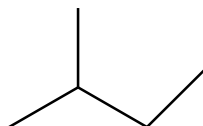


Figura 7. Exemplo de isopreno.

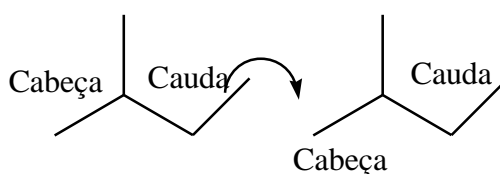


Figura 8. Acoplamento cabeça-a-cauda de dois isoprenos<sup>[4]</sup>.

O padrão de acoplamento é explicado pela biossíntese dos terpenos. A biossíntese dos terpenos consiste na síntese de um precursor biológico, que não é o isopreno mas sim dois “equivalentes do isopreno”, isto é, o pirofosfato de isopentenilo e o dimetil-alilo, que possuem 5 carbonos e são sintetizados por sua vez, a partir de três unidades de acetil CoA (figura 9.)

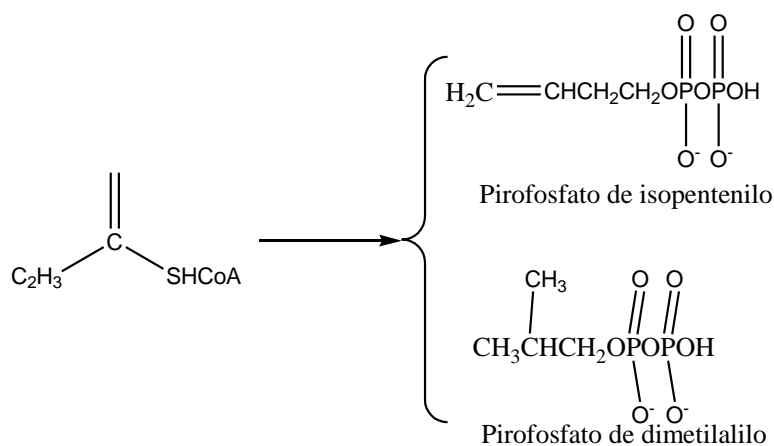


Figura 9. Formação dos pirofosfatos de isopentenilo e de dimetilalilo a partir de acetil CoA<sup>[4]</sup>.

O pirofosfato de dimetilalilo é considerado um agente de alquilação eficiente em reações do tipo S<sub>N</sub>2, uma vez que o grupo de pirofosfato alílico primário (abreviado por OPP) é um bom grupo de saída. Deste modo, o deslocamento deste grupo de saída pela ligação nucleofílica de

C=C do pirofosfato de isopentenilo, seguido de eliminação de um próton do carbocatião intermediário, dá origem a uma unidade de 10 carbonos acoplados cabeça-a-cauda, designado de pirofosfato de geranilo. O álcool correspondente do pirofosfato de geranilo é o geraniol, que é um terpeno de odor agradável, presente, essencialmente, na essência de rosas (figura 10) [22].

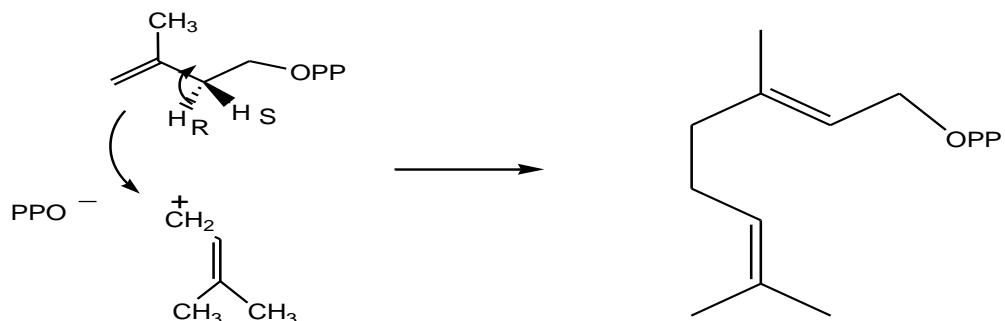


Figura 10. Formação de pirofosfato de geranilo<sup>[4]</sup>.

O pirofosfato de geranilo é o precursor dos monoterpenos, como é o exemplo do limoneno (figura 11.) encontrado em diversos óleos de plantas cítricas, sendo obtido a partir do pirofosfato de geranilo por isomerização *cis-trans* da ligação dupla, seguido de um deslocamento nucleofílico interno do grupo pirofosfato e eliminação de um próton.

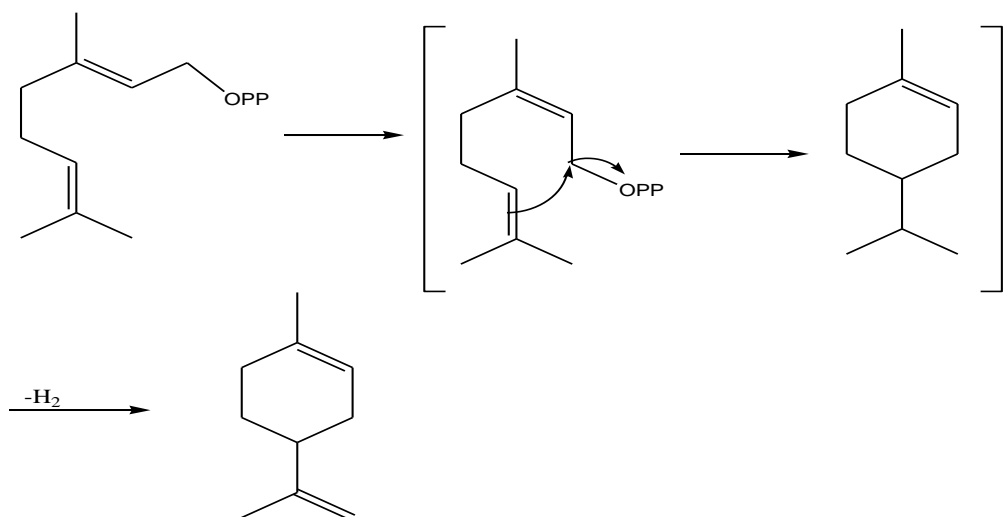


Figura 11. Formação de limoneno a partir de pirofosfato de geranilo<sup>[4]</sup>

Quando se faz reagir o pirofosfato de geranilo com o pirofosfato de isopentenilo obtemos um composto de 15 carbonos designado de pirofosfato de farnesilo, que será o precursor dos sesquiterpenos. O álcool correspondente ao pirofosfato de farnesilo é o farnesol que é, habitualmente, encontrado nos óleos de limão.

A reação do pirofosfato de farnesilo com o pirofosfato de isopentenilo origina compostos de 20 a 25 carbonos, precursores dos diterpenos e sesterterpenos, respetivamente. Os triterpenos não são obtidos pela reação com pirofosfato de isopentenilo, mas através de um acoplamento redutivo designado cauda-a-cauda entre dois pirofosfatos de farnesilo de modo a obter o esqualeno, um hexaeno de 30 carbono linear, que é o principal constituinte do óleo de tubarão, do azeite e do óleo de arroz. Tornando-se assim o precursor de todos os triterpenos e esteroides<sup>[4,8]</sup>.

Como referido anteriormente, os terpenos são o maior grupo de derivados provenientes dos produtos naturais, contudo são divididos em diferentes categorias, ou seja, existem categorias para um melhor conhecimento consoante a sua composição em carbonos. São exemplo os: Hemiterpenos (5 átomos de carbono); os monoterpenos (10 átomos de carbono); os sesquiterpenos (15 átomos de carbono); os diterpenos (20 átomos de carbono), entre outros. Dentro de cada categoria existem diferentes tipos de produtos, tal como se pode verificar pelos exemplos referidos na tabela 3<sup>[23]</sup>.

Tabela 3. Classificação dos Terpenos<sup>[4]</sup>.

<i>Esqueleto</i>	<i>Subgrupo</i>	<i>Exemplos</i>
C <sub>10</sub>	Monoterpenos:	
	Lineares	Mirceno, linalol, geraniol
	Monocíclicos	Limoneno, carvona, mentol
	Bicíclicos	Cânfora, tujona, α-pineno
C <sub>15</sub>	Sesquiterpenos:	
	Lineares	Farnesensos
	Monocíclicos	Ácido abscísico
	Bicíclicos	α-vetivona, poligodial
	Tricíclicos	Patchulol
C <sub>20</sub>	Diterpenos:	
	Lineares	Fitol
	Monocíclicos	Vitamina A
	Bicíclicos	Ácido labdanólico
	Tricíclicos	Ácido abiético
	Tetracíclicos	Giberelinas
	Macrocíclicos	Neocembreño

Com os avanços científicos na área do estudo dos terpenos, o seu interesse a nível comercial tem vindo a aumentar devido à grande diversidade de aplicação, desde a farmacologia à mais simples agricultura. Podem ser aplicados no tratamento de diversas doenças, por exemplo o cancro, mas acima de tudo são bastante usados como inseticidas naturais e como agentes microbianos, principalmente no armazenamento de produtos agrícolas. Diariamente, o nosso organismo ingere um pequena quantidade de terpenos, isto porque muitos das plantas, frutas e/ou vegetais, que fazem parte da dieta do ser humano, têm na sua composição componentes derivados de terpenos.

A importância dos mono-, sesqui- e diterpenos na natureza pode ser conhecida por algumas propriedade biológicas dos terpenóides, que estão sumariadas na tabela 4<sup>[24]</sup>.

Tabela 4. Algumas propriedades farmacológicas de mono-, sesqui-, e diterpenos<sup>[24]</sup>.

<i>Propriedade</i>	<i>Monoterpenos</i>	<i>Sesquiterpenos</i>	<i>Diterpenos</i>
<b>Analéptica</b>	✓	✓	✗
<b>Anti - helmíntica</b>	✓	✓	✗
<b>Antibiótica</b>	✓	✓	✓
<b>Anti - epilética</b>	✗	✓	✗
<b>Anti - inflamatória</b>	✓	✓	✗
<b>Anti - tumoral</b>	✓	✓	✓
<b>Colerética</b>	✗	✓	✗
<b>Hipotensiva</b>	✓	✓	✓
<b>Organolética</b>	✓	✓	✓
<b>Sedativa</b>	✓	✓	✗
<b>Espasmolítica</b>	✓	✓	✗

## 2.5 *Bulnesia sarmientoi*

*Bulnesia sarmientoi* Lorentz ex Griseb, é uma planta pertencente à ordem das *Zygophyllales*, família das *Zygophyllaceae* e ao género *Bulnesia*. É uma planta endêmica da região do Chaco na Argentina e no Paraguai. É também conhecida como *Palo Santo* ou como *Pau-Santo* do Paraguai<sup>[25,26,27]</sup>.

É uma árvore com uma folhagem bastante verde, com uma altura que pode variar dos 8 aos 20 metros e 30 a 70 cm de diâmetro, produzindo uma madeira aromática de alta densidade (1280 Kg/m<sup>3</sup>)<sup>[28]</sup>. A sua madeira é considerada de elevada qualidade, contudo, é facilmente inflamável. Aquando da queima desta madeira é libertado um fumo bastante perfumado, sendo esta madeira usada como forma de incenso natural em rituais espirituais. Na indústria, são recuperadas as suas aparas, para posteriormente serem tratadas de modo a ser extraído o seu óleo essencial, designado de óleo de guaiacol. Este é usado como ingrediente em perfumaria, como é exemplo o acetato de guaiacol, e em usos medicinais.

O óleo de guaiacol é obtido por destilação a vapor de uma mistura contendo pedaços de madeiras e as suas aparas, obtém-se um óleo semissólido, amarelo esverdeado que funde entre os 40-50°C. Quando fundido, se for deixado à temperatura ambiente, permanece ainda algum tempo no estado líquido, e, posteriormente, solidifica<sup>[27]</sup>.

O seu óleo apresenta uma enorme complexidade, sendo constituído por um importante número de sesquiterpenos estruturalmente semelhantes e com diversos isómeros. Este óleo é tipicamente isento de monoterpenos e contém níveis elevados de dois álcoois sesquiterpénicos de esqueleto guaiano (figura 12): o Guaiacol (1) e o Bulnesol (2), e, em menor quantidade, o Hanamyol (3), que é um derivado da ciclização do epóxido do bulnesol e ainda um produto derivado do Eudesmol que é o 7-epi- $\alpha$ -Eudesmol, os quais são apresentados com uma composição de 20.44%, 34.72%, 2,51% e 3.25%, respetivamente<sup>[27]</sup>.

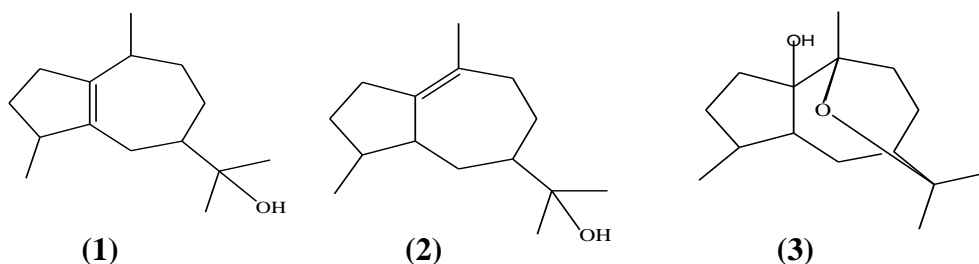


Figura 12. Compostos maioritários da *Bulnesia sarmientoi*<sup>[27]</sup>.

No Paraguai o *Palo Santo* (árvore sagrada) é usado para variados fins, tais como domésticos, industriais e medicinais. Como usos domésticos é feita a queima da madeira de modo a atuar como repelente de insetos; na indústria, é usado para produção de cercas de animais, construção de móveis ou para produção de artesanato; finalmente nos processos medicinais é utilizado através de infusões de folhas ou cascas de modo a funcionar como agente de limpeza de sangue, sudorífico, diurético, para tratamento da lepra, do reumatismo e para

tratamento das feridas da pele; porém é também utilizada a infusão para aliviar casos de tensão ou depressão<sup>[25,29]</sup>.

## 2.6 Guaiol e Bulnesol

### 2.6.1. Fontes de obtenção

O guaiol e o bulnesol são isômeros e os principais constituintes da planta de *B. sarmientoi* e são álcoois terciários. São componentes isolados do óleo de guaiaco através de cromatografia em coluna, usando proporções de polaridade diferentes de n-hexano e de acetato de etilo.

O guaiol e bulnesol não são só extraídos da *B. sarmientoi*, e são também compostos majoritários presentes na *Callitris glaucophylla* (pinho cipreste) planta nativa da Nova Caledônia (Arquipélago da Oceânia) e a sua caracterização é efetuada por análise GC-MS<sup>[30]</sup>.

O guaiol, por sua vez pode ser encontrado sem o seu isômero, bulnesol, em plantas como a: *Calycorectes sollowianus*, planta da América do Sul, que além de ter na sua principal composição o guaiol tem ainda  $\beta$ -caryophyllene. Estes dados de análise foram obtidos por análise GC-MS. É ainda um dos principais componentes obtidos por análise GC-MS de *Salvia runcinata*, planta sul-africana. Pode ainda ser encontrado como composto majoritário em *Salvia lanigera*<sup>[31]</sup> e em *Helitta longifoliata*<sup>[32,33]</sup>.

Em contrapartida, o bulnesol pode ser encontrado em muitas outras plantas mas numa percentagem muito pequena e também só por análise GC-MS, das quais se destaca: *Chromolaena odorata*, planta nativa da América do Norte<sup>[34]</sup>.

### 2.6.2 Aplicações

O guaiol e o bulnesol podem ter uma enorme diversidade de aplicação, desde anti-repelente fungicida, antiparasitário, entre outros<sup>[35]</sup>.

Alguns derivados dos constituintes da *B. sarmientoi* possuem um grande valor agregado - por exemplo, o acetato de guaiol que é utilizado como fixador na produção de perfumes. Podem também ser utilizados na preparação de azulenos para a indústria da perfumaria<sup>[26,27]</sup>.

### 2.6.3 Reações envolvendo guaiol

O guaiol é um produto bastante instável e de difícil manuseamento, em termos reacionais. A preparação de novos derivados deste produto foi estudada durante algumas décadas, porém nas últimas décadas poucas têm sido as tentativas de transformar este em novos derivados. Os principais tipos de reações realizadas sobre este produto são a epoxidação, desidratação e oxidação.

No caso das reações de epoxidação o principal reagente utilizado é o ácido meta-cloroperóxido benzóico (MPCBA). Um exemplo deste tipo de reação é o uso de guaiol para obtenção do  $\alpha$ - epóxido e  $\beta$ -epóxido de guaiol, utilizando o MPCBA<sup>[36]</sup>:

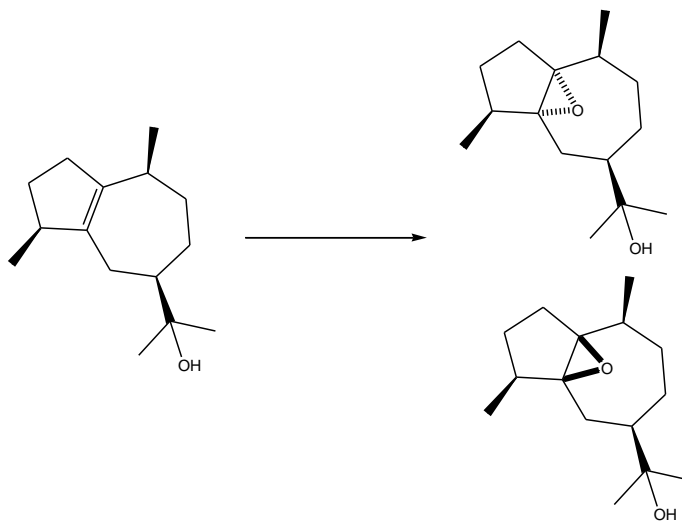


Figura 13. Epóxidos de guaiol<sup>[36]</sup>.

Quando o guaiol é submetido a condições de desidratação utilizando diferentes tipos de reagentes, em contrapartida com a epoxidação que só é mais eficaz com o MPCBA, e diversas condições reacionais pode-se obter produtos como:  $\alpha$ -guaiene,  $\beta$ -guaiene,  $\delta$ -guaiene<sup>[37,38]</sup>.

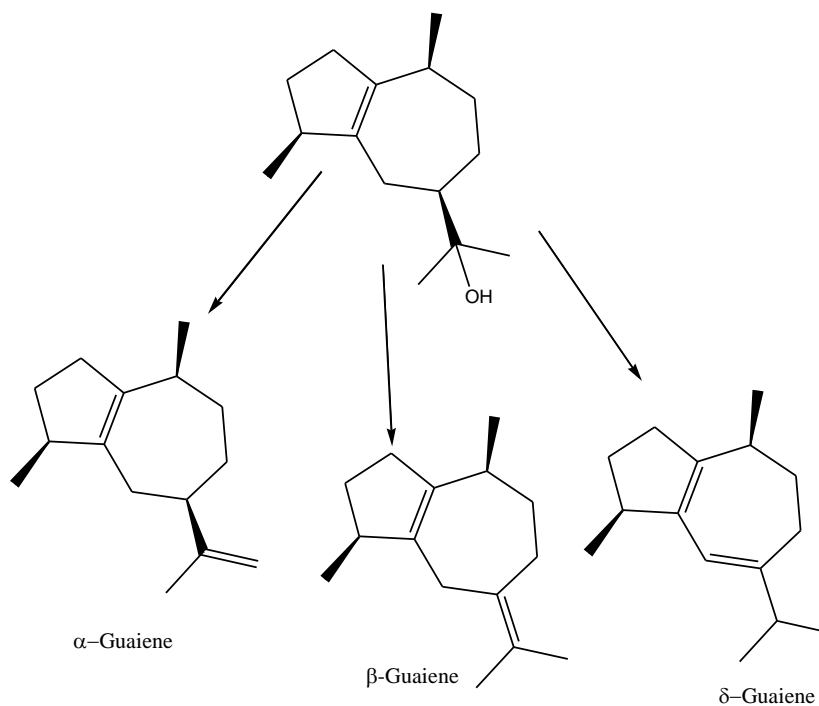


Figura 14. Produtos de desidratação do guaiol<sup>[adaptado de 37,38]</sup>.

Para a obtenção deste tipo de produtos podem ser utilizados os seguintes reagentes:

- Cloreto de mesílo / Trietilamina
- Tricloreto de fosforílo / Piridina

- Ácido sulfúrico
- Ácido perclorídrico / ácido acético
- Ácido polifosfórico

A oxidação do guaiol foi descrita com o uso de permanganato com outros reagentes de modo a obter novos derivados oxidados do guaiol<sup>[39]</sup>. As reações que foram realizadas utilizaram como reagentes:

- Permanganato em solução aquosa de acetona
- Permanganato em solução aquosa de Glyme

Com o uso destes e de outros reagentes o único produto obtido era uma cetona que apresentava uma configuração química diferente dos produto inicial, observando assim que este tipo de reagente obriga o guaiol a sofrer uma completa modificação estrutural e podendo levar à obtenção de produtos de degradação, uma vez que o guaiol é um produto bastante instável tem uma enorme capacidade de degradação.

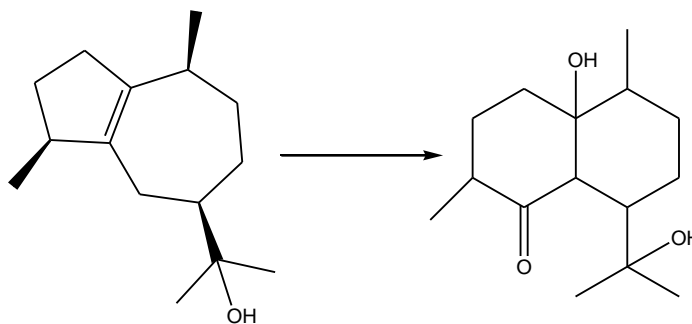


Figura 15. Produto da oxidação do guaiol<sup>[39]</sup>.

## CAPÍTULO III

Materiais e métodos

### 3.1 Equipamentos

**Placa de aquecimento:** Placa de aquecimento com controlo de temperatura para realização das reações, utilizando uma placa *IKAMAGA-RCT*<sup>®</sup> com agitação magnética.

**Cromatografia em coluna (CC):** cromatografia em coluna a pressão moderada realizada utilizando uma bomba *Büchi Pump Module C-601*<sup>®</sup>, sendo as frações recolhidas por um coletor automático *Büchi Fraction Collector C-660*<sup>®</sup>.

**Evaporador rotativo:** o solvente das frações e amostras recolhidas foi evaporado num evaporador com bomba *Büchi VAC V-500*<sup>®</sup> e controlador de pressão *Büchi Vacuum Controller V-850*<sup>®</sup> e colocadas em banho, a 40°C, num *Büchi 461 Water Bath*<sup>®</sup>.

**Espetros de infravermelho (IV):** as leituras foram realizadas num espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Nicolet IS 10. As amostras foram colocadas sobre o diamante, previamente limpo com isopropanol. O espectro foi realizado utilizando o *software OMNIC*.

**Espetros de ressonância magnética nuclear de protão (<sup>1</sup>H - RMN) e carbono (<sup>13</sup>C-RMN):** realizaram-se num espectrofotómetro *Bruker*<sup>®</sup> *Avant 400*, a 400 MHz e 100 MHz, respetivamente. Os desvios químicos ( $\delta$ ) são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). O solvente usado foi o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), sendo que o pico residual do solvente deuterado para o <sup>1</sup>H é a 7,26 ppm e para o <sup>13</sup>C é a 77,2 ppm.

**Massas de alta resolução:** Espectrómetro de tempo-quádruplo de voo da *Applied Biosystems QSTAR XL*. A técnica de ionização é por *electrospray*. As amostras introduzidas são dissolvidas em metanol e é utilizada uma voltagem de ionização de 4500 volts.

## 3.2 Reagentes

Reagente	Fórmula/abreviatura	Marca
n-Hexano comercial	-	Labken
Diclorometano	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Sigma - Aldrich
Acetato de etilo	AcEt	Carlo Erba
Metanol	MeOH	Carlo Erba
Cloreto de Acriloílo 97%	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> ClO	Sigma - Aldrich
N -Bromosuccinimida	NBS	Merck
Carbonato de potássio	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Merck
Dióxido de selénio	SeO <sub>2</sub>	-
Etanol	EtOH	Riedel - de- Haën
Trietilamina	Et <sub>3</sub> N	Riedel - de- Haën
Dimetilaminopiridina 99%	DMAP	Riedel - de- Haën
Hidróxido de sódio	NaOH	Pronalab
Anidrido acético	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Merck
Sulfato de sódio anidro	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Carlo Erba
Cloreto 4-Bromobutirilo 97%	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> BrClO	Alfa Aesar
Cloreto 5-Bromovalerílo 98%	Br(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COCl	Alfa Aesar
Cloreto 6-Bromohexanoílo 97%	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrClO	Alfa Aesar
Ter-butóxido de potássio	Ter-BuOK	Acros
Hidrogeno carbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub>	Merck
Ácido clorídrico	HCl	Pronalab
Polietilenoglicol	PEG400	Sigma - Aldrich

## 3.3. Técnicas cromatográficas

### 3.3.1. Cromatografia em camada fina

A cromatografia em camada fina (CCF) foi executada sobre placas de sílica gel de 0,2 mm. Os cromatogramas revelaram-se por imersão das placas numa solução de ácido fosfomolibdico 5% (p/v) em etanol, sendo, posteriormente colocadas na estufa a aproximadamente 120°C durante alguns minutos, a fim de se revelarem os produtos.

### 3.3.2. Cromatografia em coluna

A cromatografia em coluna (CC) efetuou-se com a utilização de sílica gel *flash* de espessura de 0,04 - 0,06 mm, como sólido absorvente. Como fase móvel utilizaram-se misturas de solventes de n-hexano e acetato de etilo em proporções de polaridades crescentes.

### 3.4. Extração dos produtos

#### Reação de oxidação

A extração dos produtos foi realizada numa ampola de decantação. A extração foi realizada com água e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Obtendo assim uma fase aquosa e uma fase orgânica, esta última foi posteriormente sujeita a uma secagem com sulfato de sódio anidro, permitindo assim eliminar eventuais resíduos de água.

Finalizando, a fase orgânica foi filtrada, para um balão de fundo redondo de 100 mL e colocada num evaporador rotativo de baixa pressão, a cerca de 600 mBar, à temperatura de aproximadamente 40°C.

#### Reação de epoxidação

A extração dos produtos foi realizada por decantação, sendo a lavagem da fase aquosa realizada com  $\text{NaHCO}_3$  a 10%. Após realizada a extração a fase orgânica obtida foi submetida a uma secagem com sulfato de sódio anidro, de modo a eliminar eventuais resíduos de água.

Após este processo, a fase orgânica obtida foi filtrada, para um balão de fundo redondo de 100mL, e evaporada, num evaporador rotativo de baixa pressão, a uma pressão, aproximadamente, de 600 mBar e com um banho à temperatura, aproximadamente, de 45°C.

#### Reação de esterificação

A extração dos produtos foi realizada numa ampola de decantação. Efetuando-se a lavagem da fase aquosa com HCl 2M; NaOH 10% e água destilada.

Concluída a extração, a fase orgânica foi colocada a secar em sulfato de sódio anidro para eliminar eventuais resíduos de água, durante algumas horas.

A fase orgânica foi submetida a filtração e evaporação, como descrito nos passos anteriores.

### 3.5. Separação dos componentes

Para separar os componentes, foi realizada uma cromatografia em coluna (conforme descrito em 2.1.2). Para avaliar o grau de separação dos componentes ao longo da cromatografia em coluna, realizaram-se cromatografias de camada fina (conforme descrito em 2.1.1), cujo eluente foi uma solução de n-hexano e acetato de etilo com diferentes polaridades.

### 3.6. Caracterização dos produtos

Todos os produtos obtidos foram caracterizados por técnicas de espectroscopia de infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , massas de alta resolução.

### 3.7. Cálculos

$$\text{Convers\~ao: } \frac{\textit{Substrato A} - \textit{Substrato P}}{\textit{Substrato A}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Seletividade: } \frac{\textit{Produto}}{\textit{Substrato A} - \textit{Substrato P}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Rendimento: } \frac{\textit{Produto}}{\textit{Substrato A}} \times 100 \quad (3)$$

Sendo:

Substrato A = mmol de substrato adicionado na reaç\~ao

Substrato P = mmol de substrato n\~ao reagido

Produto = mmol de produto formado

## CAPÍTULO IV

### Resultados e discussão

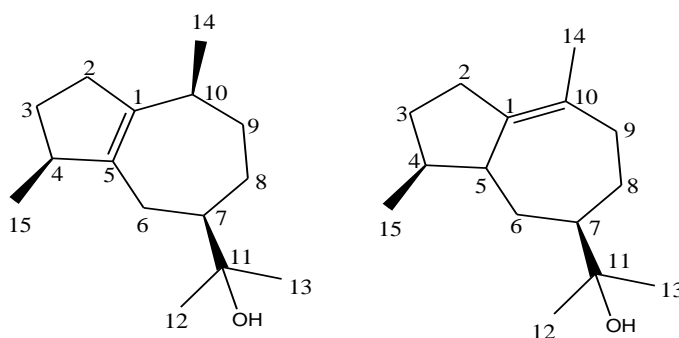
Foram realizados três métodos distintos de reações: oxidação com dióxido de selênio ( $\text{SeO}_2$ ), epoxidação com n-bromosuccinimida (NBS) e esterificação com derivados de cadeia longa com grupos halogénio (cloro e bromo).

Nesta secção serão apresentadas as reações efetuadas e a caracterização dos produtos obtidos através da realização de várias técnicas espectroscópicas, nomeadamente IV, RMN de  $^{13}\text{C}$ , RMN de  $^1\text{H}$  e massa de alta resolução.

Os substratos escolhidos para a realização das diversas reações foram o guaiol e o bulnesol, por serem álcoois terciários. Tanto o guaiol como o bulnesol apresentam a ligação ao grupo OH permitindo assim que sofram reações neste local da ligação. São duas moléculas de comportamento instável e de rápida degradação, daí o facto de não ser um processo fácil a sua síntese para obtenção de novos derivados destes compostos. Contudo, ambos têm uma ligação  $\text{C}=\text{C}$  que facilmente pode sofrer epoxidação e tornar a degradação mais rápida.

O interesse nestes substratos reside, essencialmente, na difícil manutenção quando em síntese, obrigando assim ao estudo de variáveis, como a temperatura, o tipo de reação e tempo de reação.

Na figura 16 são apresentadas as numerações atribuídas a cada substrato, após análise dos resultados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ . Os dados relativos a cada composto são apresentados na tabela 5 para o guaiol e na tabela 6 para o bulnesol.



**Figura 16.** Atribuição da numeração do guaiol (esquerda) e do bulnesol (direita).

Ao analisarmos os espectros de IV (figura 40 e 43) do guaiol e do bulnesol verificamos a presença de uma banda característica semelhante aos dois, por volta dos  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Esta banda é característica do grupo hidroxilo. É também visível perto dos  $1600\text{ cm}^{-1}$  a banda característica para a ligação dupla tetrassubstituída.

Pela análise dos dados de  $^{13}\text{C}$ -RMN (figura 39 e 42), verifica-se que estes compostos apresentam 15 átomos de carbono, confirmando assim a atribuição de compostos sesquiterpénicos. Os dois apresentam 3 átomos de carbono quaternário. É ainda possível observar que ambos possuem 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários, 5 sinais relativos a átomos de carbono secundários e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Tabela 5. Dados de RMN <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C para o guaiol.

