



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ISOLAMENTO DOS ÁCIDOS 3 α -ACETÓXI-COPÁLICO E 3 α -
HIDRÓXI-COPÁLICO DA FRAÇÃO NÃO VOLÁTIL DO ÓLEO-
RESINA DE COPAÍBA (*Copaifera* L. SPP. - FABACEAE) E
SEMISSÍNTESE DE DERIVADOS**

RONEI DE SOUZA NEGREIROS

MANAUS – AM
Julho/2022

RONEI DE SOUZA NEGREIROS

**ISOLAMENTO DOS ÁCIDOS 3 α -ACETÓXI-COPÁLICO E 3 α -
HIDRÓXI-COPÁLICO DA FRAÇÃO NÃO VOLÁTIL DO ÓLEO-
RESINA DE COPAÍBA (*Copaifera* L. SPP. - FABACEAE) E
SEMISSINTESE DE DERIVADOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, na linha de pesquisa de Transformações de Moléculas Orgânicas.

ORIENTADOR: Dr. ADRIAN MARTIN POHLIT

CO-ORIENTADOR: Dr. EDIZON VEIGA LOPES

MANAUS – AM
Julho/2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

N385i Negreiros, Ronei de Souza
Isolamento dos ácidos 3-acetóxi-copálico e 3-hidróxi-copálico da fração não volátil do óleo-resina de copaíba (*Copaifera L. spp.* - Fabaceae) e semissíntese de derivados / Ronei de Souza
Negreiros . 2022
174 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Adrian Martin Pohlit
Coorientador: Edizon Veiga Lopes
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.


1. Ácido 3-acetóxi-copálico. 2. Ácido 3-butanóxi-copálico. 3. Ácido 3-hidróxi-copálico. 4. Diterpenos. 5. Reações químicas. I. Pohlit, Adrian Martin. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Isolamento dos ácidos 3 α -acetóxi-copálico e 3 α -hidróxi-copálico da fração não-volátil do óleo-resina de copaíba (*Copaifera L. spp.* - Fabaceae) e semissíntese de derivados

RONEI DE SOUZA NEGREIROS


Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre (a) em Química.

Aprovado em, 15 de julho de 2022.

Documento assinado digitalmente
 **ADRIAN MARTIN POHLIT**
Data: 16/08/2022 16:41:51-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


ADRIAN MARTIN POHLIT (PPGQ/UFAM)

Presidente/Orientador

Documento assinado digitalmente
 **ALISSON MEZA NOVAIS**
Data: 16/07/2022 09:34:01-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

ALISSON MEZA NOVAIS (PPGQ/UFAM)

Membro Interno

Documento assinado digitalmente
 **JOEL APARECIDO PASSO**
Data: 17/07/2022 12:52:16-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

JOEL APARECIDO PASSO (DQ/UFAM)

Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 15 de julho de 2022.

Dedico essa obra aos meus pais, Antônio Hoston Rodrigues Negreiros e Rosineia de Souza Negreiros que, mesmo com as dificuldades, estiveram ao meu lado apoiando, ao meu irmão Ronan Negreiros, que sempre me incentivou, e aos colegas de laboratório: ao longo destes anos tive o prazer de conhecer, conviver e aprender com vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar força e perseverança nos momentos mais difíceis deste aprendizado.

Ao Dr. Adrian Martin Pohlit, pela amizade e orientação nos momentos mais delicados desse mestrado que tanto influenciaram em minha formação acadêmica e pessoal.

Aos doutores Edizon Veiga Lopes e Thiago Barbosa Pereira pela disponibilidade e orientação durante todo meu processo de aprendizagem no laboratório tanto no isolamento como nas reações de semissíntese.

Aos colegas de laboratório, Daniel Rômulo, Djalma Pereira, Jeane Kienen e Rita Salles que pude conhecer e aprender juntos com eles, nos momentos mais delicados da minha jornada estavam sempre tentando me ajudar. Em especial, à colega Cláudia Moraes, pela parceria e amizade, uma pessoa que me aproximei no momento mais difícil desse Mestrado, onde contei com seu apoio e preocupação, ao colega MSc. David R. da Silva que se disponibilizou nas orientações nos procedimentos do CLAE no momento que mais precisei, e ao colaborador MSc. Gustavo S. dos Santos com as análises de rotação ópticas realizadas na Universidade de São Paulo-USP.

Ao meu colega de apartamento Carlos Vinícius pela parceria e convivência, pelas noites em claro e principalmente pelo compartilhamento de conhecimento.

Aos integrantes da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN), por todas as análises de RMN, EM e CL-EMAR realizadas.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

As copaibeiras são muito conhecidas na região Amazônica por despertar muitas pesquisas, principalmente devido as propriedades biológicas que o óleo-resina desse vegetal apresenta. A partir do tronco dessas plantas é extraído o óleo-resina. Esse é constituído principalmente de sesquiterpenos e diterpenos. Os sesquiterpenos são majoritários na fração volátil, conhecida como óleo essencial. Enquanto os diterpenos são os principais constituintes químicos da parte fixa, classificada como resina. O óleo essencial tem sido usado pela indústria cosmética como matéria-prima de variados produtos. A sua separação do óleo-resina acontece por processo de destilação. Este processo gera um resíduo denominado de fração não volátil rico em ácidos diterpênicos. O presente trabalho teve como objetivos principais: fazer levantamento extensivo de dados sobre a composição química e atividade biológica de *Copaifera* spp., isolar substâncias da fração não volátil do óleo-resina da copaíba pós-destilação de origem comercial e submetê-las a reações químicas (hidrólise ou acilação). Dois diterpenos foram isolados da fração não volátil utilizando cromatografia em coluna de fase normal sequencial seguido de CLAE-FR e identificados como os ácidos 3 α -hidróxi-copálico e 3 α -acetóxi-copálico baseado nos seus dados de RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT 135, COSY, HSQC, HMBC, CL-EMAR, rotação óptica, e comparação com dados existentes na literatura. O ácido 3 α -hidróxi-copálico foi obtido do ácido 3 α -acetóxi-copálico (proveniente de isolamento) em condições de hidrólise (KOH 10% em MeOH/H₂O 9:1) com 76% de rendimento. O ácido 3 α -hidróxi-copálico (proveniente de isolamento) foi submetido às reações de acetilação (tratamento com anidrido acético em piridina e DMAP) e de butirilação (tratamento com anidrido butírico em piridina e DMAP), levando aos produtos semissintéticos, os ácidos 3 α -acetóxi-copálico e 3 α -butanoilóxi-copálico, com rendimentos de 70 e 42%, respectivamente. A formação dos produtos das reações foi confirmada baseado nas suas características de RMN de ^1H e CL-EMAR. Análises conformacionais e multiplicidades (valores de *J*) dos sinais correspondentes a H-3 e H-5 foram consistentes com as configurações relativas dos H-3, H-5 e da CH₃ angular (em C-10) como β , β e α , respectivamente, com pequena distorção da conformação cadeira no anel A devido à repulsão 1,3-diaxial entre as CH₃ nas posições 4 e 10 para os isolados/produtos das reações.

Palavras-chaves: Ácido 3 α -acetóxi-copálico, ácido 3 α -butanoilóxi-copálico, ácido 3 α -hidróxi-copálico, diterpenos, reações químicas.

ABSTRACT

Copaibeiras are well known in the Amazon region for arousing much interest among researchers, mainly due to the biological properties of the oil-resin of this plant. The oil-resin is extracted from the trunk. It consists mainly of sesquiterpenes and diterpenes. Sesquiterpenes predominate in the volatile fraction or essential oil while diterpenes are the main chemical constituents of the fixed fraction or resin. Essential oil is used by the cosmetic industry as a raw material for various products. Its separation from the oil-resin takes place through distillation processes. The latter generate a residual non-volatile fraction that is rich in diterpenes. The present work has as its main objectives to perform an extensive survey of literature on the chemical composition and biological activity of *Copaifera* spp., to isolate substances from the residual, non-volatile fraction of copaiba oleoresin obtained after commercial distillation and to prepare semi-synthetic derivatives of isolated substances (through straight-forward chemical reactions such as acylation or hydrolysis). Two diterpenes were isolated from the non-volatile fraction of copaiba oleoresin using sequential normal phase column chromatographies followed by RP-HPLC and identified as 3 α -hydroxycopalic and 3 α -acetoxycopalic acids based on ^1H and ^{13}C NMR, DEPT 135, COSY, HSQC, HMBC, LC-HRMS and optical rotation, as well as comparison with literature data. These two carboxylic acids are known by several names in the literature. Consistent with the structure and C-5 and C-10 absolute configurations established originally for copalic acid by Nakano e Djerassi these compounds are called 3 α -substituted copalic acid derivatives. 3 α -hydroxycopalic acid was obtained from isolated 3 α -acetoxycopalic acid under hydrolysis conditions (10% KOH in 9:1 MeOH/H₂O) in 76% yield. 3 α -hydroxycopalic acid (from isolation) was subjected to acetylation (treatment with acetic anhydride in pyridine and DMAP) and butyrylation (treatment with butyric anhydride in pyridine and DMAP) reactions resulting in the formation of semi-synthetic products 3 α -acetoxy-copalic and 3 α -butanoyloxycopalic acids in 70 and 42%, respectively. The formation of the reaction products was confirmed based on their ^1H NMR and LC-HRMS characteristics. Conformational analyses and multiplicities (J values) of the ^1H signals corresponding to H-3 and H-5 were consistent with H-3, H-5 and angular CH₃ (at C-10) relative configurations of β , β and α , respectively, with small distortion of the chair conformation in the A ring due to 1,3-diaxial repulsions among the CH₃ substituents at C-4 and C-10 in isolates and reaction products.

Keywords: 3 α -acetoxycopalic acid, acylation, 3 α -butanoyloxycopalic acid, chemical reactions, diterpenes, 3 α -hydroxycopalic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Moléculas naturais e derivados semissintéticos com potencial farmacológico...	24
Figura 2: Árvore de copaíba.....	25
Figura 3: Regiões onde as espécies de <i>Copaifera</i> são encontradas [Nativas (verde) e introduzidas (roxo)].	26
Figura 4: Extração do óleo-resina de copaíba.	32
Figura 5: Variação de tonalidade do óleo-resina de 10 espécimes de <i>Copaifera multijuga</i>	33
Figura 6: Via biossintética dos monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos	35
Figura 7: Monoterpenos identificados em óleo essencial de <i>Copaifera multijuga</i> Hayne.	37
Figura 8: Exemplos de biossíntese de alguns esqueletos dos sesquiterpenos.	38
Figura 9: Principais subclasses encontradas no gênero <i>Copaifera</i> spp.	39
Figura 10: Sesquiterpenos acíclico e monocíclicos encontrados em óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp.	43
Figura 11: Sesquiterpenos bicíclicos encontrados em óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp.	44
Figura 12: Sesquiterpenos tricíclicos encontrados em óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp.	44
Figura 13: Estrutura e estereoquímica das subclasses dos diterpenos mais relevantes para <i>Copaifera</i>	45
Figura 14: Labdanos 64 e 65 isolados de <i>Copaifera</i> spp. e 66 e 67 isolados de outros gêneros com as suas respectivas rotações ópticas específicas definidas na literatura.	51
Figura 15: Labdanos 68 , 69 , 70 e 72 isolados de <i>Copaifera</i> spp. e 71 e 73 isolados de outros gêneros com as suas respectivas rotações ópticas específicas definidas na literatura.	53
Figura 16: Labdanos isolados de <i>Copaifera</i> spp. com os valores rotações ópticas definidas na literatura.	55
Figura 17: Labdanos de referência isolados de outros gêneros (não- <i>Copaifera</i>).....	56
Figura 18: Labdanos isolados de <i>Copaifera</i> spp. com os valores rotações ópticas não definidas na literatura.	56
Figura 19: Cauranos isolados de <i>Copaifera</i> spp. relatados na literatura.	58
Figura 20: Clerodanos isolados de <i>Copaifera</i> spp. com valores de rotações ópticas específicas definidas em outros gêneros.	59
Figura 21: Substância sintética nitrogenada (134) derivado do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).	63

Figura 22: Substância sintética copalato de sódio (135) derivado do ácido copálico (64).	66
Figura 23: Semissíntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) a partir do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	82
Figura 24: Semissíntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.	83
Figura 25: Semissíntese do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.....	84
Figura 26: Ampliação da região δ_H 3,3-5,8 do espectro de RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.	86
Figura 27: Espectros de RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) das frações provenientes da partição líquido-líquido da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.	87
Figura 28: Ampliação da região δ_H 3,3-5,8 do espectro de RMN de 1H da fração $CHCl_3$ particionada da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.....	88
Figura 29: Estrutura do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado com o esqueleto numerado.	89
Figura 30: Ampliação das regiões δ_H 0,66 – 0,96 e δ_H 2,0 – 2,2 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	89
Figura 31: Ampliação da região de δ_H 1,14 - 1,22 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	90
Figura 32: Ampliação da região de δ_H 4,47 - 4,59 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	90
Figura 33: Espectro de ^{13}C (δ_C 75 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	91
Figura 34: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado (1H -300, ^{13}C -75 MHz, $CDCl_3$).	93
Figura 35: Correlações comuns do COSY do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado (1H -300 MHz, $CDCl_3$).	95
Figura 36: Espectro de massa das fragmentações do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	98
Figura 37: Proposta de fragmentação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	98
Figura 38: Proposta de estrutura/conformação e análise dos ângulos diédricos entre H-3 com H α -2 e H β -2, e entre H-5 com H α -6 e H β -6 no ácido 3 α -acetóxi-copálico (70).	99

Figura 39: Estrutura do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado com numeração do esqueleto.	100
Figura 40: Ampliação da região de δ_H 3,21 - 3,32 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.	101
Figura 41: Ampliação da região de δ_H 1,06 - 1,12 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.	101
Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C (δ_C 75 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.....	102
Figura 43: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado (1H -300, ^{13}C -75 MHz, $CDCl_3$).	103
Figura 44: Correlações comuns do COSY do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado (1H -300 MHz, $CDCl_3$).	105
Figura 45: Espectro de massas das fragmentações do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68). ..	108
Figura 46: Proposta de fragmentação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).....	108
Figura 47: Síntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) a partir do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.	109
Figura 48: Proposta de mecanismo da reação de desacetilação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70).	110
Figura 49: Síntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.	110
Figura 50: Proposta de mecanismo de acetilação do álcool secundário do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).	111
Figura 51: Estrutura do produto butirilado (136) com destaque nos carbonos C-22, C-23, C-24.	112
Figura 52: Ampliação da região de δ_H 1,56 - 1,78 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) sintético.....	112
Figura 53: Síntese do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.	113

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1: Visão geral das etapas no desenvolvimento do trabalho.....	75
Fluxograma 2: Partição líquido-líquido da fração não volátil do óleo-resina de copaíba de origem industrial.....	77
Fluxograma 3: Isolamento das substâncias da fração CHCl_3 : 1RN16-6 e 1RN16-9.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: As espécies de <i>Copaifera</i> de acordo com as bases de dados Reflora, PWO e WFO.	28
Tabela 2: Alguns sesquiterpenos identificados no óleo essencial de óleo-resina e de outras partes de espécies de <i>Copaifera</i>	40
Tabela 3: Diterpenos isolados/identificados do óleo-resina e de outras partes de <i>Copaifera</i>	46
Tabela 4: Ácido copálico (64), seu enantiômero ácido copaiférico (66) e seus ésteres metílicos encontrados em diferentes gêneros.	49
Tabela 5: Ácidos: 3 α -hidróxi-copálico (68), ácido alepterólico (71) e seus ésteres metílicos encontrados em <i>Copaifera</i> e outros gêneros.....	52
Tabela 6: Dados de rotação óptica dos ácidos enantioméricos 3 α -acetóxi-copálico (70) e 3-O-acetil-alepterólico (73) encontrados em <i>Copaifera</i> e outros gêneros.....	53
Tabela 7: Dados de rotação óptica para labdanos relevantes provenientes de outros gêneros (não <i>Copaifera</i>).	57
Tabela 8: Principais atividades biológicas dos óleos-resinas de espécies de <i>Copaifera</i>	61
Tabela 9: Atividades biológicas atribuídos aos ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68), alepterólico (71), “3 β -hidróxi-copálico (95)” ^{†,‡} , 3 β -acetóxi-copálico (97) e derivados em trabalhos da literatura (identidade/composição enantiomérica não estabelecida com dados de rotação óptica, cristalografia de raio-x ou outros métodos).	64
Tabela 10: Resumo da literatura sobre a atividade citotóxica e viabilidade celular frente aos diterpenos ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68) e 3 α -acetóxi-copálico (70) e “3 β -hidróxi-copálico (95)” [*] do óleo-resina.....	68
Tabela 11: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado [δ_H 300/ δ_C 75 MHz; CDCl ₃]......	96
Tabela 12: Comparação dos dados de RMN observados com os da literatura para o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) [δ_H 300, δ_C 75; ppm; CDCl ₃]......	97
Tabela 13: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) [δ_H 300, δ_C 75 MHz; ppm; CDCl ₃]......	106
Tabela 14: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) comparada com a literatura para o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) [(δ_H)300/ (δ_C)75 MHz; ppm; CDCl ₃]....	107

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1: Espectro de RMN de ^1H da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).....	132
Apêndice 2: Espectro de RMN de ^1H da fração Hexânica da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).	133
Apêndice 3: Espectro de RMN de ^1H da fração CHCl_3 da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).	134
Apêndice 4: Espectro de RMN de ^1H da fração AcOEt da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).	135
Apêndice 5: Espectro de RMN de ^1H da fração aquosa da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).	136
Apêndice 6: Análise de CLAE do ácido 3α -acetóxi-copálico (70) isolado da fração fixa do óleo-resina.	137
Apêndice 7: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3α -acetóxi-copálico (70) isolado da fração fixa do óleo-resina.	138
Apêndice 8: Espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	139
Apêndice 9: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	140
Apêndice 10: Espectro de RMN de ^{13}C da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (75 MHz).	141
Apêndice 11: Espectro de DEPT 135 da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	142
Apêndice 12: Espectro de COSY da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	143
Apêndice 13: Espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	144
Apêndice 14: Ampliação do espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	145
Apêndice 15: Espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).....	146

Apêndice 16: Ampliação do espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl ₃ (300 MHz).....	147
Apêndice 17: Espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl ₃ (500 MHz).....	148
Apêndice 18: Análise de CLAE do ácido 3 α -hidróxi-copálico (66) isolado da fração fixa do óleo-resina.	149
Apêndice 19: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (66) isolado da fração fixa do óleo-resina.	150
Apêndice 20: Espectro de RMN de ¹ H da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (70) em CDCl ₃ (300 MHz).	151
Apêndice 21: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	152
Apêndice 22: Espectro de RMN de ¹³ C da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (75 MHz).	153
Apêndice 23: Ampliação do espectro de RMN de ¹³ C da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (75 MHz).....	154
Apêndice 24: Espectro de DEPT 135 da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	155
Apêndice 25: Espectro de COSY da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).	156
Apêndice 26: Espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	157
Apêndice 27: Ampliação do espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	158
Apêndice 28: Espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	159
Apêndice 29: Ampliação do espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	160
Apêndice 30: Espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (500 MHz).....	161
Apêndice 31: Ampliação do espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (500 MHz).....	162

Apêndice 32: Análise de CLAE do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) sintetizado.....	163
Apêndice 33: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) sintetizado.	164
Apêndice 34: Espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).	165
Apêndice 35: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl ₃ (300 MHz).....	166
Apêndice 36: Análise de CLAE do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) sintetizado.....	167
Apêndice 37: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) sintetizado.	168
Apêndice 38: Espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl ₃ (300 MHz).	169
Apêndice 39: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl ₃ (300 MHz).....	170
Apêndice 40: Análise de CLAE do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) sintetizado.	171
Apêndice 41: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) sintetizado.	172
Apêndice 42: Espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) em CDCl ₃ (300 MHz).....	173
Apêndice 43: Ampliação do espectro de RMN de ¹ H da substância sintetizada, o ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) em CDCl ₃ (300 MHz).	174

LISTA DE ABREVIACÕES, SÍMBOLOS E SIGLAS

- 1RN16-6** - Ácido 3 α -acetóxi-copálico (isolado)
- 1RN16-9** - Ácido 3 α -hidróxi-copálico (isolado)
- A549** - Células de adenocarcinoma de pulmão humano
- Ac₂O** - Anidrido acético
- AcOEt** - Acetato de etila
- APCI** - *Atmospheric pressure chemical ionization*
- ASTM** - *American Society for Testing and Materials*
- ATCC** - Coleção de cultura tipo americana
- CA-LTQPN** - Central Analítica do Laboratório de Química de Produtos Naturais
- CC** - Cromatografia em coluna
- CC₅₀** - Concentração citotóxica em 50%
- CCD** - Cromatografia em camada delgada
- CCDP** - Cromatografia em camada delgada preparativa
- CCD-FR** - Cromatografia de camada delgada de fase reversa
- CG** - Cromatografia gasosa unidimensional
- CG-CG** - Cromatografia gasosa bidimensional
- CG-DIC** - Cromatografia gasosa acoplado a ionização de chama
- CAM** - Central Analítica Multidisciplinar
- CI** - Concentração inibitória
- CIBM** - Concentração inibitória bactericida mínima
- CIM** - Concentração inibitória mínima
- CL** - Concentração letal
- CLAE** - Cromatografia líquida de alta eficiência
- CLAE-FR** - Cromatografia líquida de alta eficiência de fase-reversa
- CL-EMAR** - Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa de alta resolução
- CL-EM** - Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa
- CNPq** - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- COSY** - *Correlation spectroscopy*
- Da** - Dalton
- DAD** - Detetor de arranjo de diodos
- DEPT** - *Distortionless enhanced polarization transfer*

DIC - Detector de ionização de chama

DMAP - Dimetilaminopiridina

DMAPP- Difosfato de dimetilalila

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

EM - Espectrometria de massas

EMAR - Espectrometria de massas de alta resolução

EM-EM- Espectrometria de massas bidimensional

EMn - Espectrometria de massas multidimensional

FB - Fração não volátil do óleo-resina bruta

FCFRP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

FM - Fórmula molecular

FPP- Difosfato de farnesil

FWHM - *Full width at half maximum*

GGP - Geranyl pirofosfato

GGPP - Difosfato de geranylgeranyl

HS - *Headspace*

HSQC - *Heteronuclear single quantum coherence*

HMBC - *Heteronuclear multiple bond correlation*

IES - Ionização por *electrospray*

IPP - Pirofosfato de isopentenila

INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

J774 - Macrófagos murinos de camundongo

LAPAAM - Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia

LC-HRMS - *Liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry*

LLC-MK2 - Epitelial tecido renal de macacos *rhesus*

LQOAM - Laboratório de Química Orgânica do Ambiente Marinho

LRMN - Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear

L. - Lineu

MeOH - Metanol

MEP - Metileritritol 4-fosfato

MEV- Ácido mevalônico

MM - Massa molar

m/z - Relação massa/carga

NMR - *Nuclear magnetic resonance*

PLL - Partição líquido-líquido

PP - Difosfato

ppm - Partes por milhão

Q – Quadrupolo

RAW264.7 - Macrófagos humanos

R_r - Fator de retenção

RMN - Ressonância magnética nuclear

RMN de ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN de ¹H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RNPR-1 - Ácido 3 α -hidróxi-copálico (sintético)

RNPR-2 - Ácido 3 α -acetóxi-copálico (sintético)

RNPR-3 - Ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (sintético)

RP-HPLC - *Reverse phase high performance liquid chromatography*

spp. - Plural de espécies (inglês)

USP - Universidade de São Paulo

TdV - Tempo de voo

TFA - Trifluoroacético

THP-1- Células monocíticas de leucemia humana

UFAM - Universidade Federal do Amazonas

UPLC - *Ultra performance liquid chromatography*

UV – Ultravioleta

V79 - Fibroblastos de pulmão de hamster chinês

δ - Deslocamento químico

[α]_D - Rotação óptica específica

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	22
1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
1.1 A importância das plantas, seus resíduos e a semissíntese para a química fina	23
1.2 Copaíba: aspectos botânicos.....	25
1.3 Distribuição das espécies de <i>Copaifera</i> (Fabaceae Lindl.).....	26
1.4 Óleo-resina de copaíba (<i>Copaifera</i> spp.).....	31
1.4.1 Extração do óleo-resina das copaibeiras.....	31
1.4.2 Propriedades físico-químicas do óleo-resina de copaíba.....	32
1.5 Constituintes químicos de <i>Copaifera</i> spp.....	34
1.5.1 Vias biossintéticas dos terpenos	34
1.5.2 Óleo essencial de <i>Copaifera</i> e os métodos de análises da composição química.....	36
1.5.2.1 Monoterpenos presentes no óleo essencial de <i>Copaifera</i> spp.	37
1.5.2.2 Sesquiterpenos e os óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp.....	37
1.5.2.3 Biossíntese dos sesquiterpenos	38
1.5.2.4 As principais subclasses de sesquiterpenos em óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp.38	
1.5.2.5 Os principais sesquiterpenos e composição de óleos essenciais de <i>Copaifera</i> spp. 42	
1.5.3 Diterpenos: componentes fixos do óleo-resina de <i>Copaifera</i> spp.	45
1.5.3.1 Os labdanos: ácido copálico (64), ácido copaiférico (66), seus derivados, entre outros.....	48
1.5.3.2 Ácidos 3 α -hidróxi-copálico (68), 3 α -acetóxi-copálico (70), alepterólico (71) e seus derivados.....	51
1.5.3.3 Relatos de ácidos 68 , 70 , 71 e 73 em <i>Copaifera</i> spp. sem dados de rotação óptica 53	
1.5.3.4 Outros labdanos dos óleos-resinas de <i>Copaifera</i> spp.	54
1.5.3.5 Cauranos encontrados nos óleos-resinas de copaíba	58
1.5.3.6 Clerodanos encontrados nos óleos-resinas de copaíba	58
1.6 Usos e atividades biológicas do óleo-resina de copaíba.....	60
1.7 Principais atividades biológicas dos ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68), de seus enantiômeros e derivados sintéticos	63
1.8 Atividade citotóxica de diterpenos isolados do óleo-resina de copaíba	66
2 OBJETIVOS.....	69

2.1	Objetivo geral	69
2.2	Objetivos específicos	69
3	MATERIAL E MÉTODOS	70
3.1	Equipamentos e aparelhos analíticos	70
3.2	Material utilizado.....	71
3.3	Solventes e reagentes.....	72
3.4	Técnicas cromatográficas e espectrométricas.....	73
3.4.1	Cromatografia em camada delgada (CCD)	73
3.4.2	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	73
3.4.3	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (CL-EMAR)	73
3.4.4	Espectrometria de massas de <i>ion-trap</i> (EM-IT) e fragmentação (infusão direta)	74
3.5	Ressonância magnética nuclear (RMN)	74
3.6	Isolamento de diterpenos da fração não-volátil do óleo-resina de copaíba industrial... ..	75
3.6.1	Partição líquido-líquido (PLL) da fração não volátil do óleo-resina de copaiba.....	76
3.6.2	Análise da fração não volátil do óleo-resina de copaíba e frações da PLL por RMN	77
3.7	Purificação por técnicas cromatográficas	78
3.7.1	Fracionamento cromatográfico da fração CHCl ₃	78
3.8	Reações de semissíntese	81
3.8.1	Desacetilação do ácido 70 : síntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68)	82
3.8.2	Acetilação do ácido 68 : síntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70)	83
3.8.3	Butirilação do ácido 68 : síntese do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136).....	83
3.9	Procedimento geral para purificação por CLAE das substâncias isoladas e sintetizadas.....	84
3.10	Análise de rotação óptica das substâncias isoladas	85
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
4.1	Análises de RMN de ¹ H da fração não volátil do óleo-resina e das suas frações (PLL).....	86
4.2	Elucidação das estruturas das substâncias isoladas e sintetizadas.....	88
4.2.1	Elucidação estrutural da substância isolada 1RN16-6.....	88
4.2.1.1	Análise dos dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70)	88

4.2.1.2 Análises dos dados de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.....	98
4.2.1.3 Análises conformacionais do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado	99
4.2.2 Elucidação estrutural da substância isolada 1RN16-9.....	99
4.2.2.1 Análises dos dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado	100
4.2.2.2 Análises dos dados de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).....	107
4.2.2.3 Análises conformacionais do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).....	108
4.3 Elucidação estrutural das substâncias sintetizadas	109
4.3.1 Identificação do produto de desacetilação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70).....	109
4.3.2 Identificação do produto de acetilação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).....	110
4.3.3 Identificação do produto de butirilação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).....	111
4.4 Análises dos rendimentos isolados, sintéticos e (potenciais) globais.....	113
5 CONCLUSÃO.....	114
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
7 APÊNDICES	132

INTRODUÇÃO

As copaiibeiras (*Copaifera* Lineu, família Fabaceae Lindl.) são árvores nativas da região tropical da América Latina e África Ocidental. Essas árvores são abundantes na região Amazônica. Do tronco dessas árvores é extraído um óleo-resina utilizado para fins terapêuticos, cosméticos e entre outros. Esse óleo-resina é constituído por uma mistura fixa de ácidos resinosos (fração diterpênica) dissolvida em óleo volátil (fração sesquiterpênica). Atualmente, o óleo-resina vem sendo estudado pela comunidade científica pelas diversas aplicações de suas propriedades biológicas.

As indústrias têm destilado o óleo-resina em grande quantidade para obter óleos essenciais para suprir a demanda do mercado de perfumes e cosméticos. No entanto, esse processo gera uma grande massa de resíduo vegetal (resina) que tem potencial como fonte de substâncias para uso pelas indústrias de química fina.

O estudo proposto apresenta um levantamento bibliográfico sobre os principais constituintes químicos encontrados no óleo-resina de *Copaifera*, com destaque para a evidência na literatura para a produção predominantemente de uma ou de outra forma enantiomérica de alguns diterpenos por espécies desse gênero e discussões das configurações absolutas de alguns desses diterpenos presentes no óleo-resina. Assim, o presente trabalho tem como objetivo isolar substâncias da fração não volátil do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.), um resíduo industrial e realizar reações de modificação estrutural para gerar derivados semissintéticos de potencial interesse para a química fina.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 A importância das plantas, seus resíduos e a semissíntese para a química fina

A síntese de substâncias naturais e de derivados semissintéticos a partir de substâncias isoladas de fontes naturais tem sido primordial no desenvolvimento e produção de novos medicamentos e representam um nicho importante do mercado industrial e farmacêutico. Por exemplo (Figura 1), o lapachol (**1**), isolado do cerne de vários tipos de ipê (*Handroanthus* Mattos spp. e *Tabebuia* Gomes ex DC spp.), é o precursor na semissíntese do antimalárico/antiparasitário atovaquona (**2**) (EPIFANO et al., 2014; ARAÚJO, 2017). Outro exemplo é a artemisinina (**3**), isolada das folhas de *Artemisia annua* L., matéria-prima para a semissíntese dos antimaláricos: artesunato (**4**), artéter (**5**) e arteméter (**6**) (HUSSAIN et al., 2017; KONSTAT-KORZENNY et al., 2018; KIANI et al., 2020). Além desses exemplos, a genipina (**7**), originalmente descoberta e isolada em grande quantidade dos resíduos da fruta de jenipapo (*Genipa americana* L.), é um derivado do geniposídeo (**8**), utilizado na síntese de biomateriais, como por exemplo a genipina reticulada (**9**) (grupo NH₂-colágeno) que apresenta propriedades regenerativas e anti-inflamatórias (WANG et al., 2020; YU et al., 2021). É importante destacar que o lapachol (**1**) e a artemisinina (**3**) são as matérias-primas para a semissíntese de medicamentos importantes no atual arsenal terapêutico no combate à malária (HUDSON, 1993; CRUZ et al., 2013; POHLIT et al., 2013).

O Brasil apresenta uma ampla diversidade de produtos industrializados a partir do óleo-resina de copaíba. As diversas aplicações industriais se devem às propriedades biológicas e químicas dessa matéria-prima vegetal (FERREIRA, 2016). Destacam-se as indústrias de perfumes, onde os óleos essenciais extraídos do óleo-resina de copaíba são amplamente utilizados como fixador de fragrâncias, as indústrias de cosméticos que utilizam o óleo essencial (obtido do óleo-resina) na fabricação de cremes, sabonetes, xampus e amaciantes para os cabelos, e por fim, as indústrias farmacêuticas, onde as aplicações do óleo essencial se devem a suas propriedades emolientes, bactericidas e anti-inflamatórias (FERREIRA, 2016; SOUSA, 2018).

Muitas indústrias, após a extração do óleo essencial a partir do óleo-resina, acumulam resíduo vegetal não-volátil (fração resinosa). Esse material residual representa um desafio, já que precisa ser armazenado, descartado, incinerado ou utilizado em outras aplicações

industriais e em geral representa a maior parte da massa original do óleo-resina antes da destilação (Eduardo Mattoso - Comunicação particular). E essa resina residual é fonte de ácidos diterpênicos e outras substâncias de alto valor agregado. Como será mostrado no decorrer do texto existem diversos trabalhos realizados por químicos sintéticos mostrando a atividade biológica relevante dos derivados semissintéticos de ácidos diterpênicos naturais encontrados no óleo-resina de *Copaifera* spp. (MATOS et al., 2015; SILVA et al., 2017a; SOUZA et al., 2020).

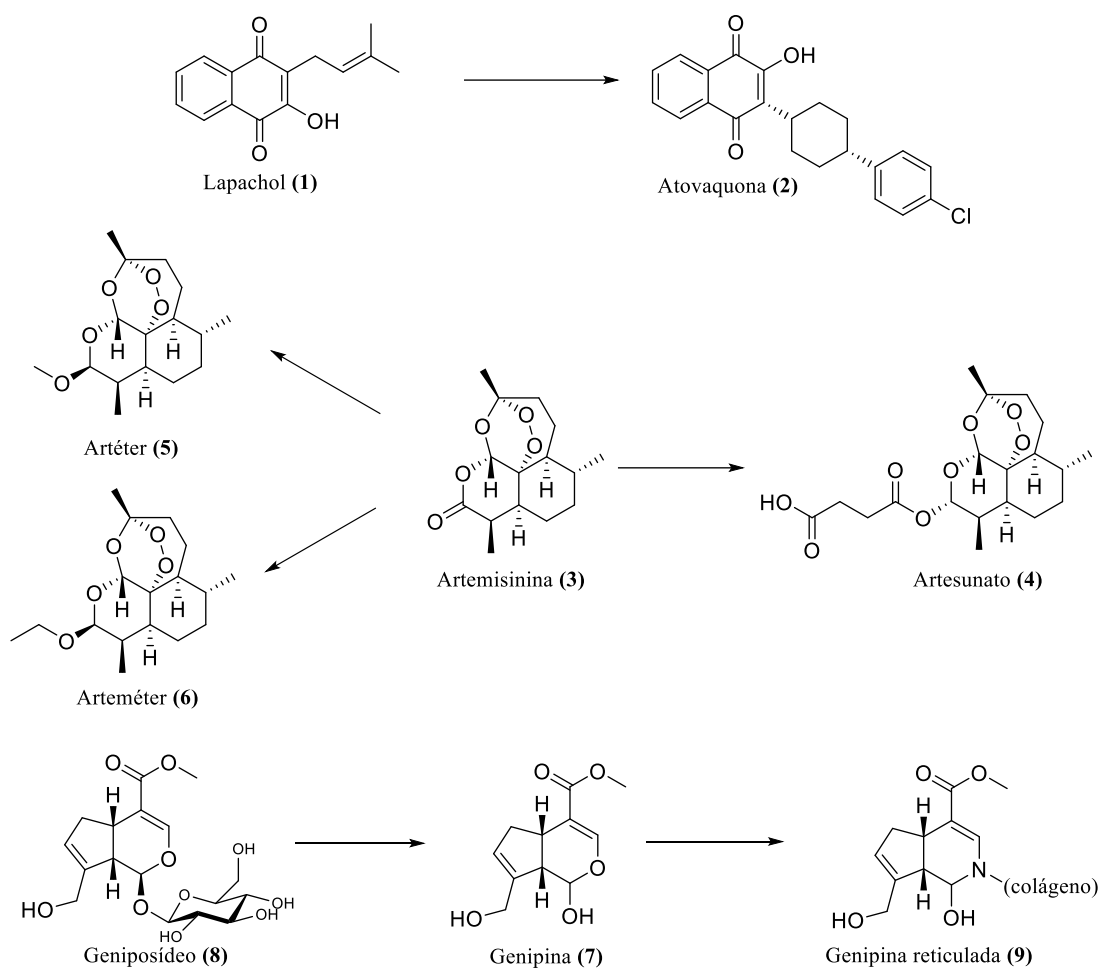


Figura 1: Moléculas naturais e derivados semissintéticos com potencial farmacológico.

Fontes: Cruz et al. (2013), Hussain et al. (2017), Kiani et al. (2020), Wang et al. (2020), Yu et al. (2021).

Diante do exposto, os resíduos vegetais provenientes das indústrias podem ser fontes valiosas de matéria-prima para a obtenção de moléculas para a química fina. Nesse contexto, o presente trabalho oportuniza a possibilidade de se conhecer e manipular

semissinteticamente as substâncias presentes na resina (fração fixa e pós-processamento industrial) de copaíba.

1.2 Copaíba: aspectos botânicos

No Brasil, as espécies de *Copaifera* são vulgarmente conhecidas por diversas denominações: aceite, cabima, copaíba, copaíba-mari-mari, copaíba-roxa, copaibeira, copaúva, palo-de-bálsamo, pau-d'óleo, entre outras (CASCON, 2004; TAPPIN et al., 2004; BIAVATTI et al., 2006; PIERI et al., 2009). As copaibeiras (Figura 2) são árvores de grande porte, de crescimento lento, alcançando aproximadamente 30 metros de altura (WFO, 2022). São árvores fornecedoras principalmente de madeira e óleo-resina, dois produtos extraídos de seu tronco e explorados em níveis comercial e industrial (MARTINS-DA-SILVA et al., 2008). O tronco destas árvores é áspero, de coloração escura, medindo de 0,4 a 4 metros de diâmetro (VEIGA JR & PINTO, 2002; ROMERO, 2007; NOGUEIRA et al., 2012), apresentam textura lisa, persistente, de coloração cinza a cinza-avermelhada, com estrias verticais e superficiais (MENDONÇA & ONOFRE, 2009; BARBOSA, 2012).



Figura 2: Árvore de copaíba.

Fonte: Pieri et al. (2009).

Essas árvores possuem folhas simplesmente pinadas com pecíolo e ráquis, apresentando folíolos glabros, em pares, que se alternam, exceto terminalmente, podendo ser reticuladas, geralmente são pontilhados com pecíolos curtos. As flores são pequenas, sem

presença de pétalas, com uma coloração branco-amarelada. O fruto é deiscente, de forma orbicular elipsoide, com valvas mucronadas, de coloração obscura com um exsudado resinoso, e a semente na forma ovoide ou elipsoide (COSTA, 2020; WFO, 2022).

Devido à complexidade na identificação botânica das copaíbas, as identificações na maioria das vezes são feitas a partir das flores, como: pubescência das sépalas, comprimento dos anteros e a condição glabrosa ou não do pistilo (WFO, 2022). A floração e frutificação das copaíbas iniciam a partir dos 5 anos de idade e não são uniformes, variam entre as diferentes espécies, regiões e climas, com ausência de florescimento anual em algumas regiões (COSTA, 2020).

1.3 Distribuição das espécies de *Copaifera* (Fabaceae Lindl.)

As copaibeiras pertencem ao gênero *Copaifera*, um dos maiores gêneros da família Fabaceae (MENDONÇA & ONOFRE, 2009) e subfamília Caesalpinioideae Kunth (VALLE, 2006; QUEIROZ, 2009). *Copaifera* spp. são encontradas no México, América Central, América do Sul, na África Ocidental e no Sudeste Asiático (ALENCAR, 1982; VEIGA JR, et al., 1997; TAPPIN et al., 2004; HECK et al., 2012; LEANDRO et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2019). Nos países: Brasil, Colômbia, Guiana, Guiana Francesa (França “além-mar”), Peru, Suriname e Venezuela, as espécies de *Copaifera* são bem representadas (PINTO et al., 2000; VEIGA JR & PINTO, 2002), assim como no Norte (região Amazônica), Nordeste e Centro-oeste brasileiros (Figura 3).

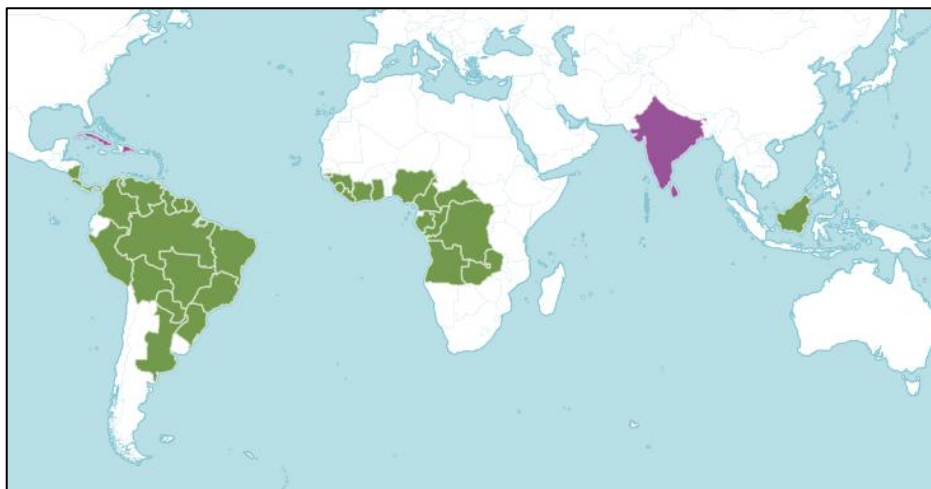


Figura 3: Regiões onde as espécies de *Copaifera* são encontradas [Nativas (verde) e introduzidas (roxo)].
Fonte: PWO (2022).

Devido à existência de divergências dos dados botânicos sobre o número de espécies pertencentes ao gênero *Copaifera*, foram utilizados neste trabalho os bancos de dados *The World Flora Online* (WFO), *Plants of the World Online* (PWO) e o Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Reflora) para a caracterização das espécies do gênero (Tabela 1). O que segue são discussões dos números de espécies aceitas, as espécies em concordância e as espécies não citadas pelas plataformas aqui apresentadas.

No banco de dados WFO (Tabela 1) são relatados 47 espécies de *Copaifera* no mundo, sendo 45 espécies aceitas e 2 espécies (*C. cornui* Heckel e *C. gorskia* Schinz) ainda em processo de análise. O WFO apresenta 45 espécies em concordância com o PWO, além de 5 espécies (*C. cornui* Heckel, *C. gorskia* Schinz, *C. grandifolia* (Benth.) Malme, *C. jussieui* Hayne e *C. utilissima* Saldanha) não citadas/reconhecidas pela plataforma PWO. A Reflora, com escopo nacional e regional, reconhece 27 espécies (Tabela 1).

No banco de dados de PWO (Tabela 1) são descritas 42 espécies aceitas, também com divergências, tendo apenas 41 espécies em concordância com o WFO, restando a espécie *C. palustris* (Symington) de Wit não citada pelo WFO. O PWO apresenta 26 espécies em concordância com a Reflora. É importante ressaltar que o WFO e PWO apresentam espécies do gênero *Copaifera* em escala mundial.

A Reflora é a principal fonte de dados botânicos sobre espécies de ocorrência no Brasil. Para o gênero *Copaifera*, a Reflora reconhece (Tabela 1) 28 espécies aceitas (COSTA, 2020), sendo 26 espécies em concordância com o PWO e 27 espécies em concordância com o WFO. Dentre as espécies aceitas pela Reflora, se destacam a *C. reticulata* Ducke, que não apresenta citação pelo PWO, e a *C. cearensis* Huber ex Ducke, sem citação pelos bancos de dados PWO e a WFO.

A Tabela 1 apresenta no total 49 espécies descritas pelos três bancos de dados (Reflora, PWO e WFO). Das espécies descritas na tabela, 30 são endêmicas ao Brasil, sendo 16 delas distribuídas na região Norte, 17 no Nordeste, 12 no Centro-Oeste, 8 no Sudeste e somente 2 espécies na região Sul (COSTA, 2020; PWO, 2022). As 19 espécies restantes (não endêmicas ao Brasil) estão distribuídas na América do Sul (Argentina, Bolívia, Colômbia, Paraguai, Peru, Venezuela, entre outros países), bem como na América Central (Costa Rica, Nicarágua e Panamá), México e Trinidad-Tobago, assim também como no continente Africano: Camarões, Congo, Gabão, Zâmbia, dentre outros (PWO, 2022).

Tabela 1: As espécies de *Copaifera* de acordo com as bases de dados Reflora, PWO e WFO.

Espécie	Países		Espécies aceitas (S/N)		
	Nativas do Brasil	Região do Brasil	Reflora	PWO	WFO
<i>C. arenicola</i> (Ducke) J.A.S. Costa & L.P. Queiroz		Nordeste	S	S	S
<i>C. brasiliensis</i> Dwyer			N	S	S
<i>C. bulbotricha</i> Rizzini & Heringer		Centro-Oeste	N	S	S
<i>C. cearensis</i> Huber ex Ducke			S	N	N
<i>C. coriacea</i> Mart.		Norte e Nordeste	S	S	S
<i>C. depilis</i> Dwyer		Nordeste e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. elliptica</i> Mart.		Centro-oeste	S	S	S
<i>C. glycyarpa</i> Ducke		Norte e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. krukovii</i> (Dwyer) J.A.S. Costa		Norte	S	S	S
<i>C. lucens</i> Dwyer		Nordeste e Sudeste	S	S	S
<i>C. luetzelburgii</i> Harms		Norte, Nordeste e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. magnifolia</i> Dwyer		Nordeste e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. majorina</i> Dwyer		Nordeste	S	S	S
<i>C. malmei</i> Harms		Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. marginata</i> Benth.		Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste	S	S	S
<i>C. martii</i> Hayne		Norte e Nordeste	S	S	S
<i>C. multijuga</i> Hayne		Norte e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. nana</i> Rizzini		Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. piresii</i> Ducke		Norte	S	S	S

Tabela 1: As espécies de *Copaifera* de acordo com as bases de dados Reflora, PWO e WFO. (Continuação)

Espécie	Países		Banco de dados aceitos		
	Nativas do Brasil	Região do Brasil	Reflora	PWO	WFO
<i>C. reticulata</i> Ducke		Norte e Nordeste	S	N	S
<i>C. rondonii</i> Hoehne		Norte e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. sabulicola</i> J.A.S. Costa & L.P. Queiroz		Nordeste e Sudeste	S	S	S
<i>C. trapezifolia</i> Hayne		Nordeste, Sul e Sudeste	S	S	S
Nativas do Brasil e outros Países					
<i>C. duckei</i> Dwyer	Bolívia	Norte, Nordeste e Sudeste	S	S	S
<i>C. guyanensis</i> Desf.	Colômbia, Guiana Francesa, Panamá, Suriname e Venezuela	Norte	S	S	S
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	Argentina, Bolívia, Guiana e Paraguai	Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste	S	S	S
<i>C. oblongifolia</i> Mart.	Bolívia	Norte, Nordeste e Sudeste	S	S	S
<i>C. officinalis</i> L.	Nativa: Bolívia e Venezuela Introduzida: Cuba, Índia, República Dominicana, Serra Leoa, Sri Lanka e Trinidad-Tobago	Nordeste	S	S	S
<i>C. paupera</i> (Herzog) Dwyer	Bolívia e Peru	Norte	S	S	S
<i>C. pubiflora</i> Benth.	Colômbia, Guiana e Venezuela	Norte e Nordeste	S	S	S
Não nativas ao Brasil					
<i>C. aromatica</i> Dwyer	Costa Rica, Nicarágua, Panamá e Venezuela	-	N	S	S
<i>C. baumiana</i> Harms	Angola, Gabão, Zaire e Zâmbia	-	N	S	S
<i>C. bracteata</i> Benth.	Guiana	-	N	S	S
<i>C. camibar</i> Poveda, N. Zamora & P.E.Sánchez	Costa Rica, Nicarágua, Panamá e Venezuela	-	N	S	S

Tabela 1: As espécies de *Copaifera* de acordo com as bases de dados Reflora, PWO e WFO. (Continuação)

Espécie	Países		Banco de dados aceitos		
	Não nativas ao Brasil	Região do Brasil	Reflora	PWO	WFO
<i>C. canime</i> Harms	Colômbia	-	N	S	S
<i>C. cornui</i> Heckel	(Não informado)	-	N	N	A
<i>C. epunctata</i> Amshoff	Suriname	-	N	S	S
<i>C. gorskia</i> Schinz	(Não informado)	-	N	N	A
<i>C. grandifolia</i> (Benth.) Malme	(Não informado)	-	N	N	S
<i>C. gynohirsuta</i> Dwyer	Trinidad-Tobago	-	N	S	S
<i>C. jussieui</i> Hayne	(Não informado)	-	N	N	S
<i>C. laevis</i> Dwyer	Paraguai	-	N	S	S
<i>C. mildbraedii</i> Harms	Camarões, Congo, Gabão, Nigéria, República Centro-Africana e Zaire	-	N	S	S
<i>C. panamensis</i> (Britton) Standl.	Panamá, Trinidad-Tobago e Venezuela	-	N	S	S
<i>C. religiosa</i> J.Léonard	Camarões, Congo, Gabão e Zaire	-	N	S	S
<i>C. salikounda</i> Heckel	Cabinda, República Centro-Africana, Congo, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Costa do Marfim, Libéria e Serra Leoa	-	N	S	S
<i>C. utilissima</i> Saldanha	(Não informado)	-	N	N	S
<i>C. venezuelana</i> Harms & Pittier	Venezuela	-	N	S	S
Sudeste Asiático					
<i>C. palustris</i> (Symington) de Wit	Bornéu	-	N	S	N

Fonte: Costa (2020), PWO (2022) e WFO (2022).

Nota: Em análise (A), Sim (S) e Não (N).

A espécie *C. officinalis* L. é nativa da Bolívia, Nordeste do Brasil e Venezuela. Essa espécie também foi introduzida em diversos países do mundo como a Cuba, Índia, República Dominicana, Serra Leoa, Sri Lanka e Trinidad-Tobago. A maior predominância de espécies de *Copaifera* se estende às regiões Norte ao Sul do Brasil. As espécies mais comuns no Brasil são a *C. multijuga* Hayne, encontrada principalmente nos estados do Amazonas, Pará e Rondônia e a *C. langsdorffii* Desf., presente em todas as regiões do País (COSTA, 2020). As outras espécies abundantes no Brasil são *C. cearensis* Huber ex Ducke, *C. coriacea* Mart., *C. guianensis* Desf. (nome aceito: *C. guyanensis* Desf., COSTA, 2020), *C. officinalis* L. e *C. reticulata* Ducke (VEIGA JR & PINTO, 2002).

As espécies *C. cornui* Heckel, *C. gorskia* Schinz, *C. grandifolia* (Benth.) Malme, *C. jussieui* Hayne e *C. utilissima* Saldanha não apresentam publicações nas bases de dados botânicos sobre a região ou país onde foram encontradas/identificadas, deixando claro a necessidade de mais estudos desde gênero na literatura (ARRUDA et al., 2019).

1.4 Óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.)

O óleo-resina de copaíba em mercados populares é conhecido por outras designações, como: bálsamo dos jesuítas, copahyba, copaibarana, copaibo (PWO, 2022). Esse óleo-resina é definido como produto secundário das copaíbas, sendo um produto de excreção e desintoxicação do vegetal que tem como função biológica a defesa contra os animais herbívoros, fungos e bactérias, além de atrair os insetos polinizadores e regular o metabolismo do vegetal (ALENCAR, 1982; NOGUEIRA et al., 2012).

O óleo-resina de *C. reticulata* é o mais utilizado na produção de cosméticos, representando cerca de 70% da produção (VEIGA JR & PINTO, 2002). Contrapondo, o óleo-resina de *C. langsdorffii* é o mais utilizado pelas indústrias farmacêuticas (NISGOSKI et al., 2012; SANTANA et al., 2016).

1.4.1 Extração do óleo-resina das copaibeiras

A época mais indicada para a extração do óleo-resina de copaíba é durante a estação chuvosa, devido à maior quantidade de água que as copaibeiras absorvem, gerando assim,

maior fluidez do seu óleo-resina (ALENCAR, 1982; ROMERO, 2007). A extração desse óleo-resina pode ser realizada de diversas maneiras. A extração racional, também denominada de coleta não agressiva, é a mais comumente utilizada, por ser realizada de maneira sustentável.

Na prática de coleta do óleo-resina não agressiva é feita uma incisão ou pequena abertura no tronco da copaibeira com um trado aproximadamente um metro acima do nível do chão e inserido um cano, buscando atingir seu veio (Figura 4). Em seguida, o óleo-resina é escoado e coletado. Após a coleta, o orifício é vedado com uma rosca, em uma tentativa de evitar qualquer tipo de infecção na planta, facilitando futuras extrações (VEIGA JR & PINTO, 2002; BIAVATTI et al., 2006; MEDEIROS, 2006; ROMERO, 2007, CORDEIRO, 2013).



Figura 4: Extração do óleo-resina de copaíba.

Imagens: A-furo com trado, B-inserção do cano, C-coleta do óleo-resina, D-furo da coleta, E-furo tampado.

Fonte: Adaptado de Cordeiro (2013).

Na primeira extração a quantidade de óleo é variável. Uma única árvore pode gerar aproximadamente 50 litros. Devido à confusa taxonômica das copaibeiras, o óleo-resina comercial é frequentemente uma mistura proveniente de diferentes espécies, o que é refletido na variação da composição química (VEIGA JR & PINTO, 2002; BARBOSA & SCUDELLER, 2009).

1.4.2 Propriedades físico-químicas do óleo-resina de copaíba

O óleo-resina de copaíba pode ser classificado por diferentes aspectos, dentre eles, a sua turbidez, viscosidade, coloração e solubilidade. Normalmente, o óleo-resina é

transparente e mais fino (fluido) logo ao ser retirado da árvore. Após exposição ao ar, adquire maior viscosidade, sua coloração altera-se do incolor ao amarelo, e é insolúvel em água e parcialmente solúvel em álcool (CASCON, 2004; BIAVATTI et al., 2006; BARBOSA, 2012).

O óleo-resina de copaíba apresenta uma grande variedade de tonalidade, viscosidade e intensidade de cor. No trabalho desenvolvido por Lima (2021) 10 (dez) amostras de óleos-resinas de espécimes diferentes de *Copaifera multijuga* coletada em 2012 na Reserva Florestal Adolpho Ducke do INPA (Manaus-Amazonas) nos meses de junho, julho e agosto apresentaram colorações que variaram do amarelo bem suave (quase incolor) ao amarelo mais intenso (Figura 5).

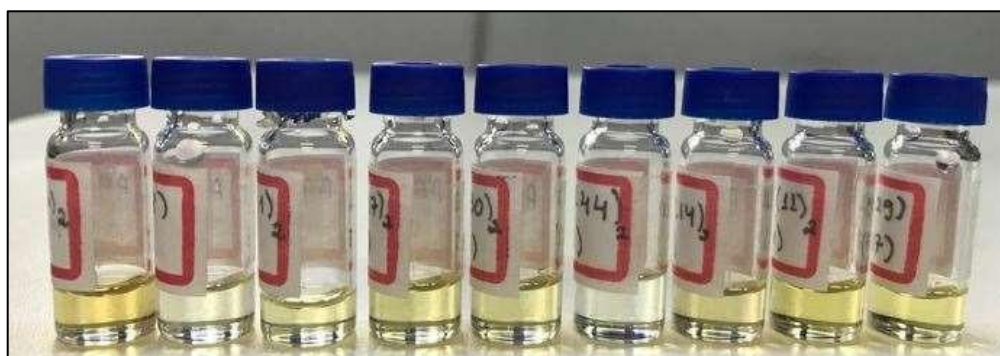


Figura 5: Variação de tonalidade do óleo-resina de 10 espécimes de *Copaifera multijuga*.
Fonte: Lima (2021).

Esse óleo-resina é constituído por uma mistura de ácidos resinosos, também conhecida como fração não-volátil, dissolvida em óleo volátil (VEIGA JR & PINTO, 2002; CASCON, 2004; ROMERO, 2007). Acredita-se que a variação da cor do óleo-resina de copaíba está relacionada à diferença na proporção de óleo essencial e de resina. O óleo-resina com maior teor de óleos essenciais apresenta cor mais clara (GALÚCIO et al., 2016). Os óleos-resinas mais escuros e viscosos são mais utilizados pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos. Todavia, alguns compradores preferem o óleo-resina incolor ou mais claro (VEIGA JR & PINTO, 2002).

1.5 Constituintes químicos de *Copaifera* spp.

Como mencionado antes, diversos estudos abordam a composição química da *Copaifera* spp. na literatura, como os constituintes químicos do óleo-resina, frutos e folhas da copaíba. O óleo-resina é o objeto de pesquisa da maioria dos estudos da composição química. Para facilitar e organizar estas informações, o presente estudo foi dividido em seções sobre os componentes voláteis (óleos essenciais, majoritariamente sesquiterpenos, seção **1.5.2**) e substâncias fixas (óleo-resina, majoritariamente diterpenos, seção **1.5.3**) encontrados em *Copaifera* spp.

Apesar da maioria dos trabalhos publicados revelarem somente a presença dos sesquiterpenos e diterpenos em *Copaifera*, há relatos de trabalhos que evidenciam também os monoterpenos, havendo poucos estudos em relação aos demais terpenos, provavelmente devido ao seu menor interesse comercial. Esses serão tratados brevemente mais adiante na seção **1.5.2.1**.

1.5.1 Vias biossintéticas dos terpenos

Os terpenos são substâncias provenientes principalmente do metabolismo secundário das copaibeiras. A biossíntese dos terpenos em *Copaifera* é pouco estudada na literatura, porém há evidências para duas vias metabólicas, o primeiro no estudo de incorporação de metabólitos radioativos em sesquiterpenos de duas espécies de *Copaifera* (SKRUKRUD, 1987) e no estudo de transcriptoma em *C. multijuga*, assim também das enzimas identificadas no processo da biossíntese (SANTOS, 2018). Assim, a via biossintética de terpenos é em geral formada por unidades de isopreno (C_5), que podem ser sintetizadas por duas rotas metabólicas: a via do ácido mevalônico (MEV) no citosol e a via metileritritol 4-fosfato (MEP) nos plastídios das células, que resultam na formação do pirofosfato de isopentenila (IPP), o precursor universal dos terpenos (Figura 6) (HEMMERLIN et al., 2012, SANTOS, 2018).

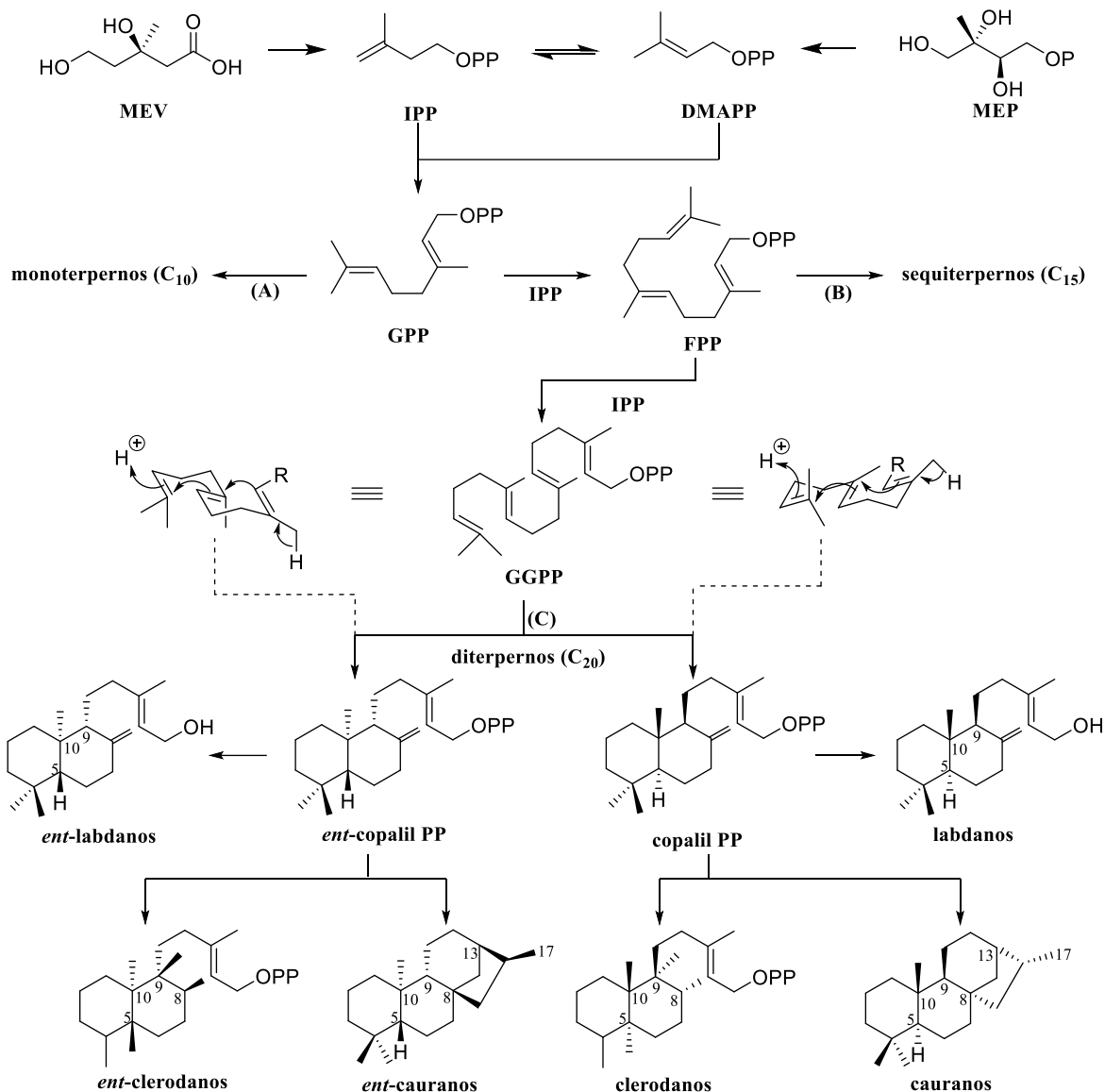


Figura 6: Via biossintética dos monoterpênos, diterpenos e sesquiterpenos

Fontes: Steele et al. (1998), Crisafulli (2007), Hemmerlin et al. (2012), De Sousa et al. (2018), Santos (2018).

O IPP tem como intermediário central a via do difosfato de dimetilalila (DMAPP), ambos formam o difosfato de geranil (GPP) precursor dos monoterpênos, na adição da unidade de IPP são biossintetizados o difosfato de farnesil (FPP) o precursor dos sesquiterpenos, e o difosfato de geranilgeranil (GGPP) o precursor dos diterpenos (STEELE et al., 1998). Essas vias são catalisadas por terpenos sintases A, B e C das vias de mono, sesqui e diterpeno, respectivamente (Figura 6).

Na síntese dos diterpenos a principal ciclização do GGPP conduz a formação de duas séries enantioméricas das subclasses labdano, clerodano e caurano. Essas subclasses são

biossintetizadas a partir dos precursores copalil PP dita como a série normal e o *ent*-copalil PP da série do seu enantiômero (*ent*). Essas substâncias quirais apresentam duas configurações nos carbonos C-5, C-8, C-9 e C-10 para os clerodanos e labdanos, e C-5, C-8, C-9, C-10, C-13 e C-17 para os cauranos (CRISAFULLI, 2007; DE SOUSA et al., 2018).

1.5.2 Óleo essencial de *Copaifera* e os métodos de análises da composição química

O óleo essencial de copaíba é comercializado pelas indústrias de perfumaria, cosméticos e farmacêuticas (VEIGA JR & PINTO, 2002; GALÚCIO et al., 2016). Algumas partes das copaibeiras, como folhas, caule e pericarpo, produzem óleos essenciais (RODRIGUES, 2008; MILANNI, 2009, TRINDADE et al., 2018), porém a destilação simples do óleo-resina pela indústria é a fonte mais comum para obtenção de óleo essencial. Acredita-se que a sazonalidade e fatores ambientais influenciam fortemente a constituição química do óleo essencial obtido do óleo-resina de copaíba (VEIGA JR et al., 1997; VEIGA JR & PINTO, 2002; RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004). Esse processo industrial gera volume significativo de resíduo não-volátil que contém ácidos diterpênicos (GALÚCIO et al., 2016), o foco do presente estudo. No laboratório, os óleos essenciais de copaíba são obtidos por hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor (PEREIRA et al, 2008, XAVIER JR et al., 2017).

As análises dos óleos essenciais normalmente ocorrem por métodos usuais baseados na cromatografia gasosa unidimensional (CG) e incluindo a bidimensional (CG-CG). Nessas técnicas, a detecção pode ser feita por detector de ionização de chama, espectrômetro de massas (EM) com as técnicas auxiliares, espectrometria de massas bi- e multidimensional (EM-EM e EMn) e dissociação induzida por colisão utilizando quadrupolo (Q), aprisionamento de íons (*ion trap*), e o espectrômetro de massas de alta resolução (EMAR), coinjeção de padrões e comparação com índice de referência, dentre outras técnicas (SILVA et al., 2006; PEREIRA et al., 2008; ZOGHBI et al., 2009; VEIGA et al., 2016).

