



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ

**“Substâncias encontradas em algas rodofíceas do litoral paraibano e do Mar
Jônico - Grécia”**

JOÃO PESSOA – PB

2012

ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ

**“Substâncias encontradas em algas rodofíceas do litoral paraibano e do Mar
Jônico - Grécia”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de concentração: Farmacoquímica

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

JOÃO PESSOA – PB

2012

T655s Tomaz, Anna Cláudia de Andrade.
"Substâncias encontradas em algas rodofíceas do litoral paraibano e do Mar
Jônico-Grécia"/ Anna Cláudia de Andrade Tomaz. -- João Pessoa: [s.n.], 2012.
348f. : il.
Orientador: Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha.
Co-orientador: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Sphaerococcus. 3. Ácidos graxos. 4. Terpenos. 5.
Algas.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

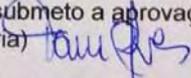


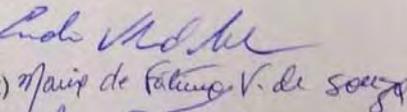
PgPN SB

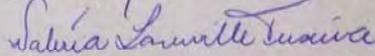
Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 147ª (centésima quadragésima sétima) Tese de Doutorado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **ANNA CLÁUDIA DE ANDRADE TOMAZ**, candidata ao Título de "Doutor" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica.

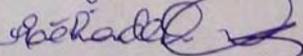
Às quatorze horas (14h00) do dia dois de fevereiro do ano dois mil e doze (02.02.2012), no Auditório Professor Delby Fernandes de Medeiros do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Anna Cláudia de Andrade Tomaz**, candidata ao Título de "DOUTOR" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os professores Valéria Launville Teixeira, Ph.D. em Química; Miriam de Barcelos Falkenberg, Ph.D. em Química Farmacêutica; Maria Célia de Oliveira Chaves, Ph.D em Química Orgânica; Celidarque da Silva Dias, Ph.D. em Farmacoquímica; Maria de Fátima Vanderlei de Souza, Ph.D. em Química Orgânica e Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha, Ph.D. em Ciências Farmacêuticas. Sendo a primeira integrante do Corpo Docente da Universidade Federal Fluminense, a segunda integrante do Corpo Docente da Universidade Federal de Santa Catarina e os demais, integrantes do Corpo Docente desta Universidade. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Anna Cláudia de Andrade Tomaz**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Substâncias Encontradas em Algas Rodofíceas do Litoral Paraibano e do Mar Jônico – Grécia". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi argüida pelos Examinadores na forma Regimental. Ato contínuo passou a comissão em caráter secreto a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO COM DISTINÇÃO**. Em face de sua aprovação, declarou a Presidente, achar-se a examinada **Anna Cláudia de Andrade Tomaz** legalmente habilitada a receber o Título de "DOUTOR" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Tânia Maria Alves de Araújo, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

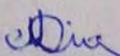
Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha (Orientador 1) 

Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza (Orientadora 2) 

Profa. Dra. Valéria Launville Teixeira (Examinadora) 

Profa. Dra. Miriam de Barcelos Falkenberg (Examinadora) 

Profa. Dra. Maria Célia de Oliveira Chaves (Examinadora) 

Profa. Dra. Celidarque da Silva Dias (Examinadora) 



Aos meus pais, Antonio e Edna Tomaz, pelo cuidado e dedicação na constituição de nossa família, base essencial do meu ser, e pelo incentivo sem limites para a minha formação profissional.

A eles, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, fonte inesgotável de fortaleza e alento, que me ilumina e guia rumo ao plano que Ele tem para mim, pois tudo pertence a Ele, toda honra, toda glória, e a vitória alcançada em minha vida.

Aos meus pais, Antonio e Edna, e as minhas irmãs, Hoana, Marianna e Thaís, pelo verdadeiro sentido de família partilhado, pelo amor, carinho, paciência, conselho, auxílio, apoio e incentivo que vêm me proporcionando em todos os momentos da minha vida.

Ao meu noivo, Lúcio Júnior, por todo o amor, ajuda, compreensão, apoio e incentivo que sempre dedicou a mim durante toda a trajetória que temos compartilhado, e aos seus familiares pelo importante apoio.

A todos os meus familiares que, mesmo ausentes ou distantes, desejaram o meu êxito.

Ao Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha e à Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza, pela disponibilidade com que aceitaram me orientar desde o mestrado, pelos ensinamentos valiosos transmitidos, pela confiança em mim depositada, pelo incentivo e amizade nesta caminhada acadêmica.

Aos Professores da Pós-graduação, cujos preciosos ensinamentos profissionais e para a vida não serão esquecidos.

Às Coordenadoras da Pós-graduação Prof^a. Dr^a. Márcia Regina Piuvezam (anterior) e Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Agra (atual) pelo apoio e auxílio prestados.

Ao Prof. Dr. George Emmanuel Cavalcanti de Miranda pela coleta e identificação botânica das espécies do gênero *Gracilaria*.

Aos professores que participaram das bancas examinadoras da qualificação e final, pela disponibilidade em colaborar com este trabalho e pelas valiosas contribuições.

A todos os funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica pelos diversos serviços prestados, especialmente Ataíde Matias, Caroline Mangueira, Glória, Raimundo Nonato, Sócrates Golzio, Tânia Alves e Vicente Carlos pela amizade e por não medirem esforços para proporcionar o bom andamento de nossos trabalhos.

A todos que fizeram e fazem parte da equipe da Prof^a. Fátima Vanderlei pela enriquecedora convivência científica e de amizade.

Às grandes amigas Adriana, Danielle e Vanine por todos os momentos e sentimentos que temos compartilhado há muitos anos.

A todos os meus amigos que acompanharam minha trajetória e sabem o quanto significam para mim: Andrezza, Camila, Daniele Idalino, Diogo, Eugênia, Eduardo, Fabiano, Fábio, Gabriela, Rafael, Raquel, Roosevelt, Sócrates, Tiago, Vivianne, Wemerson.

A todos os alunos da turma do doutorado 2008 e aos demais alunos pelo companheirismo e agradável convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas Demanda Social e PDEE concedidas.

À Universidade de Atenas (Grécia), pelo auxílio ao desenvolvimento desta pesquisa, na pessoa do Prof. Dr. Vassilios Roussis que prestou apoio incondicional em todas as etapas do doutorado sanduíche com excelente acolhimento e amizade, juntamente com os Professores Costas Vagias (*in memoriam*), Maria Kouladi e Olga Tzako, e toda sua equipe: Charoula, Danae, Dimitri, Eirini, Elisi, Fay, Fotini, Giannis, Giota, Katerina, Marianna, Natasa, Takis, Vangelis e Vicky.

Às amigas que conquistei no período em que estive na Grécia pelo carinho e acolhimento em tantos momentos, especialmente quando eu mais precisei: Charoula, Jenny, Marianna, Miriam, Rita e Vicky.

A todos, minha sincera e eterna gratidão.

“Όλοι οι άνθρωποι από τη φύση τους επιθυμούν την γνώση.”

(Αριστοτέλης)

“Todos os homens, por natureza, desejam o conhecimento.”

(Aristóteles)

RESUMO

Organismos marinhos são fontes potencialmente geradoras de metabólitos secundários bioativos que podem representar ferramentas úteis no desenvolvimento de novos fármacos. As algas vermelhas são consideradas a principal fonte de muitos metabólitos biologicamente ativos, quando comparadas com outras classes de algas, e compreendem cerca de 8000 espécies. Nas áreas litorâneas do Nordeste brasileiro, as algas vermelhas, como do gênero *Gracilaria*, são espécies abundantes. As rodófitas *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis* (família Gracilariaceae) coletadas no litoral paraibano foram alvos do nosso interesse científico com o objetivo de conhecer seus princípios ativos, considerando-se que, na literatura científica, são quase inexistentes quaisquer dados químicos ou farmacológicos. Somou-se a esta pesquisa, uma colaboração com o Prof. Dr. Vassilios Roussis da Universidade de Atenas (Grécia), por intermédio do Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior (PDEE/CAPES). Através desta parceria, realizou-se também o estudo químico da alga vermelha *Sphaerococcus coronopifolius* (família Sphaerococcaceae) coletada no mar Jônico (Grécia), tendo em vista que esta espécie já foi alvo de investigações químicas prévias e apresenta, reconhecidamente, um excelente perfil químico. Para o cumprimento desses objetivos, foram utilizados métodos cromatográficos e espectroscópicos adequados. A análise das algas do gênero *Gracilaria* permitiu a identificação de uma fração rica em hidrocarbonetos, e o isolamento e identificação de um esteroide e um ácido graxo na alga *G. caudata*, bem como a análise e caracterização dos ésteres metílicos de ácidos graxos dos extratos CH₂Cl₂/MeOH das quatro espécies em estudo. O estudo da alga *Sphaerococcus coronopifolius* culminou no isolamento e purificação de vinte terpenos, sendo três inéditos na literatura, um isolado pela primeira vez na espécie, um isolado pela primeira vez desta espécie quando coletada no mar Jônico (Grécia), e os demais re-isolados com vistas à obtenção de material para a realização de testes biológicos.

Palavras-chaves: Algas. *Gracilaria*. *Sphaerococcus*. Ácidos graxos. Terpenos.

ABSTRACT

Marine organisms are potentially prolific sources of bioactive secondary metabolites that might represent useful leads in the development of new pharmaceutical agents. Red algae are considered the main source of many biologically active metabolites in comparison to other algal classes and they comprise about 8,000 species. In northeastern Brazil littoral areas, red seaweeds like *Gracilaria* are abundant species. The red algae *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* and *Gracilaria domingensis* (family Gracilariaceae) collected on the coast of Paraíba were targets of our scientific interest in order to know their active constituents due to the lack of chemical and pharmacological data in scientific literature. A collaboration with Professor Vassilios Roussis, University of Athens (Greece), through financial support of the Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior (PDEE/CAPES) was added to this research. Through this partnership, the phytochemical study of the red alga *Sphaerococcus coronopifolius* (family Sphaerococcaceae) collected in the Ionian Sea (Greece) was also performed since this species has been subject of previous chemical investigations and has an acknowledged excellent phytochemical profile. Suitable chromatographic and spectroscopic methods were used to accomplish those objectives. The analysis of the algae from the genus *Gracilaria* allowed the identification of a fraction rich in hydrocarbons, and the isolation and identification of a sterol and a fatty acid from the alga *G. caudata*, as well as the analysis and characterization of methyl esters of fatty acids of the CH₂Cl₂/MeOH extracts of the four species under study. The study of the alga *Sphaerococcus coronopifolius* resulted in the isolation and purification of twenty terpenes, being three new ones, one first isolated in the species, one first isolated in the species when collected in the Ionian Sea (Greece) and other re-isolated in order to obtain material for biological tests.

Keywords: Algae. *Gracilaria*. *Sphaerococcus*. Fatty acids. Terpenes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição mundial do gênero <i>Gracilaria</i> .	34
Figura 2 - Distribuição da espécie <i>Gracilaria birdiae</i> .	36
Figura 3 - Distribuição da espécie <i>Gracilaria caudata</i> .	37
Figura 4 - Distribuição da espécie <i>Gracilaria cerviconis</i> .	38
Figura 5 - Distribuição da espécie <i>Gracilaria domingensis</i> .	39
Figura 6 - Distribuição do gênero <i>Sphaerococcus</i> .	40
Figura 7 - Espécie <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> .	41
Figura 8 - Distribuição da espécie <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> .	41
Figura 9 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em <i>G. birdiae</i> obtido em CG-EM.	69
Figura 10 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em <i>G. caudata</i> obtido em CG-EM.	70
Figura 11 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em <i>G. cerviconis</i> obtido em CG-EM.	71
Figura 12 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em <i>G. domingensis</i> obtido em CG-EM.	72
Figura 13 - Cromatograma obtido em CG-EM da fração 1.	74
Figura 14 - Estrutura química do ácido palmítico.	75
Figura 15 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) da substância Gc-1, isolada da fração 8-9 do extrato de <i>G. caudata</i> .	76
Figura 16 - Espectro de massas de Gc-1, isolada de <i>G. caudata</i> .	77
Figura 17 - Estrutura química do colesterol (colest-5-en-3β-ol).	78
Figura 18 - Cromatograma da fração 7 obtido em CLAE de fase normal (c-hex/AcOEt 90:10).	79
Figura 19 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) de Gc-2.	80
Figura 20 - Cromatograma da fração VI obtido em CLAE de fase reversa (MEOH 100%).	81
Figura 21 - Cromatograma da fração VIIM obtido em CLAE de fase reversa (MEOH 100%).	82

Figura 22 – Cromatograma da fração VIIM.4 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	82
Figura 23 – Cromatograma da fração VIIM.5 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	83
Figura 24 - Cromatograma da fração VIIM.5 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	83
Figura 25 - Cromatograma fração VIII obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	84
Figura 26 - Cromatograma da fração VIII.6 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	84
Figura 27 - Cromatograma da fração 5.6VIII obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).....	85
Figura 28 - Cromatograma da fração VIII.8 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	85
Figura 29 - Cromatograma da fração IX obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	86
Figura 30 - Cromatograma da fração IX.9 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	86
Figura 31 - Cromatograma da fração IX.W obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	87
Figura 32 – Cromatograma da fração XVI obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).....	87
Figura 33 - Cromatograma da fração P49C obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	88
Figura 34 - Cromatograma da fração P7C obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	88
Figura 35 - Cromatograma da fração 7.P7C obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).....	89
Figura 36 - Cromatograma da fração PE obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	89
Figura 37 - Cromatograma da fração PE.5 obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	90
Figura 38 - Cromatograma da fração PE.10 obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).....	90

Figura 39 – Cromatograma da fração PE.4 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	91
Figura 40 - Cromatograma da fração PE.6 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	91
Figura 41 - Cromatograma da fração PE.7 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	92
Figura 42 - Cromatograma da fração PE.9 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).....	92
Figura 43 – Estrutura química de Sc-1.....	93
Figura 44 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	95
Figura 45 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	96
Figura 46 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	97
Figura 47 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	98
Figura 48 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	99
Figura 49 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	100
Figura 50 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-1.....	101
Figura 51 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.....	102
Figura 52 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-1.....	103
Figura 53 – Estrutura química de Sc-2.....	106
Figura 54 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	108
Figura 55 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	109
Figura 56 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	110
Figura 57 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	111
Figura 58 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	112
Figura 59 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	113
Figura 60 - Expansão 6 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	114
Figura 61 - Expansão 7 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.....	115
Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.....	116

Figura 63 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2....	117
Figura 64 - Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2. ...	118
Figura 65 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-2.	119
Figura 66 – Estrutura química de Sc-3.....	122
Figura 67 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.	124
Figura 68 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	125
Figura 69 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	126
Figura 70 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	127
Figura 71 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	128
Figura 72 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	129
Figura 73 - Expansão 6 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.....	130
Figura 74 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.....	131
Figura 75 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3....	132
Figura 76 - Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3. ...	133
Figura 77 - Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-3.	134
Figura 78 – Estrutura química de Sc-4.....	135
Figura 79 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.	137
Figura 80 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.....	138
Figura 81 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.....	139
Figura 82 – Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.....	140
Figura 83 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-4.....	141
Figura 84 – Estrutura química de Sc-5.....	143
Figura 85 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.	145
Figura 86 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.....	146
Figura 87 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.....	147
Figura 88 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.....	148
Figura 89 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-5.....	149