<sup>13</sup> C			Bidimensional	
Carbono	δ(ppm)	Tipo	HSQC	HMBC
1	140.0	C	-	-
2	35.4	CH <sub>2</sub>	2.19-2.10; m; 1H 2.50-2.36; m; 1H	1; 3; 4; 5
3	30.9	CH <sub>2</sub>	1.34-1.23; m; 1H 2.19-2.10; m; 1H	1; 2; 4; 15
4	46.3	CH	2.65-2.47; m; 1H	
5	138.9	C	-	-
6	27.9	CH <sub>2</sub>	2.00-1.92; m; 1H 2.19-2.10; m; 1H	2; 4; 5; 7; 8; 11; 12; 15
7	49.6	CH	1.59-1.39; m; 1H	1; 6; 8; 9; 10; 11; 12
8	27.3	CH <sub>2</sub>	1.59-1.39; m; 1H 1.77-1.67; m; 1H	1; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 14
9	33.8	CH <sub>2</sub>	1.59-1.39; m; 1H 1.77-1.67; m; 1H	1; 6; 7; 8; 10; 11; 14
10	33.7	CH	2.31-2.26; m; 1H	
11	73.5	C	-	-
12	27.4	CH <sub>3</sub>	1.18; s; 3H	7; 11; 13
13	25.9	CH <sub>3</sub>	1.15; s; 3H	7, 8, 11; 12
14	19.7	CH <sub>3</sub>	0.99; d; J = 7.2 Hz; 3H	1; 9; 10
15	19.9	CH <sub>3</sub>	0.95; d; J = 6.8 Hz; 3H	3; 4; 5

Tabela 6. Dados de RMN-<sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C para o bulnesol.

<sup>13</sup> C			Bidimensional	
Carbono	δ(ppm)	Tipo	HSQC	HMBC
1	141.8	C	-	-
2	28.8	CH <sub>2</sub>	0.79; dd; J=13.5, 10.3 Hz; 1H 1.88-1.79; m; 1H	3; 4; 5; 15
3	33.1	CH <sub>2</sub>	1.32; d; J= 6.9 Hz; 1H 1.88-1.79; m; 1H	1; 2; 4; 5; 6; 10; 15
4	39.1	CH	2.17-2.02; m; 1H	3; 5; 15
5	46.4	CH	2.42-2.24; m; 1H	1; 4; 10
6	34.9	CH <sub>2</sub>	1.88-1.79; m; 1H 2.17-2.02; m; 1H	3; 5; 7; 8; 9; 10; 15
7	54.2	CH	1.88-1.79; m; 1H	1; 4; 5; 6; 8; 10
8	27.8	CH <sub>2</sub>	1.16; s; 1H 1.32; d; J=6.9 Hz; 1H	1; 5; 6; 7; 10
9	30.4	CH <sub>2</sub>	2.17-2.02; m; 1H 2.42-2.24; m; 1H	1; 5; 7; 8; 10; 14
10	128.9	C	-	-
11	73.8	C	-	-
12	27.2	CH <sub>3</sub>	1.16; s; 3H	7; 11; 13
13	27.3	CH <sub>3</sub>	1.16; s; 3H	7; 11; 12
14	22.3	CH <sub>3</sub>	1.65; s; 3H	1; 5; 9; 10
15	15.4	CH <sub>3</sub>	0.89; d; J=7.0 Hz; 3H	3; 4; 5

Quando analisados os dados de <sup>1</sup>H-RMN (figura 38 e 41), verificamos a presença de 2 singletos correspondentes aos prótons dos grupos metilos das posições 12 e 13, respectivamente. O guaiol apresenta para a posição 14 e 15 dois dubletos, contrariamente ao que acontece com o bulnesol que, para os mesmos apresenta um singlete e um dubleto, respectivamente, correspondendo aos grupos metilo dessas mesmas ligações.

O guaiol, quando obtido, tem o aspeto de agulhas translúcidas com um cheiro bastante característico; já o bulnesol é um óleo de coloração amarelada e translúcida, sendo um pouco viscoso. Uma vez, que o guaiol e o bulnesol são isómeros, facilmente se formam pontes de hidrogénio entre eles, levando ao aumento da dificuldade da sua separação.

## 4.1. Oxidação de guaiol e bulnesol com $\text{SeO}_2$

Este método de oxidação foi escolhido por ser um método de simples aplicação, uma vez que os reagentes utilizados são economicamente viáveis e pouco prejudiciais ao ambiente.

### 4.1.1. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol

De modo a estudar o comportamento deste tipo de reação foram executadas três reações (S1, S2 e S3) onde se fez variar o tempo de reação sem alterar a quantidade de substrato inicial e de reagente adicionado. O substrato inicial era uma mistura de guaiol e de bulnesol. Na tabela 7 apresenta-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

**Tabela 7.** Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de oxidação.

Reação	Reagentes	Temp.	Tempo	Conv.	Selet.	Rend.	Produtos
Substrato		(°)	(h)	(%)	(%)	(%)	
S1	EtOH (5 mL)	40	19	82.96	27.68	22.9	1
300 mg de substrato	$\text{SeO}_2$ (150 mg) $\text{K}_2\text{CO}_3$ (90 mg)						
S2	EtOH (5 mL)	40	26	27.40	27.03	7.4	2
300 mg de substrato	$\text{SeO}_2$ (150 mg) $\text{K}_2\text{CO}_3$ (90 mg)						
S3	EtOH (5 mL)	40	48	89.63	42.97	38.5	1
300 mg de substrato	$\text{SeO}_2$ (150 mg) $\text{K}_2\text{CO}_3$ (90 mg)						

Os produtos obtidos estão representados na figura 17.

Após a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo, observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

Pela análise da tabela 7, verifica-se que para a obtenção do composto 1, na reação S1 e S3, o tempo de reação é essencial, de modo a obter uma maior percentagem de conversão e um

maior rendimento, sendo o obtido para a reação S3 de 89.63% e 38.5%, respectivamente. O composto 2 obtém-se quando a reação é realizada com um tempo intermédio, levando a que se forme um isômero que apresenta uma percentagem de conversão e um rendimento muito inferior aos restantes produtos, sendo de 27.40% e 7.4% respectivamente.

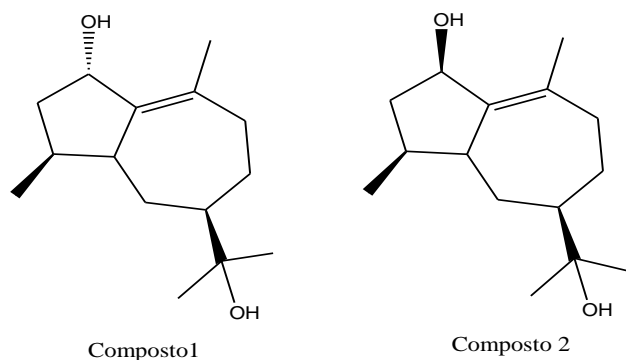


Figura 17. Representação dos compostos obtidos na reação de oxidação.

Foram realizadas análises de RMN  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$ , IV e massa de alta resolução sendo os seus espectros apresentados nas figuras 44-47.

Na tabela 8 sumaria-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 1.

Tabela 8. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 1.

Carbono	$^{13}\text{C}$		Bidimensional	
	$\delta(\text{ppm})$	Tipo	HSQC	HMBC
1	143.3	C	-	
2	79.8	CH	4.21; d; J=4.9 Hz; 1H	1; 3; 4; 5; 6; 10
3	63.8	CH <sub>2</sub>	3.36; dd; J=7.1, 1.9 Hz; 1H 3.53; dd; J= 7.0, 2.1 Hz; 1H	2; 4; 5; 6; 15
4	35.5	CH	2.59-2.29; m; 1H	5; 6
5	44.8	CH	2.66-2.56; m; 1H	1; 7; 8; 10; 14
6	35.0	CH <sub>2</sub>	2.41-2.32; m; 1H 1.13; s; 1H	1; 6; 7; 8; 10; 12; 13
7	54.5	CH	1.45; s; 1H	3; 5; 8; 11; 12; 13
8	26.9	CH <sub>2</sub>	0.97; s; 1H 0.62; dd; J= 2.41, 11.9 Hz; 1H	1; 7; 10; 12; 13; 14
9	38.7	CH <sub>2</sub>	1.76; d; J=1.6 Hz; 1H 1.28; s; 1H	1; 5; 6; 8; 10
10	137.5	C	-	
11	73.8	C	-	
12	27.2	CH <sub>3</sub>	1.13; s; 3H	6; 7; 8; 13
13	27.3	CH <sub>3</sub>	1.13; s; 3H	6; 7; 8; 12
14	21.9	CH <sub>3</sub>	1.76; s; 3H	1; 8; 10
15	15.8	CH <sub>3</sub>	0.92; d; J= 7.0 Hz; 3H	4; 5; 6

Ao analisar os dados de RMN (figura 45) de  $^{13}\text{C}$  da tabela 8, verifica-se que o composto apresenta 15 átomos de carbono, dos quais 3 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 4 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários. Pode ainda verificar-se que o átomo de

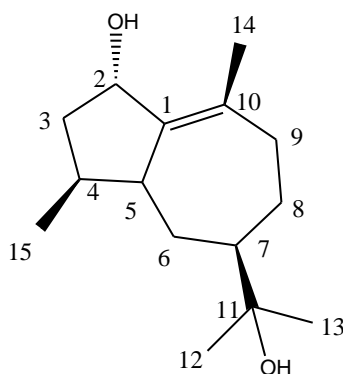
carbono da posição 2 altera a sua posição, não só por se tornar um carbono terciário, mas também pelo fato de ser o carbono que se liga ao novo grupo hidroxilo.

Relativamente, aos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 44), é observável que o produto é proveniente do esqueleto de bulnesol, tendo assim os sinais relativos aos prótons dos metilos 12 e 13 apresentados como um singlete. Os prótons dos metilos 14 e 15 são apresentados como singlete e dubleto, respetivamente. Neste caso é observável ainda a alteração do tipo de próton existente no C2, uma vez que, neste caso, se apresenta como um dubleto em vez do duplo-dubleto que existia no esqueleto de partida, esta alteração é devida à adição do grupo hidroxilo a esse carbono.

A análise do espectro de infravermelho (figura 46) permite a identificação dos diferentes substituintes. No caso deste produto consegue-se observar a presença de uma banda relativa ao grupo OH, apresentada na zona de  $3424.21\text{ cm}^{-1}$ , e a banda característica à ligação dupla tetrassubstituída que aparece por volta dos  $1600\text{ cm}^{-1}$ .

Na análise do espectro de massa de alta resolução (figura 47), é possível confirmar o peso molecular do produto obtido, tal como se previa, de  $238.19\text{ g/mol}$ ; quando analisados os dados do espectro o valor tem na sua composição o ião  $\text{M}+\text{Na}$ , atribuindo este ião um peso molecular de  $261.18\text{ m/z}$  ao qual se retira o valor do peso molecular do  $\text{Na}^+$  ( $23\text{ g/mol}$ ).

Relacionados e estudados os dados obtidos, propõe-se a seguinte estrutura para este produto (figura 18), sendo a sua nomenclatura: 2-Hidroxibulnesol.



**Figura 18.** Estrutura proposta para o composto 1.

Relativamente, ao composto 2, também foram realizadas análises de RMN  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$ , IV e massa de alta resolução sendo os seus espectros apresentados nas figuras 48-51. Na tabela 9 sumaria-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 2.

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 49), da tabela 9 permite verificar a existência de 15 átomos de carbono, dos quais 3 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 4 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários, tal como no produto anterior. A diferença existente entre os dois compostos é apenas na estereoquímica do grupo OH que liga no C-2.

Observando os dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 48), pode-se observar que o produto segue o esqueleto de bulnesol mantendo assim os 2 singletos correspondentes aos prótons dos metilos das posições 12 e 13, apesar destes estarem sobre o mesmo sinal é possível relacioná-los através das correlações bidimensionais, e o singlete e dubleto correspondentes aos prótons dos grupos metilo das posições 14 e 15, respetivamente. A principal alteração visível neste espetro é a existência de um dubleto no C-2, em vez do duplo-dubleto que existia na configuração do bulnesol. Esta alteração deve-se ao facto da adição do grupo OH a essa posição.

**Tabela 9.** Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 2.

Carbono	$^{13}\text{C}$ $\delta(\text{ppm})$	Tipo	Bidimensional	
			HSQC	HMBC
1	145.9	C	-	-
2	72.2	CH	4.64; d; J= 5.1 Hz; 1H	4; 5; 6
3	26.8	CH <sub>2</sub>	0.98-0.94; m; 1H 1.96-1.88; m; 1H	1; 4; 6; 10
4	35.2	CH	2.61-2.43; m; 1H	1; 3; 5
5	44.7	CH	2.61-2.43; m; 1H	3; 8; 15
6	34.8	CH <sub>2</sub>	0.72-0.55; m; 1H 2.30-2.43; m; 1H	1; 3; 4; 7; 8; 10; 12; 13
7	54.9	CH	1.15; s; 1H	8; 11; 12; 13
8	26.9	CH <sub>2</sub>	1.89-1.81; m; 1H 2.30-2.08; m; 1H	1; 7; 10; 12; 13
9	42.8	CH <sub>2</sub>	1.52-1.42; m; 1H 1.81-1.70; m; 1H	1; 5; 6; 8
10	136.6	C	-	-
11	73.7	C	-	-
12	27.1	CH <sub>3</sub>	1.15; s; 3H	7; 8; 11; 13
13	27.2	CH <sub>3</sub>	1.15; s; 3H	8; 12
14	21.6	CH <sub>3</sub>	1.84; s; 3H	1; 10; 8
15	15.5	CH <sub>3</sub>	0.96; d; J= 6.7 Hz; 3H	3; 4

Na análise do espetro de IV (figura 50), pode verificar-se a presença da banda relativa ao grupo OH, que aparece por volta dos  $3391.27\text{cm}^{-1}$ , a banda relativa à ligação C=C tetrassubstituída na zona dos  $1600\text{ cm}^{-1}$  e a banda correspondente à ligação C-O na zona de  $1132.67$  a  $1107.37\text{ cm}^{-1}$ .

Quando analisado o espetro de massa de alta resolução (figura 51), observa-se que o produto obtido apresenta um peso molecular de  $238.19\text{ g/mol}$ , verificando-se a mesma análise realizada anteriormente relativamente ao ião  $\text{M}+\text{Na}$ .

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas, chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 19), sendo a sua nomenclatura, igual à anterior: 2-Hidroxibulnesol.

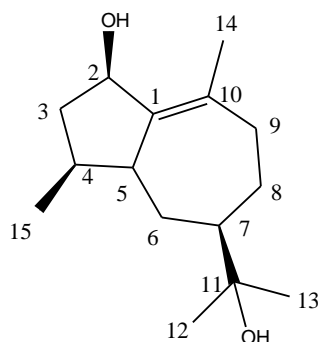


Figura 19. Estrutura proposta para o composto 2.

## 4.2. Epoxidação de guaiol e bulnesol com NBS

Este método de epoxidação foi escolhido por ser um método de simples aplicação, uma vez que os reagentes utilizados são economicamente viáveis e pouco prejudiciais ao ambiente.

### 4.2.1. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol

De modo a estudar o comportamento deste tipo de reação foram realizadas duas reações (S4 e S5) onde se fez variar o tempo de reação, a quantidade de substrato inicial e mantendo constante a quantidade reagente adicionado. O substrato inicial era uma mistura de guaiol e de bulnesol. Na tabela 10 apresenta-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

Tabela 10. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de oxidação.

Reação	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
S4	NBS (380 mg)	Temp. Ambiente	18	-	-	33.3	3
200 mg de substrato	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (280 mg)						
S5	NBS (380 mg)	Temp. Ambiente	3.5	-	-	17.78	3
400 mg de substrato	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (280 mg)					H <sub>2</sub> O (0,05 mL)	9.44

As estruturas dos produtos obtidos nas reações S4 e S5 estão representadas na figura 20.

Após a realização da cromatografia em coluna, procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

Analisando a tabela 11, observa-se que o composto 3 é um produto que se obtém com um elevado rendimento, aproximadamente, 33.3%. Porém, o seu tempo de reação é elevado



Por outro lado, através dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 52), podemos observar a existência dos dois doubletos referentes aos prótons dos metilos 14 e 15, respetivamente, e a existência dos dois singletos pertencentes aos metilos dos prótons 12 e 13, respetivamente. É ainda possível observar a existência de diversos sinais relativos a singletos e multipletos, referentes às diferentes posições e tipos de prótons que a estrutura apresenta.

Analisando o espectro de IV (figura 54) podemos observar a banda característica do grupo epóxido entre os 1175.67 e os 1065.18  $\text{cm}^{-1}$ .

Na análise do espectro de massa (figura 55), identifica-se o pico M+Na, de 245.187587 m/z. Este valor confirma o peso molecular do nosso composto, uma vez que ao valor obtido é retirado o valor do Na, obtendo assim, um peso molecular de 220.20 g/mol.

Após realizadas as análises descritas, chegou-se a uma proposta de estrutura para este composto (figura 21), sendo a sua nomenclatura 5,11-Epoxiguaiano.

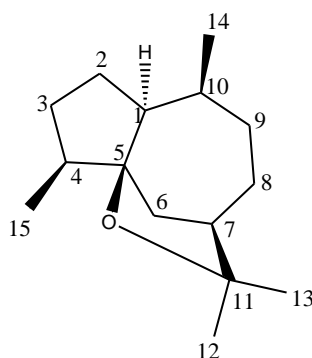


Figura 21. Estrutura proposta para o composto 3.

Na tabela 12 apresenta-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 4.

Tabela 12. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 4.

Carbono	$^{13}\text{C}$ $\delta(\text{ppm})$	Tipo	Bidimensional	
			HSQC	HMBC
1	152.0	C	-	
2	128.87	CH	5.68; dd; J= 2.9, 1.6 Hz; 1H	3; 4; 5
3	37.5	CH <sub>2</sub>	2.09-1.98; m; 1H 2,30-2.14; m; 1H	6
4	39.8	CH	2.50-2.38; m; 1H	3; 5; 6; 7
5	42.0	CH	2.75-2.70; m; 1H	2
6	23.7	CH <sub>2</sub>	1.45; s; 1H 1.44-1.42; m; 1H	1; 5; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13
7	41.9	CH	2.09-1.98; m; 1H	5; 12
8	28.8	CH <sub>2</sub>	2.30-2.14; m; 1H 2.50-2.38; m; 1H	5; 6; 7; 10; 11; 12
9	85.5	CH	3.93; d; J= 8.1 Hz; 1H	1; 7; 10; 11; 14
10	72.4	C	-	
11	85.0	C	-	
12	31.6	CH <sub>3</sub>	1.17; s; 3H	6; 7; 11; 13
13	25.6	CH <sub>3</sub>	1.10; s; 3H	7; 11; 12
14	25.7	CH <sub>3</sub>	1.45; s; 3H	5; 9
15	14.8	CH <sub>3</sub>	1.04; d; J= 7.0 Hz; 3H	3; 4

Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 57), da tabela 12, demonstram que o composto apresenta 15 átomos de carbono, dos quais 3 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 3 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 5 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 56), permite observar a presença de um dubleto referente ao grupo metilo da posição 15 e um singleto referente ao grupo metilo da posição 14. Porém, as principais alterações neste produto, comparado com o guaiol (além da diferença entre o metilo da posição 14 e 15, respectivamente) são: a alteração do local da ligação dupla passando esta a estar ligada entre C1 e C2, dando assim origem a um duplo-dubleto; a existência do grupo OH na posição C9, sendo este sinal de próton apresentado como um dubleto.

Pela análise do espectro de infravermelho (figura 58), verifica-se a presença da banda relativa ao grupo hidroxilo, que aparece por volta dos  $3047.59\text{ cm}^{-1}$ . Entre  $1122.71\text{-}1028.75\text{ cm}^{-1}$  temos a banda característica de um grupo C-O. A banda referente à ligação dupla encontra-se na zona de  $1600\text{ cm}^{-1}$ .

Analisando o espectro de massa (figura 59), verifica-se que o pico  $\text{M}+\text{Na}^+$ , de  $259.266851\text{ m/z}$ , é o valor que confirma o peso molecular do nosso composto, obtendo assim, um peso molecular de  $236.18\text{ g/mol}$ .

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas, chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 22), sendo a sua nomenclatura 10,11-Epoxiguai-1-en-9-ol.

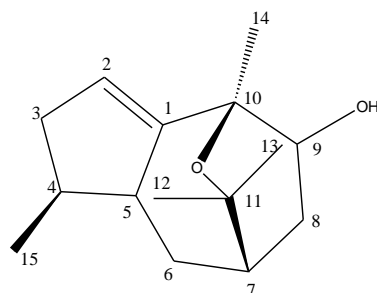


Figura 22. Estrutura proposta para o composto 4.

### 4.3. Esterificação de guaiol e bulnesol

Este método de esterificação foi escolhido por ser um método de simples aplicação, uma vez que os substratos iniciais apresentam um álcool terciário. Este é um álcool que permite uma esterificação com reagentes de cadeia carbonada longa ou curta.

Para estudar o comportamento deste tipo de reação, foram realizadas diversas reações utilizando diferentes condições de reação, tal como a quantidade inicial de substrato, temperatura, tempo, quantidade de reagentes e diferentes reagentes de esterificação. Os reagentes utilizados foram cinco, diferindo entre eles no tamanho da cadeia carbonada. Contudo, três destes reagentes eram derivados halogenados (com cloro e bromo nas suas cadeias) designados de cloreto 6-Bromohexanoílo, cloreto 5- Bromovalerílo e cloreto 4-

Bromobutirilo; reagentes de cadeia pequena como cloreto de acrílico e anidrido acético e por fim o uso de um reagente de cadeia longa, designadamente, polietilenoglicol (PEG400). Como substrato inicial foi utilizada a mistura de guaiol e bulnesol e cada um deles em separado, contudo estes dois produtos não se conseguem separar por completo; principalmente o guaiol existe sempre, mesmo sendo minoritário, com o bulnesol.

#### 4.3.1. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol utilizando cloreto 6-Bromohexanoílo

Na tabela 13 apresenta-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

**Tabela 13.** Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação Substrato	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
<b>Substrato composto por mistura de guaiol e bulnesol</b>							
S6 400 mg de substrato	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrCl (0,28mL) EtN <sub>3</sub> (0,25 mL) DMAP (220 mg)	T. ambiente	60	68.33	33.33	22.7	5, 6
S7 500 mg de substrato	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrCl (0,5mL) EtN <sub>3</sub> (0,31 mL) DMAP (270 mg)	45	120	77.33	13.8	10.7	5, 6
<b>Substrato composto por guaiol</b>							
S8 200 mg de substrato	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrCl (0,16mL) EtN <sub>3</sub> (0,15mL) DMAP (130 mg)	T. ambiente	96	-	-	7.78	5, 6
<b>Substrato composto por bulnesol</b>							
S9 300 mg de substrato	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrCl (0,21mL) EtN <sub>3</sub> (0,19mL) DMAP (160 mg)	T. ambiente	168	72.59	15.31	11.1	5, 6
S10 500 mg de substrato	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> BrCl (0,34mL) EtN <sub>3</sub> (0,31mL) DMAP (270 mg)	45	72	65.24	14.3	9.3	5, 6

Analisando a tabela 13, observa-se que é uma reação que apresenta rendimentos bastante baixos devido, essencialmente, à instabilidade dos substratos de partida: o guaiol e o bulnesol. Porém é possível dizer que quando se usa como produto de partida o bulnesol, produto menos instável, obtém-se um rendimento de reação mais elevado, como o apresentado pela reação S9, de 11.1%, contudo, é necessário ter atenção ao facto de a reação ser realizada com temperatura ou não.

Quando se usa um substrato de mistura guaiol e bulnesol, é possível obter um rendimento mais elevado, quando a reação é efetuada à temperatura ambiente, como é o caso do produto da reação S6 com um rendimento de 22.7%; uma vez utilizados substratos em que predomine o guaiol, podemos verificar que o rendimento da reação diminui, essencialmente, devido à sua instabilidade química, obtendo assim os compostos 5 e 6, com um rendimento de 7.78%.

As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas estão representadas na figura 23, contudo estes produtos apresentam uma mistura derivada de guaiol e bulnesol, formando o produto pretendido mas sem ser completamente puro, isto devido à dificuldade de se separarem na sua totalidade.

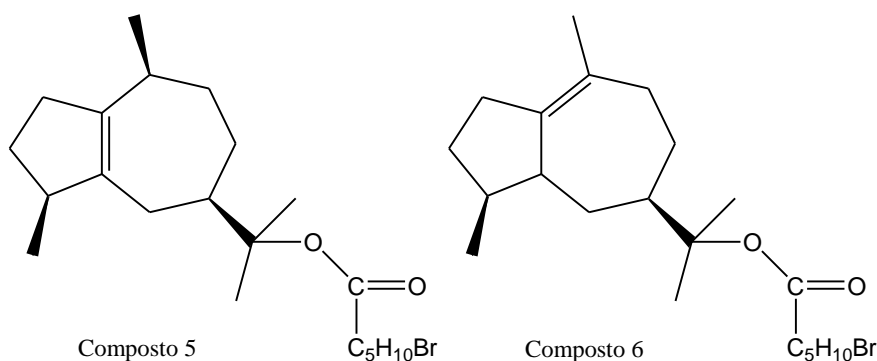


Figura 23. Representação dos compostos 5 e 6.

Após a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo, observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

Os espetros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para os produtos obtidos estão representados nas figuras 60 e 61.

Na tabela 14 resume-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 5.

Ao analisar os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 61) da tabela 14, verifica-se que o composto apresenta 21 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 10 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Relativamente aos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 60), podemos observar a existência dos dois dubletos referentes aos prótons dos metilos 14 e 15, respetivamente, tal como o singletto referente aos prótons dos metilos 12 e 13, respetivamente. A zona referente ao éster que se

adicionou ao substrato inicial pode ser vista como multiplete, sendo que o multiplete mais alto é referente aos prótons que estão com o halogênio.

Após realizadas todas as análises descritas, chegou-se a uma proposta de estrutura para este composto (figura 24), sendo a sua nomenclatura para o composto 5 de 6'-bromo-hexanoato de guaílo e para o composto 6 6'-bromo-hexanoato de bulnesílo.

Tabela 14. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 5.

$^{13}\text{C}$		
Carbono	$\delta(\text{ppm})$	Tipo
1	140.5	C
2	35.4	$\text{CH}_2$
3	30.9	$\text{CH}_2$
4	46.3	CH
5	138.3	C
6	27.5	$\text{CH}_2$
7	46.7	CH
8	27.4	$\text{CH}_2$
9	33.4	$\text{CH}_2$
10	33.7	CH
11	87.7	C
12	23.5	$\text{CH}_3$
13	23.2	$\text{CH}_3$
14	19.9	$\text{CH}_3$
15	19.6	$\text{CH}_3$
1'	168.7	C
2'	32.4	$\text{CH}_2$
3'	26.4	$\text{CH}_2$
4'	27.6	$\text{CH}_2$
5'	33.5	$\text{CH}_2$
6'	32.3	$\text{CH}_2$

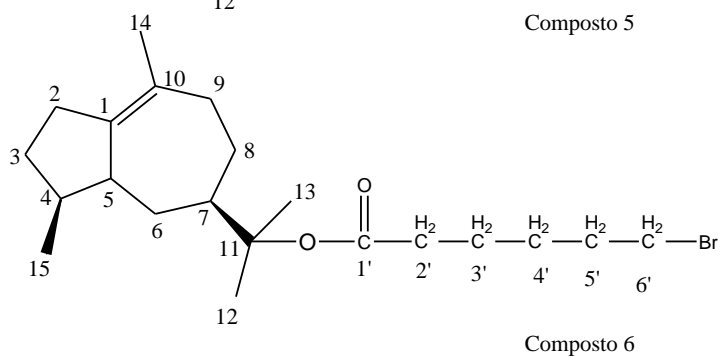
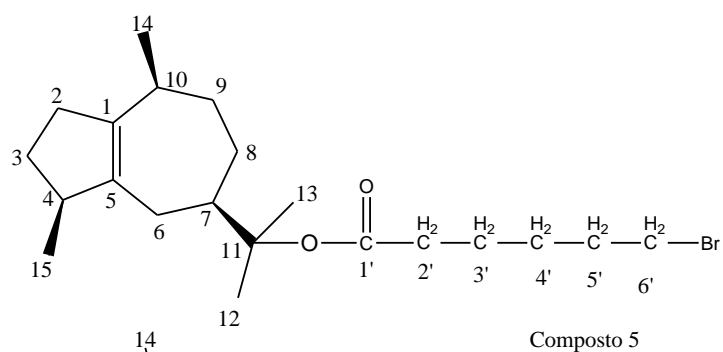


Figura 24. Estruturas propostas para o composto 5 e 6.

#### 4.3.2. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol utilizando cloreto 5- Bromovalerílo

A tabela 15 apresenta as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

Os compostos obtidos nesta reação são uma mistura e deste modo apenas se apresenta dos dados relativos ao produto derivado de esqueleto de guaiol.

Analisando a tabela 15, observa-se que para a obtenção do composto 7 e 8 os fatores determinantes são o tempo de reação e o tipo de substrato inicial. Deste modo, utilizando um extrato inicial de bulnesol, ainda que contenha guaiol em pequena percentagem, influencia a obtenção do produto. Assim sendo consegue-se obter o produto derivado do bulnesol com um rendimento de 28.5%, em contrapartida o produto derivado do guaiol tem um rendimento muito inferior, apenas 5.00%.

As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas estão representadas na figura 25, contudo, em ambas as reações o produto obtido contém a mistura derivada de guaiol e bulnesol, novamente devido à dificuldade da separação do substrato inicial.

Tabela 15. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação Substrato	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
Substrato composto por guaiol							
S11 300 mg de substrato	Br(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COCl (0,18mL) EtN <sub>3</sub> (0,18mL) DMAP (160 mg)	45	39.3	56.30	8.80	5.00	7, 8
Substrato composto por bulnesol							
S12 300 mg de substrato	Br(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COCl (0,18mL) EtN <sub>3</sub> (0,18mL) DMAP (160 mg)	45	48	-	-	28.5	7,8

Após a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C para os produtos obtidos estão representados nas figuras 62-63.

Na tabela 16 encontra-se sumariado os dados de RMN de <sup>13</sup>C do composto 7. Os dados apresentados na tabela 16 são apenas referentes ao produto derivado de guaiol, uma vez que

a existência do derivado de bulnesol é inferior e não possibilita a descrição total, devido à sobreposição de sinais.

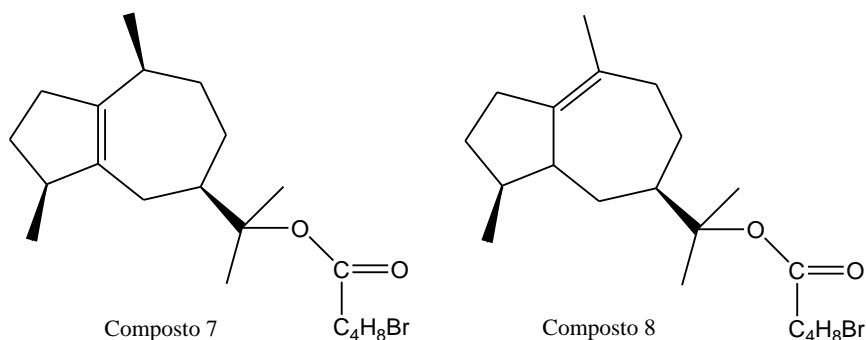


Figura 25. Representação dos compostos 7 e 8.

Os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 63) da tabela 16, demonstram que o composto apresenta 20 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 9 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Tabela 16. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 7.

$^{13}\text{C}$		
Carbono	$\delta(\text{ppm})$	Tipo
1	140.2	C
2	35.3	$\text{CH}_2$
3	31.0	$\text{CH}_2$
4	46.5	CH
5	138.7	C
6	27.5	$\text{CH}_2$
7	46.3	CH
8	26.8	$\text{CH}_2$
9	33.8	$\text{CH}_2$
10	33.7	CH
11	85.0	C
12	23.7	$\text{CH}_3$
13	23.1	$\text{CH}_3$
14	19.7	$\text{CH}_3$
15	19.9	$\text{CH}_3$
1'	167.6	C
2'	33.7	$\text{CH}_2$
3'	25.0	$\text{CH}_2$
4'	32.0	$\text{CH}_2$
5'	33.0	$\text{CH}_2$

Analisando os dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 62), podemos observar a existência dos dois dupletos referentes aos prótons dos metilos 14 e 15, respectivamente, tal como o singletto referente aos prótons dos metilos 12 e 13, respectivamente. A zona referente ao éster que se adicionou ao substrato inicial pode ser vista como multipletto, sendo que o multipletto mais alto é referente aos prótons que estão com o halogênio.