Das técnicas utilizadas para a análise da composição química do óleo essencial de copaíba são: *headspace* (HS)-CG-EM (LUCCA et al., 2015), CG-EM e cromatografia líquida (CL)-EM (CASCON & GILBERT 2000; PINTO et al., 2013; BARDAJÍ et al., 2016), EMAR-CG (detecção por ionização de chama (DIC)) (VEIGA JR et al., 2007; SANTOS et al., 2008), CG-EM e CG-DIC (SOUSA, 2011), CG-EM e CL-IES (ionização por

electrospray)-TdV (tempo de voo)-EMAR (LIMA et al., 2021), CG-EM e CG-DIC (LAMEIRA et al., 2009; ZOGHBI et al., 2009; GURGEL et al., 2019; COSTA & LAMEIRA, 2021), sistema capilar CG-Q e CG-EM (VEIGA et al., 2006).

1.5.2.1 Monoterpenos presentes no óleo essencial de *Copaifera* spp.

Os monoterpenos são pouco comentados como um dos constituintes químicos do óleo essencial de *Copaifera*, porém essa subclasse já foi identificada no trabalho Silva et al. (2007) em óleo-resina de *C. reticulata*, e por Barbosa (2012) a partir de 3 amostras de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne foram encontrados e identificadas 8 (oito) monoterpenos. Dentre as substâncias identificadas foram, o *alo*-ocimeno (**10**), ocimeno (**11**), *trans*- β -ocimeno (**12**), limoneno (**13**), α -felandreno (**14**), δ -3-careno (**15**), β -pineno (**16**) e o α -pineno (**17**) (Figura 7).

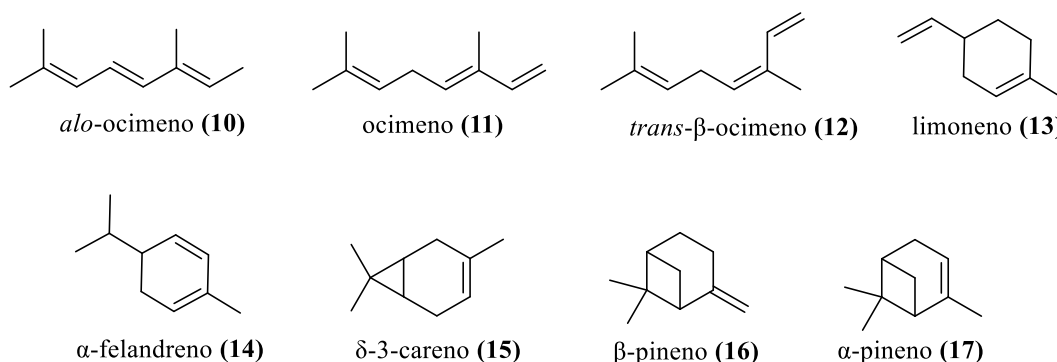


Figura 7: Monoterpenos identificados em óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne.

1.5.2.2 Sesquiterpenos e os óleos essenciais de *Copaifera* spp.

Os sesquiterpenos predominam no óleo essencial (volátil) de copaíba, podendo chegar a compor 90% dos óleos-resinas de copaíba (LEANDRO et al., 2012; MEDEIROS, 2019). Esses terpenos também predominam nos óleos essenciais de folhas e frutos de *Copaifera* spp. O que segue são dados sobre os principais componentes presentes nos óleos essenciais de *Copaifera* spp.

1.5.2.3 Biossíntese dos sesquiterpenos

Conforme mostrado anteriormente (Figura 6), é provável que o precursor biossintético dos sesquiterpenos é o metabólito pirofosfato de farnesila (FPP). A Figura 8 abaixo apresenta a proposta de transformações biossintéticas a partir do metabólico FPP que levam à formação de alguns dos principais esqueletos das subclasses de sesquiterpenos representados na Figura 9, dentre eles o, aristolano, bisabolano, cariofilano, curcumano, germacrano, guaiano, selinano (eudesmano) e humulano (MAIA, 1991; BROCKSON et al., 2008). Esses esqueletos podem ser produzidos a partir de diferentes posições e mecanismos do FPP, *trans-trans* e *cis-trans*, como visto na Figura 8.

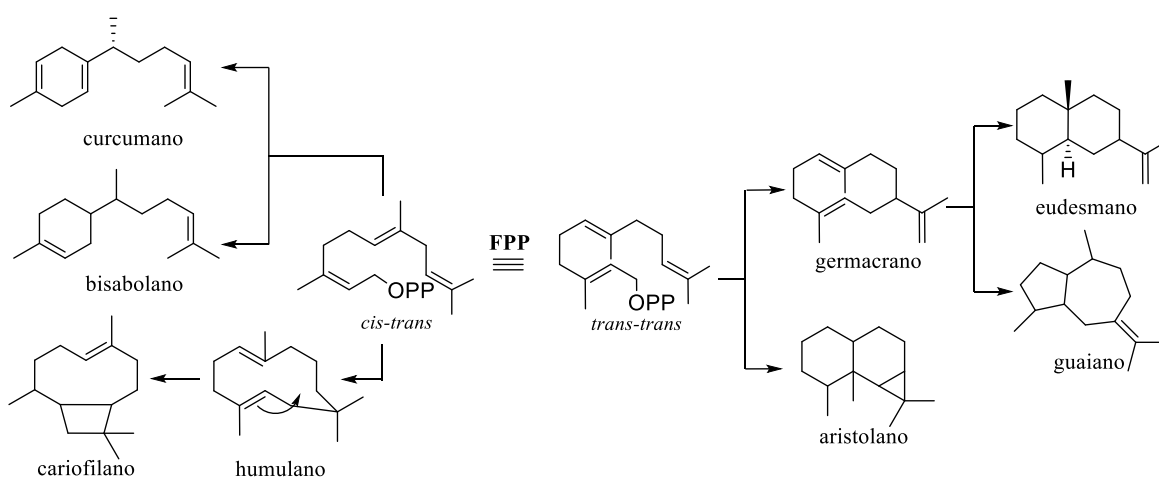


Figura 8: Exemplos de biossíntese de alguns esqueletos dos sesquiterpenos.

Fonte: Maia (1991) e Brocksom et al. (2008).

1.5.2.4 As principais subclasses de sesquiterpenos em óleos essenciais de *Copaifera* spp.

Quatorze (14) espécies de *Copaifera* têm a composição química dos seus óleos essenciais (obtidos do óleo-resina do tronco e às vezes de outras partes da planta) descrita em ao menos um trabalho na literatura (Tabela 2). Entre os mais de 274 tipos estruturas de sesquiterpenos conhecidos na classe dos terpenos (OLIVEIRA, 1998), no presente trabalho, foram levantados 46 sesquiterpenos de *Copaifera* a partir de trabalhos de isolamento e/ou identificação por métodos indiretos (Tabela 2).

Os sesquiterpenos de *Copaifera* representam 19 subclasses estruturais, incluindo substâncias mono-, bi- e tricíclicas e acíclica (Figuras 10-12) (VEIGA JR et al., 2006;

SANTOS et al., 2008; LEANDRO et al., 2012; MOREIRA, 2018; TRINDADE et al., 2018). No gênero *Copaifera* spp. são encontrados principalmente as subclasses aristolano, aromadendrano, bisabolano, cadinano, cariofilano, cubebano, humulano e selinano (eudesmano) (Figura 9) (OLIVEIRA, 1998; BARBOSA et al., 2013; MOREIRA, 2018; TRINDADE et al., 2018; LIMA et al., 2021).

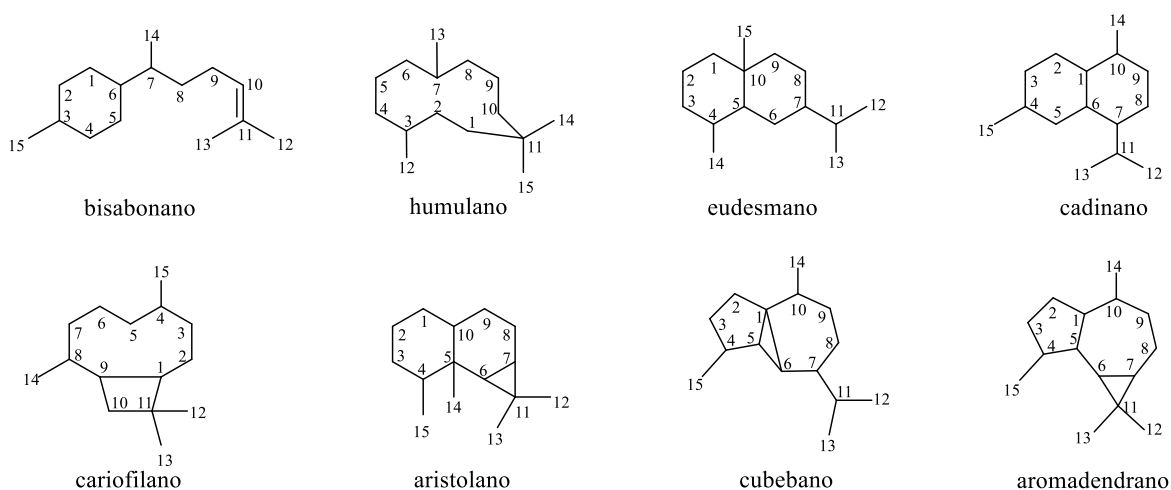


Figura 9: Principais subclasses encontradas no gênero *Copaifera* spp.

Fonte: Oliveira (1998).

Tabela 2: Alguns sesquiterpenos identificados no óleo essencial de óleo-resina e de outras partes de espécies de *Copaifera*.

Espécie	Parte da planta	Substância	Referência
<i>C. cearensis</i> Huber ex Ducke	óleo-resina (tronco)	β -bisabolol (26), δ -cadineno (39), β -cariofileno (50), α -copaeno (56)	Veiga Jr et al. (2007) Trindade et al. (2018)
<i>C. duckei</i> Dwyer	óleo-resina (tronco)	β -farneseno (18), β -bisaboleno (20), δ -elemeno (29), germacreno D (30), α -humuleno (32), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), δ -cadineno (39), β -selineno (42), β -cariofileno (50), α -selineno (43)	Cascon & Gilbert (2000) Carvalho et al. (2005) Lameira et al. (2009) Pinto et al. (2013)
<i>C. guyanensis</i> Desf.	óleo-resina (tronco)	<i>trans</i> - α -bergamoteno (34), β -cariofileno (50)	Cascon & Gilbert (2000) Trindade et al. (2018)
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	óleo-resina (tronco)	β -elemeno (28), germacreno D (30), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), γ -muroлено (36), α -cadinol (41), β -selineno (42), α -himachaleno (49), β -cariofileno (50), biciclogermacreno (51), α -copaeno (56), espatulenol (59), óxido de cariofileno (63)	Silva et al. (2006) Gelmini et al. (2013) Trindade et al. (2018)
	caule	germacreno D (30), τ -murolol (38), δ -cadineno (39), α -cadinol (41), β -cariofileno (50), biciclogermacreno (51), espatulenol (59), óxido de cariofileno (63)	Gelmini et al. (2013) Trindade et al. (2018)
	semente/fruto	β -elemeno (28), germacreno D (30), γ -muroлено (36), τ -murolol (38), α -cadinol (41), β -cariofileno (50), biciclogermacreno (51), α -copaeno (56), espatulenol (59), óxido de cariofileno (63)	Gelmini et al. (2013) Trindade et al. (2018)
	folha	β -elemeno (28), germacreno D (30), α -humuleno (32), α -murolol (37), δ -cadineno (39), α -cadinol (41), β -cariofileno (50), biciclogermacreno (51), α -copaeno (56), espatulenol (59), óxido de cariofileno (63)	Silva et al. (2006) Souza (2011) Gelmini et al. (2013) Trindade et al. (2018)
<i>C. lucens</i> Dwyer	óleo-resina (tronco)	β -cariofileno (50)	Santos et al. (2008)
<i>C. luetzelburgii</i> Harms	óleo-resina (tronco)	β -selineno (42), 7- <i>epi</i> - α -selineno (44), γ -selineno (45)	Lima et al. (2021)
	folha	germacreno D (30), germacreno B (31), β -cariofileno (50)	
<i>C. martii</i> Hayne	óleo-resina (tronco)	β -bisaboleno (20), β -elemeno (28), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), δ -cadineno (39), α -selineno (43), β -cariofileno (50), α -copaeno (56), <i>alo</i> -aromadendreno (61)	Zoghbi et al. (2007)
	Folha e caule	δ -elemeno (29), germacreno D (30), α -humuleno (32), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), δ -cadineno (39), β -cariofileno (50)	Gurgel et al. (2019)

Tabela 2: Alguns sesquiterpenos identificados no óleo essencial de óleo-resina e de outras partes de espécies de *Copaifera*. (Continuação)

Espécie	Parte da planta	Substância	Referência
<i>C. multijuga</i> Hayne	óleo-resina (tronco)	β -bisaboleno (20), β -bisabolol (26), β -sesquifelandreno (25), germacreno D (30), α -humuleno (32), <i>trans</i> - β -bergamoteno (35), δ -cadineno (39), β -cariofileno (50), α -copaeno (56), β -gurjuneno (57), óxido de cariofileno (63)	Veiga Jr et al. (2007) Trindade et al. (2018)
<i>C. officinalis</i> (Jacq.) L.	óleo-resina (tronco)	β -bisaboleno (20), germacreno B (31), α -humuleno (32), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), δ -cadineno (39), α -cadineno (40), β -cariofileno (50), <i>alo</i> -aromadendreno (61)	Santos et al. (2008) Trindade et al. (2018)
<i>C. paupera</i> (Herzog) Dwyer	óleo-resina (tronco)	β -bisaboleno (20), zingibereno (22), δ -cadineno (39), β -cariofileno (50), α -cubebeno (52), α -copaeno (56)	Santos et al. (2008) Zoghbi et al. (2009)
<i>C. piresii</i> Ducke	óleo-resina (tronco)	δ -cadineno (39), β -cariofileno (50), α -copaeno (56)	Zoghbi et al. (2009)
<i>C. pubiflora</i> Benth	óleo-resina (tronco)	β -elemeno (28), α -humuleno (32), β -selineno (42), α -selineno (43), β -cariofileno (50)	Zoghbi et al. (2009) Carneiro et al. (2020)
<i>C. reticulata</i> Ducke	óleo-resina (tronco)	β -bisaboleno (20), β -bisabolol (26), β -elemeno (28), δ -elemeno (29), germacreno D (30), α -humuleno (32), <i>trans</i> - α -bergamoteno (34), δ -cadineno (39), β -cariofileno (50), α -guaieno (47), β -selineno (42), α -selineno (43), α -copaeno (56), óxido de cariofileno (63)	Costa et al. (2021) Sachetti et al. (2011) Gurgel et al. (2019)
	óleo-resina (tronco)	germacreno D (30), β -cariofileno (50), espatulenol (59)	Carneiro et al. (2020)
<i>C. trapezifolia</i> Hayne	folha	germacreno D (30), germacreno B (31), α -humuleno (32), α -cadineno (40), β -cariofileno (50), espatulenol (59), óxido de cariofileno (63)	Veiga et al. (2006) Trindade et al. (2018) Lima et al., 2021
	Casca (tronco)	β -selineno (42), 7- <i>epi</i> - α -selineno (44), γ -selineno (45)	Lima et al., 2021
<i>Copaifera</i> spp.	óleo-resina (tronco)	α -curcumeno (19), <i>trans</i> - γ -bisaboleno (21), <i>trans</i> - α -bisaboleno (23), <i>cis</i> - α -bisaboleno (24), α -bisabolol (27), β -sesquisabineno hidratado (33), 7(11)-selinen-4-ol (46), γ -gurjuneno (48), β -cariofileno (50), 4- <i>epi</i> -cubebol (53), aristoleno (54), α -ilangeno (55), ledol (58), óxido ledeno (60), cedr-8-en-13-ol (62)	Moreira (2018)

1.5.2.5 Os principais sesquiterpenos e composição de óleos essenciais de *Copaifera* spp.

O constituinte químico mais relevante do óleo essencial é o sesquiterpeno β -cariofileno (**50**) (LEANDRO et al., 2012) encontrado em todas as 14 espécies relatadas na Tabela 2. O teor dessa substância varia de espécie a espécie, como por exemplo nos óleos essenciais de *C. langsdorffii* Desf. (33%), *C. officinalis* L. (87%), *C. reticulata* Ducke (25-68%) (SACHETTI et al., 2011; TRINDADE et al., 2018) e *C. pubiflora* (66%) (ZOGHBI et al., 2009).

Outros sesquiterpenos identificados nos óleos essenciais de copaíba são *trans*- γ -bisaboleno (**21**), *trans*- α -bisaboleno (**23**), *cis*- α -bisaboleno (**24**), β -sesquifelandreno (**25**) (Figura 10), β -sesquisabineno hidratado (**33**), γ -muroлено (**36**), *7-epi*- α -selineno (**44**) (Figura 11), α -ilangeno (**55**) e aristoleno (**54**, Figura 12, VEIGA JR et al., 2006; SANTOS et al., 2008; LEANDRO et al., 2012, MOREIRA, 2018; TRINDADE et al., 2018).

O óleo essencial extraído do óleo-resina coletado da espécie *C. reticulata* Ducke no Pará apresentou os constituintes majoritários β -bisaboleno (**20**) (5–17%), *trans*- α -bergamoteno (**34**) (6–12%) e β -cariofileno (**50**) (25–50%) (SACHETTI et al., 2011). O *trans*- α -bergamoteno (**34**) foi identificado em outros trabalhos sobre óleos essenciais extraídos do óleo-resina e apenas no óleo essencial do caule de *C. martii* (Hayne) na concentração de 6%. O α -selineno (**43**) somente foi encontrado no óleo essencial dos caules de *C. reticulata* (Ducke) com 11% e *C. martii* (Hayne) com 4% (GURGEL et al., 2019). Os outros terpenos oxigenados apresentam as concentrações mais baixas no gênero (CARVALHO et al., 2016; GURGEL et al., 2019).

Se destacam os óleos essenciais das folhas de várias espécies de *Copaifera* (Tabela 2). O óleo essencial de folhas de *C. trapezifolia* Hayne apresentou 11% de germacreno D (**30**), 34% de β -cariofileno (**50**) e 8% de espatulenol (**59**) (VEIGA et al., 2006; TRINDADE et al., 2018; CARNEIRO et al., 2020), o de *C. luetzelburgii* contém 27% de germacreno D (**30**) e 13% de germacreno B (**31**) e 16% de β -cariofileno (**50**) (LIMA et al., 2021). Na sua revisão da literatura, Trindade et al. (2018) relataram para os óleos essenciais das folhas de *C. langsdorffii* Desf, o germacreno D (**30**) (9–45%), β -cariofileno (**50**) (10–17%), óxido de cariofileno (**63**) (4–19%) e espatulenol (**59**) (5–29%).

Por fim, para os óleos essenciais da folha e caule de *C. martii* Hayne os constituintes principais são germacreno D (**30**) e β -cariofileno (**50**, GURGEL et al., 2019). O óleo essencial das folhas de *C. langsdorffii* Desf. apresentou a mesma composição química que a

fração volátil proveniente do óleo-resina (SILVA et al., 2006), porém o mesmo não foi observado para *C. luetzelburgii* ou *C. trapezifolia* Hayne (Tabela 2). São poucas as informações sobre a rotação óptica/configuração absoluta dos componentes químicos dos óleos essenciais de *Copaifera* spp. Das substâncias apresentadas apenas o β -bisaboleno (**20**, $[\alpha]_D -32,6^\circ$, CHCl_3) e o óxido de cariofileno (**63**, $[\alpha]_D -5,9^\circ$, CHCl_3) foram isoladas e caracterizadas de *Copaifera paupera* (TINCUSI et al., 2002).

Os principais sesquiterpenos identificados nos óleos essenciais de *Copaifera* spp. estão apresentados conforme a complexidade dos seus esqueletos (acíclico, monocíclico, bicíclico e tricíclico) e subclasses nas Figuras 10-12: farnesano, substância **18**; curcumano, substância **19**; bisabolanos, substâncias **20-27**; elemanos, substâncias **28** e **29**; humulano, substância **32**; germacranos, substâncias **30**, **31** (Figura 10) e **51** (Figura 12); sesquisabinano, substância **33**; bergamotenos, substâncias **34** e **35**; cadinanos, substâncias **36-41**; selinanos, substâncias **42-46**; guaiano, substância **47**; himachalano, substância **49**; cariofilanos, substâncias **50** (Figura 11) e **63** (Figura 12); cubebanos, substâncias **52** e **53**; aristolano, substância **54**; sativano, substância **55**; copacafano, substância **56**; aromadendranos, substâncias **48** (Figura 11), **57**, **58**, **59-61**; cedrano, substância **62** (Figura 12) (BARBOSA et al., 2013; MOREIRA, 2018; TRINDADE et al., 2018; LIMA et al., 2021).

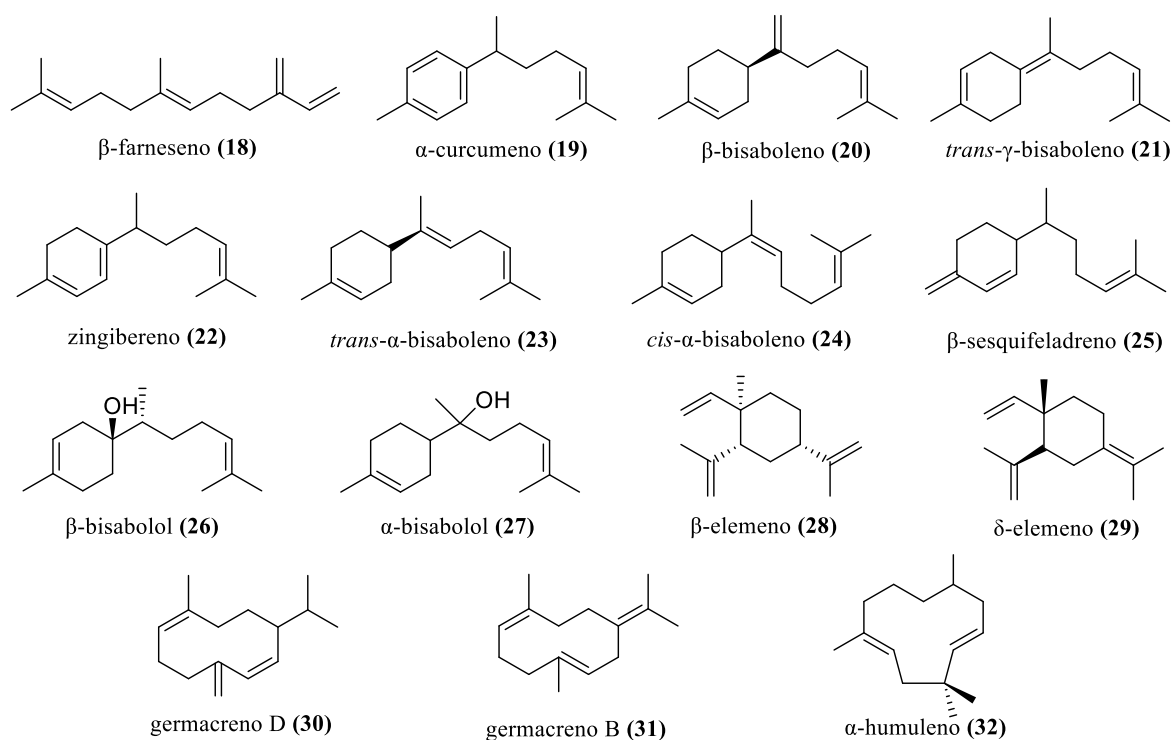


Figura 10: Sesquiterpenos acíclico e monocíclicos encontrados em óleos essenciais de *Copaifera* spp.

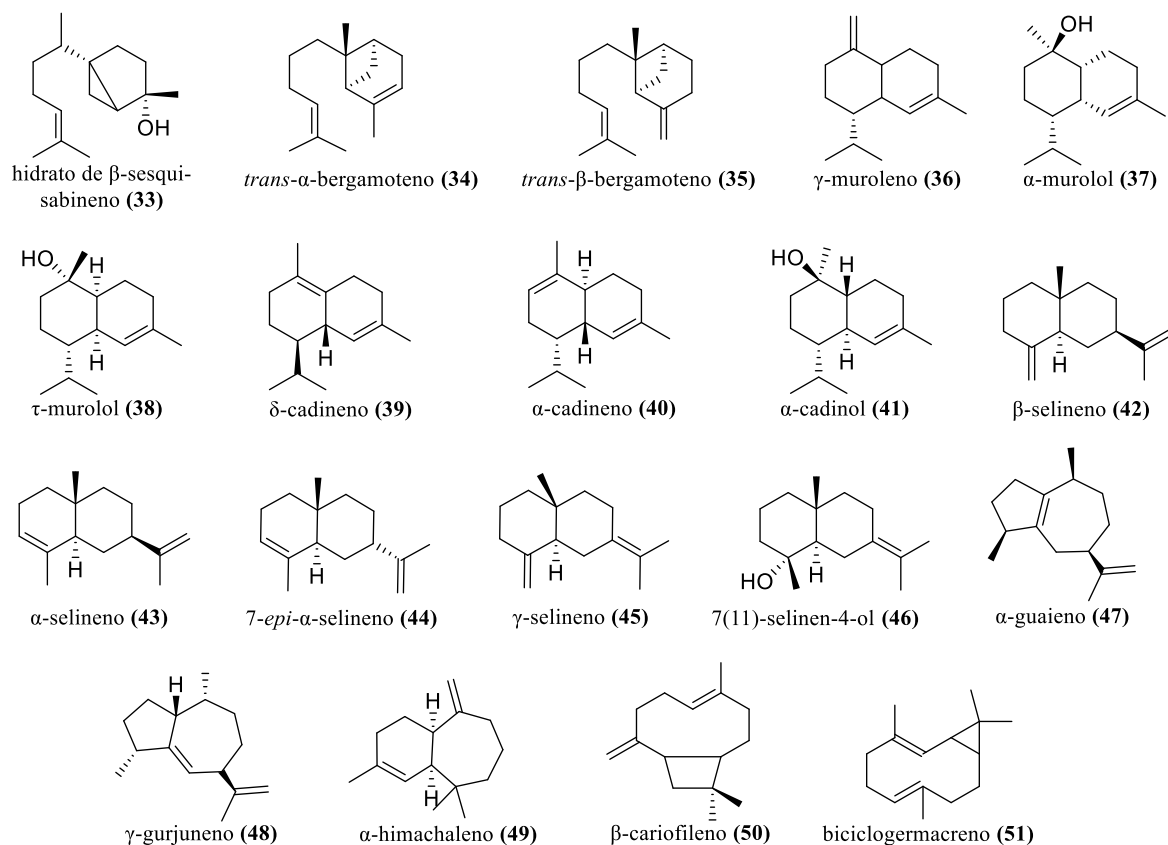


Figura 11: Sesquiterpenos bicíclicos encontrados em óleos essenciais de *Copaifera* spp.

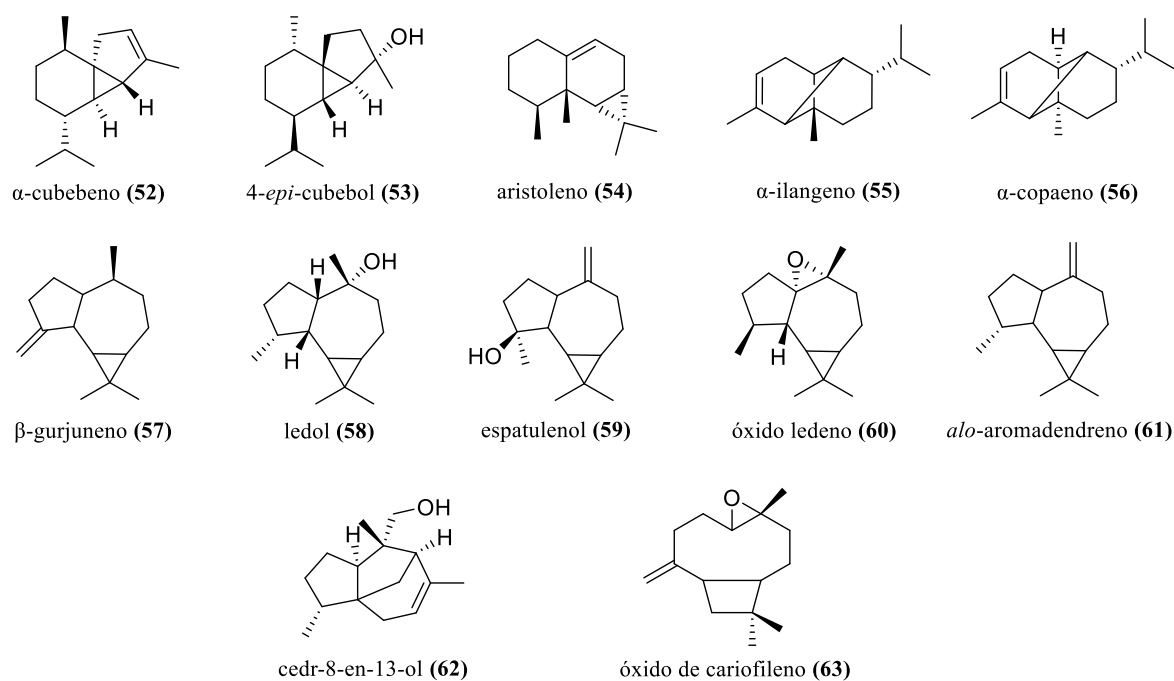


Figura 12: Sesquiterpenos tricíclicos encontrados em óleos essenciais de *Copaifera* spp.

1.5.3 Diterpenos: componentes fixos do óleo-resina de *Copaifera* spp.

Onze (11) espécies de *Copaifera* e óleos-resinas comerciais de copaíba têm os componentes fixos em seu óleo-resina descritos em trabalhos na literatura. A Tabela 3 apresenta os dados da literatura sobre a composição química dos óleos-resinas de *Copaifera* spp. de relevância deste projeto haja vista a possibilidade de óleos-resinas de diversas espécies de *Copaifera* comporem os produtos comercializados.

Para as análises da composição química dos componentes fixos do óleo-resina, são utilizados métodos diretos, ou seja, de isolamento (CC, CCDP, CLAE preparativa, etc.) com elucidação estrutural por RMN e EM, bem como métodos indiretos (CL-EM, CLAE-FR, etc.). Dos métodos mais utilizados se destacam o, UPLC-EM/EM, CLAE-FR (CARNEIRO et al., 2018), CLAE e IES-EMAR-TdV (CARNEIRO et al., 2020), CC e CCD (VARGAS et al., 2015; MEDEIROS et al., 2019), CL-EM (BARDAJÍ et al., 2016), CLAE-UV/DAD (SOUZA et al., 2012; SILVA et al., 2017a; CARNEIRO et al., 2018).

Os diterpenos são constituídos por quatro unidades de isopreno, normalmente ligadas no formato cabeça-cauda (MEDEIROS, 2019) e apresentam as seguintes subclasses estruturais: abietano, aconano, atisano, beyerano, cassano, caurano, clereodano, giberelano, labdano, latirano, pimarano, taxano, traquilobano e vilanovan (VENEZIANI et al., 2017). No gênero *Copaifera* 3 (três) subclasses de diterpenos predominam (Figura 13) e serão apresentadas nas seções que seguem: labdano (44 substâncias, **64-107**, Figuras 14-16 e 18), caurano (6 substâncias, **110-115**, Figura 19) e clerodano (18 substâncias, **116-133**, Figura 20) (ROMERO, 2007, TRINDADE et al., 2018). Dentre os 68 diterpenos levantados de *Copaifera* spp., 39 são ácidos carboxílicos, 29 são neutros (não-ácidos), distribuídos em 12 álcoois, 12 ésteres, 3 cetonas, 1 aldeído e 1 hidrocarboneto (Tabela 3).

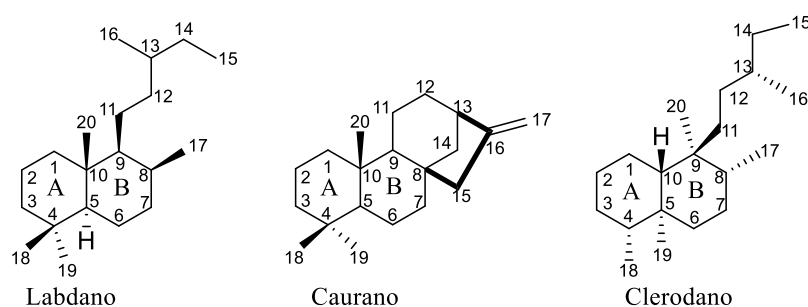


Figura 13: Estrutura e estereoquímica das subclasses dos diterpenos mais relevantes para *Copaifera*.

Tabela 3: Diterpenos isolados/identificados do óleo-resina e de outras partes de *Copaifera*.

Espécies	Parte da planta	Substância	Referência
<i>C. cearensis</i> Huber ex Ducke	óleo-resina	ácido copálico (64), <i>ent</i> -eperuato de metila (91), ácidos <i>ent</i> -eperúico (94) e catívico (88), cativato de metila (89), ácidos labdanoico (90), colavênico (117), <i>ent</i> -hardwíckiico (121), 3-cleroden-15,18-dioico (123) clorechínico (125), patagônico (129), haplociliático (131) e 13-clerodeno-15,16-olídeo-18-oico (132)	Pinto et al. (2000) Romero (2007) Veiga Jr et al. (2007) Santos et al. (2008) Trindade et al. (2018)
<i>C. duckei</i> Dwyer	óleo-resina	ácidos copálico (64), 3 α -acetóxi-copálico (70), <i>ent</i> -poliáltico (74), eperu-8(17)-en-15,18-dioico (84), <i>ent</i> -16- β -cauran-19-oico (110), <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico (111) e <i>ent</i> -hardwíckiico (121)	Cascon & Gilbert (2000), Carvalho et al. (2005)
<i>C. guyanensis</i> Desf.	óleo-resina	copalato de metila (65), ácidos <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico (111), <i>ent</i> -hardwíckiico (121), colavato de 15-metila (130)	Cascon & Gilbert (2000) Vargas et al. (2015), Trindade et al. (2018)
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	óleo-resina	ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68) e 3 α -acetóxi-copálico (70), manool (86), esclareol (87), (-)-3-hidróxi-14,15-dinorlabd-8(17)-en-13-ona (79), ácido <i>ent</i> -agático (80), 8(17),13-labdadien-15-ol (92), ácidos 14,15-dinor-13-oxo-8(17)-labden-19-oico (103) e <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico (111), <i>ent</i> -caura-16-en-19-ol (112), <i>ent</i> -caura-16-eno (113), <i>ent</i> -19-caur-16-en-4 α -ol (114), <i>ent</i> -caura-16-en-19-al (115), ácido hardwíckiico (116), colavenol (118), <i>cis</i> -colavenol (119), ácido <i>ent</i> -hardwíckiico (121), <i>ent</i> -neo-4(18), cleroda-dien-15-ol (122)	Ohsaki et al. (1994) Romero (2007) Romero et al. (2009) Fonseca et al. (2013) Abrão et al. (2015) Matos et al. (2015) Trindade et al. (2018) Medeiros (2019)
	folha	ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico (111)	Trindade et al. (2018)
<i>C. lucens</i> Dwyer	óleo-resina	ácidos copálico (64) e <i>ent</i> -poliáltico (74)	Santos et al. (2008)
<i>C. multijuga</i> Hayne	óleo-resina	ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68), 3 α -acetóxi-copálico (70), copaiferólico (93), copaiférico (66), copaiferolato de metila (67), ácidos <i>ent</i> -agático (80) e 3 β -hidróxi-copálico (95), 3 β -hidróxi-copalato de metila (96), ácido 3 β -acetóxi-copálico (97), 3 β -acetóxi-copalato de metila (98), ácido <i>ent</i> -3 β ,18-dihidróxi-8(17),13-labdadien-15-oico (104).	Delle-Monache et al. (1969) Romero (2007) Izumi et al. (2012) Silva et al. (2017a) Trindade et al. (2018) Carneiro et al. (2020) Souza et al. (2020)

Tabela 3: Diterpenos isolados/identificados do óleo-resina e de outras partes de *Copaifera*. (Continuação)

Espécies	Parte da planta	Substância	Referência
<i>C. officinalis</i>	óleo-resina	ácidos copálico (64) e <i>ent</i> -hardwíckiico (121)	Santos et al. (2008)
<i>C. paupera</i> (Herzog) Dwyer	óleo-resina	ácido copálico (64), copalato de metila (65), ácido <i>ent</i> -poliáltico (74), <i>ent</i> -polialtato de metila (75), agatato de 15-metila (81), agatato de 15,19-dimetila (82), ácido <i>ent</i> -pinifólico (83), (+)14,15-bisnorlabd-8(17)- <i>en</i> -13-ona (78), ácido <i>ent</i> -16- β -cauran-19-oico (110)	Tincusi et al. (2002) Santos et al. (2008) Trindade et al. (2018)
<i>C. pubiflora</i>	óleo-resina	ácidos (13 <i>E</i>)- <i>ent</i> -labda-7,13-dien-15-oico (105), 7 α -acetóxi- <i>ent</i> -hardwíckiico (120) e <i>ent</i> -hardwíckiico (121)	Carneiro et al. (2020)
<i>C. reticulata</i> Ducke	óleo-resina	ácidos copálico (64) e 3 α -hidróxi-copálico (68), 3 α -hidróxi-copalato de metila (69), ácidos <i>ent</i> -poliáltico (74) e <i>ent</i> -agático (80), agatato de 15-metila (81), ácidos <i>ent</i> -caur-16- <i>en</i> -19-oico (111) e <i>ent</i> -hardwíckiico (121)	Geris et al. (2008) Santos et al. (2008) Bardají et al. (2016) Trindade et al. (2018) Santos et al. (2020)
<i>C. trapezifolia</i> Hayne	óleo-resina	ácidos <i>ent</i> -labda-5,13-dien-15-oico (99) e <i>ent</i> -16-hidróxi-3,13-clerodadien-15,18-dioico (133)	Carneiro et al. (2020)
<i>Copaifera</i> spp. (Copaíba comercial)	óleo-resina	ácidos copálico (64) e 3 α -hidróxi-copálico (68), 3 α -hidróxi-copalato de metila (69), ácidos 3 α -acetóxi-copálico (70), lambertiânico (85), <i>ent</i> -agático (80) e <i>ent</i> -poliáltico (74), (-)-13(R)-14,15-dinorlabd 8(17)- <i>eno</i> -3,13-diol (76), (-)-13(S)-14,15-dinorlabd-8(17)- <i>eno</i> -3,13-diol (77), (-)-3-hidróxi-14,15-dinorlabd-8(17)- <i>en</i> -13-ona (79), ácidos 3 β -hidróxi-copálico (95), pinifólico (100), <i>ent</i> -11-acetóxi-copálico (101) e <i>ent</i> -11-hidróxi-copálico (102), 3 β -ol-14,15-dinorlabdan-8(17)- <i>en</i> -13-ona (106), 3 β -ol-14,15-dinorlabdan-8(17)- <i>en</i> -13-ol (109), ácido <i>ent</i> -caur-16- <i>en</i> -19-oico (111), colavenol (118), ácido <i>ent</i> -hardwíckiico (121), 7-acetóxi-bacchotriconeatina D (124), ácidos 7 α -hidróxi-hardwíckiico (126), clerodan-15,18-dioico (127) e 19- <i>O</i> -acetil-1,2-desidro-hautriwaico (128), colavato de 15-metila (130)	Soriano (2004) Imamura et al. (2005) Romero (2007) Romero et al. (2009) Biaggio (2015) Vargas et al. (2015) Trindade et al. (2018) Oliveira et al. (2020)

1.5.3.1 Os labdanos: ácido copálico (64), ácido copaiférico (66), seus derivados, entre outros

O ácido copálico (64), identificado em todas as *Copaifera* spp. estudadas, com a exceção de *C. pubiflora* e *C. trapezifolia*, é o componente mais comumente relatado (Tabela 4, Figura 14). Esse ácido e seu éster de metila (65) foram identificados na composição química de ao menos oito (8) espécies pertencentes a outros gêneros e famílias (Tabela 4).

O ácido copálico (64) é considerado por alguns autores como o marcador do óleo-resina de copaíba (VEIGA JR & PINTO, 2002; VEIGA JR et al., 2007; TRINDADE et al., 2018; SOUZA et al., 2020), porém a ausência dessa substância em duas espécies de *Copaifera* (Tabela 3) e a presença da mesma em espécies de outros gêneros e famílias (Tabela 4) deixam dúvidas sobre o *status* dessa substância como marcador específico de óleo-resina de copaíba.

A variação nos valores de rotação óptica específica ($[\alpha]$) para cada substância da Tabela 4 poderá ser devida a diferenças nas condições de análise, bem como pureza enantiomérica das amostras. Essa variação foi comentada na determinação original da estrutura do ácido copálico (64), por Nakano e Djerassi (1961). Nesse trabalho pioneiro, foi estabelecida a configuração absoluta em C-10 (10*S*) por transformação sintética em intermediários cuja configuração absoluta e rotação óptica haviam sido estabelecidos baseadas ultimamente em métodos cristalográficos. Esses autores acreditavam que o epímero em C-9 (9*S*) do ácido copálico (64) fosse a estrutura mais provável, porém não descartaram a possibilidade de ser o epímero 9*R* (64) ou mistura epimérica em C-9. Também, acreditavam na possibilidade do ácido copálico (64) existir como uma mistura de composição variável de enantiômeros (64 e 66) em *Copal Brazil* (*Hymenaea courbaril* L.), o que poderia ajudar a explicar, junto com outras observações, o valor variável e pequeno (levógeno) do $[\alpha]$ de $-6,9^\circ$. O pressuposto da possibilidade de misturas do ácido copálico (64) com o seu enantiômero (66) é confirmado nos trabalhos de Ekong & Okogu (1967), Delle-Monache et al. (1969) e Tincusi et al. (2002). Ekong & Okogu (1967) foram um dos primeiros a relatar e a corroborar o pressuposto de Nakano e Djerassi (1961) da ocorrência de “labdanos pertencente da série antípoda”, ou seja, dos enantiômeros ácido copálico (64) e ácido copaiférico (66 ou labda-8(20),13-dien-15-oico), ambos isolados (separadamente) a partir da *Oxystigma oxyphyllum*.

Tabela 4: Ácido copálico (64), seu enantiômero ácido copaiférico (66) e seus ésteres metílicos encontrados em diferentes gêneros.

Substância	Família	Gênero/espécie	$[\alpha]_D$	Referência
ácido copálico (64)	Aristolochiaceae	<i>Aristolochia malmeana</i> Hoehne	-3,7° (25°C)	Messiano et al. (2008)
		<i>Aristolochia giberti</i> Hook	-34,2° (25°C)	Marchesini et al. (2009)
	Fabaceae	<i>Copaifera langsdorfii</i>	-10,0° (27°C)	Ohsaki et al. (1994)
		<i>Copaifera multijuga</i>	-31,4° (25°C)	Alves et al. (2017)
		<i>Copaifera paupera</i>	-15,3° (25°C)	Tincusi et al. (2002)
		<i>Copaifera</i> sp.	-41,4° (27°C)	Fujii et al. (2009)
		<i>Copaiva Balsam (Curcuma mangga)</i>	-4,4°	Mahajan & Ferreira (1971)
		<i>Detarium microcarpum</i> Guill. & Per.	+7,2°	Ungur et al. (2000)
		<i>Hymenaea Courbaril</i> L. Jatobá	-14,7° (23°C)	Cavin et al. (2006)
		<i>Hymenaea Courbaril</i> L. Jatobá	-6,9°	Nakano & Djerassi (1961)
-	Sintético	-30,2° (26°C)*	Xin et al. (2016)	
copalato de metila (65)	Araucariaceae	<i>Araucaria bidwilli</i> Hook	-42,0°	Caputo & Mangoni (1967)
	Fabaceae	<i>Copaifera paupera</i>	-18,5° (25°C)	Tincusi et al. (2002)
		<i>Copaifera</i> sp.	-11,2°	Mahajan & Ferreira (1971)
		<i>Copaifera</i> sp.	-16,3° (23°C)	Romero (2007)
	<i>Hymenaea Courbaril</i> L. Jatobá	-11,4°	Nakano & Djerassi (1961)	
	<i>Oxystigma oxyphyllum</i> (Harms) J. Léonard.	-42,4°	Sandermann et al. (1967)	
	<i>Trachylobium verrucosum</i> (Gaertn.) Oliv.	-26,4°	Ekong & Okogu (1967)	
<i>Trachylobium verrucosum</i> (Gaertn.) Oliv.	-45,0° (20°C)	Hugel et al. (1966)		
ácido copaiférico (66)	Fabaceae	<i>Oxystigma oxyphyllum</i> (Harms) J. Léonard.	+26,4° (22°C)	Ekong & Okogu (1967)
	Pinaceae	<i>Pinus monticola</i> Douglas ex D. Don	+47,0°	Manh et al. (1975)
	-	Sintético	+37,4°, +47,0° e +53,2°	Romero et al. (2007)
	Lamiaceae	<i>Vitex hemsleyi</i> Briq.	+44,3°	Gómez et al. (2009)
copaiferolato de metila (67)	Fabaceae	<i>Copaifera multijuga</i>	+45,4°	Delle-Monache et al. (1969)
		<i>Oxystigma oxyphyllum</i> (Harms) J. Léonard.	+45,0°	Ekong & Okogu (1967)
	Pinaceae	<i>Pinus monticola</i> Douglas ex D. Don	+46,0° (22°C)	Zinkel et al. (1971)
		<i>Pinus monticola</i> Douglas ex D. Don	+47,0°	Mahn et al. (1975)
	-	Sintético	+37,4°	Romero (2007)
Lamiaceae	<i>Vitex hemsleyi</i> Briq.	+25,0° *	Gómez et al. (2009)	

Nota: Todas as substâncias foram solubilizadas em CHCl₃, exceto as substâncias com (*), onde o solvente utilizado foi o MeOH. Foi incluída a temperatura quando essa informação estava disponível na fonte citada

As evidências para o isolamento do enantiômero do ácido copálico (**64**) (ou seja o ácido (+)-copálico ou ácido copaiférico, **66**) foram analisadas (ver Tabela 4). Por exemplo, Ungur et al. (2000) relataram o isolamento do ácido copálico (**64**) com valor de $[\alpha]_D +7,2^\circ$ a partir de *Copaiva Balsam* comercial, porém citam o $[\alpha]_D$ de referência do Nakano e Djerassi (1961) com o sinal invertido/incorrecto ($[\alpha]_D +6,9^\circ$) e apresentam a estrutura molecular com a mesma configuração que a do Nakano e Djerassi (1961): **64**). Além do mais, Ungur et al. (2000) afirmam que o ácido copálico (**64**) isolado por eles foi obtido como descrito em trabalho anterior a partir de *Copaiva Balsam* (comercial), na forma do “isocopato/isocopolato” de metila (**65**), com o $[\alpha]_D -14,6^\circ$ (GAVAGNIN et al., 1997). O sinal desse último está de acordo com o valor relatado por Nakano e Djerassi para (**64**) (não para o seu enantiômero **66**). Por isso, os dados de Ungur et al. (2000) e Gavagnin et al. (1997) deixam dúvidas se o ácido **66**, enantiômero do ácido copálico (**64**), foi de fato obtido por esses autores.

Outros relatos aparentemente descrevem o isolamento do ácido copálico (**64**) utilizando nomenclatura não-sistemática para descrever essa substância (Tabela 4). Nesse sentido, Alves et al. (2017) isolaram o “ácido *ent*-copálico” de *C. multijuga* coletada no Amazonas. Pelo $[\alpha]_D$ relatado, em torno de $-31,4^\circ$, a estrutura apresentada tratava-se do ácido copálico (**64**) definido por Nakano e Djerassi (1961). Xin et al. (2016) sintetizaram o “ácido (-)-copálico” com $[\alpha]_D$ de -30° , ou seja, o ácido copálico (**64**), apresentado por Nakano e Djerassi (1961).

A caracterização do ácido copálico (**64**) e do seu enantiômero ácido copaiférico (**66**) na forma dos seus ésteres de metila (copalato de metila **65** e copaiferolato de metila **67**, respectivamente), são comuns em alguns trabalhos onde segundo alguns relatos é obtido maior valor de $[\alpha]_D$ na forma de éster do que na forma do respectivo ácido (Tabela 4) (NAKANO & DJERASSI, 1961; HUGEL et al., 1966; EKONG & OKOGU 1967; MAHAJAN & FERREIRA, 1971; TINCUSI et al., 2002; ROMERO, 2007). Assim foi realizado na determinação estrutural do ácido copálico (**64**, $[\alpha]_D -4,4^\circ$) juntamente com o seu éster de metila (**65**, $[\alpha]_D -11,2^\circ$) por Mahajan & Ferreira, 1971). Assim também foi determinado por Tincusi et al. (2002) o ácido copálico (**64**, $[\alpha]_D -15,3^\circ$) e seu éster de metila (**65**, $[\alpha]_D -18,5^\circ$), ambos isolados de *C. paupera*. Também, no trabalho de Hugel et al. (1966) o copalato de metila (**65**) apresentou $[\alpha]_D -45,0^\circ$. Delle-Monache et al. (1969) no isolamento do óleo-resina de *C. multijuga* relataram o isolamento do ácido copaiférico (**66**) com valor

de rotação óptica para seu éster metílico de $[\alpha]_D +45,4^\circ$, apresentando a configuração (+)-antípoda do ácido copálico (**64**). Apesar dessas observações, as informações da Tabela 4, no conjunto, revelam valores máximos ou limítrofes bastante semelhantes para os valores de $[\alpha]_D$ (45-53°, valores absolutos de rotação óptica) de ácido copálico (**64**), ácido copaiférico (**66**) e seus respectivos ésteres de metila.

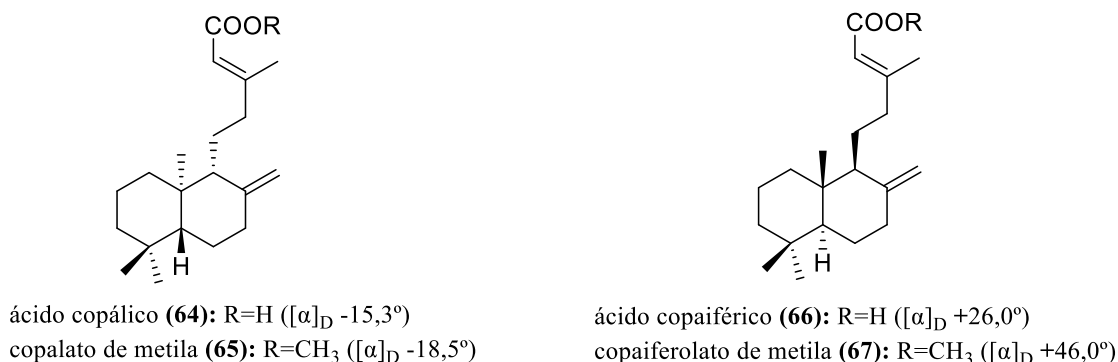


Figura 14: Labdanos **64** e **65** isolados de *Copaifera* spp. e **66** e **67** isolados de outros gêneros com as suas respectivas rotações ópticas específicas definidas na literatura.

Fontes: **64**, **65** Tincusi et al. (2002), **66** Ekong & Okogu (1967), **67** Manh et al. (1975).

1.5.3.2 Ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**), 3 α -acetóxi-copálico (**70**), alepterólico (**71**) e seus derivados

Os ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) são relatados em vários trabalhos como componentes dos óleos-resinas de *Copaifera* (Tabela 3, VEIGA JR & PINTO, 2002; VEIGA JR et al., 2007; TRINDADE et al., 2018; SOUZA et al., 2020) porém, são definidos sem inclusão de dados de rotação óptica. Os dados de rotação óptica disponíveis para essas substâncias, seus enantiômeros e seus ésteres de metila, estão resumidos nas Tabelas 5 e 6.

A configuração absoluta (de C-10 e C-5) estabelecida originalmente por Nakano & Djerassi (1961) para o ácido copálico (**64**, Figura 14), isolado de *Copal Brazil* (*Hymenaea courbaril* L., Jatobá), foi confirmada por Romero et al. (2009) para o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**, $[\alpha]_D^{20} -38,3^\circ$) e o seu éster de metila (**69**, Figura 15) de óleo-resina de copaíba comercial, ambos levógenos ($[\alpha] < 0$, Tabela 5). O método e confirmação estrutural envolveu a transformação química em substâncias de configuração absoluta já estabelecida baseado em cristalografia de raio-x.

Tabela 5: Ácidos: 3 α -hidróxi-copálico (**68**), ácido alepterólico (**71**) e seus ésteres metílicos encontrados em *Copaifera* e outros gêneros.

Substância	Gênero/espécie	$[\alpha]_D$	Referência
ácido 3 α -hidróxi-copálico (68)	<i>Cheilanthes argentea</i>	-42,6°	Wollenweber et al. (1982)
		-38,3° (20 °C)	Romero et al. (2009)
	<i>Copaifera</i> sp.	-38,7°	Mahajan et al. (1971)
		-32,0° (20 °C)	Romero (2007)
3 α -hidróxi-copalato de metila (69)	<i>Copaifera</i> sp.	-40,0° (20 °C)	Romero (2007)
		-35,0° (25 °C)	Romero et al. (2009)
	<i>Olearia teretifolia</i>	-1,0°	Romero (2007)
ácido alepterólico (71)	<i>Cheilanthes argentea</i>	+40,7°	Romero (2007)
	<i>Pinus pumila</i>	+36,0° (20 °C)	Raldugin et al. (1985)
	<i>Vitex hemsleyi</i>	+29,4°*	Gómez et al. (2009)
alepterolato de metila (72)	<i>Copaifera paupera</i>	+24,8° (25 °C)	Tincusi et al. (2002)
	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	+40,7° (20 °C)	Braun & Breitenbach (1977)
	<i>Pinos pupila</i>	+36,0° (20 °C)	Raldugin et al. (1985)

Nota: Todas as substâncias foram solubilizadas em CHCl₃, exceto as substâncias com (*), onde o solvente utilizado foi o MeOH.

Vários trabalhos citam o 3 α -hidróxi ácido **68** ou seu enantiômero, o ácido alepterólico (**71**, também chamado de ácido 3 β -hidróxi-*anti*-copálico ou ácido 3 β -hidróxi-labda-8(17),13-dien-15-oico), como componentes de *Copaifera* spp., porém sem incluir dados de rotação óptica (GERIS et al., 2008; TRINDADE et al., 2013; 2018) o que impossibilita confirmação do enantiômero principal (**68** ou **71**) ou inferências sobre a pureza enantiomérica (Figura 15).

De acordo com dados apresentados na Tabela 5, o ácido alepterólico (**71**) é encontrado em *Metasequoia glyptostroboides* Hu & W.C. Cheng da família Cupressaceae (BRAUN & BREITENBACH, 1977), *Olearia tertifolia* (Sond.) F. Muell. Ex Benth da família Compositae ou Asteraceae (ZDERO et al., 1992), *Pinus pumila* (Pall.) Regel. E *P. strobus* L. da família Pinaceae (RALDUGIN et al., 1985; ZINKEL & MAGEE, 1987). Tincusi et al. (2002) isolaram o éster metílico do ácido alepterólico (**71**, $[\alpha]_D^{25} +24,8$ ou 3 β -hidróxi-labda-8(17),13-dien-15-ato de metila ou alepterolato de metila) a partir de *C. paupera* (Herzog) Dwyer (Tabela 5).

No trabalho de Romero (2007) é apresentada a análise da rotação óptica a partir da *Copaifera* sp. do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**, $[\alpha]_D -72,0^\circ$) (Tabela 6). Outros estudos identificam o 3 α -acetóxi ácido **70** em óleos-resinas de *Copaifera* spp. somente por RMN 1D

e 2D, sem a análise da rotação óptica (CASCON & GILBERT, 2000; ROMERO, 2007; TRINDADE et al., 2018, MEDEIROS, 2019). Já o enantiômero desse último, o ácido 3 β -acetóxi-labda-8(20),13-dien-15-oico (**73**, $[\alpha]_D +46,0^\circ$ e $+64,2^\circ$) foi relatado somente para espécies dos gêneros *Metasequoia* e *Pinus* (BRAUN & BREITENBACH, 1977; RALDUGIN et al.,1985). Não há relato do isolamento do ácido **73** em espécies de *Copaifera*.



ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**): R₁=H e R₂=H ($[\alpha]_D -32,0^\circ$)

3 α -hidróxi-copalato de metila (**69**): R₁=H e R₂=CH₃ ($[\alpha]_D -35,0^\circ$)

ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**): R₁=COCH₃ e R₂=H ($[\alpha]_D -72,0^\circ$)

ácido alepterólico (**71**): R₁ e R₂=H ($[\alpha]_D +29,4^\circ$)

alepterolato de metila (**72**): R₁=H e R₂=CH₃ ($[\alpha]_D +24,8^\circ$)

ácido 3-*O*-acetil-alepterólico (**73**): R₁=Ac e R₂=H ($[\alpha]_D +46,0^\circ$)

Figura 15: Labdanos **68**, **69**, **70** e **72** isolados de *Copaifera* spp. e **71** e **73** isolados de outros gêneros com as suas respectivas rotações ópticas específicas definidas na literatura.

Fontes: **68**, **69** e **70** Romero et al. (2009), **71**, Ekong & Okogu (1967), **72** Tincusi et al. (2002), **73** Raldugin et al. (1985).

Tabela 6: Dados de rotação óptica dos ácidos enantioméricos 3 α -acetóxi-copálico (**70**) e 3-*O*-acetil-alepterólico (**73**) encontrados em *Copaifera* e outros gêneros.

Substância	Gênero/espécie	$[\alpha]_D$	Referência
ácido 3 α -acetóxi-copálico (70)	<i>Copaifera</i> sp.	-72,0°	Romero (2007)
	(não informado)	-67,0°	
ácido 3- <i>O</i> -acetil-alepterólico (73)	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	+64,2° (19°C)	Braun & Breitenbach (1977)
	<i>Pinus pumila</i>	+46,0° (19°C)	Raldugin et al. (1985)

Nota: Todas as substâncias foram solubilizadas em CHCl₃.

1.5.3.3 Relatos de ácidos **68**, **70**, **71** e **73** em *Copaifera* spp. sem dados de rotação óptica

Vários trabalhos relatam o isolamento a partir do gênero *Copaifera* dos ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) atribuindo-lhes vários nomes, em geral sem caracterizar ou apresentar dados de rotação óptica, o que deixa dúvidas *a priori* se as substâncias em questão tratam-se dessas substâncias ou dos seus respectivos enantiômeros **71** e **73**, ou misturas com vários graus de racemização. Entre os nomes encontrados são os

ácidos (-)-3-hidróxi-copálico e (-)-3-acetóxi-copálico (SOUZA et al., 2011a; 2011b; ABRÃO et al., 2015), 3-hidróxi-copálico e 3-acetóxi-copálico (CASCON & GILBERT, 2000; LEANDRO et al., 2012; VARGAS et al., 2015; BIAGGIO, 2015; MEDEIROS, 2019), “3 β -hidróxi-copálico” e “3 β -acetóxi-copálico” (veja notas nas Tabelas 8 e 9, IZUMI et al., 2012; SILVA et al., 2015; CARVALHO, 2016; SILVA et al., 2017a), 3-acetóxi-copálico e *ent*-3 β -acetóxi-labda-8(17),13-dieno-15-oico (CARVALHO, 2016), *ent*-3 β -hidróxi-copálico (SILVA et al., 2017b) e hidróxi-copálico (SANTOS et al., 2013), ácido alepterólico, (GERIS et al., 2008; ZHANG et al., 2020) e 3 β -acetoxylabdan-8(17)-13-dien-15-oico (GERIS et al., 2008).

1.5.3.4 Outros labdanos dos óleos-resinas de *Copaifera* spp.

Como foi visto nas seções anteriores, ambas as formas enantioméricas de algumas das substâncias labdânicas já foram isoladas dos óleos-resinas de *Copaifera* spp. Assim, estudos sobre labdanos encontrados em *Copaifera* spp. com dados de rotação óptica e informações sobre a configuração absoluta em C-10, C-9 e C-5 (Figura 14) são de particular relevância.

Romero et al. (2009) relataram o isolamento de (-)-13(*R*)-14,15-dinorlabd-8(17)-eno-3,13-diol (**76**), (-)-13(*S*)-14,15-dinorlabd-8(17)-eno-3,13-diol (**77**) (epímeros no carbono C-13) e (-)-3-hidróxi-14,15-dinorlabd-8(17)-en-13-ona (**79**) do óleo-resina de copaíba comercial. As configurações absolutas foram determinadas por transformação sintética em substâncias de referência de configuração absoluta pré-estabelecida. Com base nos valores de $[\alpha]_D^{20}$ (todos *ca.* -1.0°) para as substâncias **76**, **77** e **79** de Romero et al. (2009), tornam-se questionáveis as atribuições de configuração absoluta efetuadas por Monti et al. (1996 e 1999), que acreditavam tratar-se de *ent*-**79** e *ent*-**76** (ambos com $[\alpha]_D^{20}$ *ca.* -1°), respectivamente, do óleo-resina de copaíba.

Dentre os labdanos relatados em *Copaifera* spp. se destaca o ácido *ent*-agático (**80**, $[\alpha]_D^{25}$ -50,2°; XIN et al., 2016) e seus éster 15-metílico e diéster 15,19-dimetílico (**81** e **82**, respectivamente, TINCUSI et al., 2002) cujas estruturas foram estabelecidas por comparação com dados da literatura do seu enantiômero, o ácido agático (**108**; $[\alpha]_D$ +56,0°, Figura 17; Ruzicka et al., 1930; Carman, 1964). De modo semelhante, o ácido *ent*-poliáltico (**76**, $[\alpha]_D^{25}$ -34,3°) e o *ent*-poliáltato de metila (**77**, $[\alpha]_D^{25}$ -38,9°) são *ent*-labdanos que foram isolados

de *Copaifera paupera* (TINCUSI et al., 2002) para os quais existem dados da literatura de referência (Figura 16, OHTA & NAWAMAKI, 1978).

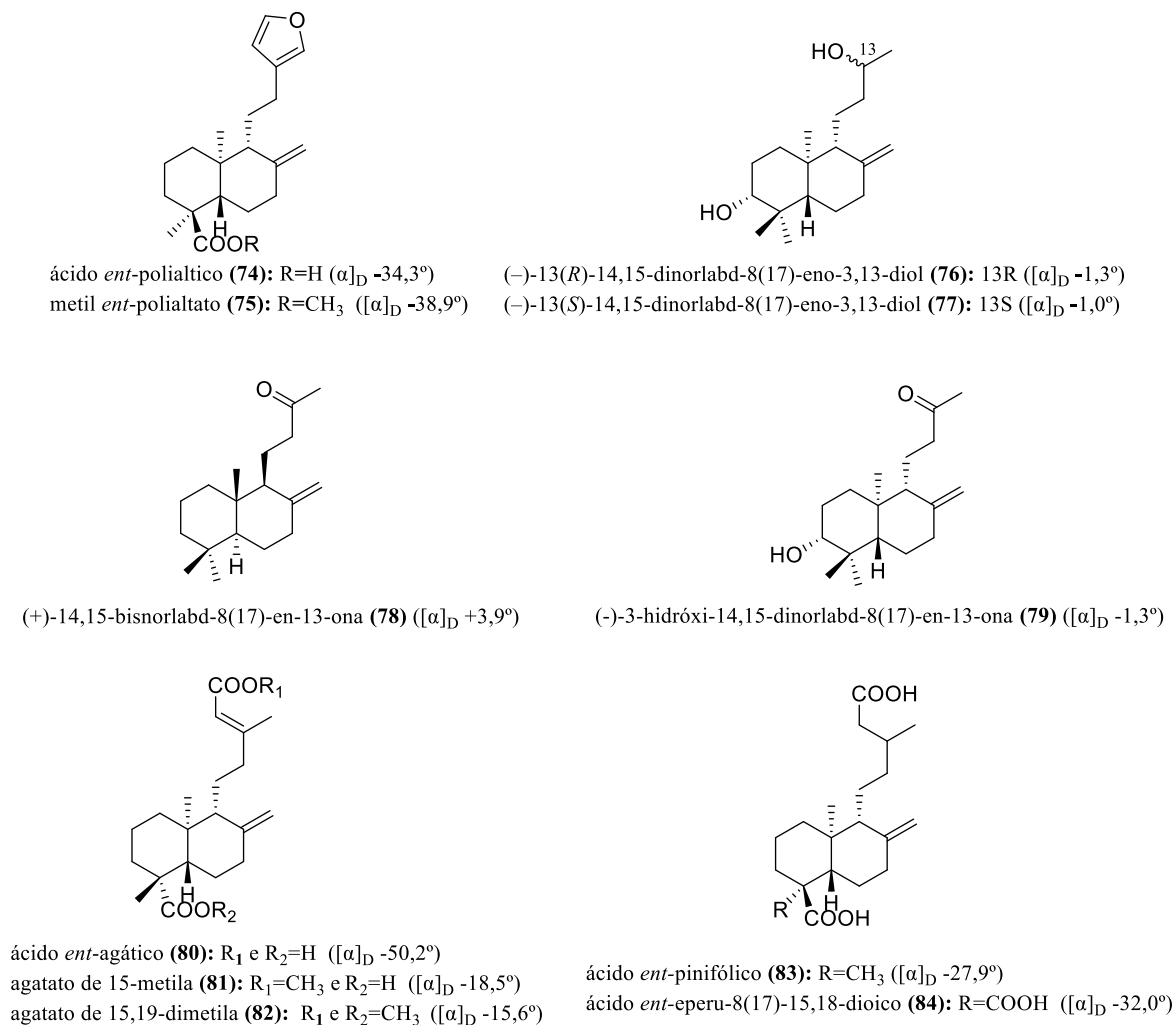


Figura 16: Labdanos isolados de *Copaifera* spp. com os valores rotações ópticas definidas na literatura.
Fontes: **74, 75, 78, 81, 82 e 83** Tincusi et al. (2002), **76, 77, 79** Romero et al. (2009), **80** Xin et al. (2016), **84** Ferrari et al. (1971).