Figura 90 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-5.....	150
Figura 91 – Estrutura química de Sc-6.....	153
Figura 92 - Espectro de massas de Sc-6.	156
Figura 93 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.	158
Figura 94 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.....	159
Figura 95 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.....	160
Figura 96 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.....	161
Figura 97 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.....	162
Figura 98 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6.....	163
Figura 99 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC-DEPT (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.	164
Figura 100 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.	165
Figura 101 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.....	166
Figura 102 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.	167
Figura 103 – Estrutura química de Sc-7.....	168
Figura 104 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.	171
Figura 105 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7...	172
Figura 106 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7....	173
Figura 107 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7....	174
Figura 108 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7....	175
Figura 109 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , C_6D_6 , 100 MHz) de Sc-7.	176
Figura 110 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-7.....	177
Figura 111 – Estrutura química de Sc-8a.....	178
Figura 112 – Estrutura química de Sc-8b.....	178
Figura 113 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b)..	181
Figura 114 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).....	182

Figura 115 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).....	183
Figura 116 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).....	184
Figura 117 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).....	185
Figura 118 – Estrutura química de Sc-9.....	186
Figura 119 - Espectro de massas (Cl(+)-MS) de Sc-9.	190
Figura 120 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.	191
Figura 121 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9...	192
Figura 122 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9...	193
Figura 123 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9...	194
Figura 124 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9...	195
Figura 125 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-9.....	196
Figura 126 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.	197
Figura 127 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.	198
Figura 128 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.....	199
Figura 129 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.	200
Figura 130 – Estrutura química de Sc-10.....	201
Figura 131 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.	205
Figura 132 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.	206
Figura 133 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10..	207
Figura 134 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10..	208
Figura 135 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10..	209
Figura 136 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10..	210
Figura 137 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10.....	211
Figura 138 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10.	212
Figura 139 - Espectro de massas (Cl(+)-MS) de Sc-10.	213

Figura 140 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.	214
Figura 141 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.	215
Figura 142 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.....	216
Figura 143 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.....	217
Figura 144 – Estrutura química de Sc-11a.....	218
Figura 145 – Estrutura química de Sc-11b.....	218
Figura 146 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).	221
Figura 147 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).....	222
Figura 148 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).....	223
Figura 149 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).....	224
Figura 150 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).....	225
Figura 151 – Estrutura química de Sc-12.....	226
Figura 152 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.	229
Figura 153 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.	230
Figura 154 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12..	231
Figura 155 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12..	232
Figura 156 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12.....	233
Figura 157 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12.	234
Figura 158 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-12.....	235
Figura 159 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.	236
Figura 160 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.	237
Figura 161 –Estrutura química de Sc-13.....	238
Figura 162 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.	242
Figura 163 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.	243

Figura 164 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13..	244
Figura 165 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13..	245
Figura 166 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13..	246
Figura 167 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.	247
Figura 168 - Espectro de ^{13}C -DEPT 135 (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.....	248
Figura 169 – Espectros de massas (CI(+)-MS) de Sc-13.....	249
Figura 170 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC-DEPT (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.	250
Figura 171 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.	251
Figura 172 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.	252
Figura 173 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.	253
Figura 174 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.....	254
Figura 175 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.	255
Figura 176 – Estrutura química de Sc-14.....	257
Figura 177 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.	261
Figura 178 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.	262
Figura 179 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14..	263
Figura 180 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14..	264
Figura 181 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14..	265
Figura 182 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-14.....	266
Figura 183 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-14.....	267
Figura 184 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.	268
Figura 185 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.	269
Figura 186 – Estrutura química de Sc-15.....	270
Figura 187 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.	273
Figura 188 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.	274
Figura 189 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15..	275

Figura 190 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15..	276
Figura 191 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15..	277
Figura 192 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-15.....	278
Figura 193 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-15.....	279
Figura 194 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.	280
Figura 195 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.....	281
Figura 196 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.....	282
Figura 197 – Estrutura química de Sc-16.....	283
Figura 198 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.	287
Figura 199 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.	288
Figura 200 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16..	289
Figura 201 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16..	290
Figura 202 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16..	291
Figura 203 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16..	292
Figura 204 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16.....	293
Figura 205 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.	294
Figura 206 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.	295
Figura 207 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.....	296
Figura 208 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.....	297
Figura 209 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-16.....	298
Figura 210 – Estrutura química de Sc-17	301
Figura 211 - Espectro de massas (ESI(+)-MS) de Sc-17	304
Figura 212 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.	307
Figura 213 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17..	308
Figura 214 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.	309
Figura 215 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17..	310
Figura 216 – Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.	311

Figura 217 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17.....	312
Figura 218 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17. ...	313
Figura 219 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.	314
Figura 220 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.	315
Figura 221 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.....	316
Figura 222 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.....	317
Figura 223 – Comparação dos esqueletos dos diterpenos Sc-18, Sc-6 e Sc-12. ...	320
Figura 224 – Estrutura química de Sc-18.....	320
Figura 225 - Espectro de massas de Sc-18.	323
Figura 226 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.	325
Figura 227 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.	326
Figura 228 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18..	327
Figura 229 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18..	328
Figura 230 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18..	329
Figura 231 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18..	330
Figura 232 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18.....	331
Figura 233 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18.	332
Figura 234 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.	333
Figura 235 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.	334
Figura 236 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.....	335
Figura 237 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.....	336

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico do extrato CH₂Cl₂/MeOH de *Gracilaria caudata*.52
- Quadro 2 - Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fração 5 de *Gracilaria caudata*.52
- Quadro 3 – Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico do extrato CH₂Cl₂:MeOH de *Sphaerococcus coronopifolius*.63

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Obtenção e fracionamento cromatográfico do extrato CH ₂ Cl ₂ /MeOH de <i>Gracilaria caudata</i>	51
Esquema 2 - Obtenção e fracionamento cromatográfico das frações VI, VII, VIII e IX de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	58
Esquema 3 - Obtenção e fracionamento cromatográfico da fração XIV de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	59
Esquema 4 - Fracionamento cromatográfico da fração P49C de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	60
Esquema 5 - Fracionamento cromatográfico da fração P7C de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	61
Esquema 6 - Fracionamento cromatográfico da fração PE de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	62
Esquema 7 – Proposta de estrutura para os fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-1.....	104
Esquema 8 – Proposição de fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-2.....	120
Esquema 9 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-6.	157
Esquema 10 – Proposta biogenética para os diterpenos Sc-11a, Sc-12, Sc-13 e Sc-14 a partir de Sc-3 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c).	258
Esquema 11 - Proposta de origem biogenética para Sc-7 e Sc-15 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009).....	271
Esquema 12 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-17	305
Esquema 13 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-18.	324

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química de quatro espécies de <i>Gracilaria</i> (<i>G. birdiae</i> , <i>G. caudata</i> , <i>G. cerviconis</i> , <i>G. domingensis</i>) baseada na análise de seus ésteres metílicos de ácidos graxos totais.....	68
Tabela 2 – Hidrocarbonetos identificados na fração 1 do extrato de <i>G. caudata</i> e sua abundância relativa (%).	73
Tabela 3 - Principais sinais observados no espectro de RMN ^1H (CDCl_3) de Gc-2. .	78
Tabela 4 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-1 com modelo Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) da literatura (DE ROSA et al., 1988).	94
Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.	107
Tabela 6 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.	123
Tabela 7 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-4 com modelo Mo-4 (δ , CDCl_3 , 500 e 62,9 MHz) da literatura (CAFIERI et al., 1984).	136
Tabela 8 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-5 com modelo Mo-5 (δ , CDCl_3) da literatura (GUELLA, G.; PIETRA, F., 2000).	144
Tabela 9 - Dados de RMN de ^1H , NOESY, HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6.	154
Tabela 10 – Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6 e Mo-6 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c, mesmas condições experimentais).	155
Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , C_6D_6 , 100 MHz) de Sc-7 comparados com Mo-7 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009).	169
Tabela 12 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8a e Mo-8a (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a) (mesmas condições experimentais).	179
Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8b e Mo-8b (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008b) (mesmas condições experimentais).	180
Tabela 14 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-9 e Sc-3.	187

Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) uni bidimensionais de Sc-9.	189
Tabela 16 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensionais de Sc-10.	202
Tabela 17 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10 e Sc-9.	203
Tabela 18 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11a e Mo-11a (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) (mesmas condições experimentais).	219
Tabela 19 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11b e Mo-11b (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) (mesmas condições experimentais).	220
Tabela 20 - Comparação dos dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12 e Sc-6.	227
Tabela 21 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , 400 MHz) e ^{13}C (δ , 100 MHz) de Sc-13 e Sc-10.	239
Tabela 22 – Dados espectrais de RMN de ^1H (δ , 400 MHz) e ^{13}C (δ , 100 MHz) uni e bidimensionais de Sc-13.	241
Tabela 23 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-14 e Sc-13.	259
Tabela 24 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-15.	272
Tabela 25 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16 e Sc-14.	284
Tabela 26 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16.	286
Tabela 27 - Dados comparativos de de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17 e Sc-2.	302
Tabela 28 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensinais de Sc-17.	303
Tabela 29 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18 e Sc-6.	321

Tabela 30 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensionais de Sc-18.	322
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, FÓRMULAS E UNIDADES

acetil CoA: Acetil Coenzima A

AcOEt: Acetato de etila

C_6D_6 : Benzeno deuterado

c-hex: Ciclo-hexano

c-hexano: Ciclo-hexano

Ca: Cálcio

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCV: Cromatografia em coluna a vácuo

$CDCl_3$: clorofórmio deuterado

CG-EM: Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massas

CH_2Cl_2 : diclorometano

CI-MS: Espectrometria de massas com ionização química

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CL_{50} : Concentração letal média

COSY: Correlation Spectroscopy

d: duplete

d.C.: depois de Cristo

dd: duplo duplete

ddd: duplo duplete dobrado

ddt: duplo tripleto dobrado

dddd: duplo duplo duplete dobrado

dddt: duplo duplo tripleto triplo

DEP: Probe de Exposição Direta

DEPT-135: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

dhept: duplo hepteto

dl: dupleteo largo

dm: duplo multipleteo

dq: duplo quarteto

dt: duplo tripleteo

δ : Deslocamento químico em ppm

EI-MS: Espectrometria de massas com impacto eletrnico

ESI-MS: Espectrometria de massas com ionizao por spray de elétrons

eV: elétron volts

H₂SO₄: cido sulfúrico

hept: hepteto

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

Hz: Hertz

i-PrOH: isopropanol

J: Constante de acoplamento

K: potssio

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: multipleteo

MeCN: acetonitrila

MeOH: metanol

MHz: megahertz

min: minuto

Mn: mangans

mult: multiplicidade

m/z: relao massa/carga

µg: micrograma

µm: micrômetro

NAPRALERT: Natural Products Alert

NIST/NBS: National Institute of Standards and Technology / National Bureau of Standards

nm: nanômetro

NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

PDEE: Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior

PgPNSB: Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

ppm: partes por milhão

ppt: precipitado

ql: quarteto largo

Rf: Fatores de retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RT: Tempo de retenção

s: simpleto

sl: simpleto largo

tl: tripleto largo

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

u.m.a.: unidades de massa atômica

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	30
1.1 A natureza como fonte de substâncias bioativas e a importância das algas neste contexto.....	30
1.2 Considerações sobre a família Gracilariaceae	33
1.3 Considerações sobre o gênero <i>Gracilaria</i> Greville 1830	33
1.4 Considerações sobre a espécie <i>Gracilaria birdiae</i> Plastino & Oliveira	35
1.5 Considerações sobre a espécie <i>Gracilaria caudata</i> J. Agardh	36
1.6 Considerações sobre a espécie <i>Gracilaria cervicornis</i> (Turner) J. Agardh.....	38
1.7 Considerações sobre a espécie <i>Gracilaria domingensis</i> (Kuetz.) Sonder ex Dickie	38
1.8 Considerações sobre a família Sphaerococcaceae	39
1.9 Considerações sobre o gênero <i>Sphaerococcus</i> Stackhouse 1797	40
1.10 Considerações sobre a espécie <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> Stackhouse 1797	40
2 OBJETIVOS	44
2.1 Geral.....	44
2.2 Específicos	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 Procedimentos Gerais	46
3.1.1 Levantamento bibliográfico.....	46
3.1.2 Isolamento e Purificação das substâncias.....	46
3.1.2.1 Técnicas cromatográficas utilizadas.....	46
3.1.3 Caracterização estrutural das substâncias.....	47
3.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear	48
3.1.3.2 Espectrometria de Massas	48
3.1.3.3 Atividade Óptica	48
3.2 Análise da constituição química das algas <i>Gracilaria birdiae</i> , <i>Gracilaria caudata</i> , <i>Gracilaria cervicornis</i> e <i>Gracilaria domingensis</i>	48
3.2.1 Coleta do Material Vegetal	48
3.2.2 Processamento das Algas.....	49
3.2.3 Obtenção dos Extratos CH ₂ Cl ₂ /MeOH	49
3.3 Análise e caracterização dos ésteres metílicos de ácidos graxos totais de <i>G. birdiae</i> , <i>G. caudata</i> , <i>G. cervicornis</i> e <i>G. domingensis</i>	49
3.3.1 Hidrólise e metilação dos extratos CH ₂ Cl ₂ /MeOH das espécies de <i>Gracilaria</i> ..	49
3.4 Isolamento e Purificação de substâncias de <i>Gracilaria caudata</i>	50

3.4.1 Fracionamento cromatográfico do extrato CH ₂ Cl ₂ /MeOH de <i>Gracilaria caudata</i>	50
3.5 Análise da constituição química da espécie <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	53
3.5.1 Coleta do Material Vegetal	53
3.5.2 Processamento da Alga	53
3.5.3 Obtenção do Extrato CH ₂ Cl ₂ /MeOH	53
3.6 Isolamento e purificação de substâncias de <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	53
3.6.1 Fracionamento cromatográfico do extrato CH ₂ Cl ₂ /MeOH de <i>S. coronopifolius</i>	53

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....65

4.1 Análise e Caracterização dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos Totais de <i>Gracilaria birdiae</i> , <i>Gracilaria caudata</i> , <i>Gracilaria cervicornis</i> e <i>Gracilaria domingensis</i>	66
4.2 Substâncias da alga <i>Gracilaria caudata</i>	73
4.2.1 Identificação da fração 1	73
4.2.2 Identificação da fração 8-9 (Gc-1)	75
4.2.3 Identificação da fração 4 (Gc-2)	78
4.3 Substâncias da alga <i>Sphaerococcus coronopifolius</i>	81
4.3.1 Identificação estrutural de Sc-1	93
4.3.2 Identificação estrutural de Sc-2	105
4.3.3 Identificação estrutural de Sc-3	122
4.3.4 Identificação estrutural de Sc-4	135
4.3.5 Identificação estrutural de Sc-5	142
4.3.6 Identificação estrutural de Sc-6	151
4.3.7 Identificação estrutural de Sc-7	168
4.3.8 Identificação estrutural de Sc-8	178
4.3.9 Identificação estrutural de Sc-9	186
4.3.10 Identificação estrutural de Sc-10	201
4.3.11 Identificação estrutural de Sc-11	218
4.3.12 Identificação estrutural de Sc-12	226
4.3.13 Identificação estrutural de Sc-13	238
4.3.14 Identificação estrutural de Sc-14	256
4.3.15 Identificação estrutural de Sc-15	270
4.3.16 Identificação estrutural de Sc-16	283
4.3.17 Identificação estrutural de Sc-17	299
4.3.18 Identificação estrutural de Sc-18	318

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS338

6 CONCLUSÕES340

7 REFERÊNCIAS342

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 A natureza como fonte de substâncias bioativas e a importância das algas neste contexto

A natureza tem provido a humanidade com insumis há séculos e continua a ser a mais rica fonte de produtos químicos bioativos para o desenvolvimento de drogas modernas. Plantas terrestres, em particular, foram utilizadas como base de sofisticadas Farmacopeias tradicionais já a partir de 2600 a.C., e algumas das primeiras documentações vêm de inscrições da Mesopotâmia. Registros dos antigos egípcios e chineses mostram que as plantas eram utilizadas para a preparação de centenas de medicamentos, abrangendo uma gama impressionante de problemas de saúde e doenças. No mundo antigo ocidental, o filósofo e naturalista Teofrasto (~300 a.C.) compilou em seus nove livros intitulados *História das Plantas* as características botânicas e propriedades medicinais das ervas. No ano 100 d.C., o médico Dioscorides, seguindo os exércitos romanos, desenvolveu e gravou uma grande variedade de receitas e fórmulas complexas utilizando ervas medicinais (IOANNOU; ROUSSIS, 2009).