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 26), sendo a sua nomenclatura para o composto 7 de 5'-bromovaleroato de guaió e para o composto 8 de 5'-bromovaleroato de bulnesílo.

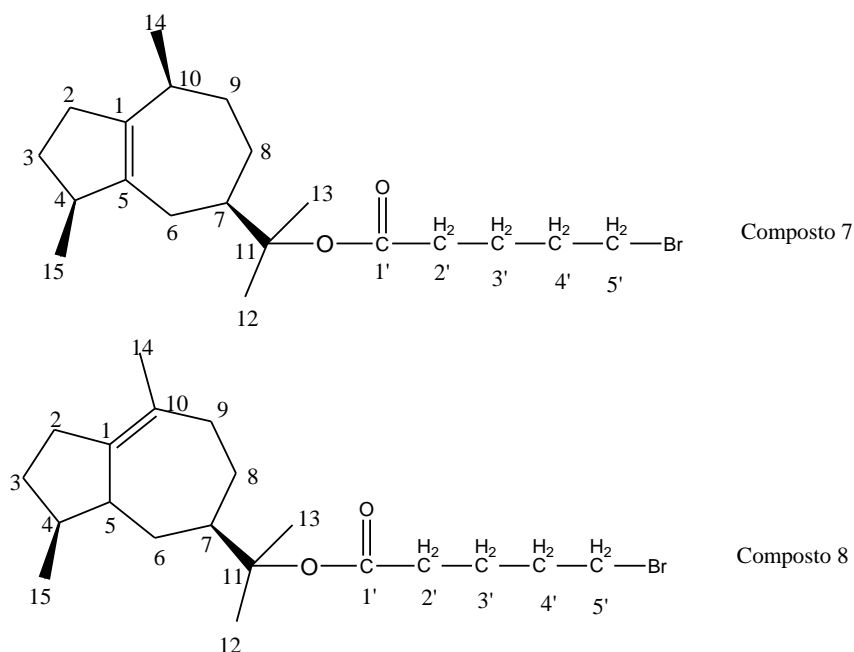


Figura 26. Estruturas propostas para o composto 7 e 8.

#### 4.3.3. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e bulnesol utilizando cloreto 4-Bromobutirílo

Na tabela 17 apresenta-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

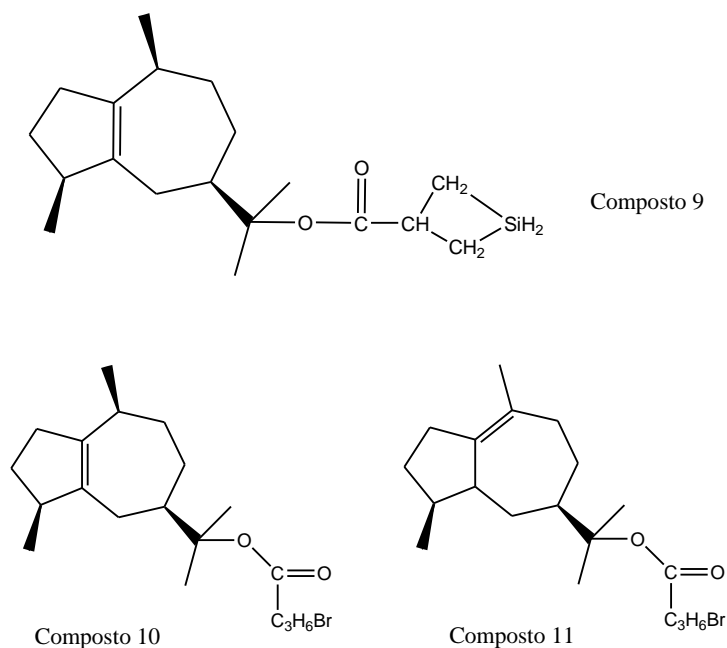
Através dos dados da tabela 17, verificar-se que para a obtenção de um bom rendimento, o produto de partida tem de conter a mistura de guaiol e bulnesol e ser utilizada temperatura, obtendo assim um rendimento de 50.77%. Quando utilizados os dois substratos em separado podemos afirmar que a temperatura é essencial e que ainda assim o substrato de bulnesol obtém maior rendimento que o substrato de guaiol, devido à sua difícil estereoquímica, sendo de 34.6 e 30.0 %, respetivamente.

As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas, estão representadas na figura 27. Os produtos, composto 10 e 11, são, novamente, uma mistura dos derivados de guaiol e bulnesol, sendo apresentados os dados para o derivado de esqueleto de bulnesol.

Após a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo, observando os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

**Tabela 17.** Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
<b>Substrato composto por mistura de guaiol e bulnesol</b>							
S13 300 mg de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> BrCl (0,15mL) EtN <sub>3</sub> (0,18 mL) DMAP (160 mg)	45	44	-	-	50.77	10, 11
<b>Substrato composto por guaiol</b>							
S14 300 mg de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> BrCl (0,15mL) EtN <sub>3</sub> (0,18 mL) DMAP (160 mg)	T. ambiente	48	92.30	13.92	12.84	9
S15 300 mg de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> BrCl (0,15mL) EtN <sub>3</sub> (0,18 mL) DMAP (160 mg)	45	44	74.92	40.04	30.0	10, 11
<b>Substrato composto por bulnesol</b>							
S16 300 mg de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> BrCl (0,15mL) EtN <sub>3</sub> (0,18 mL) DMAP (160 mg)	45	44	-	-	34.6	10, 11



**Figura 27.** Representação dos compostos obtidos na reação de esterificação, 9, 10 e 11.

Para estes produtos foram realizados espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e IV, estão representados nas figuras 64-68. Na tabela 18 apresenta-se sumariado os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 9.

**Tabela 18.** Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 9.

$^{13}\text{C}$			Bidimensional	
Carbono	$\delta(\text{ppm})$	Tipo	HSQC	HMBC
1	140.1	C	-	
2	30.9	$\text{CH}_2$	1.32-1.22; m; 1H 1.99-1.90; m; 1H	1; 3; 4; 14; 15
3	35.3	$\text{CH}_2$	2.19-2.02; m; 1H 2.45-2.33; m; 1H	1; 2; 5; 6
4	46.3	CH	1.99-1.90; m; 1H	3; 5; 6; 7; 15
5	138.5	C	-	
6	27.3	$\text{CH}_2$	1.15-1.08; m; 1H 1.99-1.90; m; 1H	4; 5; 7; 8; 12; 13; 15
7	46.2	CH	1.74-1.65; m; 1H	
8	26.7	$\text{CH}_2$	1.53-1.43; m; 1H 1.74-1.65; m; 1H	1; 6; 7; 9; 10; 11; 14
9	33.4	$\text{CH}_2$	1.53-1.43; m; 1H 2.32-2.20; m; 1H	2
10	33.7	CH	2.45-2.33; m; 1H	1; 9
11	85.5	C	-	
12	22.9	$\text{CH}_3$	1.39; s; 3H	6; 8
13	23.5	$\text{CH}_3$	1.37; s; 3H	7; 11; 12
14	19.9	$\text{CH}_3$	0.95; dd; J=15.6, 7.0 Hz; 3H	8; 9; 10
15	19.6	$\text{CH}_3$	0.95; dd; J=15.6, 7.0 Hz; 3H	1; 5; 6
1'	173.9	C	-	
2'	14.0	CH	0.75; dd; J= 7.9, 3.5 Hz; 1H 1.53-1.43; m; 2H	1'; 3'; 4'
3'	7.8	$\text{CH}_2$	0.75; dd; J= 7.9, 3.5 Hz; 1H 0.89-0.87; m; 1H	1'; 2'; 4'
4'	7.9	$\text{CH}_2$	0.75; dd; J= 7.9, 3.5 Hz; 1H 0.89-0.87; m; 1H	1'; 2'; 3'

Nos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 65) da tabela 18, verifica-se que o composto apresenta 19 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 7 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Com os dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 64), verifica-se a presença de 2 singletos referentes aos prótons dos metilos das posições 12 e 13, respetivamente; observa-se um dubleto, neste caso, referente aos prótons dos metilos das posições 14 e 15, respetivamente. Pode ainda verificar-se que os prótons das posições C2', C3' e C4' partilham do mesmo duplo-dubleto diferindo entre os três a posição de um próton, devido ao facto de os prótons do C3' e C4' estão ligados ao grupo silício. No entanto podemos confirmar por toda a análise relativa ao espectro de  $^1\text{H}$ , que este composto é derivado do esqueleto de guaiol.

Com o espectro de infravermelho apresentado na figura 66, podemos observar que existem bandas relativas às ligações C-O por volta dos  $1068.13\text{-}1178.54\text{ cm}^{-1}$  e na zona de  $1716,97\text{ cm}^{-1}$  encontra-se a ligação correspondente ao COO.

Após realizadas e estudadas todas as análises descritas, sugere-se uma estrutura para este composto (figura 28), sendo a sua nomenclatura Silaciclobutano-3-carboxilato de guaiol.

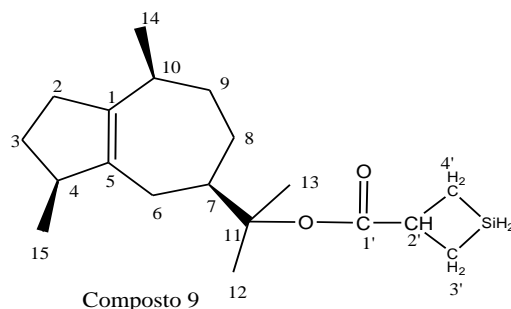


Figura 28. Estrutura proposta para o composto 9.

Os dados apresentados na tabela 19 são apenas referentes ao produto derivado de bulnesol, uma vez que a existência do derivado de guaiol é inferior e não possibilita a descrição total, devido à sobreposição de sinais.

Analisando os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 68) da tabela 19, verifica-se que o composto apresenta 19 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 8 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 67) demonstram a existência de um dubleto referente aos prótons do metilo 15, tal como o singlete referente aos prótons dos metilos 12 e 13 e o singlete referente aos prótons do metilo 14. A zona referente ao éster que se adicionou ao substrato inicial pode ser vista como multipletto sendo que o multipletto mais alto é referente aos prótons que estão com o halogênio.

Tabela 19. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 11.

$^{13}\text{C}$		
Carbono	$\delta(\text{ppm})$	Tipo
1	141.8	C
2	28.2	$\text{CH}_2$
3	33.0	$\text{CH}_2$
4	38.9	CH
5	46.0	CH
6	34.7	$\text{CH}_2$
7	50.4	CH
8	28.0	$\text{CH}_2$
9	30.3	$\text{CH}_2$
10	128.7	C
11	86.5	C
12	23.7	$\text{CH}_3$
13	23.8	$\text{CH}_3$
14	22.2	$\text{CH}_3$
15	15.3	$\text{CH}_3$
1'	171.7	C
2'	34.7	CH
3'	27.4	$\text{CH}_2$
4'	32.8	$\text{CH}_2$

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 29), sendo a sua nomenclatura para o composto 10 de 4'-bromobutirato de guaílo e para o composto 11 de 4'-bromobutirato de bulnesilo.

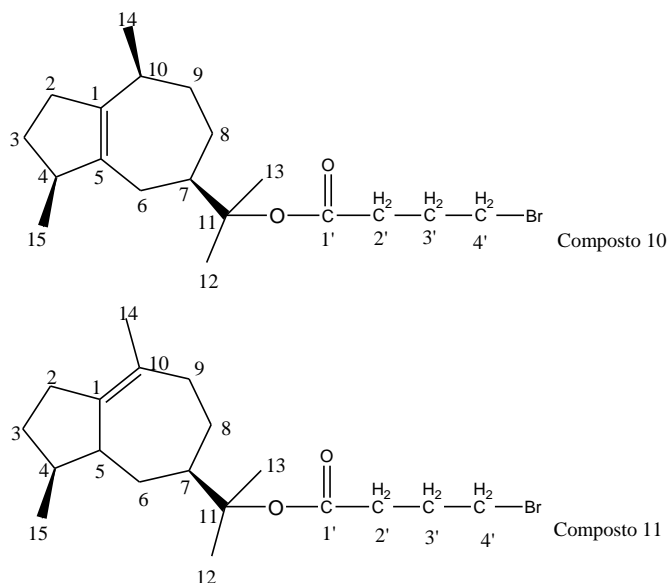


Figura 29. Estruturas propostas para o composto 10 e 11.

#### 4.3.4. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaíol e bulnesol utilizando Cloreto de acríloilo

Na tabela 20 apresentam-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

Analisando a tabela 20, podemos verificar que o produto 12 e 13 são obtidos diferindo algumas condições, tais como a quantidade de substrato inicial, tipo de substrato, tempo de reação e a temperatura. Com as alterações que se realizaram verifica-se, para o substrato de guaíol, que quando utilizada uma pequena quantidade de substrato e deixando que ele reaja à temperatura ambiente o seu rendimento é, relativamente, elevado, sendo este de 39.17%. Porém, quando utilizada uma maior quantidade de substrato e colocando uma temperatura à reação, o produto é obtido apenas com um rendimento de 37.55%. Em contrapartida, quando utilizado o extrato de bulnesol, que apenas foi testado com temperatura, podemos verificar que este tem uma maior facilidade em reagir e formar um produto com um rendimento, relativamente, mais alto que com o extrato de guaíol, sendo esse rendimento de 43.78%.

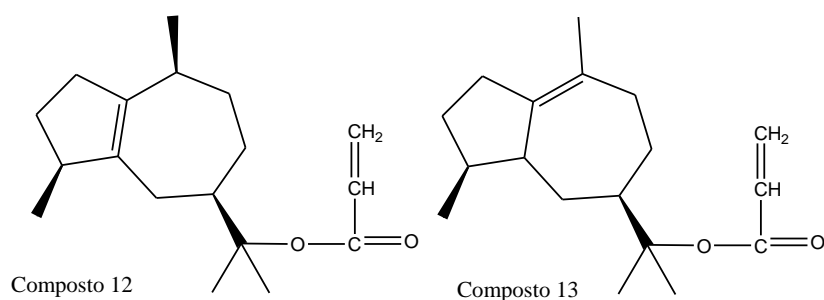
As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas, estão representadas na figura 30.

Após a realização da cromatografia em coluna, procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

Para ambos foi realizado RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , IV e massas de alta resolução, encontrando-se representados nas figuras 69 a 75.

**Tabela 20.** Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação Substrato	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
<b>Substrato composto por guaiol</b>							
S17 400 mg de substrato	$\text{C}_3\text{H}_3\text{ClO}$ (0.15mL) $\text{EtN}_3$ (0.25 mL) DMAP (220 mg)	T. ambiente	53	86.11	45.48	39.17	12
S18 1 g de substrato	$\text{C}_3\text{H}_3\text{ClO}$ (0.72mL) $\text{EtN}_3$ (1.25 mL) DMAP (1.09g)	40	2	-	-	37.55	12
<b>Substrato composto por bulnesol</b>							
S19 1 g de substrato	$\text{C}_3\text{H}_3\text{ClO}$ (0.72mL) $\text{EtN}_3$ (1.25 mL) DMAP (1.09g)	40	2	-	-	43.78	13



**Figura 30.** Estruturas dos compostos 12 e 13

Na tabela 21 apresenta-se os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 12.

Ao analisar os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 70) da tabela 21, verifica-se que o composto apresenta 18 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 6 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Relativamente aos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 69), podemos observar a posição dos prótons dos metilos 12 e 13, respetivamente, que é apresentado como um único sinal de singlete, os metilos das posições 14 e 15, respetivamente, são apresentados como dubletos, o que seria

de esperar, uma vez que o produto obtido deriva do esqueleto de guaiol. Os sinais relativos à cadeia adicionada ao guaiol aparecem como duplos-dubletos e referem-se aos prótons de C2' e de C3'.

Através da análise do espectro de infravermelho (figura 71), verifica-se a presença da banda relativa ao grupo éster que aparece por volta dos 1127  $\text{cm}^{-1}$ . Entre 1635.90 e 1618.81  $\text{cm}^{-1}$  temos a bandas características da ligação dupla tetrassubstituída e ainda por volta dos 1718 a banda característica à ligação COO.

Tabela 21. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 12.

$^{13}\text{C}$			Bidimensional	
Carbono	$\delta(\text{ppm})$	Tipo	HSQC	HMBC
1	138.5	C	-	
2	31.0	$\text{CH}_2$	1.99-1.84; m; 1H 1.23; ddt; J= 12.6, 9.2, 5.2 Hz; 1H	1; 3; 4; 5
3	35.4	$\text{CH}_2$	2.41-2.30; m; 1H	1; 2; 4; 6
4	46.4	CH	2.28-2.12; m; 1H	1; 3; 6; 15
5	140.2	C	-	
6	27.5	$\text{CH}_2$	2.28-2.12; m; 1H 1.99-1.84; m; 1H	7; 8; 11; 14; 15
7	46.3	CH	2.52-2.40; m; 1H	2; 15
8	26.8	$\text{CH}_2$	1.67; ddt; J= 12.4, 9.1, 2.0 Hz; 1H 1.60-1.44; m; 1H	5; 7; 9; 10; 11; 12; 13; 14
9	33.5	$\text{CH}_2$	1.67; ddt; J= 12.4, 9.1, 2.0 Hz; 1H 1.60-1.44; m; 1H	5; 7; 10; 11; 14
10	33.7	CH	1.67; ddt; J= 12.4, 9.1, 2.0 Hz; 1H	4; 5; 9; 14
11	85.9	C	-	
12	22.9	$\text{CH}_3$	1.41; s; 3H	7; 11; 13
13	23.4	$\text{CH}_3$	1.41; s; 3H	7; 11; 12
14	19.9	$\text{CH}_3$	0.95; d; J= 7.2 Hz; 3H	9; 10
15	15.7	$\text{CH}_3$	0.89; d; J=6.8 Hz; 3H	1; 2; 4
1'	165.2	C	-	
2'	130.5	CH	5.98; dd; J=17.3, 10.3 Hz; 1H	1'; 3'
3'	129.1	$\text{CH}_2$	6.23, dd; J= 17.3, 1.7; 1H 5.66; dd; J=10.4, 1.7 Hz; 1H	1'; 2'

Foi realizada uma análise de massa de alta resolução (figura 72) ao composto em análise de modo a confirmar o peso molecular. Confirmando assim um peso molecular de 276.21 g/mol. Após realizadas todas as análises descritas, chega-se a uma proposta de estrutura para este composto (figura 31), sendo a sua nomenclatura Acriloato de guaiólo.

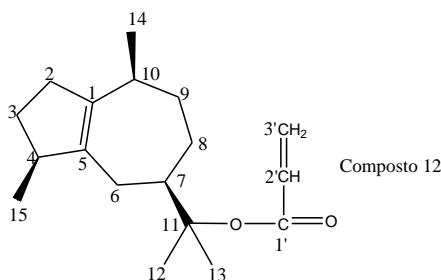


Figura 31. Estrutura proposta para o composto 12.

Na tabela 22 encontra-se sumariado os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 13. Reunindo os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 74) da tabela 22, verifica-se que o composto apresenta 18 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 6 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

**Tabela 22.** Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 13.

Carbono	$^{13}\text{C}$		Bidimensional	
	$\delta(\text{ppm})$	Tipo	HSQC	HMBC
1	141.8	C	-	
2	28.1	$\text{CH}_2$	0.73; d; J= 5.0 Hz; 1H 1.71-1.63; m; 1H	4; 5
3	33.0	$\text{CH}_2$	1.71-1.63; m; 1H 1.33-1.21; m; 1H	1; 4; 5; 15
4	38.9	CH	2.04; dd; J= 29.5, 7.5 Hz; 1H	1; 3; 5; 7; 10; 15
5	46.0	CH	2.36; d; J= 7.9 Hz; 1H	2; 4
6	34.7	$\text{CH}_2$	2.20-2.10; m; 1H 2.04; dd; J= 29.5, 7.5 Hz; 1H	1; 3; 4; 5; 7; 8; 10; 12; 13
7	50.5	CH	2.20-2.10; m; 1H	1; 10; 11
8	27.4	$\text{CH}_2$	1.95; s; 1H 0.99-0.93; m; 1H	5; 7; 10; 14
9	30.3	$\text{CH}_2$	2.29-2.21; m; 1H 2.20-2.10; m; 1H	1; 6; 7; 10; 11
10	129.1	C	-	
11	86.3	C	-	
12	23.7	$\text{CH}_3$	0.99-0.93; m; 3H	7
13	23.7	$\text{CH}_3$	0.99-0.93; m; 3H	7
14	22.2	$\text{CH}_3$	1.60; s; 3H	1; 8; 9; 10
15	15.3	$\text{CH}_3$	0.89; d; J= 6.8 Hz; 3H	3; 4; 5
1'	165.2	C	-	
2'	130.5	CH	6.32-6.14; m; 1H	1'
3'	130.4	$\text{CH}_2$	6.10-5.90; m; 1H 5.65; d; J= 10.3 Hz; 1H	1'

Observando os dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 73), observa-se a existência dos prótons relativos ao substrato de bulnesol, ou seja, pode-se observar o duplete referente ao metilo 15 e o singlete referente ao metilo 14. A zona referente à adição do éster pode ser verificada como multipletos e dubletos, que aparecem na zona mais alta do espectro.

Este composto como é igual ao anterior 68.3, o seu espectro de infravermelho (figura 75) é igual ao anterior, uma vez que a única diferença é a posição da ligação dupla. Mesmo assim o seu valor no espectro não altera em nada.

Neste caso, não foi realizado espectro de massa de alta resolução, uma vez que é igual ao composto anterior, 68.4; caso fosse realizado obter-se-ia um valor de peso molecular de 276.21 g/mol.

Após realizadas e estudadas as análises descritas, sugere-se a estrutura apresentada na figura 32 para este composto, sendo a sua nomenclatura acrilato de bulnesilo.

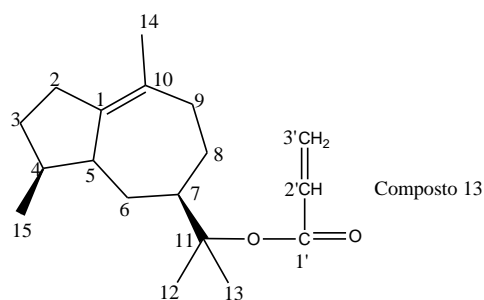


Figura 32. Estrutura proposta para o composto 13.

#### 4.3.5. Reações e caracterização dos produtos a partir de guaiol e de bulnesol com anidrido acético

A tabela 23 apresenta as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

Analisando os dados da tabela 23, podemos verificar que para a obtenção dos produtos S20 e S21 o tempo de reação e a temperatura influenciam, bastante o rendimento final, ou seja, quando se coloca a uma temperatura bastante elevada obtém-se o produto com um maior rendimento, 40.4%, e demora menos tempo. No caso em que se utiliza uma temperatura mais baixa, obtém-se um produto com rendimento menor, 21.02%, necessitando assim de um tempo mais elevado para a finalização da reação.

Porém, podemos notar mais uma vez a diferença, quando se coloca só a reação com substrato de guaiol, que mais uma, vez apresenta um rendimento menor, não só devido à diminuição das condições reacionais, mas também devido à sua estereoquímica e dificuldade de sofrer alteração.

Tabela 23. Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação Substrato	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
<b>Substrato composto por guaiol e bulnesol</b>							
S20 1 g de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> (5mL) EtN <sub>3</sub> (7mL) DMAP (360 mg)	70	0.5			40.4	14, 15
<b>Substrato composto por guaiol</b>							
S21 500 mg de substrato	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> (5mL) EtN <sub>3</sub> (7mL) DMAP (360 mg)	45	21			21.02	14

As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas, estão representadas na figura 33.

Para ambos foi realizado RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e IV, encontrando-se representados nas figuras 76 a 78. A análise/ realização da espectroscopia apenas pode ser realizada após a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo, observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

A descrição dos dados obtidos apenas será referente ao derivado de guaiol, uma vez que o derivado de bulnesol se apresenta em menor quantia, tornando assim difícil a sua identificação completa.

Na tabela 24 encontra-se sumariado os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do composto 14.

Pela análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 77) da tabela 24, verifica-se que o composto apresenta 17 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 5 sinais relativos a átomos de carbono primários, 5 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 4 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

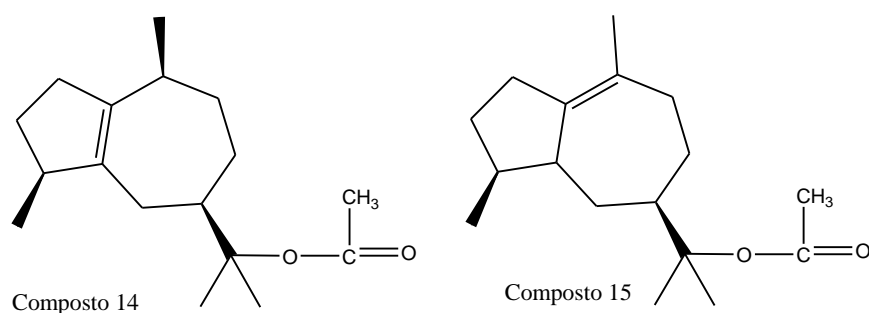


Figura 33. Estruturas dos compostos 14 e 15.

Tabela 24. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  composto 14.

Carbono	$^{13}\text{C}$		Bidimensional	
	$\delta(\text{ppm})$	Tipo	HSQC	HMBC
1	138.6	C	-	
2	31.1	$\text{CH}_2$	1.32-1.21; m; 1H 2.06-1.98; m; 1H	3; 4; 13; 14; 15
3	35.5	$\text{CH}_2$	2.41; d; J= 6.7 Hz; 1H 2.15-2.07; m; 1H	2; 4; 5; 11; 12; 13
4	46.4	CH	2.49; d; J= 5.5 Hz; 1H	
5	140.3	C	-	
6	27.7	$\text{CH}_2$	1.96; s; 1H 2.19; s; 1H	3; 4; 7; 8; 11; 15
7	46.2	CH	2.19; s; 1H	1; 9; 10; 11; 12; 13
8	26.8	$\text{CH}_2$	1.49; d; J= 2.9 Hz; 1H 1.75-1.66; m; 1H	5; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 13
9	33.8	$\text{CH}_2$	1.75-1.66; m; 1H 1.94; s; 1H	7; 8; 10; 11; 14
10	33.6	CH	2.30; d; J= 14.7 Hz; 1H	
11	85.8	C	-	
12	23.1	$\text{CH}_3$	1.39; s; 3H	7; 13
13	23.5	$\text{CH}_3$	1.39; s; 3H	7; 8; 11; 12
14	19.8	$\text{CH}_3$	0.98; d; J=7.2 Hz; 3H	9; 10
15	20.0	$\text{CH}_3$	0.94; d; J=6.8 Hz; 3H	1; 2; 4
1'	170.5	C	-	
2'	22.7	$\text{CH}_3$	2.15-2.07; m; 3H	1'

Através dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 76), verificamos a presença dos prótons dos grupos metilos 12 e 13 que nos são apresentados como singletos, porém estes dois sobrepõem-se no mesmo sinal; como era esperado os prótons dos metilos 14 e 15 são apresentados como dubletos, o que uma vez mais indica que este é um produto derivado do esqueleto de guaiol. A nova cadeia adicionada ao guaiol apresenta um sinal relativo ao C2' característico de um multipletos.

Através da análise do espectro de infravermelho (figura 78), verifica-se a presença da banda relativa ao grupo éster que aparece entre  $1300.00 - 1129.90 \text{ cm}^{-1}$ . Na zona dos  $1600 \text{ cm}^{-1}$  temos a bandas características da ligação dupla tetrassubstituída. A banda característica à ligação COO apresenta-se na zona dos  $1728.84 \text{ cm}^{-1}$ .

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas, chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 34), sendo a sua nomenclatura para o composto 14 de acetato de guaiol e para o composto 15 de acetato de bulnesol.

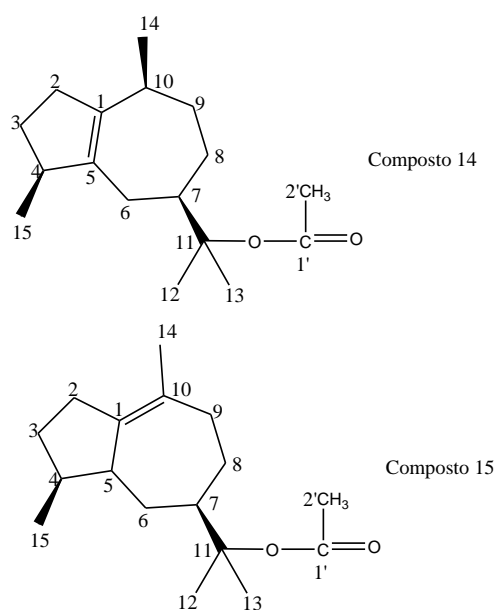


Figura 34. Estruturas propostas para o composto 14 e 15.

#### 4.3.6. Reações e caracterização dos produtos a partir de acrilato de guaiol e acrilato de bulnesol utilizando Polietilenoglicol (PEG400)

Na tabela 25 apresenta-se as condições, os produtos, as conversões e seletividades para cada reação efetuada.

Observando os dados da tabela 25, é possível verificar que a obtenção destes produtos não é influenciada por temperatura ou por tempo de reação, mas sim pela composição do substrato inicial, ou seja, é uma reação que ocorre mais efetivamente quando é utilizado o substrato de

bulnesol, uma vez que este tem maior facilidade em sofrer alterações, devido à sua estereoquímica. Dado este facto, verifica-se que, quando é utilizado o substrato de bulnesol, obtém-se um produto com um rendimento de 97%, o que não ocorre quando se utiliza guaiol como substrato inicial, que devido ao seu impedimento estereoquímico tem mais dificuldade em sofrer alterações, permitindo assim a obtenção de um produto com um rendimento de 68%, muito inferior ao do bulnesol, mas que ainda assim se torna elevado quando comparado com outro tipo de reações.

**Tabela 25.** Produtos, conversões e seletividades obtidas nas reações de esterificação.

Reação Substrato	Reagentes	Temp. (°)	Tempo (h)	Conv (%)	Selet. (%)	Rend. (%)	Produtos
<b>Substrato composto por acrilato de guaiol</b>							
S22 200 mg de substrato	PEG400 (0.45 mL) Ter-BuOK (163 mg)	T. ambiente	12	-	-	68.0	16
<b>Substrato composto por acrilato de bulnesol</b>							
S23 200 mg de substrato	PEG400 (0.45 mL) Ter-BuOK (163 mg)	T. ambiente	12	-	-	97.0	17

As estruturas dos produtos obtidos nas reações anteriormente apresentadas, estão representadas na figura 35.

Para ambos foi realizado RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , IV e massas de alta resolução, encontrando-se representados nas figuras 79 a 86. Esta análise foi realizada apenas depois de realizada a realização da cromatografia em coluna procedeu-se à análise espectroscópica das frações com peso significativo, observando assim os produtos obtidos, mistura de produtos e produto sem reagir.

A tabela 26 apresenta os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$  do produto 16.

Ao observar os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 80) da tabela 26, verifica-se que o composto apresenta 32 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 21 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Através dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 79), pode afirmar-se que é um produto derivado do guaiol, uma vez que apresenta os sinais relativos ao esqueleto base, que são os dubletos referentes aos prótons dos metilos 14 e 15, respetivamente. É possível observar que os prótons da cadeia adicionada, PEG400, entram todos na mesma zona, levando assim à apresentação de uma elevada quantidade de multipletos. Ainda com a análise deste espectro podemos afirmar que o composto adicionado era um polímero com 7 unidades repetitivas. Este dado é confirmado pelo valor da integração dos prótons correspondentes à cadeia

adicionada com os prótons do metilo do Carbono da posição 13, dando assim um valor de cadeia repetitiva de 7.