Dentre os labdanos relatados em *Copaifera* spp. se destaca o ácido *ent*-agático (**80**, $[\alpha]_D^{25}$ -50,2°) (XIN et al., 2016) e seus derivados ésteres de metila (**81 e 82**) (TINCUSI et al., 2002) que tiveram a sua estrutura e configuração absoluta estabelecida por comparação com dados do seu enantiômero, o ácido agático (**108**, Figura 17, Ruzicka et al., 1930; Carman, 1964, $[\alpha]_D$ +56,0°). De modo semelhante, o ácido *ent*-polialtático (**74**, $[\alpha]_D^{25}$ -34,3°) e o seu derivado, o metil *ent*-polialtato (**75**, $[\alpha]_D^{25}$ -38,9°); ambos são *ent*-labdanos isolados de *Copaifera* (TINCUSI et al., 2002). Assim também, Ohta & Nawamaki (1978) a partir de

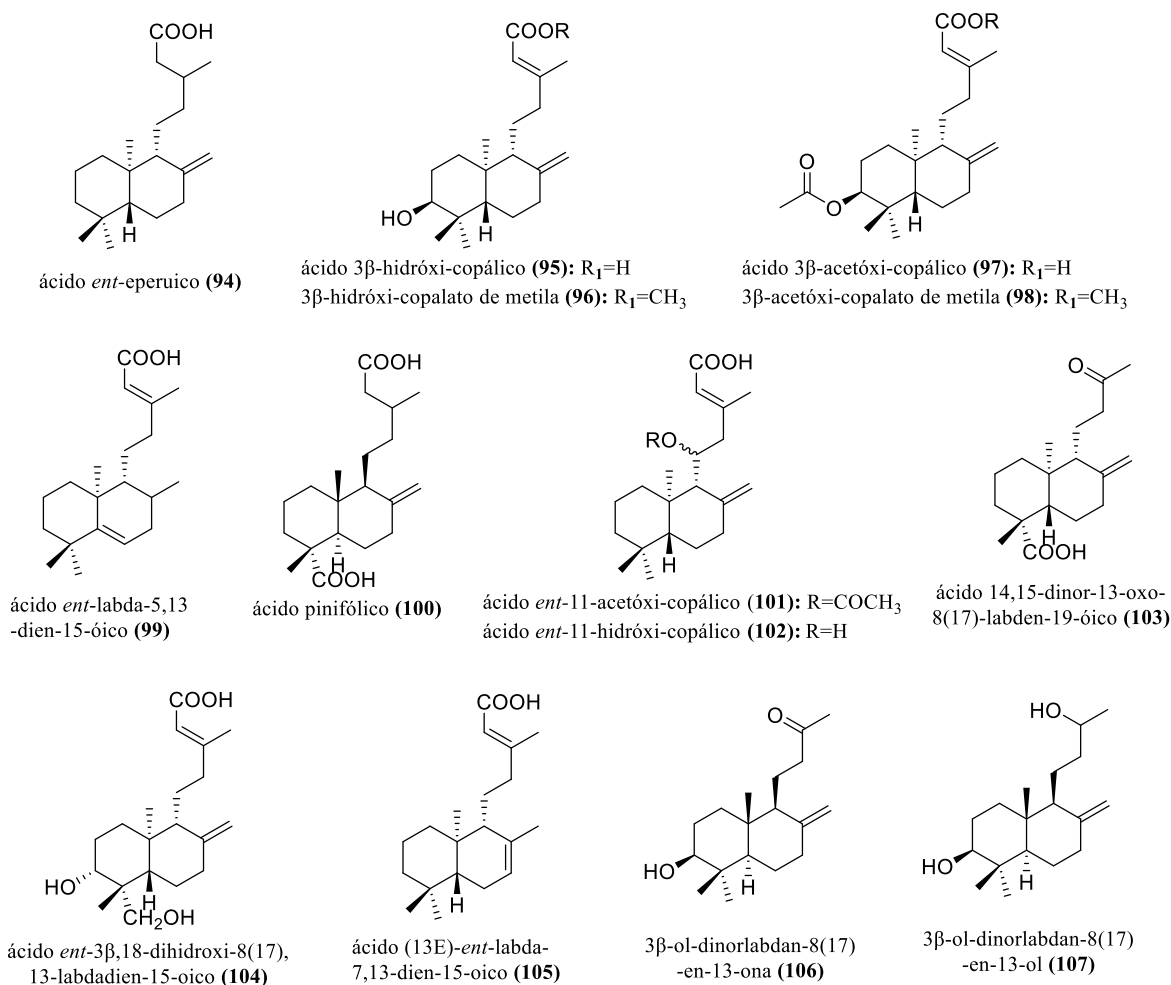


Figura 18: Labdanos isolados de *Copaifera* spp. com os valores rotações ópticas não definidas na literatura. (Continuação).

Fontes: **94, 95, 96, 97, 98** Izumi et al. (2012), Silva et al. (2017a), **103** Medeiros (2019) **99, 104, 105** Carneiro et al. (2020), **100** Trindade et al. (2018), **101, 102** Veiga Jr et al. (2002), **106, 107** Romero (2007).

Nota: Izumi et al. (2012) e Silva et al. (2017a) nomeiam e desenharam os ácidos **95** e **97** e seus derivados sem os dados de rotação óptica definida, havendo a possibilidade desses diterpenos serem os ácidos **68** e **70**.

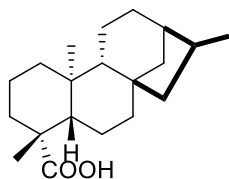
Tabela 7: Dados de rotação óptica para labdanos relevantes provenientes de outros gêneros (não *Copaifera*).

Substância	Gênero/espécie	$[\alpha]_D$	Referência
lambertiânico (85)*		+55,0°	
manool (86)*	(não informado)	+30,0°	McCrimble & Overt (1964)
esclareol (87)		-3,0°	
ácido catívico (88)**	<i>Prioria copaifera</i>	-6,5°	Grant & Zeiss (1954)
cativato de metila (89)		-7,5°	
ácido labdanoico (90)		+26,0°	
<i>ent</i> -eperuato de metila (91)	<i>Oxystigma oxyphyllum</i>	-15,0°	Ekong & Okogu (1967)
8(17),13-labdadien-15-ol (92)		+28,0°	
ácido copaiferólico (93)		-15,3°	

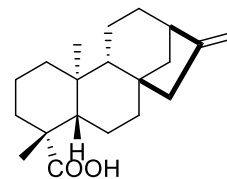
Nota: *substâncias solubilizadas em CHCl₃, **substância solubilizada em EtOH. As demais substâncias não apresentam os solventes informados.

1.5.3.5 Cauranos encontrados nos óleos-resinas de copaíba

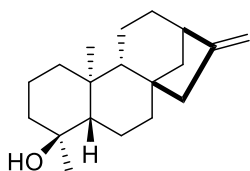
Os cauranos representam a menor das três principais subclasses de diterpenos encontrados em *Copaifera* spp., com apenas 6 (seis) substâncias. Apenas os ácidos **110** e **111** (Figura 19) apresentam dados de rotação óptica (TINCUSI et al., 2002). Outros cauranos (**112-115**) foram relatados com a ausência dos valores de rotação óptica (ROMERO, 2007).



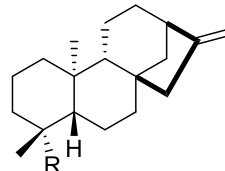
ácido *ent*-16- β -cauran-19-oico (**110**) ($[\alpha]_D^{25}$ -51,7°)



ácido *ent*-caur-16-en-19-oico (**111**) ($[\alpha]_D^{25}$ -71,7°)



ent-caura-16-en-19-ol (**112**)



ent-caura-16-eno (**113**): R= CH₃
ent-19-caur-16-en-4 α -ol (**114**): R= CH₂OH
ent-caura-16-en-19-al (**115**): R= CHO

Figura 19: Cauranos isolados de *Copaifera* spp. relatados na literatura.

Fonte: Tincusi et al. (2002) e Romero (2007).

1.5.3.6 Clerodanos encontrados nos óleos-resinas de copaiba

Os clerodanos compõem o segundo maior grupo dos diterpenos do gênero *Copaifera*, a configuração absoluta desta subclasse foi determinada por Misra et al. (1968), Dev (1979) e McCrindle & Overton (1964) a partir da correlação química do ácido *ent*-hardwíckiico (**121**, $[\alpha]_D +25^\circ$). Gómez-Hurtado et al. (2011) a partir do *Chromolaena pulchellae* isolou e definiu a estrutura do seu enantiômero ácido hardwíckiico (**116**, $[\alpha]_D -87^\circ$). Dos 18 clerodanos identificados em *Copaifera* spp., apenas 7 (substâncias **116-122**, Figura 20) apresentam rotações ópticas definidas na literatura em outros gêneros. Dos clerodanos citados, os ácidos hardwíckiico (**116**) e *ent*-hardwíckiico (**121**) são encontrados frequentemente nos óleos-resinas de copaíba (ROMERO, 2007; LEANDRO et al., 2012). Não foram encontrados dados de rotação óptica na literatura para 11 substâncias (**123-133**) dos clerodanos isolados de *Copaifera* spp. (Figura 20).

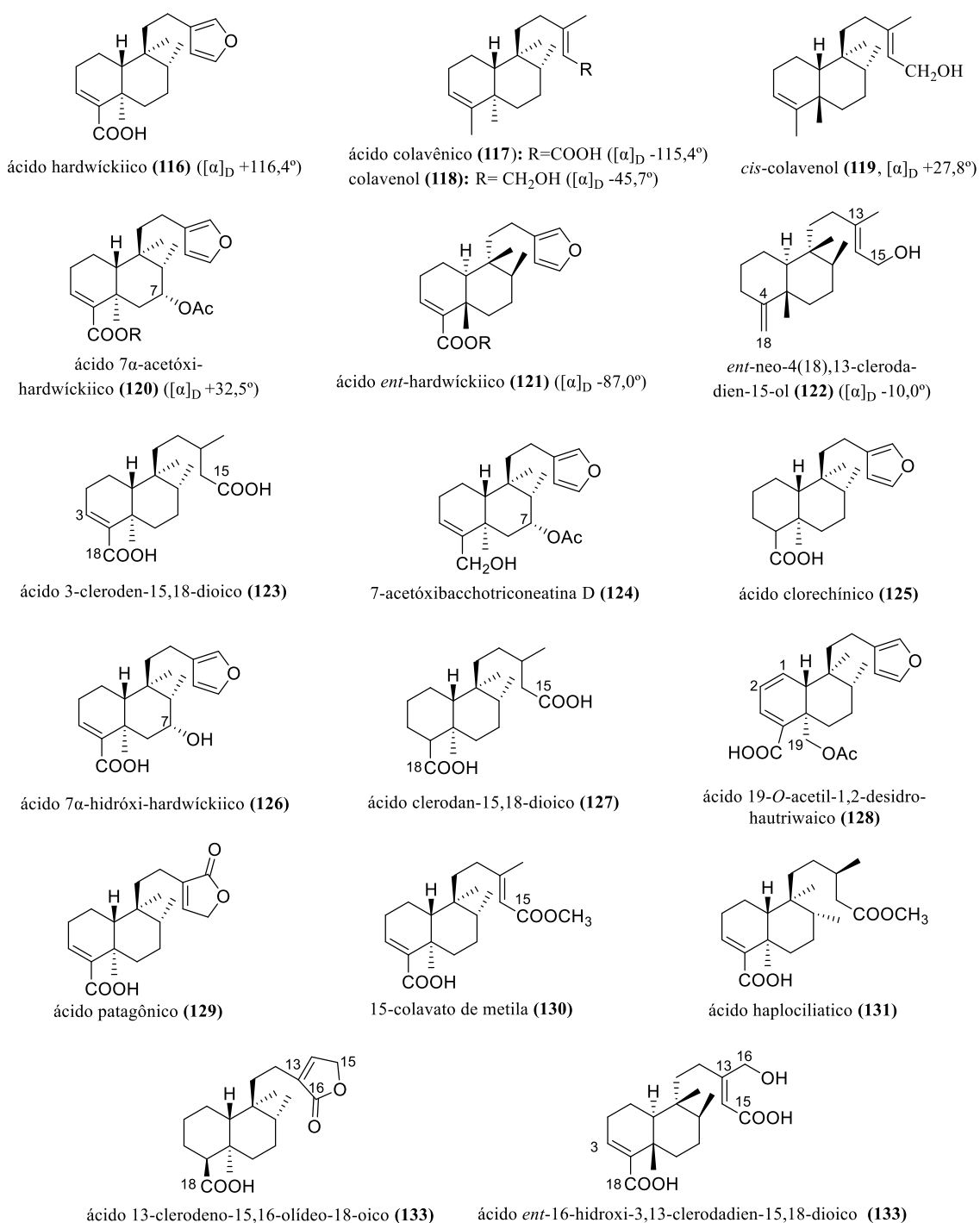


Figura 20: Clerodanos isolados de *Copaifera* spp. com valores de rotações ópticas específicas definidas em outros gêneros.

Fonte: **117, 118** Misra et al. (1964), **120** Spanevello & Vila (1994), **121** Mccrindle & Overton (1964) **116, 119, 122** Ohsaki et al. (1994), **123, 129, 130** Pinto et al. (2000), **124, 125, 127, 128, 131, 134** Trindade et al. (2018), **126, 132** Romero (2007) e **133** Carneiro et al. (2020).

1.6 Usos e atividades biológicas do óleo-resina de copaíba

O óleo-resina é utilizado como biocombustível e faz parte de produtos comercializados pelas indústrias de vernizes, tintas e em produtos cosméticos (BRUM et al., 2007; PEREIRA et al., 2008). O óleo-resina tem ampla utilização na produção de sabonetes, cremes, espumas de banho, xampus, cremes e condicionadores, entre outros, por apresentar propriedades emolientes (VEIGA JR & PINTO, 2002). Há séculos o óleo-resina de copaíba é utilizado extensivamente pelas populações da região amazônica por causa das diversas propriedades medicinais atribuídas a este produto natural (ALENCAR, 1982; VEIGA JR & PINTO, 2002; PIERI et al., 2009).

O óleo-resina apresenta principalmente atividade anti-inflamatória, bem difundida na medicina popular e investigada no meio científico (BASILE et al., 1988, ROMERO, 2007; TRINDADE et al., 2018) e atividade antimicrobiana (MENDONÇA & ONOFRE, 2009). É utilizado também no tratamento de doenças da pele, por apresentar propriedades cicatrizantes, antissépticas, antiblenorrágicas (antigonorréicas) de acordo com estudos etnofarmacológicos (PEREIRA et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2012). É também capaz de inibir o desenvolvimento do *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas (ROMERO, 2007).

Dentre os diversos trabalhos de atividades biológicas relatados de algumas espécies de *Copaifera* resumida na Tabela 8, destaca-se o estudo da atividade anti-inflamatória de três óleos-resinas de copaíba (*C. multijuga*, *C. cearensis* e *C. reticulata*), onde o da *C. multijuga* apresenta maior inibição na produção de NO em uma concentração baixa (5 µg/mL) e as espécies *C. cearensis* e *C. reticulata* apresentam menor potencial, nas concentrações de 50 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente (VEIGA JR et al., 2007). Anos antes, Veiga Jr et al. (2001) constataram as propriedades anti-inflamatórias provocadas pelos óleos-resinas de *Copaifera* spp. no edema na pata de rato. Assim também no trabalho de Carvalho et al. (2005) o óleo-resina de *C. duckei* apresentou atividade anti-inflamatória no teste de edema de pata induzido por carragenina inibindo 42% com dose de 1802 mg/kg e no teste de dermatite induzida por óleo de croton (camundongos) com concentração inibitória de 50% (CI₅₀ 663 mg/kg).

A atividade leishmanicida foi avaliada por Santos et al. (2008) contra promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* dos óleos-resinas de algumas espécies de *Copaifera* de Manaus-Amazonas. Nesse estudo, os autores relataram para os

óleos-resinas de *C. cearensis*, *C. langsdorffii*, *C. lucens*, *C. multijuga*, *C. officinalis*, *C. paupera* e *C. reticulata* os valores de concentração inibitória de 50% (CI₅₀) de 18,0; 20,0; 20,0; 10,0; 20,0; 11,0; 5 µg/mL (mais ativo), respectivamente.

Tabela 8: Principais atividades biológicas dos óleos-resinas de espécies de *Copaifera*.

Espécie	Atividade biológica	Referências
<i>C. cearensis</i> Huber ex Ducke	anti-inflamatório, antileishmanial, antimicrobiano	Veiga Jr et al. (2007), Santos et al. (2008a), Santos et al. (2008b)
<i>C. duckei</i> Dwyer	analgésica, anti-inflamatório, antileishmanial, antiproliferativo	Carvalho et al. (2005), Trindade et al. (2018)
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	antibacteriana, anti-inflamatório, antileishmanial, antimicrobiano, antiproliferativo, cicatrizante	Paiva et al. (1998), Paiva et al. (2004), Trindade et al. (2018)
<i>C. lucens</i> Dwyer	antibacteriana, antileishmanial	Santos et al. (2008a), Santos et al. (2008b)
<i>C. martii</i> Hayne	antileishmanial, antimicrobiano	Santos et al. (2008a), Santos et al. (2011)
<i>C. multijuga</i> Hayne	antibacteriana, anti-inflamatório, antileishmanial, antimicrobiana, antiproliferativo	Veiga Jr et al. (2007), Santos et al. (2008a), Deus et al. (2009), Mendonça & Onofre (2009), Vargas et al. (2015)
<i>C. officinalis</i> (Jacq.) L.	antibacteriana, anti-inflamatório, antileishmanial	Santos et al. (2008a), Santos et al. (2013), Trindade et al. (2018)
<i>C. paupera</i> (Herzog) Dwyer	antibacteriana, antiproliferativo	Tincusi et al. (2002)
<i>C. reticulata</i> Ducke	antibacteriana, anti-inflamatório, antileishmanial, antinociceptivo, inseticida, larvicida	Silva et al. (2007), Veiga Jr et al. (2007), Correia (2008), Bardají et al. (2016), Trindade et al. (2018)
<i>Copaifera</i> spp. (comercial)	anti-inflamatório, antimicrobiano, antitrypanosomal, larvicida	Veiga et al. (2001), Santos et al. (2008b), Izumi et al. (2012), Kanis et al. (2012), Prophiro et al. (2012), Trindade et al. (2018)

Mendonça & Onofre (2009) apontaram que o óleo-resina de *C. multijuga* apresenta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto, Pacheco et al. (2006) não observaram esta atividade do óleo-resina desta espécie contra *S. aureus* e até mesmo contra qualquer outra bactéria analisada. No entanto, a fração volátil de *C. multijuga* no trabalho de Deus et al. (2009) apresentou a atividade antimicrobiana com (CIM) de 0,08–0,5 µg/mL contra fungos filamentosos (*Aspergillus*) e levedura (*Candida*) *in vitro*.

Santos et al. (2008) relataram a atividade bactericida do óleo-resina de *C. martii*, *C. officinalis* e *C. reticulata in vitro* contra *S. aureus*, *S. aureus* resistente à meticilina, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecalis* (CIM 31,3 - 62,5 µg/mL). Correia (2008) também apontou alta atividade antibacteriana contra *S. aureus* multirresistente (CIM 2,5 µg/mL) e cepas de *S. aureus* ATCC (CIM 5,0 µg/mL) do óleo-resina de *C. reticulata*. Todavia, Brito et al. (2010) evidenciaram que o óleo-resina de *C. officinalis* estimulou o crescimento do tumor de Walker 256 carcinoma inoculado na vagina e colo uterino de ratas.

A atividade cicatrizante em modelo de lesão gástrica do óleo-resina de copaíba é uma das propriedades mais citadas nos estudos etnofarmacológicos (LEANDRO et al., 2012). A atividade cicatrizante foi avaliada por Paiva et al. (1998). Os autores encontraram atividade do óleo-resina de *C. langsdorffii* em doses (oral) de 200 e 400 mg/kg, as quais forneceram proteção significativa contra danos gástricos causados por etanol e estresse de contenção, e na dose de 400 mg/kg preveniu a ulceração gástrica induzida pela indometacina. Anos depois os autores demonstraram a atividade protetora deste óleo-resina contra o dano tecidual induzido pela isquemia-reperfusão intestinal (PAIVA et al., 2004). Entretanto, outros estudos contradizem tal propriedade, como os trabalhos de Brito et al. (1998), onde observaram que o óleo-resina de *C. reticulata* não apresentou atividade cicatrizante em ratos feridos. Resultado semelhante nos trabalhos de Vieira et al. (2008) com o óleo-resina de *C. langsdorffii* e Westphal et al. (2007) com o óleo-resina de *C. multijuga*. Esses resultados aparentemente contraditórios podem ser explicados pelo fato desses óleos-resinas serem de diferentes espécies e terem fontes de coleta diferentes (LEANDRO et al., 2012).

Outro estudo demonstrou o potencial do óleo-resina de *Copaifera* sp. para inibir a proliferação de *Aedes aegypti*, mostrando atividade larvicida em baixas concentrações (CL₅₀ 44-51 mg/mL) (KANIS et al., 2012). Silva et al. (2007) mostraram que as frações hexânica e metanólica de óleo-resina de *C. reticulata* apresentaram alta toxicidade contra larvas de *A. aegypti*. Prophiro et al. (2012) investigaram a eficiência da solução preparada com óleo-resina de *Copaifera* apresentando atividade larvicida em populações de *A. aegypti* com LC₅₀ e LC₉₀ de 47 e 91 mg/L, respectivamente, para *Copaifera* sp. e LC₅₀ e LC₉₀ de 136 e 551 mg/L para *C. guianensis* (nome aceito: *C. guyanensis* Desf., COSTA, 2020).

1.7 Principais atividades biológicas dos ácidos copálico (64), 3 α -hidróxi-copálico (68), de seus enantiômeros e derivados sintéticos

Em geral, a literatura sobre a atividade biológica dos ácidos copálico (64) e 3 α -hidróxi-copálico (68), os seus respectivos enantiômeros, os ácidos copaiférico (66) e alepterólico (71), bem como derivados desses isolados de *Copaifera* vêm crescendo nos últimos anos. É importante destacar que a quase totalidade dos trabalhos sobre a atividade biológica dessas substâncias não apresenta informação sobre a rotação óptica dessas substâncias. Assim, os nomes utilizados nessa parte e na Tabela 9 são os mesmos nomes utilizados pelos autores das obras citadas, porém é reconhecida (aqui) a possibilidade de que se trata do enantiômero da substância nomeada ou uma mistura parcial ou totalmente racêmica.

Um dos poucos trabalhos que apresentam as atividades biológicas dos diterpenos com o $[\alpha]_D$ definido, se destaca o trabalho de Tincusi et al. (2002), onde o ácido copálico (64, $[\alpha]_D^{25} -15,3^\circ$) mostrou atividade antimicrobiana significativa (CIM < 10 $\mu\text{g/mL}$) contra bactérias Gram-positivas, comparável à cefotaxima usada como controle.

Zhang et al. (2020) sintetizaram a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68, isolado da espécie de samambaia *Aleuritopteris argentea* (S. G. Gmél.) Fée) o derivado nitrogenado (134, Figura 21) que inibiu as células de câncer cervical humano (HeLa) com CI_{50} de $7,39 \pm 0,80 \mu\text{M}$ (mais do que o próprio ácido 68) e com baixa toxicidade para células de fígado humano. É interessante que nesse trabalho, esses autores apresentaram dados de cristalografia de raio-x comprovando a configuração absoluta análoga de C-10 e C-5 de Nakano e Djerassi (1961) para a substância isolada (ou seja, 3 α -hidróxi-copálico (68)), porém os autores nomeiam a substância de ácido alepterólico (71).

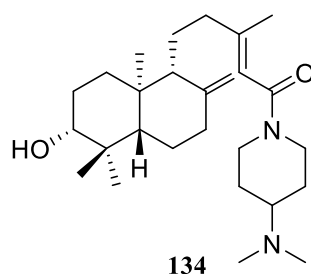


Figura 21: Substância sintética nitrogenada (134) derivado do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68).

Tabela 9: Atividades biológicas atribuídos aos ácidos copálico (**64**), 3 α -hidróxi-copálico (**68**), alepterólico (**71**), “3 β -hidróxi-copálico (**95**)”^{†,‡}, 3 β -acetóxi-copálico (**97**) e derivados em trabalhos da literatura (identidade/composição enantiomérica não estabelecida com dados de rotação óptica, cristalografia de raio-x ou outros métodos).

Atividade biológica	Diterpeno nomeado	Natural/isolado (N) e sintético (S)	Fonte	Referência
Antialimentar	68 e 71	N	<i>Vitex hemsleyi</i>	Gómez et al. (2009)
Anti-inflamatório	64	N	<i>C. cearensis</i> , <i>Curcuma mangga</i>	Fernandes et al. (1992) Liu e Nair (2011)
	64 e 68	S	<i>Copaifera</i> spp. <i>C. multijuga</i>	Souza (2018) Souza et al. (2020)
	64	N	<i>Copaifera</i> spp.	Vargas et al. (2015)
Anti-interleucina e hemolítica	64	N	<i>Copaifera</i> spp.	Vargas et al. (2015)
Antileishmanial	64, 68 e 95 [†]	N e S	<i>C. officinales</i>	Santos et al. (2013) [†]
Antimicrobiana (antibacteriana)	64	N	<i>C. langsdorffii</i>	Fonseca et al. (2013)
			<i>C. langsdorffii</i>	Abrão et al. (2015)
			<i>C. langsdorffii</i>	Medeiros (2019)
			<i>C. multijuga</i>	Souza et al. (2018)
			<i>C. reticulata</i> Ducke	Santos et al. (2020)
Antiproliferativa/ anticâncer	64	N e S	<i>Copaifera</i> sp. <i>C. langsdorffii</i>	Idippily et al. (2017) Abrão et al. (2015)
	64 e 71	S	<i>Copaifera</i> spp. <i>leuropteris argentea</i> .	Imamura et al. (2005) Zhang et al. (2020)
	68	N	<i>Copaifera</i> sp	Vargas et al. (2015)
Anti-tirosinase/ Inibe produção de NO	64 e 68	N e S	<i>C. langsdorffii</i>	Medeiros (2019)
Antitrypanosomal	64 e 68	N	<i>Aristolochia cymbifera</i>	Sartorelli et al. (2010)
	64 e 95 [‡]	N e S	<i>Copaifera</i> sp.	Izumi et al. (2012) [‡]
Antitubercular	64 e 95 [‡]	S	<i>C. langsdorffii</i>	Matos et al. (2015), Silva et al. (2017a) [‡]
			<i>Copaifera</i> sp.	
Antitumoral	64	N	<i>C. langsdorffii</i>	Ohsaki et al. (1994)
			<i>C. langsdorffii</i>	Abrão et al. (2015)
			<i>Curcuma mangga</i>	Liu e Nair (2011), Medeiros (2019)
Citotóxica	64	N e S	<i>C. langsdorffii</i>	Medeiros (2019)
	68 e 71 ^{**}	S	<i>Copaifera</i> spp. <i>euriopteris argentea</i> .	Souza (2018), Zhang et al. (2020) ^{**}
	64	N	<i>Copaifera</i> sp.	Oliveira et al. (2020)
Esquistossomicida	64	N	<i>Copaifera</i> sp.	Oliveira et al. (2020)
Larvicida	71 * e 97 *	N	<i>C. reticulata</i> Ducke	Geris et al. (2008)*

Nota: [†] Santos et al. (2013) não apresentaram dados sobre rotação óptica, RMN ou outros dados que permitiriam confirmar a estrutura da substância **95**, que chamaram no texto de ácido hidróxi-copálico (*hydroxycopalic acid*) e na parte experimental de *3 β -hydroxylabda-8(20),13-dien-15oic acid* (nomenclatura não específica).

[‡] Izumi et al. (2012) e Silva et al. (2017a) não apresentaram dados de rotação óptica. Desenham a estrutura **95** evidentemente equivocadamente, citando trabalho anterior do grupo (SOUZA et al., 2011) onde as estruturas das substâncias isoladas são dos ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) e não do ácido **95**. Mais evidências pela não existência da substância **95**.

^{**}No trabalho de Zhang et al. (2020) a substância nomeada foi o ácido alepterólico, porém a configuração absoluta determinada por cristalografia de raio-x por esses autores foi do enantiômero, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**), esse último com a mesma configuração em C-10 e C-5 de Nakano e Djerassi (1961).

*No trabalho de Geris et al. (2008) os autores não apresentaram dados de RMN ou de rotação óptica dessas substâncias, mas aparentemente pelas estruturas apresentadas e outras informações entenderam ter os enantiômeros antipodais (levógenos) do ácido alepterólico e seu derivado 3-*O*-acetilado ou seja, os ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**), respectivamente.

O ensaio de atividade antialimentar realizada por Gómez et al. (2009) do ácido copaiférico (**66**, $[\alpha]_D +44,3^\circ$) e ácido alepterólico (**71**, $[\alpha]_D +29,4^\circ$) isolados de *Vitex hemsleyi* Briq. é relevante porque mostrou-se que ambas as substâncias inibiram (CI_{50} 90,6 ppm) a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*. Os ácidos alepterólico (**71**) e 3 β -acetóxi-labdan-8(17)-13-dien-15-oico (ácido 3-*O*-acetil-alepterólico, **73**) isolados de *C. reticulata* (nomes das substâncias utilizados pelos autores, sem caracterização da rotação óptica) apresentaram atividade contra as larvas de *A. aegypti* com CL_{50} de 87,3 e 0,8 ppm, respectivamente (GERIS et al., 2008).

A atividade antimicrobiana do ácido copálico (**64**) é a mais investigada na literatura (FONSECA et al., 2013; ABRÃO et al., 2015; SOUZA et al., 2018; MEDEIROS, 2019; SANTOS et al., 2020) e conforme informado no início dessa seção, sem dados de rotação óptica para confirmar a identidade dessa substância nos trabalhos apresentados abaixo. Souza et al. (2018) confirmaram a atividade antimicrobiana do ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) à 205,4 μ M (62,5 μ g/mL) e 3,3 μ M (1,0 μ g/mL) de biofilmes pré-formados de *Peptostreptococcus anaerobius* e *Actinomyces naeslundii*, respectivamente, eliminando em pelo menos 99,9% da proliferação das bactérias *in vitro*. Assim também no trabalho de Fonseca et al. (2013), onde esse ácido diterpênico se mostrou mais ativo no controle de várias bactérias Gram-positivas relacionadas à mastite bovina com valores de CIM de 5,1 μ M e 6,2 μ M (1,56 a 6,25 μ g/mL), respectivamente.

Em outros trabalhos não acompanhados por rotação óptica das substâncias ensaiadas, o ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) mostrou atividade hemolítica significativa com 38,4% de hemólise a 100 μ M, inibindo a produção de óxido nítrico em macrófagos ativados por lipopolissacarídeos e o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) ($[\alpha]_D$ não informado) inibiu a enzima tirosinase (64% \pm 1,5%) a 250 μ M (VARGAS et al., 2015). O ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) e seus derivados obtidos por transformação fúngica também apresentaram atividade esquistosomicida variada contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (OLIVEIRA et al., 2020).

Izumi et al. (2012) mostrou o potencial antitripanosoma do ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) contra amastigotas (CI_{50} 1,3 μ M), epimastigotas (CI_{50} 47,2 μ M) e tripomastigotas (CI_{50} 444 μ M) de *Trypanosoma cruzi* e do seu derivado metilado **65** ($[\alpha]_D$ não informado) contra amastigotas (CI_{50} 2,5 μ M), epimastigotas com (CI_{50} 83,3 μ M), tripomastigotas (CI_{50} 377 μ M) de *Trypanosoma cruzi*.

No trabalho de Santos et al. (2013) os autores apontaram atividade antileishmanial *in vitro* do copalato de metila (**65**) ($[\alpha]_D$ não informado) contra promastigotas CI_{50} 18,8 μ M (6,0 μ g/mL) e amastigotas CI_{50} 43,9 μ M (14,0 μ g/mL) de *Leishmania amazonensis*, bem como do ácido 3 β -hidróxi-copálico (**95**) ($[\alpha]_D$ não informado) contra promastigotas CI_{50} 7,8 μ M (2,5 μ g/mL) e amastigotas CI_{50} 56,2 μ M (18,0 μ g/mL) da mesma espécie. Silva et al. (2017a) sintetizaram o copalato de sódio (**135**, Figura 22) a partir do ácido copálico (**64**) onde e foi evidenciado atividade antimicobacteriana com valores promissores de CIM 25 μ g/mL (71,7 μ M) e 6,25 μ g/mL (19,2 μ M), respectivamente, para essas substâncias contra *Mycobacterium tuberculosis*.

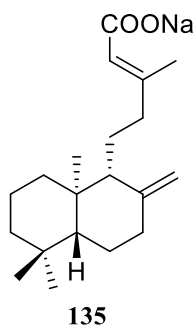


Figura 22: Substância sintética copalato de sódio (**135**) derivado do ácido copálico (**64**).

1.8 Atividade citotóxica de diterpenos isolados do óleo-resina de copaíba

A atividade citotóxica do óleo-resina de copaíba é abrangente na literatura, diversos trabalhos apresentam testes com diterpenos isolados, dentre esses últimos os ácidos copálico (**64**), 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) e seus derivados são nomeados nesses trabalhos. Como discutido no tópico anterior, a maioria desses diterpenos não apresentam dados de rotação óptica/configuração absoluta nesses trabalhos da literatura. Na Tabela 10 é apresentada uma metanálise de estudos de viabilidade celular com esses principais diterpenos de *Copaifera* e seus derivados.

Dos trabalhos relatados na Tabela 10, o ácido copálico (**64**) apresentou melhores resultados nos trabalhos relacionados à viabilidade celular em células normais. Medeiros (2019) constatou que o ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) apresentou redução da viabilidade celular em torno de 50% na concentração de 100 μ M frente à linhagem tumoral de células de adenocarcinoma de pulmão humano (A549). No mesmo estudo os

diterpenos ácidos 3 α -acetóxi-copálico (**70**, 50 μ M) e 3 α -hidróxi-copálico (**68**, 100 μ M) (ambos sem $[\alpha]_D$ informados) reduziram entre 45-70% a produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos RAW264.7.

Tincusi et al. (2002) analisou a atividade citotóxica do derivado copalato de metila (**65**, $[\alpha]_D^{25}$ -18.5 $^\circ$) que exibiu atividade inibitória sobre as quatro linhagens de células cancerígenas P-388, A-549, HY-29 e MEL-28 com valores de CI_{50} de 2,5; 5,0; 5,0 e 10 μ g/mL, respectivamente. Veiga Jr et al. (2007) avaliaram a citotoxicidade do óleo-resina de *C. reticulata* (que apresentou como um dos principais constituintes o ácido copálico **64**). O óleo-resina dessa espécie foi citotóxica em macrófagos peritoneais em uma concentração de 500 μ g/mL.

No trabalho de Souza et al. (2011a) o ácido copálico (**64**) não apresentou citotoxicidade sobre fibroblastos humanos nas concentrações de 7,8 a 62,5 μ M. Fonseca et al. (2013) também confirmou a viabilidade de fibroblastos tratados com ácido copálico (**64**) em linhagem celular de fibroblastos em concentrações 6,25 μ M. Os ácidos copálico (**64**) e “3 β -hidróxi-copálico (**95**)” (ver nota na Tabela 10) foram hemolíticos para 50% dos eritrócitos em concentrações abaixo de 200 μ M. Essas substâncias apresentaram os valores de concentração citotóxica- CC_{50} de 39,4 e 31,2 μ M, respectivamente (IZUMI et al., 2012).

No estudo de Vargas et al. (2015), os ácidos copálico (**64**), 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) (todos sem $[\alpha]_D$ informados) não apresentaram citotoxicidade em linhagens celulares normais de linfócitos humanos nas concentrações de 7,8 a 500 μ M, nem mostraram mudanças significativas na viabilidade de células da linha tumoral das linhagens AGP-01 (gástrica), HCT116 (colorretal), MCF07 (câncer de mama), NIHOVCAR (ovário), SKAMELL-4 (melanoma) e SF-295 (glioblastoma humano). Os autores constataram que o 3 α -hidróxi-copálico (**68**) ($[\alpha]_D$ não informado) inibiu a enzima tirosinase em $64 \pm 1,5\%$ na concentração de 250 μ M. O ácido copálico (**64**) ($[\alpha]_D$ não informado) exibiu atividade hemolítica significativa (38,4% de hemólise a 100 μ M). Além disso, observaram uma inibição por esse mesmo diterpeno na produção de óxido nítrico em macrófagos murinos de camundongo (J774) ativados por lipopolissacarídeo ($98,5 \pm 1,3\%$ a 100 μ M).

Como visto, o estudo da citotoxicidade com os diterpenos é comum na literatura, porém alguns estudos apontam a ineficiência ou baixa atividade desses principais diterpenos frente as linhagens de células tumorais: P-388 (neoplasia linfóide de ratos

DBA/2), A549 (adenocarcinoma alveolar humano), HT-29 (carcinoma de cólon humano), MEL-28 (melanoma humano), AGP-01 (adenocarcinoma gástrico), HCT-116 (carcinoma de cólon humano) (TINCUSI et al., 2002; ABRÃO et al., 2015; VARGAS et al., 2015).

Tabela 10: Resumo da literatura sobre a atividade citotóxica e viabilidade celular frente aos diterpenos ácidos copálico (**64**), 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) e “3 β -hidróxi-copálico (**95**)”^{*} do óleo-resina.

Linhagens de células	Viabilidade	Diterpeno	Referência
A549	Redução de 50%	64	Medeiros (2019)
RAW264.7	Redução da produção de NO	68	
V79	Redução de 50 %	64	Abrão et al. (2015)
THP-1	atividade hemolítica (87%) e intenso decréscimo na hemólise	64	Sartorelli et al. (2010)
LLC-MK2	Atividade moderada	64 e 95*	Izumi et al. (2012)
		64	Portapilla (2014)
Fibroblastos humanos primário	Não citotóxico	64	Fonseca et al. (2013) Souza et al. (2011a)
J774	Redução em 98,5% a produção NO	64	Vargas et al. (2015)
	Redução em 50%	68	

Nota: (A549) células de adenocarcinoma de pulmão humano, (J774) macrófagos murinos de camundongo, (LLC-MK2) epitelial tecido renal de macacos *rhesus*, (RAW264.7) macrófagos humanos, (THP-1) células monocíticas de leucemia humana e (V79) fibroblastos de pulmão de hamster chinês.

^{*}apesar de Izumi et al. (2012) ter atribuído o nome/estrutura de 3 β -hidróxi-copálico (**95**) com a mesma configuração em C-10, C-9 e C-5 definido por Nakano e Djerassi (1961) para o ácido copálico, não foi utilizado rotação óptica na caracterização, nem dados confirmatórios de RMN de ¹H (*e.g.* para H-3) foram incluídos ou referência citada da literatura com esses dados. Não foi possível até o presente momento encontrar dados físicos e espectrais comprobatórios da existência da substância **95** nas diversas literaturas consultadas, inclusive teses e dissertações.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ❖ Isolar substâncias orgânicas a partir da fração não-volátil residual do óleo-resina de copaíba comercial e preparar derivados de interesse a partir das substâncias isoladas.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Levantar dados bibliográficos sobre as atividades biológicas, composição química e dados espectrométricos de componentes químicos encontrados em *Copaifera* spp.;
- ❖ Isolar ácidos diterpênicos da fração não-volátil residual resultante da extração do óleo essencial industrial do óleo-resina de copaíba;
- ❖ Submeter as substâncias isoladas às reações de desacetilação, acetilação e butirilação, e avaliar os rendimentos dos produtos;
- ❖ Identificar e elucidar as estruturas das substâncias isoladas e produtos sintetizados por meio de técnicas como RMN 1D e 2D, CL-EMAR e EM(n).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi desenvolvido no Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia-LAPAAM, localizado na Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTEI), prédio n°. 53 (*ex*-Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais-CPPN), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA. Também contou com o apoio integral da Central Analítica-Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) da Coordenação de Pesquisas (COPES) do INPA. Apoios pontuais também foram recebidos 1) do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (prédio n°. 53, INPA), 2) da Central Analítica Multidisciplinar (CAM) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e 3) do Laboratório de Química Orgânica do Ambiente Marinho (LQOAM) na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP/USP, Ribeirão Preto-SP).

3.1 Equipamentos e aparelhos analíticos

Foram utilizados, para a análise e condução laboratorial desse trabalho, os seguintes equipamentos:

- No LAPAAM e dependências:
 - ❖ Agitadores magnéticos, marca Fisatom;
 - ❖ Balança analítica: marca Master, modelo AY220 (220 - 0,0001 g);
 - ❖ Balança semi-analítica: marca Toledo, modelo ARC120 (3.100 - 0,01 g);
 - ❖ Banho de ultrassom: marca Unique, modelo USC-1800^a;
 - ❖ Câmara com lâmpada de UV: modelo UVGL-58 (l = 365 ou 254 nm);
 - ❖ Câmara com lâmpada de UV: marca UVP, modelo CC-10 (l = 365 ou 254 nm);
 - ❖ CLAE, marca Shimadzu, 2 bombas LC- 6AD binária com divisor de fluxo, detector de PDA e DIR, lâmpada de deutério e tungstênio e CBM-20;
 - ❖ Chapas aquecedoras, marca Fisatom;
 - ❖ Manta aquecedora: marca Fisatom, modelo 752a;
 - ❖ Rotaevaporador: marca Fisatom, modelo 804;
 - ❖ Software Bruker TopSpin 4.1.4, versão gratuita;
 - ❖ Software ChemDraw 19.0, versão gratuita.

- Na CA-LTQPN:
 - ❖ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) da marca Bruker Biospin, modelo Fourier 300 MHz (maiores detalhes na seção 3.5);
 - ❖ Cromatógrafo líquido ultrarrápido Modelo Prominence UFLC (Shimadzu) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (UFLC-EMAR) da marca Bruker Daltonics, modelo MicrOTOF-QII (maiores detalhes na seção 3.4.3);
 - ❖ Espectrômetro de massas do tipo *ion trap* (EM-IT) da marca Bruker Daltonics, modelo Amazon Speed (maiores detalhes na seção 3.4.4).

- Laboratório de bioprospecção:
 - ❖ CLAE, Modelo Shimadzu, equipado com bomba binária LC6AD, detector de arranjo de diodos (DAD) SPDM-20A e injetor automático SIL-10AF. A coluna utilizada foi a Phenomenex C-18 (250 × 10 mm, 5μ).

- No Laboratório de Química Orgânica do Ambiente Marinho (FCFRP/USP):
 - ❖ Polarímetro P-300 Jasco (Japan) e cela de cilindro de vidro (3,5 × 50 mm).

- Na Central Analítica Multidisciplinar-CAM (LRMN/UFAM):
 - ❖ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) da marca Bruker AVANCE III HD operando a 11.75 teslas.

3.2 Material utilizado

No acompanhamento das etapas cromatográficas e reações químicas realizadas neste projeto, foram utilizados os materiais listados abaixo:

- ❖ Cromatoplacas de 20 × 20 cm para cromatografia em camada delgada de sílica gel de fase normal 60 (CCD) com suporte de alumínio e indicador de fluorescência F₂₅₄ (Merck);
- ❖ Cromatoplacas de 20 × 20 cm para cromatografia em camada delgada de sílica gel de fase reversa RP-18 (CCD-FR) com suporte de alumínio e indicador de fluorescência F₂₅₄ (Merck);
- ❖ Revelador para CCD: solução formada por *p*-anisaldeído, ácido acético, metanol e ácido sulfúrico;

- ❖ Iluminação para CCD: radiação ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$);
- ❖ Sílica de fase normal 60 da marca Macherey-Nagel (0,063 - 0,200 mm/70-230 *mesh* ASTM) para cromatografia (Merck, Alemanha);
- ❖ Sílica de fase reversa da marca LiChroprep® RP-18 (0,040 - 0,063 mm) para cromatografia (Merck).

3.3 Solventes e reagentes

Os solventes orgânicos comuns foram de grau técnico e foram purificados por destilação fracionada no LAPAAM. Alguns dos reagentes utilizados neste trabalho foram purificados no LAPAAM. Os reagentes líquidos e sólidos foram tratados e armazenados em locais apropriados.

- **Solventes:**

- ❖ Acetato de etila (AcOEt), destilado
- ❖ Acetona, destilada;
- ❖ Ácido fórmico (HCOOH, grau CLAE, marca Sigma-Aldrich)
- ❖ Ácido trifluoroacético (TFA, grau CLAE, marca Sigma-Aldrich).
- ❖ Água, deionizada;
- ❖ Clorofórmio (CHCl_3), destilado;
- ❖ Clorofórmio deuterado (CDCl_3 , D, 99,8%, marca Silver Foil- DLM-7-100S);
- ❖ Hexano, destilado;
- ❖ Metanol (MeOH), grau CLAE;
- ❖ MeOH, destilado;
- ❖ Metanol deuterado (CD_3OD , D, 99,8%, marca Aldrich).

- **Reagentes:**

- ❖ Ácido clorídrico (HCl) (líquido)
- ❖ Anidrido acético (líquido, marca Synth);
- ❖ Anidrido butírico (líquido, marca Synth);
- ❖ Dimetilaminopiridina (DMAP) (sólido, marca Agro organics);
- ❖ Hidróxido de amônio (NH_4OH) (líquido, marca Nuclear);

- ❖ Hidróxido de potássio (KOH) (sólido, marca Synth);
- ❖ Piridina (líquido; marca Merck).

3.4 Técnicas cromatográficas e espectrométricas

3.4.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As cromatoplasmas de fase normal e de fase reversa foram recortadas até uma altura de 5 cm, demarcadas com lápis com 1,0 cm da parte inferior (linha de partida) e 0,5 cm da parte superior (final de corrida/frente do solvente). As placas de CCD foram visualizadas em câmara de UV nos comprimentos de onda 254 e 365 nm, e reveladas por borrifação de solução de *p*-anisaldeído, seguida de aquecimento em uma chapa aquecedora a 100°C.

3.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para a preparação de substâncias purificadas para análises (amostras analíticas) foi utilizada CLAE-DAD. Esse método foi realizado no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (prédio n°. 53, COTEI, *ex*-CPPN, INPA) em colaboração com o doutorando (PPGQ, o MSc. Ciên. David Ribeiro da Silva). As amostras foram solubilizadas em MeOH com algumas gotas de CHCl₃. O cromatógrafo utilizado foi da marca Shimadzu, equipado com bomba binária LC6AD, detector de arranjo de diodos (DAD) SPDM-20A e injetor automático SIL-10AF. A coluna utilizada foi a Phenomenex C-18 (250 × 10 mm, 5μ). Os solventes utilizados foram MeOH grau CLAE e água deionizada, com 0,1 % de ácido trifluoroacético (TFA), grau CLAE.

3.4.3 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (CL-EMAR)

As CL-EMAR foram realizadas na CA-LTQPN/INPA utilizando um cromatógrafo líquido ultrarrápido Modelo Prominence UFLC (Shimadzu), equipado com bomba binária LC-20AT e injetor automático SIL-20A. A coluna cromatográfica utilizada foi o Modelo (Shimadzu) Shim-pack XR-ODS (50 × 2,0 mm), utilizando o

sistema solvente, bomba A ($\text{H}_2\text{O} + 0,1\% \text{HCO}_2\text{H}$) e bomba B (MeOH), no sistema gradiente (0 -14 min, variando de 70 - 100%), com o fluxo de 0,4 mL/min, injeção 1 μL . Esse sistema contou com um detector de arranjo de diodos (DAD) da marca Shimadzu, modelo SPD-20A e o espectrômetro de massa utilizado foi da marca Bruker Daltonics, modelo MicroTOF-QII, com analisador de massas do tipo tempo de voo (TdV), fonte de íons do tipo APCI em modo negativo, com resolução de 17500 FWHM (*full width at half maximum*) em alta resolução. Os dados de EMAR foram processados utilizando o software Bruker Compass Data Analysis 4.2.

3.4.4 Espectrometria de massas de *ion-trap* (EM-IT) e fragmentação (infusão direta)

Na CA-LTQPN/INPA, foram preparadas as soluções de 1 mg/mL de cada amostra isolada, dissolvendo-se 1mg de cada substância purificada em 1 mL de MeOH grau LC-MS. As amostras foram analisadas no espectrômetro de massas por infusão direta através da bomba de seringa. Os espectros de fragmentações das substâncias isoladas foram adquiridos em um espectrômetro de massa de marca Bruker Daltonics, modelo Amazon Speed, fonte APCI em modo negativo, equipado por um analisador do tipo íon *trap* (armadilha de íons).

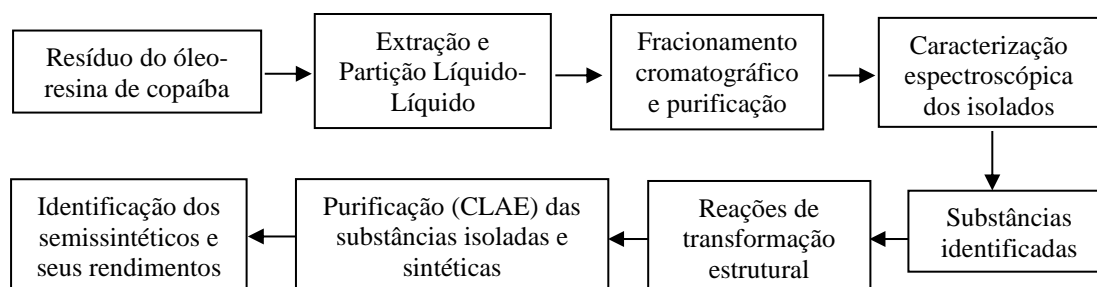
3.5 Ressonância magnética nuclear (RMN)

Para as análises de RMN, o solvente utilizado para solubilizar as amostras foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3). Os espectros foram obtidos na CA-LTQPN/INPA em um espectrômetro da marca Bruker BioSpin AG, Modelo Fourier 300 UltraShield, com frequência de 300 MHz (7,0 Tesla), sonda Easyprobe Dul 300 MHz S1 5 mm Z-Gradient operando na frequência de δ_{H} 300 MHz (RMN ^1H) e δ_{C} 75 MHz (RMN ^{13}C). O tetrametilsilano (TMS) utilizado como sinal de referência dos deslocamentos, as constantes de acoplamento (J) foram expressas em hertz (Hz) e os deslocamentos químicos (δ) expressos em parte por milhão (ppm). Foram obtidos os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 e os bidimensionais COSY, HSQC e HMBC.

A análise de *J*-Res foi realizada no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear na Central Analítica Multidisciplinar (CAM), localizado no Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFAM, no espectrômetro de RMN Bruker AVANCE III HD, operando a 11,75 Tesla, observando os núcleos de ^1H e ^{13}C a 500,13 e 125,76 MHz, respectivamente, equipado com uma sonda multinuclear de 5 mm (BBFO Plus SmartProbe™) com gradiente de campo na direção Z.

3.6 Isolamento de diterpenos da fração não-volátil do óleo-resina de copaíba industrial

Esse trabalho partiu do resíduo não-volátil do óleo-resina de copaíba de origem industrial para o isolamento de diterpenos do tipo labdano utilizando métodos de separação como partição líquido-líquido e cromatografia. O objetivo era a obtenção dessas substâncias para utilização como materiais de partida em aproveitamento em semissínteses. Após elucidação estrutural os diterpenos foram submetidos a reações de modificação estrutural e os produtos obtidos foram identificados e quantificados (Fluxograma 1).



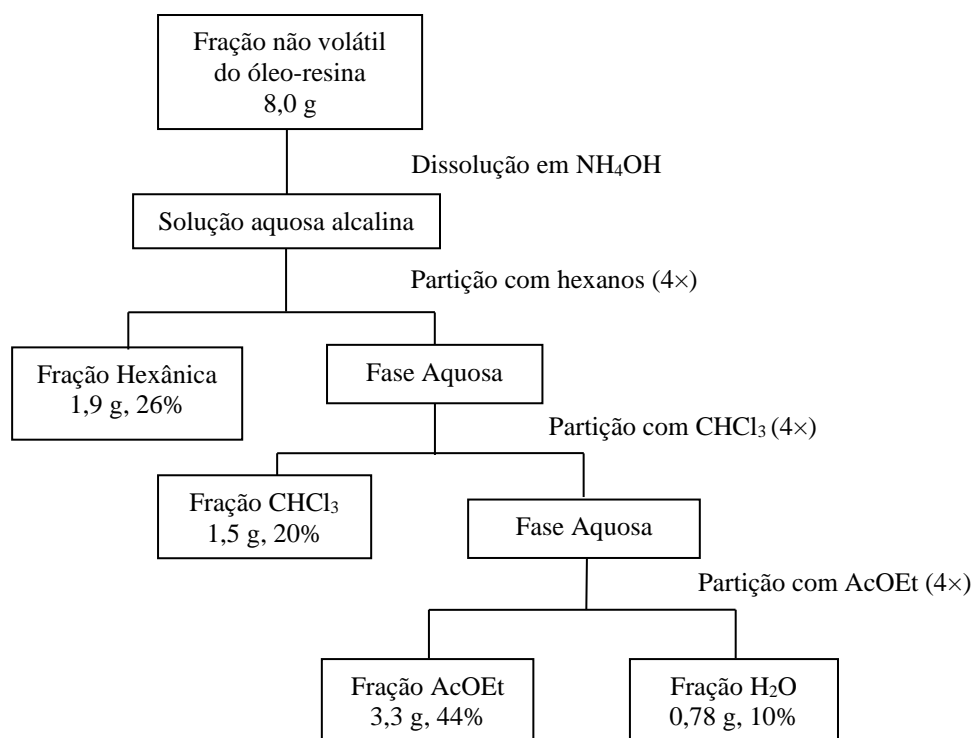
Fluxograma 1: Visão geral das etapas no desenvolvimento do trabalho.

O resíduo não-volátil do óleo-resina de copaíba (comercial) foi disponibilizado pela empresa Mattoso Extratos Naturais Ltda (Kaapi) no CNPJ 08.165.605/0001-44 de Paulínia - SP. A amostra de resíduo industrial fornecida foi previamente cadastrada pela empresa no SisGen sob o número ADFDEF2 e posteriormente pelo orientador deste trabalho, sob o número A2B43D9. Dentre as atividades realizadas pela empresa é a

obtenção da fração volátil (óleo essencial ou óleo volátil) a partir da destilação do óleo-resina de copaíba, restando assim a fração não volátil no final do processo. Esse resíduo se apresenta à temperatura ambiente como um sólido gelatinoso e amorfo de cor castanha-escura a marrom e foi utilizado neste estudo como matéria-prima para o isolamento das substâncias e modificação estrutural dessas últimas. Esse resíduo industrial tem origem em mais do que uma espécie não-identificada portanto *Copaifera* spp. é a descrição mais apropriada do conhecimento das espécies envolvidas (Eduardo Mattoso/Kaapi, comunicação pessoal). A não ser quando especificado o apoio de outros grupos de pesquisas ou laboratório, as atividades descritas abaixo foram realizadas no LAPAAM.

3.6.1 Partição líquido-líquido (PLL) da fração não volátil do óleo-resina de copaíba

A metodologia de PLL foi adaptada de Vargas et al. (2015) (Fluxograma 2). Foram utilizados cerca de 8,0 g da amostra da fração não volátil do óleo-resina de copaíba recebida da empresa e transferidos para um béquer de 500 mL. O material foi dissolvido em 400 mL de uma solução de NH_4OH (2%, v/v), e a mistura heterogênea resultante foi levada ao ultrassom por 60 min, em seguida foi deixada em repouso por 72 h. Após esse tempo, a mistura apresentou-se um aspecto leitoso com formação de precipitado, então foi colocada no banho de ultrassom por 15 min a 40°C. Em seguida foi transferida para um funil de separação de 1000 mL ao qual foram acrescentados 150 mL de hexano. O conteúdo do funil foi agitado vigorosamente por 1 min e em seguida a fase hexânica foi separada. A partição com hexano foi repetida um total de 4 vezes. As fases hexânicas foram combinadas, gerando assim a fração hexânica. Em seguida, a fase aquosa resultante da partição com hexano foi particionada com CHCl_3 (4×150 mL) e posteriormente com AcOEt (4×150 mL), resultando nas frações CHCl_3 , AcOEt e H_2O (Fluxograma 2). Em seguida, as quatro frações obtidas foram concentradas no rotaevaporador a vácuo e cada uma foi transferida para um frasco separado, identificado e pré-pesado. Os frascos foram deixados em um banho de areia a 100°C. Após a evaporação até peso constante, os frascos contendo as frações foram pesados. Foram calculados seus respectivos rendimentos, que somados foram de 94% da massa do material bruto inicial (Fluxograma 2). A PLL descrita acima concentra ácidos diterpênicos na fração CHCl_3 (VARGAS et al., 2015).



Fluxograma 2: Partição líquido-líquido da fração não volátil do óleo-resina de copaíba de origem industrial.

3.6.2 Análise da fração não volátil do óleo-resina de copaíba e frações da PLL por RMN

A fração não volátil do óleo-resina e as frações geradas na partição líquido-líquido foram analisadas por RMN de ^1H utilizando os seguintes procedimentos. Para a fração não volátil do óleo-resina e a fração CHCl_3 o procedimento foi: 1) 15 mg de cada amostra foi dissolvida em 1 mL de CHCl_3 e cada solução resultante foi levada para banho de ultrassom por 30 min, 2) após esse processo porções das soluções translúcidas resultantes foram individualmente filtradas em algodão e cada filtrado resultante foi evaporado e pesado. Para as frações hexanos, AcOEt e H_2O , 1) 20 mg cada fração foi dissolvida parcialmente em 2 mL de CHCl_3 , resultando em soluções heterogêneas, em seguida as frações foram levadas ao ultrassom por 30 min, 2) em seguida as frações apresentaram um aspecto turvo, então uma parte de cada mistura de amostra foi filtrada em algodão e cada filtrado resultante foi evaporado e pesado. Desses procedimentos, resultaram as amostras solúveis em CHCl_3 (6-11 mg) a partir da fração não volátil do óleo-resina de copaíba e das frações hexânica, CHCl_3 , AcOEt e H_2O (seção 3.6.1) para análise por RMN de ^1H (Figura 27, Apêndices 1-5). Foram evidenciados sinais de diterpenos em *ca.* δ 2,0

- 2,2 e 4,2 - 5,7 nos espectros de RMN de ^1H da fração não volátil do óleo-resina da copaíba (Figura 26) e em todas as frações geradas na PLL (Figura 27).

3.7 Purificação por técnicas cromatográficas

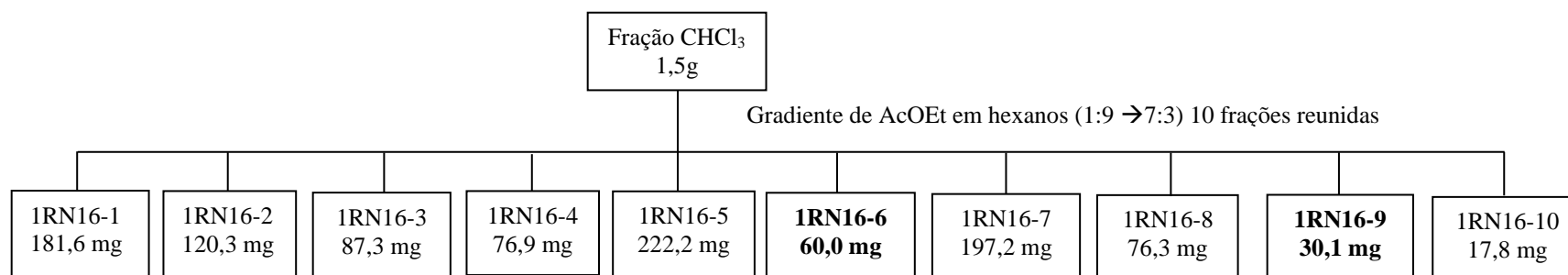
Para a realização do isolamento das substâncias de interesse, foi utilizada cromatografia em coluna e a sílica gel de fase normal (0,063 - 0,200 mm/70-230 mesh ASTM), produzida na Alemanha e embalada no Brasil, pela empresa Merck. Para a pré-purificação foi utilizada a cromatografia em coluna de vidro (CC) de $\Phi \times h = 1 \times 10$ cm: fase reversa sílica gel RP-18 (0,040 - 0,063 mm).

3.7.1 Fracionamento cromatográfico da fração CHCl_3

A fração CHCl_3 (1,5 g) dissolvida em CHCl_3 (5 mL) e 8,0 g sílica gel *flash* (0,063-0,200 mm) foram combinados e evaporados, resultando em uma pastilha (sílica impregnada com amostra). Uma coluna cromatográfica ($\Phi \times h = 2 \times 40$ cm) foi empacotada pela adição de uma mistura de sílica gel *flash* (0,063 - 0,200 mm) em hexano. Em seguida, a pastilha foi adicionada na cabeça da coluna com a ajuda do solvente hexano. A fase móvel Hex/AcOEt (9:1) foi adicionada à cabeça da coluna e a eluição seguiu por ação da gravidade (sem uso de pressão externa/bomba). Para o acompanhamento da saída da primeira substância da coluna, foi feita a amostragem periodicamente do eluente na saída da coluna com um capilar, aplicando-se o eluente coletado em uma placa de CCD e aplicando uma solução de *p*-anisaldeído à placa e revelando a placa em cima de uma placa aquecedora. Repetiu-se esse procedimento até detectar a primeira substância na placa de CCD (cor roxa).

Após a constatação da saída da primeira substância (após a saída de aproximadamente 50 mL de eluição), iniciou-se a coleta das frações em pequenos vidros de amostra, colhendo-se aproximadamente 2 a 4 mL de amostra em cada vidro. O andamento da CC foi monitorado por CCD utilizando o sistema de eluentes Hex/AcOEt (6:4). A polaridade do sistema de eluentes da CC foi aumentada por incrementos de 5% de AcOEt até chegar em Hex/AcOEt (7:3). Foi coletado um total de 130 (cento e trinta)

frações (FC1-FC130), que foram analisadas por CCD no sistema Hex/AcOEt (6:4) e reunidas de acordo com sua semelhança cromatográfica em dez (10) frações reunidas. Dentre as dez frações, a 1RN16-6 e a 1RN16-9 apresentaram boa pureza por CCD e iluminação no UV₂₅₄ (Fluxograma 3) e em seguida, foram purificadas utilizando o procedimento geral de CLAE-FR semi-preparativa (seção **3.9**).



Fluxograma 3: Isolamento das substâncias da fração CHCl₃: 1RN16-6 e 1RN16-9.

3.7.1.1 1RN16-6 (ácido 3 α -acetóxi-copálico, 70)

A substância isolada 1RN16-6 (60,0 mg; 3,9% m/m baseado na massa da fração CHCl₃; R_f = 0,65 CCD, Hex/AcOEt 6:4, v/v) apresentou-se como um sólido amorfo de coloração branca com solubilidade em CHCl₃. Fora a análise por CCD, a sua pureza cromatográfica foi evidenciada por CLAE-FR-DAD (Apêndice 6) e CL-EMAR (Apêndice 7). Conforme apresentado na seção de resultados e discussão, a análise dos dados dos cromatogramas de CL-EMAR (Apêndice 7), espectros de RMN de ¹H (Apêndices 8 e 9), RMN de ¹³C (Apêndice 10), DEPT 135 (Apêndice 11), COSY (Apêndice 12), HSQC (Apêndices 13 e 14), HMBC (Apêndices 15 e 16), *J*-Res (Apêndice 17), rotação óptica [α]_D²⁵ - 183° e o conjunto dos dados de fragmentação (Figura 36) da amostra isolada e comparação com dados de RMN (Tabelas 11 e 12) levaram à identificação dessa substância como o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**).