Evidentemente, a natureza continuará sendo, por muito tempo, uma abundante fonte de novas substâncias bioativas, tendo em vista que, até agora, apenas 5 a 15% das cerca de 250.000 espécies de plantas superiores foram sistematicamente estudadas (IOANNOU; ROUSSIS, 2009).

A vida surgiu no mar há cerca de 3,5 bilhões de anos e seus habitantes constituem o sistema mais diversificado do planeta (BRASIL, 2010). A biota marinha, apesar dos oceanos cobrirem dois terços da superfície da terra, continua a ser uma fonte quase inexplorada de substâncias novas e importantes (IOANNOU; ROUSSIS, 2009). Desde o fim da II Guerra Mundial, o mar tem despertado o interesse dos biólogos, oceanógrafos, bioquímicos e químicos sobre o seu potencial biotecnológico (BRASIL, 2010). O início efetivo de investigações foi, todavia, retardado devido a dificuldades de coleta. Os avanços em mergulho autônomo e o desenvolvimento de equipamentos para coleta em maiores profundidades,

associados às novas técnicas cromatográficas, espectroscópicas, de cultivo, dentre outras, resultaram no seu desenvolvimento a partir dos anos 70 (BRASIL, 2010).

No que concerne a bioprodutos, tendências recentes na pesquisa de drogas a partir de fontes naturais sugerem que as algas são um grupo promissor no fornecimento de novas substâncias bioativas (IOANNOU; ROUSSIS, 2009; OLIVEIRA et al., 2009).

As algas têm proporcionado o maior número de substâncias dentro de um único grupo de organismos marinhos e estão dentre os primeiros quimicamente analisados, com mais de 3600 artigos publicados descrevendo 3300 metabólitos secundários, e ainda continuam a ser uma fonte quase inesgotável de novos compostos bioativos (IOANNOU; ROUSSIS, 2009).

As algas vermelhas ou rodofíceas, quando comparadas com outras classes de algas, são consideradas a fonte mais importante de muitos metabólitos biologicamente ativos. Existem aproximadamente 8000 espécies de algas vermelhas, a maioria das quais são de origem marinha. Estas são encontradas na região entremarés e no infralitoral até profundidades de até 40 ou, ocasionalmente, a 250 m (GAMAL, 2010).

As macroalgas marinhas sintetizam produtos com um amplo espectro de atividades biológicas, principalmente os representantes de mares tropicais e subtropicais, como é o caso da costa brasileira, sendo, portanto, muito relevante o seu estudo químico (TEIXEIRA et al., 1991).

O litoral brasileiro possui uma extensão de 8698 km de costa (BRASIL, 2010), onde se pode destacar uma diversidade marinha excepcional e praticamente desconhecida (SOUZA et al., 2011) no que tange à quimiotaxonomia e farmacologia dos seus indivíduos quando comparados ao conhecimento da nossa flora terrestre.

No Nordeste do Brasil, as algas são abundantes, facilmente coletadas e tratadas, sendo utilizadas principalmente como biomassa para o tratamento de efluentes industriais (OLIVEIRA et al., 2009).

A manutenção e melhoria da qualidade de vida, principalmente em países em desenvolvimento e regiões pobres que enfrentam sérios problemas com as secas, como no Nordeste do Brasil, motivam a busca por novas substâncias extraíveis de

recursos naturais renováveis (OLIVEIRA et al., 2009). Tendo em vista a disponibilidade e a diversidade da nossa biomassa, torna-se imperativo que estudos prospectivos sejam realizados, objetivando a identificação de potenciais compostos oriundos de macroalgas marinhas.

Reconhecendo a importância das algas no que tange a produção de substâncias das mais variadas classes, o potencial terapêutico destes indivíduos marinhos e a riqueza da nossa flora marinha, o grupo do Programa de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB) buscou, também nas algas, a possibilidade da descoberta de novos fármacos, ou protótipos para estes através da extração, isolamento e caracterização estrutural de suas substâncias, empregando, para tanto, métodos extrativos, cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente. O estudo dos organismos marinhos caracteriza-se como uma nova linha de pesquisa no PgPNSB.

Portanto, com base nessas premissas, as espécies de rodofíceas *Gracilaria birdiae* Plastino & Oliveira, *Gracilaria caudata* J. Agardh, *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh e *Gracilaria domingensis* (Kuetz.) Sonder ex Dickie (família Gracilariaceae) coletadas no litoral paraibano foram alvos do nosso interesse científico com o objetivo de conhecer seus princípios ativos, através de um estudo químico pioneiro e criterioso que é base essencial para o direcionamento de estudos farmacológicos, considerando-se que, na literatura científica, são quase inexistentes quaisquer dados químicos ou farmacológicos no que tange aos seus estudos.

Somou-se a esta pesquisa uma colaboração com o Professor Dr. Vassilios Roussis da Universidade de Atenas (Grécia), por intermédio do Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior (PDEE/CAPES). Através desta parceria realizou-se também o estudo químico da alga vermelha *Sphaerococcus coronopifolius* Stackhouse 1797 (família Sphaerococcaceae) coletada no mar Jônico (Grécia), tendo em vista que esta espécie foi alvo de investigações químicas prévias com excelentes resultados, onde dois diterpenos (Bromosphaerol e Sphaerococcenol A) são responsáveis por cerca de um terço do rendimento de seu extrato orgânico, sendo que o segundo apresentou uma potente atividade antitumoral (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a). A espécie *S. coronopifolius* é também considerada uma fonte prolífica incomum de uma extensa variedade de

diterpenos interessantes, incentivando, desta maneira, a busca pelo isolamento de novas substâncias e re-isolamento de outras com vistas à obtenção de material para a realização de testes biológicos.

1.2 Considerações sobre a família Gracilariaceae

A família Gracilariaceae (Rodophyta) pertence à ordem Gracilariales e é composta por cerca de 9 gêneros e 224 espécies (ALGAEBASE, 2011; GUIRY, 2011a).

1.3 Considerações sobre o gênero *Gracilaria* Greville 1830

Gracilaria Greville 1830 é um dos gêneros que possui o maior número de espécies na família Gracilariaceae (Rhodophyta), (MACIEL et al., 2008; FREILE-PELEGRIN; MURANO, 2005) sendo um dos mais bem representados dentre as algas vermelhas (BELLORIN et al., 2002) com mais de 150 espécies descritas, muitas delas pouco conhecidas e com distribuições muito limitadas (GUIRY, 2011b).

O gênero *Gracilaria* distribui-se na maior parte dos mares tropicais e temperados do mundo (MACIEL et al. 2008; FREILE-PELEGRIN; MURANO, 2005; OLIVEIRA; PLASTINO, 1994) (Figura 1, p. 34) e é considerado uma fonte importante de ágar mundial (CARDOZO et al., 2011; GAMAL, 2010; MACIEL et al., 2008; FREILE-PELEGRIN; MURANO, 2005; OLIVEIRA et al., 2000) que tem aumentado significativamente nas últimas décadas (BEZERRA; MARINHO-SORIANO, 2010). As algas gracilarioides incluem alguns dos mais valiosos organismos marinhos (BELLORIN et al., 2002), sendo economicamente exploradas pelas indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia (CARDOZO et al., 2011; TONON et al., 2011).

Espécies de algas vermelhas do gênero *Gracilaria* ocorrem naturalmente ao longo do litoral brasileiro (TONON et al., 2011; GRESSLER et al., 2010; MARINHO-SORIANO et al., 2009) e são abundantes nas áreas litorâneas do Nordeste (MARINHO-SORIANO et al., 2007).

Almeida et al. (2011) relatam que extratos de algas do gênero *Gracilaria* têm apresentado importantes atividades biológicas, tais como antibacteriana, antiviral,

antifúngica, anti-hipertensiva, citotóxica, espermicida, embriotóxica e anti-inflamatória.

Oliveira e colaboradores, 2009 avaliaram as espécies *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cervicornis* e *G. domingensis* coletadas na costa do Ceará, Nordeste do Brasil, quanto a seus atributos nutritivos e não nutritivos, além do seu grau de contaminação por poluentes, a fim de se verificar sua viabilidade como alimento para seres humanos e/ou animais. Esta análise concluiu que a refeição com as referidas algas mostra fatores antinutrientes e/ou tóxicos que podem contribuir para a redução da sua qualidade nutricional. Desta forma, essas algas não são apropriadas para o consumo humano devido à contaminação por metais tóxicos e porque, mesmo depois do tratamento térmico, elas mostram atividade inibidora de tripsina. Apesar das limitações nutricionais e tóxicas, essas algas são fontes potenciais de nutrientes e, portanto, mais estudos são necessários para garantir a sua utilização segura para consumo humano e animal.

Figura 1 - Distribuição mundial do gênero *Gracilaria*.



Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Gracilaria>

1.4 Considerações sobre a espécie *Gracilaria birdiae* Plastino & Oliveira

A espécie *Gracilaria birdiae* habita substratos rochosos intertidais ou subtidais (GUIRY, GUIRY, 2011a). Ela distribui-se basicamente no Brasil (América do Sul), conforme mostra a Figura 2 (p. 36).

No Brasil, *G. birdiae* é uma das espécies exploradas comercialmente pelas comunidades pesqueiras e a colheita excessiva de algas do gênero tem tido consequências negativas sobre a sustentabilidade deste recurso natural (BEZERRA, MARINHO-SORIANO, 2010).

No que concerne a sua composição, *G. birdiae* parece ser potencial fonte de proteínas dietéticas, aminoácidos, lipídios e ácidos graxos essenciais para humanos e animais (GRESSLER et al., 2010). O elemento químico manganês (Mn) foi encontrado em alta concentração nesta espécie (TONON et al., 2011).

Cardozo et al. (2011) revelaram que *G. birdiae* é importante fonte com bom rendimento de compostos fotoprotetores.

Souza e colaboradores, 2011 investigaram as propriedades antioxidantes dos extratos etanólico e metanólico de *G. birdiae* coletada na costa Atlântica nordeste do Brasil (Ceará) e concluíram que a referida alga pode ser utilizada como fonte de antioxidantes naturais.

Figura 2 - Distribuição da espécie *Gracilaria birdiae*.



Fonte: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=62160

1.5 Considerações sobre a espécie *Gracilaria caudata* J. Agardh

Gracilaria caudata é uma das espécies mais comuns em regiões tropicais e subtropicais do Oceano Atlântico (CHOW et al., 2007). Distribui-se na América do Norte, Ilhas Caribenhas e América do Sul (incluindo o Brasil) (GUIRY, GUIRY, 2011b) como mostra a Figura 3 (p. 37). É uma alga que cresce naturalmente ao longo da costa brasileira, em especial no Nordeste, onde são recolhidas e vendidas por pescadores para extração de ágar (MARINHO-SORIANO et al., 2011; MARINHO-SORIANO et al., 2009).

Neves e colaboradores, 2001 relataram que a lectina obtida de *G. caudata* induziu a migração de neutrófilos *in vivo* e *in vitro*, sendo observada também uma máxima quimiotaxia de neutrófilos humanos.

Foi demonstrada atividade anti-tricomona moderada de *G. caudata* coletada no Golfo do México e Caribe (MOO-PUC et al., 2008).

A espécie coletada no Estado do Ceará (Brasil) já foi estudada quanto à ocorrência de compostos carotenoides provitamina A e vitamina E em sua

composição, sendo detectados β -caroteno e vitamina A (retinol equivalente) (SOUSA et al., 2008).

Costa e colaboradores, 2010 extraíram polissacarídeos sulfatados de *G. caudata* coletada no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil) para análise de atividades biológicas, sendo constatado que a referida alga possui atividade antioxidante nos ensaios de capacidade antioxidante total, sequestrador radicalar, atividade quelante de ferro e poder redutor, e também apresentou atividade antiproliferativa dose-dependente. Importante salientar que os autores destacaram que esta era a única alga do estudo utilizada na alimentação da população local.

Estudos realizados por Marinho-Soriano et al. (2011) mostraram que o uso de *G. caudata* como biofiltro tem o potencial de ser uma prática ecologicamente correta e pode contribuir para a melhoria da qualidade da água de regiões costeiras.

Figura 3 - Distribuição da espécie *Gracilaria caudata*.



(Fonte: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=11081)

1.6 Considerações sobre a espécie *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh

A espécie *Gracilaria cervicornis* distribuiu-se pela Europa, Ilhas Atlânticas, América do Norte, América Central, Ilhas Caribenhas, América do Sul, África e Ilhas do Oceano Índico (GUIRY, GUIRY, 2011c) conforme mostra a Figura 4.

Carneiro et al. (2011) verificaram que esta espécie apresenta uma boa capacidade de absorção de nutrientes.

Figura 4 - Distribuição da espécie *Gracilaria cervicornis*.



Fonte: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=679

1.7 Considerações sobre a espécie *Gracilaria domingensis* (Kuetz.) Sonder ex Dickie

A Figura 5 (p. 39) exibe a distribuição da espécie *Gracilaria domingensis* na América Central, Ilhas Caribenhas e América do Sul (GUIRY, GUIRY, 2011d).

Nunes (2005) citado por Schmidt (2010) relata que *G. domingensis* está também distribuída ao longo do litoral brasileiro desde o Estado do Maranhão até o Estado de Santa Catarina, Brasil.

A julgar pela sua composição, *G. domingensis* parece ser potencial fonte de proteínas dietéticas, aminoácidos, lipídeos e ácidos graxos essenciais para humanos e animais (GRESSLER et al., 2010). Os elementos químicos cálcio (Ca) e potássio (K) foram encontrados em altas concentrações nesta espécie (TONON et al., 2011).

Lhullier et al. (2006) verificaram que o extrato etanólico de *G. domingensis* apresentou alta toxicidade ($CL_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$).

Cardozo et al. (2011) revelaram que *G. domingensis* é importante fonte com bom rendimento de compostos fotoprotetores.

Figura 5 - Distribuição da espécie *Gracilaria domingensis*.



Fonte: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=11088

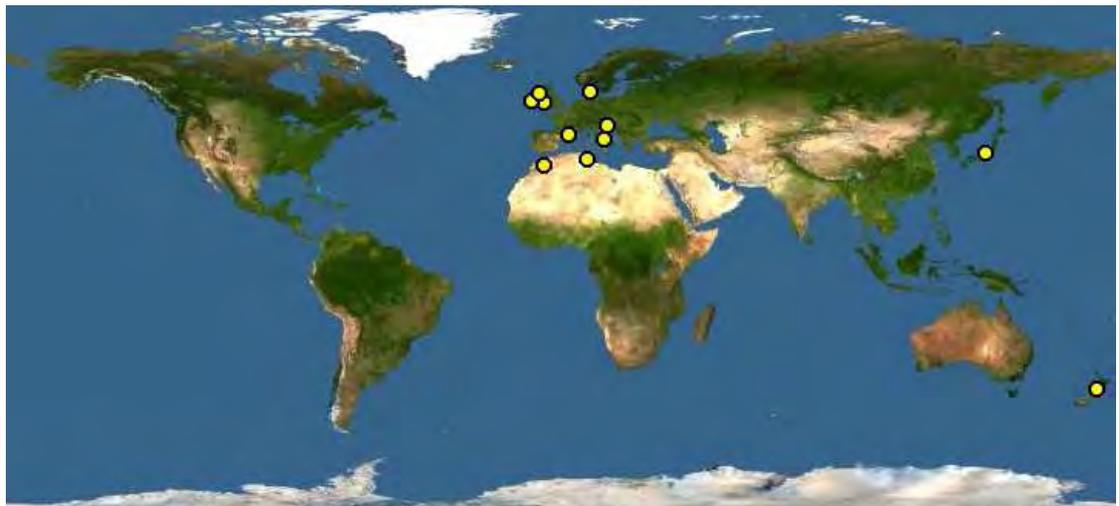
1.8 Considerações sobre a família Sphaerococcaceae

A família Sphaerococcaceae (Rodophyta) pertence à ordem Gigartinales e compreende um único gênero: *Sphaerococcus* Stackhouse 1797 (GUIRY, 2011c).