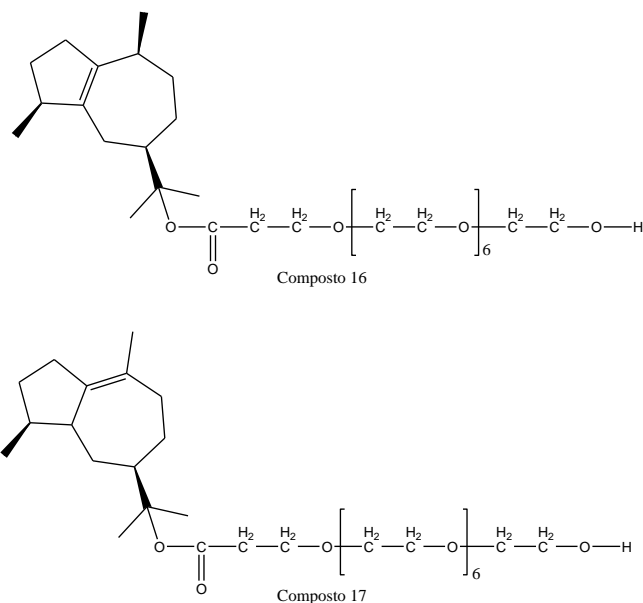


Figura 35. Estruturas dos compostos 16 e 17.

Tabela 26. Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto 16.

Carbono	$^{13}\text{C}$ $\delta(\text{ppm})$	Tipo	Bidimensional	
			HSQC	HMBC
1	138.4	C	-	
2	30.9	$\text{CH}_2$	2.29-2.13; m; 1H 1.50-1.37; m; 1H	
3	35.3	$\text{CH}_2$	2.46-2.38; m; 1H 2.29-2.13; m; 1H	2
4	46.2	CH	2.29-2.13; m; 1H	2
5	140.1	C	-	
6	27.4	$\text{CH}_2$	2.36-2.31; m; 1H 2.29-2.13; m; 1H	2
7	46.2	CH	2.46-2.38; m; 1H	
8	26.6	$\text{CH}_2$	2.15-1.98; m; 1H 1.85-1.79; m; 1H	6; 7
9	33.4	$\text{CH}_2$	2.15-1.97; m; 1H 1.95-1.87; m; 1H	7; 8
10	33.6	CH	2.36-2.31; m; 1H	
11	86.0	C	-	
12	22.9	$\text{CH}_3$	1.77; d; J= 8.2 Hz; 3H	7; 11; 13
13	23.3	$\text{CH}_3$	1.50-1.37; m; 3H	12
14	19.9	$\text{CH}_3$	0.92; m; J= 7.2 Hz; 3H	9; 10
15	19.7	$\text{CH}_3$	0.88; d; J= 6.8 Hz; 3H	2; 4
1'	170.6	C	-	
2'	36.4	$\text{CH}_2$	2.59-2.48; m; 1H 3.52-3.41; m; 1H	3'
3'	61.5	$\text{CH}_2$	3.52-3.41; m; 1H 3.37-3.24; m; 1H	4'-15'
4'-15'	70.1-70.5	$\text{CH}_2$	3.52-3.41; m; 1H 3.37-3.24; m; 1H	
16'	72.7	$\text{CH}_2$	3.52-3.41; m; 1H 3.37-3.24; m; 1H	4'-15'

17'	61.5	CH <sub>2</sub>	3.52-3.41; m; 1H 3.37-3.24; m; 1H	16'
-----	------	-----------------	--------------------------------------	-----

Analisando o espectro de infravermelho (figura 81), verifica-se a presença da banda relativa ao grupo éster que aparece entre 1300.00 - 1129.90 cm<sup>-1</sup>. Na zona dos 1600 cm<sup>-1</sup> temos a bandas características da ligação dupla tetrassubstituída.

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 36), sendo a sua nomenclatura 3'-PEGpropanoato de guaílo.

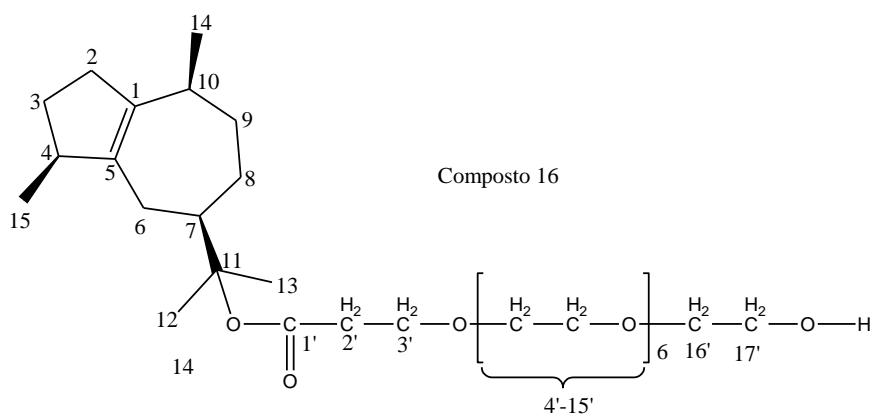


Figura 36. Estrutura proposta para o composto 16.

Na tabela 27 apresenta-se sumariado os dados de RMN de <sup>13</sup>C do composto 17.

Tabela 27. Sinais de RMN de <sup>13</sup>C do composto 17.

<sup>13</sup> C		
Carbono	δ(ppm)	Tipo
1	141.5	C
2	28.1	CH <sub>2</sub>
3	32.9	CH <sub>2</sub>
4	38.8	CH
5	45.9	CH
6	34.6	CH <sub>2</sub>
7	50.3	CH
8	27.2	CH <sub>2</sub>
9	30.2	CH <sub>2</sub>
10	128.6	C
11	86.3	C
12	23.7	CH <sub>3</sub>
13	23.6	CH <sub>3</sub>
14	22.2	CH <sub>3</sub>
15	15.2	CH <sub>3</sub>
1'	170.6	C
2'	36.2	CH <sub>2</sub>
3'	61.3	CH <sub>2</sub>
4'-15'	70.0-70.4	CH <sub>2</sub>
16'	72.7	CH <sub>2</sub>
17'	66.7	CH <sub>2</sub>

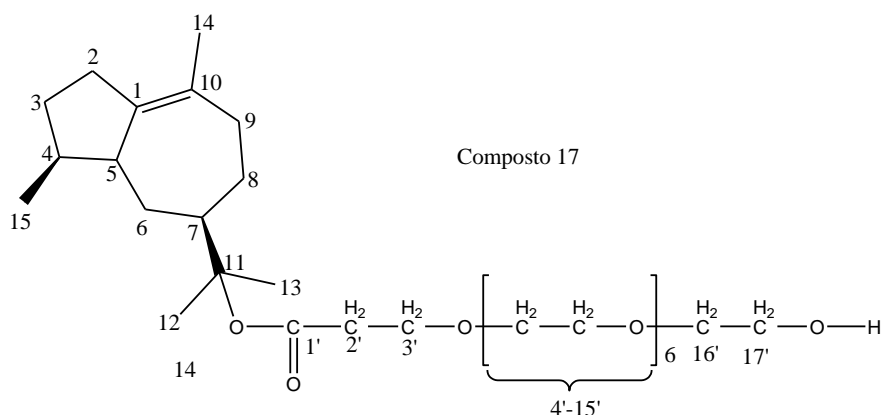
Realizando a análise dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 84) da tabela 27, verifica-se que o composto apresenta 32 átomos de carbono, dos quais 4 átomos de carbono quaternários. Possui 4 sinais relativos a átomos de carbono primários, 21 sinais relativos a átomos de carbono secundário e 3 sinais relativos a átomos de carbono terciários.

Através dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 83), podemos observar a existência do dubleto, sinal relativo aos prótons do metilo 15, e os singletos referentes aos prótons dos metilos 12, 13 e 14. Pode-se ainda verificar que a zona referente aos prótons da cadeia adicionada ao substrato se encontram na mesma zona, o que permite verificar que o produto pretendido foi obtido.

Pela análise do espectro de infravermelho (figura 85), verifica-se a presença da banda relativa ao grupo éster que aparece entre  $1300.00 - 1129.90 \text{ cm}^{-1}$ . Na zona dos  $1600 \text{ cm}^{-1}$  temos a bandas características da ligação dupla tetrassubstituída.

Pelo espectro de massas de alta resolução (figura 86) realizou-se a mesma análise feita anteriormente, correspondendo assim uma massa molecular de  $602.4 \text{ g/mol}$ .

Reunindo toda a informação obtida nas análises realizadas chegou-se à proposta de estrutura para este composto (figura 37), sendo a sua nomenclatura 3'-PEGpropanoato de bulnesílo.



**Figura 37.** Estrutura proposta para o composto 17.

## CAPÍTULO V

Conclusão

Com este trabalho pretendeu-se utilizar as reações orgânicas de epoxidação, oxidação e esterificação de modo a obter derivados de guaiol e bulnesol mais estáveis. As reações utilizadas permitiram verificar como se comporta o substrato quando exposto a diversas condições reacionais, realizando alterações constantes ao modo de preparação para obtenção de melhores rendimentos e produtos cada vez mais estáveis.

Ao longo da realização deste trabalho foi possível verificar que o substrato inicial é bastante instável, levando muitas vezes à obtenção de produtos não desejáveis e facilmente degradáveis.

No primeiro método utilizado, reação de oxidação com dióxido de selênio, os produtos obtidos foram dois, porém ambos têm o mesmo nome 2-hidroxibulnesol e apenas diferencia a sua estereoquímica. A diferença de obtenção dos dois está no facto de utilizar mais ou menos tempo de reação, isto é quando se utiliza um tempo de reação mais baixo o produto que se obtém é o composto 2 com um rendimento de 7.4% e apenas uma conversão de 27.4%, em contrapartida quando se utiliza um maior tempo de reação obtém-se o composto 1 com rendimento de 38.5% e uma conversão de 89,63. Com o resultado deste tipo de reação é possível afirmar que o tempo de reação é um ponto crucial para obtenção de rendimento e conversão elevada.

Quando se realiza o tratamento com n-bromosuccinimida, reação de epoxidação, obtém-se dois produtos, um esperado e outro não; sendo o produto esperado o 5,11-epoxiguaiano e o não esperado o 10,11-epoxigui-1-en-9-ol. A obtenção do 10,11-epoxigui-1-en-9-ol acontece quando o tempo de reação é menor e é obtido com um rendimento de 9.44%, neste mesmo processo ainda se obtém o 5,11-epoxiguaiano com um rendimento de 17.78%. Porém quando a reação é realizada utilizando um tempo superior apenas é obtido o 5,11-epoxiguaiano com um rendimento de 33.3%. É um tipo de reação que obtém baixos rendimentos, mas ainda assim é elevado para o tipo de agressividade de reagentes utilizados.

No caso das reações realizadas a partir dos derivados halogenados, reações de esterificação, desde as cadeias mais longas às mais pequenas o produto obtido é sempre uma mistura dos derivados de guaiol e bulnesol, porém existe um produto que é obtido devido à impureza contida no reagente utilizado. Neste caso os produtos obtidos foram os esperados e os seus rendimentos variam de acordo com o tipo de condição reacional:

- Reação utilizando o cloreto 6-bromohexanoílo: nesta reação o produto obtido foi uma mistura dos derivados de guaiol e bulnesol e são designados 6'-bromo-hexanoato de guaílo e 6'-bromo-hexanoato de bulnesílo, respetivamente. Esta reação foi realizada com e sem temperatura; assim no caso de não utilizada a temperatura e utilizado um tempo de reação maior os produtos são obtidos com um rendimento de 22.7% e uma conversão de 68.33%. Ao contrário do que acontece quando utilizada temperatura e tempo inferior o rendimento é inferior passando a ser de 10.7% e a sua conversão de 77.33%, este baixo rendimento deve-se à degradação de grande parte do produto reacional (devido à instabilidade dos substratos);

- Reação utilizando o cloreto 5-bromovalerílico: mais uma vez os produtos obtidos são a mistura dos derivados de guaiol e bulnesol e são designados de 5'-bromovalerato de guaió e 6'-bromovalerato de bulnesílo, respetivamente. Foi um processo que utilizou temperatura para a sua realização e fez-se variar o tempo de reação. Assim pode-se afirmar que para este tipo de reação é importante a composição do substrato, isto é, se o substrato tem na sua composição maior quantidade de guaiol o produto é obtido com um rendimento de apenas 5.00%, mesmo que se aumentasse o tempo de reação o rendimento não iria variar muito uma vez que o guaiol iria degradar; quando o substrato tem na sua composição maior quantidade de bulnesol o produto é obtido com um rendimento de 28.5%, rendimento bastante elevado comparado com o anterior. Pode-se afirmar que este tipo de reação é mais eficaz quando utilizado o substrato com maior quantidade de bulnesol, uma vez que este não degrada tão facilmente como o guaiol;
- Reação utilizando o cloreto 4-bromobutirílico: novamente os compostos obtidos são uma mistura dos derivados de guaiol e de bulnesol e são designados de 4'-bromobutirato de guaió e 4'-bromobutirato de bulnesílo, respetivamente, e é ainda obtido o silaciclobutano-2-carboxilato de guaiol. Este último produto é obtido devido a uma contaminação existente no reagente e apenas se obtém quando realizada a reação à temperatura ambiente, é obtido com um rendimento de 12.84% e uma conversão de 92.30%. Apesar da elevada conversão este processo realizado à temperatura ambiente só permite que o composto degrade e comece a reagir com impurezas contidas no reagente. Porém o 4'-bromobutirato de guaió e o 4'-bromobutirato de bulnesílo, são obtidos quando a reação é realizada com temperatura e variando, minimamente, o tempo de reação, mais uma vez a constituição do substrato é importante, isto porque, quando utilizado um substrato de mistura, equilibrada, de guaiol e bulnesol o produto é obtido com um rendimento de 50.77%, o que diminui quando é utilizado substrato que tenha mais guaiol ou bulnesol na sua composição. O substrato com maior quantidade de guaiol apenas atinge um rendimento de 30.0% enquanto o substrato com maior quantidade de bulnesol atinge um rendimento de 34.6%. Neste caso a reação é mais bem sucedida quando utilizado um substrato de quantidade equilibrada de guaiol e bulnesol.
- Reação utilizando cloreto de acrilóilo: os produtos obtidos são designados acrilato de guaió e o acrilato de bulnesílo. Este tipo de reação foi realizado com diferença no tipo de substrato, quando se utilizou o substrato de guaiol realizou-se a reação com e sem temperatura, verificando-se assim diferença de rendimento com e sem a temperatura, 37.55% e 39.17%, respetivamente. O substrato de bulnesol apenas foi testado com temperatura e permitiu verificar que, mais uma vez, o seu rendimento é superior ao do substrato de guaiol, sendo de 43.78%. Para este tipo de reação é importante a constituição do substrato, sendo que o bulnesol é menos instável e mais facilmente reage.

- Reação utilizando anidrido acético: neste tipo de reação os produtos obtidos foram o acetato de guaiol e o acetato de bulnesol. Estes produtos são obtidos quando a composição do substrato é a mistura equilibrada de guaiol e bulnesol e com o uso de temperatura bastante elevada, apresentando um rendimento de 40.4%; porém quando é utilizado o substrato de guaiol, metade da quantidade utilizada com a mistura e uma temperatura menor o produto obtido é apenas o acetato de guaiol com um rendimento de 21.02%. Verifica-se que este tipo de reação é bem sucedida com os dois substratos misturados ou separados.

O último processo realizado neste trabalho foi uma reação de adição onde se adicionou aos produtos obtidos nas reações com cloreto de acrilóilo o polietilenoglicol (PEG 400). Destas reações obteve-se o 3'-PEGpropanoato de guaílo e 3'-PEGpropanoato de bulnesílo. É um processo reacional realizado à temperatura ambiente e com o mesmo tempo de reação, a única diferença é o substrato utilizado, uma vez que os substratos são os acrilato de guaílo e o acrilato de bulnesílo. Quando a reação é realizada com o acrilato de guaílo o produto é obtido com um rendimento de 68.0 % e quando utilizado o acrilato de bulnesílo o produto é obtido com um rendimento de 97.0%, mais uma vez o substrato derivado de bulnesol apresenta um maior rendimento.

Em conclusão final, os resultados obtidos foram os previstos. Obtiveram-se produtos menos instáveis que o guaiol e o bulnesol.

#### **Trabalho futuro**

Estabilização dos compostos obtidos, ao longo deste trabalho e de novos, que possam ser obtidos de modo a que lhes seja permitida a adição de nanopartículas. Aumentando a possibilidade de aplicação em células vivas de modo desenvolver métodos de tratamento para as mais diversas áreas oncológicas.

## CAPÍTULO VI

### Bibliografía

- [1] C. Pinto, Estudo químico corporativo do *Thymus mastichina L*; Projeto de Licenciatura em Química Industrial- Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, Covilhã - Portugal (2008).
- [2] M. Marinho, Preparação de lactonas monoterpénica; Projeto de Licenciatura em Química Industrial- Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, Covilhã - Portugal (2010).
- [3] C. C. C. R. Carvalho, M. M. R. Fonseca, Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene, *Food Chemistry* **95** (2006) 413-422.
- [4] A. Gualdino, Estudo Químico do óleo Essencial do *Origanum virens*; Projeto de Licenciatura em Química Industrial, Universidade da Beira Interior, Covilhã - Portugal (2005).
- [5] P. Neves, Sínteses químicas de moléculas bioativas a partir de terpenóides; Projeto de Licenciatura em Química Industrial, Universidade da Beira Interior, Covilhã- Portugal (2009).
- [6] A. Ultee, M.H. Bennik, R. Moezelaar; The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*; *Applied and Environmental Microbiology* **68** (2002) 1561-1568.
- [7] S. Burt; Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods; A review *International Journal of Food Microbiology* **94** (2004) 223-253.
- [8] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck D, M. Idaomar; Biological effects of essencial oils - A review; *Food and chemical Toxicology* **46** (2008) 446-475.
- [9] D. Averbeck, S. Averbeck; Induction of the genes RAD54 and RNR2 by various damaging agents in *Saccharomyces cerevisiae*; *Mutation Research* **315** (1994) 123-138.
- [10] D. Averbeck, S. Averbeck; DNA photodamage, repair, gene induction and genotoxicity following exposures to 254 nm UV and 8-methoxypsoralen plus UVA in a eukaryotic cell system; *Journal of Photochemistry and Photobiology* **68** (1998) 289-295.
- [11] Sue Clarke; Essential chemistry for aromatherapy; Churchill Livingstone Elsevier (2002).
- [12] A. P. Cunha, Silva A. P., Roque O. R.; Plantas e produtos vegetais em Fitoterapia; Fundação Calouste Gulbenkian 2ª Edição Lisboa (2006).

- [13] A. P. Ribeiro J. A., Roque O. R.; Plantas aromáticas em Portugal, Caracterização e Utilizações; Fundação Calouste Gulbenkian Lisboa (2007).
- [14] R. M. Silverstein, G. C. Bassler, T. C. Morrill,; Identificação espectrométrica de composto orgânicos; Guanabara Koogan S. A. 5ª Edição, Rio Janeiro (1994).
- [15] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; Métodos espectroscópicos en Química orgánica; Editorial Sintesis 2ª Edición (2005).
- [16] L. J. Cseke, A. Kirakosyan, P. B. Kaufman, S. L. Warber, J. A. Duke, H. L. Brielmann; Natural Products from Plants; Taylor & Francis 2ª Edition (2006).
- [17] K. H. C. Baser, G. Buchbauer; Handbook of essential oils - Science, Technology, and Applications; Taylor & Francis Group (2010).
- [18] A. G. Granados, M. C. Gutiérrez, F. Rivas; Improved microbial hydroxylation of sesquiterpenoids: semisynthesis, structural determination and biotransformation studies of cyclic sulfite eudesmane derivatives; Organic Biomolecular Chemistry 1 (2003) 2314 -2320.
- [19] C. C. R. Carvalho, M. M. R Fonseca; Biotransformations of terpenes; Biotechnology Advances 24 (2006) 134 - 142.
- [20] U. Krings, R. Berger; Terpene Bioconversion - How does its future look?; Natural Product Communications 5 (2010) 1507 - 1522.
- [21] K. Muffler, D. Leipold, M. Scheller, C. Hass, J. Steingroewer, T. Bley, H. E. Neuhaus, M. A. Mirata, J. Schrader, R. Ulber; Biotransformation of triterpenes; Process Biochemistry 46 (2011) 1 - 15.
- [22] A. M. Lobo, A. M. Lourenço; Biossíntese de produtos naturais; Ensino da Ciência e da Tecnologia Lisboa (2007).
- [23] P. M. Dewick; Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach; John Wiley & Sons Ltd 2ª Edition (2002).
- [24] T. Ishida; Biotransformation of Terpenoids by Mammals, Microorganisms, and Plant - Cultures Cells; *Chemistry and biodiversity*, 2 (2005) 569-590.

- [25] F. Mereles, L. P. Molas; *Bulnesia sarmientoi* Lorentz ex Griseb., (Zygophyllaceae): estudio de base para su inclusión en el Apéndice II de la Convención CITES. WWF Paraguay. Lambaré, Paraguay (2008).
- [26] E. Dellacassa, N. Martínez, D. Davyt, L. Castilla, A. González-Colonea, C. Giménez, R. Cabrera, L. Silva, J. M. Rodilla; Óleo essencial de Guaiaco: composição e bioatividade; IV Simpósio Brasileiro de óleos essenciais, Fortaleza - Brasil (2007).
- [27] J. M. Rodilla., L. A. Silva, N. Martínez, D. Lorenzo, D. Davyt, L. Castillo, C. Giménez, R. Cabrera, A. González - Coloma, J. Zrostliková, E. Dellacassa; Advances in the identification and agrochemical importance of sesquiterpenoids from *Bulnesia sarmientoi* essential oil; *Industrial Crops and Products* **33** (2011) 497 - 503.
- [28] T. Waller, M. Barros, J. Draque, P. Micucci; Conservation of the Palo Santo tree, *Bulnesia sarmientoi* Lorentz ex Griseb, in the South American Chaco Region; *Medicinal Plant Conservation* **15** (2012) 1-9.
- [29] H. K. Janzen; Guaiac wood oil, Paraguay and CITES. Paper presented at the International Conference "North African and Mediterranean Essential Oils and Aromas: 2010 Tales and Realities of our Industry - a new decade of challenges and opportunities". 26 - 30 Sept. 2010, Marrakech. - International Federation of Essential Oils and Aroma Trades, London. (2010).
- [30] J. Waikedre; C. I. Vitturo; A. Molinab; P. N. E. T. Theodoro; M. R. R. Silva; L. S. Espindola, A. Maciuke; A. Fournet; Antifungal Activity of the Essential Oils of *Callitris neocaledonica* and *C. sulcata* Heartwood (*Cupressaceae*); *Chemistry & Biodiversity* **9** (2012) 644-653.
- [31] T. A. Al-Howiriny; Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia lanigera*; *Pakistan Journal of Biological Sciences* **6** (2003) 133-135.
- [32] N. F. De-Moura, E. Simionatto, C. Porto, S. C. Hoelzel, E. C. Dessoy, N. Zanatta, A. F. Morel; *Planta Medical* **68** (2002) 631-634.).
- [33] M. I. Choudhary, Z. A. Siddiqui, S. A. Nawaz, A. Rahman; Microbial transformation and butyrylcholinesterase inhibitory activity of (-)-caryophyllene oxide and its derivatives; *Journal of Natural Products* **69** (2006) 1429 - 1434.
- [34] N. Pisutthanan, B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, A. Baramée, A. Apisariyakul, J. Korth, J. B. Bremer; Constituents of the essential oil from aerial parts of *Chromolaena odorata* from Thailand) *Natural Product Research*, **20** (2006), 636-640.

[35] J. F. Gil; J. M. Rodilla; M. L. Silva; W. Quiñones, F. Echeverri; Efectos garrapaticidas in vitro de la esencia de Palo Santo y algunos de sus componentes - Productos naturales contra parasitos externos del ganado bovino e ovino, tales como mosca de los cuernos y garrapatas, Ediciones de la Universidad de Magallanes 88-98.

[36] R. A. Craven, N. W. Arp, E. Johnson, T. G. Waddell; Guaiol epoxides: New chemistry of medicinal plant derivatives and potential xenobiotic action in humans; Journal of Undergraduate Chemistry Research, 1 (2005) 81-83.

[37] M. V. Kadival, M. S. R. Nair, S. C. Bhattacharyya; Terpenoids XCVI: Dehydration reaction and dihydroguaiols and transformation of  $1\alpha$ ,  $5\alpha$ -dihidroguaiol to  $1\alpha$ ,  $5\alpha$ -hexahydrodehydrocostus lactones; Tetrahedron 23 (1967), 1241-1249.

[38] S. Pombal; Preparação de derivados de guaienos; Projeto de Licenciatura em Química Industrial- Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, Covilhã -Portugal (2012).

[39] R. E. K. Winter, R. J. Zehr, M. Honey, W. V. Arsdale; On some guaiol oxidation products; Journal Organic Chemistry 46 (1981), 4309-4312.

## Apêndice

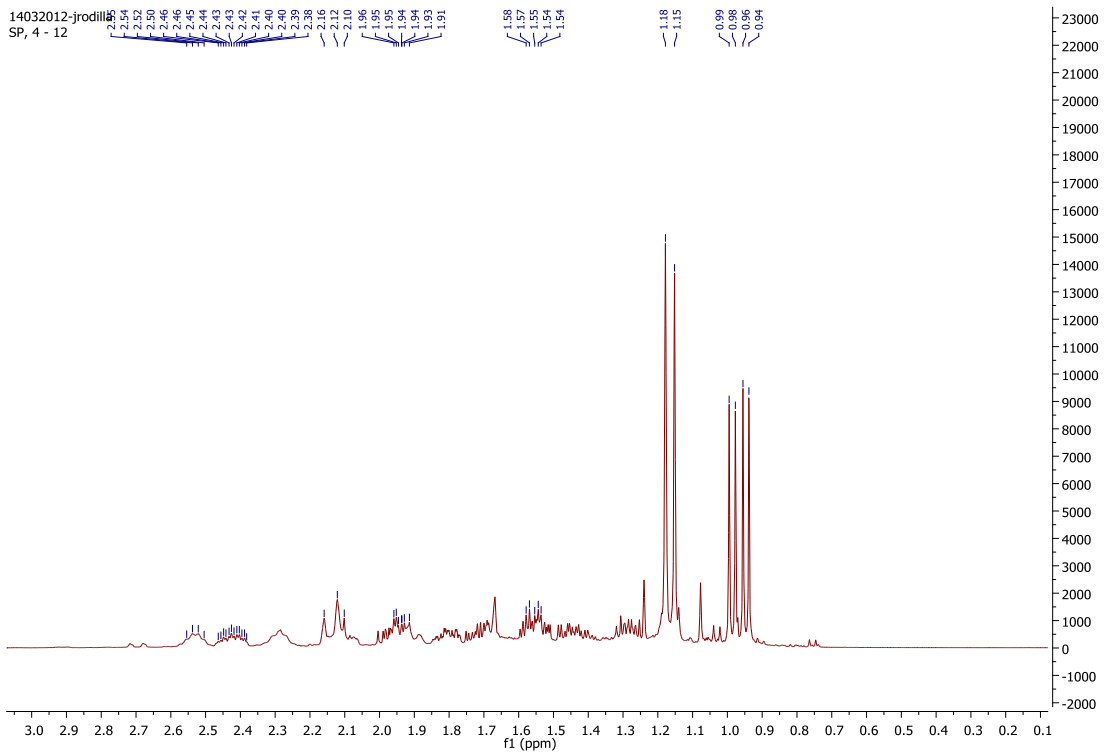


Figura 38. Espetro de <sup>1</sup>H-RMN do guaiol.

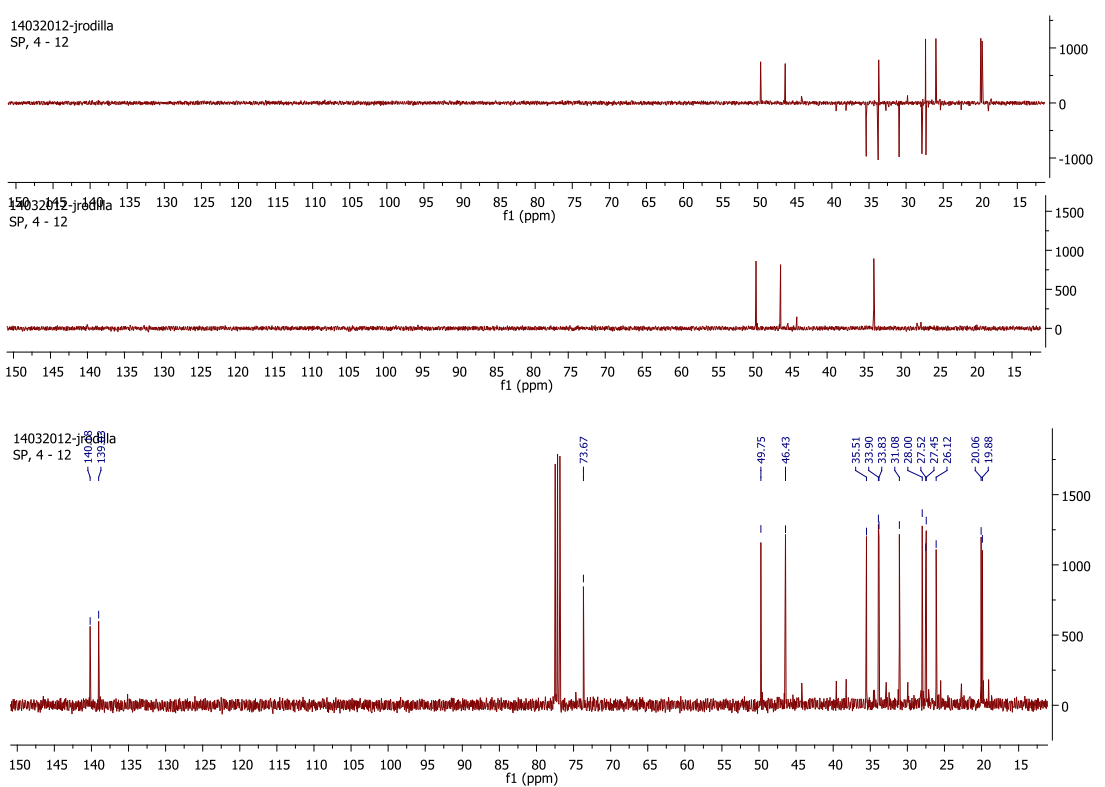


Figura 39. Espetro de <sup>13</sup>C-RMN do guaiol.