3.7.1.2 1RN16-9 (ácido 3 α -hidróxi-copálico, 68)

A substância 1RN16-9 (30,1 mg; 1,9% m/m baseado na massa da fração CHCl₃; R_f = 0,42 CCD fase normal, Hex/AcOEt 6:4, v/v) se apresentou como um sólido amorfo de coloração branca, solúvel em CHCl₃. Além de pureza por CCD, a pureza dessa substância isolada foi corroborada por análises de CLAE-FR-DAD (Apêndice 18) e CL-EMAR (Apêndice 19). Conforme apresentado na seção de resultados e discussão, análise dos dados espectrais de CL-EMAR (Apêndice 19), RMN de ¹H (Apêndices 20 e 21), RMN de ¹³C (Apêndices 22 e 23), DEPT 135 (Apêndice 24), COSY (Apêndice 25), HSQC (Apêndices 26 e 27), HMBC (Apêndices 28 e 29), *J*-Res (Apêndices 30 e 31), rotação óptica [α]_D²⁵ - 33° e o conjunto dos dados de fragmentação (Figura 45) e RMN (Tabelas 13 e 14) confirmaram a identidade da substância 1RN16-9 como o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

3.8 Reações de semissíntese

A metodologia das reações foi adaptada de Pereira (2018). Para o presente trabalho, foram utilizados como materiais de partida para reações de semissíntese as substâncias

isoladas ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**, 1RN16-6) para a reação de desacetilação e ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**, 1RN16-9) para as reações de acetilação e butirilação.

3.8.1 Desacetilação do ácido **70**: síntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**)

Em um balão de 5 mL foi adicionado o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**, isolado da fração não-volátil do óleo-resina, conforme descrito acima; 10,0 mg; ou 27,5 μ mol) dissolvido em CHCl₃ (200 μ L). Em seguida, foi adicionada uma solução hidrometanólica (MeOH/H₂O, 9:1, v/v) de KOH a 10% (500 μ L). A solução reacional foi mantida sob agitação magnética em temperatura ambiente. Após 24 h a reação foi interrompida com a adição de HCl 0,1 N. O material resultante foi extraído com CHCl₃ (5 \times 3 mL) e os extratos orgânicos foram combinados e deixados no banho de areia para a secagem e a obtenção do produto bruto. O procedimento reacional está resumido na Figura 23. Em seguida, o produto bruto da reação foi purificado conforme o método geral de CLAE semi-preparativa (Seção 3.9). O produto apresentou-se como um sólido branco amorfo e solúvel em CHCl₃ com R_f = 0,42 por CCD e eluentes Hex/AcOEt, 6:4, v/v, iluminação por UV₂₅₄ e revelação por *p*-anissaldeído/ Δ). Conforme apresentado na seção de resultados e discussão, após análises dos dados de CLAE-FR-DAD (Apêndice 32), CL-EMAR (Apêndice 33) e RMN de ¹H (Apêndices 34 e 35), foi confirmada a identidade do principal produto como o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

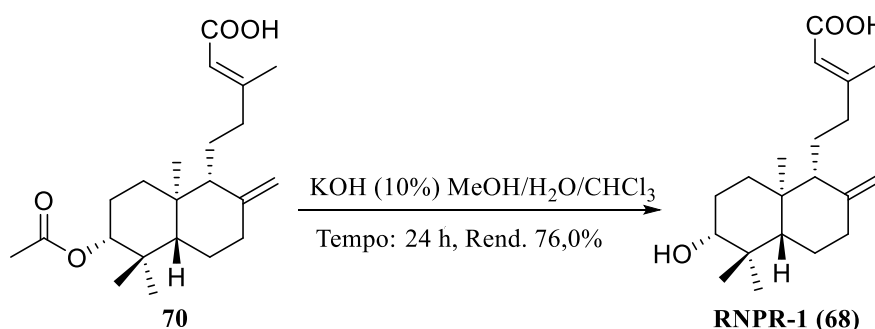


Figura 23: Semissíntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) a partir do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

3.8.2 Acetilação do ácido **68**: síntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**)

Em um balão de fundo redondo de 5 mL foi adicionado o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**; isolado da fração não-volátil do óleo-resina, 11,2 mg; 34,9 μ mol). Em seguida foi adicionado anidrido acético (Ac₂O, 200 μ L; 216 mg; 2,12 mmol), depois a piridina (400 μ L; 392 mg; 4,96 mmol), e por fim, dimetilaminopiridina (DMAP; 0,8 mg; 6,5 μ mol) e a reação foi agitada magneticamente sob uma atmosfera de N₂ à temperatura ambiente durante 24 h. Após esse tempo, foi adicionada H₂O (3 mL) e a mistura reacional foi neutralizada com HCl 0,1 N (2% v/v). A mistura resultante foi extraída com CHCl₃ (5 \times 3 mL) e os extratos orgânicos foram evaporados em banho de areia por 24 h, resultando no produto bruto (Figura 24) que em seguida foi purificado por CLAE semi-preparativa (Seção 3.9). O produto purificado apresentou-se como um sólido branco amorfo e solúvel em CHCl₃. Apresentou R_f = 0,65 em CCD com eluentes Hex/AcOEt, 6:4, iluminação com UV₂₅₄ e revelação com *p*-anisaldeído/ Δ (formando mancha de cor roxa). Conforme mostrado na seção de resultados e discussão, o produto formado, o 3 α -acetóxi ácido **70** foi analisado por CLAE-FR-DAD (Apêndice 36) e CL-EMAR (Apêndice 37), bem como RMN de ¹H (Apêndices 38 e 39), permitindo a confirmação da sua estrutura.

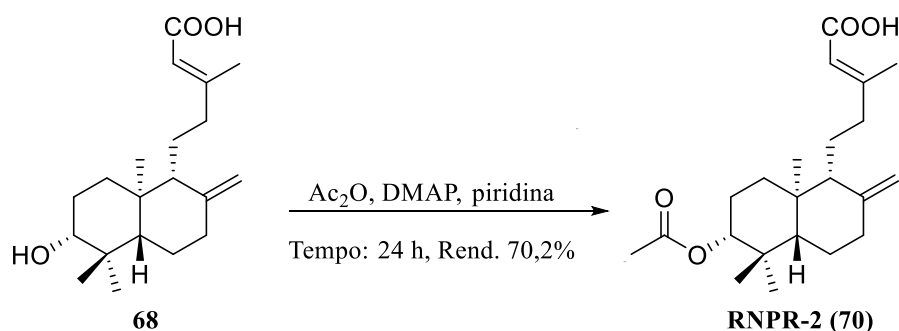


Figura 24: Semissíntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado.

3.8.3 Butirilação do ácido **68**: síntese do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (**136**)

Em um balão de fundo redondo 5 mL, foi adicionado o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**; isolado da fração não-volátil do óleo-resina, conforme descrito acima; 8,0 mg; 24,9 μ mol), anidrido butírico (100 μ L; 96,7 mg; 611 μ mol), piridina (200 μ L; 196 mg; 2,48

mmol), e por fim dimetilaminopiridina DMAP (0,75 mg; 6,1 μ mol) e a reação foi mantida sob agitação magnética em uma atmosfera de N_2 à temperatura ambiente durante 24 h. A reação foi finalizada com a adição de H_2O (3 mL) e a mistura foi neutralizada com HCl 0,1 N. A formação do produto foi constatada por CCD eluindo com Hex/AcOEt (6:4), iluminando com UV_{254} e revelando com *p*-anisaldeído/ Δ , onde foi possível verificar a formação da mancha do produto, de cor roxa escura ($R_f = 0,67$). A mistura resultante foi extraída com $CHCl_3$ (5×3 mL) e os extratos orgânicos foram evaporados em banho de areia para a obtenção do produto bruto (Figura 25) que foi purificado conforme o método geral por CLAE semi-preparativa (Seção 3.9). O produto purificado apresentou-se como um sólido branco amorfo com solubilidade em $CHCl_3$. Apresentou $R_f = 0,67$ em CCD utilizando os eluentes Hex/AcOEt (6:4). Após análise por CLAE-DAD (Apêndice 40) foram realizadas as análises de CL-EMAR (Apêndice 41) e de RMN de 1H (Apêndices 42 e 43). Conforme apresentado na seção de resultados e discussão, os dados espectrais estão consistentes com a formação do produto de butirilação, o ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136).

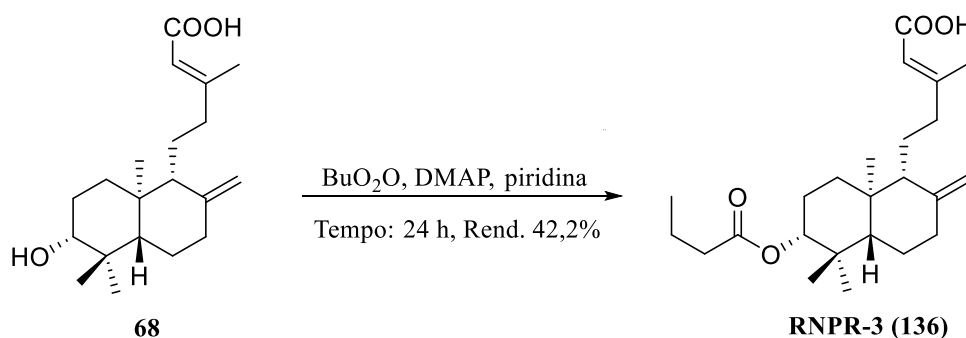


Figura 25: Semissíntese do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (136) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) isolado.

3.9 Procedimento geral para purificação por CLAE das substâncias isoladas e sintetizadas

Todas as substâncias cujo isolamento ou preparação foi descrito acima foram analisadas por CCD-FR para então serem submetidas à pré-purificação em coluna aberta ($\Phi \times h = 1 \times 10$ cm) com sílica de fase reversa e MeOH/ H_2O (95:5) como eluentes, seguido de evaporação total dos solventes. Após a pré-purificação, cada substância foi levada à purificação em CLAE-FR.

Para este procedimento, cada substância foi solubilizada em MeOH grau CLAE e depois filtrada em microfiltro Milipore Millex-HV 0,45 μm . Por CLAE a injeção de cada substância ocorreu de modo automático na coluna semi-preparativa de fase reversa RP-18 (Phenomenex, $h \times \Phi = 250 \times 10$ mm, partícula de 5 μm), da marca Shimadzu, com 2 bombas LC- 6AD binária com divisor de fluxo, detector de PDA e RID, lâmpada de deutério e tungstênio e CBM-20, localizada na sala de equipamentos no prédio n°. 53, COTEL, ex-CPPN, INPA).

A corrida cromatográfica ocorreu de forma isocrática com o sistema MeOH:H₂O-0,1% TFA (80:20) para os 3 α -acetóxi ácidos **70** (1RN16-6 e RNPR-2), no sistema MeOH:H₂O-0,1% TFA (75:25) para os 3 α -hidróxi ácidos **68** (1RN16-9 e RNPR-1) e no sistema MeOH:H₂O-0,1% TFA (85:15) para o 3 α -butanoilóxi ácido **136** (RNPR-3). O fluxo para os sistemas citados foi de 4,7 mL/min com monitoramento nos comprimentos de onda de 254, 229 e 190 nm. Após a purificação das substâncias sintetizadas, foram calculados os rendimentos das respectivas reações.

3.10 Análise de rotação óptica das substâncias isoladas

Os valores de rotação óptica dos ácidos 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e 3 α -acetóxi-copálico (**70**) foram determinados no equipamento Polarímetro P-300, Jasco-Japan-Cylindrical glass cell 3.5 \times 50 mm – Jasco Parts Center, empregando-se como solvente o CHCl₃ grau HPLC Honeywell-Riedel-de-Haen® 99,99%, na temperatura de 25 °C e na concentração de 0,0020 g/mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises de RMN de ^1H da fração não volátil do óleo-resina e das suas frações (PLL)

As elucidações estruturais das substâncias isoladas da fração não volátil do óleo-resina de copaíba industrial estão apresentadas mais abaixo e os sinais característicos dessas substâncias são relevantes para a análise de RMN de ^1H da fração não volátil do óleo-resina (Figura 26, Apêndice 1). Nesse espectro foi evidenciada a relativa abundância dos ácidos 3α -hidróxi-copálico (**68**) e 3α -acetóxi-copálico (**70**) pela presença de um duplo-dupletto centrado em δ_{H} 3,26 que corresponde ao H-3 do 3α -hidróxi ácido (**68**) (seção 4.2.2.1), os multipletos em *ca.* δ_{H} 4,85 e 4,51, o simpleto em δ_{H} 5,67 (seções 4.2.1.1 e 4.2.2.1). Assim também com a presença dos sinais de simpletos de metila na faixa de δ_{H} 0,5 - 2,20 característicos dos labdanos, com destaque ao sinal da metila δ_{H} 2,16 correspondente ao H-22 (grupo acetila) do 3α -acetóxi ácido **70** (seção 4.2.1.1, Apêndice 1).

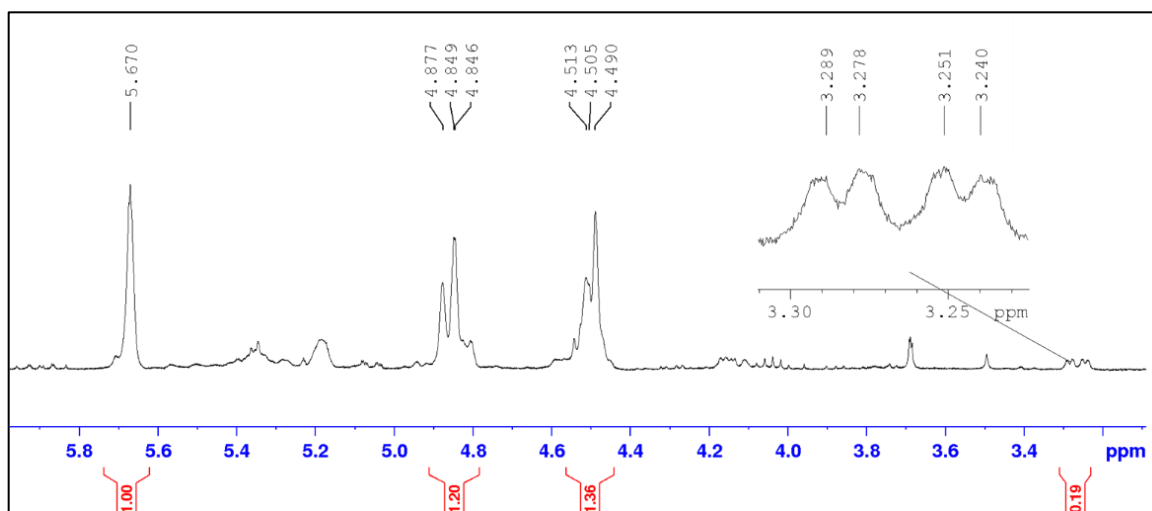


Figura 26: Ampliação da região δ_{H} 3,3-5,8 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.

O espectro de RMN de ^1H da parte solúvel em CHCl_3 das frações provenientes da partição líquido-líquido da fração não volátil do óleo-resina do óleo-resina (Figura 27), revela que o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) está presente em quantidades mínimas nas frações hexânica (Apêndice 2), AcOEt (Apêndice 4) e aquosa (Apêndice 5), por outro lado esse diterpeno apresentou maior concentração na fração CHCl_3 (Apêndice 3). O ácido 3α -

acetóxi-copálico (**70**) em contrapartida está presente majoritariamente nas frações hexano, CHCl_3 e AcOEt. Essa etapa da separação pode ser melhorada em trabalho futuro. As frações hexano, CHCl_3 e AcOEt contém quantidade relevante do ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) um indicativo pela extração com hexano e/seguido de AcOEt no futuro o que poderá eliminar uso de CHCl_3 (problemas ambientais), bem como levar a maior seletividade e rendimento na extração dos ácidos **68** e **70**.

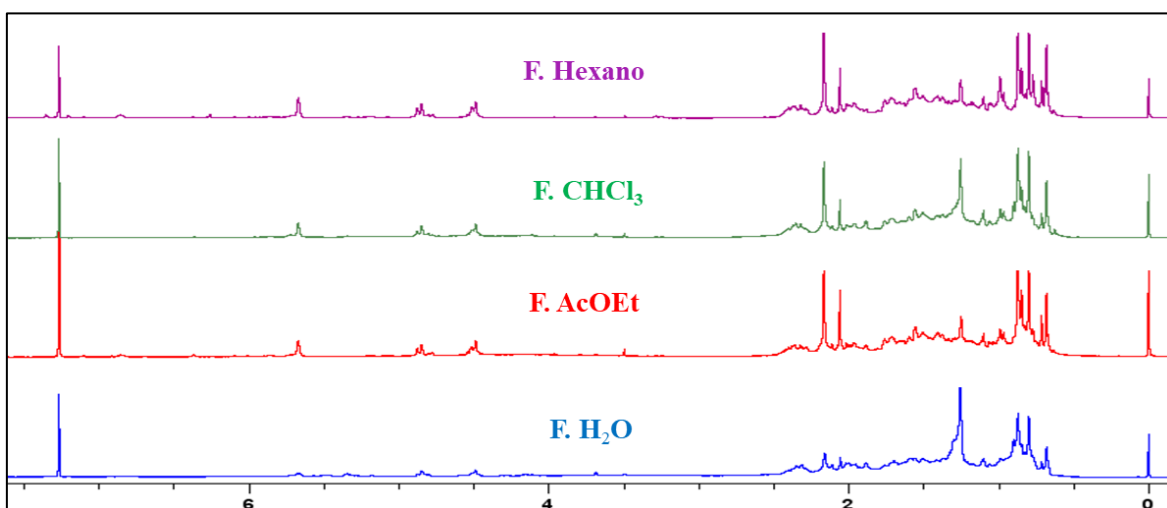


Figura 27: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das frações provenientes da partição líquido-líquido da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.

Uma análise qualitativa dos integrais dos sinais dos diterpenos da fração CHCl_3 (Figura 28, Apêndice 3) permite inferir sobre a relativa composição dos ácidos **68** e **70**. Assim, o integral para 1H do simpleto em δ_{H} 5,67 (presumivelmente correspondente ao H-14 dos ácidos **68** e **70**) em relação ao integral de 0,3H do duplo-duplete do H-3 em δ_{H} 3,26 do ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**), permite fazer estimativa de 0,7H da contribuição do 3α -acetóxi-copálico (**70**) para o integral do sinal em δ_{H} 5,67. Dessa forma, a proporção dos ácidos **68** e **70** detectados nesses extratos seria de 3:7, semelhante aos rendimentos isolados de 30,1 e 60 mg, respectivamente.

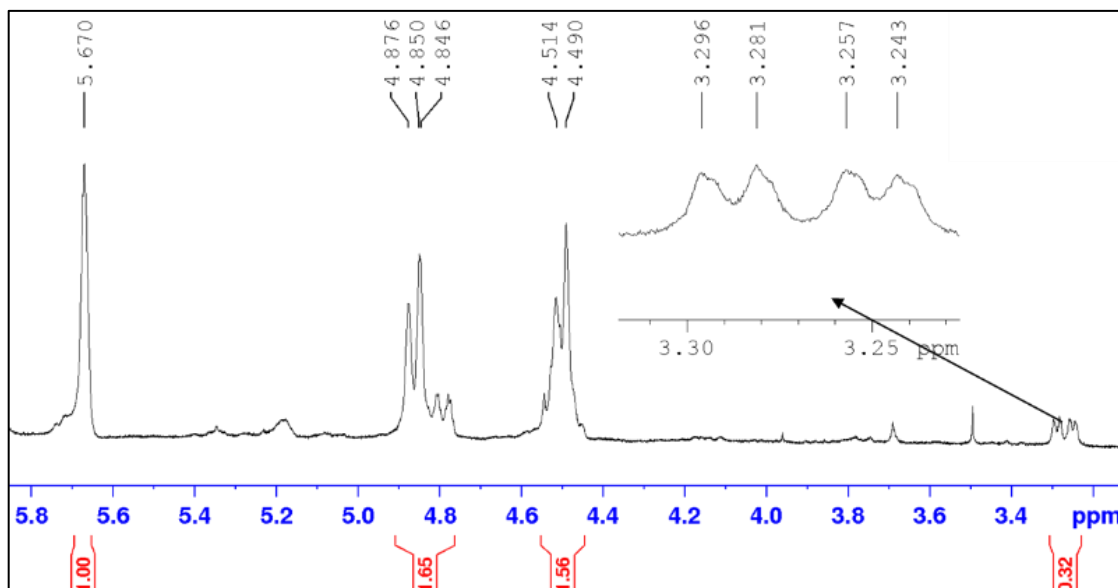


Figura 28: Ampliação da região δ_H 3,3-5,8 do espectro de RMN de 1H da fração $CHCl_3$ particionada da fração não volátil do óleo-resina de copaíba.

4.2 Elucidação das estruturas das substâncias isoladas e sintetizadas

4.2.1 Elucidação estrutural da substância isolada 1RN16-6

Ao analisar os dados dos espectros de CL-EMAR da substância 1RN16-6, onde foi apresentada a fórmula $C_{22}H_{34}O_4$, m/z $[M-H]^-$ 361,2370 ($\Delta = 3,9$ ppm), $[\alpha]_D^{25} -183^\circ$ ($CHCl_3$, $25^\circ C$, $c=0,0020$ g/mL), juntamente com os dados espectrais de RMN unidimensional e bidimensional (Tabela 11), comparação com os dados de Vargas et al. (2015) e Carvalho (2016), e por fim, com análises conformacionais utilizando a equação de Karplus para corroborar as configurações relativas, foi concluído que a estrutura 1RN16-6 tratava-se do ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**). O que segue é uma análise detalhada dos dados espectrais obtidos que levaram a essa elucidação estrutural.

4.2.1.1 Análise dos dados de RMN 1D e 2D do ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**)

O trabalho de elucidação estrutural do ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) isolado (Figura 29) teve início no espectro de RMN de 1H (Apêndices 8 e 9) que apresentou diversos sinais

de multipletos na região de δ_H 0,5 - 2,5. Nessa região, observaram-se quatro simpletos provenientes de hidrogênios de metilas, com valores de deslocamento em δ_H [2,05 (H-22); 0,87 (H-18); 0,84 (H-19) e 0,71 (H-20)] e um sinal de duplete em δ_H 2,17 (H-16, $J = 0,7$ Hz) (Figura 30).

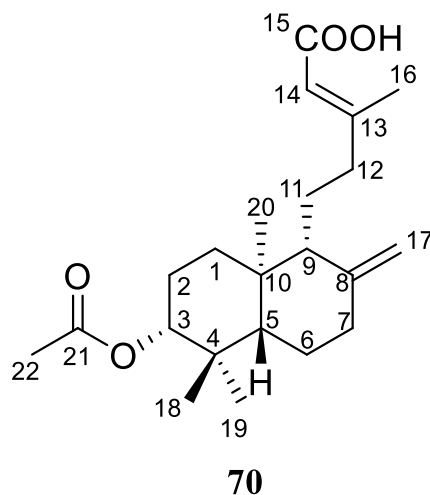


Figura 29: Estrutura do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado com o esqueleto numerado.

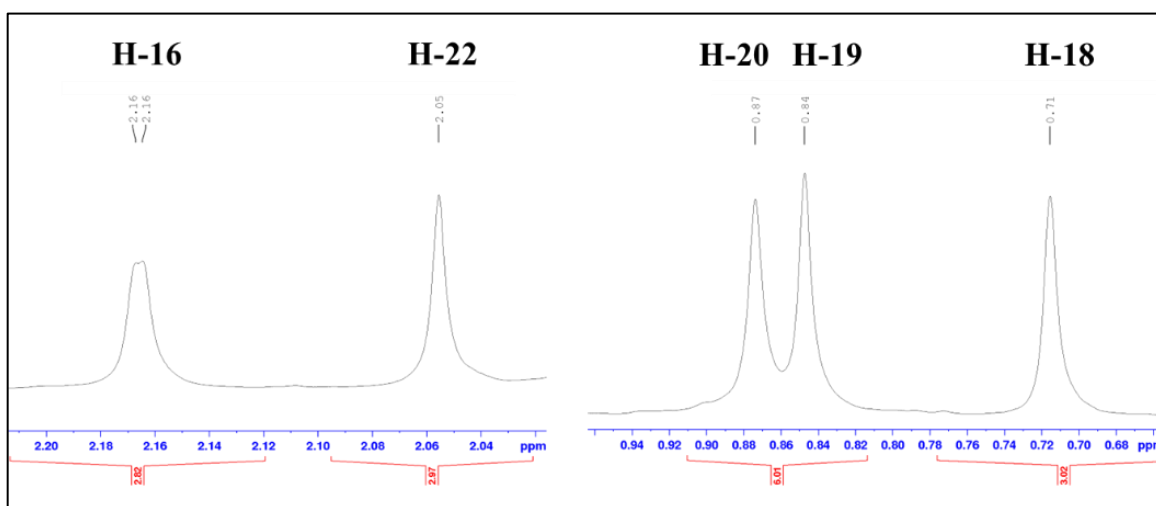


Figura 30: Ampliação das regiões δ_H 0,66 – 0,96 e δ_H 2,0 – 2,2 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

Outros simpletos foram observados em δ_H 5,66 (H-14) e δ_H 4,87 (H-17) referentes aos hidrogênios vinílicos (Apêndice 8). Dos diversos sinais de multipletos sobrepostos do

espectro de RMN de ^1H , destacam-se também o sinal de δ_{H} 1,17 (H-5, *dd*, $J = 12,4$ e $2,3$ Hz) (Figura 31). O espectro também apresentou um multipletto na faixa de δ_{H} 4,46 a 4,58 com integral para 2H que corresponde aos sinais sobrepostos de H-3 e Hb-17 (Figura 32). Esse multipletto consiste em um sinal centrado em δ_{H} 4,52 (*sl*, Hb-17) e os demais picos (em δ_{H} 4,54; 4,50 e 4,49 e o sinal em δ_{H} 4,52) são do H-3 (*ca.* δ_{H} 4,52, “*dd*”, $J = 11,5$ e $4,3$ Hz. Com ajuda do *J*-Res (Apêndice 17) foi possível confirmar que o multipletto é formado pela sobreposição do sinal do H-3 em δ_{H} 4,52 (*dd*), $J = 11,5$ e $4,3$ Hz) e um dupletto do Hb-17 ($J = 3$ Hz).

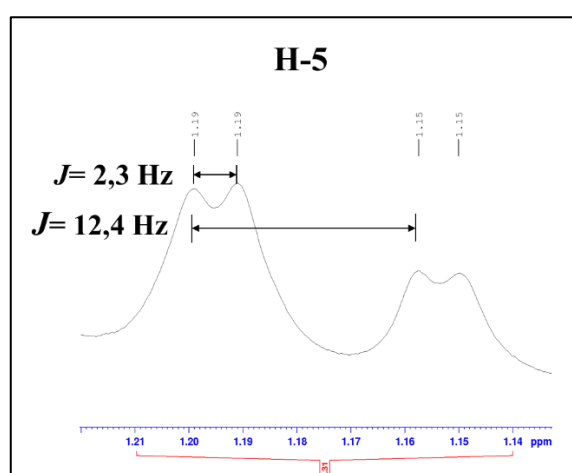


Figura 31: Ampliação da região de δ_{H} 1,14 - 1,22 do espectro de RMN de ^1H (δ_{H} 300 MHz, CDCl_3) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

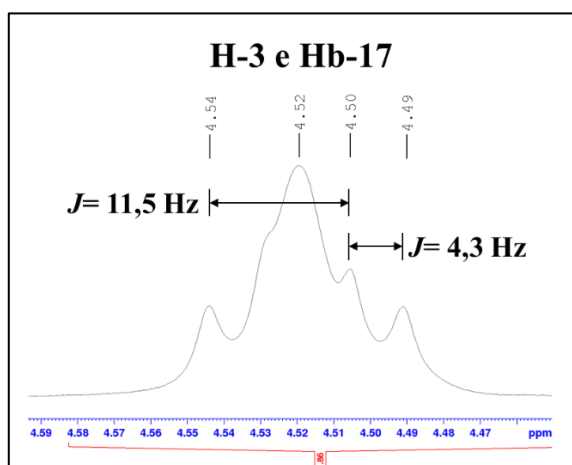


Figura 32: Ampliação da região de δ_{H} 4,47 - 4,59 do espectro de RMN de ^1H (δ_{H} 300 MHz, CDCl_3) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33, Apêndice 10) apresentou 23 sinais (sendo 1 sinal de impureza em δ_{C} 29,7), e com os dados espectrais de DEPT 135 (Apêndice 11) e HSQC (Apêndices 13 e 14), foi possível concluir que essa substância apresenta 5 sinais de metilas (CH_3), 7 sinais de metilenos (CH_2), 4 sinais de metinos (CH) e 6 sinais de carbonos quaternários (C). O espectro de RMN de ^{13}C do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) apresenta os sinais característicos de labdanos, como do grupo olefina *exo* (δ_{C} 147,4 (C-8) e δ_{C} 107,0 (C-17)) e o sinal da carbonila em δ_{C} 171,6 (C-15).

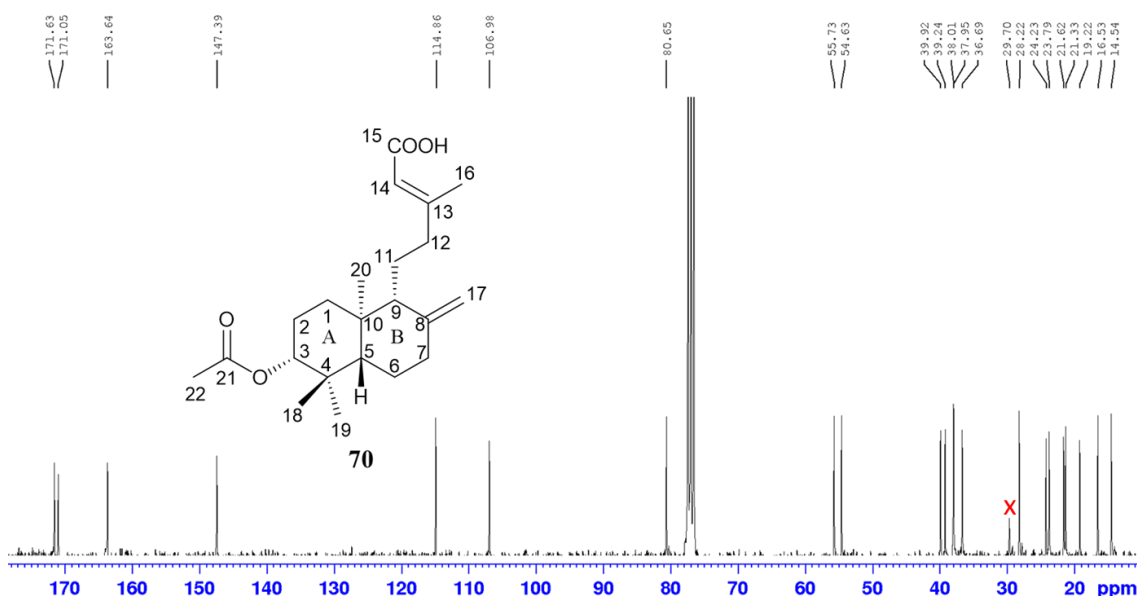


Figura 33: Espectro de ^{13}C (δ_{C} 75 MHz, CDCl_3) do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

No espectro do HMBC (Apêndices 15 e 16, Figura 34) foram observadas as correlações dos sinais dos hidrogênios carbinólico (H-3) e vinílico Hb-17 (sobrepostos em um multipletto centrado em δ_{H} 4,52) com os de átomos de carbono-13 próximos. Assim, o sinal em δ_{H} 4,52 (H-3) correlacionou-se com os sinais em δ_{C} 24,2 (C-2, 2J), δ_{C} 16,5 (C-18, 3J) e δ_{C} 28,2 (C-19, 3J). Os sinais em δ_{H} 5,66 (H-14, 3J) e δ_{H} 2,31 (Ha-12, 3J) correlacionaram-se com o sinal em δ_{C} 19,2 (C-16).

Também no espectro de HMBC (Figura 34), os sinais dos hidrogênios (vinílicos) da dupla ligação *exo* [em δ_{H} 4,87 (Ha-17) e 4,52 (Hb-17)] apresentaram correlações com os sinais em δ_{C} 55,7 (C-9, 3J) e 38,0 (C-7, 3J). O sinal em δ_{H} 0,84 (H-18) correlacionou-se com os sinais em δ_{C} 54,7 (C-5, 3J) e 28,2 (C-19, 3J). Também, o sinal em δ_{H} 0,71 (H-20)

apresentou correlações com os sinais em δ_C 36,7 (C-1, 3J); 39,3 (C-10, 2J); 54,7 (C-5, 3J) e 55,7 (C-9, 3J). O sinal em δ_H 1,97 (H β -12) correlacionou-se com os sinais em δ_C 163,6 (C-13, 2J) e δ_C 19,2 (C-16, 3J). E por fim, o sinal em δ_H 0,87 (H-19) apresentou correlações com os sinais em δ_C 16,5 (C-18, 3J); δ_C 54,7 (C-5, 3J) e δ_C 80,6 (C-3, 3J).

No espectro de COSY (Apêndice 12, Figura 35) os sinais em δ_H 4,52 (H-3) e δ_H 1,71 (H α -2, 3J) e em δ_H 1,42 (H α -6) e δ_H 1,17 (H-5, 3J) estão correlacionados. Foram também observadas as correlações entre os sinais em δ_H 1,25 (H α -1) e δ_H 1,78 (H β -1, 2J) (acoplamento geminal) e a correlação em “W” do δ_H 1,25 (H α -1) com o δ_H 0,71 (H-20, 4J). Também, o sinal em δ_H 2,31 (H α -12) apresentou correlação com o sinal em δ_H 1,97 (H β -12, 2J) (acoplamento geminal). Referente aos hidrogênios vinílicos, o sinal em δ_H 4,87 (Ha-17) apresentou correlações com os sinais em δ_H 4,52 (Hb-17, 2J) (acoplamento geminal), δ_H 1,56 (H-9, 4J) e δ_H 1,97 (H β -7, 4J) (essas últimas devidas a acoplamentos vinil-alfílicos), o sinal em δ_H 4,52 (Ha-17) apresentou correlação com δ_H 1,97 (H β -7, 4J) (acoplamento vinil-alfílico) e o sinal em δ_H 5,66 (H-14) correlacionou-se com o δ_H 2,17 (H-16) (acoplamento vinil-alfílico).

Os dados de RMN 1D e 2D observados para o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado da fração não volátil do óleo-resina de copaiba estão resumidos na Tabela 11.

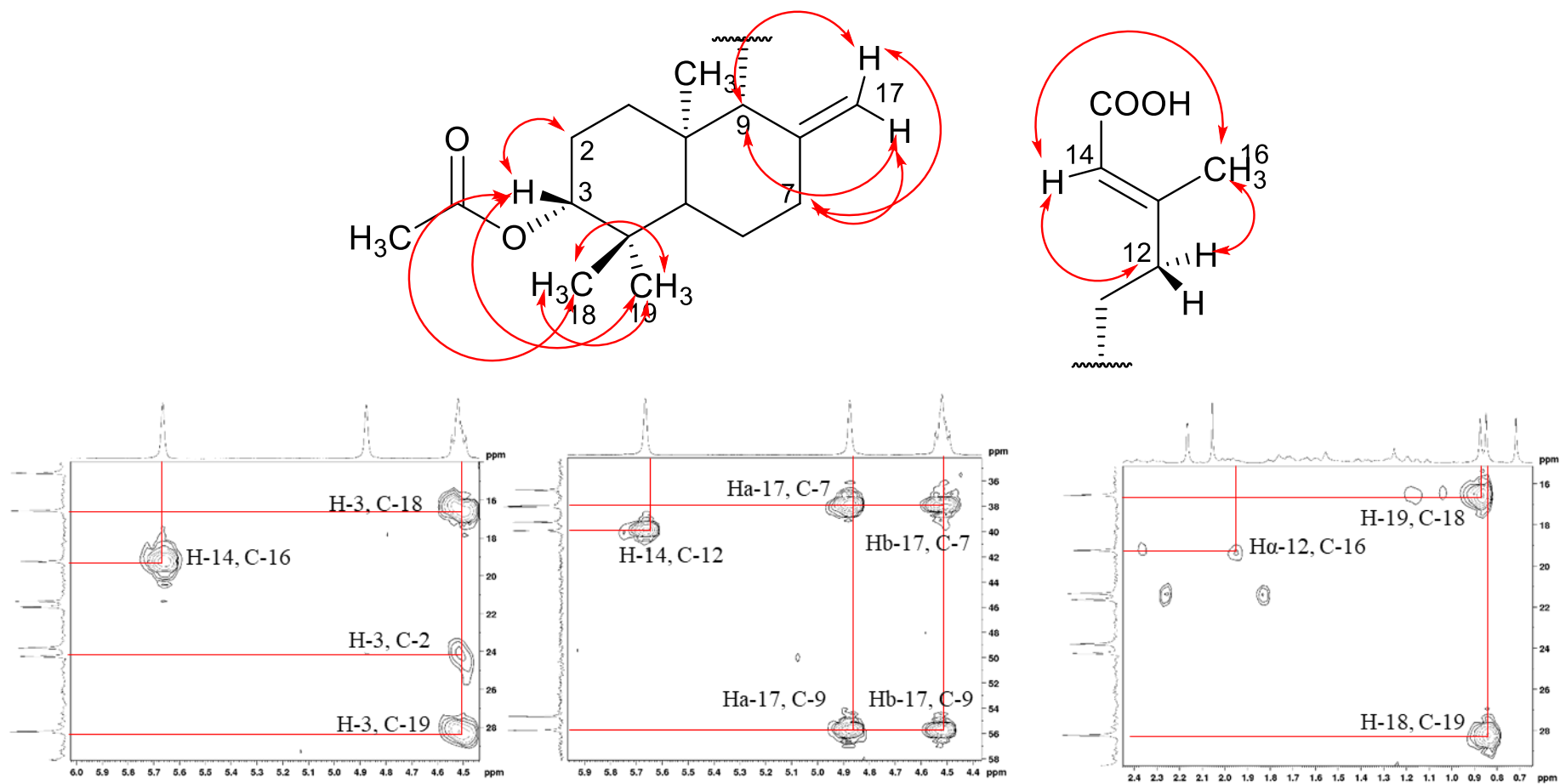


Figura 34: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3α-acetóxi-copáico (**70**) isolado (^1H -300, ^{13}C -75 MHz, CDCl_3).

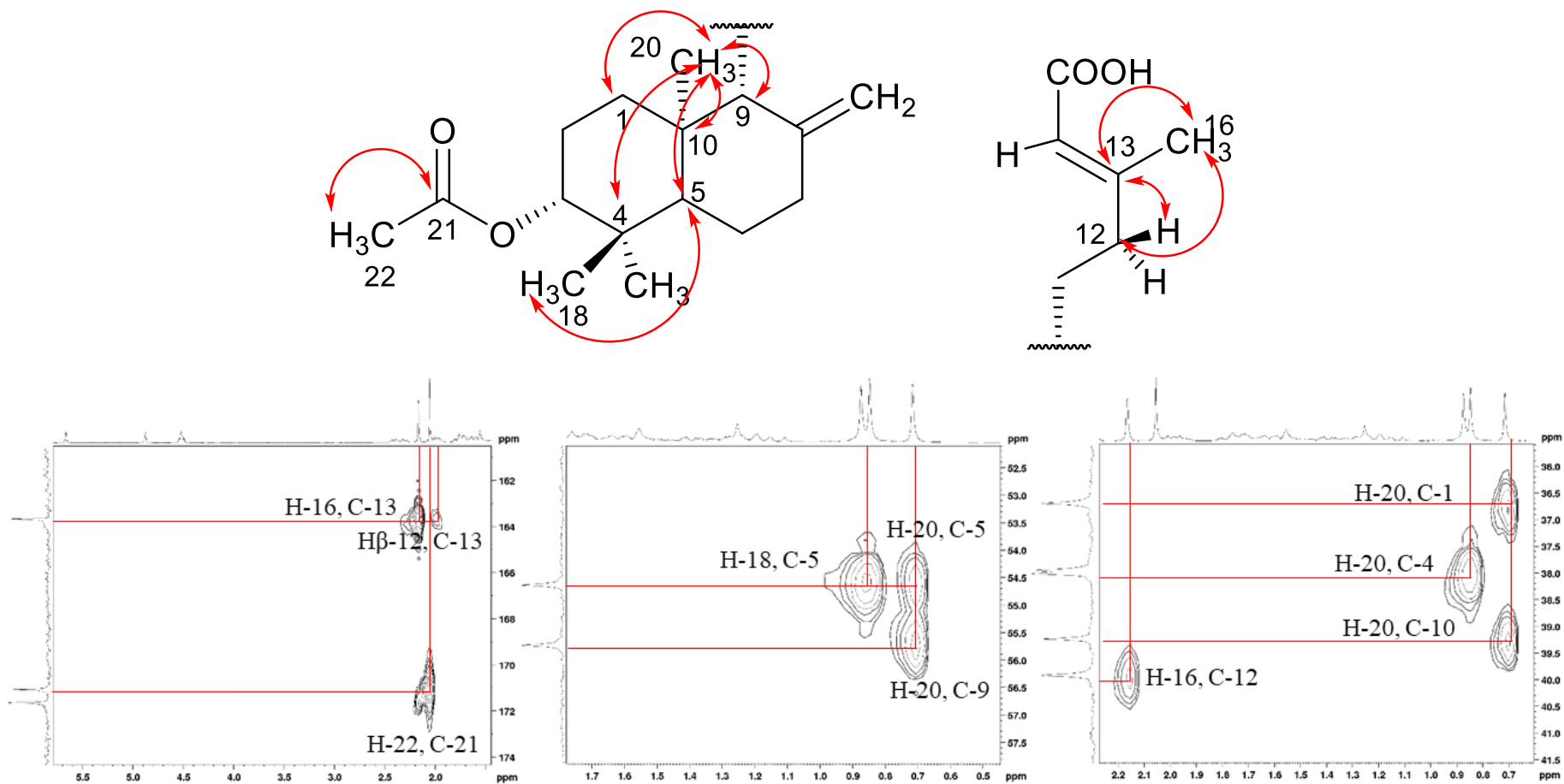


Figura 34: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3 α -acetóxi-copáico (**70**) isolado (^1H -300, ^{13}C -75 MHz, CDCl_3). (Continuação)

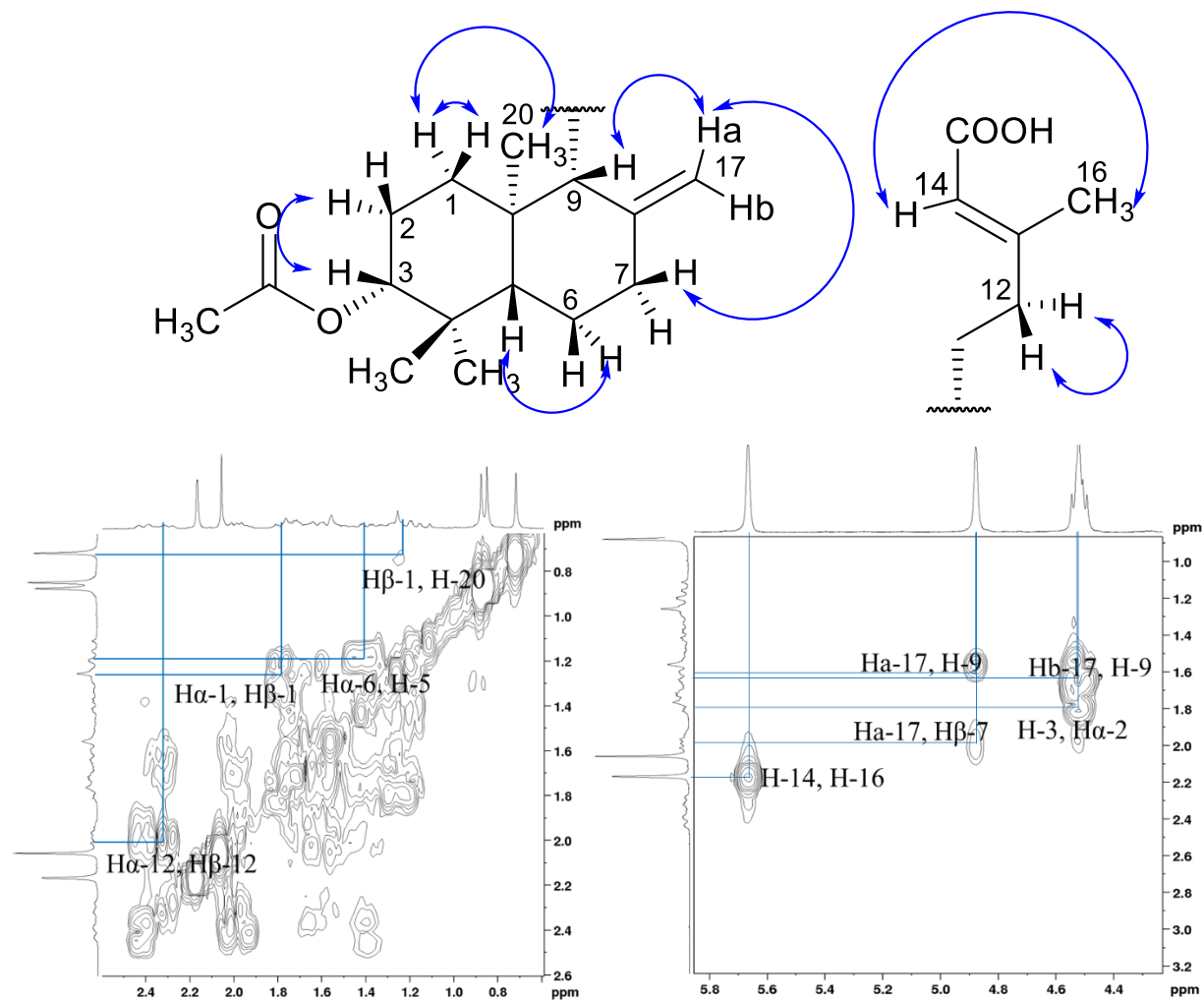


Figura 35: Correlações comuns do COSY do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado (^1H -300 MHz, CDCl_3).

Tabela 11: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado [δ_{H} 300/ δ_{C} 75 MHz; CDCl₃].

C	(δ_{C})	DEPT	¹ H (δ_{H}) / HSQC	HMBC (δ_{C})	COSY(δ_{H})
C-1	36,7	CH ₂	1 α_{ax} - 1,25 (<i>m</i>)	14,5; 55,7; 80,6	1,78 (H α -1)
			1 β_{eq} - 1,78 (<i>m</i>)	14,5; 24,2; 39,3; 54,7; 80,6	1,25 (H α -1)
C-2	24,2	CH ₂	2 α_{eq} - 1,71 (<i>dt</i>)	80,6	4,52 (H-3)
			2 β_{ax} - 1,62 (<i>ddd</i>)	55,7; 39,3	-
C-3	80,6	CH	4,52 (<i>m</i> , <i>J</i> = 11,5; 4,3 Hz)**	24,2; 16,5; 28,2	1,71 (H α -2)
C-4	37,9	C	-	-	-
C-5	54,7	CH	1,17 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,4; 2,3 Hz)	23,8; 38,0; 16,5; 14,5	1,42 (H α -6)
C-6	23,8	CH ₂	6 α_{eq} - 1,42 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,8 Hz)	147,4	1,17 (H-5)
			6 β_{ax} - 1,37 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2,5 Hz)	39,3; 54,7	-
C-7	38,0	CH ₂	7 α_{eq} - 2,40 (<i>m</i>)	23,8; 55,7; 107,0; 147,4	4,52 (H β -17)
			7 β_{ax} - 1,97 (<i>m</i>)	54,7; 107,0; 147,4	-
C-8	147,4	C	-	-	-
C-9	55,7	CH	1,56 (<i>m</i>)	147,4; 21,6; 107,0; 14,5	4,87 (H α -17)
C-10	39,3	C	-	-	-
C-11	21,6	CH ₂	11 α_{eq} - 1,64 (<i>m</i>)	39,9; 147,4	-
			11 β_{ax} - 1,56 (<i>m</i>)	39,9; 55,7; 107,0; 147,4	-
C-12	39,9	CH ₂	12 α_{eq} - 2,31 (<i>m</i>)	55,7; 114,9	1,97 (H β -12)
			12 β_{ax} - 1,97 (<i>m</i>)	19,2; 21,6; 163,6	2,31 (H α -12)
C-13	163,6	C	-	-	-
C-14	114,9	CH	5,66 (<i>s</i>)	39,9; 171,6; 19,2	2,17 (H-16)
C-15	171,6	C	-	-	-
C-16	19,2	CH ₂	2,17* (<i>d</i> , <i>J</i> = 0,7 Hz)	39,9; 163,6; 114,9 171,6	5,66 (H-14)
C-17	107,0	CH ₂	17a - 4,87 (<i>s</i>)	38,0; 55,7	4,52 (H β -17)
			17b - 4,52 (<i>m</i> , <i>J</i> = 3,0 Hz)**	38,0; 55,7	1,97 (H β -7)
C-18	16,5	CH ₃	0,84 (<i>s</i>)	28,2; 54,7	-
C-19	28,2	CH ₃	0,87 (<i>s</i>)	16,5; 54,7; 80,6	-
C-20	14,5	CH ₃	0,71 (<i>s</i>)	36,7; 39,3; 54,7; 55,7	1,25 (H β -1)
C-21	171,1	C	-	-	-
C-22	21,3	CH ₃	2,05 (<i>s</i>)	80,6; 171,1	-

*Atribuído com base nos espectros de HSQC/COSY. ** Valores de *J* estimado baseado no espectro de *J*-Res.

Conforme informado, os dados de RMN do diterpeno isolado foram comparados com os dados da literatura para o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) (Tabela 12) (VARGAS et al., 2015; CARVALHO, 2016). Os dados de RMN para o ácido **70** isolado são idênticos dos relatados na literatura para essa substância.

Tabela 12: Comparação dos dados de RMN observados com os da literatura para o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) [δ_H 300, δ_C 75; ppm; CDCl₃].

¹³ C	RMN de ¹³ C (δ_C)			RMN de ¹ H (δ_H)	
	Observado	DEPT	Literatura*	Observado	Literatura*
C-1	36,7	CH ₂	36,8	1,78 (m); 1,25 (m)	1,78 (m); 1,24 (m)
C-2	24,2	CH ₂	24,3	1,72 (ddd); 1,62 (dt)	1,75 (m); 1,62 (ddd)
C-3	80,6	CH	80,7	4,52 (m)	4,51 (m)
C-4	37,9	C	38,1	-	-
C-5	54,7	CH	54,7	1,17 (dd)	1,17 (m)
C-6	23,8	CH ₂	23,9	1,72 (d); 1,37 (dd)	1,75 (m); 1,38 (m)
C-7	38,0	CH ₂	38,0	2,40 (m); 1,97 (m)	2,41 (m); 1,97 (m)
C-8	147,4	C	147,5	-	-
C-9	55,7	CH	55,8	1,56 (m)	1,56 (m)
C-10	39,3	C	39,3	-	-
C-11	21,6	CH ₂	21,7	1,64 (m); 1,56 (m)	1,65 (m); 1,56 (m)
C-12	39,9	CH ₂	40,0	2,31 (m); 1,97 (m)	2,33 (m); 1,99 (m)
C-13	163,7	C	163,8	-	-
C-14	113,9	CH	114,8	5,66 (s)	5,67 (s)
C-15	171,6	C	171,4	-	-
C-16	19,3	CH ₃	19,3	2,16 (d)	2,17 (s)
C-17	107,0	CH ₂	107,1	4,87 (s); 4,52 (m)	4,88 (sl); 4,52 (m)
C-18	16,4	CH ₃	16,6	0,84 (s)	0,85 (s)
C-19	28,2	CH ₃	28,3	0,87 (s)	0,88 (s)
C-20	14,5	CH ₃	14,6	0,71 (s)	0,72 (s)
C-21	171,1	C	171,1	-	-
C-22	21,3	CH ₃	21,3	2,05 (s)	2,06 (s)

***Literatura:** Vargas et al. (2015), solvente: CDCl₃, frequência: 500 MHz.

4.2.1.2 Análises dos dados de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado

De acordo com as análises de CLAE e CL-EMAR (Apêndices 6 e 7, respectivamente), o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado exibe boa pureza cromatográfica. Também, o m/z medido (361,2370, erro, $\Delta = 3,9$ ppm) é consistente com a fórmula do íon $[M-H]^-$ esperado, $C_{22}H_{33}O_4^-$.

O íon molecular $[M-H]^-$ m/z 361,67 do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado foi fragmentado utilizando espectrometria de massas de íon-*trap* (EM-IT, Figura 36). O íon fragmentado $[M-H]^-$ m/z 301,77 apresentou uma diferença de 59,90 Da devido à perda de CH_3CO_2H . Deste modo, a proposta fragmentação estrutural para esses íons característicos com base no espectro encontra-se na Figura 37.

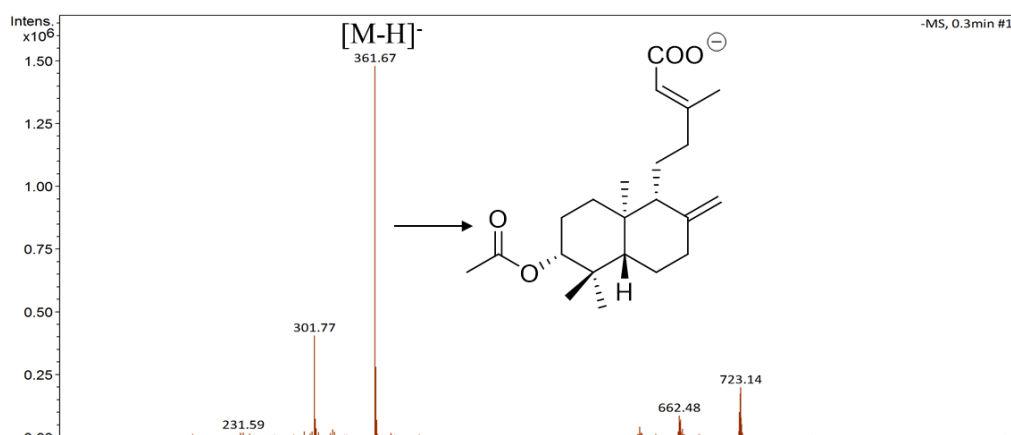


Figura 36: Espectro de massa das fragmentações do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.

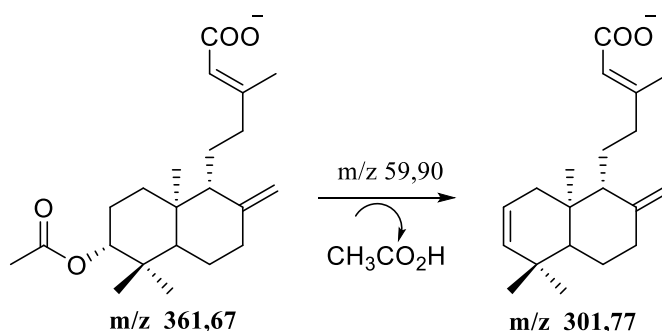


Figura 37: Proposta de fragmentação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado.

4.2.1.3 Análises conformacionais do ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) isolado

O ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) apresenta centros estereogênicos nos carbonos C-3, C-5 e C-9. Conforme visto no referencial teórico, há aceitação em geral da configuração de C-9 (H β -9) do ácido copálico (64) e seus derivados como o 3 α -acetóxi ácido 70. Nessa configuração a cadeia lateral em C-9 deverá adotar uma posição equatorial (Figura 38).

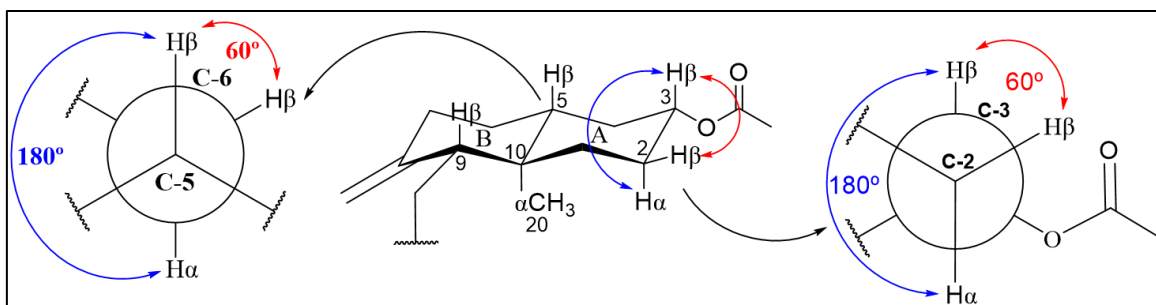


Figura 38: Proposta de estrutura/conformação e análise dos ângulos diédricos entre H-3 com H α -2 e H β -2, e entre H-5 com H α -6 e H β -6 no ácido 3 α -acetóxi-copálico (70).

Conforme mostrado na Figura 38, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) apresenta estrutura *trans*-decalínica onde o H-5 é na configuração β e está em relação *trans*-diaxial com o H α -6 e axial-equatorial com o hidrogênio H β -6. A equação de Karplus, $^3J(\theta) = A \cos^2 \theta + B \cos \theta + C$ (KARPLUS, 1963), que relaciona o constante de acoplamento entre Hs vizinhos com o seu ângulo diédrico, corrobora os acoplamentos observados para: 1) H-3 (*dd*, $J = 11,5$ e $4,3$ Hz) devido aos ângulos diédricos desse átomo com H α -2 e H β -2, respectivamente e 2) H-5 (*dd*, $J = 12,4$ e $2,3$ Hz) devido aos ângulos diédricos desse átomo com H α -6 e H β -6, respectivamente. As considerações efetuadas aqui justificam as configurações dos centros estereogênicos apresentados para o 3 α -acetóxi-ácido (70).

4.2.2 Elucidação estrutural da substância isolada 1RN16-9

Para a substância 1RN16-9, baseado no conjunto de dados de CL-EMAR, com a fórmula $C_{20}H_{32}O_3$, m/z $[M-H]^-$ 319,2311 ($\Delta = 10$ ppm, Apêndice 19), $[\alpha]_D^{25} -33^\circ$ ($CHCl_3$, $25^\circ C$, $c = 0,0020$ g/mL) e as análises espectrais de RMN unidimensional e bidimensional, comparação com os dados dos trabalhos de Vargas et al. (2015) e Carvalho (2016) e análise

conformacional, foi concluído que a substância isolada 1RN16-9 tratava-se do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**). A seguir, a discussão da análise detalhada que levaram a essa elucidação estrutural.

4.2.2.1 Análises dos dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado

A identificação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) (Figura 39) teve início no espectro de RMN de ^1H (Apêndice 20). Foram observados três simpletos provenientes de hidrogênios de metilas em δ_{H} 0,77 (H-18, *s*); δ_{H} 0,99 (H-19, *s*) e δ_{H} 0,69 (H-20, *s*) (Apêndice 21) e um duplete em δ_{H} 2,16 (H-16, *d*, $J = 1,0$ Hz). Também, foram observados dois duplo-dupletos, ambos com integral para 1H, em δ_{H} 3,26 (H-3 *dd*, $J = 11,7; 4,5$ Hz) (Figura 40) e δ_{H} 1,08 (H-5 *dd*, $J = 12,6; 2,6$ Hz) (Figura 41). Essas constantes de acoplamento foram corroboradas no espectro de *J*-Res (Apêndices 30 e 31).

Foram observados também sinais de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 4,87 (Ha-17, *sl*) e 4,51 (Hb-17, *sl*) e em δ_{H} 5,67 (H-14, *d*) (Apêndice 20).

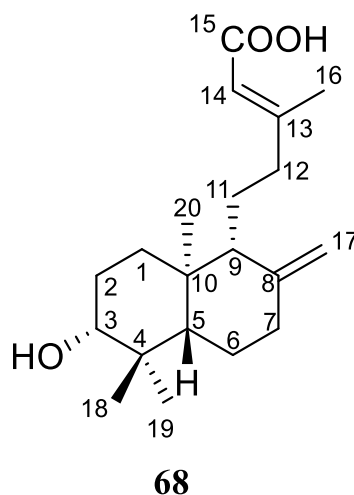


Figura 39: Estrutura do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado com numeração do esqueleto.

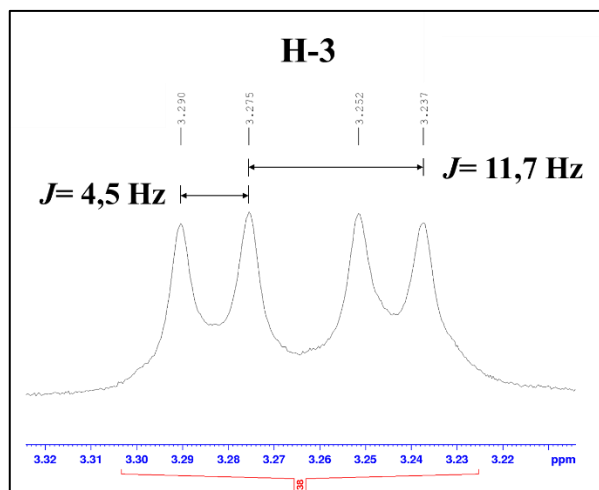


Figura 40: Ampliação da região de δ_{H} 3,21 - 3,32 do espectro de RMN de ^1H (δ_{H} 300 MHz, CDCl_3) do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado.

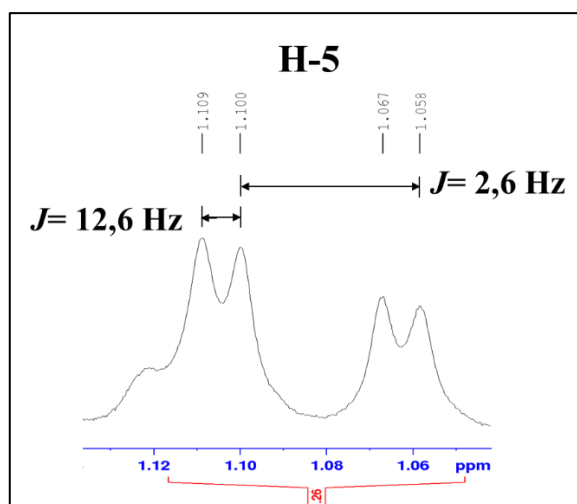


Figura 41: Ampliação da região de δ_{H} 1,06 - 1,12 do espectro de RMN de ^1H (δ_{H} 300 MHz, CDCl_3) do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado.

O espectro de ^{13}C apresentou 20 sinais espectrais (Figura 42, Apêndices 22 e 23) e com os dados espectrais de DEPT 135 (Apêndice 24) e HSQC (Apêndices 26 e 27), foi possível afirmar que essa substância apresenta 4 sinais de metílicos (CH_3), 7 de metilenos (CH_2), 4 de metínicos (CH) e 5 de carbonos quaternários. Os sinais típicos de labdanos foram observados em δ_{C} 147,5 (C-8) e 106,8 (C-17) e o sinal da carbonila em δ_{C} 170,8 (C-15).

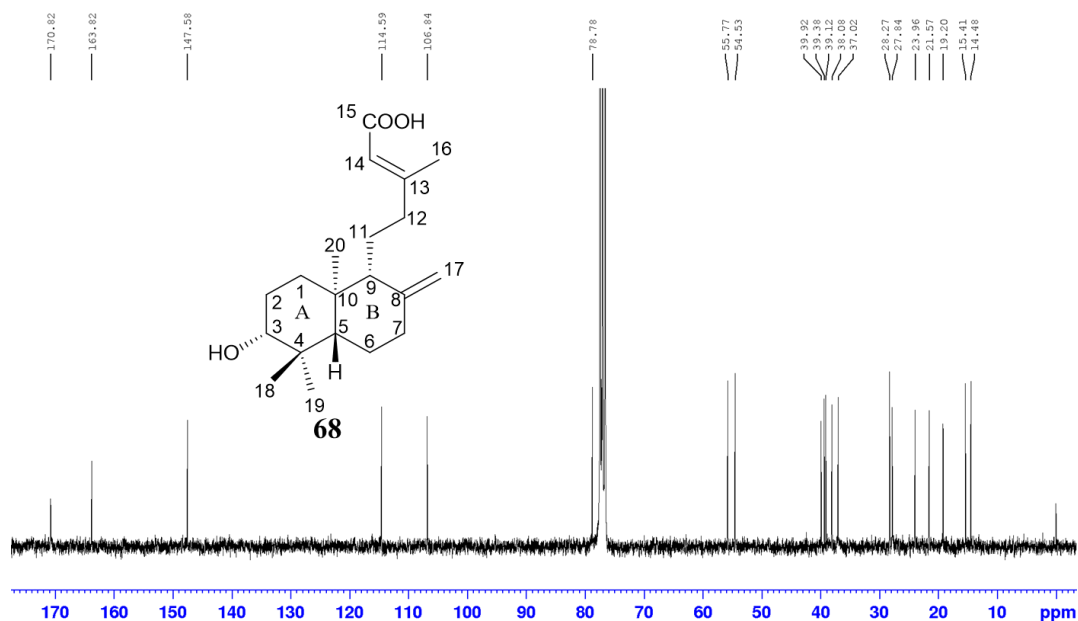


Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C (δ_{C} 75 MHz, CDCl_3) do ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) isolado.