1.9 Considerações sobre o gênero *Sphaerococcus* Stackhouse 1797

O gênero *Sphaerococcus* é representado por 5 espécies distribuídas no Atlântico oriental, das Ilhas Britânicas até as Ilhas Canárias e no Mar Mediterrâneo e Mar Negro (GUIRY, 2011d). A Figura 6 mostra sua distribuição mundial.

Figura 6 - Distribuição do gênero *Sphaerococcus*.



Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Sphaerococcus>

1.10 Considerações sobre a espécie *Sphaerococcus coronopifolius* Stackhouse 1797

A espécie *Sphaerococcus coronopifolius* (Figura 7, p. 41) cresce normalmente em rochas de áreas rasas (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) e distribui-se na Irlanda, Europa, Ilhas Atlânticas, África e Sudoeste da Ásia (GUIRY, GUIRY, 2011e) de acordo com a Figura 8 (p. 41).

Figura 7 - Espécie *Sphaerococcus coronopifolius*.



Fonte: http://www.algaebase.org/_mediafiles/algaebase/3EE735B10772e009F9uUm304DE4C/kPbfKn8ow9rc.jpg

Figura 8 - Distribuição da espécie *Sphaerococcus coronopifolius*.



Fonte: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=123

Há diversas investigações químicas sobre a espécie *S. coronopifolius* coletada no mar Jônico (Grécia) que apontam a mesma como uma excelente fonte de diterpenos halogenados ou não-halogenados (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009) os quais apresentam também

importantes atividades, tais como antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008b; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010b; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c), citotóxica contra linhagens celulares NSCLC-N6-L16 e A549 de carcinoma pulmonar humano (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a), e antitumoral contra quatro linhagens celulares de carcinoma humano resistentes à apoptose (U373, A549, SKMEL-28, OE21) e duas sensíveis à apoptose (PC-3, LoVo) (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a).

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Contribuir para o conhecimento químico das espécies de algas marinhas rodofíceas selecionadas no litoral paraibano, pertencentes à família Gracilariaceae, *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis* bem como da espécie do mar Jônico (Grécia) *Sphaerococcus coronopifolius* (família Sphaerococcaceae), através da extração, isolamento, purificação e caracterização estrutural de metabólitos secundários encontrados nas referidas espécies.

2.2 Específicos

- Analisar e caracterizar os ácidos graxos e ésteres metílicos das espécies *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cervicornis* e *G. domingensis* através de Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM);
- Isolar e purificar substâncias das espécies em estudo, através de métodos cromatográficos adequados;
- Caracterizar estruturalmente as substâncias isoladas utilizando-se para este fim métodos espectroscópicos convencionais, com técnicas uni e bidimensionais;
- Disponibilizar os extratos, frações, substâncias isoladas e caracterizadas estruturalmente para a realização de testes farmacológicos.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos Gerais

3.1.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico das espécies de algas foi realizado em todo o decorrer do estudo, utilizando-se como ferramentas os seguintes bancos de dados: Chemical Abstracts, Biological Abstracts, NAPRALERT (Natural Products Alert) e Web of Science, bem como outros bancos de dados disponíveis na Internet, e em anais de eventos nacionais e internacionais.

3.1.2 Isolamento e Purificação das substâncias

O isolamento, purificação e análise das substâncias foram realizados através de técnicas cromatográficas.

3.1.2.1 Técnicas cromatográficas utilizadas

As separações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 H Art. 7734 (Merck), tendo como suportes colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Solventes comerciais redistilados no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF/UFPB) e/ou no Departamento de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais (Universidade de Atenas) foram utilizados como fase móvel. As separações por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram realizadas utilizando-se uma bomba de cromatografia líquida modelo Cecil 1100 Series equipada com um detector de índice de refração, usando uma coluna de fase normal Econoshpere Silica 10u (Grace, 25 cm x 10 mm), ou uma bomba de cromatografia líquida modelo Agilent 1100 equipada com um detector de índice de refração e utilizando uma coluna de fase reversa Kromasil 100 C18 (250 mm x 8 mm), ou uma bomba de cromatografia líquida modelo Shodex equipada com um detector de índice de refração, utilizando para tanto uma coluna de fase normal Kromasil 100 SIL (250 mm x 8 mm). A Cromatografia em Camada Delgada Analítica

(CCDA) foi realizada com placas de sílica gel 60 F₂₅₄ com suporte de alumínio (Merck) visando à análise e reunião das frações obtidas pelos métodos de separações citados anteriormente. As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e após a pulverização com reagente 15% H₂SO₄ em metanol e aquecimento a 100°C durante 1 minuto. As análises em Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM) ocorreram utilizando-se um sistema de CG-EM Hewlett-Packard 5973-6890 operando no modo de impacto de elétrons a 70 eV, equipado com um injetor split-splitless e um detector de ionização de chama. A injeção foi realizada a 200 °C em uma razão de separação 1:10, enquanto a detecção foi realizada a 250 °C. A coluna empregada para análise foi uma coluna capilar de sílica fundida HP-5 MS (30 m x 0,25 mm; espessura do filme 0,25 µm). O gás de arraste, na referida cromatografia, foi o hélio a uma vazão de 2 mL/min. A temperatura do forno foi de 60 °C no momento da injeção, elevada para 300 °C a uma taxa de 3 °C/min e, posteriormente, mantido a 300 °C por 10 min. As concentrações relativas dos componentes foram calculadas a partir de cromatogramas de íons totais através de um integrador computadorizado. A identificação das substâncias foi baseada na comparação de seus tempos de retenção e espectros de massas com aqueles obtidos de amostras autênticas (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA) e/ou relatados no NIST/NBS, nas bibliotecas Wiley e na literatura (ADAMS, 2001).

O critério de pureza adotado para as substâncias isoladas foi a visualização, através do UV, de uma única mancha após eluição das placas analíticas em, no mínimo, três sistemas de eluentes diferentes, além da observação de seus espectros.

3.1.3 Caracterização estrutural das substâncias

A caracterização estrutural das substâncias isoladas de *Gracilaria caudata* e *Sphaerococcus coronopifolius* foi realizada analisando-se os espectros obtidos pelos métodos espectroscópicos de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono 13, utilizando técnicas uni e bidimensionais (COSY, HMQC, HMBC e NOESY) e Espectrometria de Massas, além de comparações com modelos da literatura. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos totais de *Gracilaria*

birdiae, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis*, *Gracilaria domingensis* foi possível através da análise dos cromatogramas obtidos em CG-EM.

3.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos em espectrômetros Bruker DRX a 400 MHz e 200 MHz (^1H) e 100 MHz e 50 MHz (^{13}C) do Departamento de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais (Universidade de Atenas), otimizado para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. Os deslocamentos químicos foram dados em uma escala de δ (ppm). Os solventes empregados foram CDCl_3 e C_6D_6 , cujos picos característicos em RMN ^1H e ^{13}C serviram como padrão interno durante a obtenção dos espectros.

3.1.3.2 Espectrometria de Massas

Os dados de espectrometria de massas de baixa resolução obtidos por ionização química foram registrados em um detector de massas Thermo DSQ utilizando Probe de Exposição Direta (DEP) e metano como gás de ionização química.

3.1.3.3 Atividade Óptica

Rotações ópticas foram medidas em um polarímetro Perkin-Elmer modelo 341 com uma célula de 10 cm.

3.2 Análise da constituição química das algas *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis*

3.2.1 Coleta do Material Vegetal

As espécies *G. birdiae*, *G. caudata*, e *G. domingensis* foram coletadas manualmente na Praia de Carapibus - Mediolitoral (longitude: -34.7983333333; latitude: -7.2994444444), município do Conde - PB, e a espécie *G. cervicornis* na Praia do Bessa – infralitoral (longitude: -34.8233333333; latitude: -7.0702777777), município de João Pessoa – PB, em novembro de 2009 pelo Prof. Dr. George Emmanuel Cavalcanti de Miranda, que realizou a identificação das mesmas. As

exsecatas das espécies encontram-se depositadas no Herbário Professor Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba sob os vouchers números JPB 46007, JPB 46006, JPB 46009 e JPB 46008, respectivamente (CRIA, 2011).

3.2.2 Processamento das Algas

Após coletadas, as algas foram lavadas com água fresca para eliminar materiais estranhos, tais como areia, conchas, etc. e, em seguida, foram secas ao ar, obtendo-se 2732 g (*G. birdiae*), 710 g (*G. caudata*), 2400 g (*G. cerviconis*) e 652 g (*G. domingensis*) de material seco.

3.2.3 Obtenção dos Extratos CH₂Cl₂/MeOH

As amostras secas de *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cerviconis* e *G. domingensis* foram submetidas à maceração durante 72 horas, utilizando-se como líquido extrator CH₂Cl₂/MeOH (3:1), sendo tal processo repetido exaustivamente, para extração dos constituintes químicos. Obtiveram-se, portanto, as soluções extrativas, que foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, resultando em 19,93 g (0,73 %), 9,4 g (1,32%), 20,63 g (0,86%) e 14,17 g (2,17%) de fase orgânica do extrato CH₂Cl₂/MeOH de *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cerviconis* e *G. domingensis*, respectivamente.

3.3 Análise e caracterização dos ésteres metílicos de ácidos graxos totais de *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cervicornis* e *G. domingensis*

3.3.1 Hidrólise e metilação dos extratos CH₂Cl₂/MeOH das espécies de *Gracilaria*

Uma alíquota de 500 mg do extrato de cada espécie foi convertida em ésteres metílicos de ácidos graxos através de uma reação de hidrólise mediante adição de 10 mL de metanol e 1 mL de ácido clorídrico sendo esta mistura aquecida a 70 °C, durante uma hora, sob agitação constante. A amostra foi, então, evaporada sob vácuo e submetida a uma partição líquido-líquido com água e acetato de etila, sendo a fração orgânica submetida à análise em CG-EM.

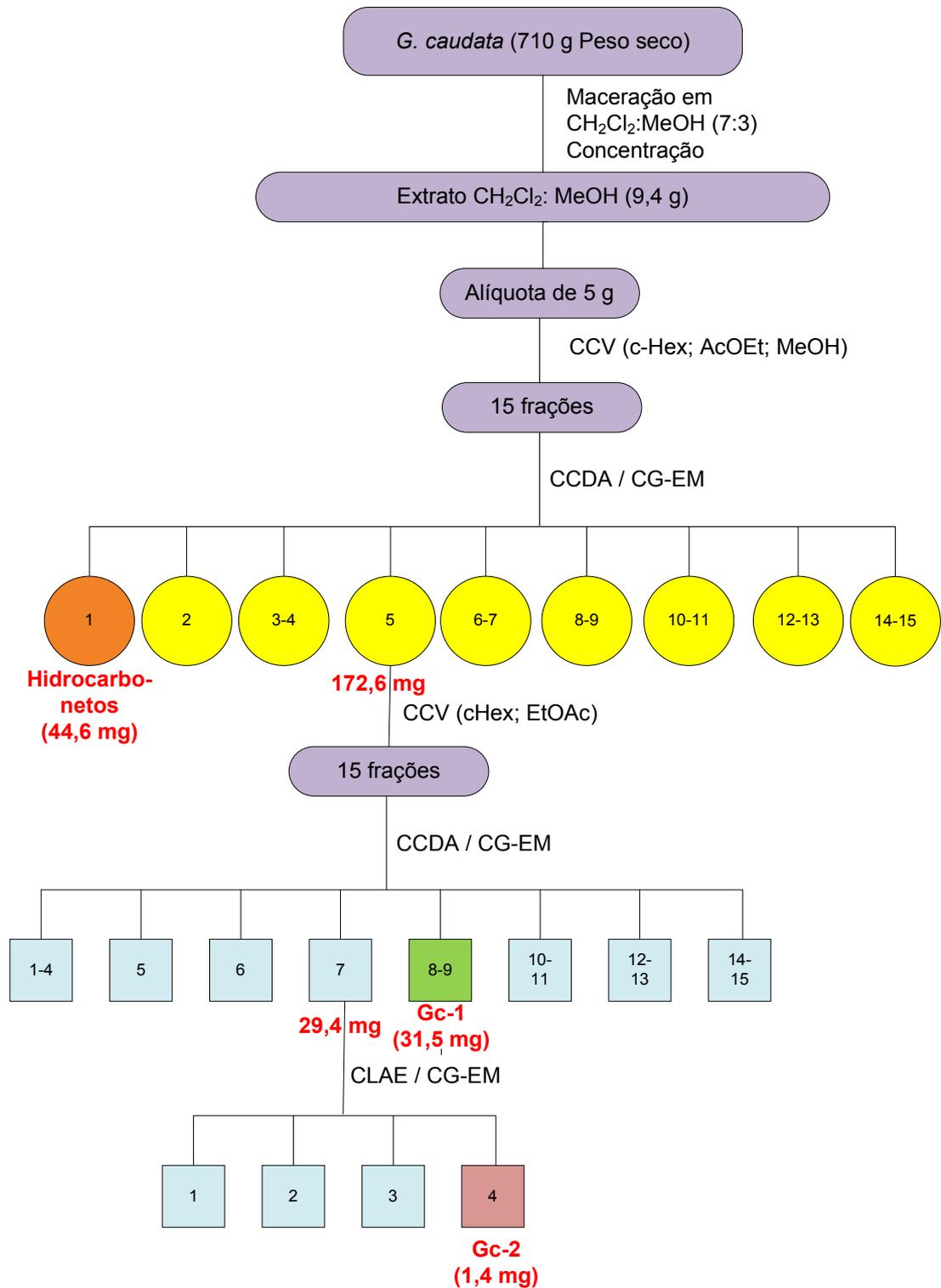
Os cromatogramas obtidos das espécies de *Gracilaria* (Figuras 9 a 12, p. 69 a 72) possibilitaram a identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes nas amostras bem como a determinação de sua abundância relativa (%).