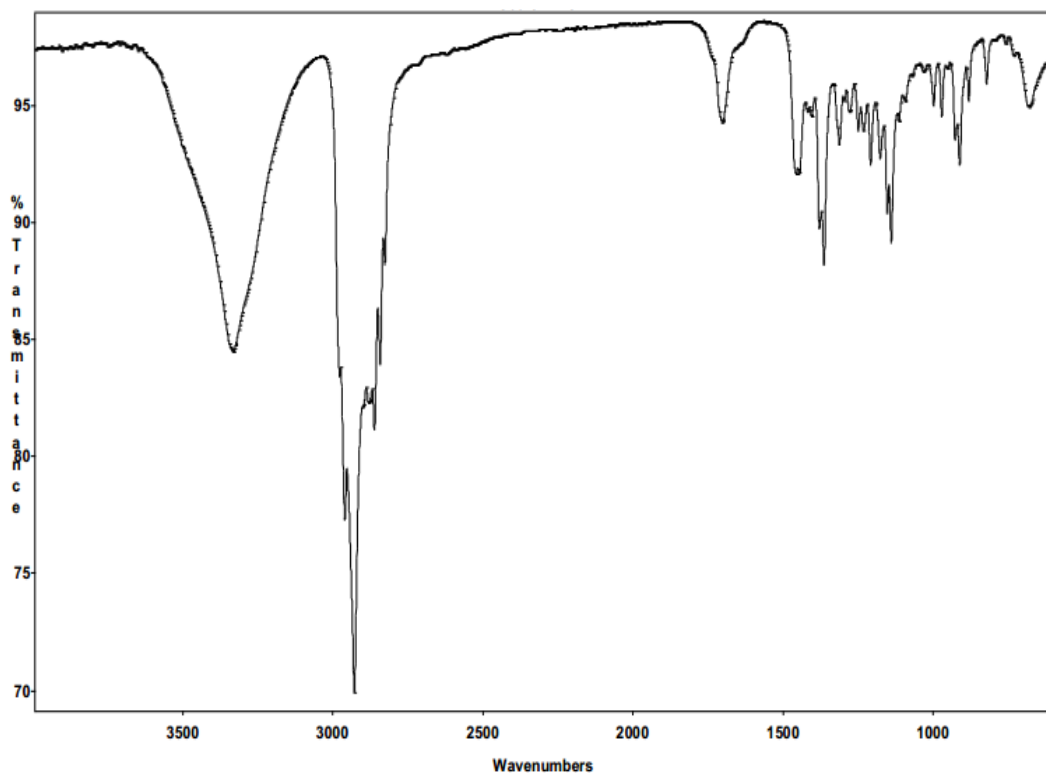


Figura 40. Espectro de IV do guaiol.

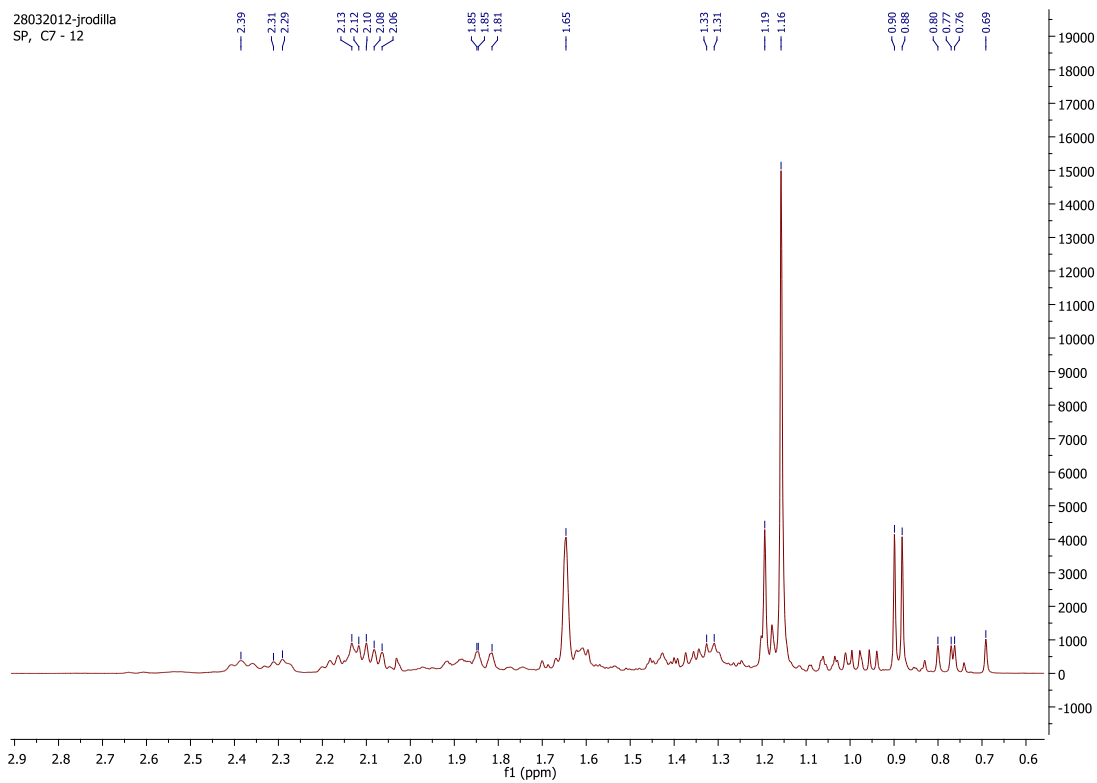


Figura 41. Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN do bulnesol.

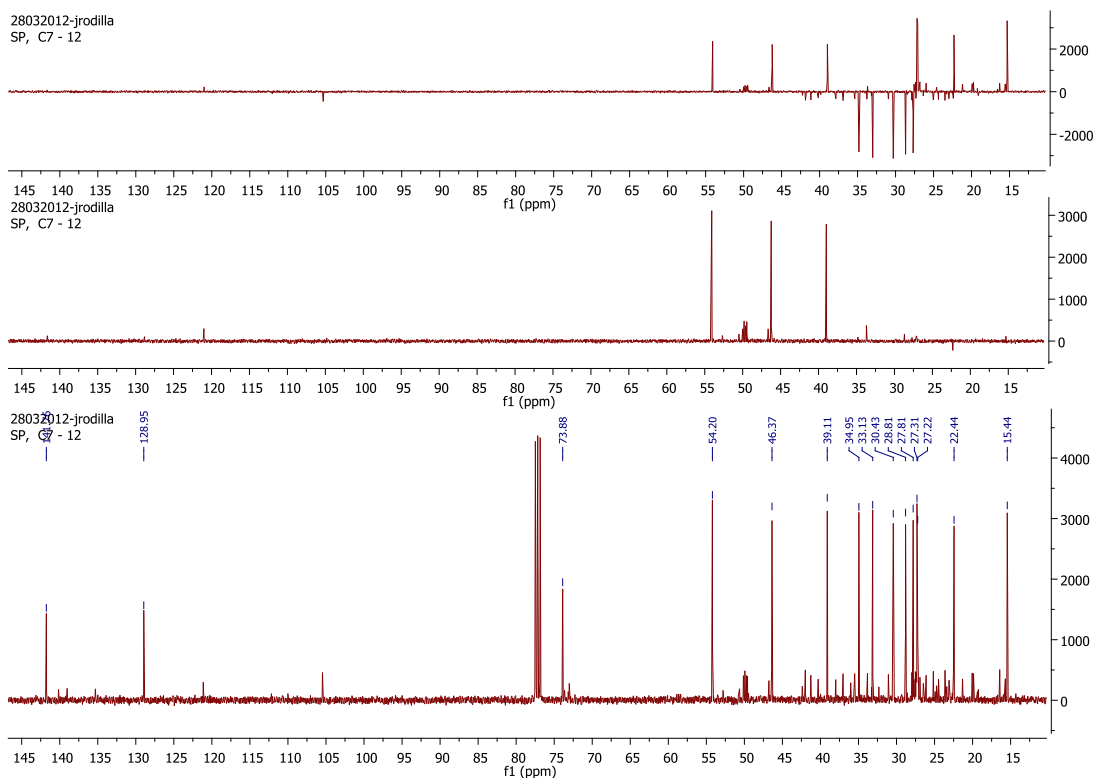


Figura 42. Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN do bulnesol.

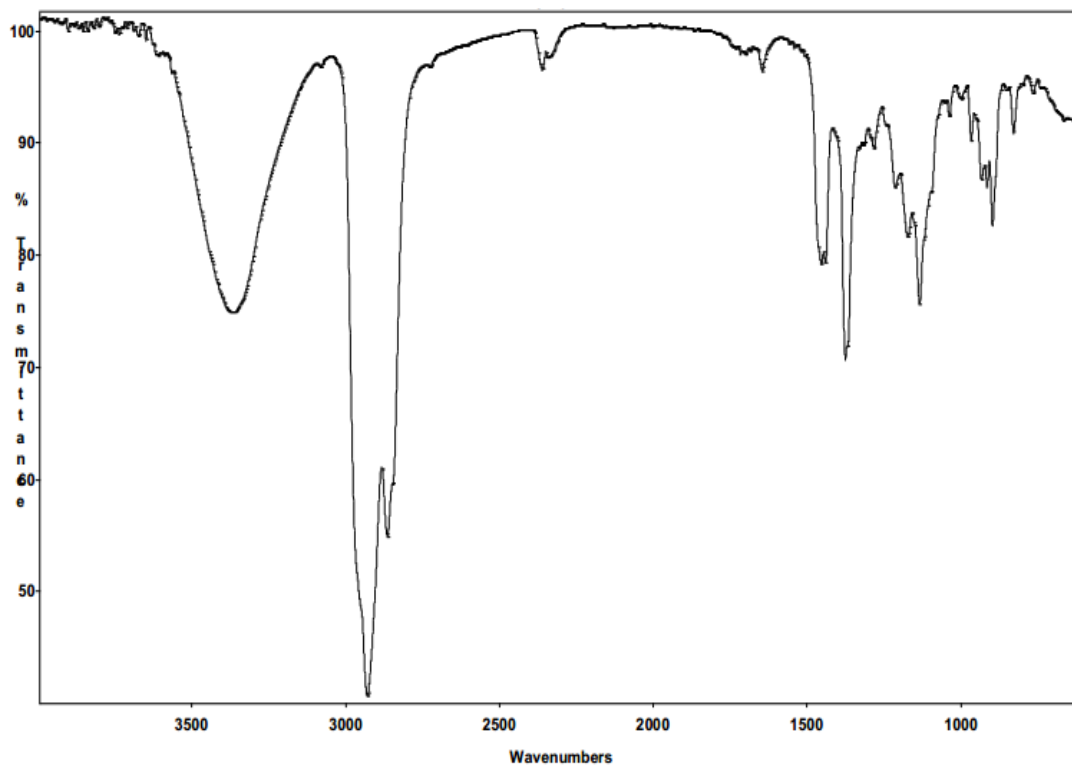


Figura 43. Espectro de IV do bulnesol.

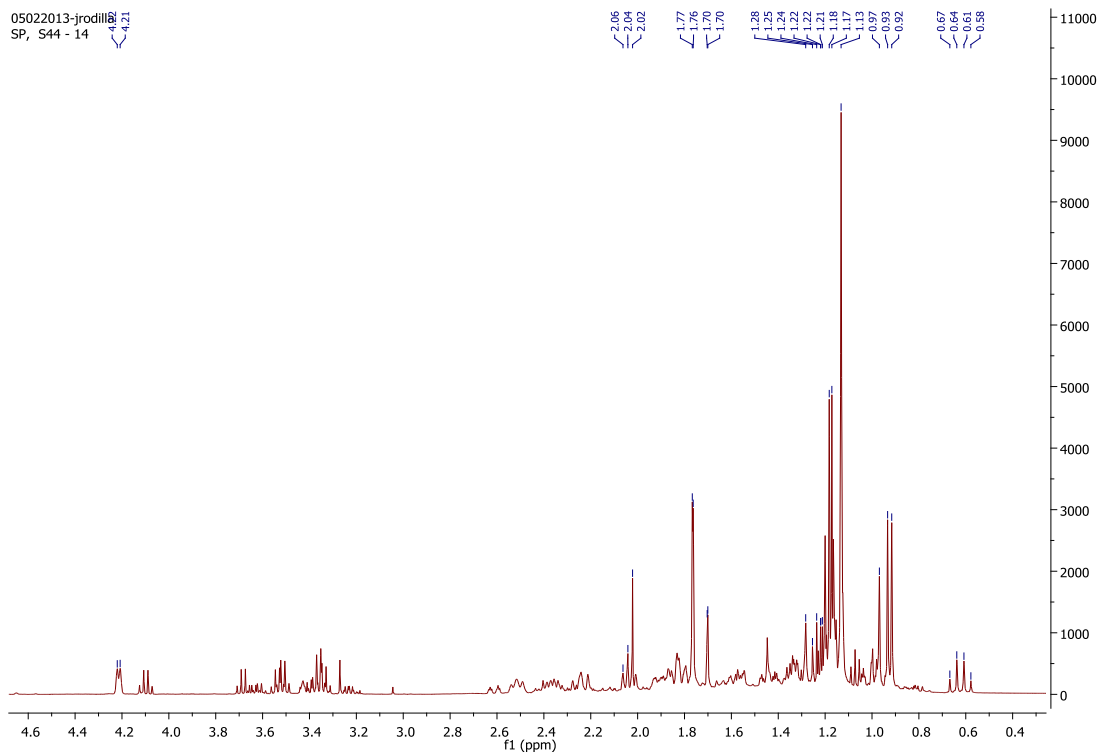


Figura 44. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 1.

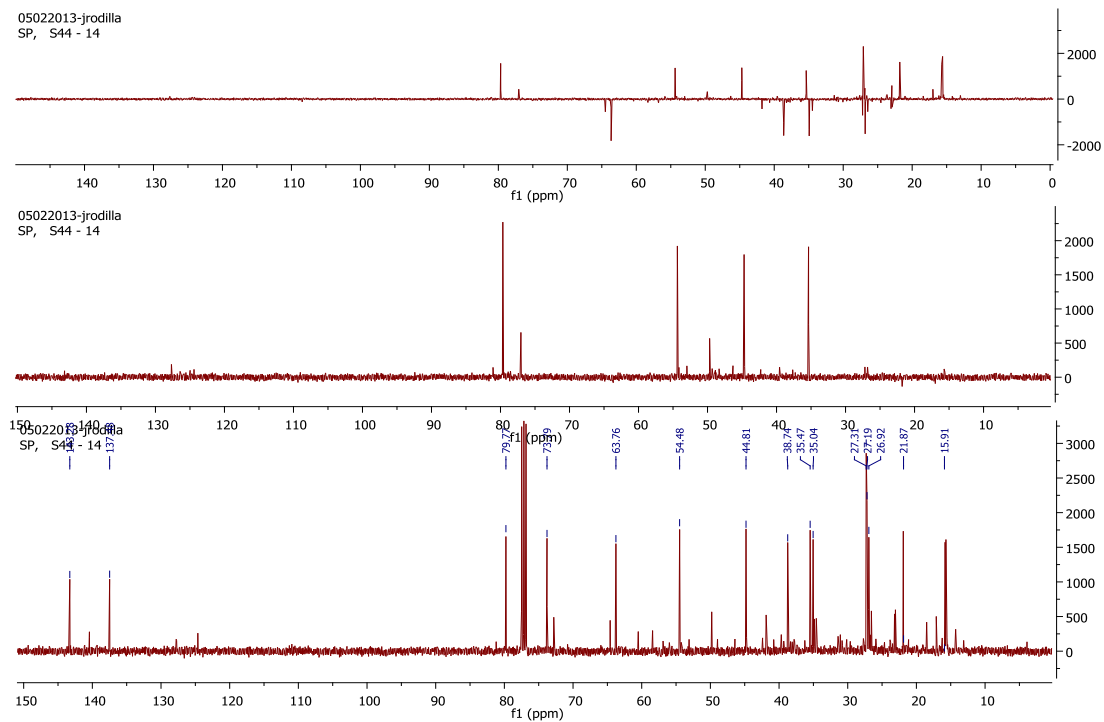


Figura 45. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 1.

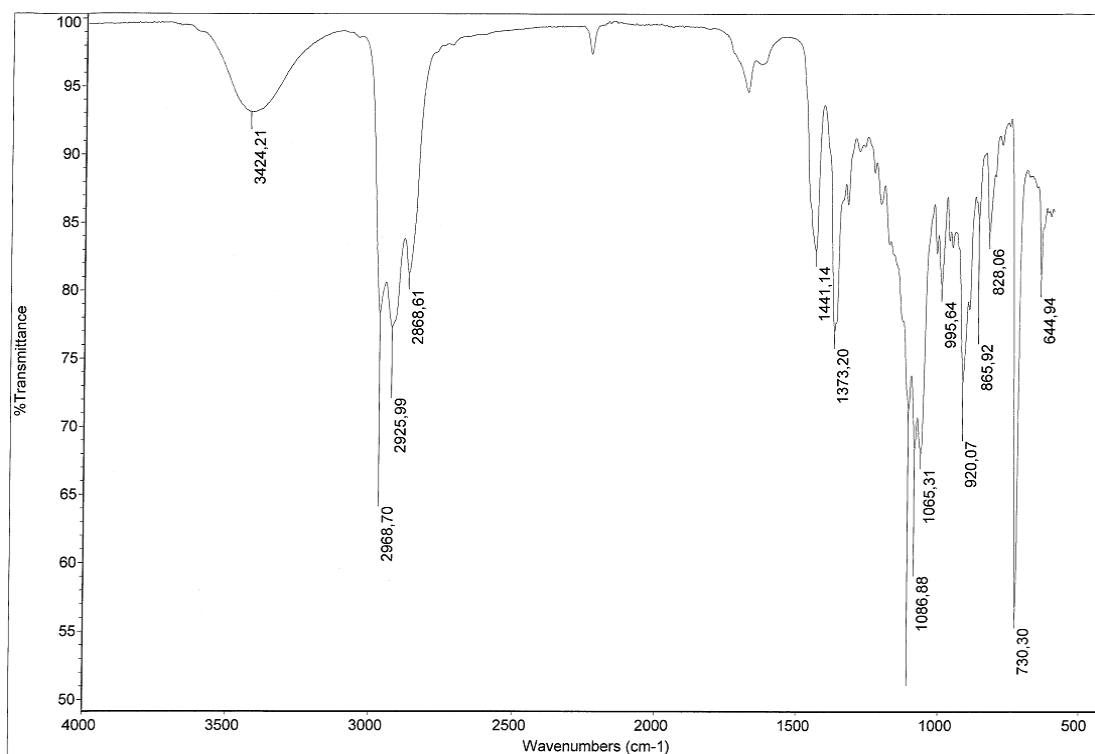


Figura 46. Espectro de IV do composto 1.

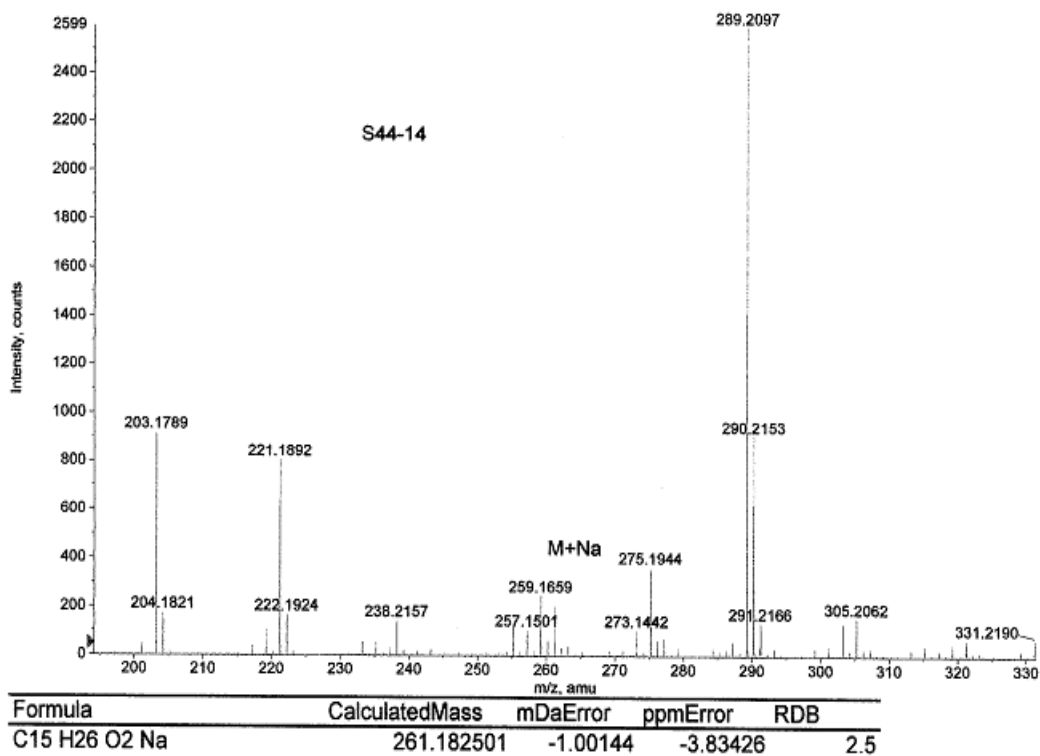


Figura 47. Espectro de massa de alta resolução do composto 1.

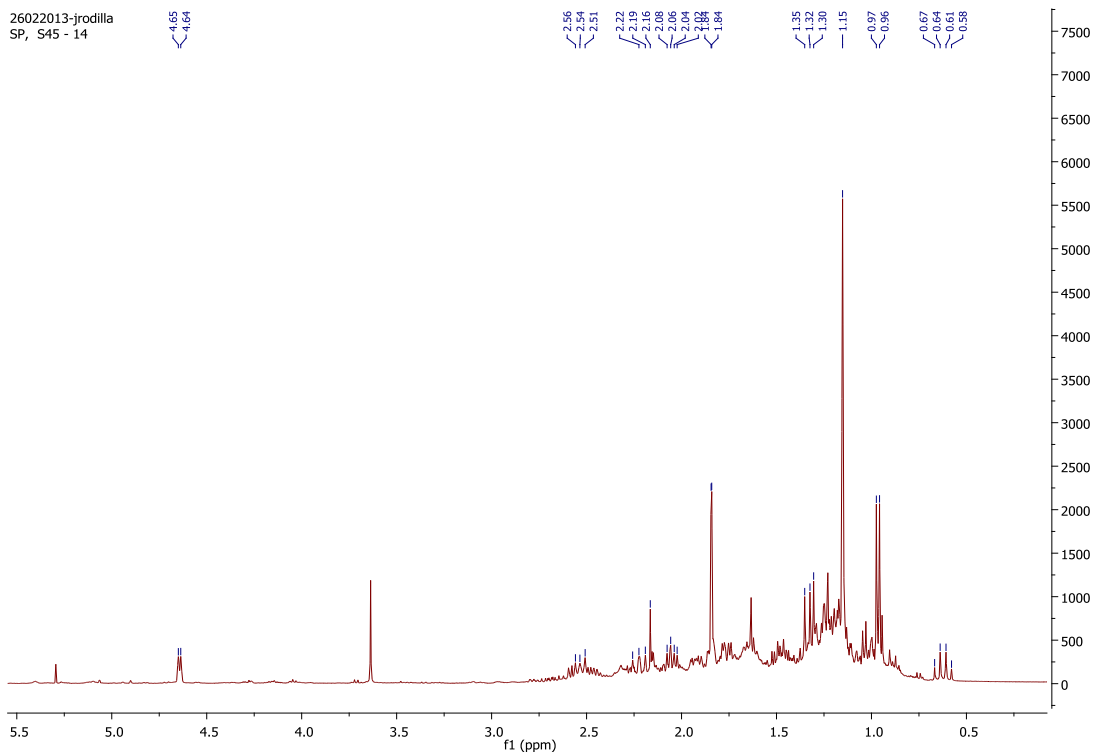


Figura 48. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 2.

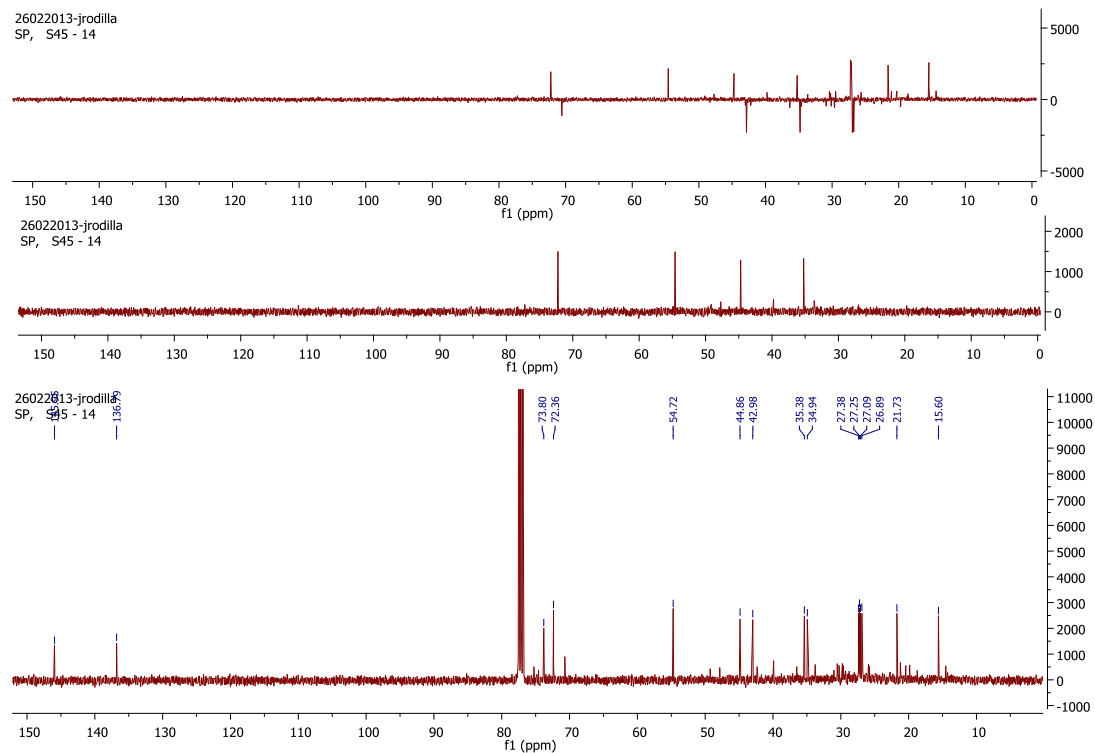


Figura 49. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 2.

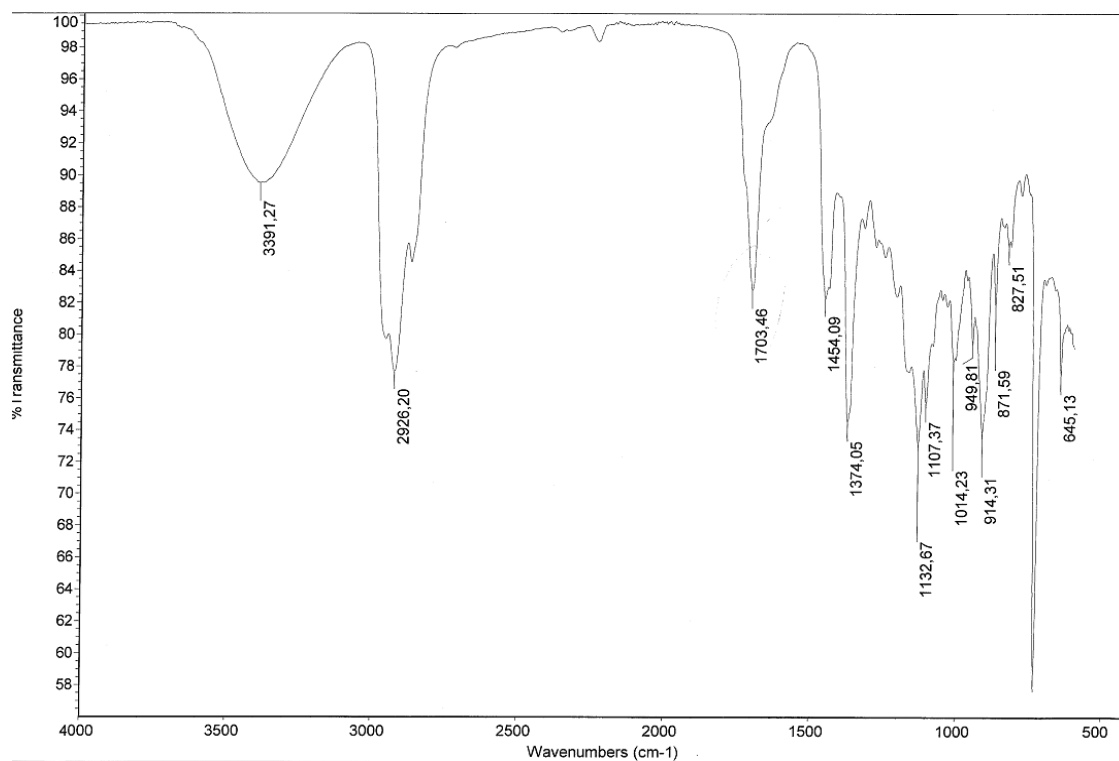


Figura 50. Espectro de IV do composto 2.

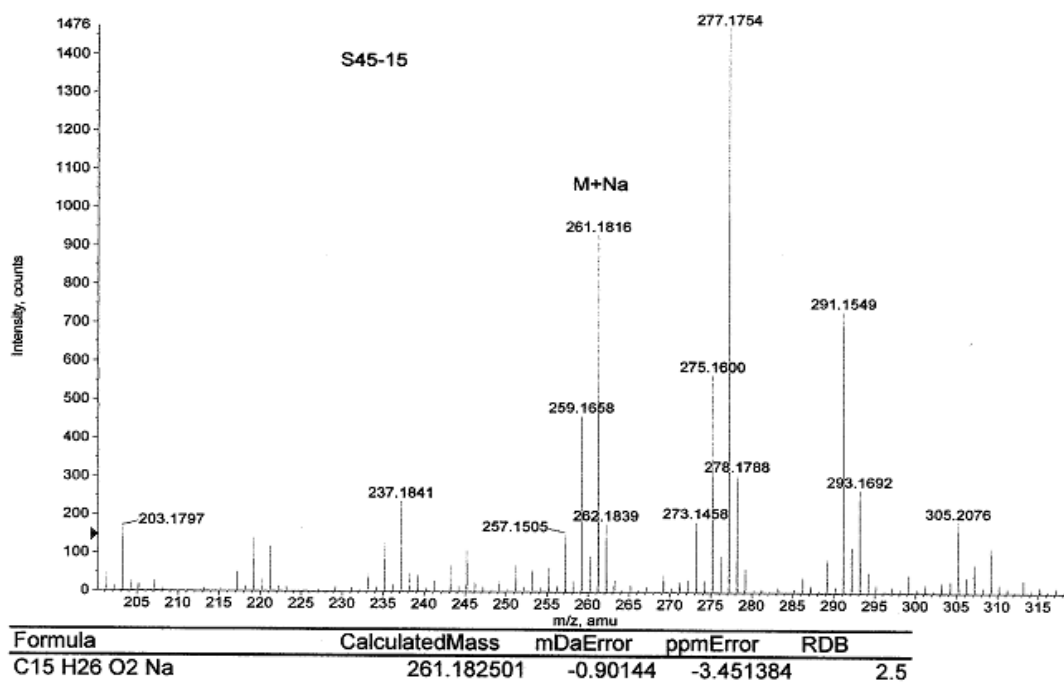


Figura 51. Espectro de massa de alta resolução do composto 2.

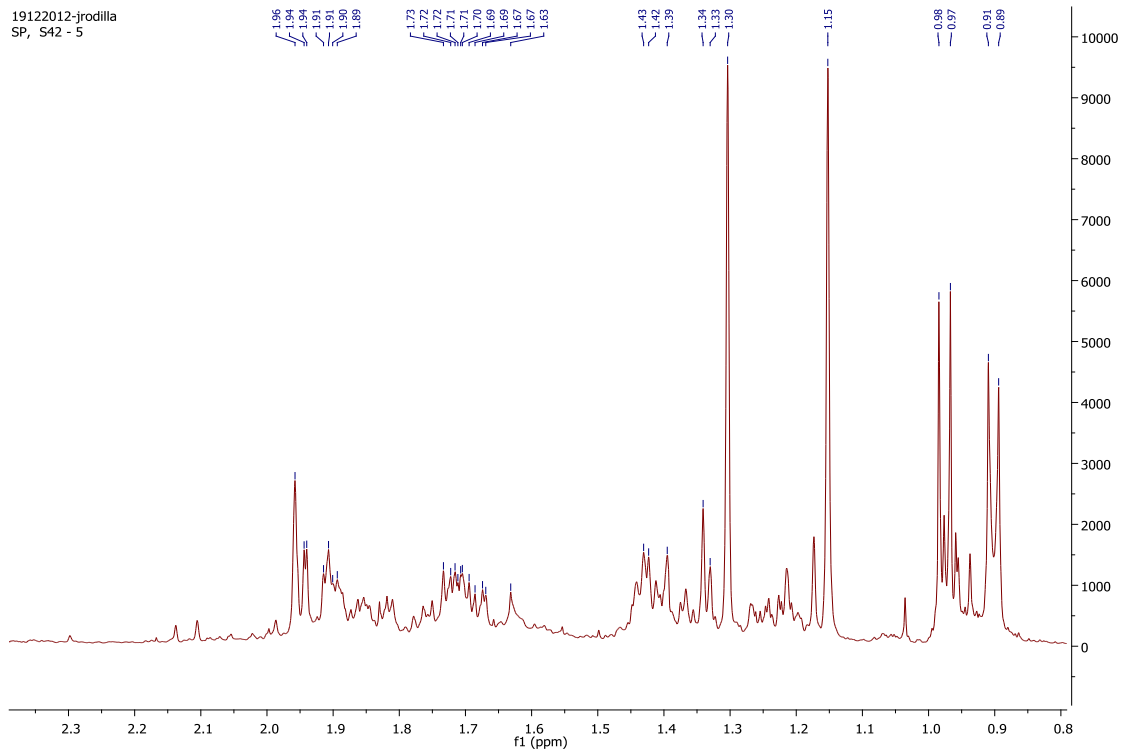


Figura 52. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 3.