No espectro do HMBC (Apêndices 28 e 29, Figura 43) foram observadas as correlações semelhantes em relação ao ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**). O grupo vinílico apresentou correlações de HMBC em δ_{H} 4,87 (Ha-17) e δ_{H} 4,51 (Hb-17) com os sinais de carbonos em δ_{C} 55,7 (C-9) e δ_{C} 38,1 (C-7), respectivamente. O sinal em δ_{H} 1,96 (H β -7) correlacionou-se com os sinais de carbono em δ_{C} 147,5 (C-8); δ_{C} 106,8 (C-17) e o δ_{H} 1,54 (H-9) correlacionou-se com o sinal de carbono em δ_{C} 147,5 (C-8). O sinal em δ_{H} 0,77 (H-18) apresentou correlação com o sinal de carbono em δ_{C} 28,3 (C-19). O sinal em δ_{H} 2,16 (H-16) correlacionou-se com os sinais de carbono em δ_{C} 163,8 (C-13) e δ_{C} 170,8 (C-15) e o sinal de hidrogênio em δ_{H} 5,67 (H-14) apresentou correlação com o sinal em δ_{C} 39,9 (C-12).

No espectro de COSY (Apêndice 25, Figura 44) foram observadas as correlações entre os sinais em δ_{H} 1,16 (H α -1) e δ_{H} 1,78 (H β -1). O sinal em δ_{H} 3,26 (H-3) correlacionou-se com o sinal em δ_{H} 1,70 (H α -2) e 1,62 (H β -2). O sinal do H-5 (δ_{H} 1,08) correlacionou-se com o do H β -6 (δ_{H} 1,38). O hidrogênio com sinal em δ_{H} 4,87 (Ha-17) apresentou correlações com os sinais em δ_{H} 4,51 (Hb-17); 1,54 (H-9) e 1,96 (H β -7). O sinal em δ_{H} 4,51 (Hb-17) apresentou correlação com o sinal em δ_{H} 1,96 (H β -7). E por fim, o sinal em δ_{H} 5,67 (H-14) correlacionou-se com o sinal em δ_{H} 2,16 (H-16).

Os dados de RMN 1D e 2D observados para o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) isolado estão apresentados na Tabela 13.

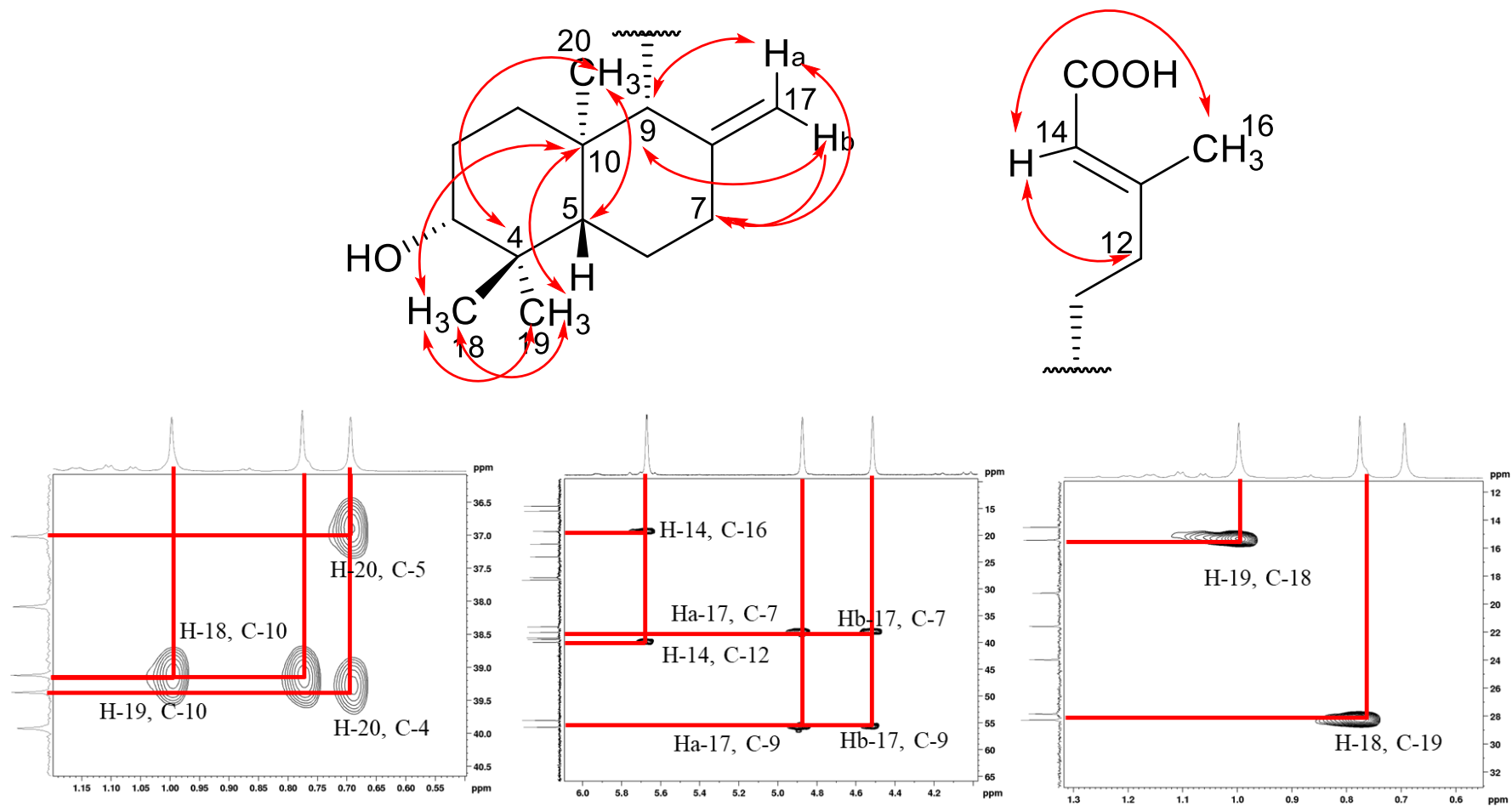


Figura 43: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3α-hidróxi-copálico (**68**) isolado (^1H -300, ^{13}C -75 MHz, CDCl_3).

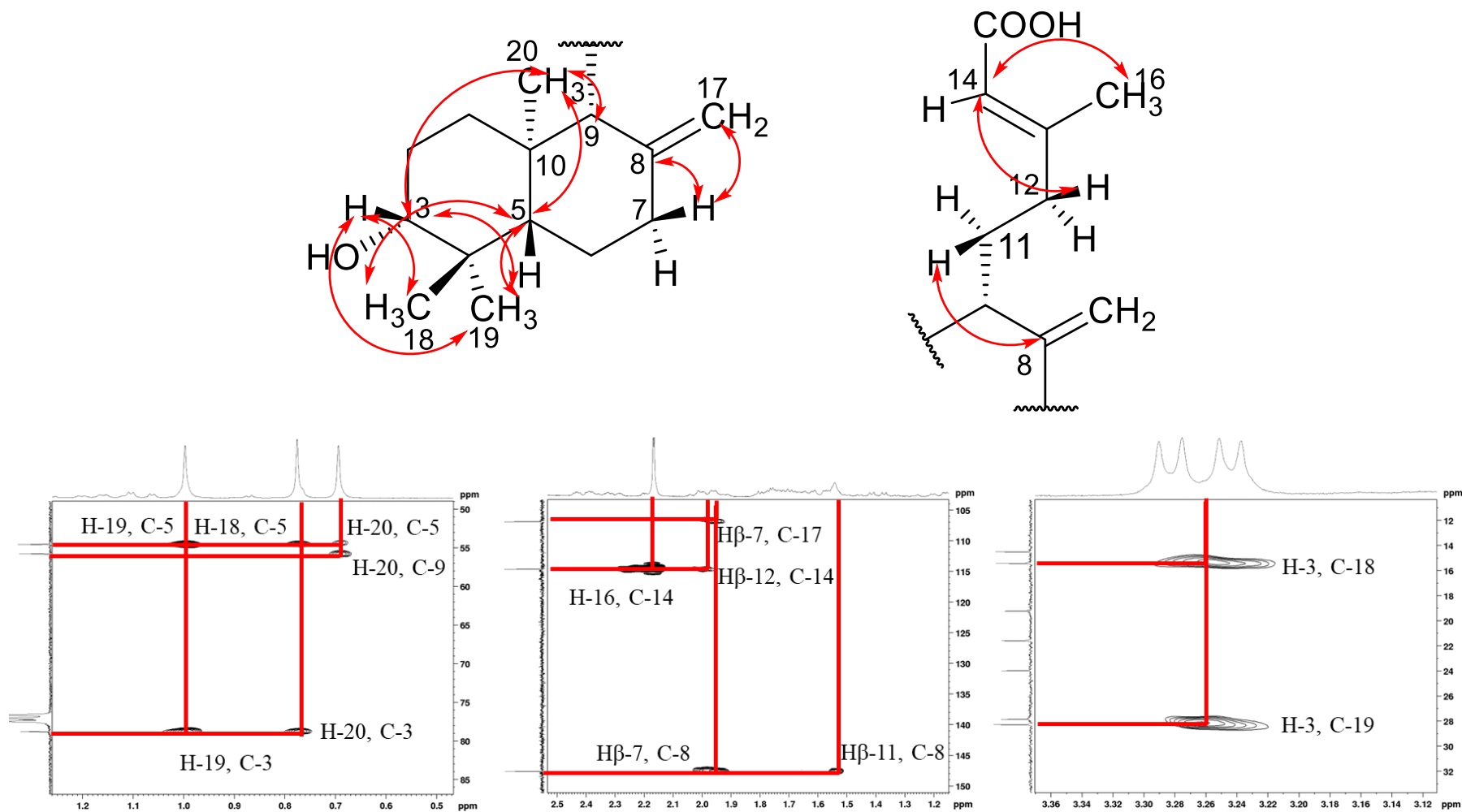


Figura 43: Algumas das correlações do HMBC do ácido 3α-hidróxi-copálico (**68**) isolado (^1H -300, ^{13}C -75 MHz, CDCl_3). (Continuação)

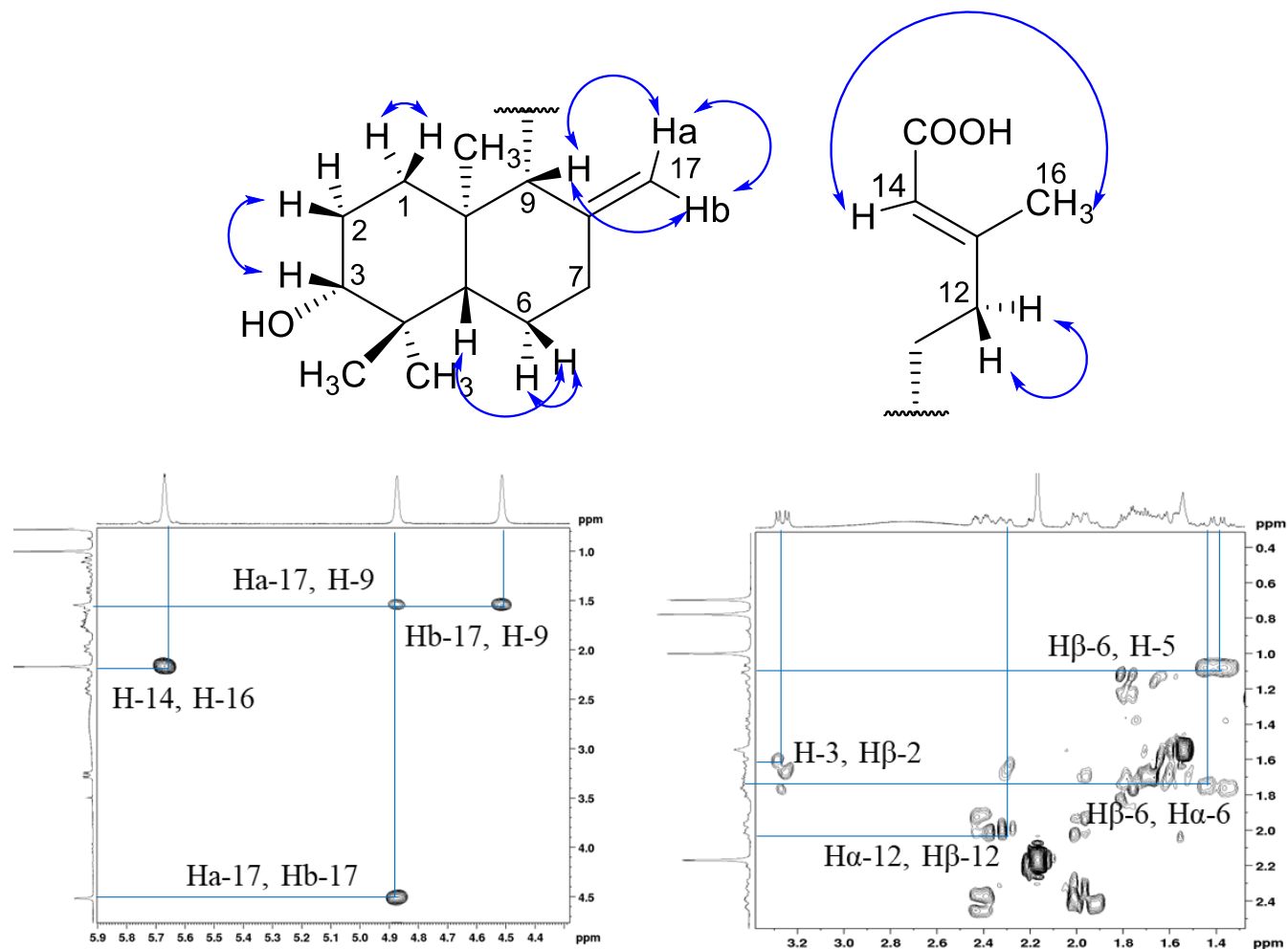


Figura 44: Correlações comuns do COSY do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado (¹H-300 MHz, CDCl₃).

Tabela 13: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) [δ_H 300, δ_C 75 MHz; ppm; CDCl₃].

C	¹³ C (δ_C)	DEPT	¹ H (δ_H) / HSQC	HMBC (δ_C)	COSY (δ_H)
C-1	37,0	CH ₂	1 α_{ax} – 1,16 (<i>m</i>)	-	1,78 (H β -1)
			1 β_{eq} – 1,78 (<i>m</i>)	14,5; 27,8; 78,7; 147,5	1,16 (H α -1)
C-2	27,8	CH ₂	2 α_{eq} – 1,70 (<i>dt</i>)**	78,7	3,26 (H-3)
			2 β_{ax} – 1,62 (<i>ddd</i>)**	55,7; 39,1; 78,7	-
C-3	78,7	CH	3,26 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7 e 4,5 Hz)	37,0; 39,3; 15,4; 28,3	1,70 (H α -2) 1,62 (H β -2)
C-4	39,3	C	-	-	-
C-5	54,5	CH	1,08 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,6 e 2,6 Hz)**	78,7; 39,1; 28,3	1,38 (H β -6)
C-6	23,9	CH ₂	6 α_{eq} – 1,75 (<i>m</i> , <i>J</i> = 2,5 Hz)	-	1,08 (H-5)
			6 β_{ax} – 1,38 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 12,8 Hz)		
C-7	38,1	CH ₂	7 α_{eq} – 2,41 (<i>m</i>)	23,9	1,96 (H β -7)
			7 β_{ax} – 1,96 (<i>m</i>)	106,8; 147,5	2,41 (Ha-7)
C-8	147,5	C	-	-	-
C-9	55,7	CH	1,54 (<i>m</i>)	54,5; 147,5; 39,1; 21,6	4,87 (Ha-17)
C-10	39,1	C	-	-	-
C-11	21,6	CH ₂	11 α_{eq} – 1,64 (<i>m</i>)	147,5	-
			11 β_{ax} – 1,54 (<i>m</i>)	147,5; 39,1; 106,8; 163,8	-
C-12	39,9	CH ₂	12 α_{eq} – 2,32 (<i>m</i>)	55,7; 21,6; 114,8	-
			12 β_{ax} – 1,98 (<i>m</i>)	21,6; 163,8; 114,8	-
C-13	163,8	C	-	-	-
C-14	114,6	CH	5,67 (<i>m</i>)	39,9; 19,2; 171,6	2,16 (H-16)
C-15	170,8	C	-	-	-
C-16	19,2	CH ₂	2,16* (<i>d</i> , <i>J</i> = 1,0 Hz)	163,8; 170,8	5,67 (H-14)
			17a – 4,87 (<i>sl</i>)	38,1; 55,7	1,54 (H-9)
C-17	106,8	CH ₂	17b – 4,51 (<i>sl</i>)	38,1; 55,7	4,87 (Ha-17)
			0,77 (<i>s</i>)	78,7; 55,7; 39,1; 28,3	-
C-18	15,4	CH ₃	0,77 (<i>s</i>)	78,7; 55,7; 39,1; 28,3	-
C-19	28,3	CH ₃	0,99 (<i>s</i>)	78,7; 54,5; 39,1; 15,4	-
C-20	14,5	CH ₃	0,69 (<i>s</i>)	37,0; 39,3; 54,5; 55,7	-

*Atribuído com base nos espectros de HSQC/COSY, ** Valores de *J* estimado baseado no espectro de J-Res

Os dados de RMN do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado foram comparados com a literatura (Tabela 14). Os dados da substância isolada foram atribuídos considerando os dados de Vargas et al. (2015) e Carvalho (2016). De modo geral, os dados espectrais observados para o 3 α -hidróxi ácido **68** isolado estão de acordo com os apresentados na literatura (VARGAS et al., 2015).

Tabela 14: Dados de RMN 1D e 2D do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) comparada com a literatura para o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) [(δ_H)300/ (δ_C)75 MHz; ppm; CDCl₃].

C	RMN de ¹³ C (δ_C)			RMN de ¹ H (δ_H)	
	Observado	DEPT	Literatura*	Observado	Literatura*
C-1	37,0	CH ₂	37,1	1,78 (<i>m</i>); 1,16(<i>m</i>)	1,78 (<i>m</i>); 1,12(<i>m</i>)
C-2	27,8	CH ₂	27,9	1,70 (<i>dt</i>); 1,62(<i>ddd</i>)	1,71 (<i>m</i>); 1,59 (<i>m</i>)
C-3	78,7	CH	78,9	3,26 (<i>dd</i>)	3,28 (<i>dd</i>)
C-4	39,3	C	39,2	-	-
C-5	54,5	CH	54,6	1,08 (<i>dd</i>)	1,07 (<i>m</i>)
C-6	23,9	CH ₂	24,0	1,75 (<i>m</i>); 1,38 (<i>dd</i>)	1,75 (<i>m</i>); 1,39 (<i>ddd</i>)
C-7	38,1	CH ₂	38,2	2,41 (<i>m</i>); 1,96 (<i>m</i>)	2,41 (<i>m</i>); 1,95 (<i>m</i>)
C-8	147,5	C	147,7	-	-
C-9	55,7	CH	55,8	1,54 (<i>m</i>)	1,54 (<i>m</i>)
C-10	39,1	C	39,5	-	-
C-11	21,6	CH ₂	21,7	1,64 (<i>m</i>); 1,54 (<i>m</i>)	1,64 (<i>m</i>); 1,51 (<i>m</i>)
C-12	39,9	CH ₂	40,0	2,32 (<i>m</i>); 1,98 (<i>m</i>)	2,33 (<i>m</i>); 1,98 (<i>m</i>)
C-13	163,8	C	163,9	-	-
C-14	114,6	CH	114,9	5,67 (<i>m</i>)	5,67 (<i>s</i>)
C-15	170,8	C	171,7	-	-
C-16	19,2	CH ₂	19,3	2,16 (<i>d</i>)	2,17 (<i>s</i>)
C-17	106,8	CH ₂	106,9	4,87(<i>sl</i>); 4,51 (<i>sl</i>)	4,87(<i>sl</i>); 4,51 (<i>sl</i>)
C-18	28,3	CH ₃	28,4	0,77 (<i>s</i>)	0,78 (<i>s</i>)
C-19	14,5	CH ₂	14,6	0,99 (<i>s</i>)	1,00 (<i>s</i>)
C-20	15,4	CH ₂	15,5	0,69 (<i>s</i>)	0,69 (<i>s</i>)

***Literatura:** Vargas et al. (2015), solvente: CDCl₃, frequência: 500 MHz.

4.2.2.2 Análises dos dados de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**)

As análises de CLAE (Apêndice 18) e CL-EMAR (Apêndice 19) referentes ao ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado confirmaram a pureza e a identificação estrutural da

substância, além dos íons de fragmentações proposto neste trabalho. Na análise de CL-EMAR a substância apresentou o íon de $[M-H]^-$ m/z 319,2311 (Apêndice 19), com a proposta da fórmula molecular $C_{20}H_{31}O_3^-$.

O íon molecular $[M-H]^-$ em m/z 319,52 do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado foi fragmentado utilizando EM-IT (Figura 45). O íon fragmento de $[M-H]^-$ em m/z 275,58 se deve a uma perda de 44 Da (perda de CO_2). O íon fragmento de $[M-H]^-$ m/z 217,64 pode resultar do íon em m/z 275,58 através de duas fragmentações simultâneas, com a perda de H_2O (18 Da) e de um fragmento C_3H_4 (40 Da) (Figura 46).

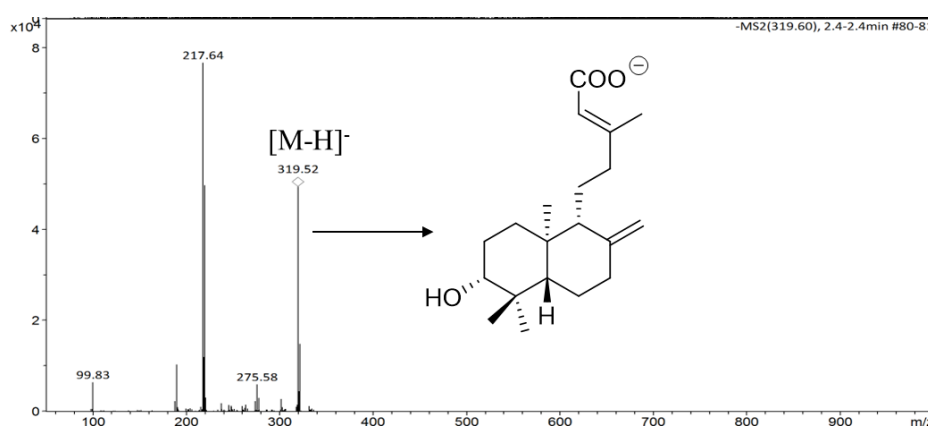


Figura 45: Espectro de massas das fragmentações do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

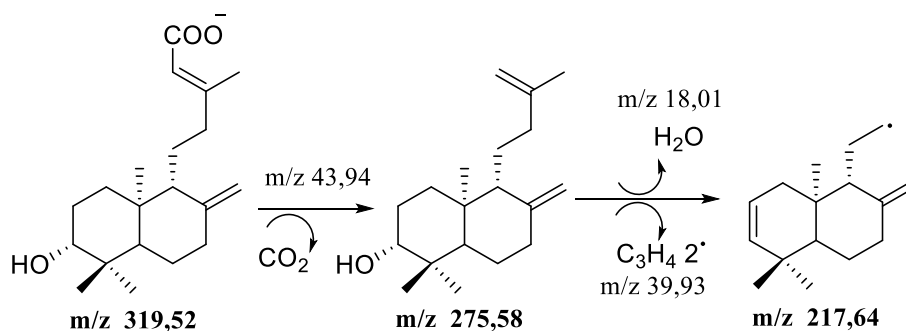


Figura 46: Proposta de fragmentação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

4.2.2.3 Análises conformacionais do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**)

Para a determinação estereoisômera dos hidrogênios dos C-3 e C-5 do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**), seguiu-se a mesma proposta do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**, ilustrado na Figura 38), baseando-se na metila angular (C-20) na configuração α e do H-9 β

axial. Nessa proposta os ângulos diedros para o hidrogênio H-3 com os hidrogênios H β -2 (60°, *J* pequeno) e H α -2 (180°, *J* grande) são coerentes com os valores das constantes de acoplamento, sendo J (H-3_{ax}-H α -2_{ax}) = 11,7 Hz e J (H-3_{ax} e H β -2_{eq}) = 4,5 Hz. Os ângulos diedros para o hidrogênio H-5 com os hidrogênios H α -6 (180°, *J* grande) e H β -6 (60°, *J* pequeno), apresentam os valores coerentes com os valores das constantes de acoplamento, sendo J (H-5_{ax} e H α -6_{ax}) = 12,6 Hz e J (H-5_{ax} e H β -6_{eq}) = 2,6 Hz. Assim, os ácidos 3 α -acetóxi-copálico (**70**) e 3 α -hidróxi-ácido (**68**) apresentam as mesmas configurações em C-3, C-5, C-9 e C-10.

4.3 Elucidação estrutural das substâncias sintetizadas

4.3.1 Identificação do produto de desacetilação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**)

No CL-EMAR, o produto da reação de desacetilação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) (seção 3.8.1) apresentou o íon [M-H]⁻ em *m/z* 319,2258, íon fórmula C₂₀H₃₁O₃⁻ (Δ = 6,6 ppm) e fórmula molecular C₂₀H₃₂O₃ (Apêndice 33). Esses dados são análogos da análise de EMAR do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) (Apêndice 19). O espectro de RMN de ¹H (Apêndices 34 e 35) é idêntico ao espectro do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) (Apêndices 20 e 21), diferindo do espectro do material de partida de (**70**) (Apêndices 8 e 9) e pelo deslocamento químico menor do sinal de H-3 e ausência do simpleto referente ao δ_H 2,06 (H-22). Assim, os dados de EMAR e RMN de ¹H corroboram a formação do produto esperado, o 3 α -hidróxi-ácido (**68**) (Figura 47).

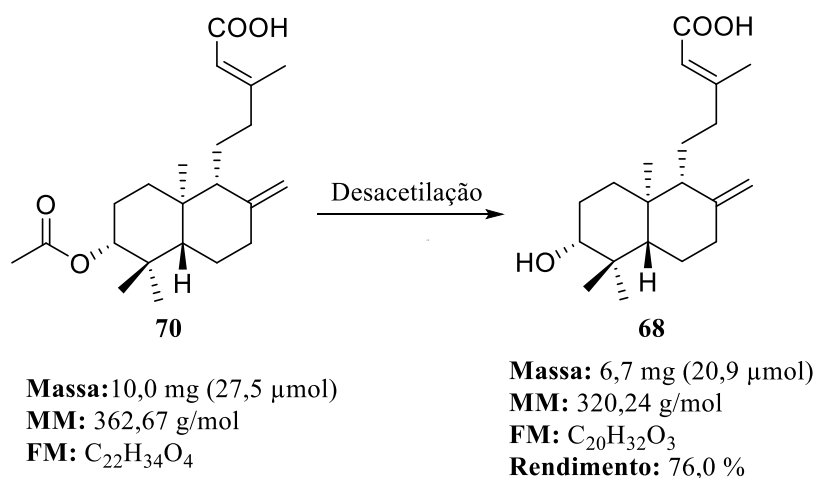


Figura 47: Síntese do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) a partir do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado.

A proposta de mecanismo (Figura 48) da reação de desacetilação do 3 α -acetóxi-ácido **70** em meio básico tem início com o ataque nucleofílico do hidróxido (^-OH) à carbonila do grupo acetila formando um intermediário **70a**. A decomposição desse último leva à formação de íon de acetato e do intermediário **70b** que, após protonação pelo meio reacional, leva à formação do produto desacetilado, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

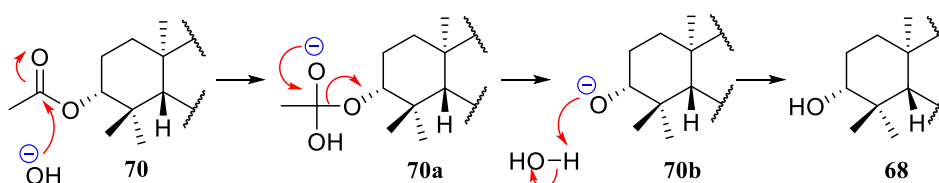


Figura 48: Proposta de mecanismo da reação de desacetilação do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**).

4.3.2 Identificação do produto de acetilação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**)

Na reação de acetilação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) (seção 3.8.2) o produto apresentou íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ em m/z 361,2374, com íon fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{O}_4$ ($\Delta = 2,9$ ppm) (Apêndice 37) consistente com a acetilação (inclusão de $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ na estrutura do material de partida durante a reação e fórmula idêntica gerada na análise por EMAR do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) (Apêndices 8 e 9). O espectro de RMN de ^1H (Apêndices 38 e 39) desse produto é idêntico ao espectro do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado (Apêndices 8 e 9), diferindo do espectro do material de partida (**68**) (Apêndices 20 e 21), pelo valor maior do deslocamento químico do sinal do H-3 e a presença do simpleto referente à metila do grupo acetila em δ_{H} 2,06 (H-22) no espectro do produto. Assim, os dados de EMAR e RMN de ^1H corroboram para a formação do produto, o 3 α -acetóxi-ácido (**70**) (Figura 49).

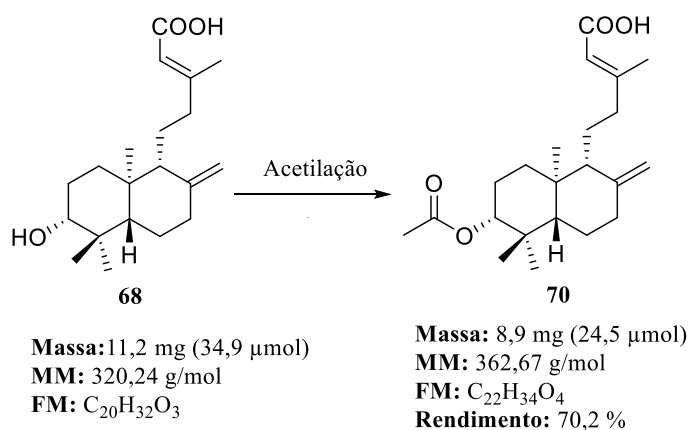


Figura 49: Síntese do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) a partir do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) isolado.

A proposta de mecanismo (Figura 50) da reação de acetilação do 3 α -hidróxi-copálico (**68**) tem início ao ataque nucleofílico do par de elétrons livres do nitrogênio da molécula de DMAP a uma carbonila do anidrido acético, formando um intermediário *N*-acilpiridínio acetato **68a**, o mecanismo mais aceito para o DMAP nessas condições (XU et al., 2005). Para Spivey & Arseniyadis (2004) a eficiência da catálise desta reação está intimamente relacionada para a estabilidade do intermediário sal de *N*-acilpiridínio **68a**.

Em seguida, o par de elétrons não ligantes do oxigênio da 3 α -hidroxila do ácido (**68**) ataca a carbonila do cátion *N*-acetilpiridínio **68a**, formando um novo intermediário **68b**, que então é desprotonado no meio reacional para formar o intermediário **68c** (XU et al., 2005). Assim, o intermediário **68c** sofre rearranjo de elétrons para formar o acetilado (RNPR-2) ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) como produto final e a regeneração da DMAP.

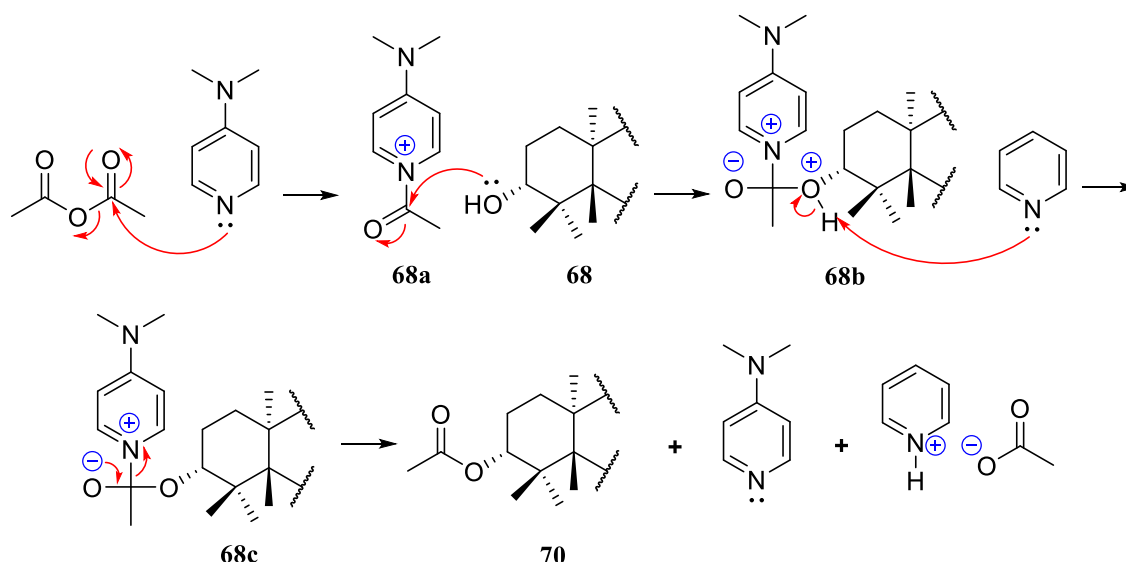


Figura 50: Proposta de mecanismo de acetilação do álcool secundário do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**).

4.3.3 Identificação do produto de butirilação do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**)

O material de partida, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) (isolado a partir da fração fixa do óleo-resina de copaíba conforme descrito nas seções **3.6.1** e **3.7.1**), apresenta fórmula molecular de C₂₀H₃₂O₃ de acordo com dados de EMAR (seção **4.1.2.2**). Após a reação em condições de butirilação (seção **3.8.3**), o produto apresentou um íon [M-H]⁻ em *m/z* 389,2724 ($\Delta = -6,9$ ppm) com a fórmula C₂₄H₃₇O₄⁻ (Apêndice 41), consistente com a inclusão de um

agrupamento C_4H_7O durante a reação. Abaixo é apresentado com destaque a substância butirilada (Figura 51).

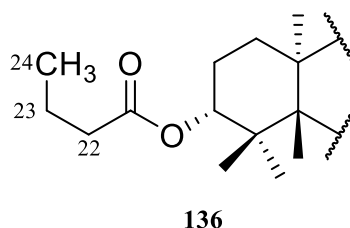


Figura 51: Estrutura do produto butirilado (**136**) com destaque nos carbonos C-22, C-23, C-24.

Análise do espectro de RMN de 1H do produto sintetizado também corrobora o sucesso da reação de butirilação do ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**). Como era de esperar, o material de partida (Apêndices 20 e 21) e o produto sintetizado (Apêndices 42 e 43) apresentam sinais similares de RMN de 1H como δ_H [5,67 (H-14, *s*); 4,87 (Ha-17, *s*); 2,16 (H-16, *d*), 0,87 (H-18, *s*); 0,85 (H-19, *s*); 0,71 (H-20, *s*)]. Também, no espectro de RMN de 1H do produto tem um sinal em δ_H 4,52 com integral para 2H pela sobreposição dos sinais de (Hb-17 e H-3, *m*), como foi visto nos sinais correspondentes a esses dois átomos na outra substância acilada, o 3α -acetóxi-ácido (**70**) isolado (Apêndice 8 e Figura 32), juntamente com três novos sinais da cadeia do agrupamento butirila em δ_H 2,29 (2H, H-22, *t*, $J = 7,41$ Hz); 0,95 (3H, H-24, *t*, $J = 7,2$ Hz) e 1,66 (H-23, *m*) (Apêndices 43, Figura 52) no produto formado (**136**) (Figura 53).

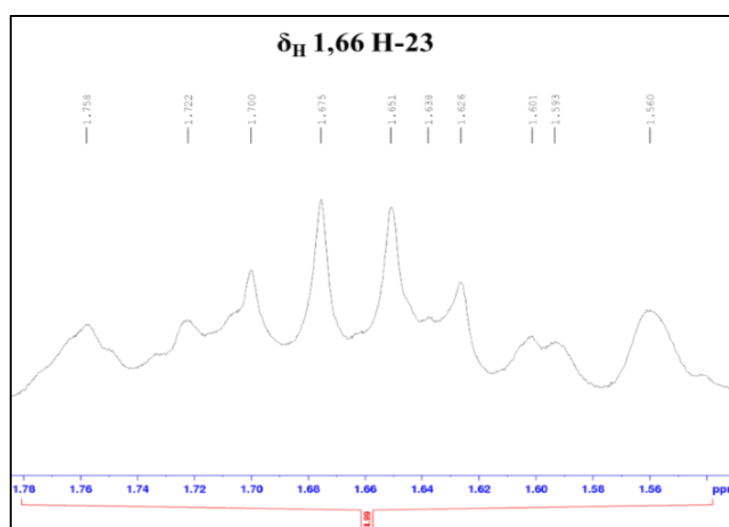


Figura 52: Ampliação da região de δ_H 1,56 - 1,78 do espectro de RMN de 1H (δ_H 300 MHz, $CDCl_3$) do ácido 3α -butanoilóxi-copálico (**136**) sintético.

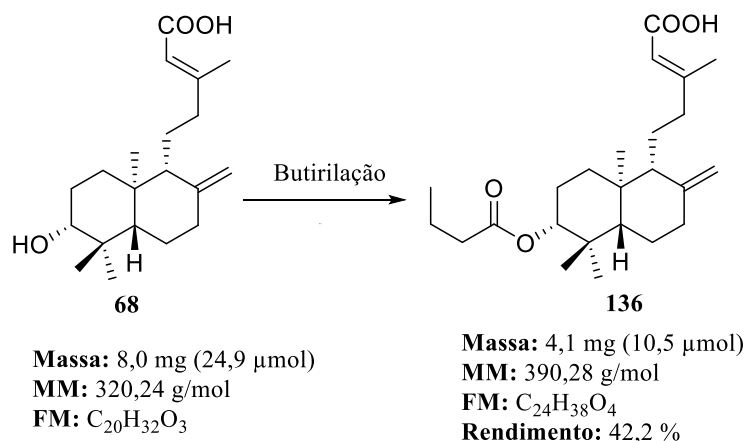


Figura 53: Síntese do ácido 3α-butanoilóxi-copálico (**136**) a partir do ácido 3α-hidróxi-copálico (**68**) isolado.

O mecanismo de reação de butirilação do 3α-hidróxi-copálico (**68**) é bastante similar ao mecanismo da reação de acetilação. Onde a reação tem início ao ataque nucleofílico do par de elétrons livres do nitrogênio da molécula de DMAP a carbonila do anidrido butírico e segue conforme descrito acima (para o mecanismo de acetilação) até a formação do produto final (**136**) com a formação do íon de butanoato e piridina protonada e a regeneração da DMAP.

4.4 Análises dos rendimentos isolados, sintéticos e (potenciais) globais

Em uma análise mais detalhada dos rendimentos dos diterpenos isolados, foi constatado que a partir de 8 g da fração não volátil do óleo-resina de copaíba resultou no isolamento de 60 mg (0,75%) do ácido 3α-acetóxi-copálico (**70**) e 30,1 mg (0,38%) do ácido 3α-hidróxi-copálico (**68**). Considerando os rendimentos de 76 e 70 % das reações de desacetilação e acetilação, respectivamente. A partir de 30,1 mg do isolado **68** (por acetilação) poderia ser gerada a massa do sintético **70** de 23,9 mg de rendimento. A partir de 60 mg do isolado **70** (por desacetilação) poderia ser gerada a massa teórica do sintético **68** de 40,2 mg de rendimento. Assim, a partir de isolamento da fração não volátil do óleo-resina seguida de transformação sintética, poderia ser gerado um total de 83,9 mg (1,05%) do ácido 3α-acetóxi-copálico (**70**) ou um total de 70,3 mg (0,88%) do ácido 3α-hidróxi-copálico (**68**).

5 CONCLUSÃO

O resíduo industrial não volátil do óleo-resina de copaíba comercial mostra-se uma fonte promissora dos labdanos conhecidos, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) e o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**). A interconversão do isolado **68** em **70** (sintético) e do isolado **70** em **68** (sintético), por acetilação e desacetilação, respectivamente, ocorre com bons rendimentos e é de potencial utilidade prática. A síntese de um derivado inédito do ácido copálico, o ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (**136**), em razoável rendimento foi demonstrado e aponta para o potencial dos ácidos diterpênicos isolados em esquema de prospecção de novas moléculas.

Um levantamento e análise da literatura sobre a composição química de *Copaifera* spp. revelou a importância de caracterizar os diterpenos isolados dos óleos-resinas de copaíba por rotação óptica devido a relatos descrevendo o isolamento das formas enantioméricas de substâncias (e.g. ácidos copálico/copaiférico) a partir dos óleos-resinas de copaíba de fontes diferentes. Assim, o grau de pureza enantiomérica é de especial relevância para aplicações farmacológicas, entre outras.

O levantamento de dados também revelou a presença dos ácidos copálico (**64**) e 3 α -hidróxi-copálico (**68**), os seus ésteres de metila e outros derivados em espécies de diversos gêneros e famílias o que os eliminam como marcadores específicos de *Copaifera* spp. e óleos-resinas de copaíba.

Deste modo, o estudo demonstrou a relevância de se trabalhar com resíduos vegetais do óleo-resina de copaíba comercial ricos em substâncias com alto potencial farmacológico, além da utilização dos mesmos para produção de derivados semissintéticos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, F., ARAÚJO COSTA, L. D., ALVES, J. M., SENEDESE, J. M., CASTRO, P. T., AMBRÓSIO, S. R., VENEZIANI, R. C. S. BASTOS, J. K., TAVARES, D. C., MARTINS, C. H. G. *Copaifera langsdorffii* oleoresin and its isolated compounds: antibacterial effect and antiproliferative activity in cancer cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, pp. 1-10, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0961-4>

ALENCAR, J. C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne-Leguminosae, na Amazônia Central. 2- Produção de óleo-resina. **Acta Amazonica**, v.12, n.1, pp. 75-89, 1982.

ALVES, J. M., LEANDRO L. F., SENEDESE J. M., CASTRO P. T., PEREIRA D. E., RESENDE F. A., CAMPOS D. L., SILVA J. J. M., E. A., BASTOS J. K., AMBRÓSIO S. R., VARANDA TAVARES D. C. Antigenotoxicity properties of *Copaifera multijuga* oleoresin and its chemical marker, the diterpene (–) -copalic acid. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**. v. 81, n. 5, pp. 116-129, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1420505>

ARAÚJO, I. A. C. Eficácia do lapachol extraído de *Handroanthus serratifolius* (Bignoniaceae) para tratamento das leishmanioses. 72 p. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas Dissertação (Mestrado). Universidade Federal De Uberlândia, 2017.

ARRUDA, C., MEJÍA, J. A. A., RIBEIRO, V. P., BORGES, C. H. G., MARTINS, C. H. G., VENEZIANI, R. C. S., AMBRÓSIO, S. R., BASTOS, J. K. Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus—A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1-20, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.030>

BARBOSA, K. S., SCUDELLER, V. V. Distribuição das espécies do gênero *Copaifera* L. na Amazônia Legal e aspectos morfológicos de *C. multijuga* Hayne da Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé, Manaus-AM. In: SANTOS-SILVA, E. N.; SCUDELLER, V. V. **Diversidade Biológica e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central**. v.2, Manaus: UEA, Edições, 2009.

BARBOSA, P. C. S. Padronização de óleos de *Copaifera multijuga* Hayne por meio de técnicas cromatográficas. 157 p. Programa de Pós-Graduação em Química-PPGQ. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amazonas- UFAM, Manaus, 2012.

BARBOSA, P. C. S., WIEDEMANN, L. S. M., MEDEIROS, R. S, SAMPAIO, P. T. B, VIEIRA, G., VEIGA-JR, F., V. Impressões fitoquímicas de óleos de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) determinadas por análise multivariada. **Química & Biodiversidade**, v. 10, n. 7, pp.1350-1360, 2013.

BARDAJÍ, D. K. R., SILVA, J. J. M., BIANCHI, T. C., EUGÊNIO, D. S., OLIVEIRA, P. F., LEANDRO, L. F., ROGEZ, H. L. G., VENEZIANNI, R. C. S., AMBROSIO, S. R.,

TAVARES, D. C., BASTOS, J. K., MARTINS, C. H. G. *Copaifera reticulata* oleoresin: Chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe**, v. 40, pp. 18-27, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.04.017>

BASILE, A. C., SERTIÉ, J. A. A., FREITAS, P. C. D., ZANINI, A. C. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, n. 1, pp. 101-109, 1988. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90235-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90235-8)

BIAGGIO, R. M. T. T. Reações de esterificação e de epoxidação enzimática. Síntese de ambrox e outros derivados a partir da coronarina-D e avaliação da atividade antiproliferativa "in vitro" de alguns derivados sintetizados. 263 p. Instituto de Química. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2015.

BIAVATTI, M. W., DOSSIN, D., DESCHAMPS, F. C., LIMA, M. D. P. Análise de óleo-resina de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, pp. 230-235, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200017>

BRAUN, S., BREITENBACH, H. Strukturaufklärung einer neuen diterpensäure aus *Metasequoia glyptostroboides* mit hilfe der ¹³C-NMR-spektroskopie, **Tetrahedron**, v. 33, n. 1, pp. 145-150, 1977. DOI: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(77\)80445-6](https://doi.org/10.1016/0040-4020(77)80445-6)

BRITO, N. M. B., BRITO, M. V. H., CARVALHO, R. K. V., MATOS, L. T. M. B., LOBATO, R. C., CORREA, S. C., BRITO, R. B. The effect of copaiba balsam on Walker 256 carcinoma inoculated into the vagina and uterine cervix of female rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, 25, 176–180, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502010000200010>

BRITO, N. M. B., SIMÕES, M. J., PESSOA, A. F., MELO, M. C. F. Efeitos do óleo de copaíba na cicatrização de feridas cutâneas abertas de ratos. **Revista Paraense de Medicina**, v. 12, n. 1, pp. 28–32, 1998.

BROCKSOM, T. J.; BROCKSOM, U.; CONSTANTINO, M. G. A síntese dos sesquiterpenos baquenolidas. **Química Nova**, v. 31, pp. 937-945, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000400037>

BRUM, H. D., MESQUITA, M. R., FERRAZ, I. D. K. Descrição comparativa dos propágulos e plântulas de *Copaifera multijuga* Hayne e *C. officinalis* Jacq. (Fabaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, s.1, pp. 51-353, 2007.

CAPUTO, R. & MANGONI, L. Neutral diterpenes from *Araucaria bidwillii*. **Phytochemistry**, v. 13, n. 2, pp. 467-470, 1974. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)91234-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)91234-2)

CARMAN, R. M. *Agathis microstachya* oleoresin. **Australian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 3, pp. 393-394, 1964. DOI: <https://doi.org/10.1071/CH9640393>

CARNEIRO, L. J., BIANCHI, T. C., DA SILVA, J. J., OLIVEIRA, L. C., BORGES, C. H., LEMES, D. C., BASTOS, J. K., VENEZIANI, R. C. S., AMBRÓSIO, S. R. Development

and validation of a rapid and reliable RP-HPLC-PDA method for the quantification of six diterpenes in *Copaifera duckei*, *Copaifera reticulata* and *Copaifera multijuga* oleoresins. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, v. 29, pp. 729-737, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170195>

CARNEIRO, L. J., TASSO, T. O., SANTOS, M. F., GOULART, M. O., SANTOS, R. A. D., BASTOS, J. K., SILVA, J. J. M., CROTTI, A. E. M., PARREIRA, R. L. T., ORENHA, R. P., VENEZIANI, R. C. S., AMBRÓSIO, S. R. *Copaifera multijuga*, *Copaifera pubiflora* and *Copaifera trapezifolia* oleoresins: chemical characterization and *in vitro* cytotoxic potential against tumoral cell lines. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 31, pp. 1679-1689, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200054>

CARVALHO, J. C. T., CASCON, V., POSSEBON, L. S., MORIMOTO, M. S. S., CARDOSO, L. G. V., KAPLAN, M. A. C., GILBERT, B. Topical antiinflammatory and analgesic activities of *Copaifera duckei* Dwyer. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 11, pp. 946-950, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1762>

CARVALHO, T. C. Biotransformações dos terpenos β -cariofileno e ácido 3 β -acetóxi copálico presentes em oleorresinas de *Copaifera* sp. utilizando fungos filamentosos e bactérias do trato gastrointestinal e avaliação da atividade citotóxica dos derivados obtidos. 219 p. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2016.

CASCON, V., GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry** 2000, 55, 773–778. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00284-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00284-3)

CASCON, V. Copaíba: *Copaifera* spp. In: CARVALHO, J. C. T. Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Tecmedd. Ribeirão Preto, São Paulo, 480p, 2004.

CAVIN, A. L., HAY, A. E., MARSTON, A., STOECKLI-EVANS, H., SCOPELLITI, R., DIALLO, D., & HOSTETTMANN, K. Bioactive diterpenes from the fruits of *Detarium microcarpum*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 5, pp. 768-773, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/np058123q>

CORDEIRO, J. G. M. S. Produção de óleo-resina de copaíba em áreas de exploração de bauxita e sua importância para comunidades quilombolas da região do Rio Trombetas – PA. 48 p. Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia –INPA, Manaus, 2013.

CORREIA, A. F., SEGOVIA, J. F. O., GONÇALVES, M. C. A., OLIVEIRA, V. L., SILVEIRA, D., CARVALHO, J. C. T., KANZAKI, L. I. B. Amazonian plant crude extract screening for activity against multidrug-resistant bacteria. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, 12, 369–380, 2008.

COSTA, A. S., LAMEIRA, O. A. Phytochemical study of oleoresin extracted from

Copaifera reticulata Ducke (LeguminosaeCaesalpinioidade) in a sustainable management area. **Research, Society and Development**, v. 10, n.16, p. e154101622305-e154101622305, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.22305>

COSTA, J. A. S. *Copaifera* in Flora e Funga do Brasil, 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro (REFLORA). Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB22895> Acessado em 28 de setembro de 2022.

CRISAFULLI, R. Estudo fitoquímico de plantas do nordeste: *Annona squamosa*. Obtenção de derivados reacionais do ácido caurenóico. 130 p. Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Dissertação (Metrado) Universidade Federal do Pará, 2007.

CRUZ, L. R., SPANGENBERG, T., LACERDA, M. V. G., WELLS, T. N. C. Malaria in South America: a drug discovery perspective. **Malaria Journal**, v. 12, pp. 168, 2013. Acessado em <http://www.malariajournal.com/content/12/1/168>

DELLE-MONACHE, F., CORIO, E., D'ALBUQUERQUE, I. L., MARINI-BETTOLO, G. B. Diterpenes From *Copaifera Multijuga* Hayne. I. **Annali di Chimica**, v. 59, n. 6, pp. 539-&, 1969.

DE SOUSA, I. P., SOUSA TEIXEIRA, M. V., JACOMETTI CARDOSO FURTADO, N. A. An overview of biotransformation and toxicity of diterpenes. **Molecules**, v. 23, n. 6, pp. 1387, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23061387>

DEUS, R. J. A., CARVALHO, A. S. C., BANNA, D. A. D. S., ARRUDA, M. S. P., ALVES, C. N., SANTOS, A. S. Efeito fungitóxico in vitro do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, pp. 347–353, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000300018>

DEV, S. Biogenetic concepts in terpene structure elucidation. **Pure and Applied Chemistry**, v. 51, n. 4, pp. 837-856, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1351/pac197951040837>

DOMÉNECH-CARBÓ, M. T., DE LA CRUZ-CAÑIZARES, J., OSETE-CORTINA, L., DOMÉNECH-CARBÓ, A., DAVID, H. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatobá resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 284, n. 1-3, pp. 81-92, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2008.12.015>

EKONG, D., OKOGUN, J. I. Co-occurrence of diterpene acids of the eperuane and labdane series in *Oxystigma oxyphyllum*. **Chemical Communications (Londres)**, n. 2, pp. 72-73, 1967. DOI: <https://doi.org/10.1039/C19670000072>

EMERENCIANO, D. P., BARACHO, B. B., MEDEIROS, M. L. D., ROCHA, H. A., XAVIER JR, F. H., VEIGA JR., V. F. D., MACIEL, M. A. M. Physicochemical characterizations and antioxidant property of copaiba oil loaded into SNEDDS Systems. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 2, pp. 234-246, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180172>

EPIFANO, F., GENOVESE, S., FIORITO, S., MATHIEU, V., KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. **Phytochemistry Review**, v. 13, pp. 37–49, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9289-1>

FERNANDES, M. R. PEREIRA, N. A., PAULO, L. G. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera cearensis*, Huber). **Revista Brasileira Farmácia**, v. 73, pp. 53-56, 1992.

FERRARI, M., PAGNONI, U. M., PELIZZONI, F., LUKEŠ, V., & FERRARI, G. Terpenoids from *Copaifera langsdorffii*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 4, pp. 905-907, 1971. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97176-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97176-0)

FERREIRA, L. S. Caracterização do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) coletado sazonalmente na Floresta Nacional do Tapajós, Pará, Brasil. 71 p. Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Oeste do Pará, 2016.

FONSECA, A. P., ESTRELA, F. T., MORAES, T. S., CARNEIRO, L. J., BASTOS, J. K., SANTOS, R. A. D., AMBRÓSIO, S. R. MARTINS, C. H. G., VENEZIANI, R. *In vitro* antimicrobial activity of plant-derived diterpenes against bovine mastitis bacteria. **Molecules**, v. 18, n. 7, pp. 7865-7872, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18077865>

FUJII, M., ISHII, S., SAITO, R., & AKITA, H. Enzymatic resolution of albicanol and its application to the synthesis of (–)-copalic acid. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 59, n. 4, pp. 254-260, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2008.07.004>

GALÚCIO, C. D. S., BENITES, C. I., RODRIGUES, R. A., MACIEL, M. R. W. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**, v. 39, n. 7, pp. 795-800, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160096>

GAVAGNIN, M., UNGUR, N., CASTELLUCCIO, F., & CIMINO, G. Novel verrucosins from the skin of the *Mediterranean nudibranch* *Doris verrucosa*. **Tetrahedron**, v. 53, n. 4, pp. 1491-1504, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(96\)01083-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(96)01083-6)

GELMINI, F., BERETTA, G., ANSELMINI, C., CENTINI, M., MAGNI, P., RUSCICA, M., CAVALCHINI, A., FACINO, R. M. GC–MS profiling of the phytochemical constituents of the oleoresin from *Copaifera langsdorffii* Desf. and a preliminary *in vivo* evaluation of its antipsoriatic effect. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 440, n. 2, pp. 170-178, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.08.021>

GERIS, R. SILVA, I. G., SILVA, H. H. G., BARISON, A., RODRIGUES-FILHO, E., FERREIRA, A. G. Diterpenoids from *Copaifera reticulata* Ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 50 n.1, pp. 25-28, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000100006>

GÓMEZ, C. V., MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M., ESQUIVEL, B. Antifeedant activity of anticopalic acid isolated from *Vitex hemsleyi*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 64, n. 7-8, pp. 502-508, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2009-7-806>

GÓMEZ-HURTADO, M. A., TORRES-VALENCIA, J. M., MANRÍQUEZ-TORRES, J., ROSA, E., MOTILVA, V., GARCÍA-MAURIÑO, S. ÁVILA, J., TALERO E., CARLOS M. ROJAS, C. M. C. G., JOSEPH-NATHAN, P. Absolute configuration of labdanes and *ent*-clerodanes from *Chromolaena pulchellae* by vibrational circular dichroism. **Phytochemistry**, v. 72, n. 4-5, pp. 409-414, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.021>

GRANT JR, F. W. & ZEISS, H. H. The structure of cativic acid. **Journal of the American Chemical Society**, v. 76, n. 19, pp. 5001-5002, 1954. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01648a082>

GURGEL, E. S. C., DE OLIVEIRA, M. S., SOUZA, M. C., DA SILVA, S. G., DE MENDONÇA, M. S., DA SILVA SOUZA FILHO, A. P. Chemical compositions and herbicidal (phytotoxic) activity of essential oils of three *Copaifera* species (Leguminosae-Caesalpinoideae) from Amazon-Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 142, pp. 111850, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111850>

HECK, M. C., VIANA, L. A., VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.7, n.1, p.82-90, 2012. Acessado em <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/992>

HEMMERLIN, A., HARWOOD, J. L., BACH, T. J. A raison d'être for two distinct pathways in the early steps of plant isoprenoid biosynthesis? **Progress in Lipid Research**, v. 51, n. 2, pp. 95-148, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.12.001>

HUDSON, A. T. Atovaquone-a novel broad-spectrum anti-infective drug. **Parasitology Today**, v. 9, n. 2, pp. 66-68, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(93\)90040-M](https://doi.org/10.1016/0169-4758(93)90040-M)

HUGEL, G., OEHLISCHLAGER, A, C., OURISSON, G. The structure and stereochemistry of diterpenes from *Trachylobium verrucosum* Oliv.-V. **Tetrahedron**, v. 22, pp. 203-216, 1966. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)82184-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)82184-0)

HUSSAIN, M. A., MAHAJAN, V., RATHER, I. A., AWASTHI, P., CHOUHAN, R., DUTT, P., SHARMA Y. P., BEDI Y. P., GANDHI, S.G. Isolation and identification of growth promoting endophytes from *Artemisia annua* L. and its effects on artemisinin content. **Trends in Phytochemical Research**, v. 1, n. 4, pp. 207-214, 2017. Acessado em <http://tpr.iau-shahrood.ac.ir>

IDIPPILY, N. D., ZHENG, Q., GAN, C., QUAMINE, A., ASHCRAFT, M. M., ZHONG, B., SU, B. Copalic acid analogs down-regulate androgen receptor and inhibit small chaperone protein. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 11, pp. 2292-2295, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.046>

IMAMURA, P. M., SORIANO, M. D. C., LUNARDI, I., CARVALHO, J. E., NOGUEIRA,

R. T., SANTOS, C., GIACOMINI, R. A. Atividade biológica de alguns ácidos diterpênicos naturais e de seus derivados semi-sintéticos, **Revista Fitos**, v.1 n. 1 pp. 60-60, 2005.

IZUMI, E., UEDA-NAKAMURA, T., VEIGA JR, V. F., PINTO, A. C., NAKAMURA, C. V. Terpenes from *Copaifera* demonstrated *in vitro* antiparasitic and synergic activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 7, pp. 2994-3001, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm201451h>

KANIS, L. A., PROPHIRO, J. S., DA SILVA VIEIRA, E., DO NASCIMENTO, M. P., ZEPON, K. M., KULKAMP-GUERREIRO, I. C., DA SILVA, O. S. Larvicidal activity of *Copaifera* sp. (Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Parasitology Research**, v. 110, n. 3, pp. 1173-1178, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2610-2>

KARPLUS, M. Vicinal proton coupling in nuclear magnetic resonance. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 18, pp. 2870-2871, 1963. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja00901a059>

KIANI, B. H., KAYANI, W. K., KHAYAM, A. U., DILSHAD, E., ISMAIL, H., MIRZA, B. Artemisinin and its derivatives: A promising cancer therapy. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 8, pp. 6321-6336, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05669-z>

KONSTAT-KORZENNY, E., ASCENCIO-ARAGÓN, J. A., NIEZEN-LUGO, S., VÁZQUEZ-LÓPEZ, R. Artemisinin and its synthetic derivatives as a possible therapy for cancer. **Medical Sciences**, v. 6, n. 1, pp. 19, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/medsci6010019>

LAMEIRA, O. A., MARTINS-DA-SILVA, R. C., ZOGHBI, M. D. G. B., & OLIVEIRA, E. C. Seasonal variation in the volatiles of *Copaifera duckei* Dwyer growing wild in the state of Pará—Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 2, pp. 105-107, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700124>

LEANDRO, L. M., VARGAS, F. S., BARBOSA, P. C. S., NEVES, J. K. O., SILVA, J. A., VEIGA JR, D., FLORÊNCIO, V. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, pp. 3866-3889, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17043866>

LIMA, M. C. F. Desenvolvimento de metodologias cromatográficas para o aprimoramento do controle de qualidade e autenticidade de óleos de copaíba (*Copaifera* sp. – Fabaceae). 189p. Programa de Pós-Graduação em Química. Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Amazonas, 2021.

LIMA, S. G., DE SOUSA FIGUEREDO, J., DOS SANTOS, M. C., MENESES, A. K. S., DOS SANTOS ROCHA, M., DA COSTA, J. G. M., FERNANDES, R. M. Study on volatile constituents, cytotoxic activity and antioxidant potential of fixed extracts of *Copaifera luetzelburgii* Harms. **Current Aspects in Pharmaceutical Research and Development Vol. 2**, pp. 22-36, 2021. DOI: <https://doi.org/10.9734/bpi/caprd/v2/12858D>

LIU, Y., NAIR, M. G. Labdane diterpenes in *Curcuma mangga* rhizomes inhibit lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, pp. 527-532, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.064>

LOPES, M. S. Síntese e avaliação da atividade citotóxica, leishmanicida e tripanocida de derivados nitroaromáticos. 199 p. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

LUCCA, L. G., DE MATOS, S. P., BORILLE, B. T., DIAS, D. D. O., TEIXEIRA, H. F., VEIGA JR, V. F. LIMBERGER, R. P. KOESTER, L. S. Determination of β -caryophyllene skin permeation/retention from crude copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne) and respective oil-based nanoemulsion using a novel HS-GC/MS method. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 104, pp. 144-148, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.013>

MAHAJAN, J. R., FERREIRA, G. A. L. New diterpenoids from copaiba oil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences** v.43, n.3/4, p.611-613, 1971.

MAIA, L. F. Terpenos de corais da ordem Gorgonacea. 200 p. Instituto de Ciências Exatas Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica. Tese (Doutorado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1991.

MANH, D. D. K., FETIZON, M., & KONE, M. Synthèse de l'acide anticopalique, labdadiene-8 (17), E-13 oique-15. **Tetrahedron**, v. 31, n. 16, pp. 1903-1905, 1975. DOI: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(75\)87049-9](https://doi.org/10.1016/0040-4020(75)87049-9)

MARCHESINI, A. M., PRADO, G. G., MESSIANO, G. B., MACHADO, M. B., LOPES, L. M. Chemical constituents of *Aristolochia giberti*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 9, pp. 1598-1608, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000900006>

MATOS, P. M., MAHONEY, B., CHAN, Y., DAY, D. P., CABRAL, M. M., MARTINS, C. H., SANTOS, R. A., BASTOS J. K., BULMAN PAGE, P. C., HELENO, V. C. New non-toxic semi-synthetic derivatives from natural diterpenes lorenzidis displaying anti-tuberculosis activity. **Molecules**, v. 20, n. 10, pp. 18264-18278, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules201018264>

MCCRINDLE, R., OVERTON, K. H. The diterpenoids, sesterterpenoids and triterpenoids. In: **Rodd's Chemistry of Carbon Compounds**. Elsevier, pp. 369-481, 1964. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-044453345-6.50563-0>

MEDEIROS, R. S. Sustentabilidade de extração, produção e características químicas do óleo-resina de copaíba. (*Copaifera multijuga* Hayne) Manaus-AM. 83 p. Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais. Dissertação (Mestrado) - Universidade do estado do Amazonas- UFAM e Instituto Nacional de Pesquisa do Amazônia- IMPAINPA, Manaus, 2006.

MEDEIROS, V. G. Isolamento, síntese e avaliação da atividade biológica de diterpenos do tipo labdano. 160 p. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências da Vida – ICV, 2019.

MEDEIROS, V.G.; DURÁN, F. J., LANG, K. L. Copalic acid: occurrence, chemistry, and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 4, pp. 375-386, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00173-2>

MENDONÇA, D. E., ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba-*Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2B, pp. 577-581, 2009.

MESSIANO, G. B., VIEIRA, L., MACHADO, M. B., LOPES, L. M., DE BORTOLI, S. A., & ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatalis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, pp. 2655-2659, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf703594z>

MILANNI, J. F. Cavidades secretoras nos órgãos vegetais aéreos de *Copaifera trapezifolia* Hayne (Leguminosae, Caesalpinoideae). 47 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, 2009.

MISRA, R., PANDEY, R. C, DEV, S. The chemistry of the oleo resin from unknown node type: a series of new diterpenoids. **Tetrahedron Letters**, v. 5, n. 49, pp. 3751-3759, 1964. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)89373-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89373-4)

MONTI, H., TILIACOS, N., FAURE, R. Two diterpenoids from copaiba oil. **Phytochemistry**, v. 42, n. 6, pp. 1653-1656, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00162-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00162-8)

MONTI, H., TILIACOS, N., FAURE, R. Copaiba oil: isolation and characterization of a new diterpenoid with the dinorlabdane skeleton. **Phytochemistry**, v. 51, n. 8, pp. 1013-1015, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00711-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00711-0)

MOREIRA, A. C. O. Espectroscopia NIR, CG-EM e Quimiometria para o controle de qualidade do Óleo de Copaíba (*Copaifera* spp.). 171p. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica. Tese (Doutorado)- Universidade de Brasília, 2018.

NAKANO, T., DJERASSI, C. Terpenoids. XLVI. Copalic Acid. **Journal of Organic Chemistry**, v. 26, pp. 167–173, 1961. DOI: <https://doi.org/10.1021/jo01060a040>

NISGOSKI, S., MUÑIZ, G. I. B., FRANÇA, R. F., BATISTA, F. R. R. Anatomia do lenho carbonizado de *Copaifera cf. langsdorfii* Desf. e *Dipteryx odorata* (Aubl.) Wild. **Revista Ciência da Madeira**, v. 3, n. 2, pp. 66-79, 2012.

NOGUEIRA, E. O., NOVAES, A. S. M., SANCHEZ, C. M. S., ANDRADE, C. M., SILVA, M. F. A. Effect of copaiba oleoresin (*Copaifera* sp.) on the *in vitro* cellular proliferation.

Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 49, n. 4, pp. 293-300, 2012. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v49i4p293-300>

OHSAKI, A., YAN, L. T., ITO, S., EDATSUGI, H., IWATA, D., KOMODA, Y. The isolation and *in vivo* potent antitumor activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the Brazilian medicinal plant, *Copaifera langsdorfi* desfon. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, pp. 2889-2892, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80834-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80834-9)

OHTA, K. & NAWAMAKI, T. (+)-Polyalthic acid, a repellent against a sea snail *Monodonta neritoides*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 42, n. 10, pp. 1957-1958, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb1961.42.1957>

OLIVEIRA, F. C. Um sistema especialista em determinação estrutural de sesquiterpenos com base em dados de RMN ¹³C. 194 p. Instituto de Química. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, 1998.

OLIVEIRA, L. C., PORTO, T. S., JUNIOR, A. H. C., SANTOS, M. F. C., RAMOS, H. P., BRAUN, G. H., LIMA, L. A. P., BASTOS, J. K. FURTADO, N. A. J. C., PARREIRA, R. L. T. VENEZIANI, R. C. S., MAGALHÃES, L. G., AMBRÓSIO, S. R. Schistosomicidal activity of kaurane, labdane and clerodane-type diterpenes obtained by fungal transformation. **Process Biochemistry**, v. 98, pp. 34-40, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.02>

PACHECO, T. A. R. C., BARATA, L. E. S., DUARTE, M. C. T. Antimicrobial activity of copaiba (*Copaifera* spp.) balsams. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.8, pp. 123-124, 2006.

PAIVA, L. A. F., GURGEL, L. A., CAMPOS, A. R., SILVEIRA, E. R., RAO, V. S. N. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Life Sciences**, v. 75, n. 16, pp. 1979-1987, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.05.011>

PAIVA, L. A. F., RAO, V. S. N., GRAMOSA, N. V., SILVEIRA, E. R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo- resin on experimental gastric ulcer models in rats. **Jornal Ethnopharmacology**, v. 62, n. 1, pp. 73-78, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00058-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00058-0)

PEREIRA, F. J., MARTINS, F. T., CORRÊA, R. S., MOREIRA, M. E., COSTA, A. M. D. D., DOS SANTOS, M. H., POLO, M., BARBOSA, L. C. Isolamento, composição química e atividade anti-inflamatória do óleo essencial do pericarpo de *Copaifera langsdorffii* Desf. de acordo com hidrodestilações sucessivas. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 3, pp. 369-74, 2008.

PEREIRA, T. B. Derivados semissintéticos a partir dos limonoides isolados das sementes da andiroba (*Carapa guianensis* –meliaceae) e sua atividade antimalárica contra plasmodium spp. 250 p. Programa de Pós-Graduação em Química. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

PIERI, F. A., MUSSI, M. C., MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, pp. 465-472, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400016>

PINTO, A. C., BRAGA, W. F., REZENDE C. M., GARRIDO, F. M. S., VEIGA JR, V.F., BERGTER, L., PATITUCCI, M. L., ANTUNES, O. A. C. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.11, n.4, pp 355-360, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000400005>

PINTO, I. F., OLIVEIRA, E. C. P., OLIVEIRA, R. C., REBELO, S., SILVA, A. S. Composição química do óleo-resina de *Copaifera duckei* Dwyer proveniente de coletas sazonais da Floresta Nacional do Tapajós, PA. Anais do VII SBOE – **Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais**. ISBN – 978-85-66836-05-9, 2013.

POHLIT, A. M., LIMA, R. B., FRAUSIN, G., SILVA, L. F., LOPES, S. C., MORAES, C. B., CRAVO, P., LACERDA, M. V., SIQUEIRA, A. M., FREITAS JR, L. H., COSTA, F. T. Amazonian plant natural products: perspectives for discovery of new antimalarial drug leads. **Molecules**, v. 18, n. 8, pp. 9219-9240, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18089219>

PROPHIRO, J. S., DA SILVA, M. A. N., KANIS, L. A., DA ROCHA, L. C. B., DUQUE-LUNA, J. E., DA SILVA, O. S. First report on susceptibility of wild *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) using *Carapa guianensis* (Meliaceae) and *Copaifera* sp. (Leguminosae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, pp. 699-705, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2545-7>

PWO, *Plants of the World Online*, 2022. Royal Botanic Gardens Kew. Publicado na Internet <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331514-2#sources>. *Copaifera* L. Acessado em 28 de setembro de 2022.

QUEIROZ, L. P. Leguminosas da Caatinga. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana/Royal Botanic Gardens, Kew, **Associação Plantas do Nordeste**, 2009.

RALDUGIN, V. A., DEMENKOVA, L. I., PENTEGOVA, V. A. Labdane acids and other components of the needles of *Pinus pumila*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 21, n. 2, pp. 192-197, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00714911>

RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C. R., WADT, P. G. S., WADT, L. H. O. Copaíba: Ecologia e produção de óleo-resina. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agroflorestal do Acre Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - EMBRAPA. Rio Branco - AC. 2004.

RODRIGUES, T. M. Espaços secretores em *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Pterodon pubescens* Benth, estrutura e definição: e Ontogênese. 146 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

ROMERO, A. L. Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaíba: configuração absoluta de terpenos. 204 p. Instituto de Química. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.

ROMERO, A. L., BAPTISTELLA, L. H. B., IMAMURA, P. M. Absolute configuration of some dinorlabdanes from the copaiba oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, pp. 1036-1040, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000600006>

RUZICKA, L., HOSKING, J. R. Höhere Terpenverbindungen XLII. Dehydrierung und Isomerisierung der Agathen-disäure. **Helvetica Chimica Acta**, v. 13, n. 6, pp. 1402-1423, 1930. DOI: <https://doi.org/10.1002/hlca.19300130624>

SACHETTI, C. G., DE CARVALHO, R. R., PAUMGARTTEN, F. J. R., LAMEIRA, O. A., CALDAS, E. D. Developmental toxicity of copaiba tree (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) oleoresin *in rat*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 5, pp. 1080-1085, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.01.015>

SANDERMANN, W., BRUNS, K., REICHEL, W. Diterpensäuren aus *Oxystigma oxyphyllum* I. Léonard (Leguminosae). **Tetrahedron Letters**, v. 8, n. 28, pp. 2685-2688, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)89975-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89975-5)

SANTANA, J. A. S., JUNIOR, J. A. S. S., BARRETO, W. S., FERREIRA, A. T. S. Estrutura e distribuição espacial da vegetação da Caatinga na Estação Ecológica do Seridó, RN. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 88, pp. 355-361, 2016. DOI: <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.88.1002>

SANTOS, A. O., UEDA-NAKAMURA, T., DIAS FILHO, B. P., VEIGA JR, V. F., PINTO, A. C., NAKAMURA, C. V. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, pp. 204-208, 2008a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.007>

SANTOS, A. O.D., UEDA-NAKAMURA, T., DIAS FILHO, B. P., VEIGA JR, V.F., PINTO, A. C., & NAKAMURA, C. V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, pp. 277-281, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008005000015>

SANTOS, A. O., COSTA, M. A., UEDA-NAKAMURA, T., DIAS-FILHO, B. P., DA VEIGA JR, V. F., DE SOUZA LIMA, M. M., & NAKAMURA, C. V. *Leishmania amazonensis*: efeitos do tratamento oral com óleo de copaíba em camundongos. **Parasitologia Experimental**, v. 129, n. 2, pp. 145-151, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.06.016>

SANTOS, A. O. D., IZUMI, E., UEDA-NAKAMURA, T., DIAS-FILHO, B. P., VEIGA-JÚNIOR, V.F.D., & NAKAMURA, C. V. Antileishmanial activity of diterpene acids in copaiba oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 1, pp. 59-64, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762013000100010>

SANTOS, D. G., CASTRO, V. S., JUNIOR, C. A. C., PINTO, A. C., UEKANE, T. M.,

REZENDE, C. M. *Copaifera reticulata*: caracterização química e atividade bactericida frente à patógenos de alimentos. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 2, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200038>

SANTOS, E. C. Transcriptoma de *Copaifera multijuga* hayne: montagem e anotação. pp. 97. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

SARTORELLI, P., CARVALHO, C. S., REIMAO, J. Q., LORENZI, H., TEMPONE, A. G. Antitrypanosomal activity of a diterpene and lignans isolated from *Aristolochia cymbifera*. **Planta Medica**, v. 76, n. 13, pp. 1454-1456, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240952>

SILVA, A. N., SOARES, A. C. F., CABRAL, M. M., ANDRADE, A.R., SILVA, M., MARTINS, C.H., VENEZIANI, R., C., S., AMBRÓSIO, S., R., BASTOS, J., K., HELENO, V.C. Antitubercular activity increase in labdane diterpenes from *Copaifera* oleoresin through structural modification. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, pp. 1106-1112, 2017a. DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160268>

SILVA, F. H., OLIVEIRA, M., BRAGA, M., YOUNG, M., BOLZANI, V., CARDOSO-LOPES, E. M., TORES, L. Estudo do óleo essencial e extrato hidrometanólico de *Copaifera langsdorffii* Desf (Caesalpinaceae) do cerrado e mata atlântica. **Reunião Nacional da Sociedade Brasileira de Química**, v. 29, 2006.

SILVA, J. J. M., CREVELIN, E. J., CARNEIRO, L. J., ROGEZ, H., VENEZIANI, R. C. S., AMBRÓSIO, S. R., MORAES L. A. B., BASTOS, J.K. Development of a validated ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of acid diterpenes in *Copaifera* oleoresins. **Journal of Chromatography A**, v. 1515, pp. 81-90, 2017b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.038>

SILVA, H. H. G. D., GERIS, R., RODRIGUES FILHO, E., ROCHA, C., & SILVA, I. G. D. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, pp. 264-267, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000300002>

SKRUKRUD, C. L. Terpenoid biosynthesis in *Euphorbia lathyris* and *Copaifera* spp. University of California, Berkeley, 1987.

SORIANO, M. P. C. Rotas exploratórias visando a síntese do eperuol a partir dos ácidos abiético e copálico. 217p. Instituto de Química. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.

SOUSA, J. P. B. *Copaifera langsdorffii*: estudo fitoquímico, validação de métodos cromatográficos e análise sazonal. 179 p. Tese (Doutorado)-Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2011.

SOUSA, R. D. S. Estudo de substâncias químicas em óleos de coco, copaíba, calêndula e

girassol utilizados no tratamento de feridas: uma abordagem teórica. 50 p. Trabalho de conclusão do Curso de (Bacharel Química Industrial) -Universidade Federal do Maranhão, UFMA, 2018.

SOUZA, A. B., MARTINS, C. H. G., SOUZA, M. G. M., FURTADO, N. A. J. C., HELENO, V. C. G., SOUSA, J. P. B., ROCHA, E. M. P., BASTOS, J. K., CUNHA, W. R., VENEZIANI, R. C. S. Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. against cariogenic bacteria. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 2, pp. 215-220, 2011b. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.3244>

SOUZA, A. B., SOUZA, M. G. M., MOREIRA, M. A., MOREIRA, M. R., FURTADO, N. A. J. C., MARTINS, C. H. G., BASTOS, J. K., SANTOS, R. A., HELENO, V. C. G., AMBROSIO, S. R. Antimicrobial evaluation of diterpenes from *Copaifera langsdorffii* Oleoresin against periodontal anaerobic bacteria. **Molecules** v. 16, n. 11, pp. 9611-9619, 2011a. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16119611>

SOUZA, F. C. Avaliação do potencial farmacológico de derivados semissintéticos de terpenos obtidos do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.-Fabaceae). 107p. Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Amazonas- Manaus, 2018.

SOUZA, F. C. D., BRITO, L. F., SILVA, M. T., SUGIMOTO, M. A., PINTO, A. C. S., ALMEIDA, P., SOUZA, R. O. S., COSTA, R. A., GUILHON-SIMPLICIO, F., WANDERLEY, A. G., OLIVEIRA, K. M. T., SOUSA, L. P., VEIGA JR, V. F., LIMA, E. S. Synthesis, characterization and *in vitro*, *in vivo* and *in silico* anti-inflammatory studies of the novel hybrid based on ibuprofen and 3-hydroxy-copalic acid isolated from copaiba oil (*Copaifera multijuga*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.31, n.7, pp. 1335-1344, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190266>

SOUZA, M. G. M., LEANDRO, L. F., DA SILVA MORAES, T., ABRÃO, F., VENEZIANI, R. C. S., AMBROSIO, S. R., & MARTINS, C. H. G. Ent-Copalic acid antibacterial and anti-biofilm properties against *Actinomyces naeslundii* and *Peptostreptococcus anaerobius*. **Anaeróbio**, v. 52, pp. 43-49, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.05.013>

SPANLEVELLO, R. A., VILA, A. J. 7- α -acetoxyhardwickiic acid: A furanoid clerodane. **Phytochemistry**, v. 35, n. 2, pp. 537-538, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94797-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94797-6)

SPIVEY, A. C., ARSENIYADIS, S. Nucleophilic catalysis by 4-(dialkylamino) pyridines revisited—The search for optimal reactivity and selectivity. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 41, pp. 5436-5441, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200460373>

STEELE, CL, KATOH, S., BOHLMANN, J., CROTEAU, R. Regulação da oleoresinose no controle transcricional diferencial do abeto grande (*Abies grandis*) de genes de monoterpene, sesquiterpene e diterpene sintase em resposta a ferimentos. **Plant Physiology**, v. 116, n. 4, pp. 1497-1504, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.106.3.999>

TAPPIN, M. R. R., PEREIRA, J. F., LIMA, L. A., SIANI, A. C., MAZZEI, J. L., RAMOS, M. F. Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v. 27, n. 2, pp. 236-240, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200012>

TINCUSI, B. M., JIMÉNEZ, I. A., BAZZOCCHI, I. L., MOUJIR, L. M., MAMANI, Z. A., BARROSO, J. P., RAVELO, A. G., HERNANDEZ, B. V. Antimicrobial terpenoids from the oleoresin of the peruvian medical plant *Copaifera paupera*. **Planta Medica**, v. 68, n. 09, pp. 808-812, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2002-34399>

TPL. *The Plant List, Copaifera*. (2013). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Copaifera>. Acessado em abril de 2022.

TRINDADE, F. T. T., STABELI, R. G., PEREIRA, A. A., FACUNDO, V. A., ALMEIDA, A. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.23, n. 3, pp. 464-470, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000038>

TRINDADE, R., SILVA, J. K., SETZER, W. N. *Copaifera* of the neotropics: A review of the phytochemistry and pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, pp. 1511, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19051511>

Tropicos.org. Jardim Botânico do Missouri. Acessado em 09 de junho de 2022 <<https://tropicos.org>>© 2022.

UNGUR, N., GAVAGNIN, M., FONTANA, A., & CIMINO, G. Synthetic studies on natural diterpenoid glyceryl esters. **Tetrahedron**, v. 56, n. 16, pp. 2503-2512, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(00\)00097-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00097-1)

VALLE, A. E. Leguminosaceae. In: GIULIETTI, A. M., QUEIROZ, L. P. de. Plantas da Caatinga: perfil botânico, fitoquímica e atividade biológica. **Associação Plantas do Nordeste**, Recife, v. 4. 2006.

VARGAS, D. S., ALMEIDA, P., ARANHA, E. S. P., BOLETI, D. A., PAULA, A., NEWTON, P., VASCONCELLOS, M. C., VEIGA JR F. V., LIMA, E. S. Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. oleoresins. **Molecules**, v. 20, n. 4, pp. 6194-6210, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules20046194>

VEIGA JR & V. F., PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, pp. 273-286, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>

VEIGA JR, V. F., PATITUCCI, M. L. P., PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v. 20, n. 6, pp. 612-615, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000600007>

VEIGA JR, V. F., PINTO, A.C., DE LIMA, H. C. The essential oil composition of *Copaifera trapezifolia* Hayne leaves. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 4, pp. 430-431,

2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699132>

VEIGA JR, V., ROSAS, E. C., CARVALHO, M. V. D., HENRIQUES, M. D. G. M. D. O., PINTO, A. C. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne-A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, pp. 248-254, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.005>

VEIGA JR, V. F., ZUNINO, L., CALIXTO, J. B., PATITUCCI, M. L., & PINTO, A. C. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 6, pp. 476-480, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.976>

VENEZIANI, R. C. S., AMBROSIO, S. R., MARTINS, C. H. G., CROTTI, A. E. M., TIRAPELLI, C. R. Diterpenos: aspectos químicos e biológicos. In: FURTADO, N.A.J.C., VENEZIANI, R. C. S., AMBRÓSIO, S.R., EMERY, F. S., MARCHETTI, J. M. (Ed.) **Farmacognosia**, la ed. Rio de Janeiro Atheneu, pp. 293-313. 2017.

VIEIRA, R. C., BOMBARDIERE, E., OLIVEIRA, J. J., LINO-JÚNIOR, R. S., BRITO, L. A., JUNQUEIRA-KIPNIS, A. P. Influence of *Copaifera langsdorffii* oil on the repair of a surgical wound in the presence of foreign body. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, pp. 358-366, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X200800080000>

WANG, Z., LIU, H., LUO, W., CAI, T., LI, Z., LIU, Y., GAO, W., WAN, Q., WANG, X., WANG, J., WANG, Y., YANG, X. Regeneration of skeletal system with genipin crosslinked biomaterials. **Journal of Tissue Engineering**, v. 11, pp. 2041731420974861, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/2041731420974861>

WESTPHAL, F. L., LIMA, L. C. D., GUIMARÃES, R. A., SOUZA, R. F. S. D., COUTO, S. B. D., & NAKAJIMA, S. R. Avaliação das alterações pleuropulmonares após a injeção de óleo de resina de copaíba, extrato aquoso de cajuru e polivinilpirrolidona iodado (PVPI) na pleura e parênquima pulmonar de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, n. 3, pp. 170-176, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-69912007000300007>

WFO (2022): *Copaifera L.* Published on the Internet; <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000009218>. Acessado em 28 de setembro 2022.

WOLLENWEBER, E., RÜEDI, P., & SEIGLER, D. S. Diterpenes of *Cheilanthes argentea*, a fern from Asia. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 37, n. 11-12, pp. 1283-1285, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-1982-11-1231>

XAVIER-JUNIOR, F. H.; MACIUK, A.; ROCHELLE DO VALE MORAIS, A. R. V.; ALENCAR, E. N.; GARCIA, V. L.; DO EGITO, E. S. T.; VAUTHIER, C. Development of a gas chromatography method for the analysis of copaiba oil. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 10, pp. 969-978, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx065>

XIN, Z., LU, Y., XING, X., LONG, J., LI, J., XUE, X. Synthesis of (-)-agathic acid and (-)

)-copalic acid from andrographolide via a regioselective Barton-McCombie reaction. **Tetrahedron**, v. 72, n. 4, pp. 555-562, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2015.12.022>

XU, S., HELD, I., KEMPF, B., MAYR, H., STEGLICH, W., ZIPSE, H. The DMAP-catalyzed acetylation of alcohols - a mechanistic study (DMAP=4-(dimethylamino)pyridine). **Chemistry–A European Journal**, v. 11, n. 16, pp. 4751-4757, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.200500398>

YU, Y., XU, S., LI, S., PAN, H. Genipin-cross-linked hydrogels based on biomaterials for drug delivery: a review. **Biomaterials Science**, v. 9, n. 5, pp. 1583-1597, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0BM01403f>

ZDERO, C., BOHLMANN, F., KING, R.M. Clerodane and labdane derivatives from *Olearia teretifolia*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 5, pp. 1703-1711, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83132-I](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83132-I)

ZHANG, S., FENG, N., HUANG, J., WANG, M., ZHANG, L., YU, J., DAI, X., CAO, J., HUANG, G. Incorporation of amino moiety to alepterolic acid improve activity against cancer cell lines: Synthesis and biological evaluation. **Bioorganic Chemistry**, v. 98, pp. 103756, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103756>

ZINKEL, D. F., MAGEE, T. V. Diterpene resin acids from the needle oleoresin of *Pinus strobus*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 3, pp. 769-774, 1987. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84783-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84783-4)

ZINKEL, D. F., TODA, J. K., ROWE, J. W. Occurrence of anticopalic acid in *Pinus monticola*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 5, pp. 1161-1163, 1971. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89956-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89956-2)

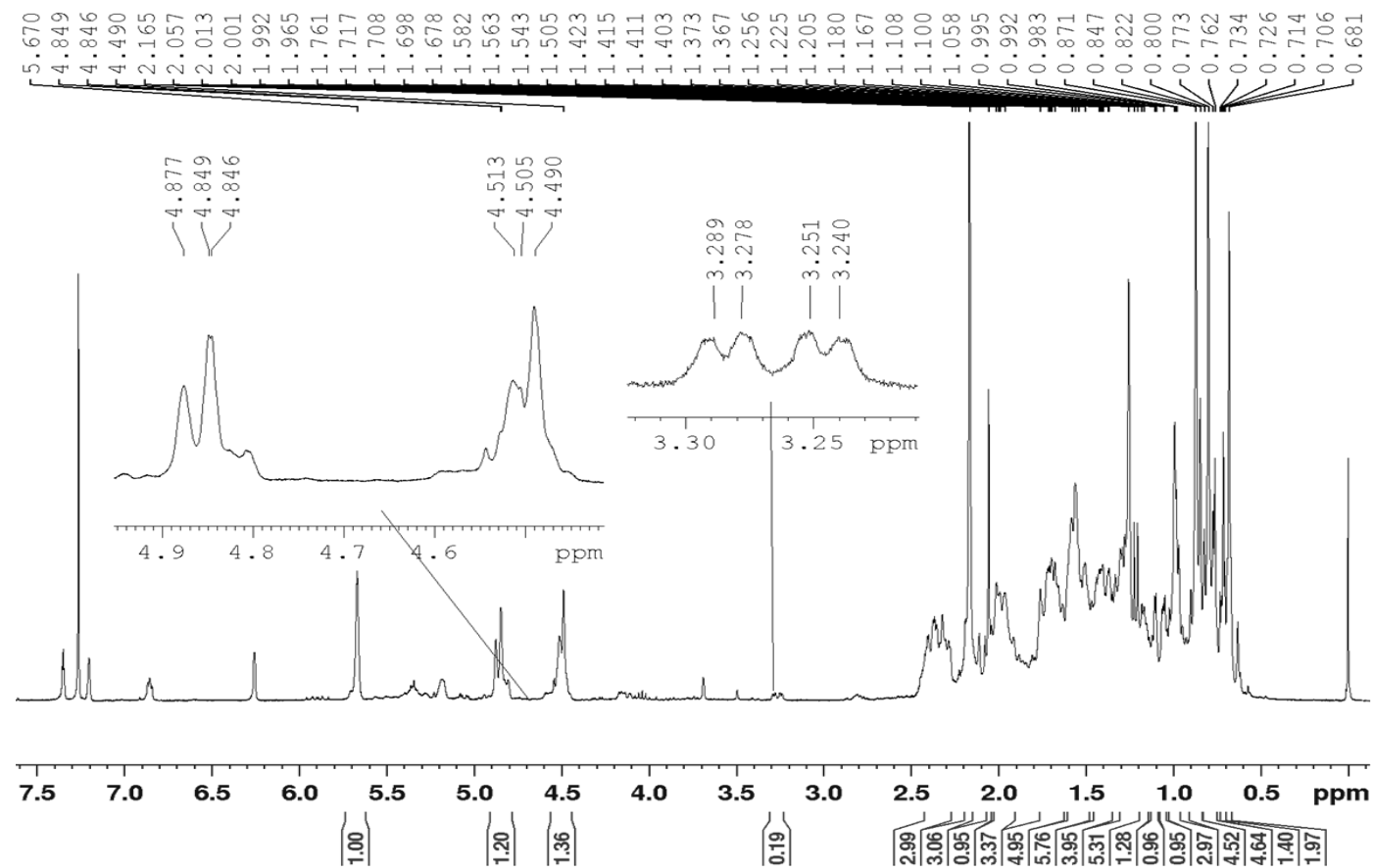
ZOGHBI, M. G. B., LAMEIRA, O. A., OLIVEIRA, E. C. P. Seasonal variation of oleoresin and volatiles from *Copaifera martii* Hayne growing wild in the state of Pará, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 6, pp. 504-506, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699316>

ZOGHBI, M. G. B., MARTINS-DA-SILVA, R. C. V., TRIGO, J. R. Volatiles of oleoresins of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, *C. piresii* Dwyer and *C. pubiflora* Benth. (Leguminosae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 5, pp. 403-404, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700203>

7 APÊNDICES

Apêndice 1: Espectro de RMN de ^1H da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).

FB (1H; CDCl_3 ; 6,8 mg)
14/07/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_F.C1B
EXPNO 1
PROCNO 1

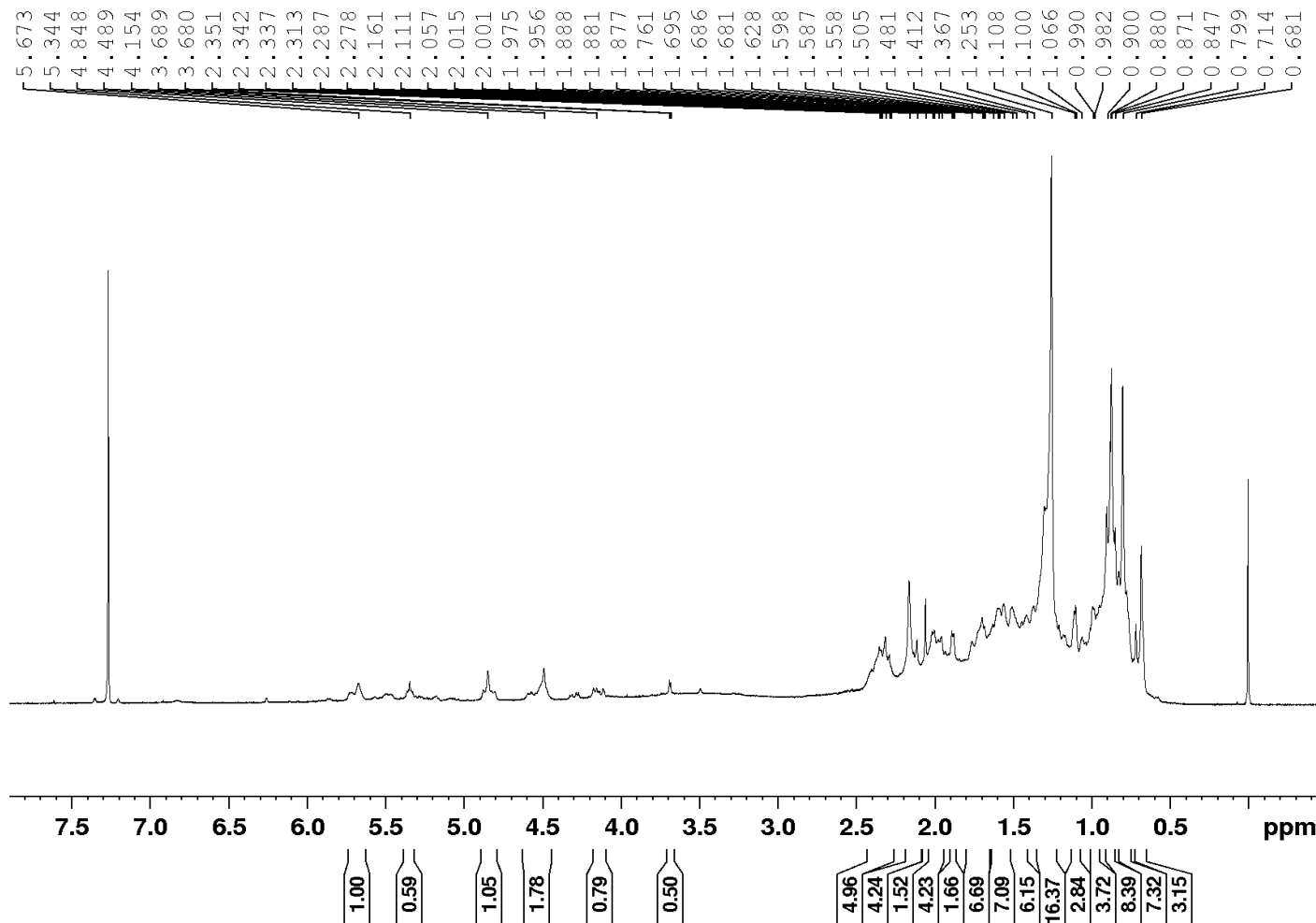
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220715
Time 14.29
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 8.19746
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 293.2 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000030 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 2: Espectro de RMN de ^1H da fração Hexânica da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).

F.HEX (^1H ; CDCl_3 ; 8,0 mg)
21/07/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_F.HEX
EXPNO 1
PROCNO 1

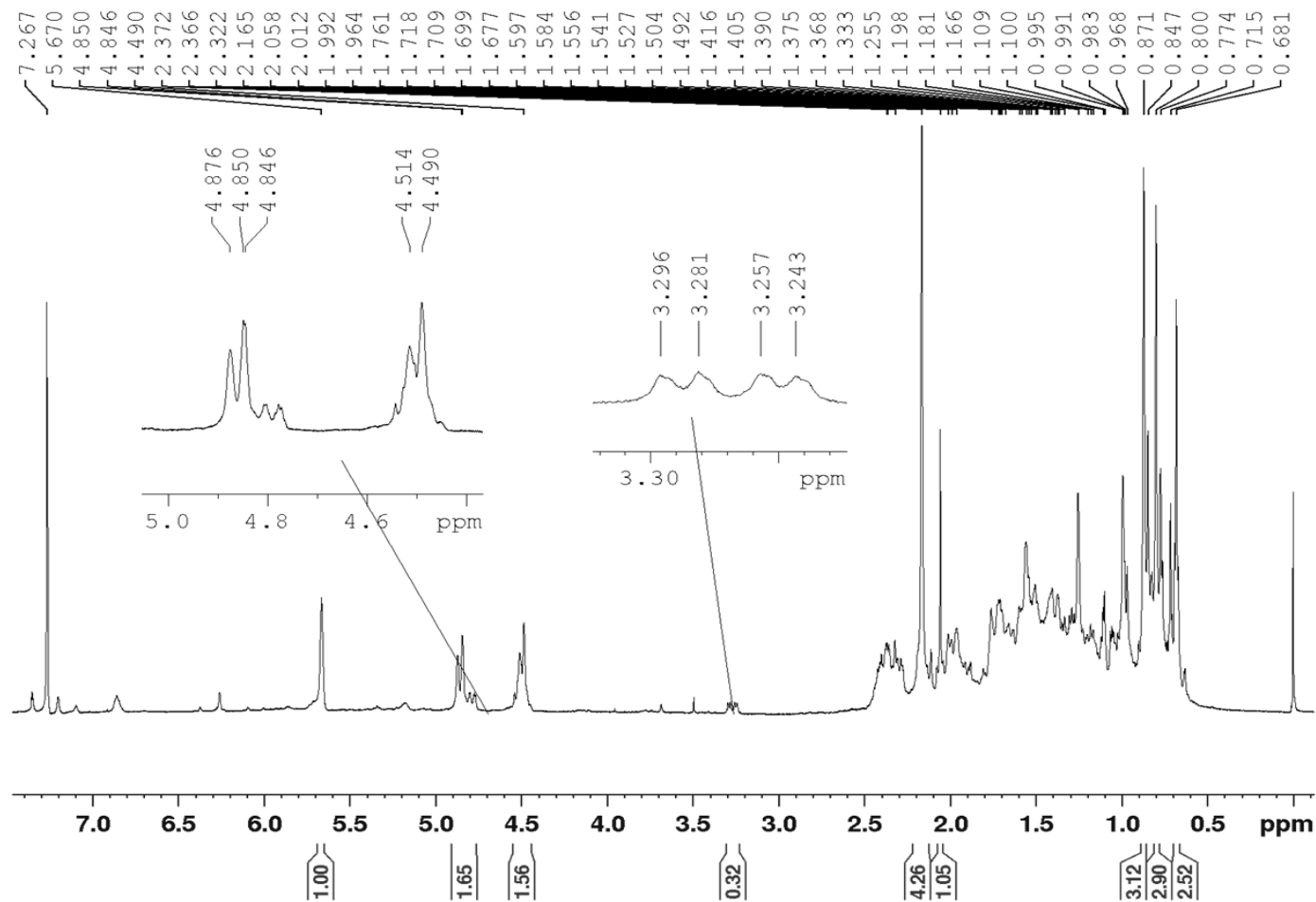
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220721
Time 15.15
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 8.98903
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE -1.0 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000023 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 3: Espectro de RMN de ^1H da fração CHCl_3 da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).

F.Cl (1H; CDCl_3 ; 11,4 mg)
11/07/2022 Op. Sabrina



```

Current Data Parameters
NAME      Ronei22_F.Cl
EXPNO     1
PROCNO    1

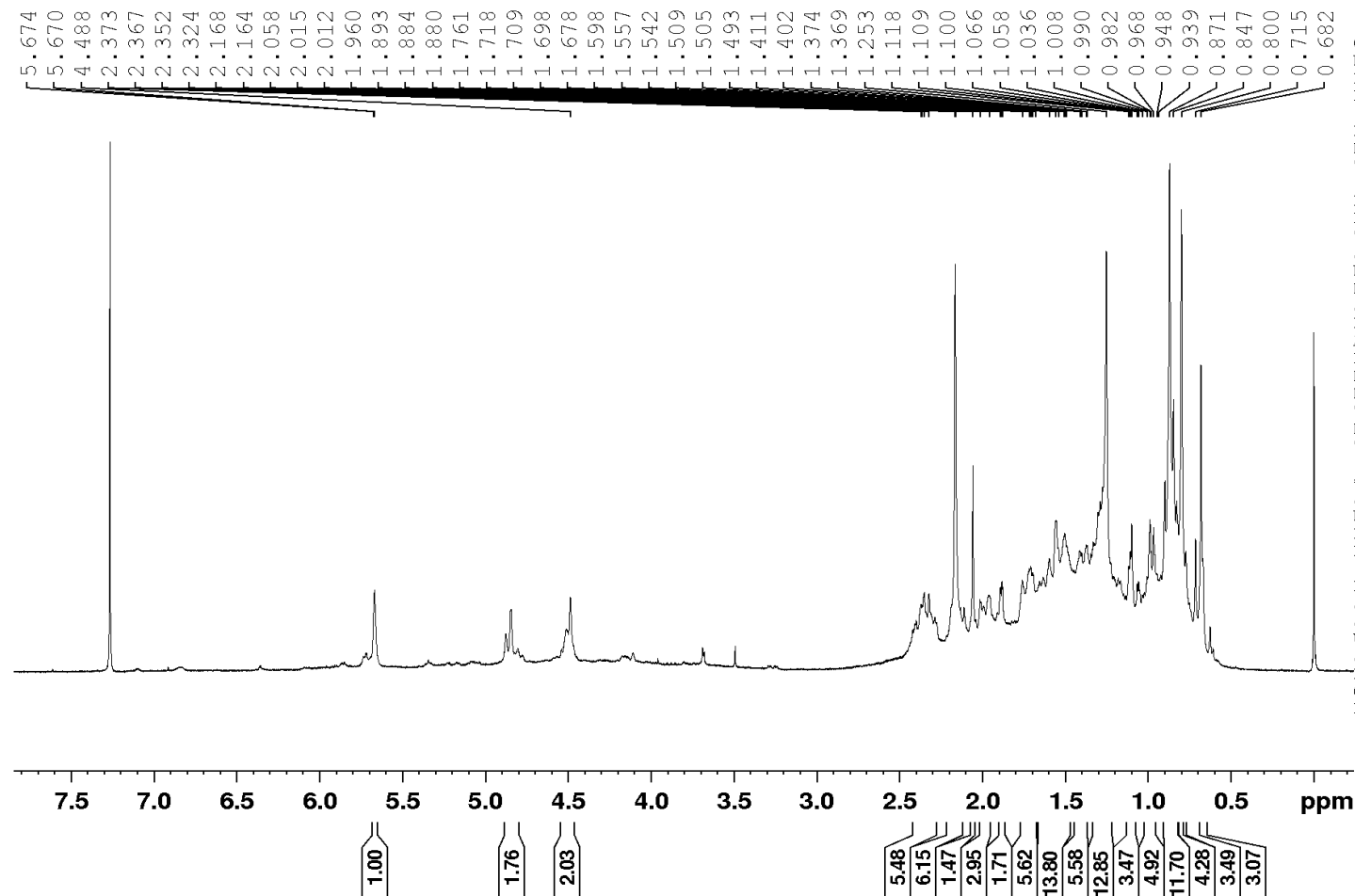
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20220711
Time      15.01
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   zg
TD         65536
SOLVENT   CDC13
NS         32
DS         0
SWH        6103.516 Hz
FIDRES     0.093132 Hz
AQ         5.3687091 sec
RG         8.04715
DW         81.920 usec
DE         6.50 usec
TE         293.9 K
D1         1.00000000 sec
TD0        1

----- CHANNEL f1 -----
SFO1      300.2019513 MHz
NUC1       1H
P1         8.50 usec
PLW1      20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI         65536
SF         300.2000023 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.00
  
```

Apêndice 4: Espectro de RMN de ^1H da fração AcOEt da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).

F.AC etila (1H; CDCl_3 ; 8,9 mg)
21/07/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_F.AC etila
EXPNO 1
PROCNO 1

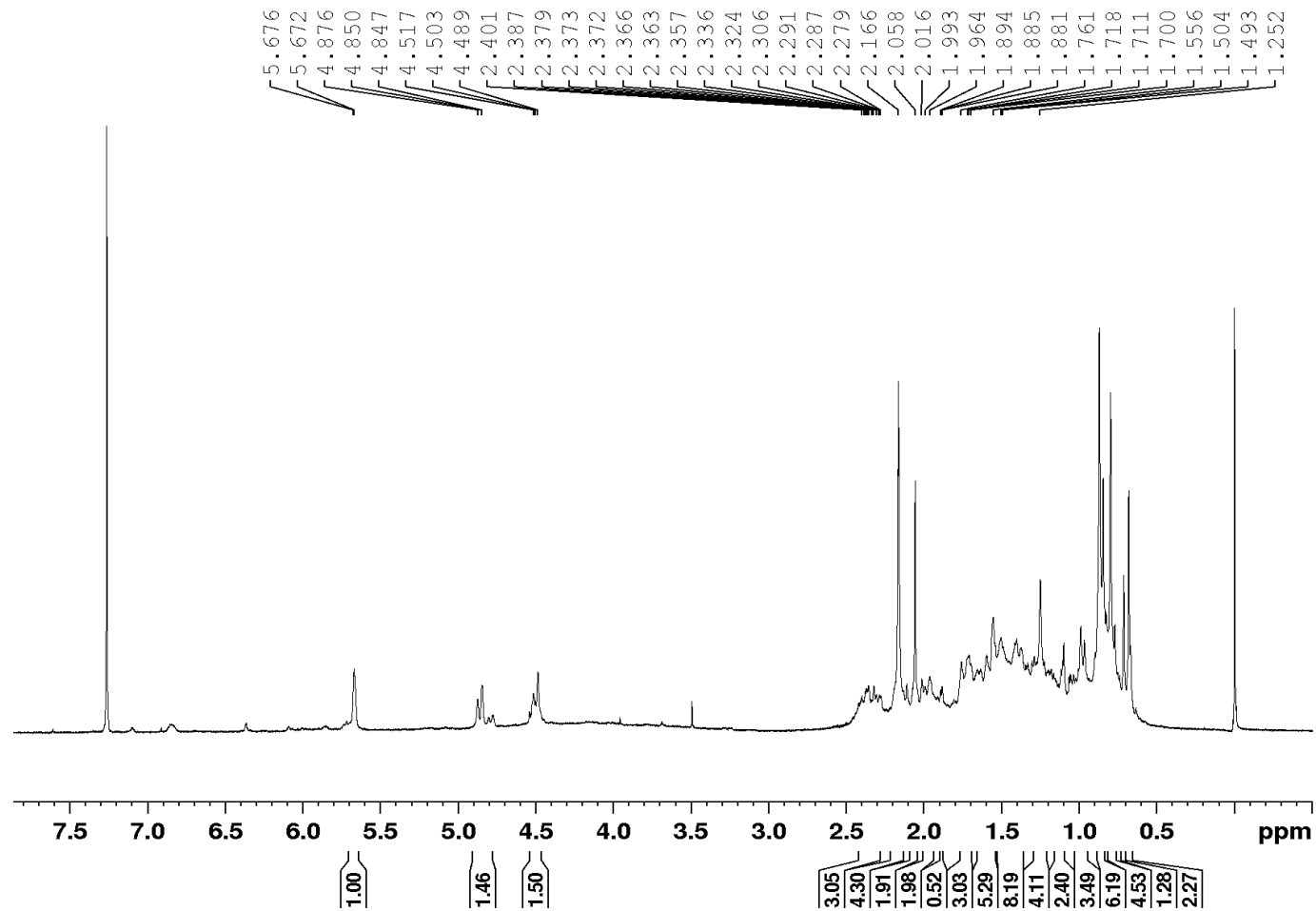
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220721
Time 14.37
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 10.0639
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE -1.0 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000021 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 5: Espectro de RMN de ^1H da fração aquosa da fração não volátil do óleo-resina de copaíba em CDCl_3 (300 MHz).

F.H2O(1H; CDCl_3 ; 6 mg)
21/07/2022 Op. Sabrina



```

Current Data Parameters
NAME      Ronei22_F.H2O_MeOH
EXPNO     1
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20220721
Time      14.22
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   zg
TD         65536
SOLVENT   CDC13
NS         32
DS         0
SWH        6103.516 Hz
FIDRES     0.093132 Hz
AQ         5.3687091 sec
RG         16.6279
DW         81.920 usec
DE         6.50 usec
TE         -1.0 K
D1         1.00000000 sec
TD0        1

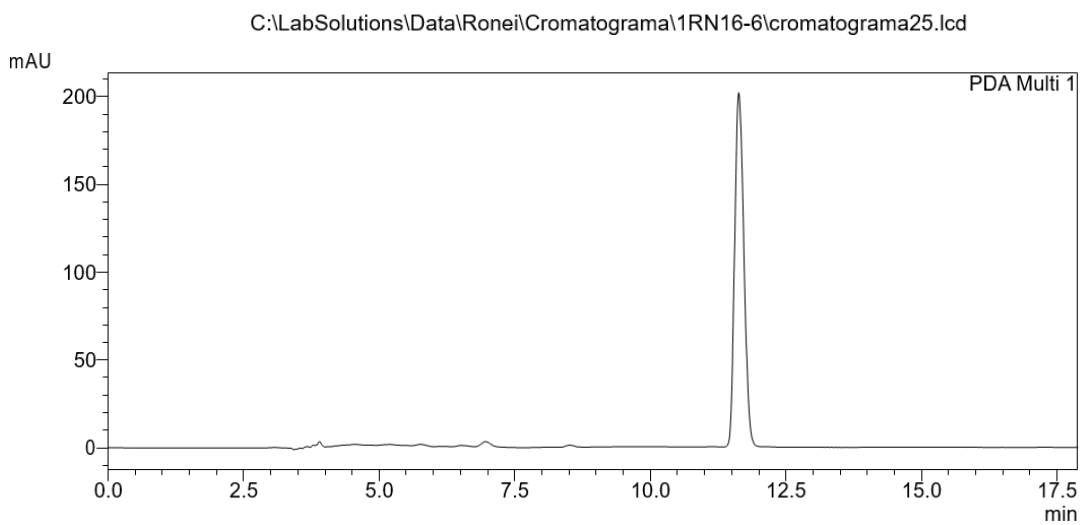
===== CHANNEL f1 =====
SFO1      300.2019513 MHz
NUC1       1H
P1         8.50 usec
PLW1      20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI         65536
SF         300.2000026 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.00
  
```

Apêndice 6: Análise de CLAE do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado da fração fixa do óleo-resina.

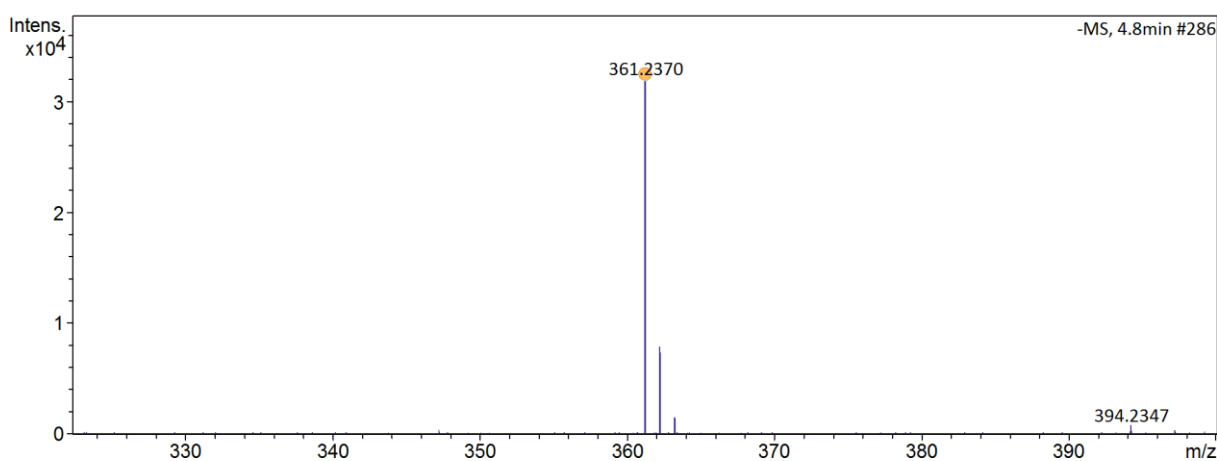
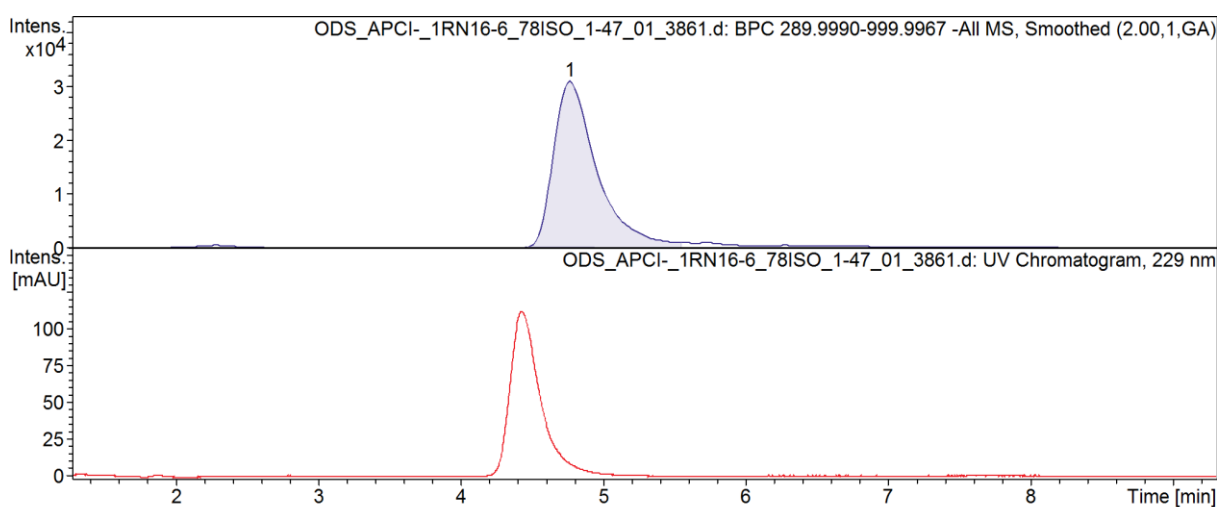
C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\1RN16-6\cromatograma25.lcd

Acquired by : Ronei
Sample Name : 1RN16_6
Sample ID : 1RN16_6
Tray# : 1
Vail # : 2
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : cromatograma25.lcd
Method File Name : método 1.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 15/03/2022 14:36:59
Data Processed : 15/03/2022 14:54:56

<Chromatogram>

Apêndice 7: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) isolado da fração fixa do óleo-resina.

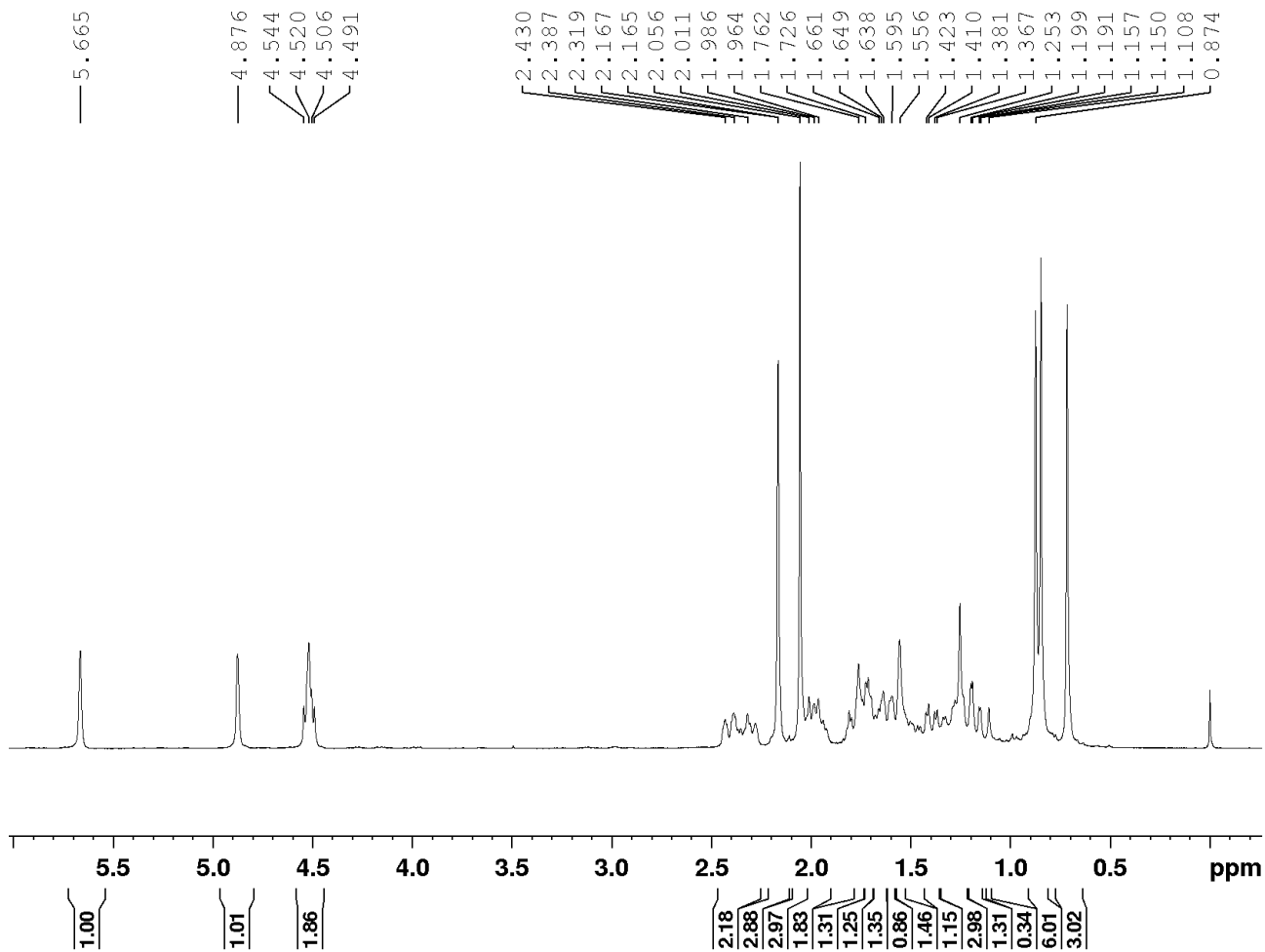
Analysis Info		Acquisition Date 3/7/2022 11:38:09 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Ronei\LC-MS\07-03-2022\ODS_APCI-_1RN16-6_78ISO_1-47_01_3861.d		
Method	LC-MS_Tune-Wide_APCI-_ComFocus_100-1600_20min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_APCI-_1RN16-6_78ISO	Instrument	microTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=35oC; P=3123psi; Inj=4uL; A(H ₂ O+0.1%HCOOH)/B(MeOH) 0-12m-78% 12-14m-78-100% 14-16m-100% 16-18m_100-78%, 18-20m_78% Inj:MeOH Calib.:TunemizAPCI_end		



Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	361.2370	C ₂₂ H ₃₃ O ₄	361.2384	3.9	5.9	100.00

Apêndice 8: Espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl_3 (300 MHz).

Ronei_RN16-6 (^1H ; CDCl_3 ; 10.8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina



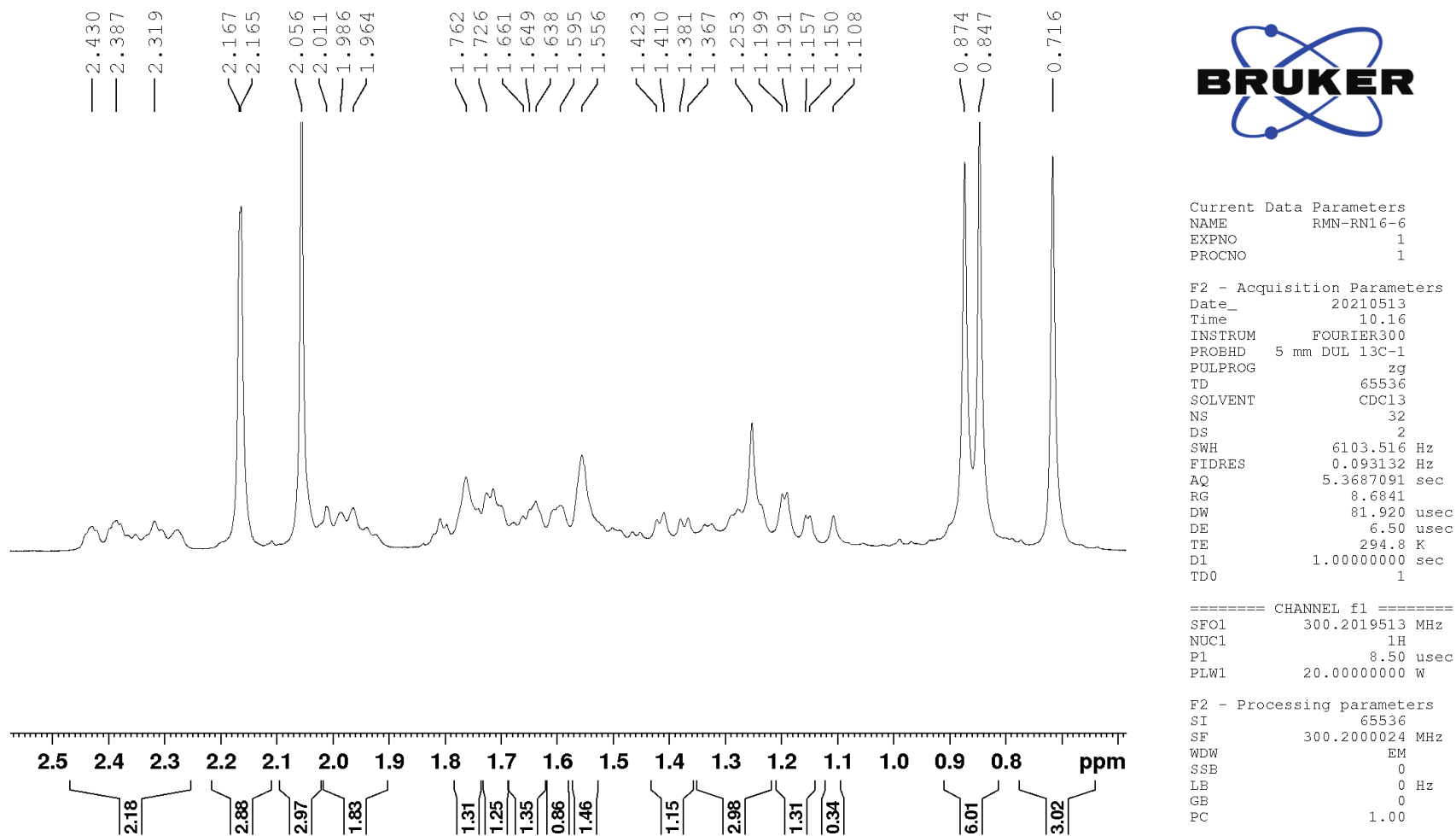
Current Data Parameters
NAME RMN-RN16-6
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20210513
Time 10.16
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 2
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 8.6841
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 294.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

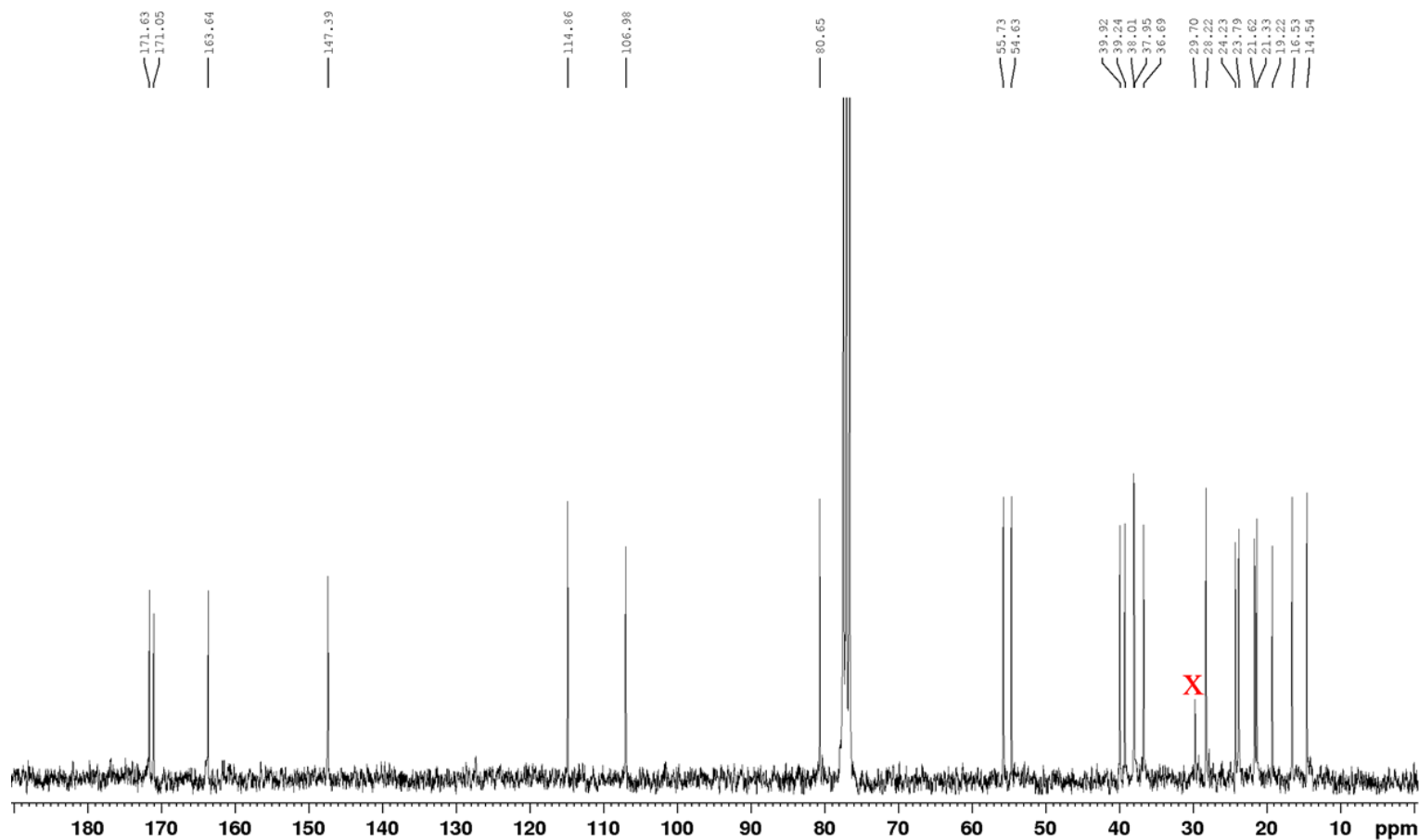
F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000024 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 9: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl_3 (300 MHz).



Apêndice 10: Espectro de RMN de ^{13}C da substância isolada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl_3 (75 MHz).