3.4 Isolamento e Purificação de substâncias de *Gracilaria caudata*

3.4.1 Fracionamento cromatográfico do extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *Gracilaria caudata*

Os perfis observados nos espectros de RMN ^1H das algas do gênero *Gracilaria* mostraram-se bastante similares. Todavia, aquele apresentado por *G. caudata* indicou pequenas diferenças que permitiram escolher a mesma para um fracionamento prioritário. Portanto, o seu extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5 g) foi submetido à cromatografia em coluna a vácuo (CCV) em sílica gel, utilizando-se ciclo-hexano (c-hexano), acetato de etila (AcOEt), e metanol (MeOH) puros ou em misturas binárias como fase móvel, sendo coletadas 15 frações de 200 mL, concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f), resultando em nove frações (Esquema 1, p. 51; Quadro 1, p. 52). Mediante análise em CG-EM, a fração 1 (100% c-hexano, 44,6 mg) mostrou-se constituída por diversos hidrocarbonetos. A fração 5 (20% AcOEt em ciclo-hexano, 172,6 mg) foi novamente fracionada em cromatografia em coluna a vácuo em sílica gel, utilizando c-hexano com quantidades crescentes de AcOEt como fase móvel, obtendo-se 15 frações de 20 mL as quais foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus R_f , resultando em oito sub-frações (1-4 a 14-15) (Esquema 1, p. 51; Quadro 2, p. 52). Após análise dos espectros obtidos por RMN H^1 e CG-EM, a fração 8-9 (11% AcOEt em c-hexano, 31,5 mg) mostrou-se composta por uma substância majoritária que foi codificada como **Gc-1**. A fração 7 (8% AcOEt em c-hexano, 29,4 mg), por sua vez, foi submetida à CLAE em fase normal, utilizando-se c-hexano/AcOEt (90:10) como eluente, fornecendo quatro frações (Figura 18, p. 79). A análise dos espectros de RMN H^1 do pico 4 (tempo de retenção 31,21 min, 1,4 mg) possibilitou verificar que a fração apresentava-se pura sendo, então, codificada como **Gc-2** (Esquema 1, p. 51).

Esquema 1 - Obtenção e fracionamento cromatográfico do extrato CH₂Cl₂/MeOH de *Gracilaria caudata*.



Quadro 1 - Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico do extrato CH₂Cl₂/MeOH de *Gracilaria caudata*.

Eluente	Frações Obtidas	Frações Reunidas	Rendimentos
Hexano	1	1	44,6 mg (0,89%)
Hexano : AcOEt (95:5)	2	2	3,8 mg (0,08%)
Hexano : AcOEt (90:10)	3	3-4	656,8 mg (13,14%)
Hexano : AcOEt (85:15)	4		
Hexano : AcOEt (80:20)	5	5	172,6 mg (3,45%)
Hexano : AcOEt (75:25)	6	6-7	428,2 mg (8,56%)
Hexano : AcOEt (70:30)	7		
Hexano : AcOEt (65:35)	8	8-9	144,2 mg (2,88%)
Hexano : AcOEt (60:40)	9		
Hexano : AcOEt (55:45)	10	10-11	71,4 mg (1,43%)
Hexano : AcOEt (50:50)	11		
Hexano : AcOEt (25:75)	12	12-13	87,4 mg (1,75%)
AcOEt	13		
AcOEt : MeOH (90:10)	14	14-15	426,8 mg (8,54%)
MeOH	15		

Quadro 2 - Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico da fração 5 de *Gracilaria caudata*.

Eluente	Frações Obtidas	Frações Reunidas	Rendimentos
Hexano	1	1-4	0,6 mg (0,35%)
Hexano	2		
Hexano	3		
Hexano : AcOEt (98:2)	4		
Hexano : AcOEt (96:4)	5	5	36,3 mg (21,03%)
Hexano : AcOEt (94:6)	6	6	40,7 mg (23,58%)
Hexano : AcOEt (92:8)	7	7	29,4 mg (17,03%)
Hexano : AcOEt (90:10)	8	8-9	31,5 mg (18,25%)
Hexano : AcOEt (88:12)	9		
Hexano : AcOEt (86:14)	10	10-11	8,9 mg (5,16%)
Hexano : AcOEt (84:16)	11		
Hexano : AcOEt (82:18)	12	12-13	4,5 mg (2,61%)
Hexano : AcOEt (80:20)	13		
Hexano : AcOEt (75:25)	14	14-15	5 mg (2,90%)
Hexano : AcOEt (50:50)	15		

3.5 Análise da constituição química da espécie *Sphaerococcus coronopifolius*

3.5.1 Coleta do Material Vegetal

A espécie *S. coronopifolius* foi coletada através de mergulho na baía de Palaiokastritsa na costa Oeste da Ilha de Corfu, Grécia, em maio de 2002, a uma profundidade de 10 a 15 metros. Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário do Laboratório de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais da Universidade de Atenas com o código ATPH/MO/201.

3.5.2 Processamento da Alga

Após coleta, a alga foi lavada com água fresca para eliminar materiais estranhos, tais como areia, conchas, etc. e, em seguida, foi liofilizada, obtendo-se 275 g de amostra seca.

3.5.3 Obtenção do Extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$

A alga seca de *S. coronopifolius* foi submetida à maceração durante 72 horas a temperatura ambiente, utilizando-se como líquido extrator $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (2:1), sendo tal processo repetido exaustivamente, para extração dos constituintes químicos. Dessa extração, obteve-se a solução extrativa, que foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, resultando em 3 g de fase orgânica do extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ e 3,6 g de precipitado de *S. coronopifolius* (Esquema 2, p. 58).

3.6 Isolamento e purificação de substâncias de *Sphaerococcus coronopifolius*

3.6.1 Fracionamento cromatográfico do extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *S. coronopifolius*

O extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (3 g) de *S. coronopifolius* foi submetido à cromatografia em coluna a vácuo (CCV) em sílica gel, utilizando-se ciclo-hexano,

acetato de etila (AcOEt), e isopropanol (i-PrOH) puros ou em misturas binárias como fase móvel, sendo coletadas 91 frações de 50 mL, concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (Rf), resultando em 21 frações (Esquema 2, p. 58; Quadro 3, p. 63).

Mediante análise em RMN ^1H , a fração I (84,7 mg) (Esquema 2, p. 58) mostrou-se pura, sendo codificada como **Sc-1**.

A fração VI (14,2 mg) foi submetida à CLAE de fase reversa, utilizando-se MeOH como fase móvel. O pico VI.1 (tempo de retenção 9,40 min) (Esquema 2, p. 58; Figura 20, p. 81) forneceu uma substância pura (7,4 mg) denominada **Sc-2**.

Solubilizou-se a fração VII (730,9 mg) em MeOH, obtendo-se duas subfrações denominadas VIIM (123,7 mg) e VIIC (606,9 mg) (Esquema 2, p. 58), sendo que a última mostrou-se pura e idêntica à **Sc-2**, e a primeira foi submetida à CLAE de fase reversa, utilizando-se MeOH como fase móvel. Os picos VIIM.3, VIIM.7 e VIIM.9 (tempos de retenção 9,40 min, 12,80 min e 13,69 min, respectivamente) (Esquema 2, p. 58; Figura 21, p. 82) forneceram as substâncias codificadas como **Sc-2** (62,9 mg), **Sc-3** (24,7 mg) e **Sc-4** (11,5 mg), respectivamente. Os picos VIIM.4 (tempo de retenção 10,50 min, 2,2 mg), VIIM.5 (tempo de retenção 11,60 min, 2,5 mg) e VIIM.6 (tempo de retenção 12,25 min, 2,2 mg) foram recromatografados em CLAE de fase normal, utilizando-se como fase móvel 5% de AcOEt em ciclo-hexano (Esquema 2, p. 58). Obtiveram-se vários picos em cada cromatograma; porém, foi purificada apenas uma substância em cada processo cromatográfico, a saber: pico 3.4VIIM (tempo de retenção 20,55 min, 0,8 mg) (Figura 22, p. 82) denominado **Sc-2**; pico 3.5VIIM (tempo de retenção 22,65 min, 1,4 mg) (Figura 23, p. 83) codificado como **Sc-5**; e pico 3.6VIIM (tempo de retenção 27,02 min, 0,1 mg) (Figura 24, p. 83) que recebeu a denominação **Sc-3**.

A fração VIII (216,6 mg) foi submetida à CLAE de fase reversa, utilizando-se MeOH como fase móvel. As substâncias codificadas como **Sc-2** e **Sc-3** foram identificadas como sendo os picos VIII.3 (tempo de retenção 9,60 min, 29,3 mg) e VIII.4 (tempo de retenção 10,60 min, 131,6 mg), respectivamente. O pico VIII.7 (tempo de retenção 17,40 min, 1,4 mg) forneceu uma substância pura denominada **Sc-6** (Esquema 2, p. 58; Figura 25, p. 84). O pico VIII.6 (tempo de retenção 15,80 min, 2,9 g) foi submetido à CLAE de fase normal, utilizando-se como fase móvel 5%

de AcOEt em ciclo-hexano, processo pelo qual vários picos foram observados (Esquema 2, p. 58; Figura 16, p. 68), onde o pico 5.6VIII (tempo de retenção 25,63 min, 0,7 mg) (Figura 26, p. 84) foi recromatografado em CLAE de fase reversa, tendo como fase móvel MeCN e forneceu a substância de código **Sc-3** (tempo de retenção 39 min, 0,4 mg) (Figura 27, p. 85). O pico VIII.8 (tempo de retenção 18,65 min, 2,7 mg) foi submetido à CLAE de fase normal, utilizando-se como fase móvel 5% de AcOEt em ciclo-hexano, obtendo-se o pico 2.VIII8 (tempo de retenção 29,79 min, 5,1 mg) (Esquema 2, p. 58; Figura 28, p. 85) que forneceu a substância codificada como **Sc-7**.

A fração IX (29,5 mg) (Esquema 2, p. 58) foi submetida à CLAE de fase reversa, com MeOH como fase móvel, originando 11 sub-frações, das quais os picos IX.5 (tempo de retenção 13,25 min, 13,7 mg) e IX.8 (tempo de retenção 17,50 min, 5,1 mg) mostraram-se como sendo as substâncias **Sc-3** e **Sc-7**, respectivamente (Esquema 2, p. 58; Figura 29, p. 86). Os picos IX.9 (tempo de retenção 18,65 min, 1,6 mg) e IX.W (tempo de retenção 39,85 min, 5,1 mg) foram recromatografados em CLAE de fase normal, utilizando-se como fase móvel 5% de AcOEt em ciclo-hexano (Esquema 2, p. 58). Foram observados alguns picos em cada cromatograma, sendo no primeiro purificadas as substâncias **Sc-6** (pico 1.9IX, tempo de retenção 27,42 min, 1,0 mg) e **Sc-7** (pico 2.9IX, tempo de retenção 30,25 min, 5,1 mg) (Figura 30, p. 86), e, no segundo, a substância **Sc-3** (pico 3.IXW, tempo de retenção 25,85 min, 24,7 mg) (Figura 31, p. 87).

A fração XVI (17,4 mg) (Esquema 2, p. 58) foi submetida à CLAE de fase reversa, com MeCN como fase móvel, originando 10 sub-frações, das quais os picos XVI.5 (tempo de retenção 15,3 min), XVI.7 (tempo de retenção 30,50 min) e XVI.9 (tempo de retenção 31,80 min) forneceram substâncias puras que foram codificadas como **Sc-8** (0,4 mg), **Sc-9** (1,8 mg) e **Sc-10** (2,2 mg), respectivamente (Esquema 3, p. 59; Figura 32, p. 87).

Em estudos anteriores realizados pela equipe do Prof. Dr. Vassilios Roussis, a espécie *S. coronopifolius* teve seu extrato CH₂Cl₂:MeOH obtido, seguindo a mesma metodologia utilizada neste trabalho, e também fracionado. Algumas dessas frações adquiridas foram estudadas na oportunidade atual, sendo elas codificadas como: P49C (41,2 mg), P7C (62,7 mg) e PE (576,2 mg). As três frações foram

submetidas à CLAE de fase reversa, utilizando-se como fase móvel MeOH (Esquemas 4 a 6, p. 60 a 62).

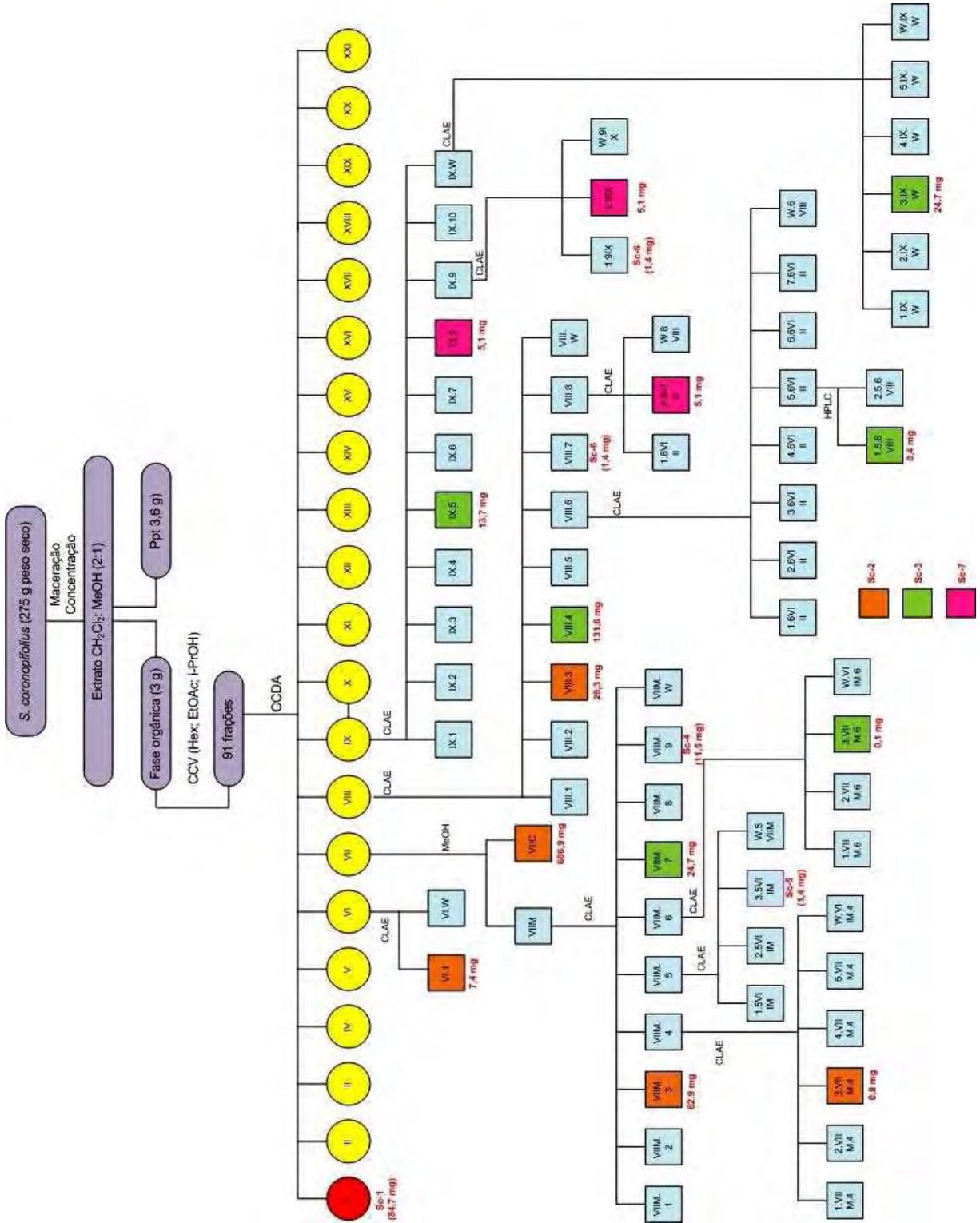
A partir da fração P49C (Esquema 4, p. 60) foram obtidas 9 sub-frações, sendo que de quatro picos proviram substâncias puras. O pico 3-P49C (tempo de retenção 10,20 min, 4,9 mg) foi codificado como **Sc-11**, enquanto o pico 4-P49C (tempo de retenção 12,25 min, 4,5 mg) recebeu a denominação **Sc-12**. Por sua vez, o pico 6-P49C (tempo de retenção 15,25 min, 1 mg) foi denominado **Sc-13**. O pico 7-P49C (tempo de retenção 16,10 min, 5,7 mg) recebeu a codificação **Sc-14** (Esquema 4, p. 60; Figura 33, p. 88).