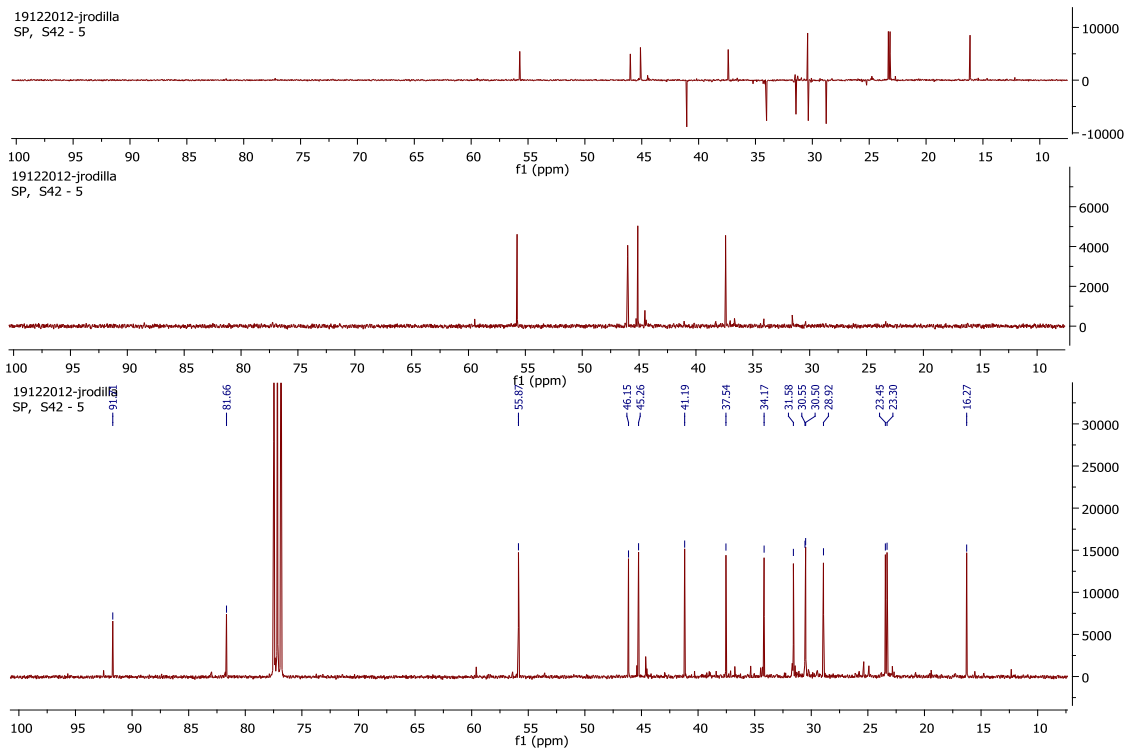


Figura 53. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 3.

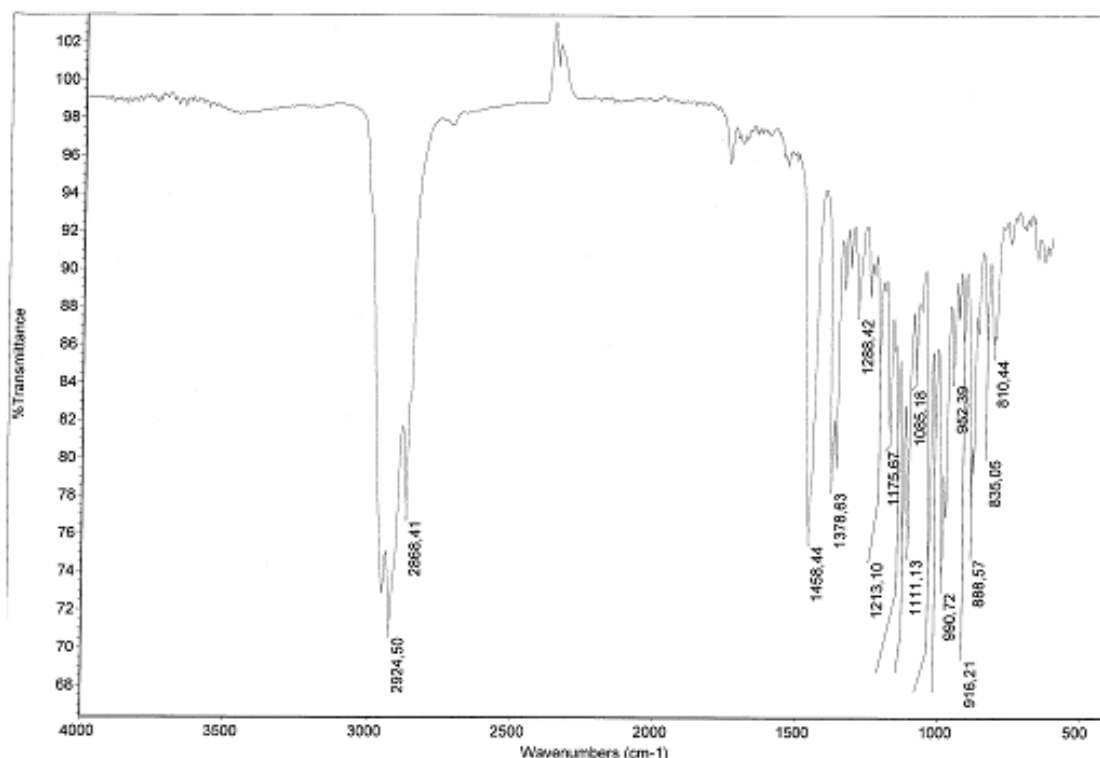


Figura 54. Espectro de infravermelho do composto 3.

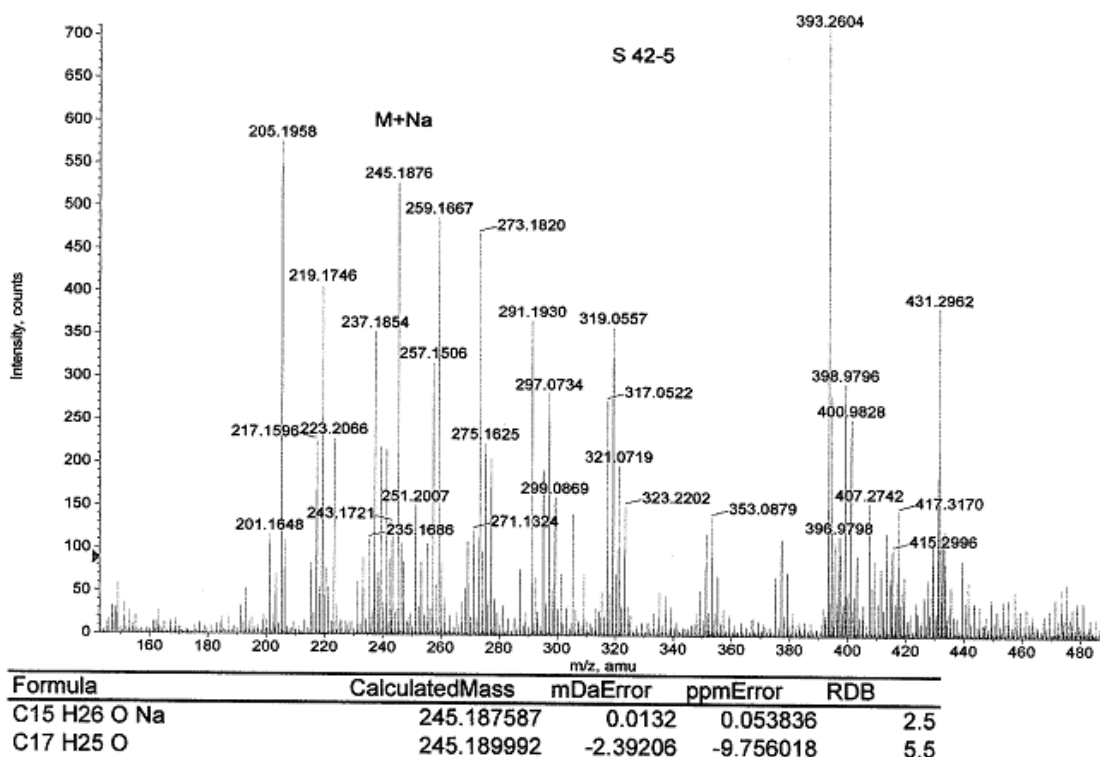


Figura 55. Espectro de massa de alta resolução do composto 3.

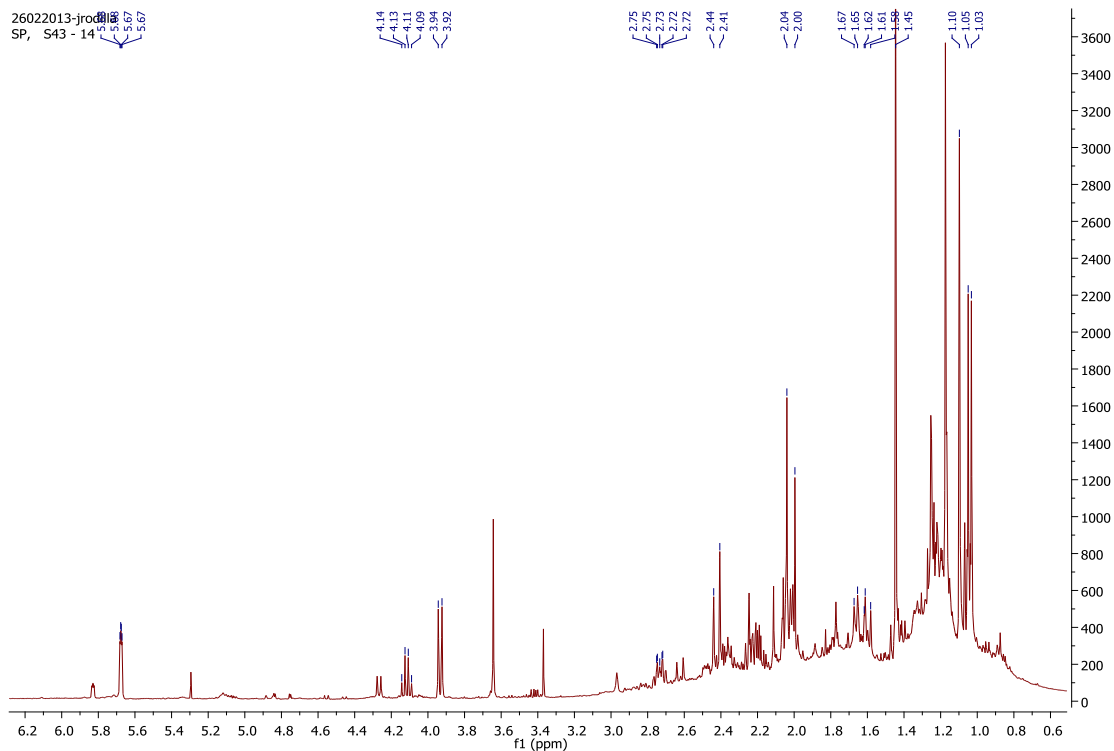


Figura 56. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 4.

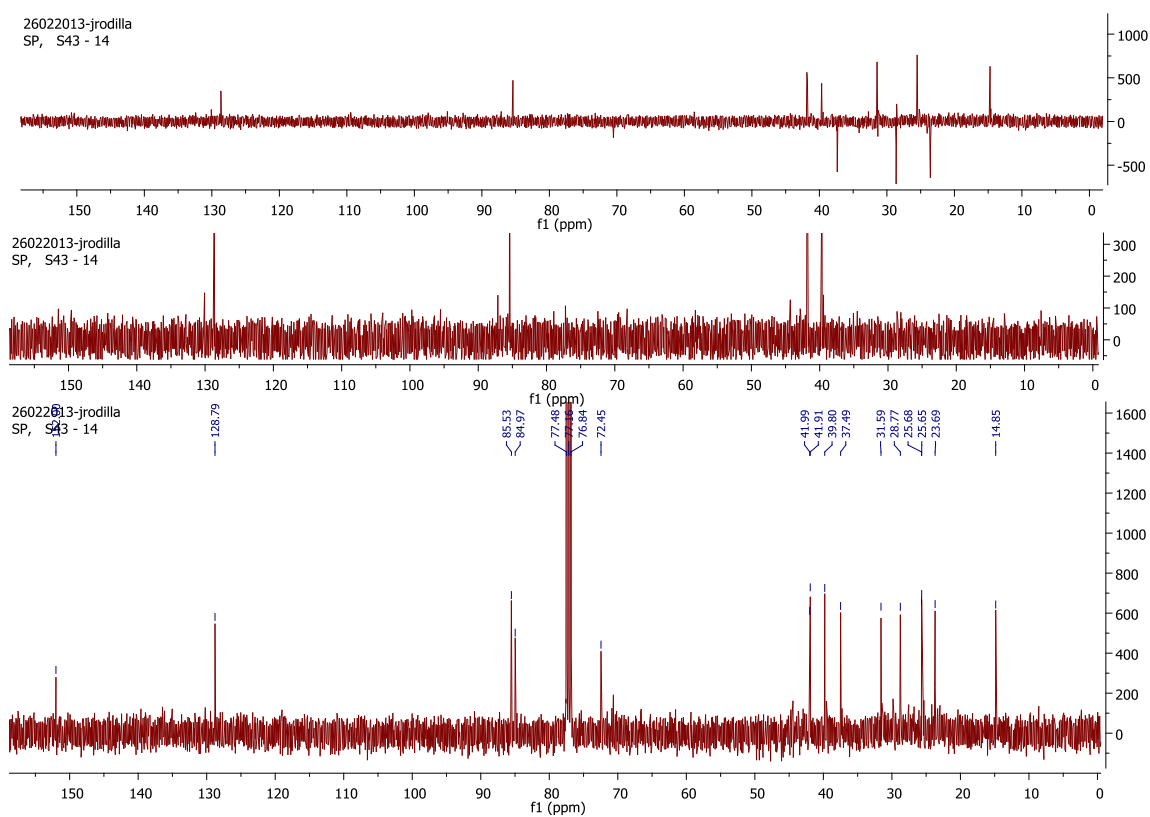


Figura 57. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 4.

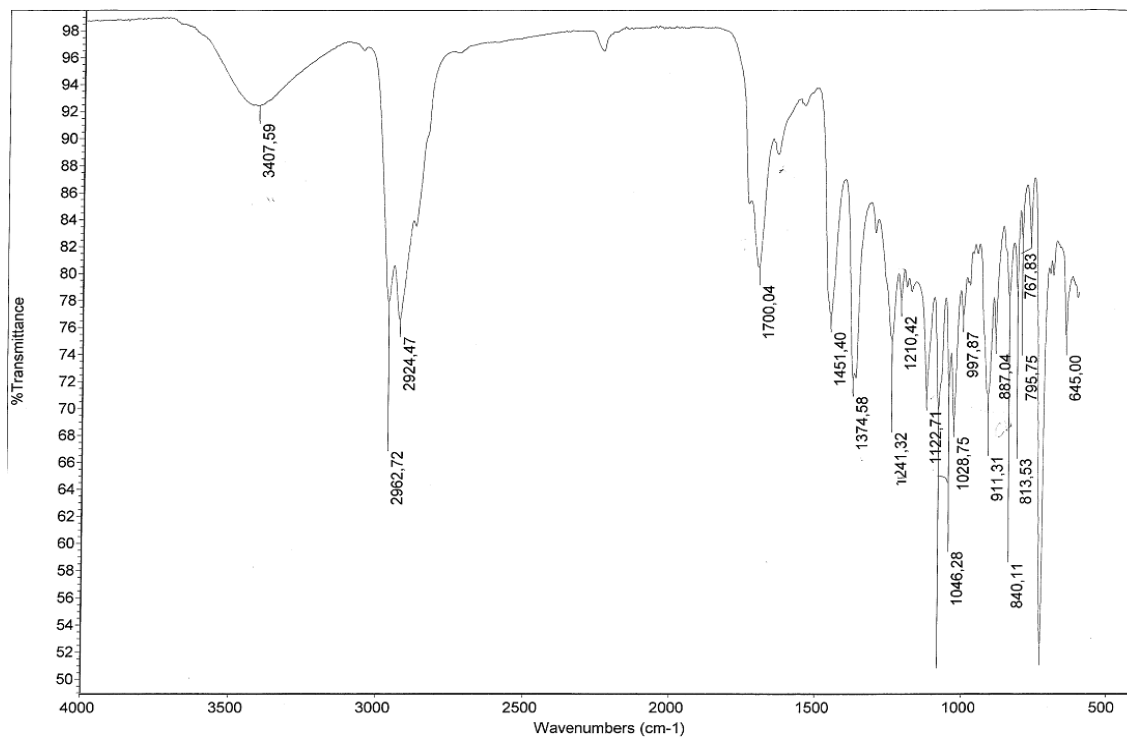
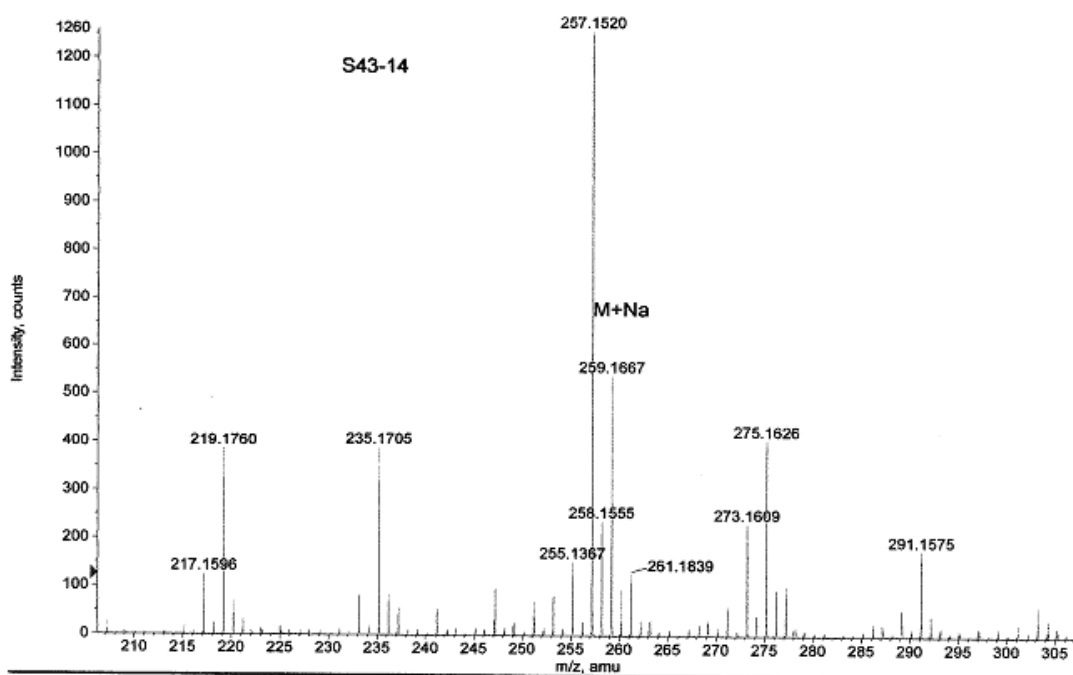


Figura 58. Espectro de infravermelho do composto 4.



Formula	CalculatedMass	mDaError	ppmError	RDB
C15 H24 O2 Na	259.166851	-0.15136	-0.584024	3.5
C17 H23 O2	259.169257	-2.55662	-9.86475	6.5

Figura 59. Espectro de massa de alta resolução do composto 4.

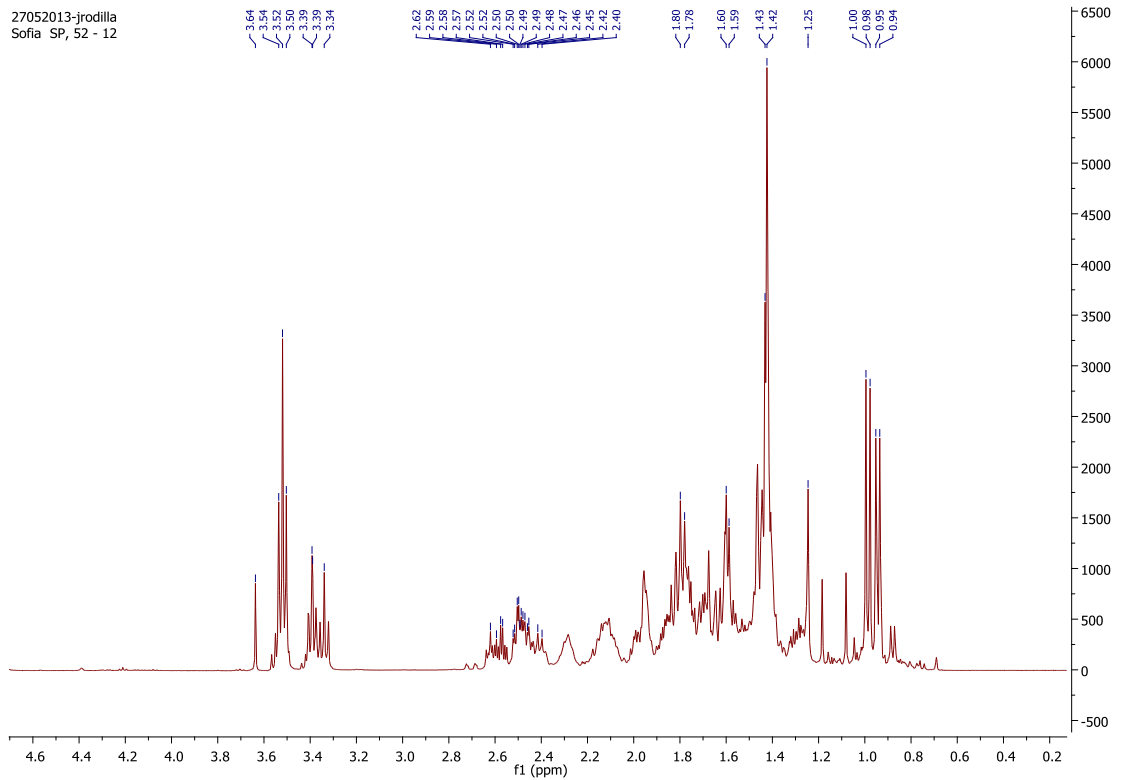


Figura 60. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 5 e 6.

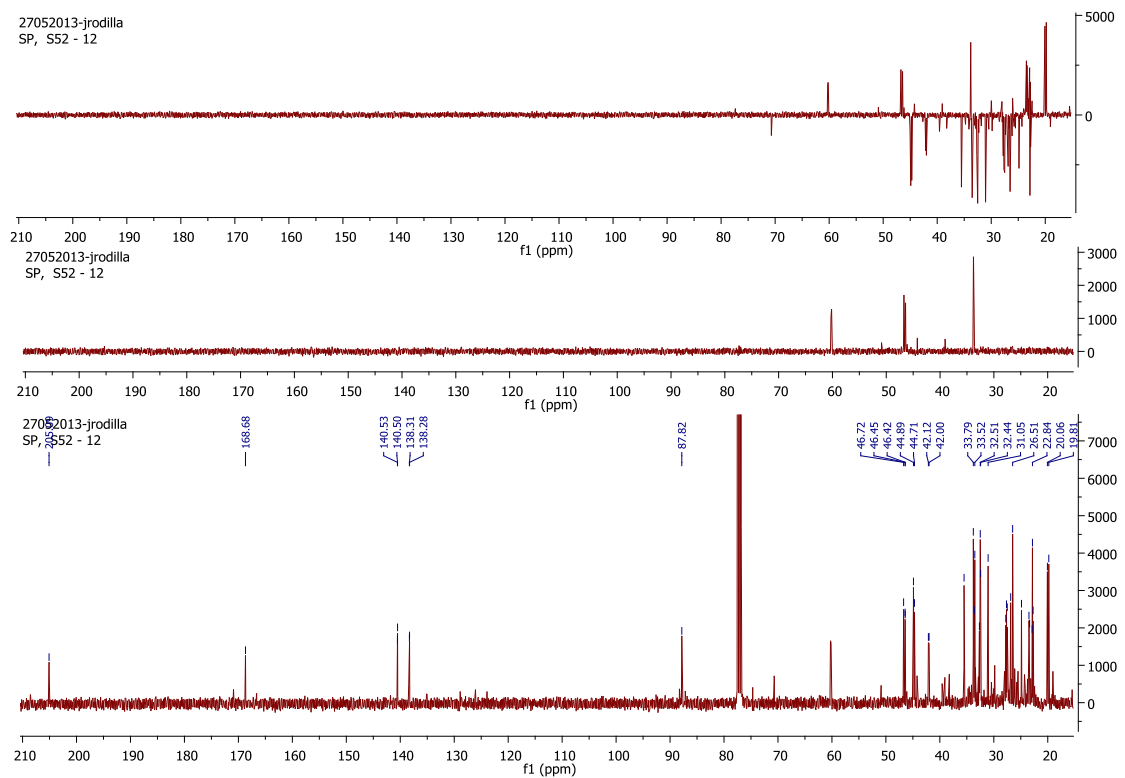


Figura 61. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 5 e 6.

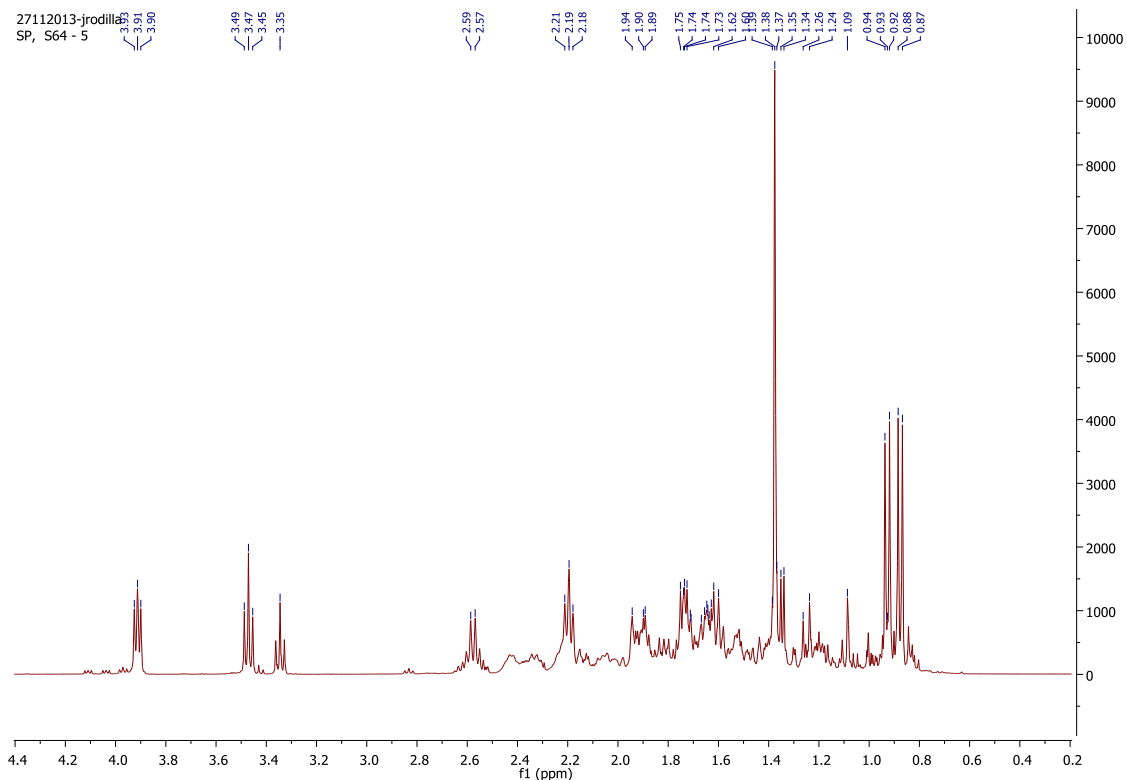


Figura 62. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 7 e 8.

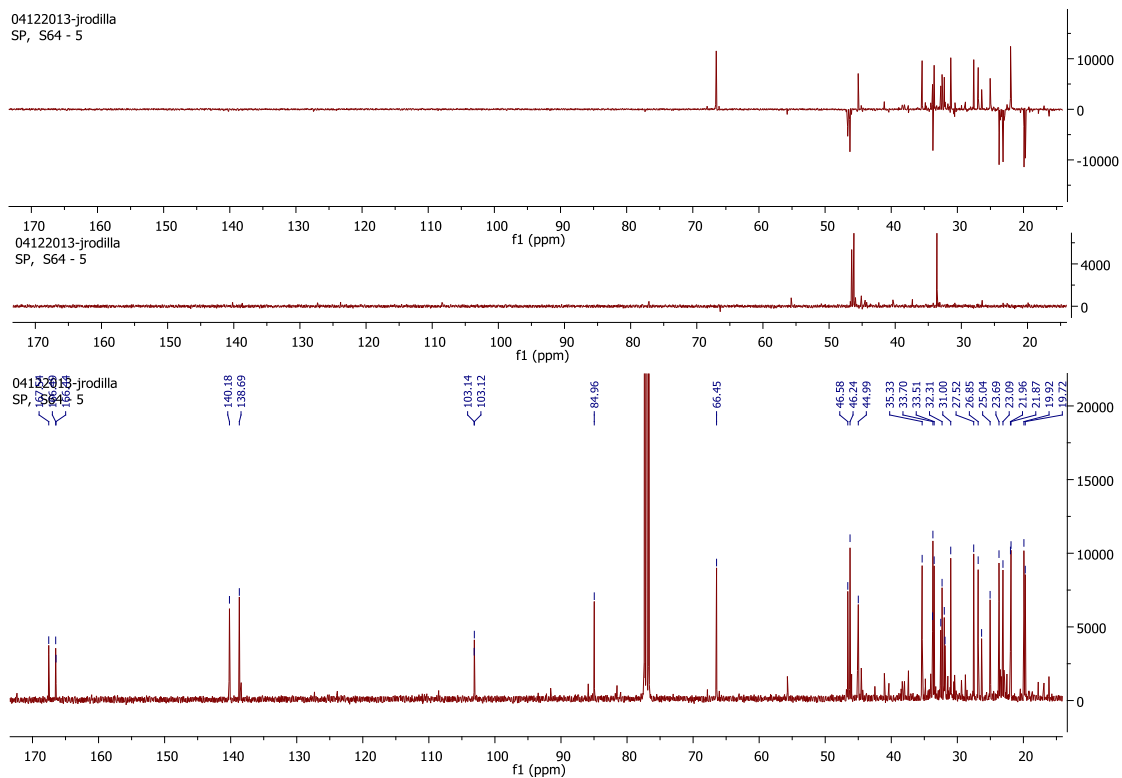


Figura 63. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 7 e 8.