Ronei_RN16-6 (^{13}C ; CDCl_3 ; 10.8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina



Current Data Parameters
NAME RMN-RN16-6
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20210513
Time 12.21
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl_3
NS 5940
DS 0
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 294.6 K
D1 0.4000001 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00000875 sec
D40 0.01963016 sec
L4 20
L5 11
P32 90.00 usec
TDO 1

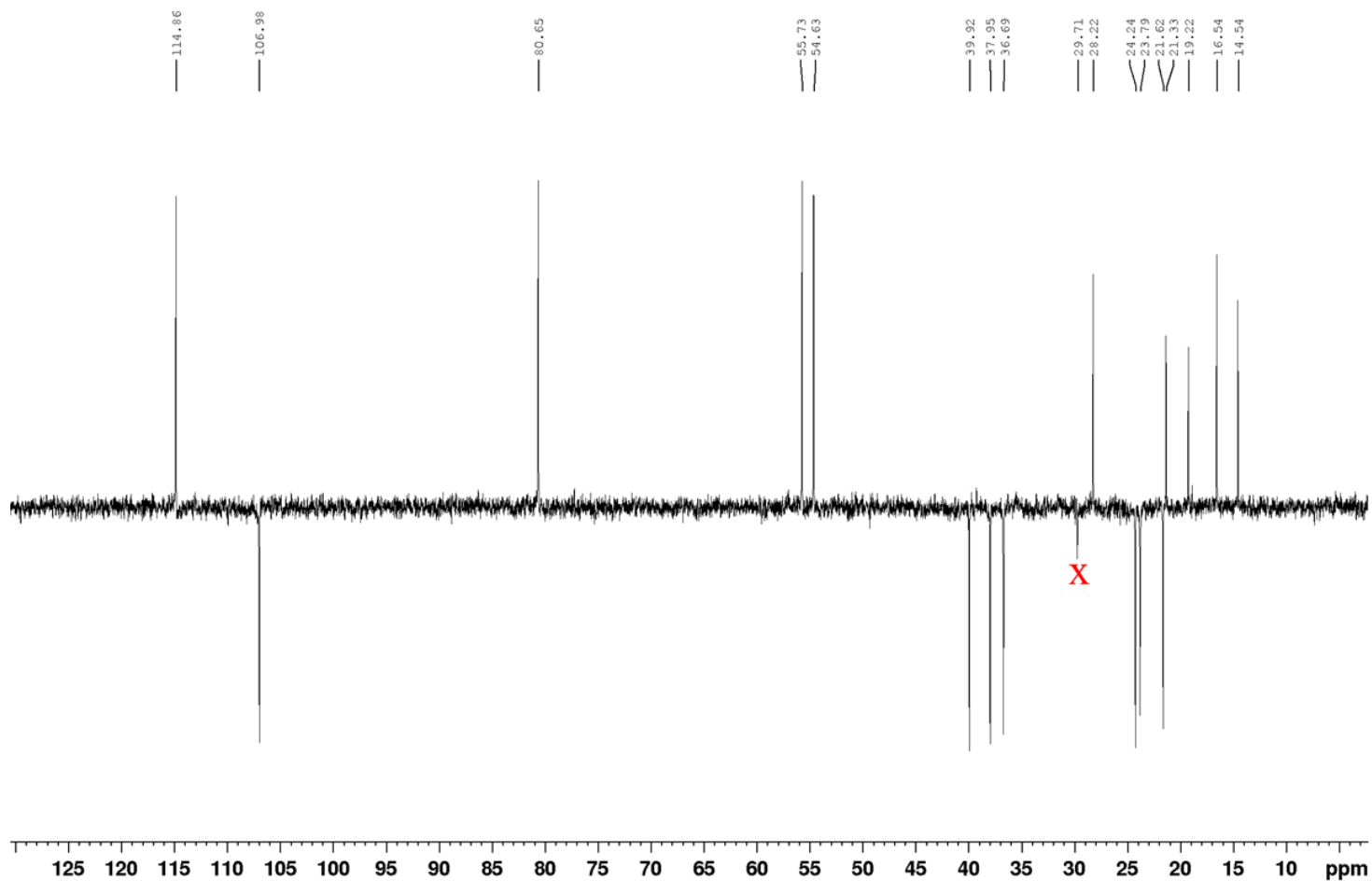
----- CHANNEL f1 -----
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 ^{13}C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

----- CHANNEL f2 -----
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 ^1H
CFDPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.17839999 W
PLW13 0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Apêndice 11: Espectro de DEPT 135 da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei_RN16-6 (DEPT 135; CDCl₃; 10,8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina



```

Current Data Parameters
NAME      RMN-RN16-6
EXPNO     4
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20210513
Time      14.10
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   dept135
TD         65536
SOLVENT   CDCl3
NS         1592
DS         0
SWH        24414.062 Hz
FIDRES     0.372529 Hz
AQ         1.3421773 sec
RG         501.187
DW         20.480 usec
DE         10.00 usec
TE         294.4 K
CNST2     145.0000000
D1         1.000000000 sec
D2         0.00344828 sec
D14        0.00001114 sec
D33        0.00000850 sec
D34        0.00344003 sec
D35        0.00345303 sec
L4         40
P32        90.00 usec
TD0        1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1      75.4913888 MHz
NUC1       13C
P1         8.75 usec
P2         17.50 usec
PLW1      50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2      300.2012008 MHz
NUC2       1H
CPDPRG[2] waltz16
P3         8.50 usec
P4         17.00 usec
PCPD2     90.00 usec
PLW2      20.00000000 W
PLW12     0.17839999 W

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         75.4853500 MHz
WDW        EM
SSB        0
LE         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
  
```

Apêndice 12: Espectro de COSY da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei_RN16-6 (COSY; CDCl₃; 10,8 mg)
14/05/2021 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME RMN-RN16-6
EXPNO 100
PROCNO 1

ppm

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20210514
Time 9.39
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG cosygpcqf
TD 2048
SOLVENT CDCl₃
NS 16
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 24.527
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 293.0 K
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
IN0 0.00016380 sec

----- CHANNEL f1 -----
SF01 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P0 8.50 usec
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

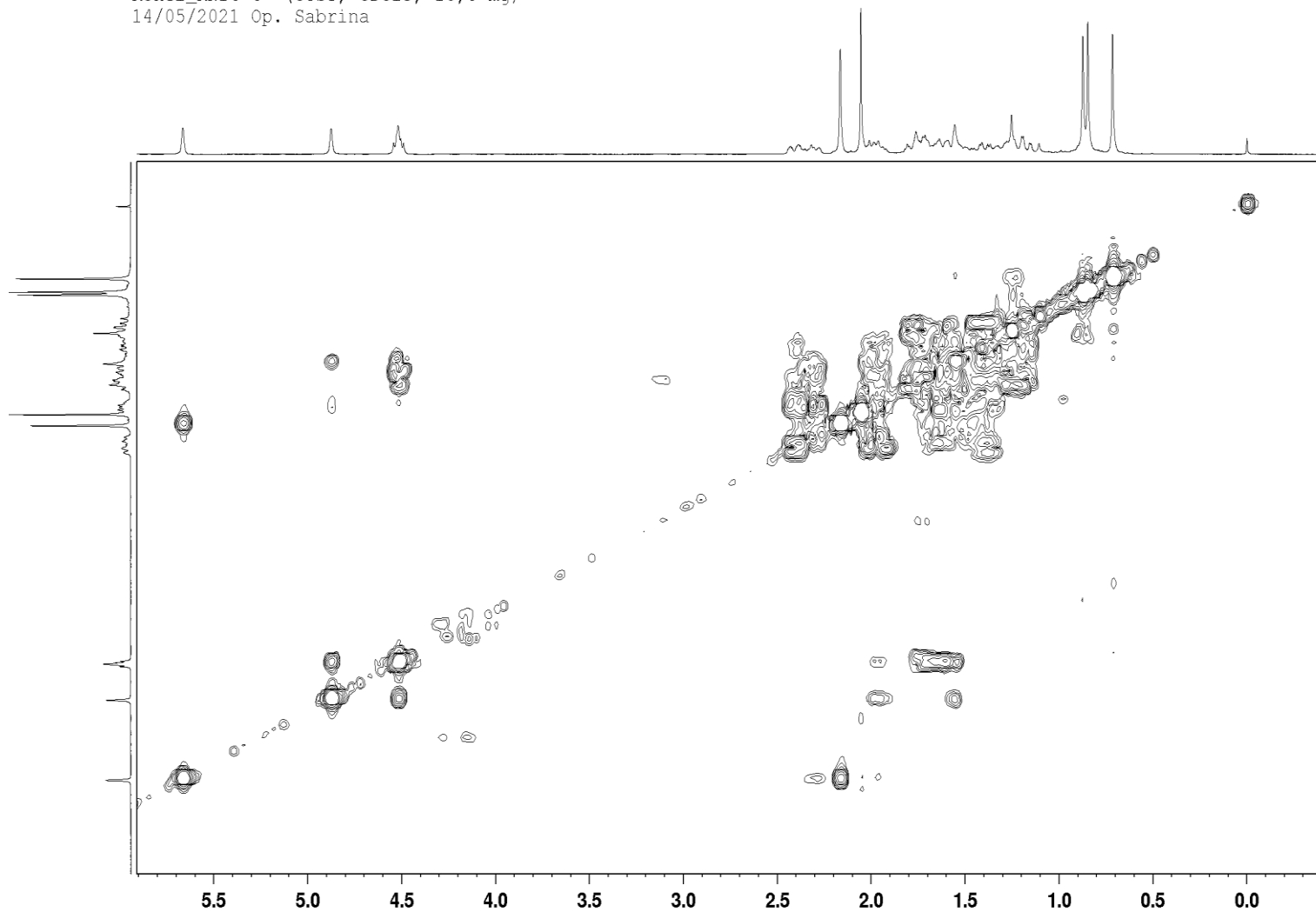
----- GRADIENT CHANNEL -----
GENM[1] SINE.100
GE21 10.00 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 256
SF01 300.202 MHz
FIDRES 47.695362 Hz
SW 20.336 ppm
FMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 2048
SF 300.2000027 MHz
WDW QSINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

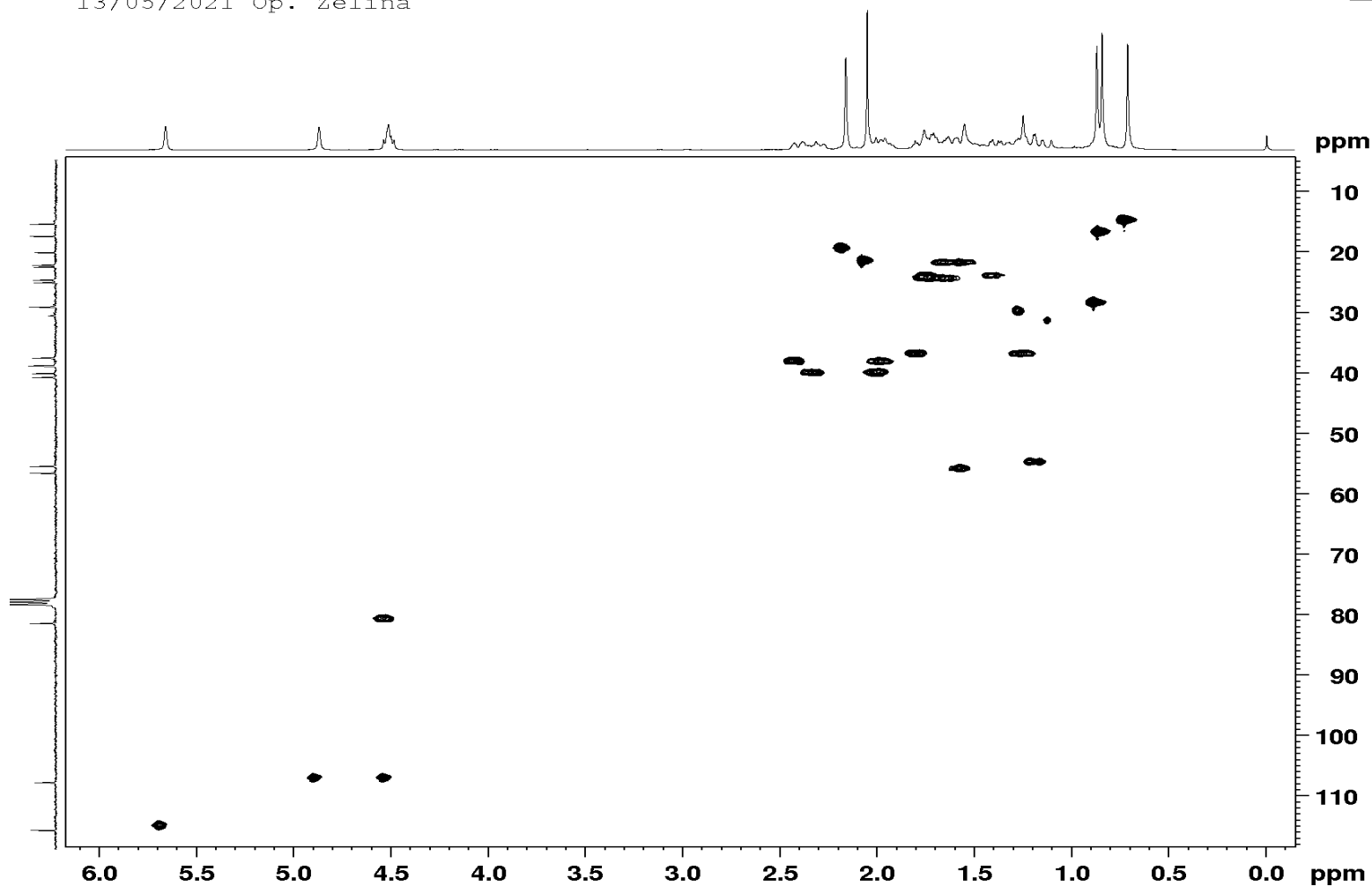
F1 - Processing parameters
SI 512
MC2 QF
SF 300.2000028 MHz
WDW QSINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0

ppm



Apêndice 13: Espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei21_RN16-6 (HSQC; CDCl₃; 10,8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina



Current Data Parameters
NAME RMN-RN16-6
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20210513
Time 15.14
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hzgpgpgp
TD 2048
SOLVENT CDCl3

NS 64
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.167722 sec
RG 501.187
DM 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 294.2 K

CN1 145.000000 sec
D0 0.000000 sec
D1 1.000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D31 0.00000850 sec
D32 0.00001700 sec
D33 0.00000350 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00000000 sec
D37 0.00000040 sec
D38 0.00001745 sec
D42 0.00000000 sec
D43 0.00002300 sec
D44 0.00120000 sec
D45 0.00051614 sec
IN0 0.00003490 sec
L4 18
P35 80.00 usec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 8.50 usec
P2 17.00 usec
PLW1 20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 75.4821437 MHz
NUC2 13C
CPDPRG2 gssp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 80.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.67570001 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GFNAM[1] SINE.100
GFNAM[2] SINE.100
GFNAM[3] SINE.100
GFZ1 80.00 %
GFZ2 30.00 %
GFZ3 20.10 %
PL6 1000.00 usec

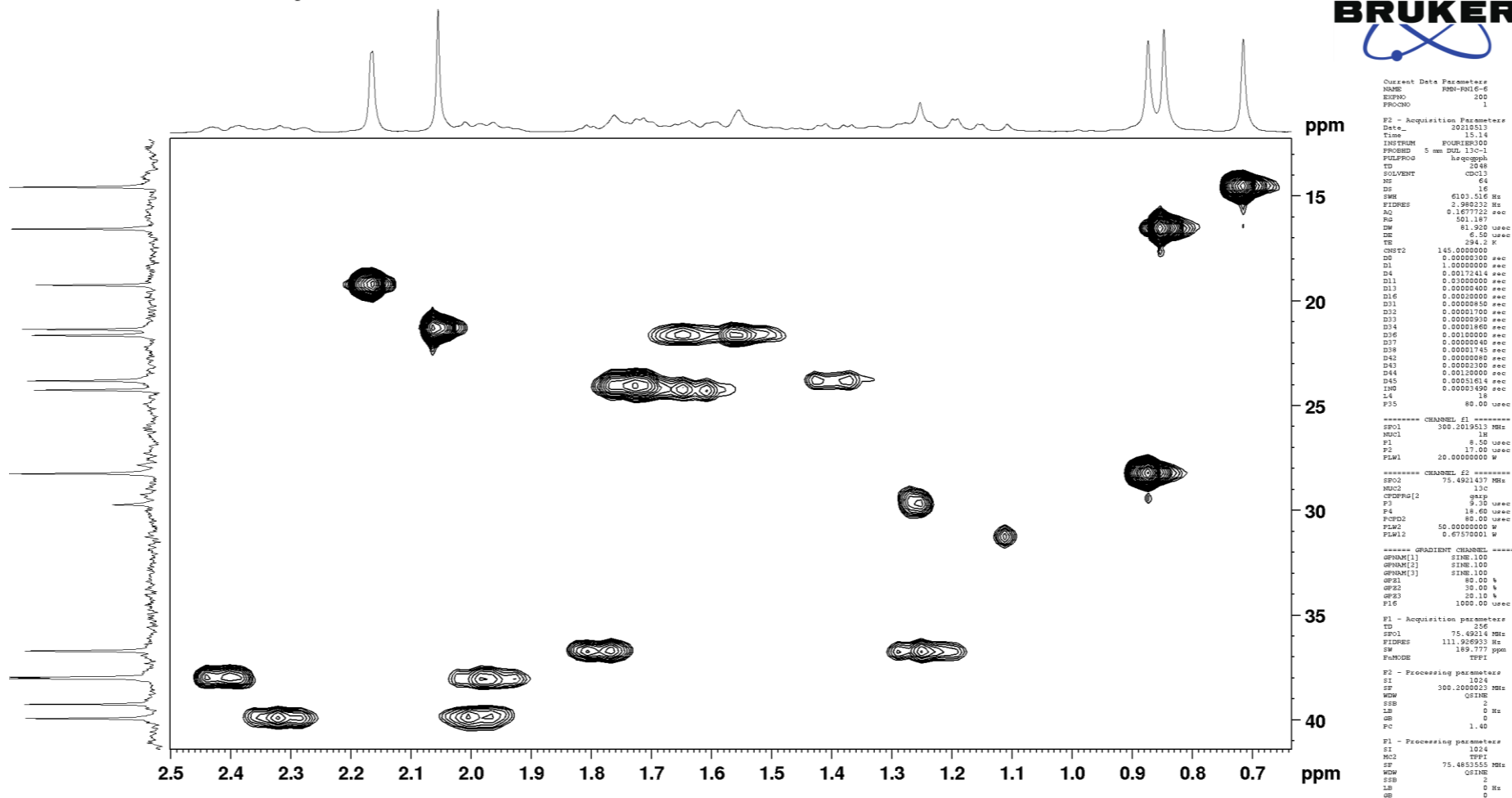
F1 - Acquisition parameters
TD 256
SFO1 75.48214 MHz
FIDRES 111.926253 Hz
SW 189.777 ppm
F0MODE TFFI

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 300.2000000 MHz
WDW QSINE
SFB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 1024
HC2 TFFI
SF 75.4853500 MHz
WDW QSINE
SFB 2
LB 0 Hz
GB 0

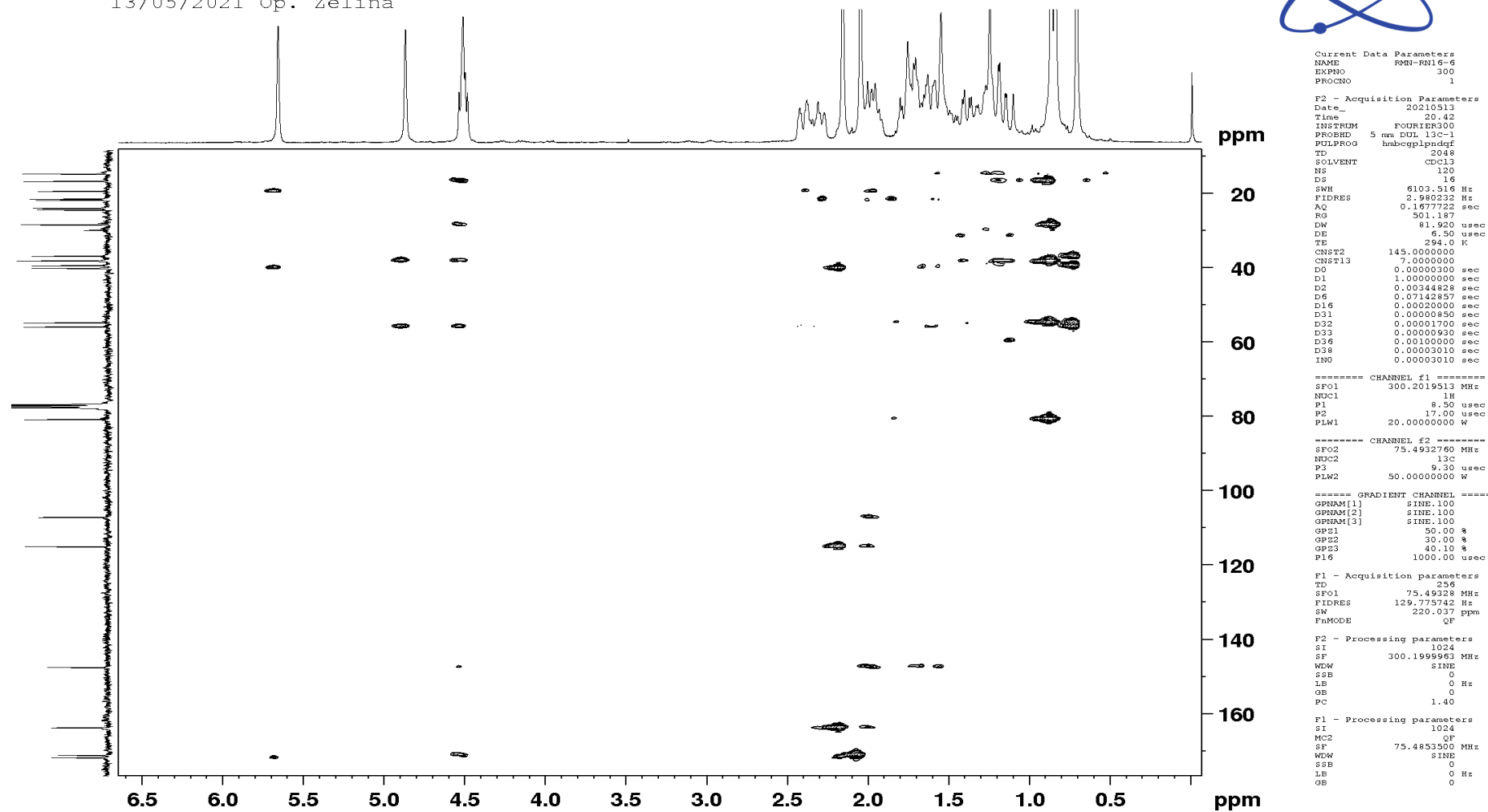
Apêndice 14: Ampliação do espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei_RN16-6 (HSQC; CDCl₃; 10,8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina

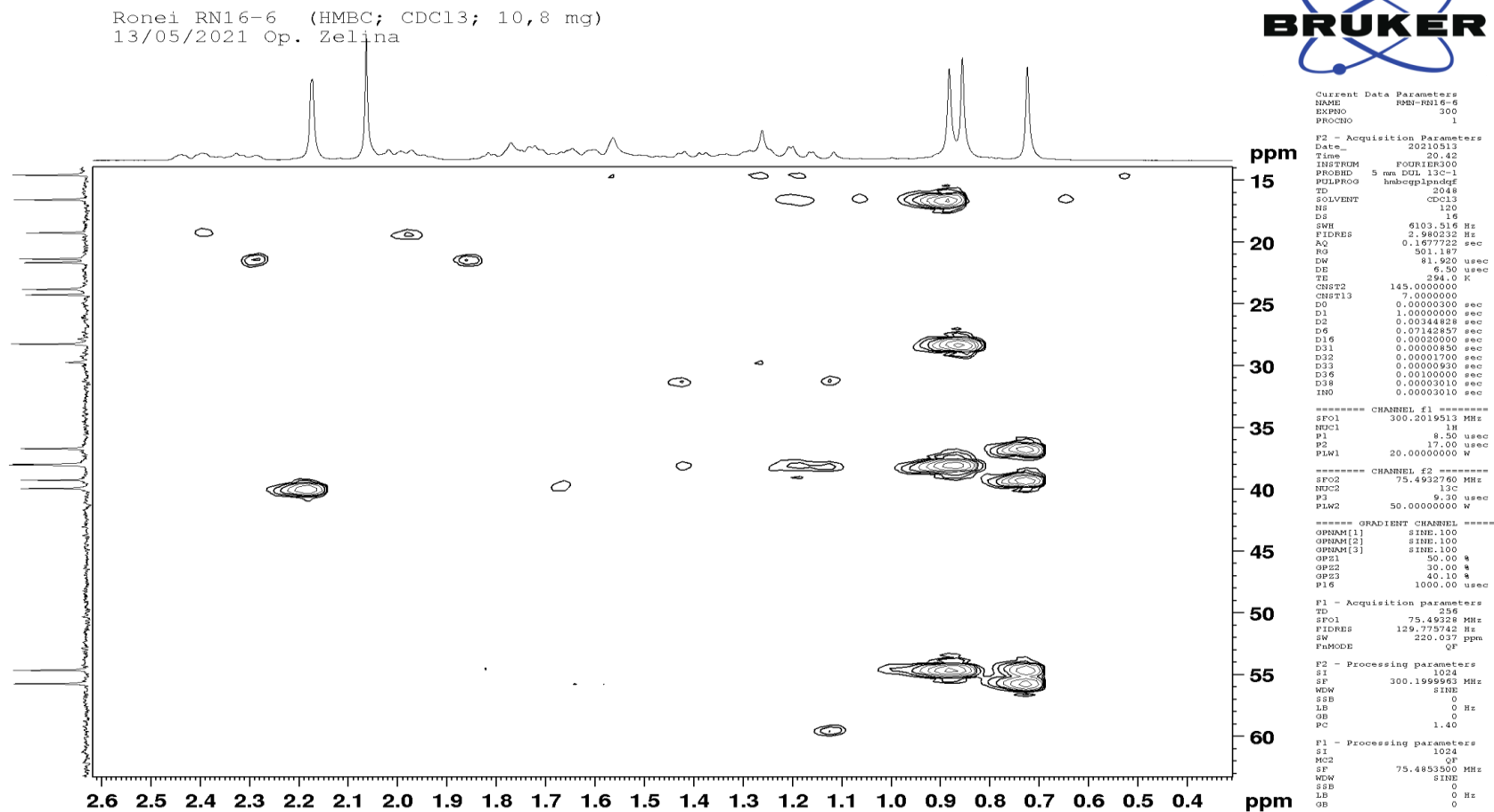


Apêndice 15: Espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei21_RN16-6 (HMBC; CDCl₃; 10,8 mg)
13/05/2021 Op. Zelina

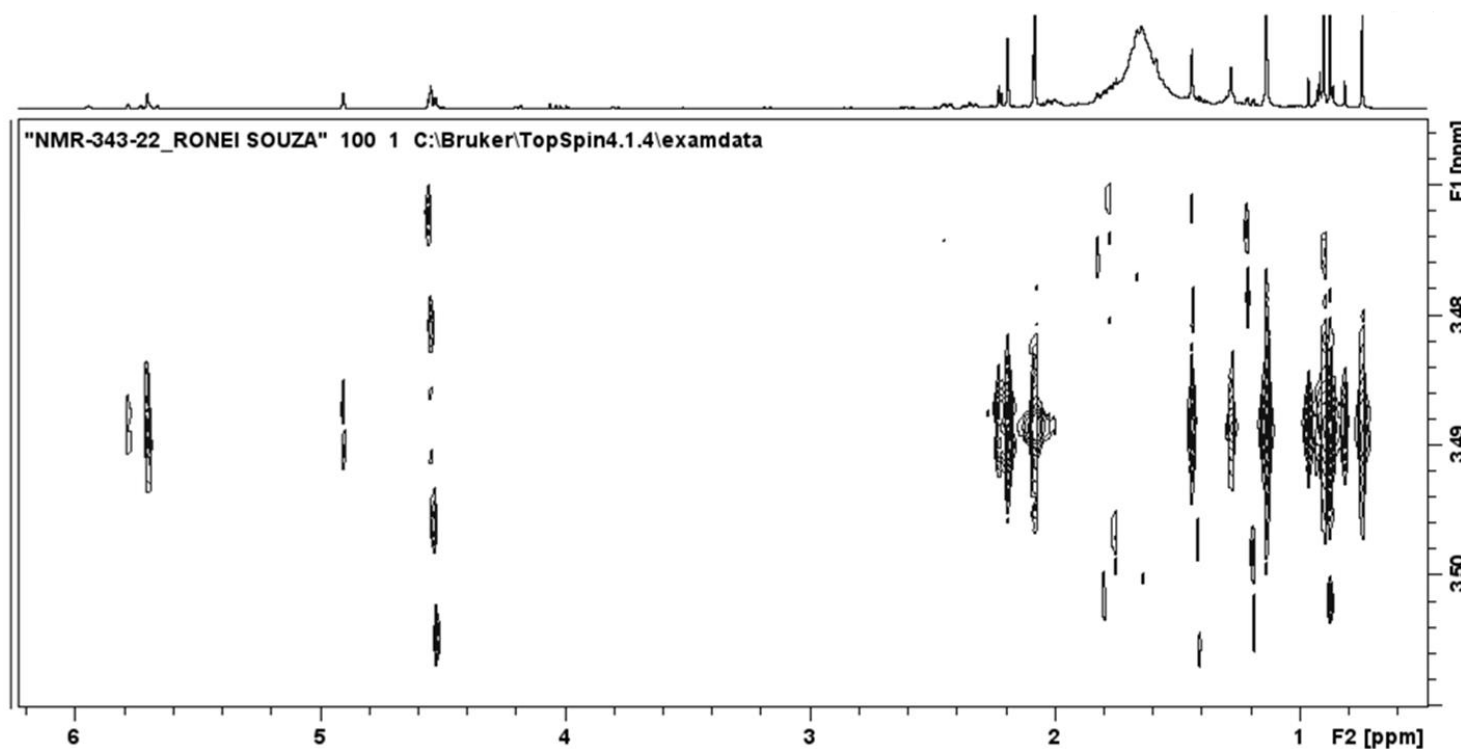


Apêndice 16: Ampliação do espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl₃ (300 MHz).



Apêndice 17: Espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -acetóxi-copálico (70) em CDCl₃ (500 MHz).

J-RES AMOSTRA: 1RN16-6
Sol. CDCl₃ OP: KIDNEY



Current Data Parameters
NAME NMR-343-22_RONEI SOUZA
EXPNO 100
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220428
Time 10.52 h
INSTRUM spect
PROBHD z119470_0223 (
PULPROG jresqf
TD 2048
SOLVENT CDCl₃
NS 16
DS 16
SWH 4213.483 Hz
FIDRES 4.114729 Hz
AQ 0.2430293 sec
RG 187.25
DW 118.667 usec
DE 10.00 usec
TE 298.1 K
D0 0.00000300 sec
D1 2.00000000 sec
IN0 0.01250000 sec
TDAV 1
SFO1 500.1317447 MHz
NUC1 1H
P1 10.00 usec
P2 20.00 usec
PLW1 20.32299995 W

F1 - Acquisition parameters
TD 84
SFO1 500.1317 MHz
FIDRES 0.952381 Hz
SW 0.080 ppm
FnMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 500.1300000 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 QF
SF 500.1300000 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0

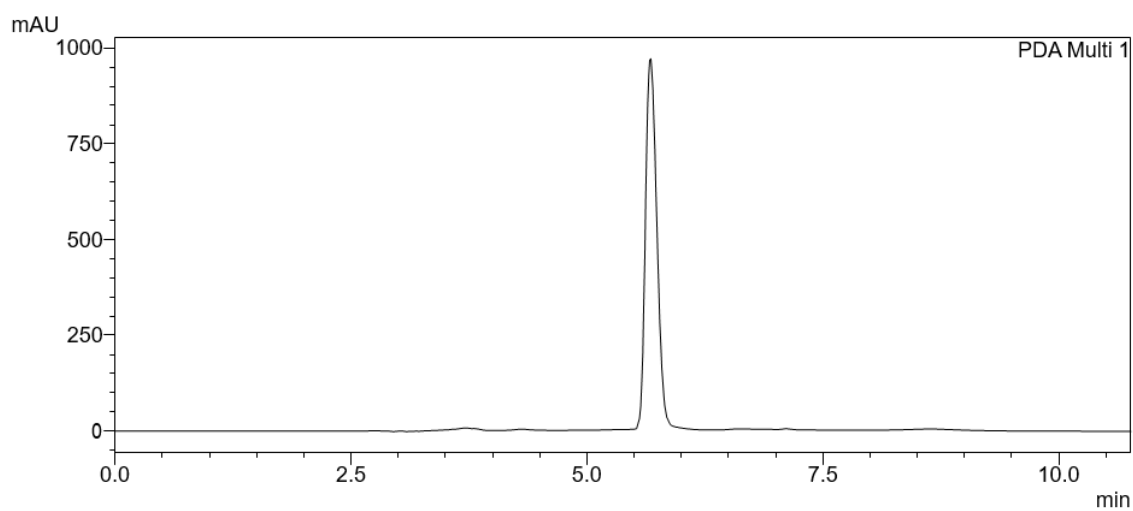
Apêndice 18: Análise de CLAE do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**66**) isolado da fração fixa do óleo-resina.

C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\1RN16_9\cromatograma24.lcd

Acquired by	: Ronei
Sample Name	: 1RN16_9
Sample ID	: 1RN16_9
Tray#	: 1
Vail #	: 1
Injection Volume	: 20 uL
Data File Name	: cromatograma24.lcd
Method File Name	: metodo 1.lcm
Batch File Name	:
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 15/03/2022 14:17:11
Data Processed	: 15/03/2022 14:28:02

<Chromatogram>

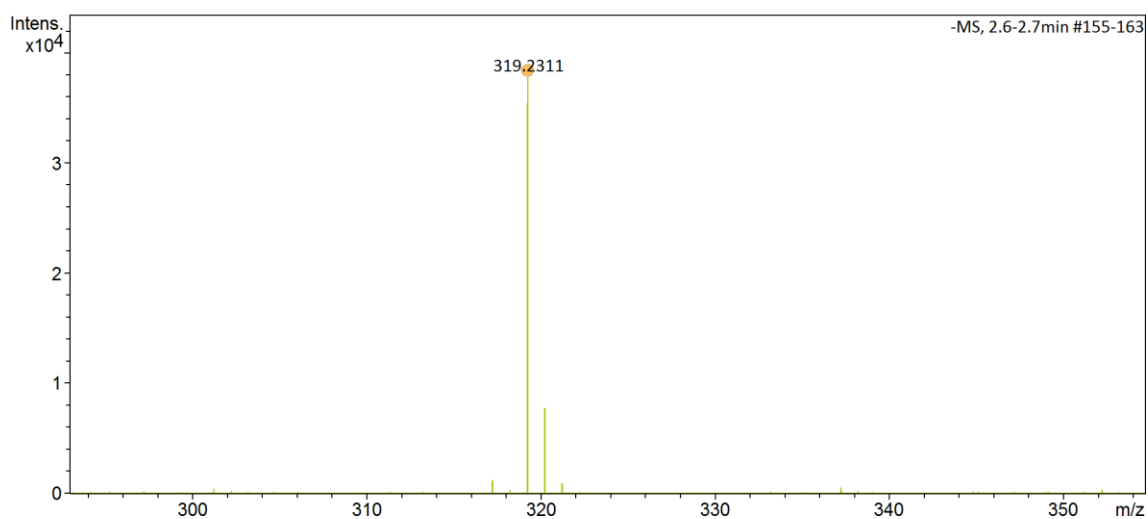
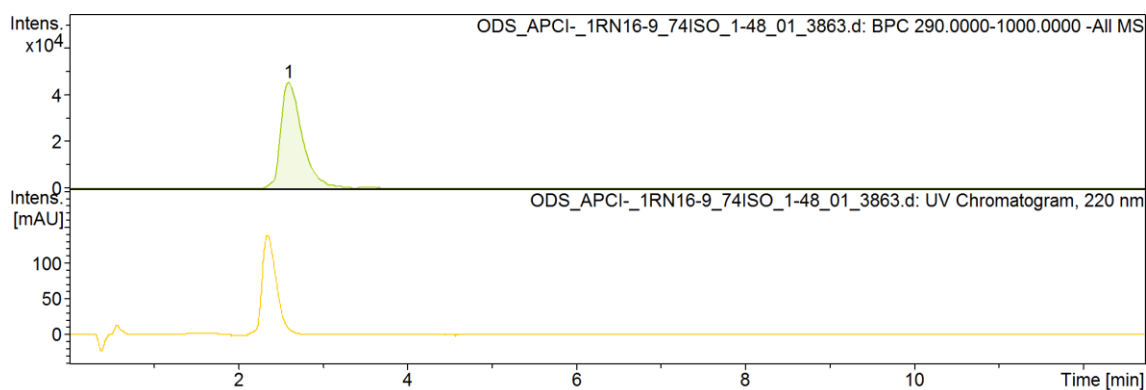
C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\1RN16_9\cromatograma24.lcd



Apêndice 19: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**66**) isolado da fração fixa do óleo-resina.

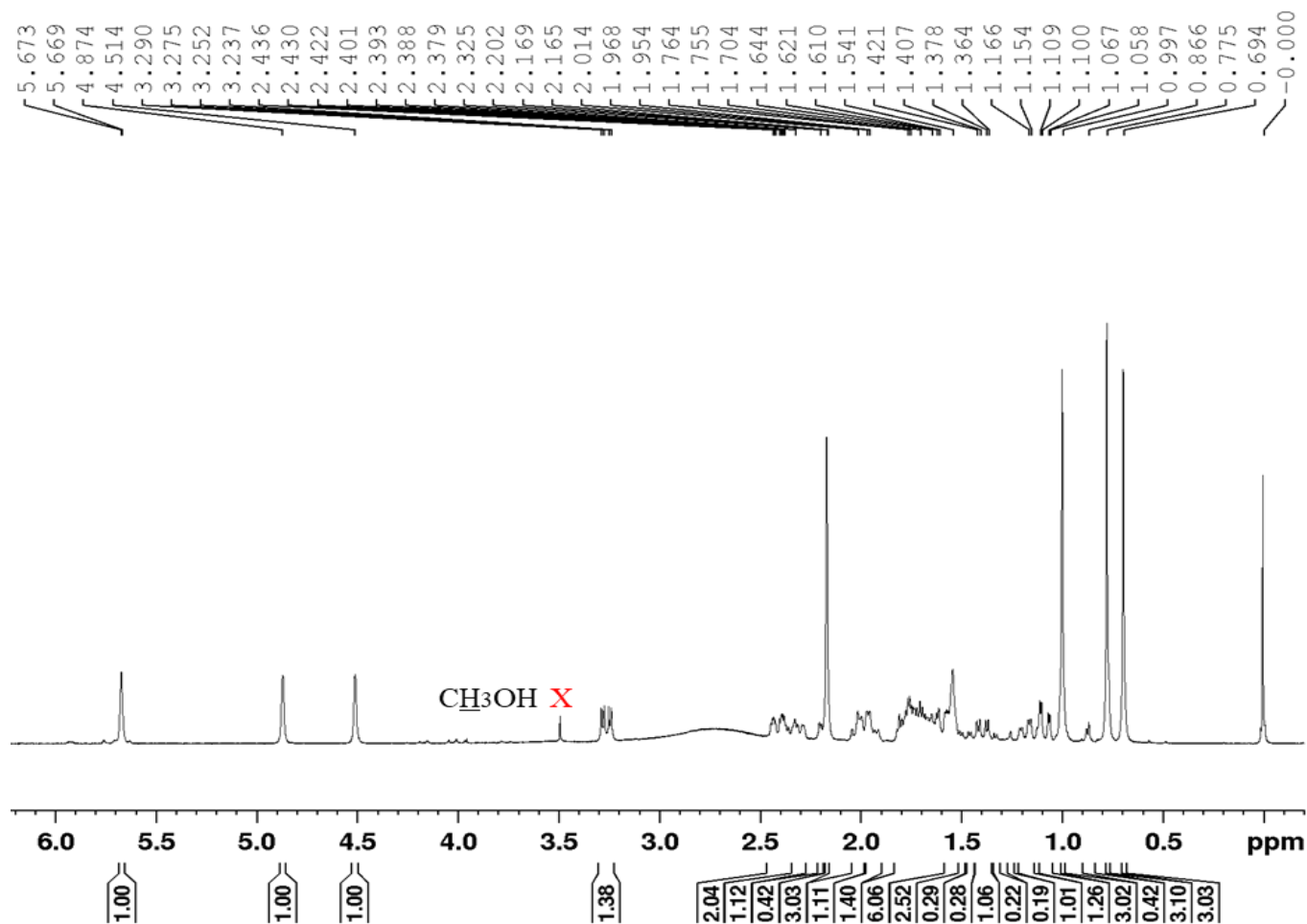
Analysis Info		Acquisition Date 3/9/2022 12:34:11 AM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Ronei\LC-MS\07-03-2022\ODS_APCI-_1RN16-9_74ISO_1-48_01_3863.d		
Method	LC-MS_Tune-Wide_APCI-_ComFocus_100-1600_20min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_APCI-_1RN16-9_74ISO	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=35oC; P=3532psi; Inj=5uL; A(H ₂ O+0.1%HCOOH)/B(MeOH) 0-12m-74% 12-14m-74-100% 14-16m-100% 16-18m_100-74%, 18-20m_74% Inj:MeOH Calib.:TunemizAPCI_end		

Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	319.2311	C ₂₀ H ₃₁ O ₃	319.2279	-10.0	9.7	100.00



Apêndice 20: Espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (70) em CDCl_3 (300 MHz).

Ronei_1RN16-9_ (^1H ; CDCl_3 ; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



Current Data Parameters
NAME Rmn_1RN16-9_
EXPNO 1
PROCNO 1

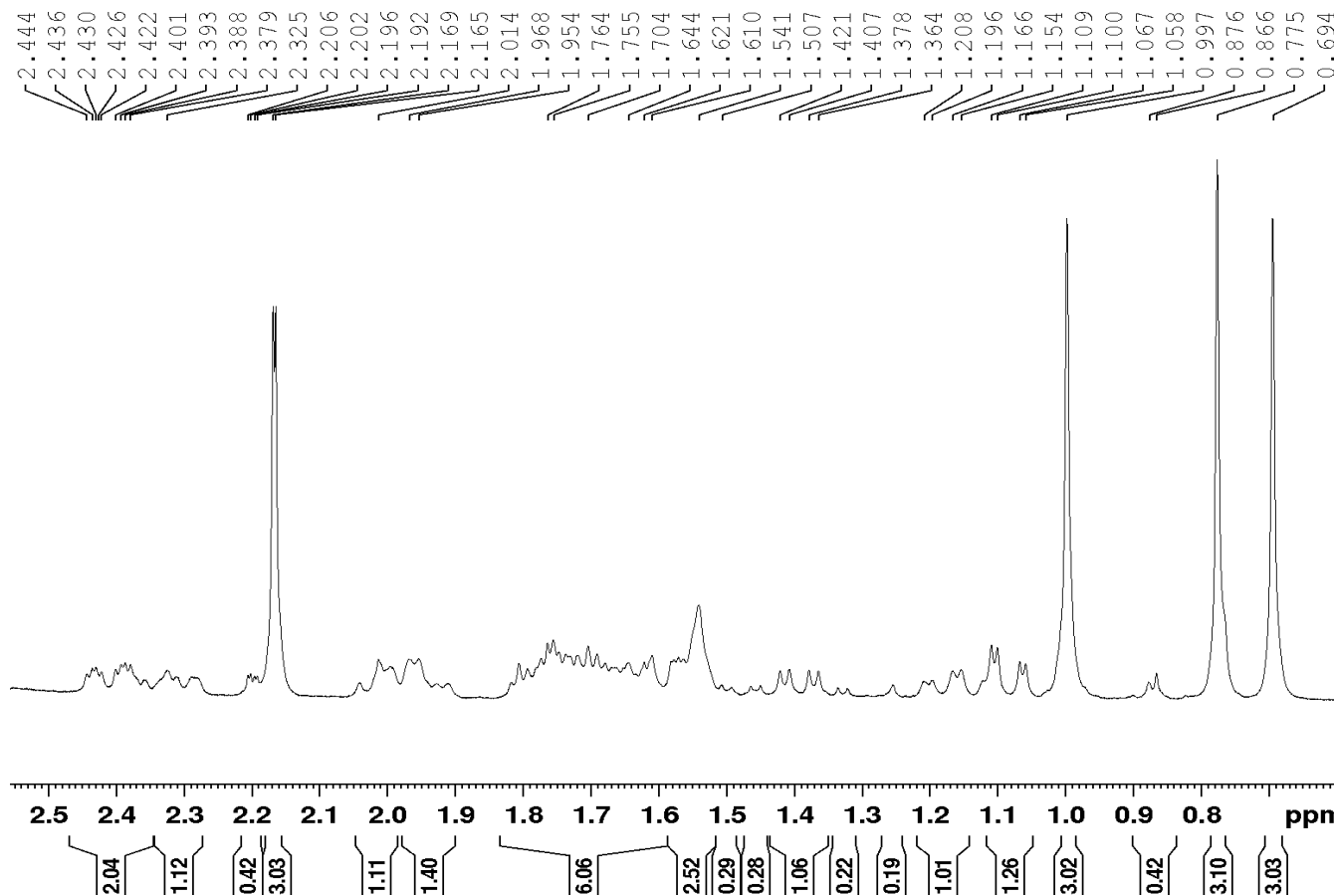
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220315
Time 16.40
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 64
DS 2
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

----- CHANNEL f1 -----
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 7.88 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000029 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 21: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância isolada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl_3 (300 MHz).

Ronei_1RN16-9_ (1H; CDCl_3 ; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



Current Data Parameters
NAME Rmn_1RN16-9_
EXPNO 1
PROCNO 1

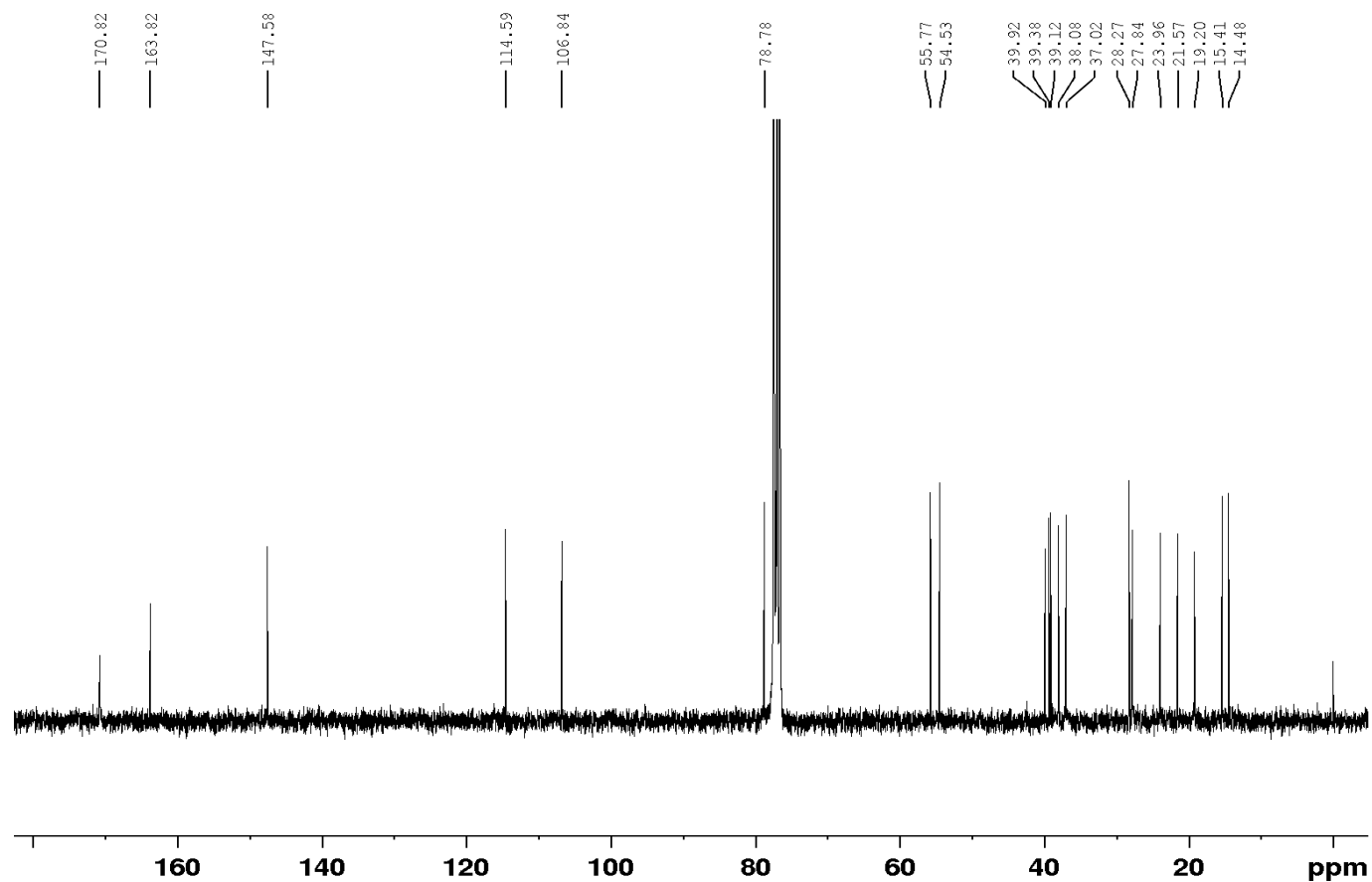
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220315
Time 16.40
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 64
DS 2
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 7.88 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000029 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 22: Espectro de RMN de ^{13}C da substância isolada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl_3 (75 MHz).

Ronei_1RN16-9_ (^{13}C ; CDCl_3 ; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



Current Data Parameters
NAME Rmn_1RN16-9_
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220315
Time 17.03
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl_3
NS 51200
DS 0
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 980.8 K
D1 0.30000001 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00000875 sec
D40 0.02336821 sec
L4 20
L5 8
P32 90.00 usec
TDO 1

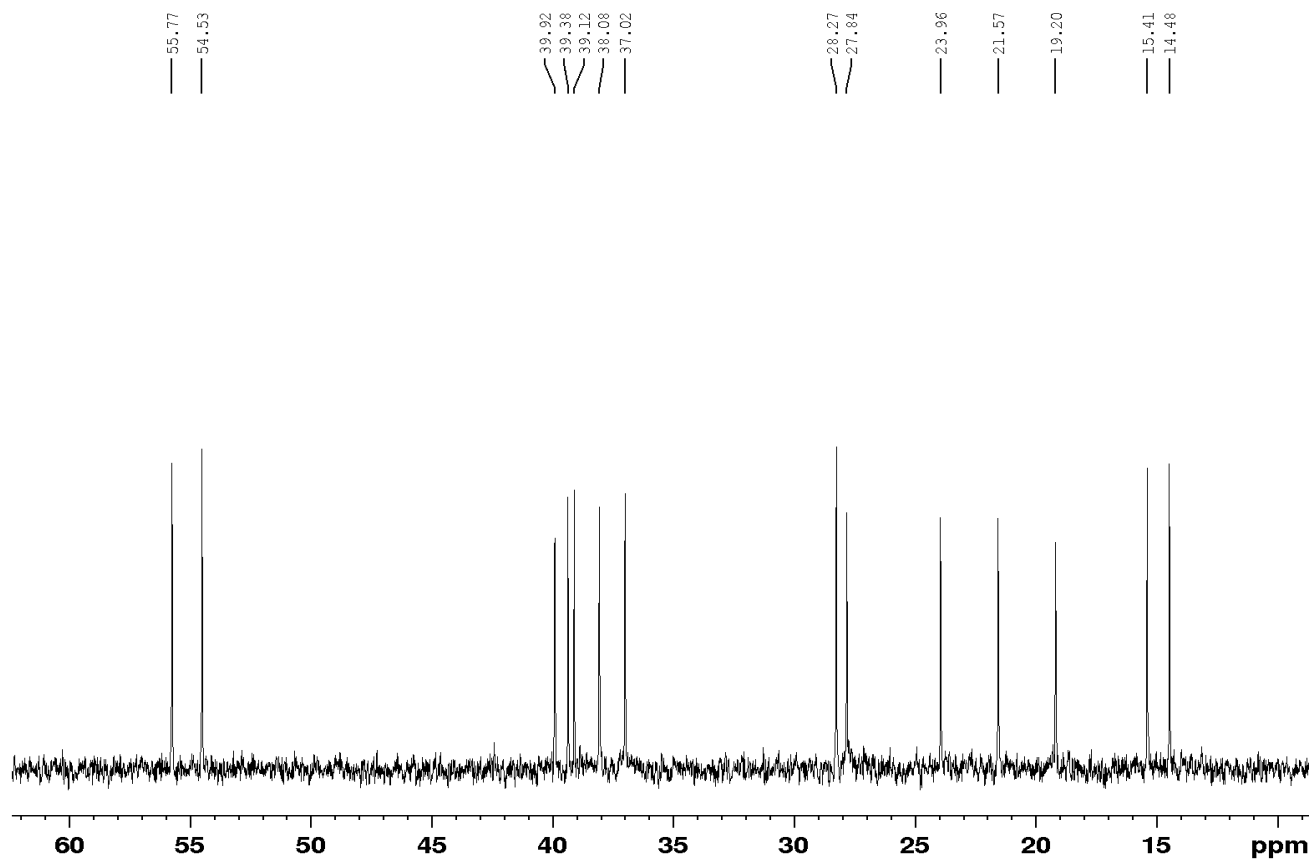
===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 13C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 1H
CPDPRG2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.17839999 W
PLW13 0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Apêndice 23: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância isolada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl_3 (75 MHz).

Ronei 1RN16-9_ (^{13}C ; CDCl_3 ; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



Current Data Parameters
NAME Rmn_1RN16-9_
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220315
Time 17.03
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl_3
NS 51200
DS 0
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 980.8 K
D1 0.30000001 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00000875 sec
D40 0.02336821 sec
L4 20
L5 8
P32 90.00 usec
TD0 1

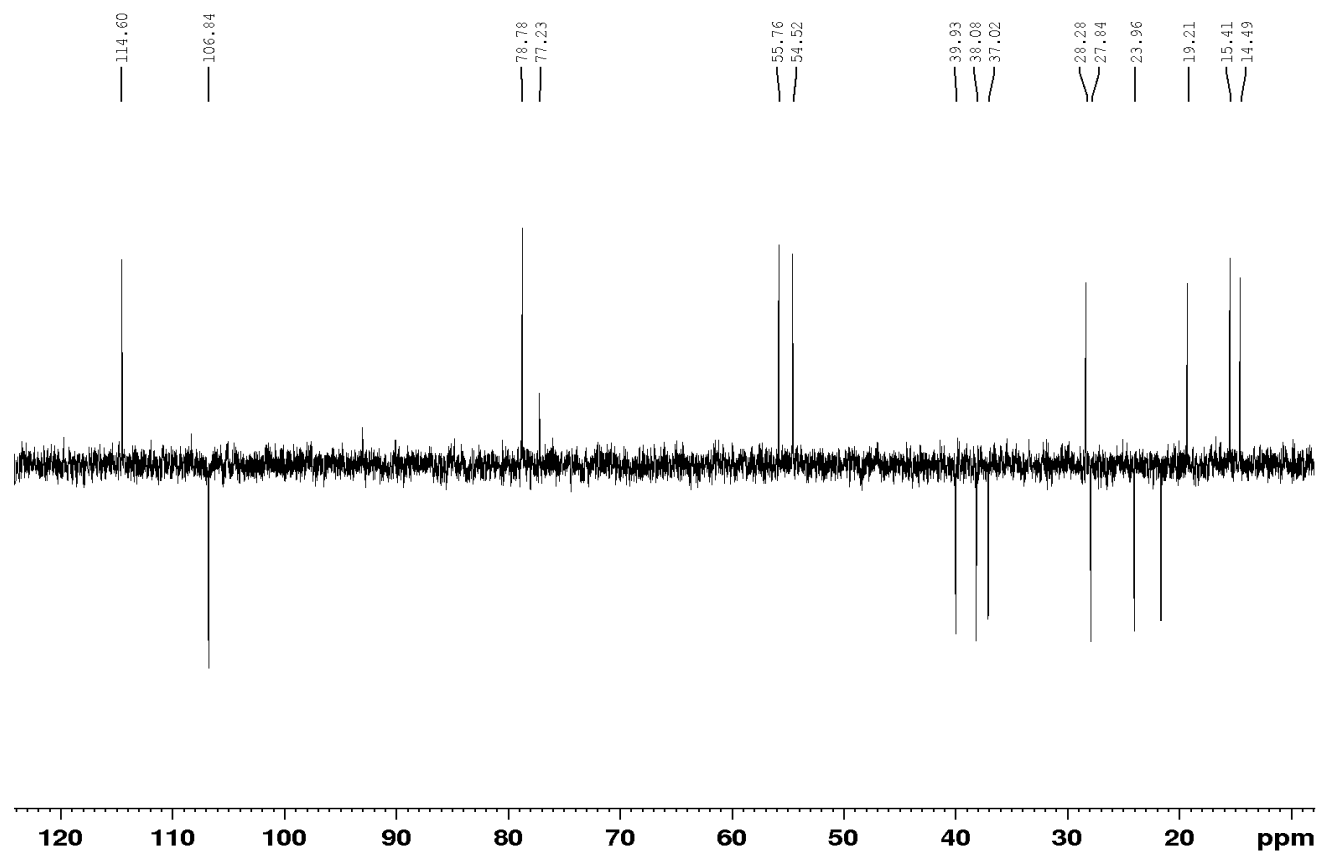
===== CHANNEL f1 =====
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 ^{13}C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 ^1H
CPDPRG[2] waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.17839999 W
PLW13 0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

Apêndice 24: Espectro de DEPT 135 da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei_1RN16-9 (DEPT135; CDCl₃; 2,0 mg)
21/03/2022 Op. Magno



```

Current Data Parameters
NAME      Rmn_1RN16-9_
EXPNO    4
PROCNO   1

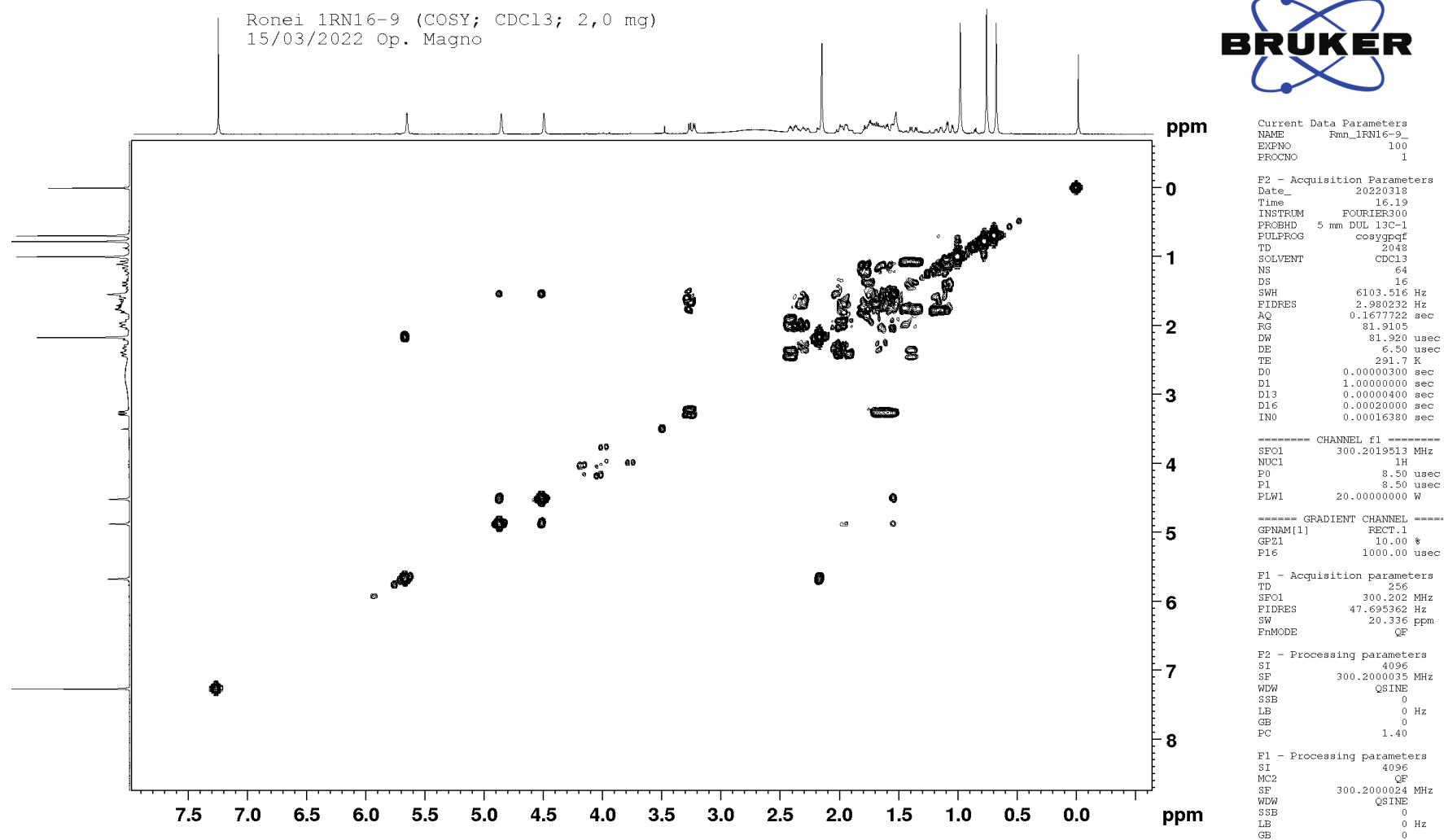
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20220321
Time     9.36
INSTRUM  FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG  dept135
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       3200
DS       4
SWH      24414.062 Hz
FIDRES   0.372529 Hz
AQ       1.3421773 sec
RG       501.187
DW       20.480 usec
DE       10.00 usec
TE       1020.5 K
CNST2    145.0000000
D1       2.000000000 sec
D2       0.00344828 sec
D14      0.00001114 sec
D33      0.00000850 sec
D34      0.00344003 sec
D35      0.00345303 sec
L4       40
P32      90.00 usec
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1    75.4913881 MHz
NUC1     13C
P1       8.75 usec
P2       17.50 usec
PLW1    50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2    300.2009601 MHz
NUC2     1H
CPDPRG2  waltz16
P3       8.50 usec
P4       17.00 usec
PCPD2    90.00 usec
PLW2    20.00000000 W
PLW12   0.17839999 W

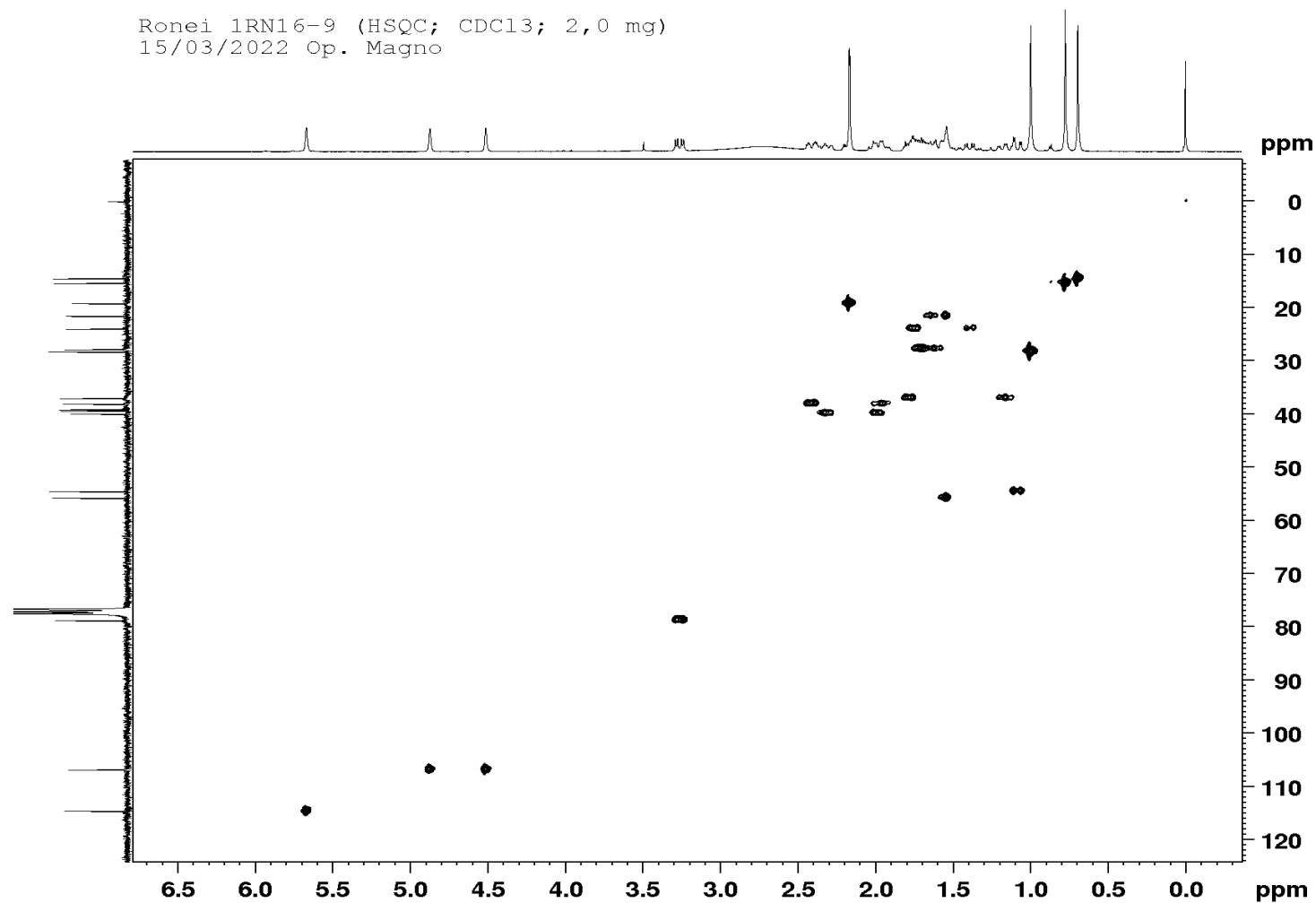
F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       75.4853500 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
  
```

Apêndice 25: Espectro de COSY da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (300 MHz).



Apêndice 26: Espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (300 MHz).