A fração P7C (Esquema 5, p. 61) originou 13 sub-frações, e dois picos forneceram substâncias puras, sendo eles 3.P7C (tempo de retenção 13,50 min, 6,5 mg) e 8.P7C (tempo de retenção 25,9 min, 1,8 mg) os quais foram codificados como **Sc-15** e **Sc-7**, respectivamente (Esquema 5, p. 61; Figura 34, p. 88). Um outro pico, 7.P7C (tempo de retenção 22,50 min, 7,6 mg), foi recromatografado em CLAE de fase reversa, utilizando-se MeCN como fase móvel. Um dos picos resultantes, 5.7P7C (tempo de retenção 51,70 min, 1 mg) (Esquema 5, p. 61; Figura 35, p. 89) forneceu uma substância pura codificada como **Sc-16**.

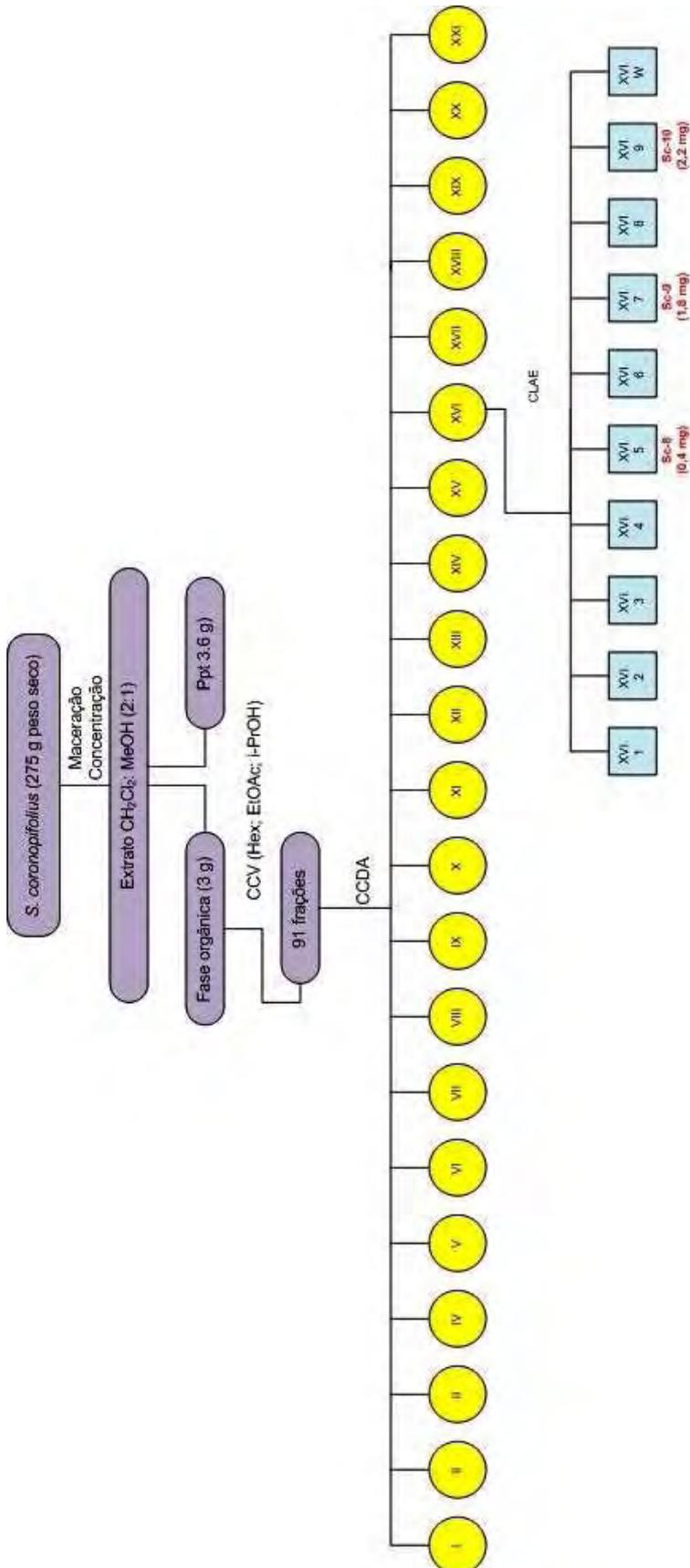
A fração PE (Esquema 6, p. 62) forneceu 17 sub-frações, dos quais dois picos, PE.3 e PE.8, apresentaram-se puros e foram identificados como sendo **Sc-2** (tempo de retenção 9,64 min, 162,1 mg) e **Sc-3** (tempo de retenção 13,10 min, 366,6 mg), respectivamente (Esquema 6, p. 62; Figura 36, p. 89). Os picos PE.4 (1,6 mg), PE.5 (4,7 mg), PE.6 (1,4 mg), PE.7 (3,3 mg), PE.9 (9,4 mg) e PE.10 (4,2 mg) foram submetidos novamente à CLAE, sendo que de fase reversa para PE.5 e PE.10 com a fase móvel MeOH e de fase normal com fase móvel 5% de AcOEt em ciclo-hexano para os demais. A partir dos picos PE.5 e PE.10 foram obtidas quatro substâncias puras, sendo do primeiro a substância identificada como **Sc-2** (pico 1.PE5, tempo de retenção 9,25 min, 2,2 mg) e uma outra com tempo de retenção de 10,75 min (pico 2.PE5, 4,7 mg) que recebeu o código **Sc-17** (Figura 37, p. 90), e do segundo identificou-se a substância **Sc-3** (pico 2.PE10, tempo de retenção 13,20 min, 0,7 mg) e uma substância com tempo de retenção 16,10 min (pico 4.PE10, 6,2 mg) codificada como **Sc-18** (Figura 38, p. 90). O fracionamento do pico PE.4 permitiu a purificação de duas substâncias codificadas como **Sc-2** (pico 1.PE4, tempo de

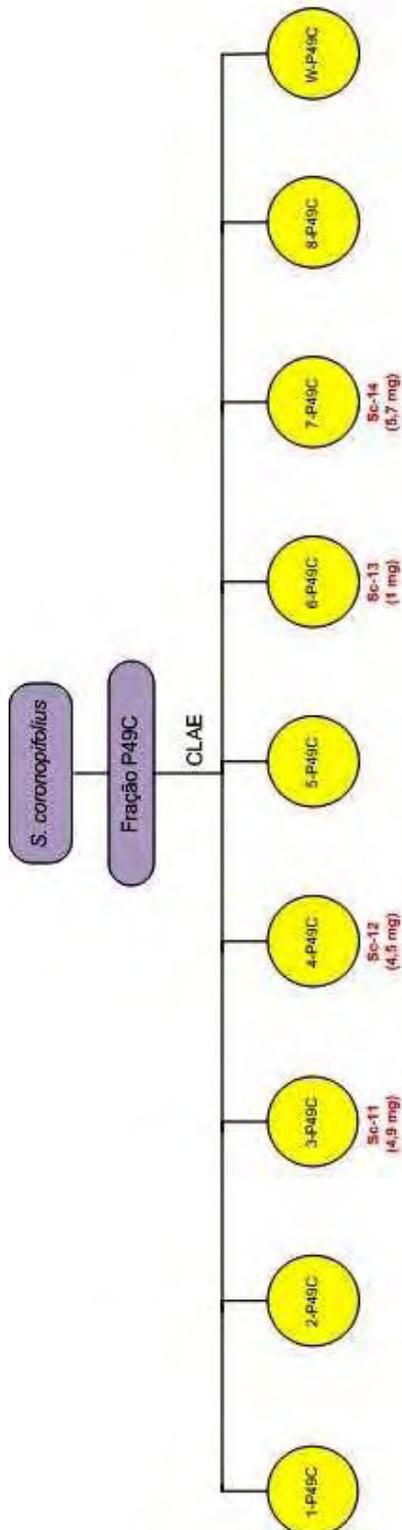
retenção 20,87 min, 1,1 mg) e **Sc-17** (pico 2.PE4, tempo de retenção 21,19 min, 1,8 mg) (Figura 39, p. 91). O pico PE.6 forneceu uma substância pura que foi denominada **Sc-17** (pico 3.PE6, tempo de retenção 24,82 min, 1,8 mg) (Figura 40, p. 91). O pico PE.7, por sua vez, levou à purificação da substância codificada como **Sc-2** (pico 2.PE7, tempo de retenção 20,23 min, 0,4 mg) (Figura 41, p. 92). O pico PE.9 forneceu a substância pura **Sc-3** (pico 7.PE9, tempo de retenção 25,21 min, 2,3 mg) (Figura 42, p. 92)

Esquema 2 - Obtenção e fracionamento cromatográfico das frações VI, VII, VIII e IX de *Sphaerococcus coronopifolius*.

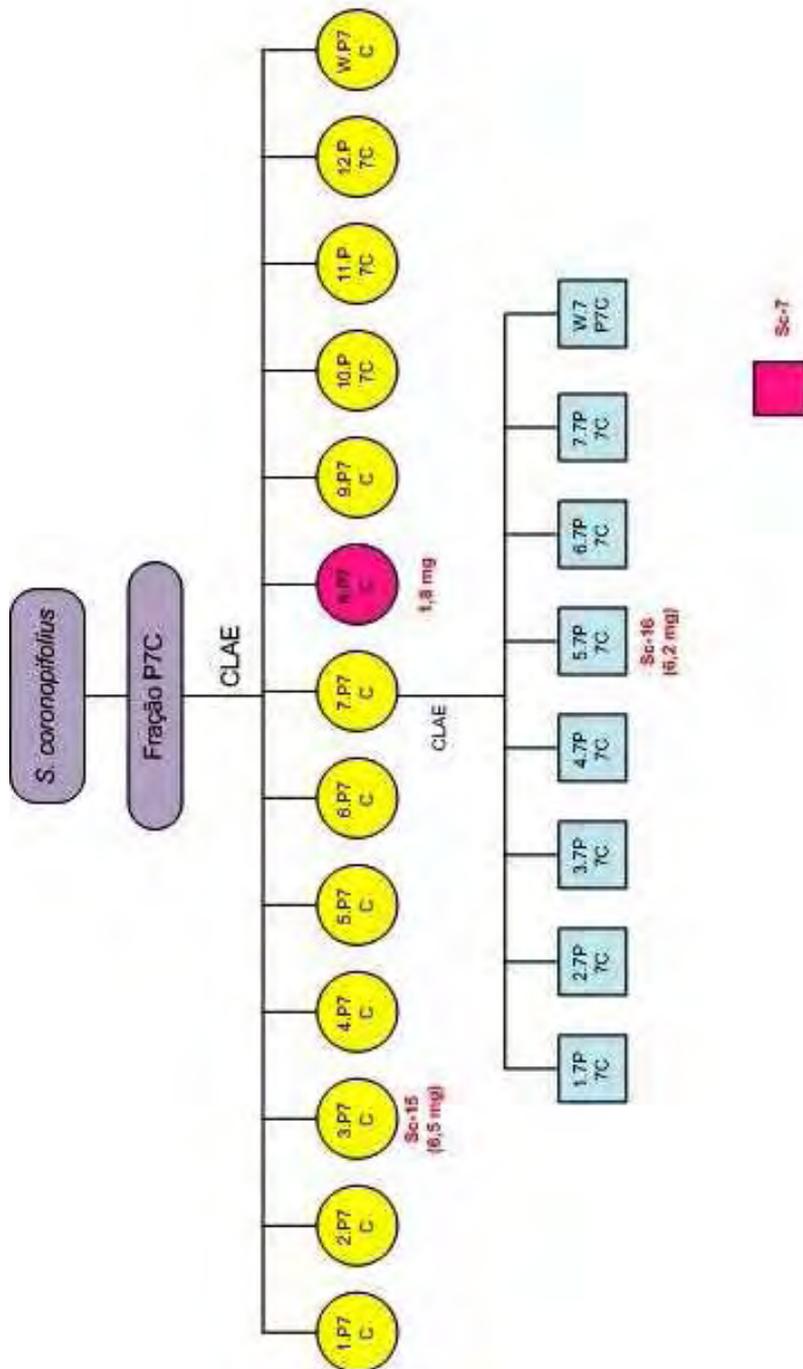


Esquema 3 - Obtenção e fracionamento cromatográfico da fração XIV de *Sphaerococcus coronopifolius*.

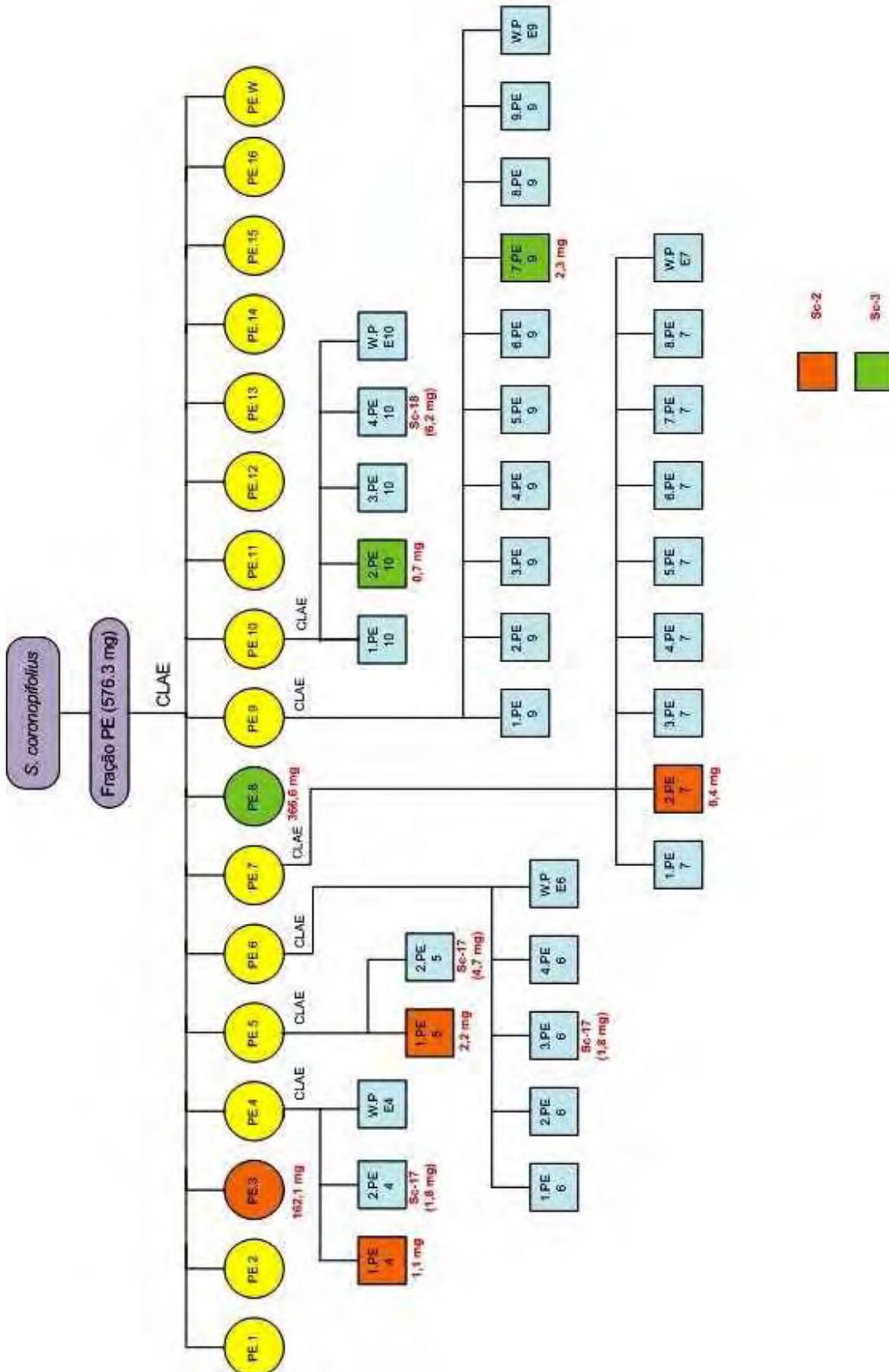


Esquema 4 - Fracionamento cromatográfico da fração P49C de *Sphaerococcus coronopifolius*.