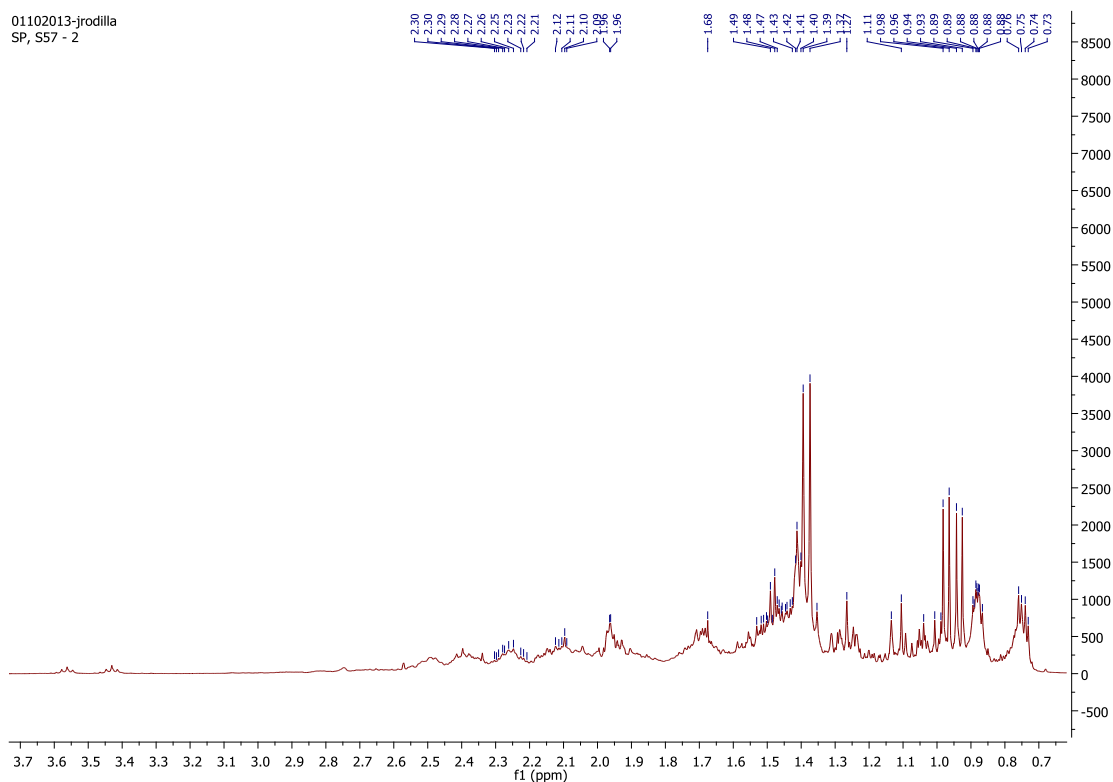


Figura 64. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 9.

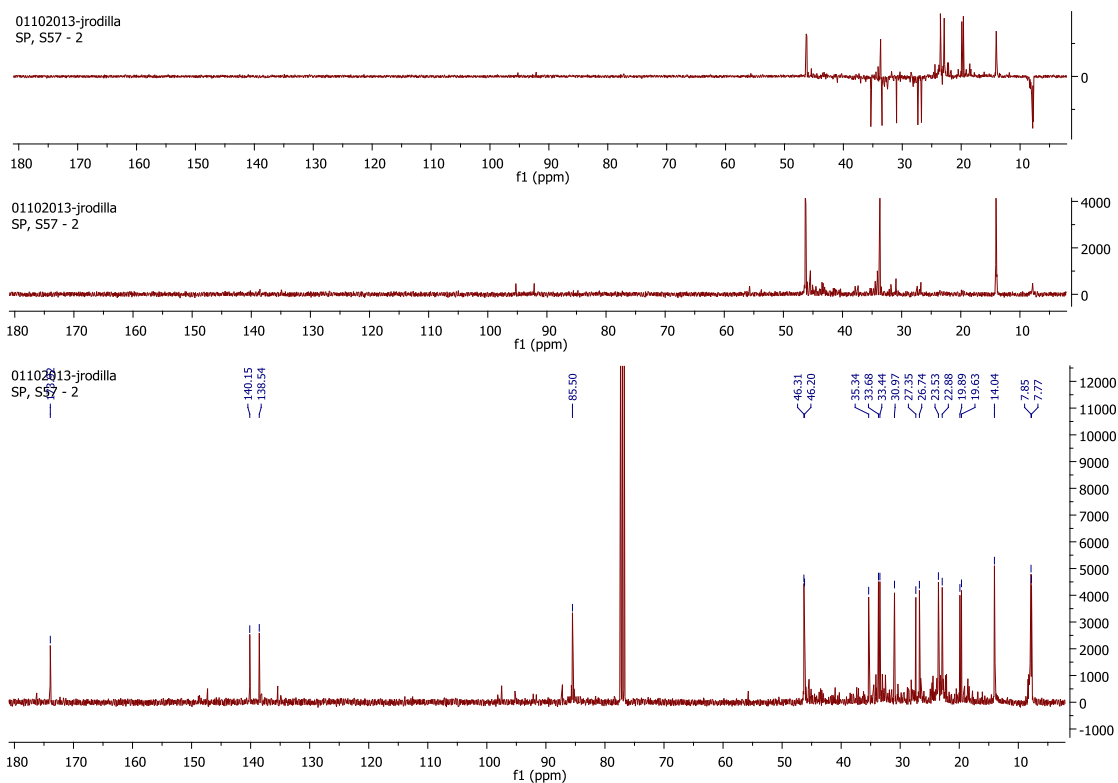


Figura 65. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 9.

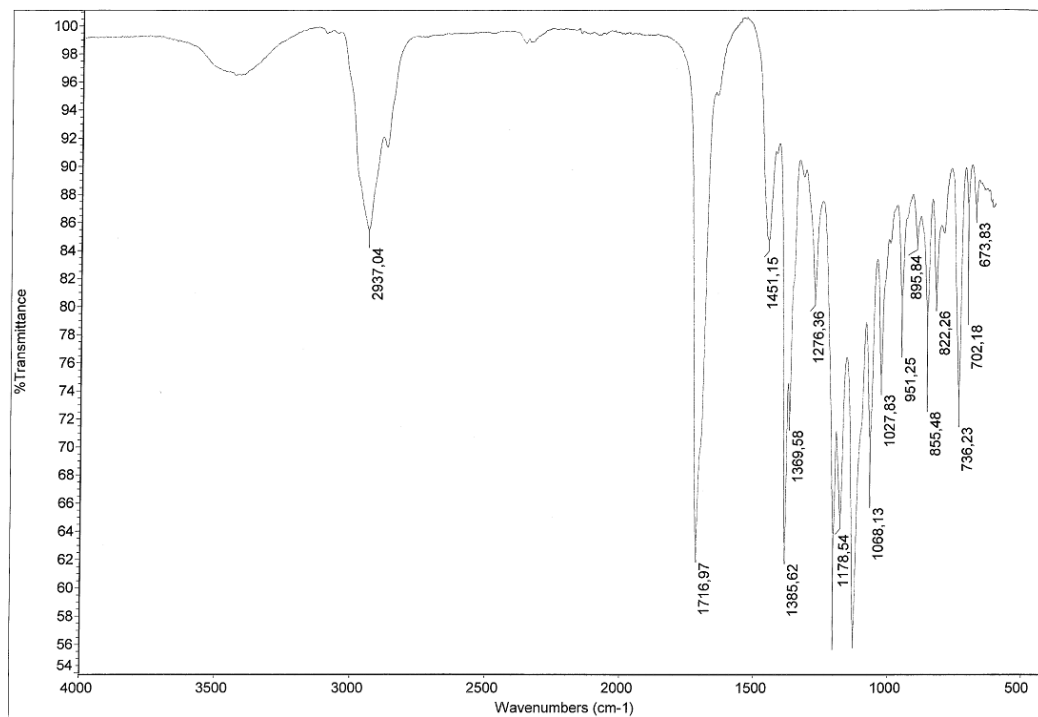


Figura 66. Espectro de IV do composto 9.

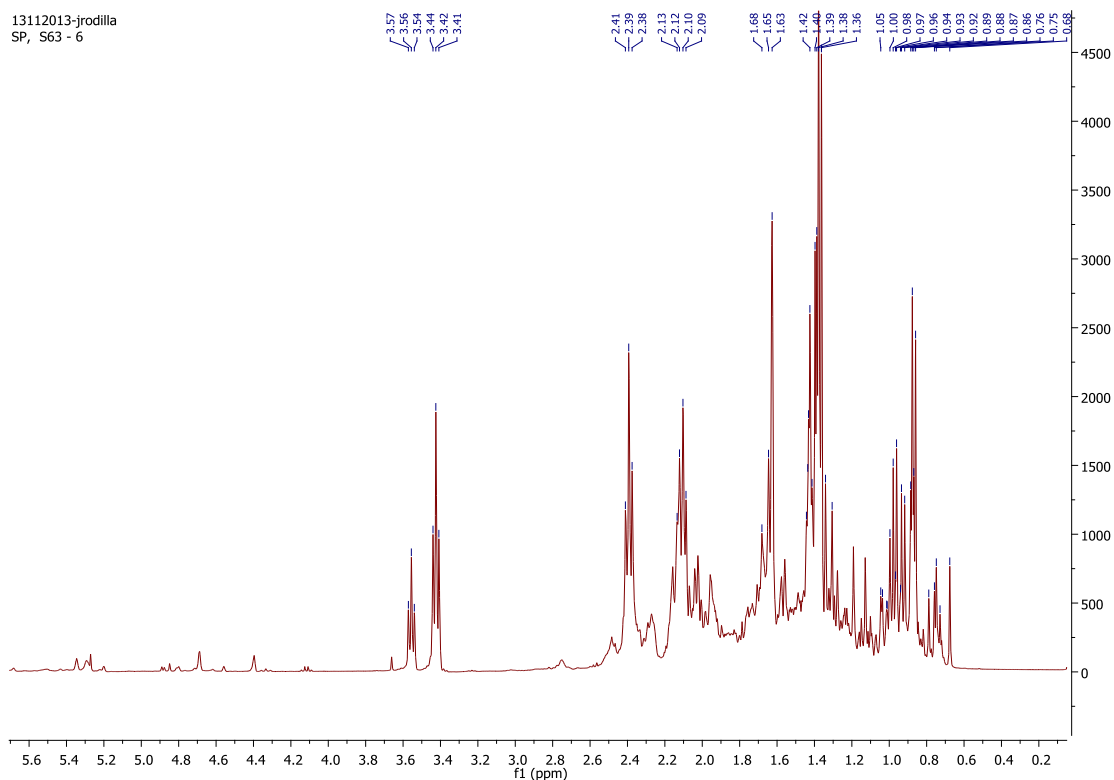


Figura 67. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 10 e 11.

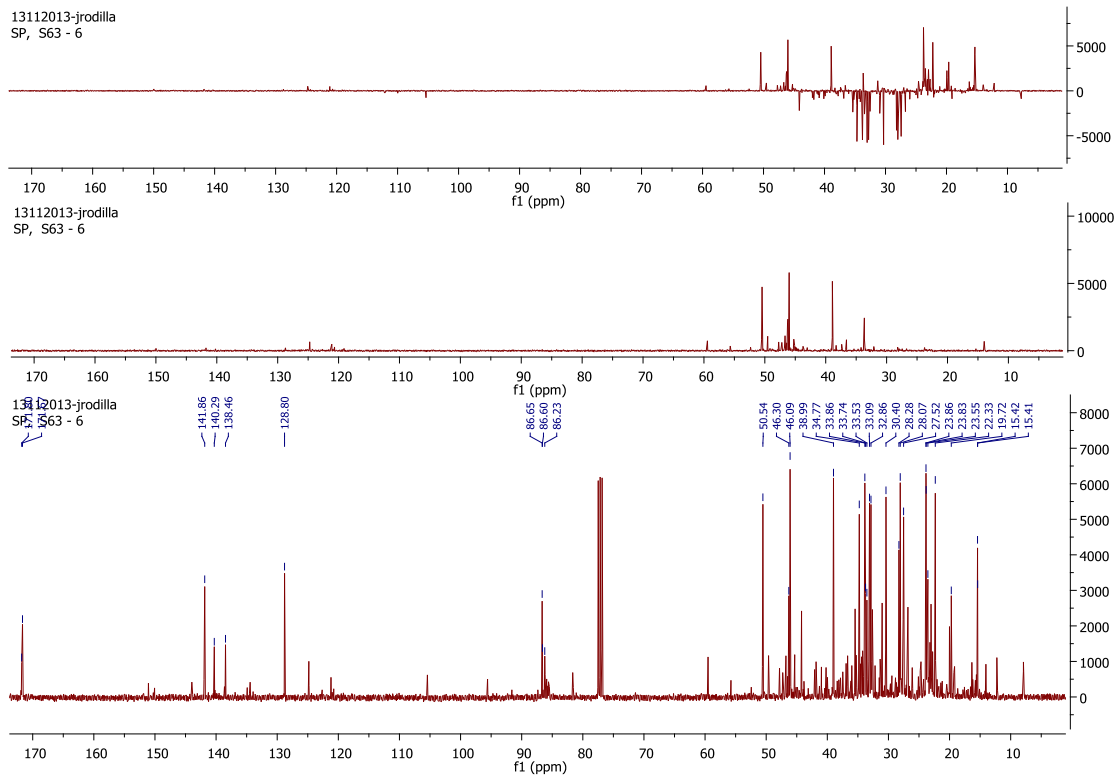


Figura 68. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 10 e 11.

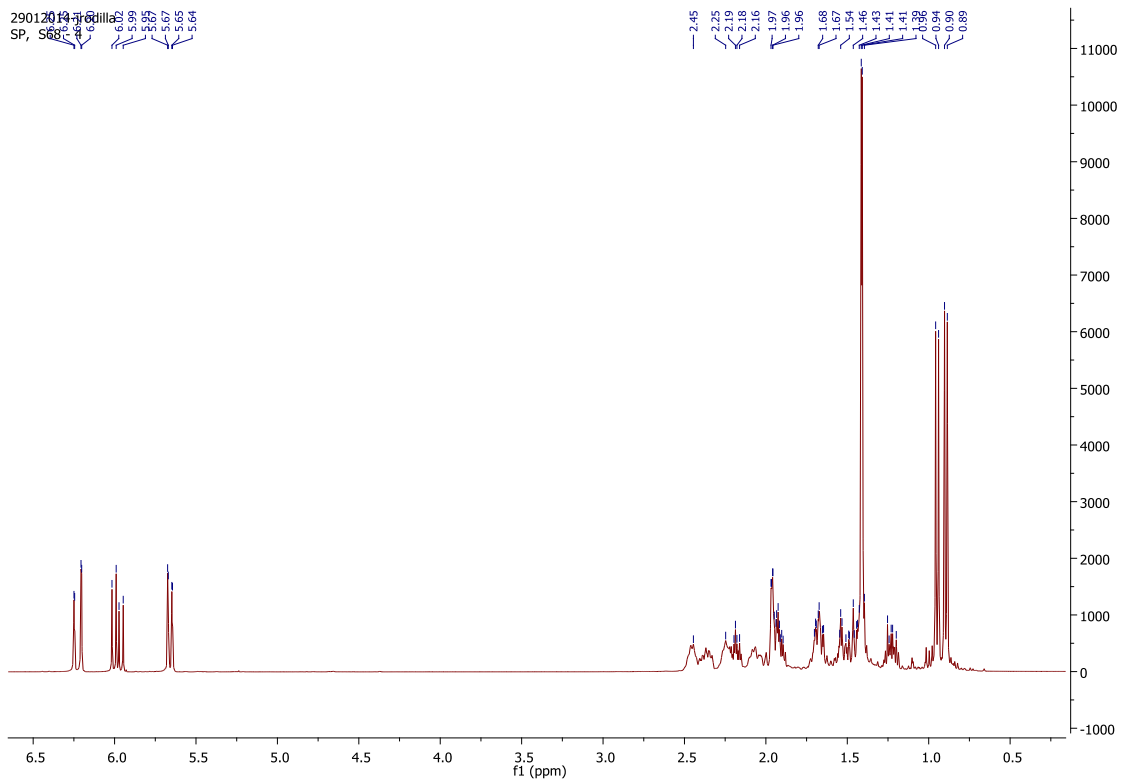


Figura 69. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 12.

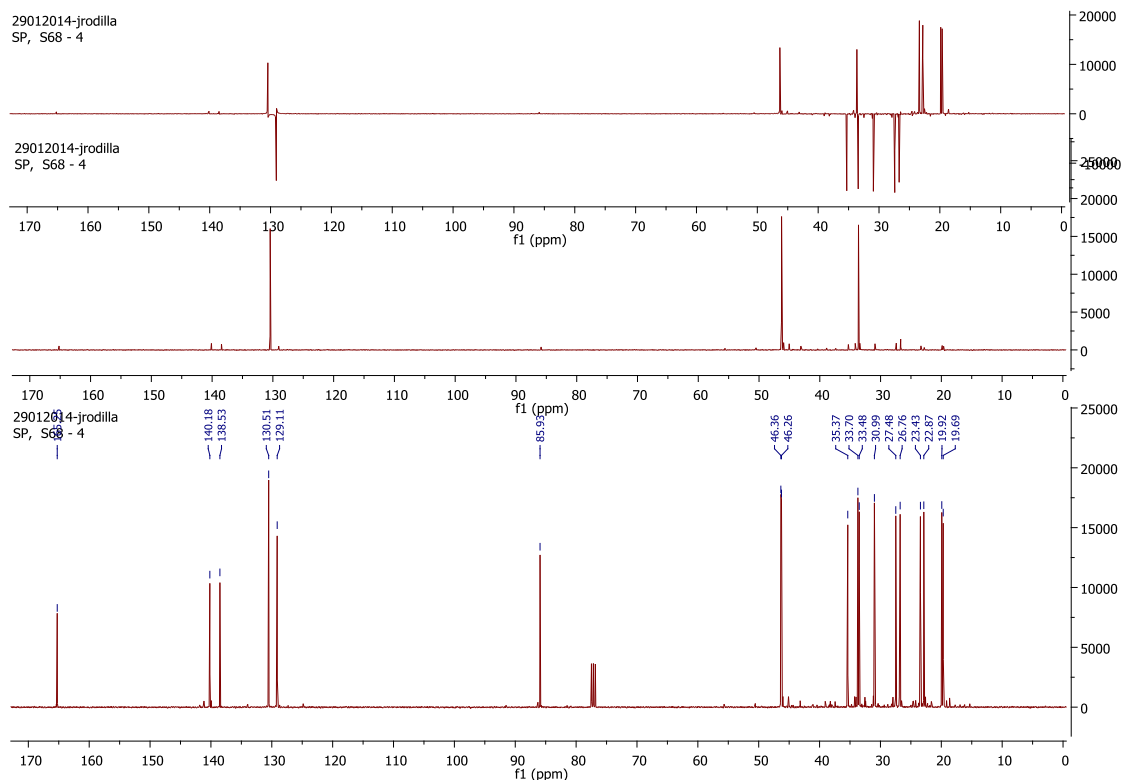


Figura 70. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 12.

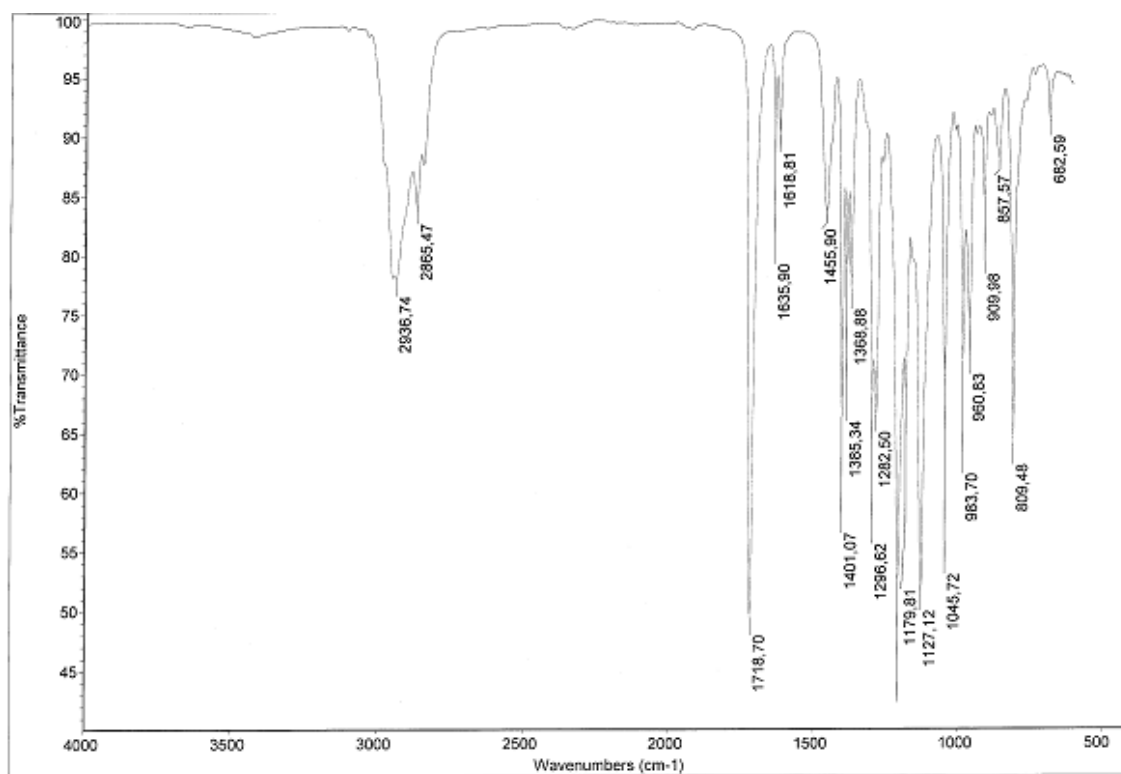


Figura 71. Espectro de IV do composto 12.

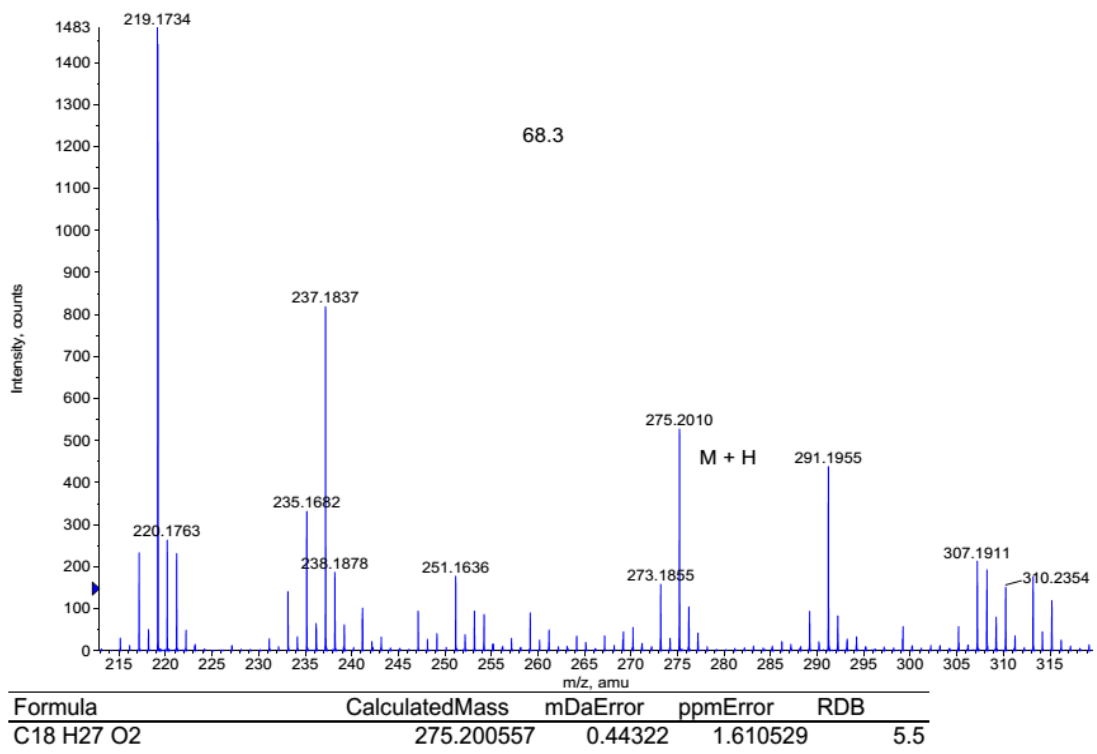


Figura 72. Espectro de massa de alta resolução do composto 12.

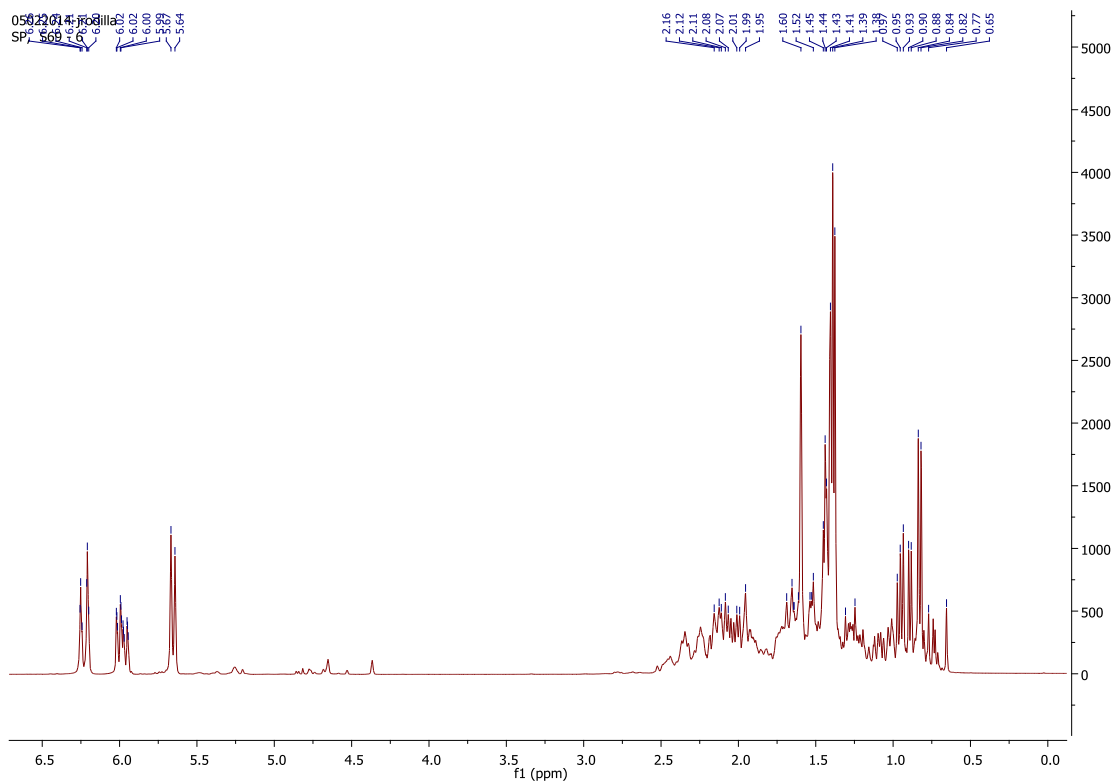


Figura 73. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 13.

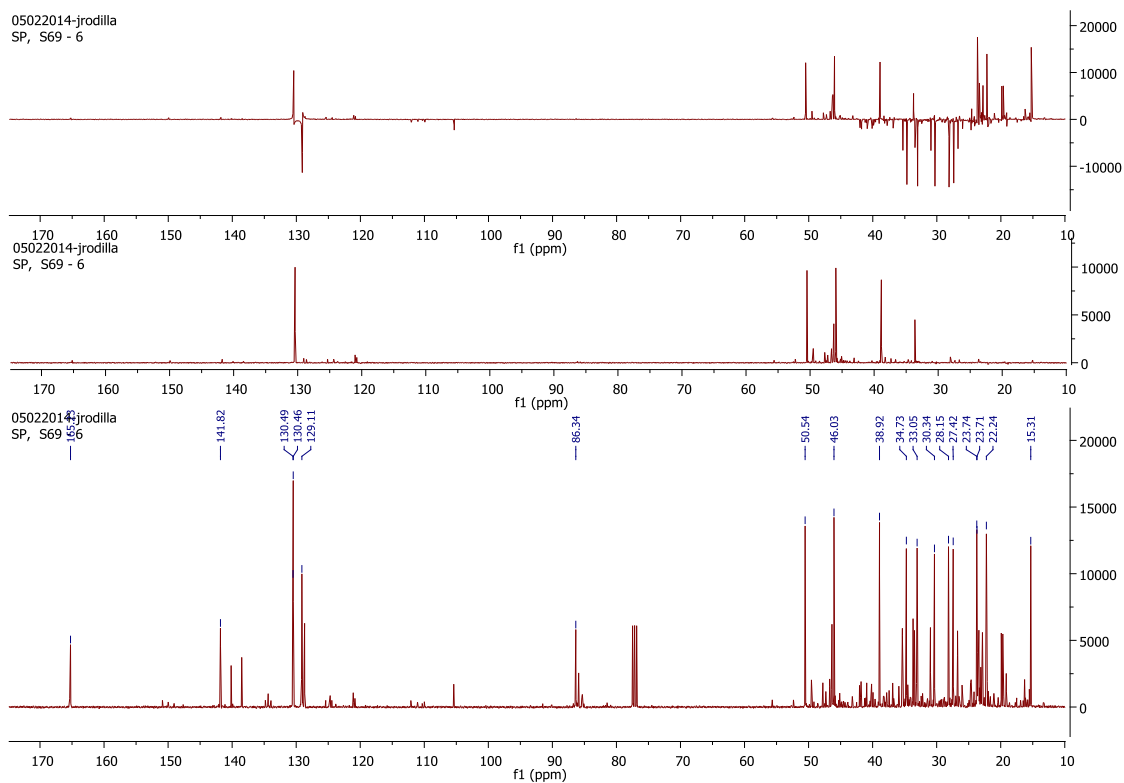


Figura 74. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 13.

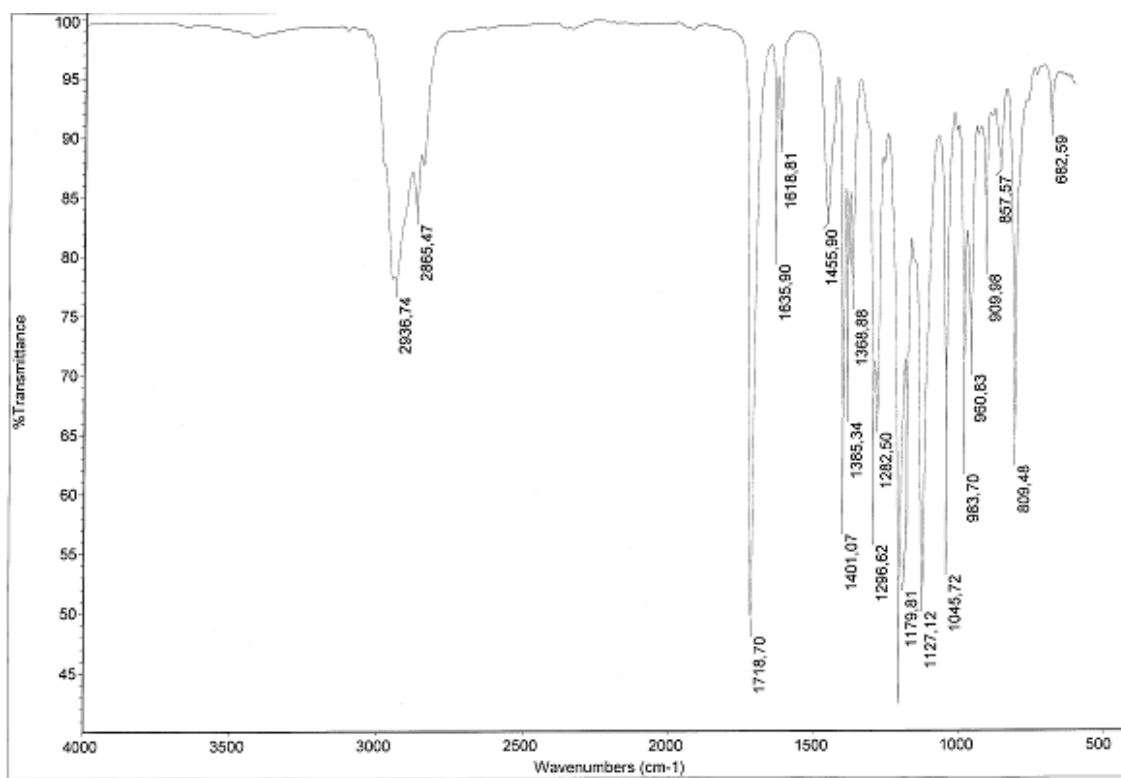


Figura 75. Espectro de IV do composto 13.