Ronei 1RN16-9 (HSQC; CDCl₃; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



```

Current Data Parameters
NAME      Ronei_1RN16-9_
EXPNO    200
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20220318
Time     21.45
INSTRUM  FOURIER300
PROBHD   5 mm DDJ, 13C-1
PULPROG  zgpg30ph
TD       2048
SOLVENT  cdcl3
NS       200
DS       16
SWH      6103.516 Hz
FIDRES   2.980232 Hz
AQ       0.1677722 sec
RG       501.187
DW       81.920 usec
DE       6.50 usec
TE       291.8 K
CNST2    145.0000000
DD       0.0000000 sec
D1       1.0000000 sec
D4       0.00172414 sec
D11      0.0000000 sec
D13      0.00000400 sec
D16      0.00020000 sec
D31      0.00000850 sec
D32      0.00001700 sec
D33      0.00000950 sec
D34      0.00001860 sec
D36      0.00100000 sec
D37      0.00000040 sec
D38      0.00001440 sec
D42      0.00000080 sec
D43      0.00023000 sec
D44      0.00120000 sec
D45      0.00051614 sec
IND      0.00002880 sec
L4       18
F35      80.00 usec

===== CHANNEL f1 =====
SFO1     300.2019513 MHz
NUC1     13C
P1       8.50 usec
P2       17.00 usec
PLW1     20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
SFO2     75.4932760 MHz
NUC2     13C
CFDPRG[2]  gspg
P3       9.20 usec
P4       18.60 usec
PCPD2    80.00 usec
PLW2     50.00000000 W
PLW12    0.67570001 W

===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]  RECT.1
GPNAM[2]  RECT.1
GPNAM[3]  RECT.1
GFZ1     80.00 %
GFZ2     30.00 %
GFZ3     20.10 %
P1G      1000.00 usec

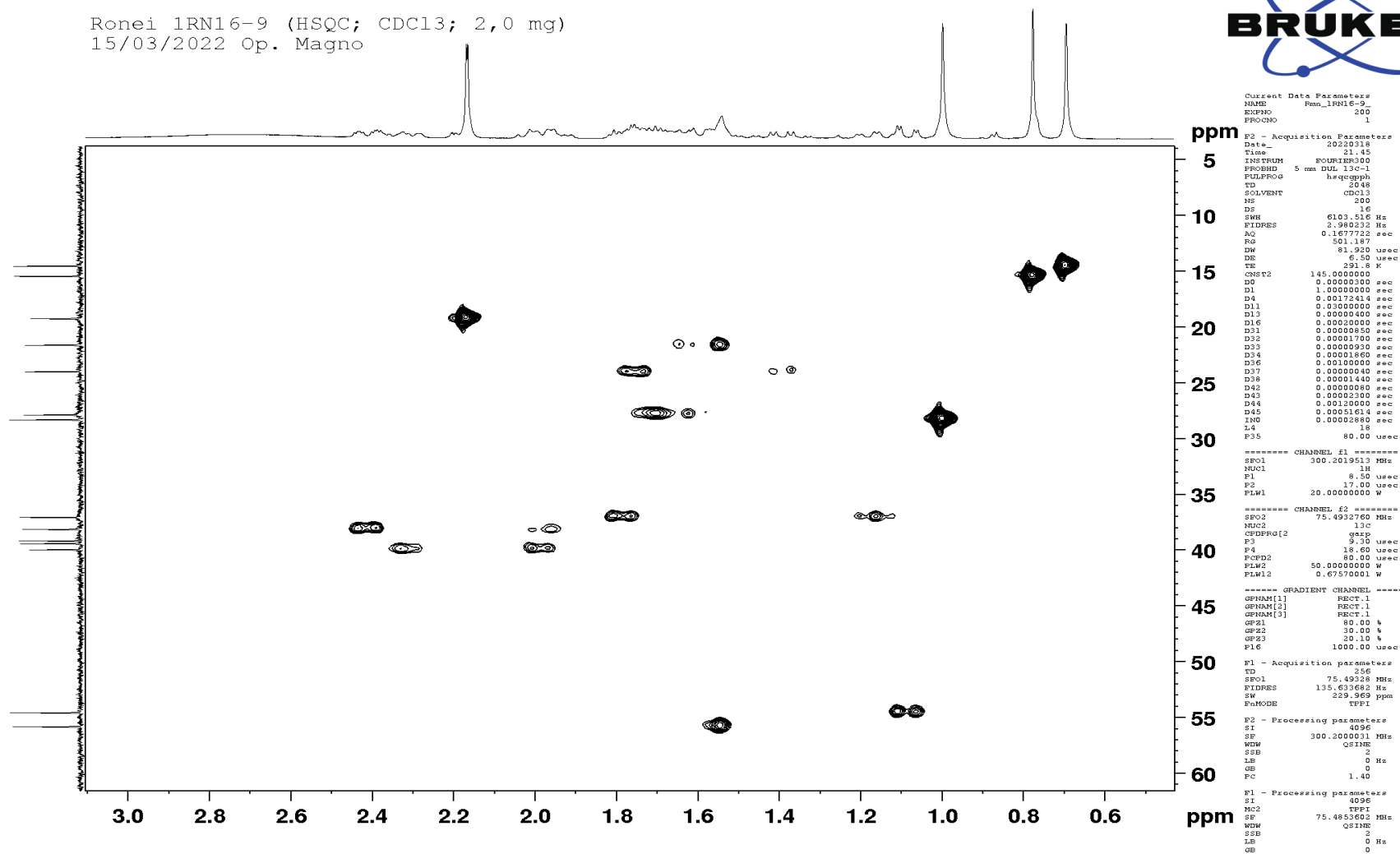
F1 - Acquisition parameters
TD       256
SFO1     75.49328 MHz
FIDRES   136.623682 Hz
SW       229.969 ppm
PaMODE   TPF1

F2 - Processing parameters
SI       4096
SF       300.2000031 MHz
WDW      COSINE
SSB      2
LB       0 Hz
GB       0
PC       1.40

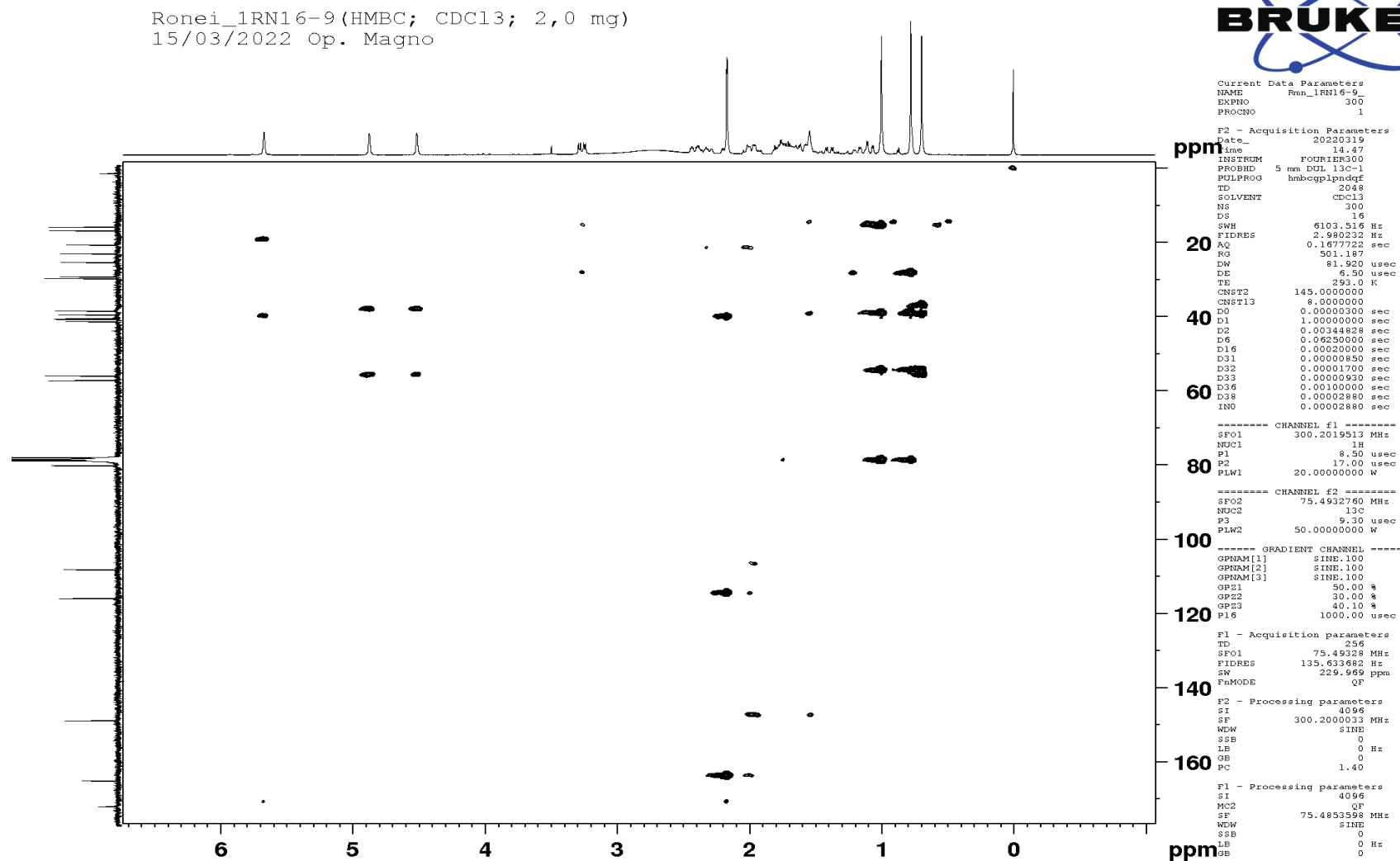
F1 - Processing parameters
SI       4096
MC2      TPF1
SF       75.4853602 MHz
WDW      COSINE
SSB      2
LB       0 Hz
GB       0
  
```

Apêndice 27: Ampliação do espectro de HSQC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (68) em CDCl₃ (300 MHz).

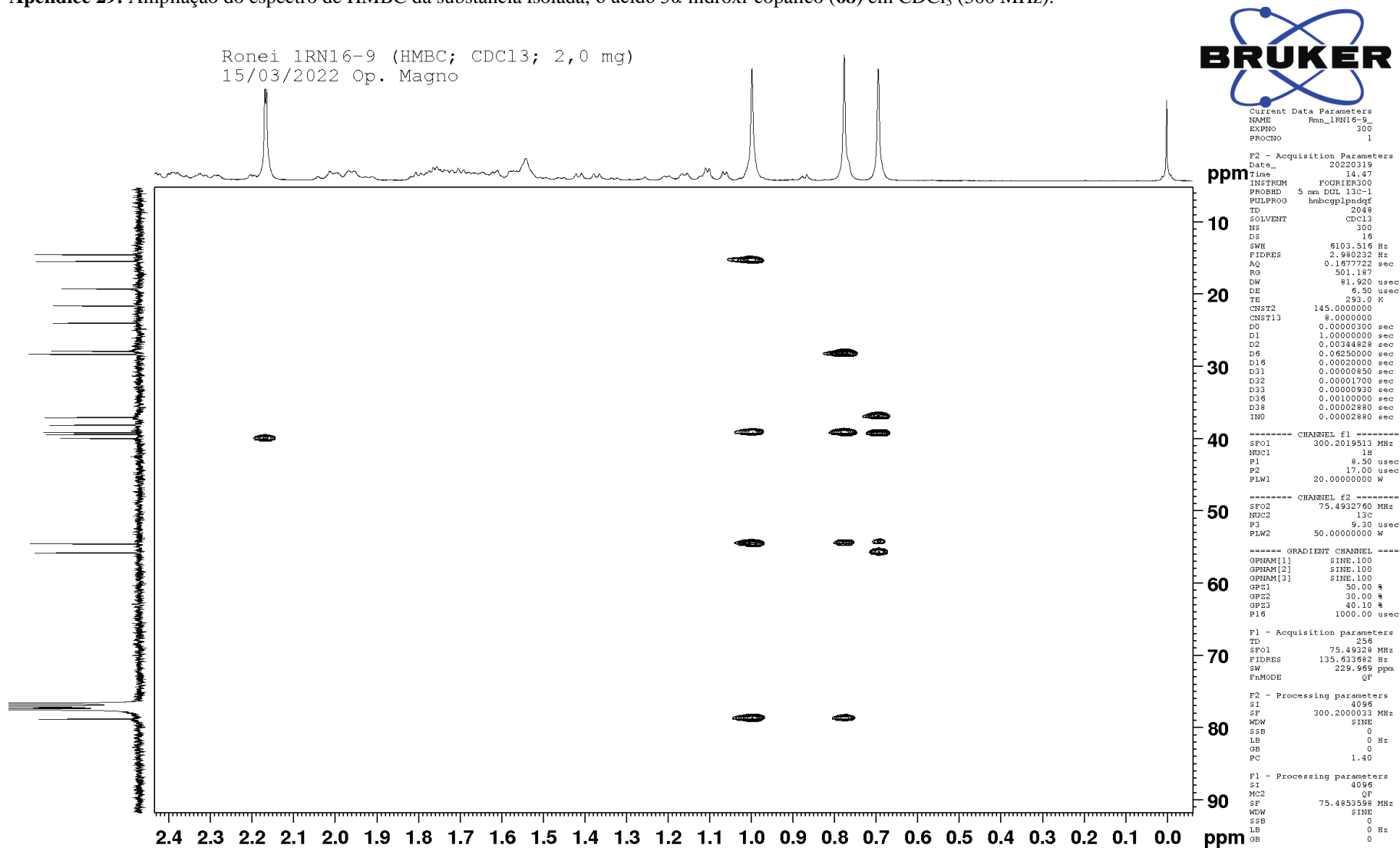
Ronei 1RN16-9 (HSQC; CDCl₃; 2,0 mg)
15/03/2022 Op. Magno



Apêndice 28: Espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (300 MHz).

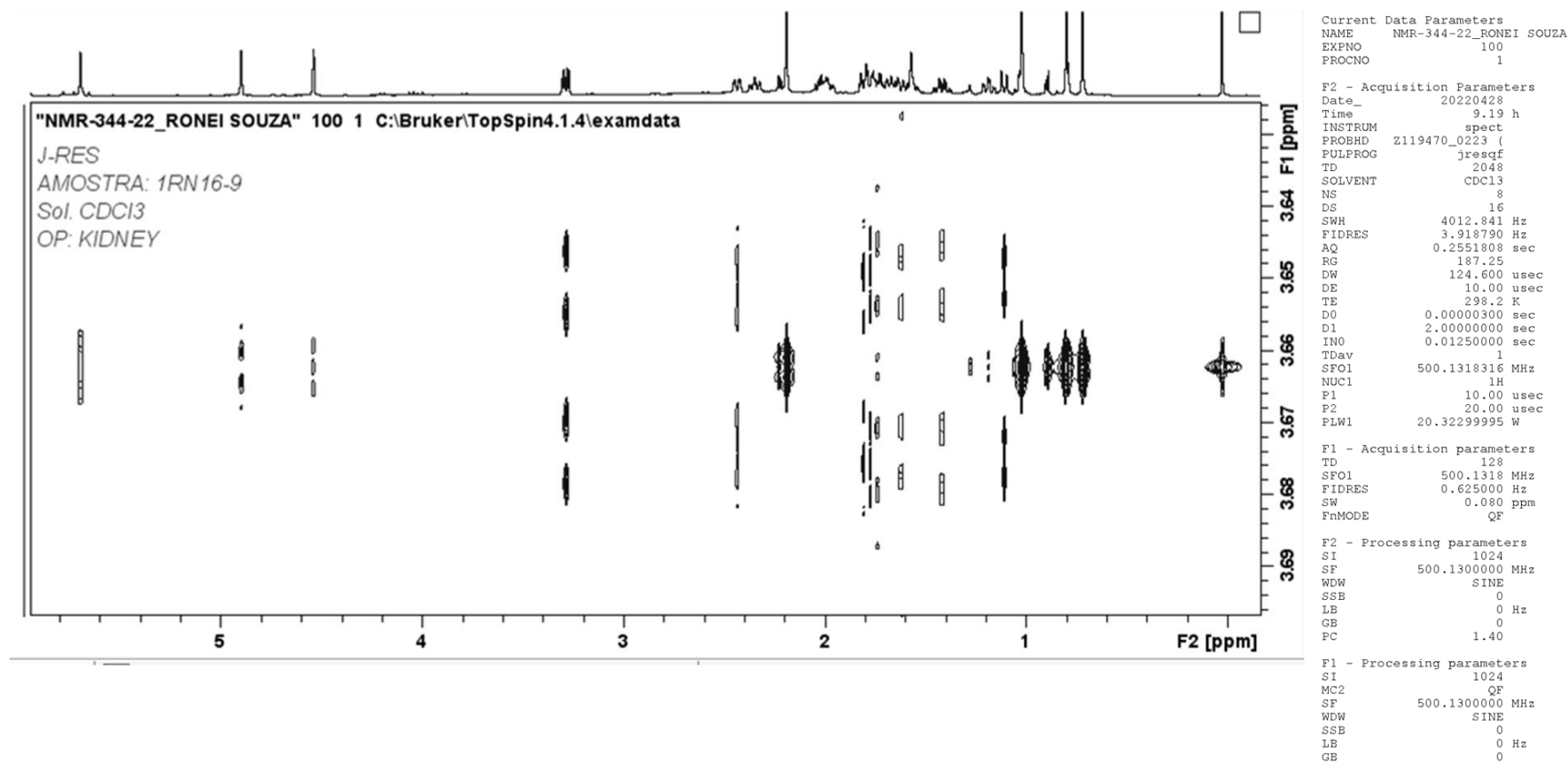


Apêndice 29: Ampliação do espectro de HMBC da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (300 MHz).



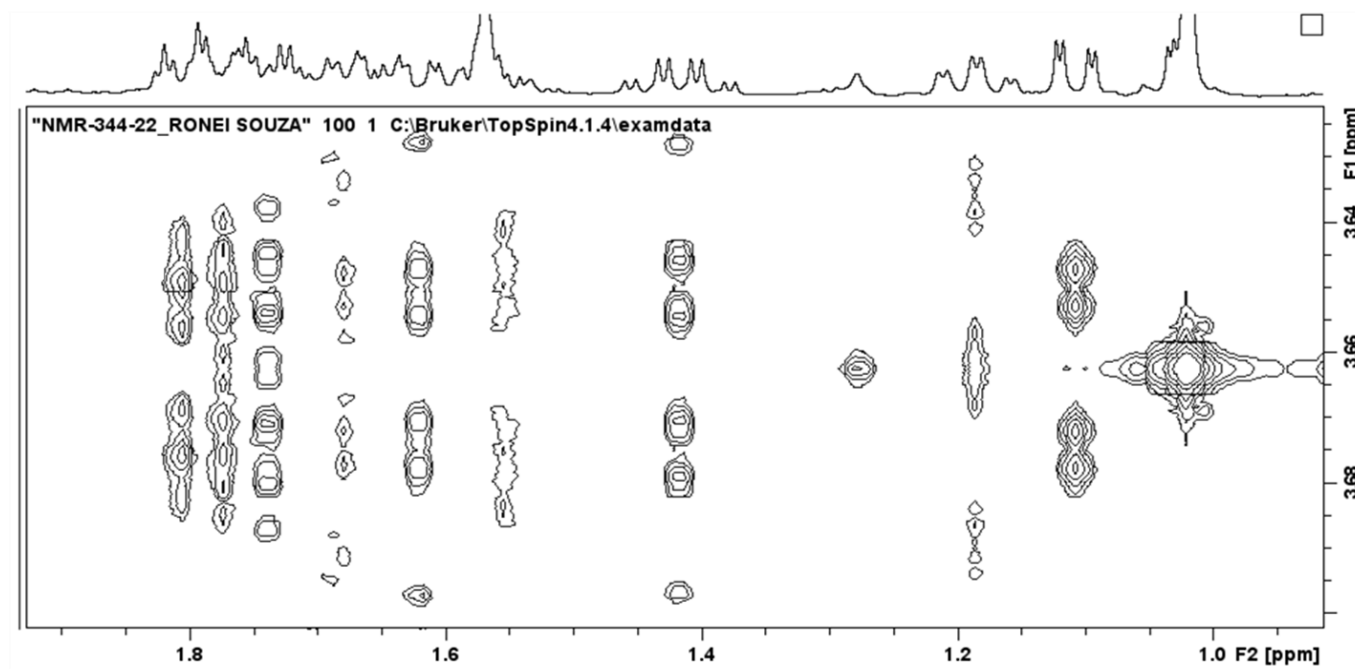
Apêndice 30: Espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (500 MHz).

J-RES AMOSTRA: 1RN16-9
Sol. CDCl₃ OP: KIDNEY



Apêndice 31: Ampliação do espectro de J-Res da substância isolada, o ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl₃ (500 MHz).

J-RES AMOSTRA: 1RN16-9
Sol. CDCl3 OP: KIDNEY



Current Data Parameters
NAME NMR-344-22_RONEI SOUZA
EXPNO 100
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220428
Time 9.19 h
INSTRUM spect
PROBHD Z119470_0223 (
PULPROG jresqf
TD 2048
SOLVENT CDCl3
NS 8
DS 16
SWH 4012.841 Hz
FIDRES 3.918790 Hz
AQ 0.2551808 sec
RG 187.25
DW 124.600 usec
DE 10.00 usec
TE 298.2 K
D0 0.00000300 sec
D1 2.00000000 sec
IN0 0.01250000 sec
TDav 1
SFO1 500.1318316 MHz
NUC1 1H
P1 10.00 usec
P2 20.00 usec
PLW1 20.32299995 W

F1 - Acquisition parameters
TD 128
SFO1 500.1318 MHz
FIDRES 0.625000 Hz
SW 0.080 ppm
FnMODE QF

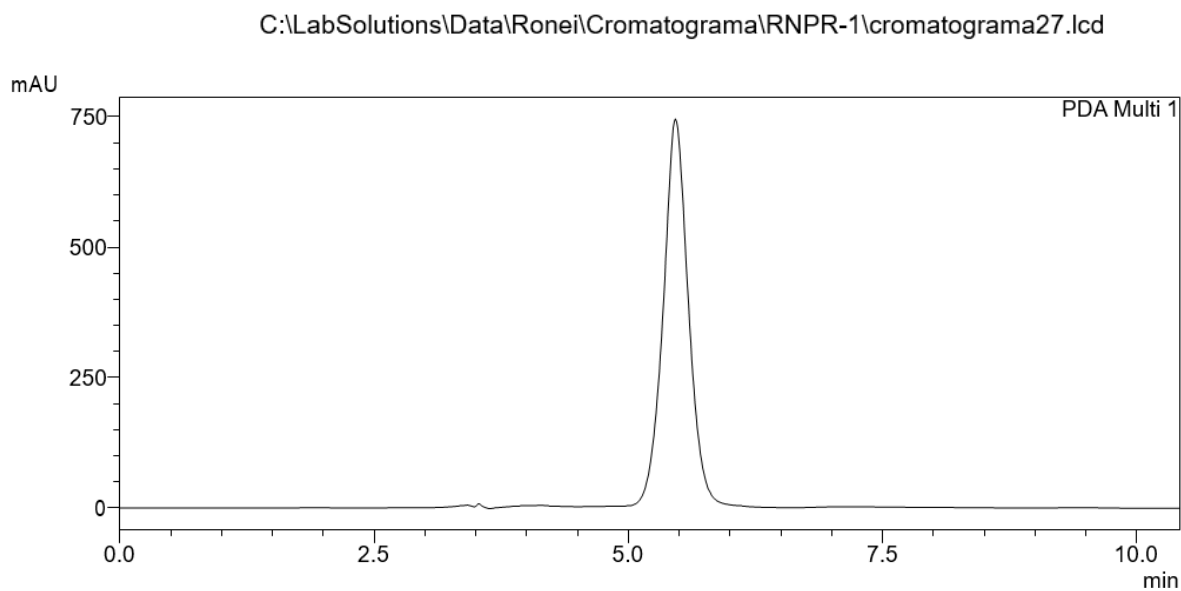
F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 500.1300000 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 QF
SF 500.1300000 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0

Apêndice 32: Análise de CLAE do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) sintetizado.

C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\RNPR-1\cromatograma27.lcd

Acquired by	: Ronei
Sample Name	: RNPR-1
Sample ID	: RNPR-1
Tray#	: 1
Vail #	: 1
Injection Volume	: 30 uL
Data File Name	: cromatograma27.lcd
Method File Name	: metodo 1.lcm
Batch File Name	:
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 15/03/2022 15:16:38
Data Processed	: 15/03/2022 15:27:09

<Chromatogram>

Apêndice 33: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -hidróxi-copálico (**68**) sintetizado.**Analysis Info**

Acquisition Date 3/11/2022 9:04:56 PM

Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Ronei\LC-MS\11-03-2022\ODS_APCI-_RNPR-1_70-100_1-69_01_3867.d

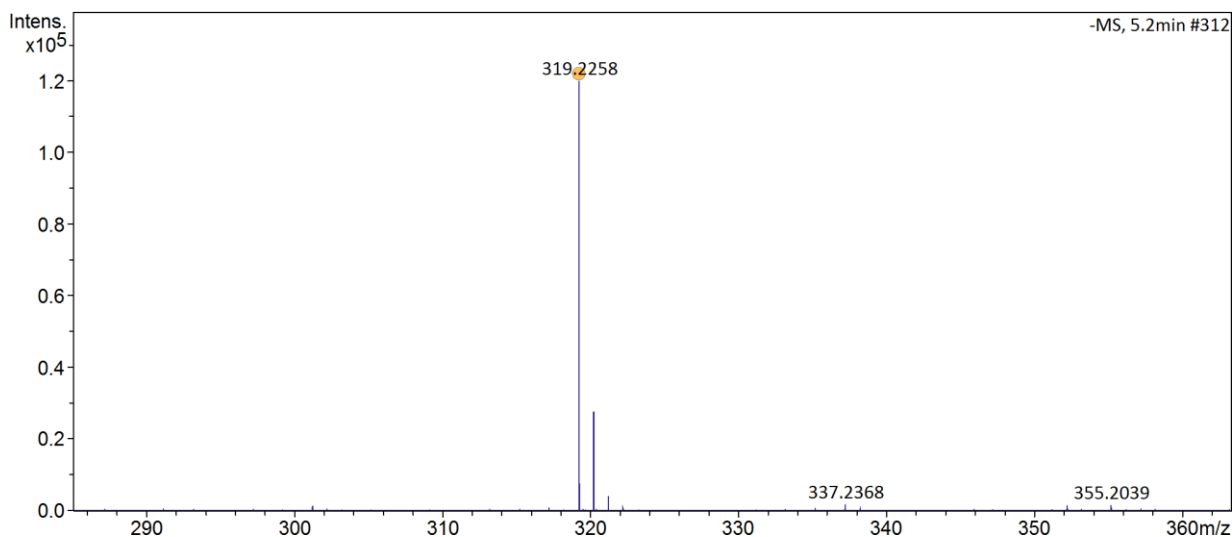
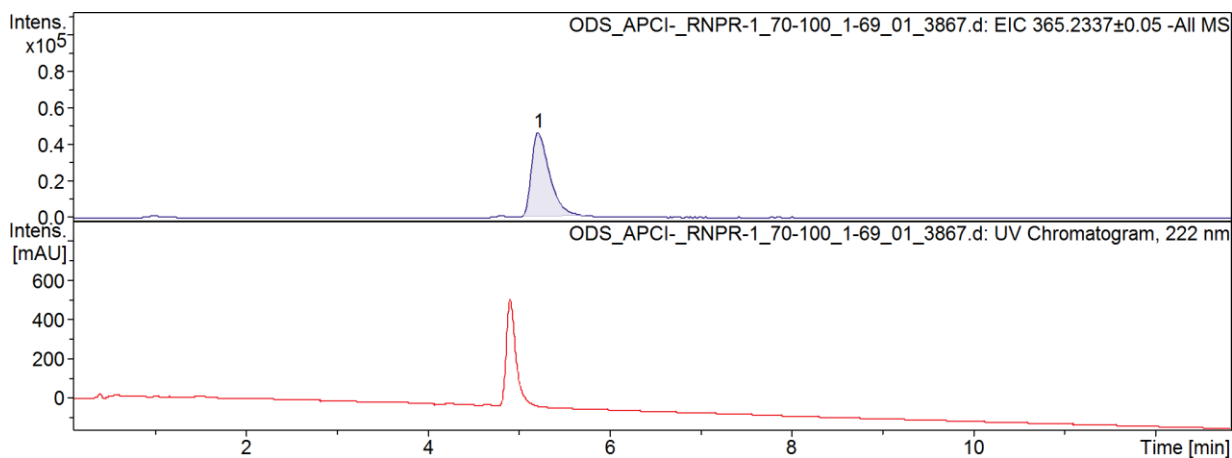
Method LC-MS_Tune-Wide_APCI-_ComFocus_100-1600_20min.m

Operator BDAL@DE

Sample Name ODS_APCI-_RNPR-1_70-100

Instrument micrOTOF-Q

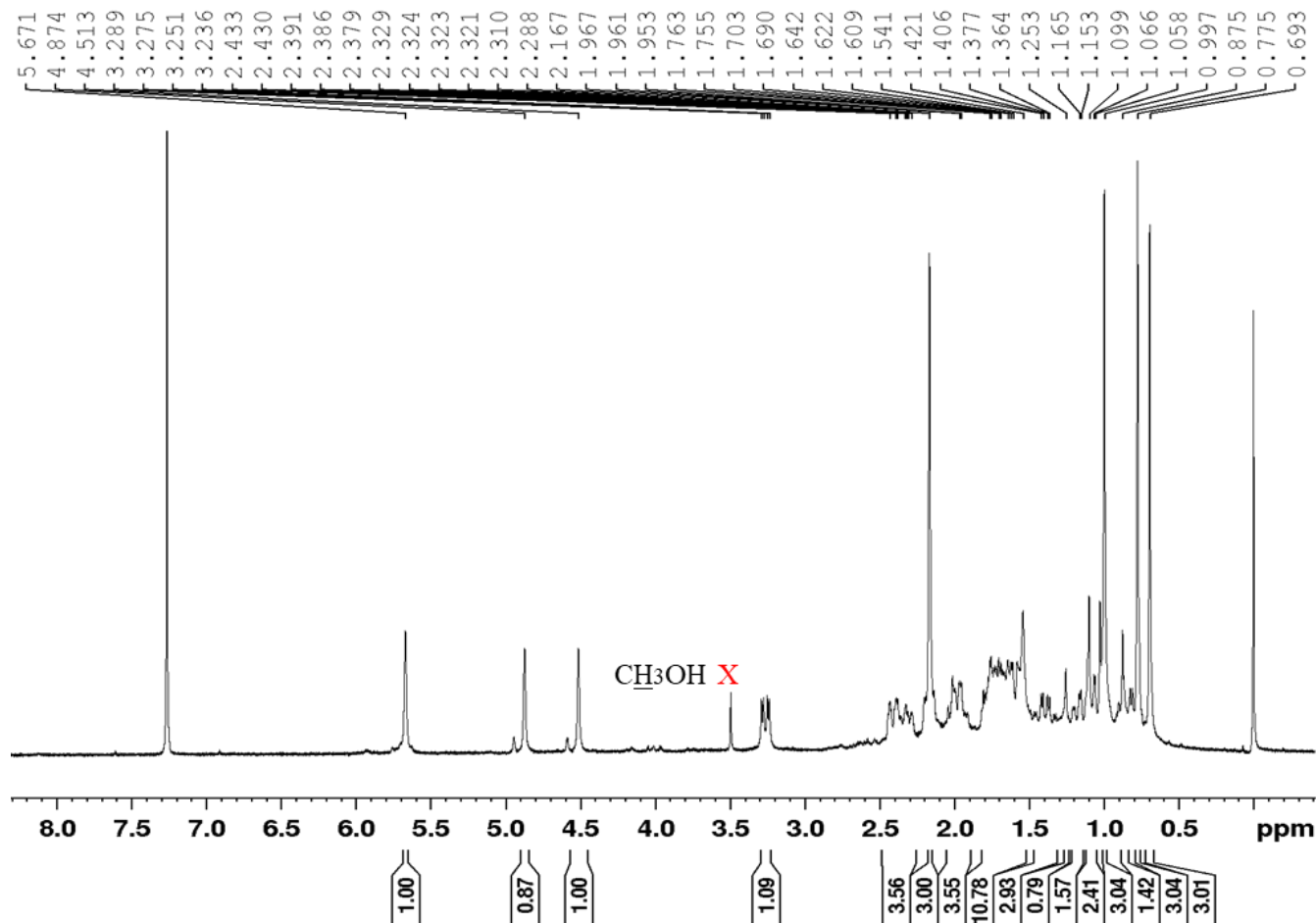
Comment
 ODS 50x2,0mm
 Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=350C; P=3367psi; Inj=2uL;
 A(H₂O+0.1%HCOOH)/B(MeOH)
 0-14m-70-100%
 14-16m-100%
 16-18m-100-70%
 18-20m-70%
 Inj:MeOH
 Calib.:TunemizAPCI_end



Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	319.2258	C ₂₀ H ₃₁ O ₃	319.2279	6.6	5.8	100.00

Apêndice 34: Espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl_3 (300 MHz).

RMN_RNPR-1 (1H; CDCl_3 ; 4,0 mg)
14/03/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_RNPR-1
EXPNO 1
PROCNO 1

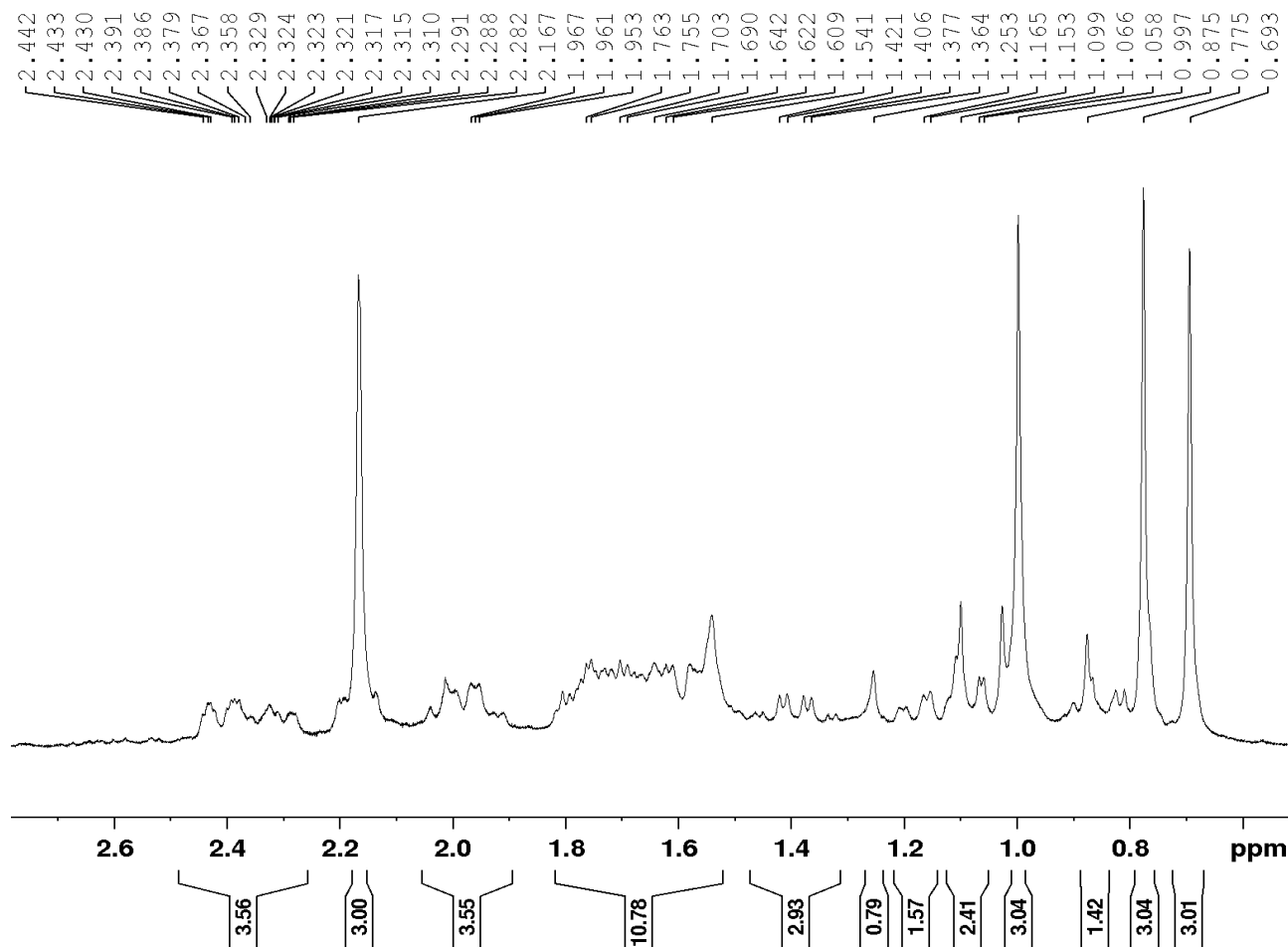
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220314
Time 15.26
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000030 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 35: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -hidróxi-copálico (**68**) em CDCl_3 (300 MHz).

RMN_RNPR-1 (1H; CDCl_3 ; 4,0 mg)
14/03/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_RNPR-1
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220314
Time 15.26
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

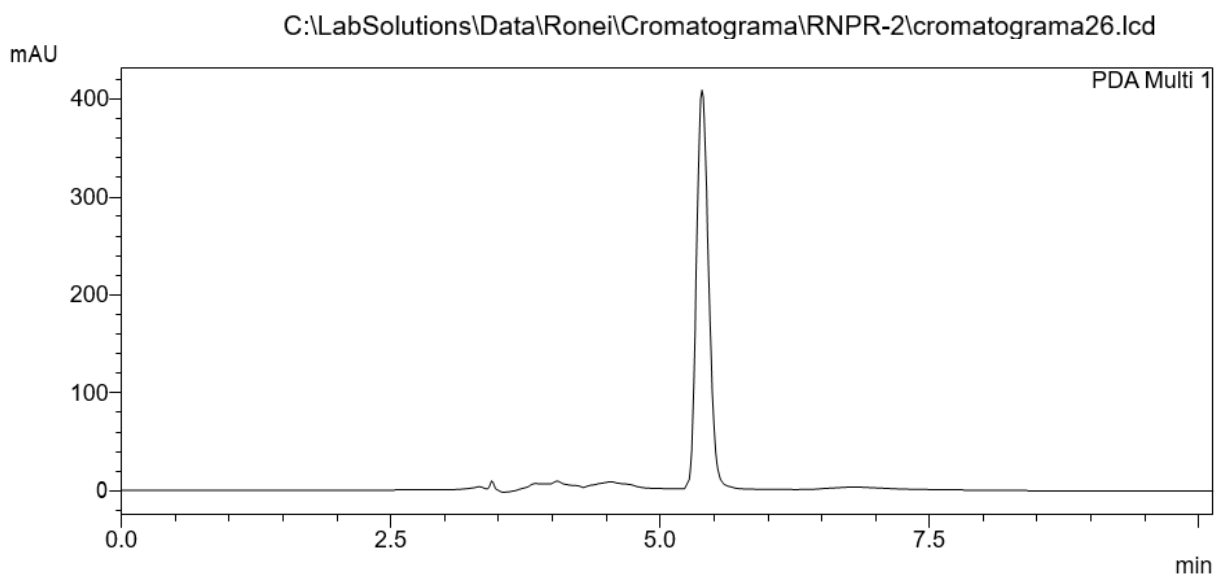
----- CHANNEL f1 -----
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000030 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 36: Análise de CLAE do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) sintetizado.

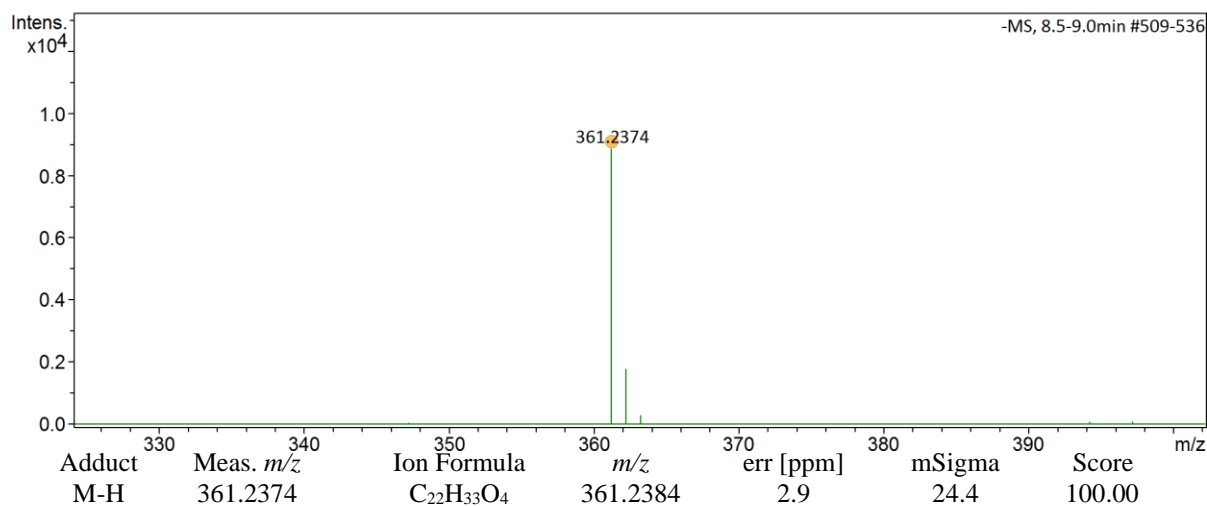
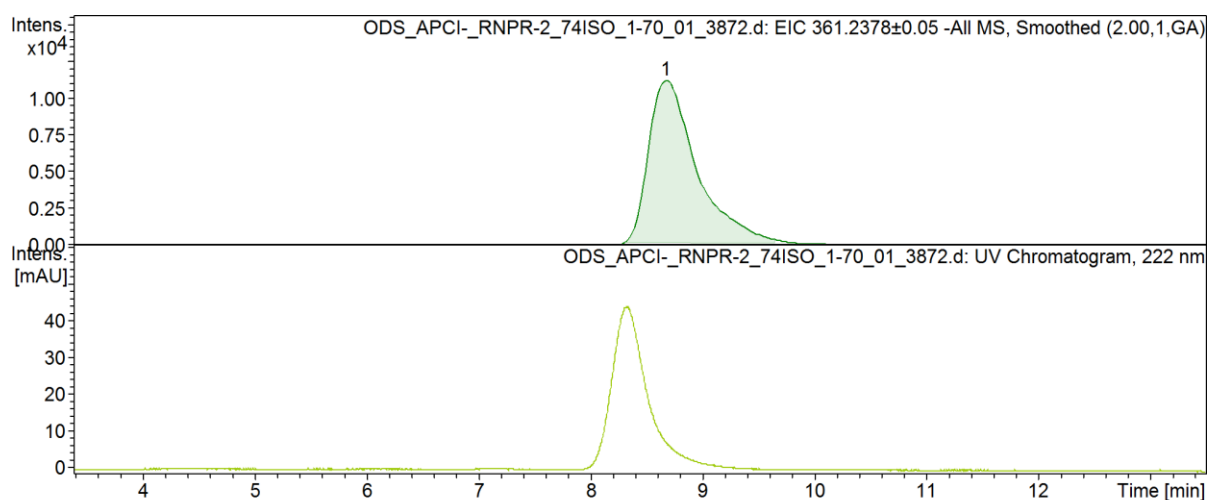
C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\RNPR-2\cromatograma26.lcd

Acquired by	: Ronei
Sample Name	: RNPR-2
Sample ID	: RNPR-2
Tray#	: 1
Vial #	: 1
Injection Volume	: 30 uL
Data File Name	: cromatograma26.lcd
Method File Name	: metodo 1.lcm
Batch File Name	:
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 15/03/2022 14:59:14
Data Processed	: 15/03/2022 15:09:26

<Chromatogram>

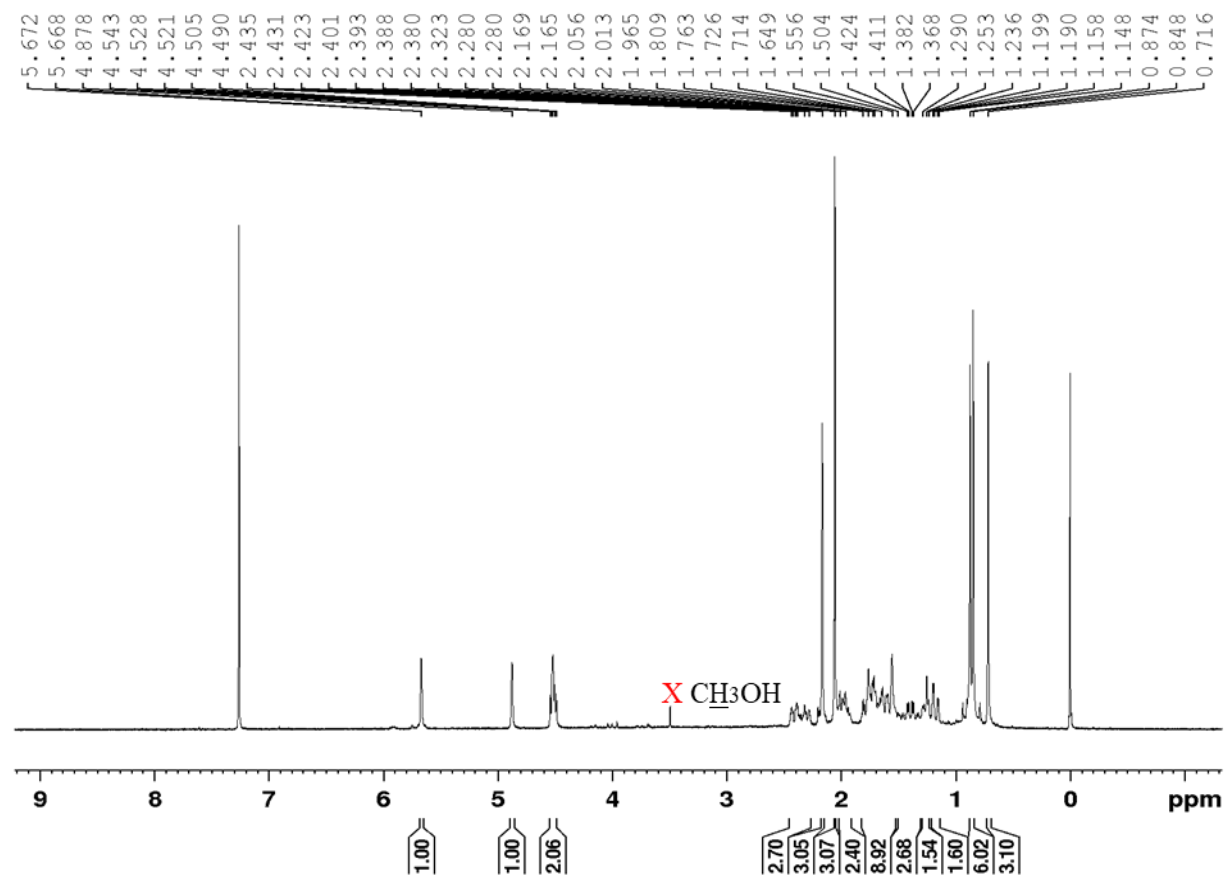
Apêndice 37: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -acetóxi-copálico (**70**) sintetizado.

Analysis Info		Acquisition Date 3/11/2022 11:42:54 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Ronei\LC-MS\11-03-2022\ODS_APCI-_RNPR-2_74ISO_1-70_01_3872.d		
Method	LC-MS_Tune-Wide_APCI-_ComFocus_100-1600_20min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_APCI-_RNPR-2_74ISO	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=35oC; P=3347psi; Inj=01uL; A(H ₂ O+0.1%HCOOH)/B(MeOH) 0-12m-74% 12-14m-74-100% 14-16m-100% 16-18m_100-74%, 18-20m_74% Inj:MeOH Calib.:TunemizAPCI_end		



Apêndice 38: Espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl_3 (300 MHz).

RNPR-2 (^1H ; CDCl_3 ; 5,0 mg)
14/03/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Rone122_RNPR-2
EXPNO 1
PROCNO 1

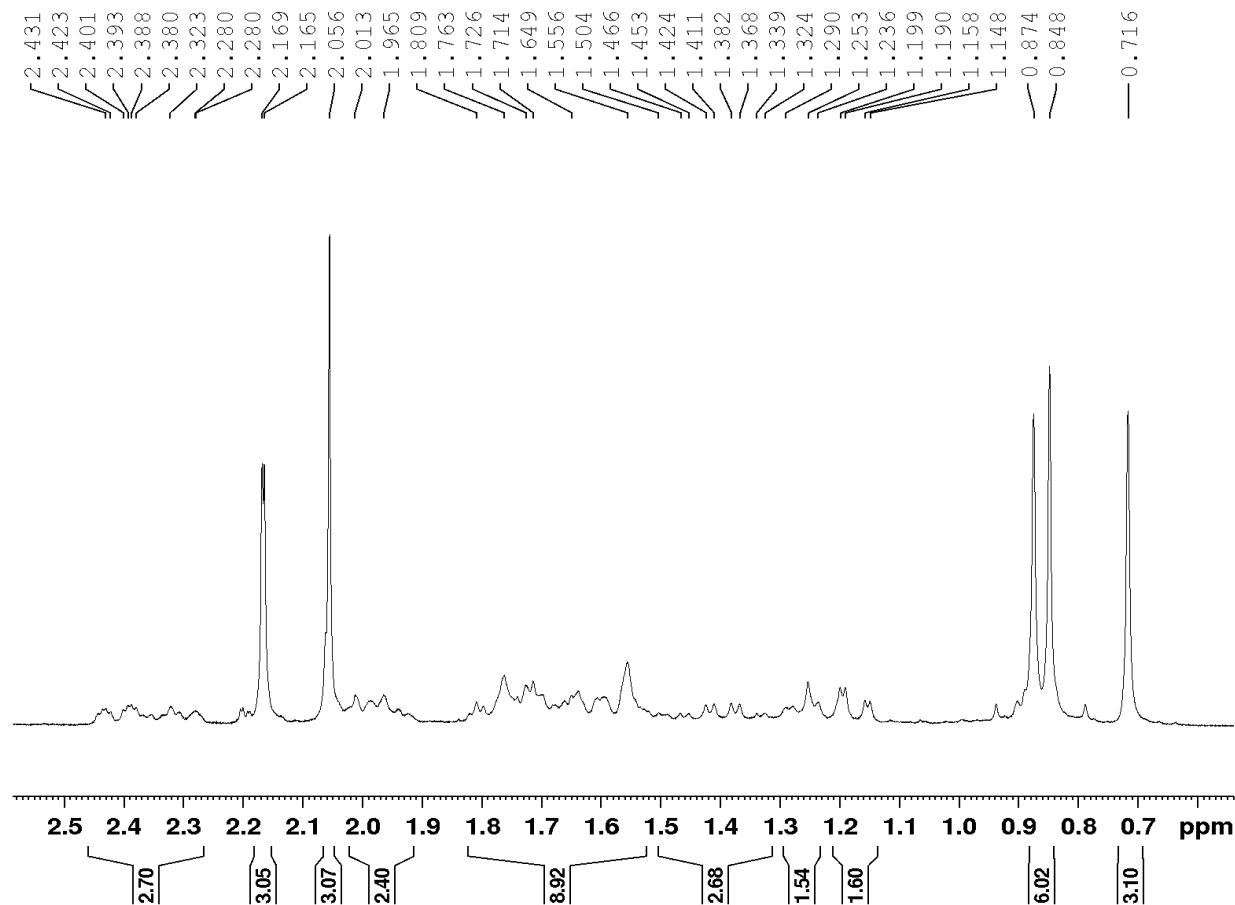
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220314
Time 15.02
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

----- CHANNEL f1 -----
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000032 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 39: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -acetóxi-copálico (**70**) em CDCl_3 (300 MHz).

RNPR-2 (^1H ; CDCl_3 ; 5,0 mg)
14/03/2022 Op. Sabrina



Current Data Parameters
NAME Ronei22_RNPR-2
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20220314
Time 15.02
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 980.8 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

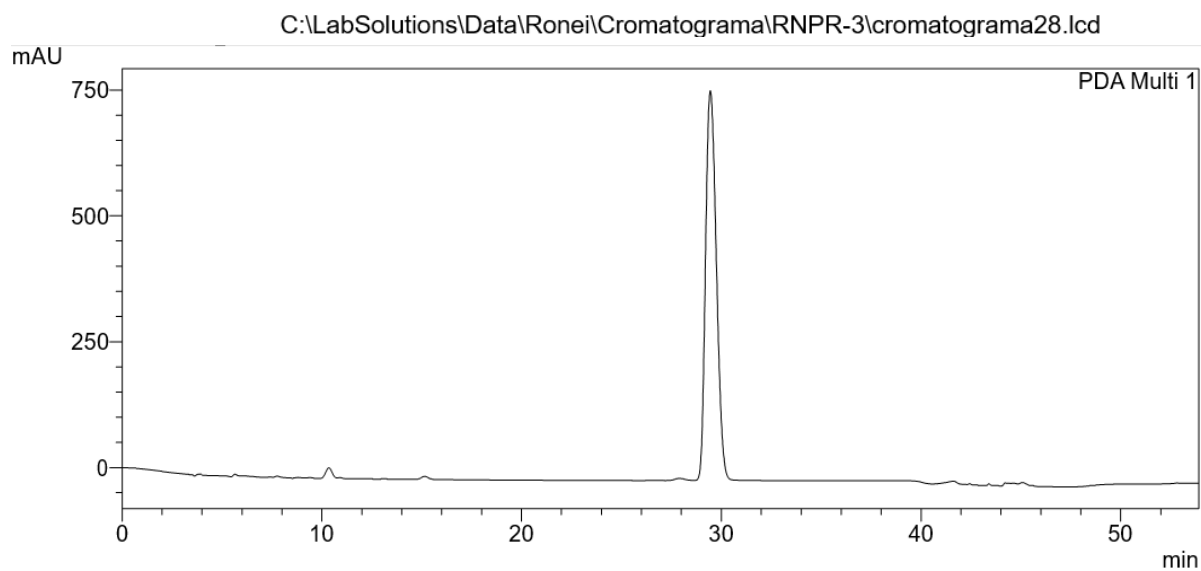
===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 8.50 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000032 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00

Apêndice 40: Análise de CLAE do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (**136**) sintetizado.

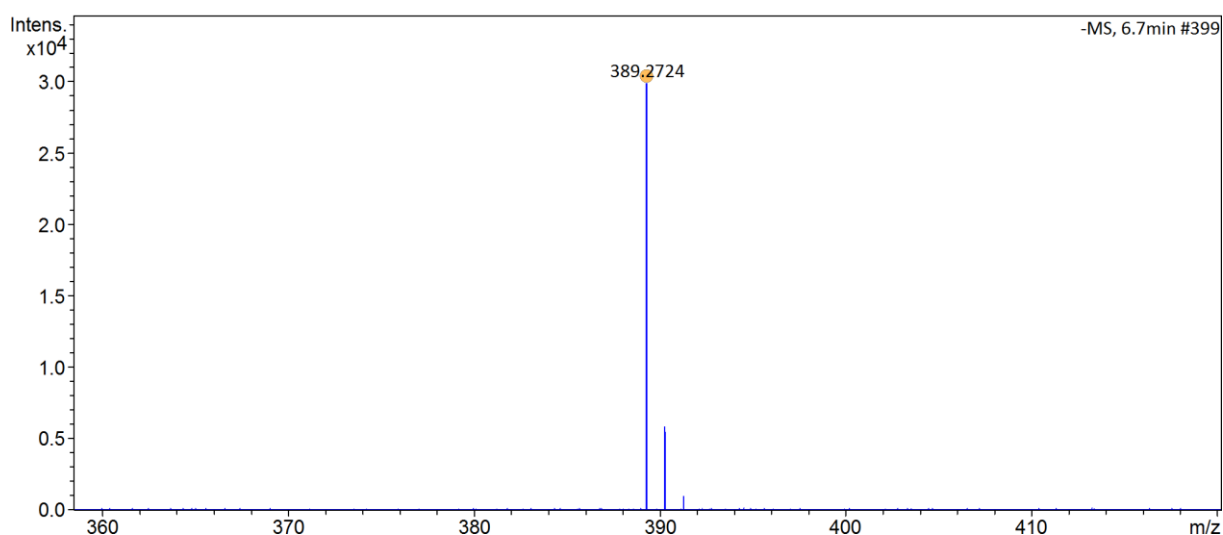
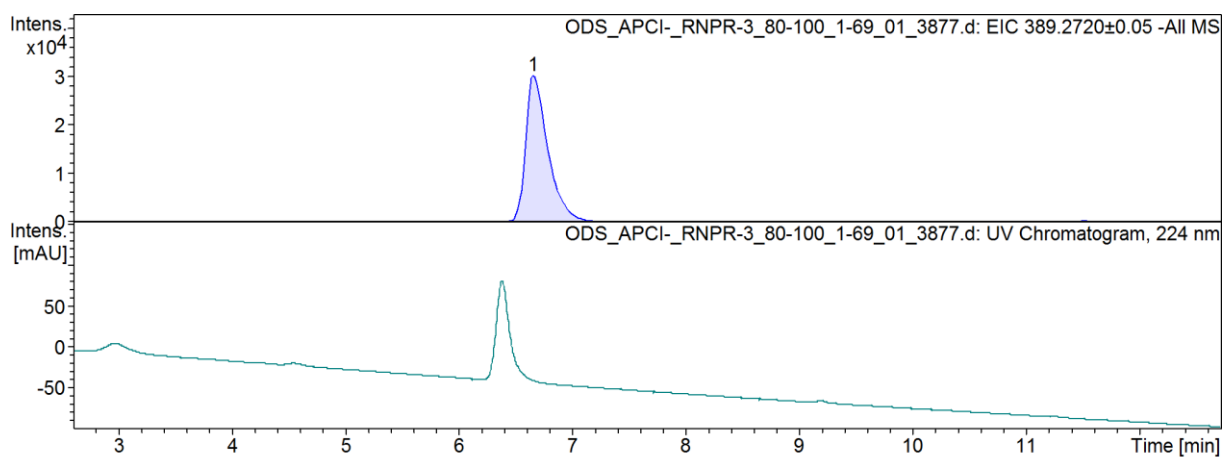
C:\LabSolutions\Data\Ronei\Cromatograma\RNPR-3\cromatograma28.lcd

Acquired by	: Ronei
Sample Name	: RNPR-3
Sample ID	: RMPR-3
Tray#	: 1
Vail #	: 1
Injection Volume	: 20 uL
Data File Name	: cromatograma28.lcd
Method File Name	: metodo 1.lcm
Batch File Name	:
Report File Name	: Default.lcr
Data Acquired	: 24/03/2022 14:32:09
Data Processed	: 24/03/2022 15:26:08

<Chromatogram>

Apêndice 41: Análise de CL-EMAR e EM do ácido 3 α -butanoilóxi-copálico (**136**) sintetizado.

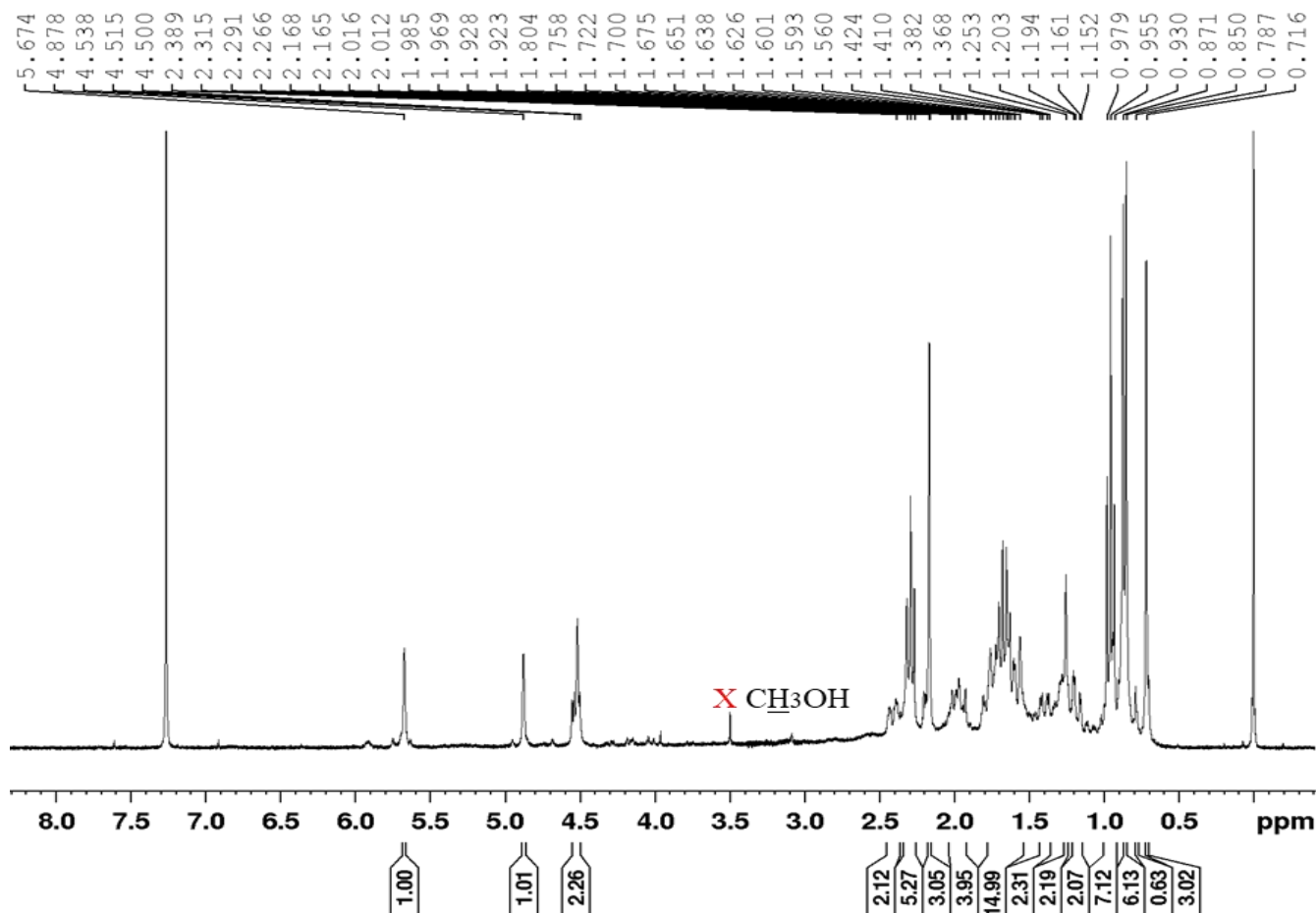
Analysis Info		Acquisition Date 3/21/2022 11:02:43 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Ronei\LC-MS\21-03-2022\ODS_APCI-_RNPR-3_80-100_1-69_01_3877.d		
Method	LC-MS_Tune-Wide_APCI-_ComFocus_100-1600_20min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_APCI-_RNPR-3_80-100	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=35oC; P=2890psi; Inj=6uL; A(H2O+0.1%HCOOH)/B(MeOH) 0-14m-70-100% 14-16m-100% 16-18m-100-70% 18-20m-70% Inj:MeOH Calib.:TunemizAPCI_end		



Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	389.2724	C ₂₄ H ₃₇ O ₄	389.2697	-6.9	41.2	100.00

Apêndice 42: Espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -butanoilóxi-copálico (**136**) em CDCl_3 (300 MHz).

Ronei_RNPR-3 (1H; CDCl_3 ; 3.0mg)
Op. Magno 28/12/21



```
Current Data Parameters
NAME      Ronei21_AHC-BUT
EXPNO     1
PROCNO    1

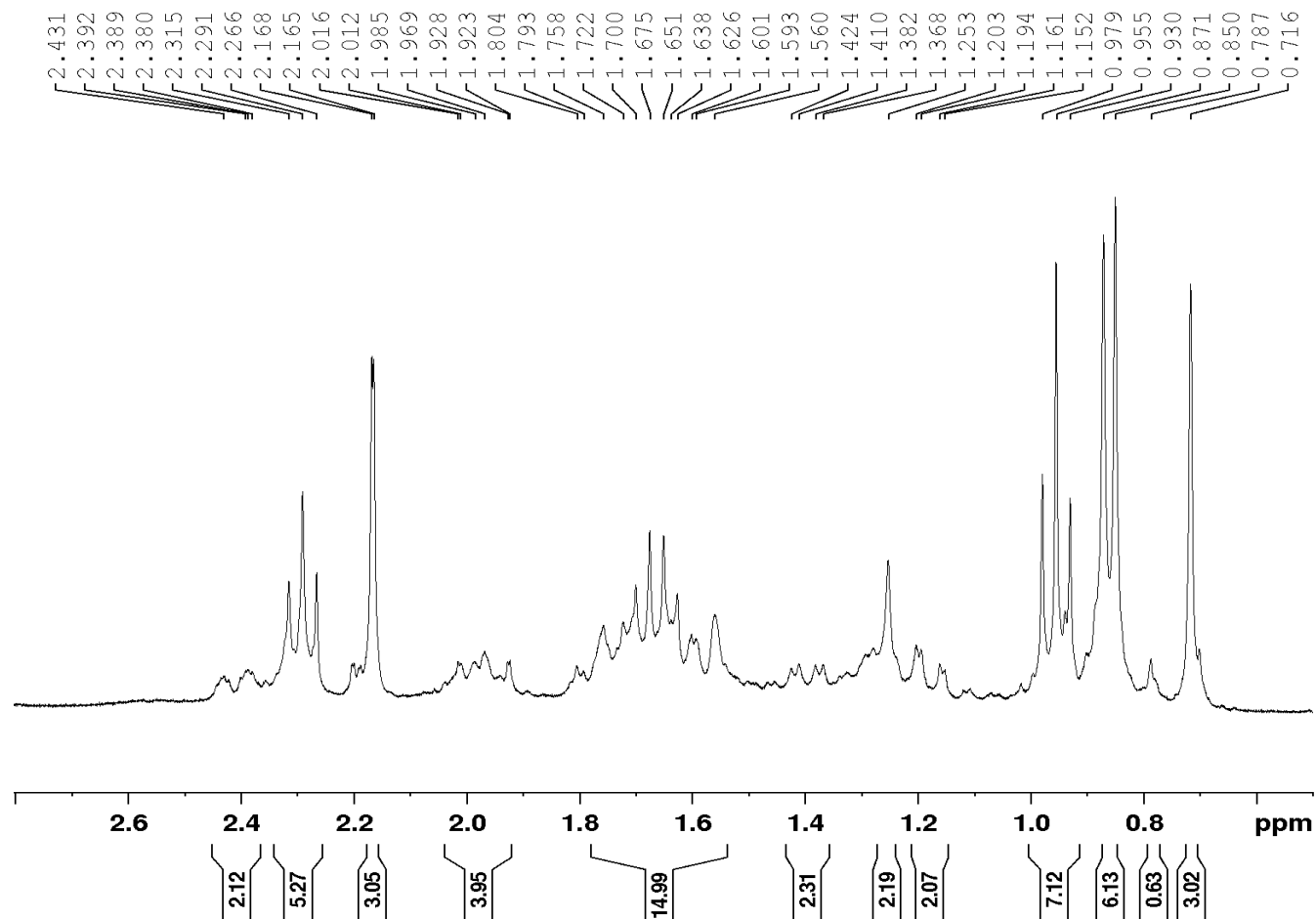
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20211228
Time      16.58
INSTRUM   FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG   zg
TD         65536
SOLVENT   CDC13
NS         32
DS         2
SWH        6103.516 Hz
FIDRES     0.093132 Hz
AQ         5.3687091 sec
RG         31.623
DW         81.920 usec
DE         10.00 usec
TE         448.7 K
D1         1.00000000 sec
TDO       1

----- CHANNEL f1 -----
SFO1      300.2019513 MHz
NUC1      1H
P1         7.88 usec
PLW1      20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI         65536
SF         300.2000029 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0 Hz
GB         0
PC         1.00
```

Apêndice 43: Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância sintetizada, o ácido 3α -butanoilóxi-copálico (**136**) em CDCl_3 (300 MHz).

Ronei_RNPR-3 (^1H ; CDCl_3 ; 3.0mg)
Op. Magno 28/12/21



Current Data Parameters
NAME Ronei21_AHC-BUT
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20211228
Time 16.58
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 65536
SOLVENT CDCl_3
NS 32
DS 2
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.093132 Hz
AQ 5.3687091 sec
RG 31.623
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 448.7 K
D1 1.00000000 sec
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 ^1H
P1 7.88 usec
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.2000029 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.00