Esquema 5 - Fracionamento cromatográfico da fração P7C de *Sphaerococcus coronopifolius*.



Esquema 6 - Fracionamento cromatográfico da fração PE de *Sphaerococcus coronopifolius*.



Quadro 3 – Eluentes utilizados e frações obtidas no fracionamento cromatográfico do extrato CH₂Cl₂:MeOH de *Sphaerococcus coronopifolius*.

Eluente	Frações Obtidas	Frações Reunidas	Rendimentos
Hexano	1-2	I	84,7 mg (2,82%)
Hexano : AcOEt (99:1)	3-6		
Hexano : AcOEt (98:2)	7-8		
Hexano : AcOEt (98:2)	9-10	II	3,3 mg (0,11%)
Hexano : AcOEt (97:3)	11-13		
Hexano : AcOEt (96:4)	14-15	III	0,5 mg (0,02%)
Hexano : AcOEt (96:4)	16	IV	3,1 mg (0,10%)
Hexano : AcOEt (95:5)	17-18		
Hexano : AcOEt (94:6)	19-20		
Hexano : AcOEt (93:7)	21-22		
Hexano : AcOEt (92:8)	23-24		
Hexano : AcOEt (92:8)	25-27	V	62,3 mg (2,08%)
Hexano : AcOEt (92:8)	28	VI	14,2 mg (0,47%)
Hexano : AcOEt (92:8)	29	VII	723 mg (24,1%)
Hexano : AcOEt (91:9)	30-31		
Hexano : AcOEt (91:9)	32-34	VIII	216,6 mg (7,22%)
Hexano : AcOEt (90:10)	35-36	IX	29,5 mg (0,98%)
Hexano : AcOEt (90:10)	37-39	X	14 mg (0,47%)
Hexano : AcOEt (89:11)	40		
Hexano : AcOEt (89:11)	41-43	XI	64 mg (2,13%)
Hexano : AcOEt (88:12)	44-45		
Hexano : AcOEt (88:12)	46	XII	35,3 mg (1,18%)
Hexano : AcOEt (85:15)	47-50		
Hexano : AcOEt (85:15)	51-55	XIII	29,7 mg (0,99%)
Hexano : AcOEt (85:15)	56-58	XIV	26,7 mg (0,89%)
Hexano : AcOEt (80:20)	59-60		
Hexano : AcOEt (80:20)	61-69	XV	51,7 mg (1,72%)
Hexano : AcOEt (70:30)	70-72		
Hexano : AcOEt (65:35)	73-75	XVI	17,4 mg (0,58%)
Hexano : AcOEt (60:40)	76-78		
Hexano : AcOEt (55:45)	79-81	XVII	27,3 mg (0,91%)
Hexano : AcOEt (50:50)	82-84		
AcOEt	85-86		
AcOEt	87	XVIII	10,1 mg (0,34%)
AcOEt	88	XIX	16 mg (0,53%)
AcOEt : i-PrOH (50:50)	89		
i-PrOH	90	XX	--
i-PrOH	91	XXI	227,7 mg (7,59%)

Resultados e Discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada a análise e caracterização dos ésteres metílicos de ácidos graxos com os extratos $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ das espécies *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis*. O fracionamento do extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *G. caudata* permitiu a identificação de uma fração rica em hidrocarbonetos, e o isolamento e identificação de um ácido graxo (**Gc-1**) e um esterol (**Gc-2**).

O fracionamento da alga *Sphaerococcus coronopifolius* culminou no isolamento e purificação de vinte terpenos, sendo três deles inéditos na literatura, um isolado pela primeira vez na espécie, um isolado pela primeira vez na espécie coletada no mar Jônico (Grécia), e os demais re-isolados desta espécie isolados originalmente em estudos anteriores realizados pela equipe do professor colaborador Dr. Vassilios Roussis.

4.1 Análise e Caracterização dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos Totais de *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis*

As Figuras 9 a 12 (p. 69 a 72) exibem os cromatogramas obtidos na análise em CG-EM dos extratos de ésteres metílicos de ácidos graxos totais das algas do gênero *Gracilaria*.

As substâncias identificadas nos extratos de ésteres metílicos de ácidos graxos totais juntamente com suas abundâncias relativas (%) estão listadas na Tabela 1 (p. 68). O hidrocarboneto heptadecano mostrou-se presente em *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cervicornis* e *G. domingensis* em porcentagens similares de 1,12%, 0,65%, 1,15% e 1,15%, respectivamente. Este resultado está em concordância com uma das frações de *G. caudata* (neste estudo), que mostrou o heptadecano presente de forma majoritária.

É importante salientar que os ácidos graxos são metabólitos primários da via da acetil CoA, a qual é geneticamente determinada, evolucionariamente muito antiga e, portanto, conservativa (PETKOV; GARCIA, 2007). O componente principal e mais representativo em todas as espécies analisadas é o éster metílico do ácido graxo saturado ácido hexadecanoico (ácido palmítico) o qual é verificado em alta porcentagem em *G. birdiae* (41,86%), *G. caudata* (21,34%), *G. cervicornis* (50,94%) e *G. domingensis* (13,46%). Este resultado ratifica aquele encontrado para *G. caudata* onde foi possível identificar o referido ácido graxo como componente majoritário de uma das frações analisadas. Fortalecendo estes dados, a literatura cita que o gênero *Gracilaria* apresenta o ácido palmítico como o ácido graxo saturado presente em maior quantidade (GRESSLER et al., 2010; WEN et al., 2006; KHOTIMCHENKO, 2005; NORZIAH, CHING, 2000; VASKOWSKY et al., 1996). Ademais, evidência na literatura mostra que o ácido palmítico isolado de uma alga marinha vermelha pode constituir uma substância promissora como droga anticancerígena (HARADA et al., 2002). Os ésteres metílicos dos ácidos tetradecanoico, 9-octadecenoico e octadecanoico foram também identificados em todos os extratos.

A análise de *G. caudata* permitiu a classificação da maior quantidade de substâncias. Dentre elas, deve-se mencionar a presença de colesterol (Coolest-5-en-

3-ol) na porcentagem de 0,49%, fato este que confirma o resultado obtido neste trabalho para esta espécie onde o colesterol foi isolado e identificado. *G. birdiae* também apresentou esta substância em sua composição numa porcentagem de 0,26%. Estes resultados são consistentes com estudos anteriores que mostram que o colesterol já foi encontrado em outras espécies do gênero *Gracilaria* (GOVINDAN et al., 1993; DAS; SRINIVAS, 1992a; DAS; SRINIVAS, 1992b; SIMS; PETTUS-JR., 1976; HENRIQUEZ et al., 1972) e que o colesterol e outros esteróides C-27 são considerados os esteróis primários das algas vermelhas (HATTAB et al., 2006; GOVINDAN et al., 1993; MOSES BABU et al., 1990; FATTORUSSO et al., 1975; GIBBONS et al., 1967).

Este é o primeiro relato no que concerne à classificação quimiotaxonômica do gênero *Gracilaria* do litoral paraibano, Nordeste do Brasil.

A composição química dos ésteres metílicos de ácidos graxos totais dos extratos das quatro espécies de *Gracilaria* mostrou ter perfil muito similar. O hidrocarboneto heptadecano, juntamente com os ésteres metílicos dos ácidos tetradecanoico, 9-octadecenoico, octadecanoico e hexadecanoico foram identificados em todos os extratos, sendo o último o componente majoritário, o que está em concordância com os dados da literatura.

Este estudo mostrou que as espécies *G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cerviconis* e *G. domingensis* do litoral da Paraíba podem ser reconhecidas como um grupo que apresenta base quimiotaxonômica análoga.

Tabela 1 - Composição química de quatro espécies de *Gracilaria* (*G. birdiae*, *G. caudata*, *G. cerviconis*, *G. domingensis*) baseada na análise de seus ésteres metílicos de ácidos graxos totais.

Nome do composto	RT	Abundância relativa (%)			
		<i>G. birdiae</i>	<i>G. caudata</i>	<i>G. cerviconis</i>	<i>G. domingensis</i>
2-Heptenal, <i>trans</i> -2-hepteno	6,13	--	0,06	--	--
Ácido dodecanoico, metil éster	29,17	--	0,01	--	--
<i>n</i> -Heptadecano	36,18	1,12	0,65	1,15	1,15
Ácido Tetradecanoico, metil éster	37,15	5,64	2,19	5,32	2,18
Ácido Pentadecanoico, metil éster	40,74	--	0,32	0,57	--
2-Pentadecanona, 6,10,14-trimetil	41,30	--	0,22	0,36	--
Ácido 9-Hexadecenoico, metil éster	43,49	--	0,63	0,76	--
Ácido Hexadecanoico, metil éster	44,71	41,86	21,34	50,94	13,46
Ácido Heptadecanoico, metil éster	47,75	TR	0,12	--	--
Ácido 9,12-octadecadienoico, metil éster	49,77	--	--	--	0,19
Ácido 8, 11-octadecadienoico, metil éster	49,94	0,38	0,29	TR	--
Ácido 9-octadecenoico, metil éster	50,18	2,87	0,95	4,66	1,58
Ácido 13-octadecenoico, metil éster	50,34	2,03	3,08	--	--
Ácido octadecanoico, metil éster	50,87	1,40	1,58	1,88	1,46
Ácido 6, 9-octadecadienoico, metil éster	52,77	0,51	--	TR	--
Ácido 7,10-octadecadienoico, metil éster	52,91	--	0,13	TR	--
Ácido ciclopropaneoctanoico, 2-octil-, metil éster	53,57	--	1,17	--	--
Ácido 5,9,11,14-Eicosatetraenoico, etil éster	54,68	--	--	0,61	1,81
Ácido 5,8,11,14-Eicosatetraenoico, etil éster	54,77	4,07	--	--	--
Ácido metil araquidonato 5,8,11,14 eicosatetraenoico	55,13	--	6,13	--	--
Ácido 7,10,13-Eicosatrienoico, metil éster	55,28	0,37	0,40	--	--
Ácido 11,13-Eicosadienoico, metil éster	56,01	TR	0,19	--	--
Ácido eicosanoico, metil éster	56,96	--	0,18	TR	--
Ácido fosfórico, trifetil éster	58,57	TR	0,23	TR	0,23
Ácido tetracosanoico, metil éster	67,63	TR	0,07	--	--
Colesta-3,5-dieno, Colesterile	71,11	TR	0,13	--	0,50
Colest-5-en-3-ol (3,beta)	76,26	0,26	0,49	--	--
Colest-4-ene-3-ona	78,92	--	0,05	--	--
Total identificado		60,51%	40,61%	66,25%	22,56%

TR, traços.

Figura 9 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em *G. birdiae* obtido em CG-EM.

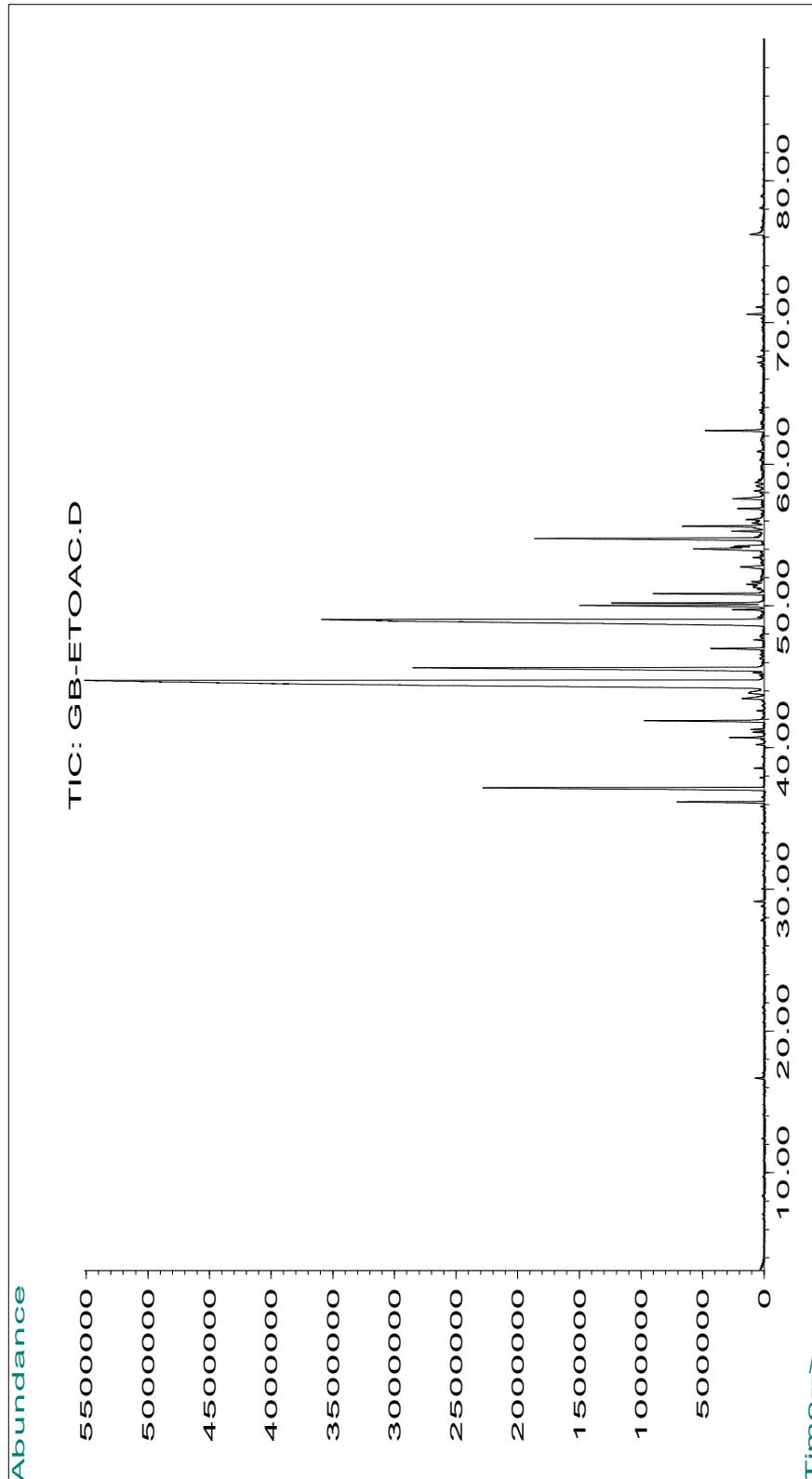


Figura 10 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em *G. caudata* obtido em CG-EM.