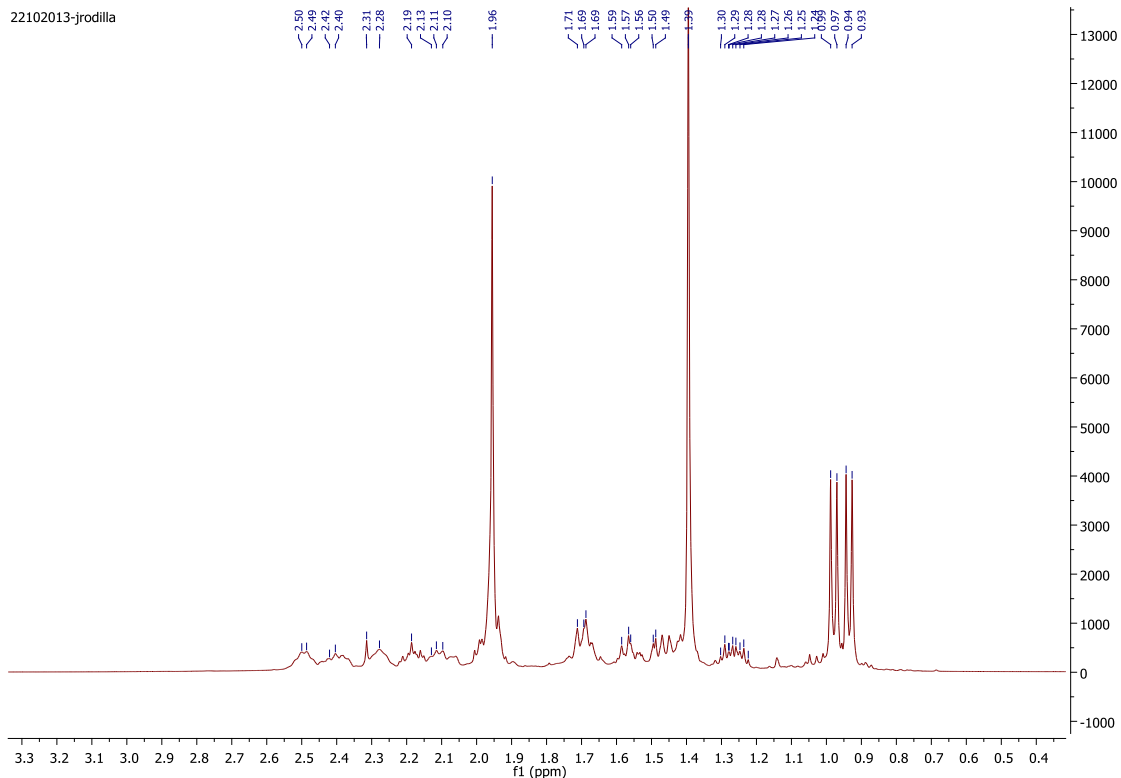


Figura 76. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 14 e 15.

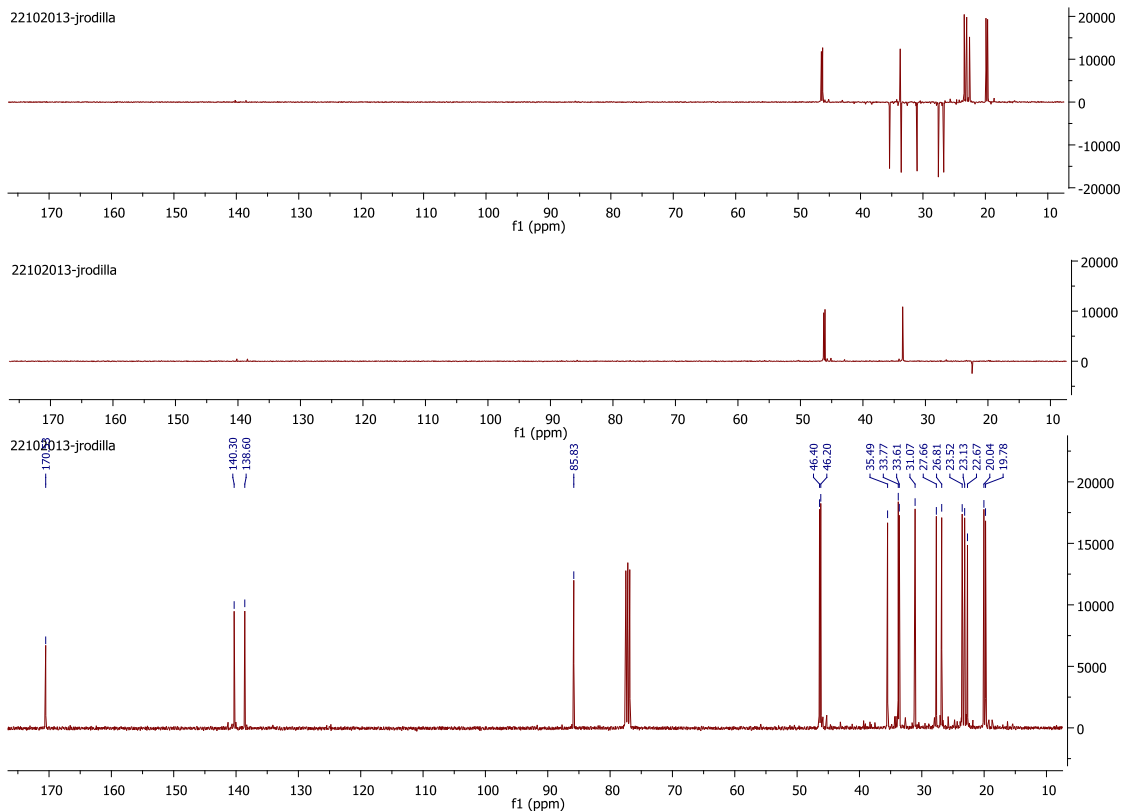


Figura 77. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 14 e 15.

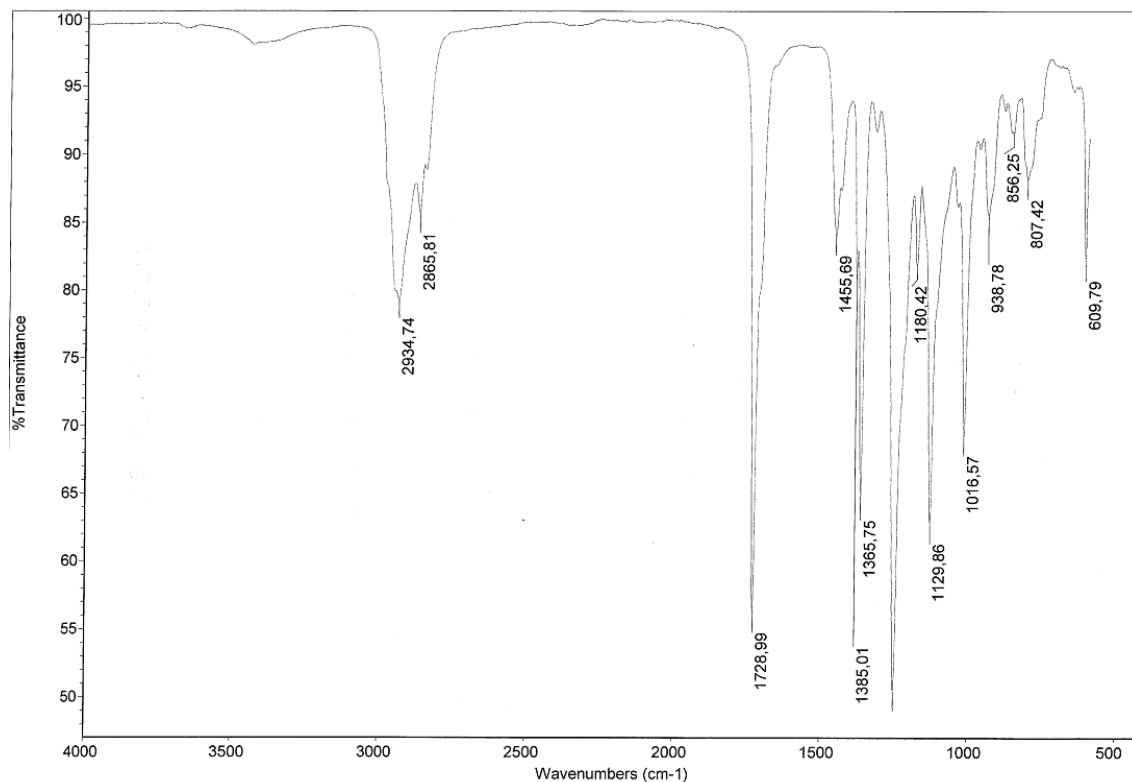


Figura 78. Espectro de IV do composto 14 e 15.

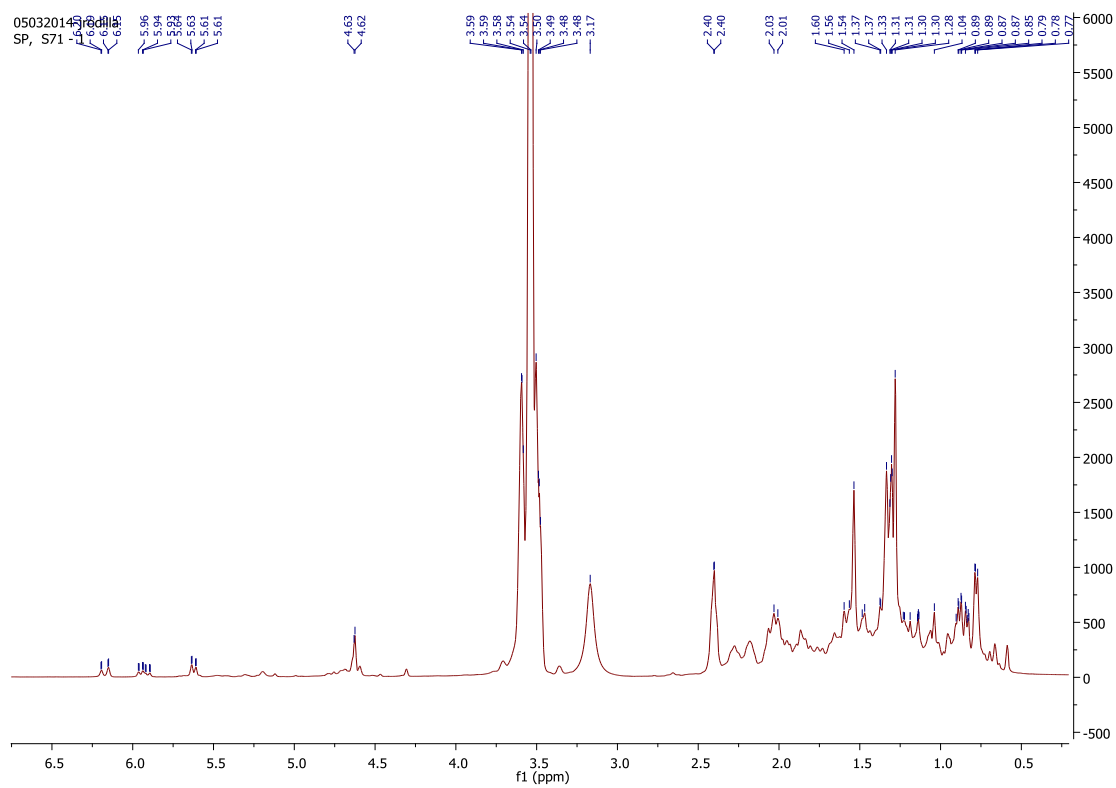


Figura 79. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 16.

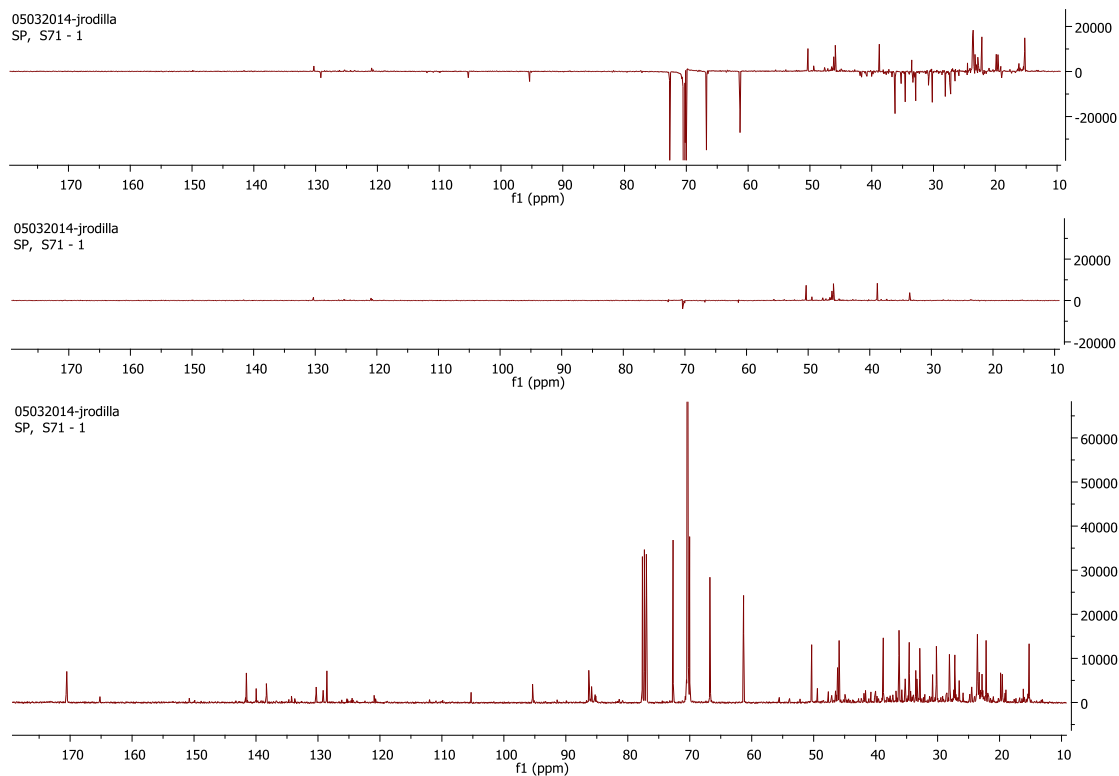


Figura 80. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 16.

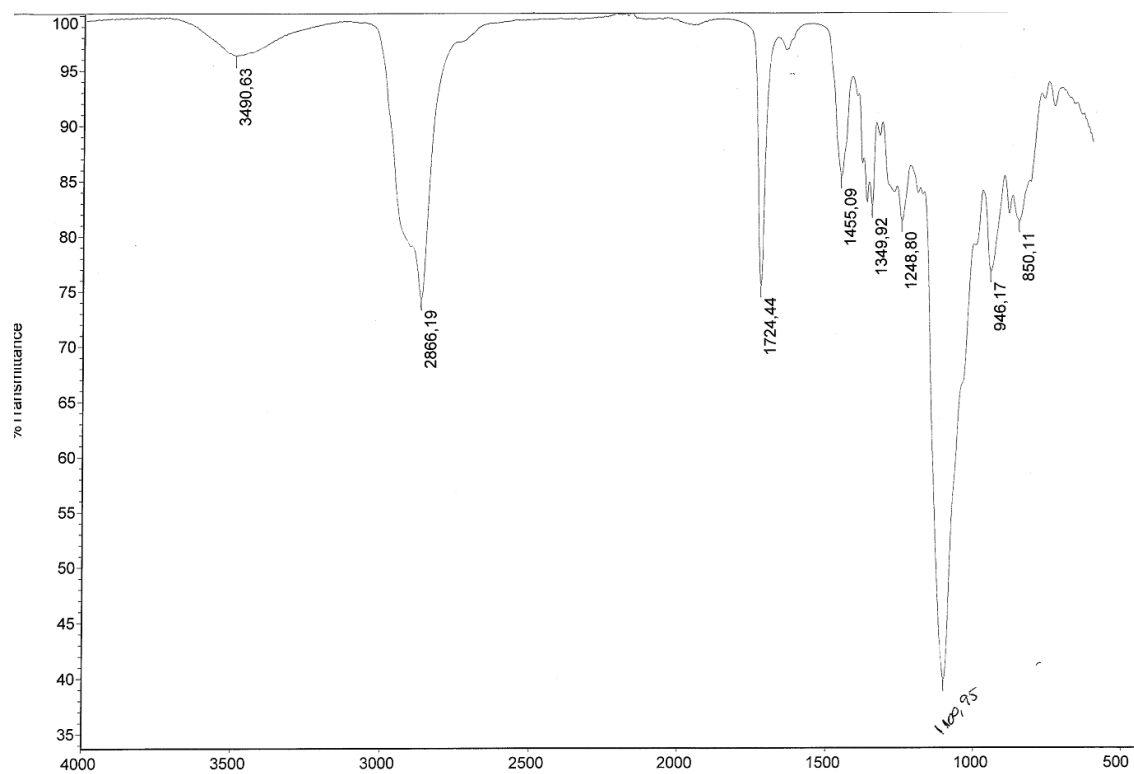


Figura 81. Espectro de IV do composto 16.

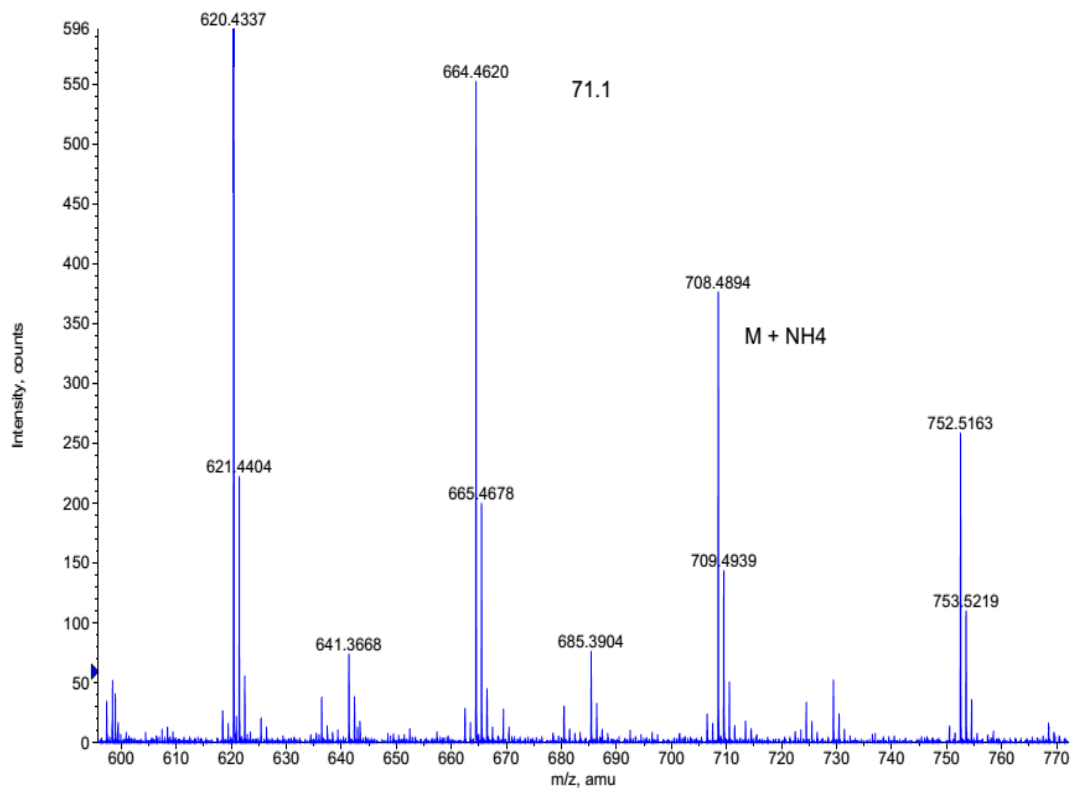


Figura 82. Espectro de massa de alta resolução do composto 16.

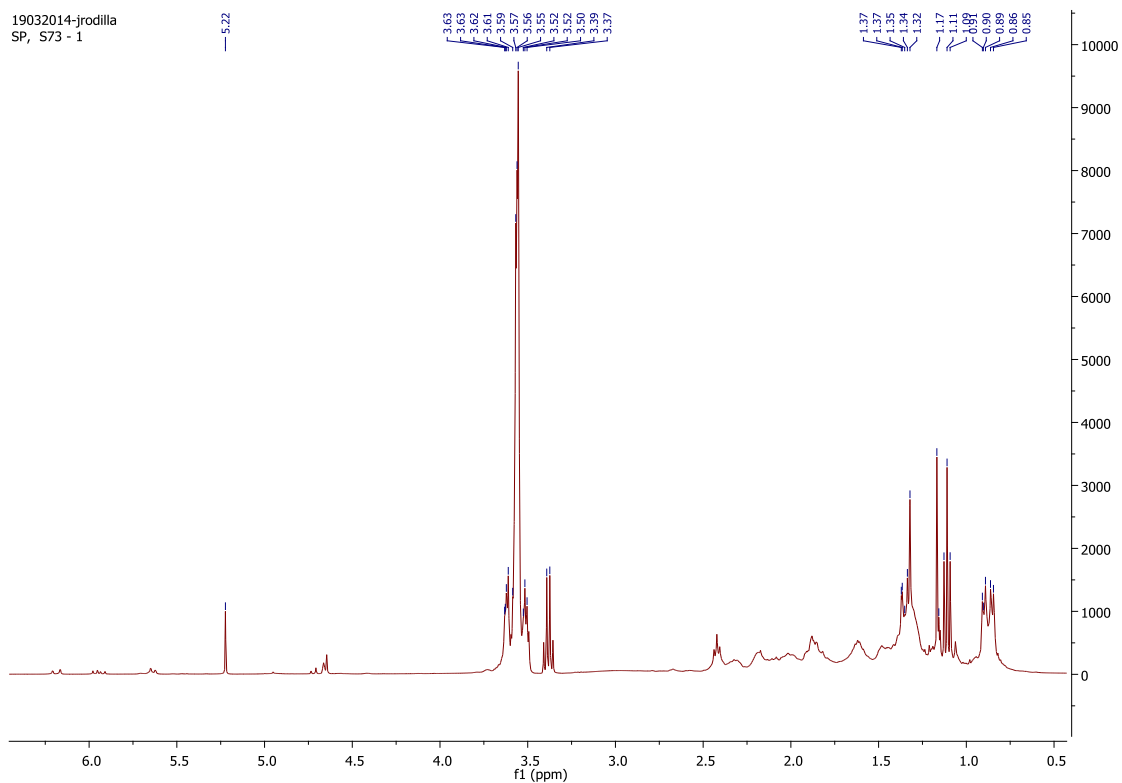


Figura 83. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 17.

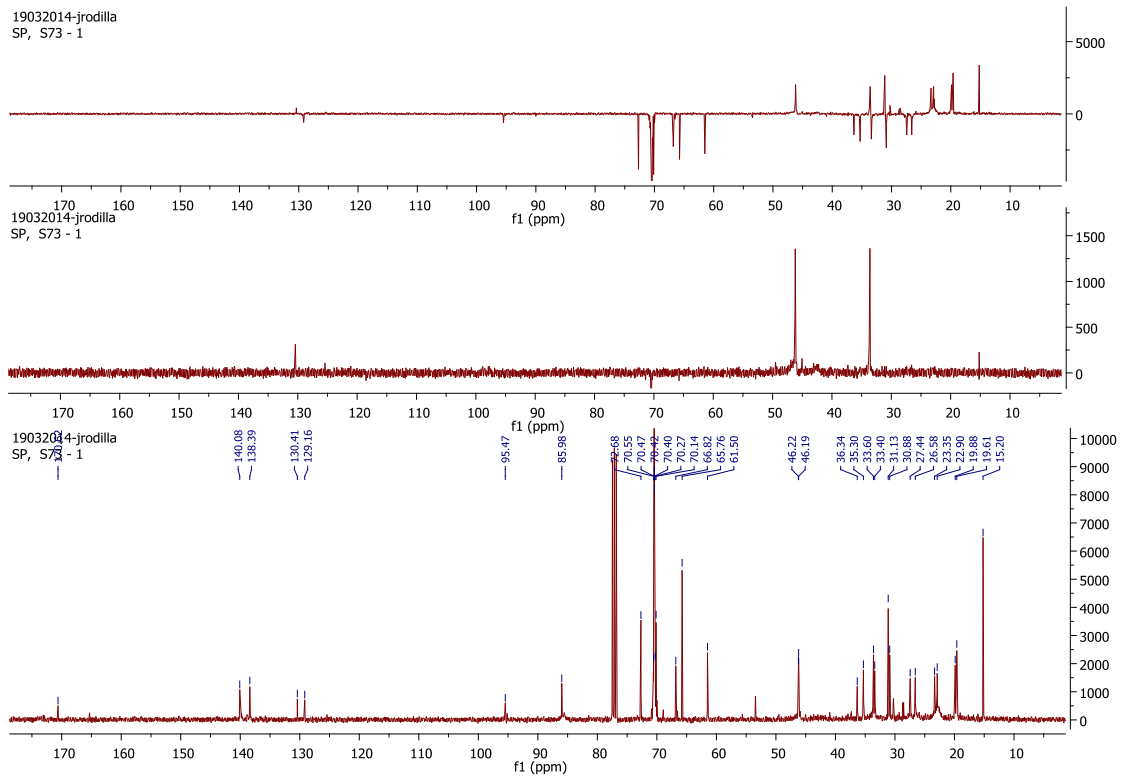


Figura 84. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 17.

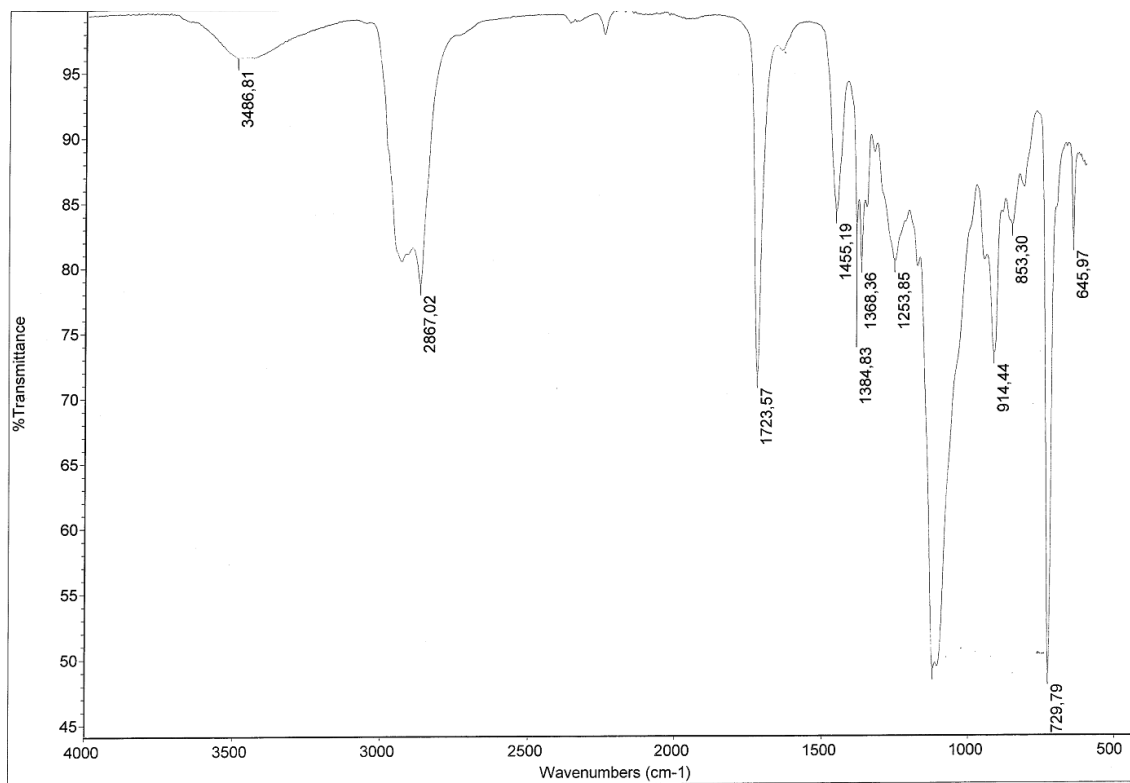


Figura 85. Espectro de IV do produto composto 17.

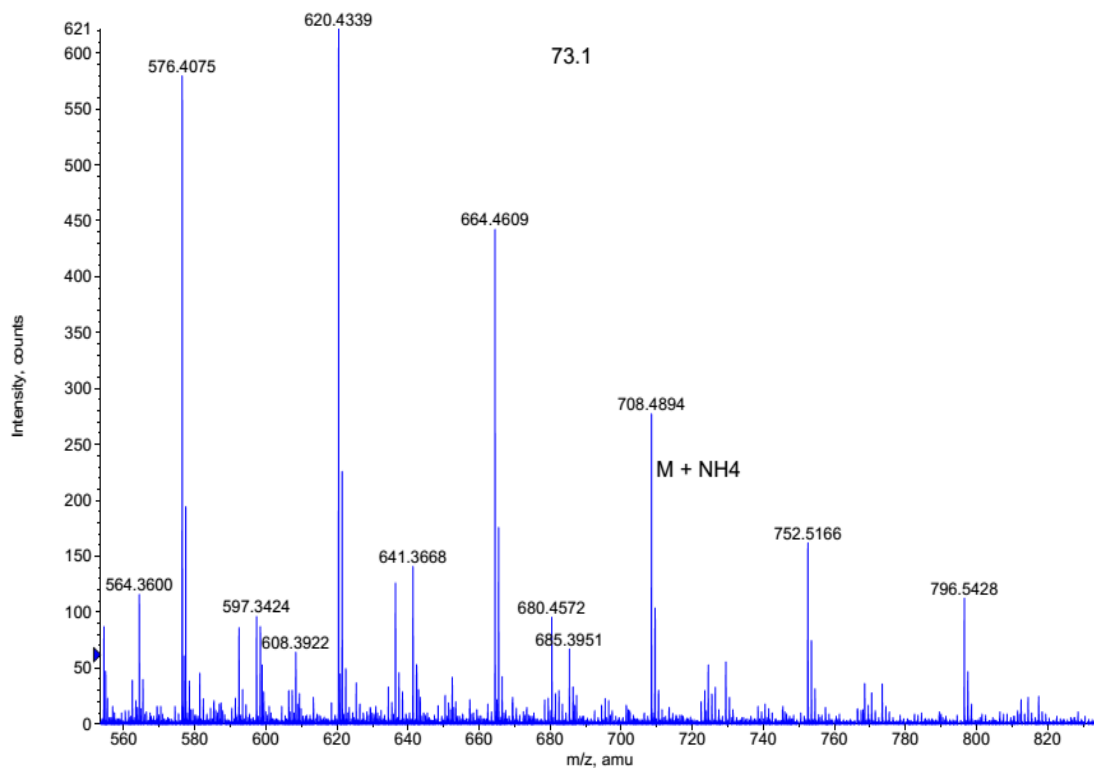


Figura 86. Espectro de massa de alta resolução do composto 17.