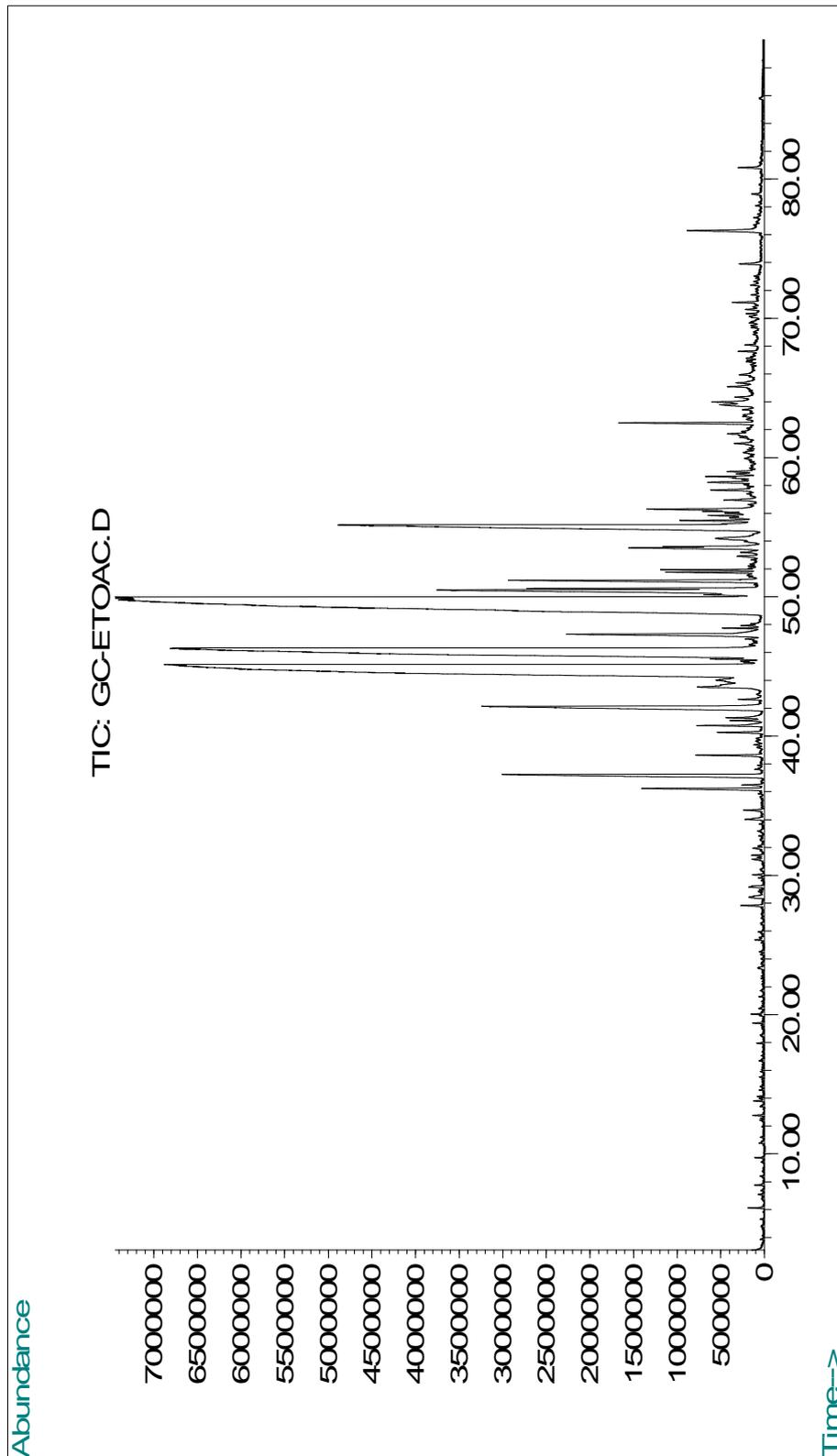


Figura 11 – Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em *G. cerviconis* obtido em CG-EM.

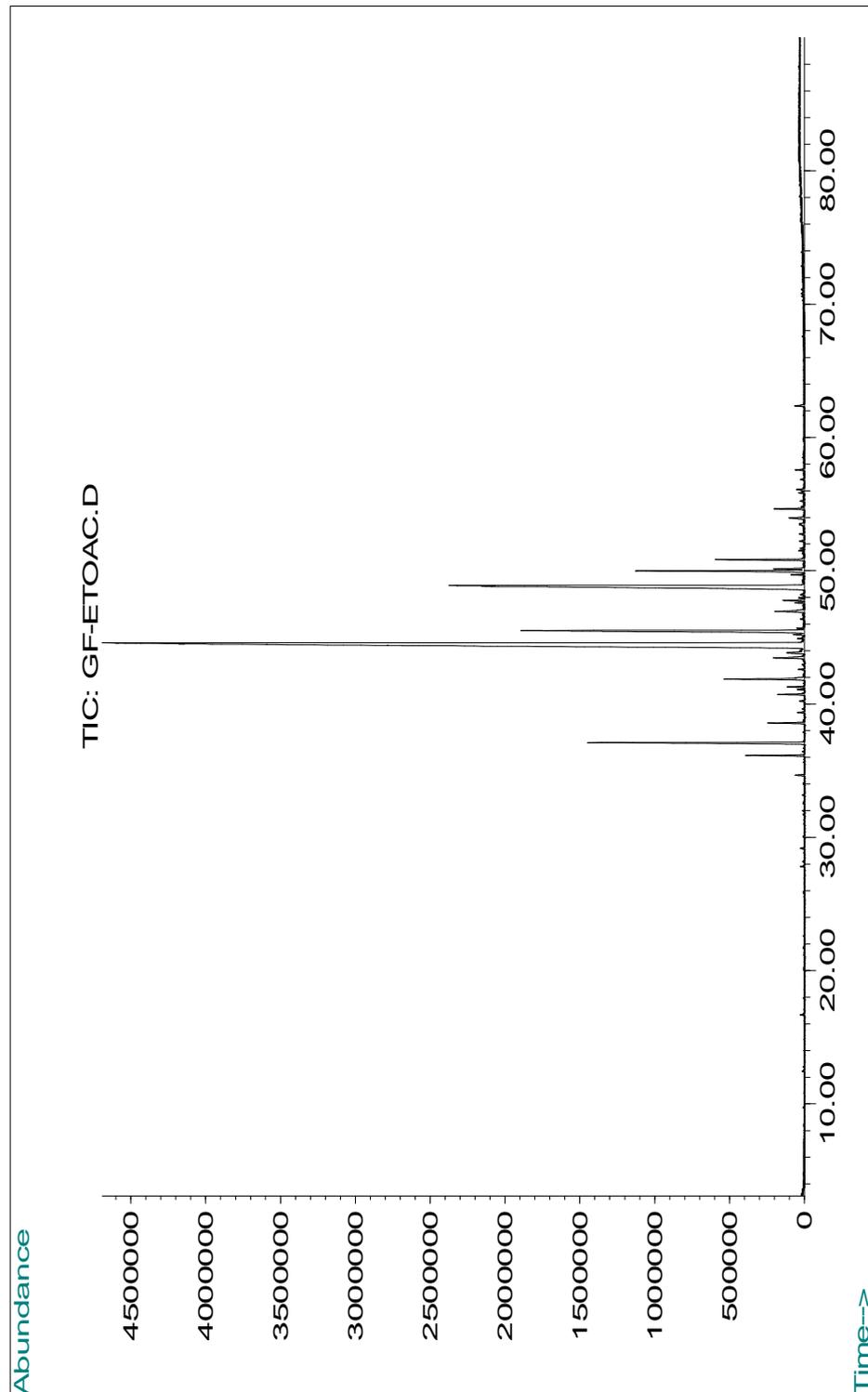
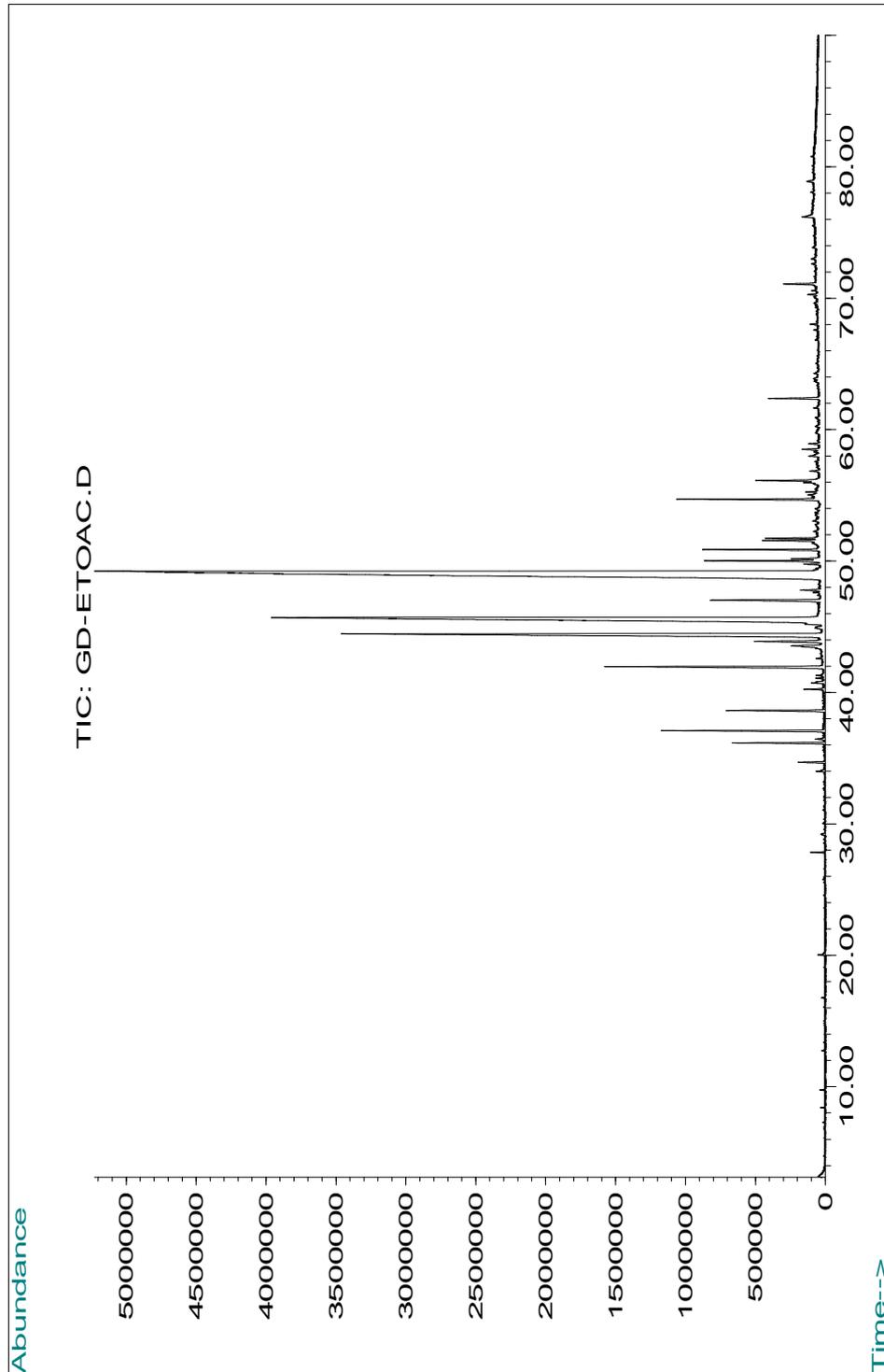


Figura 12 - Cromatograma dos ésteres metílicos de ácidos graxos presentes em *G. domingensis* obtido em CG-EM.



4.2 Substâncias da alga *Gracilaria caudata*

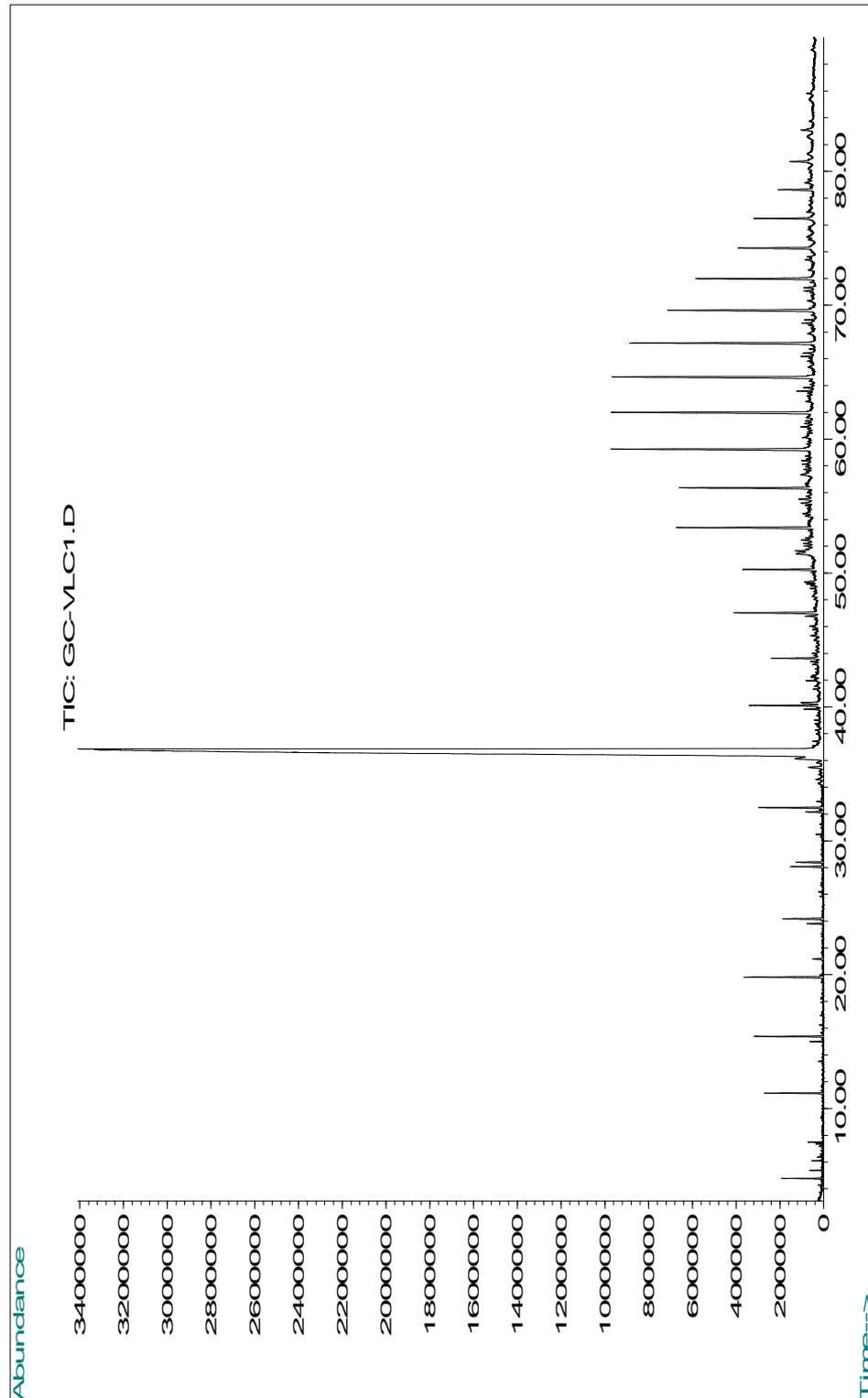
4.2.1 Identificação da fração 1

Baseando-se na análise do cromatograma (Figura 13, p. 74) obtido através de Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada à Espectrômetro de Massas (CG-EM), foi exequível identificar vários hidrocarbonetos, dentre os quais o heptadecano mostrou-se como constituinte majoritário (Tabela 2).

Tabela 2 – Hidrocarbonetos identificados na fração 1 do extrato de *G. caudata* e sua abundância relativa (%).

RT (min)	% Teor	Composto
4,78	0,38	ciclohexanona
11,16	0,65	undecano
15,40	0,88	dodecano
19,18	1,10	tridecano
24,17	0,58	tetradecano
28,07	0,45	1-pentadeceno
28,40	0,38	pentadecano
32,48	0,98	hexadecano
36,14	0,94	1-heptadeceno
36,86	61,04	heptadecano
40,11	1,10	octadecano
43,63	0,68	nonadecano
47,03	1,43	eicosano
50,27	1,06	heneicosano
53,40	2,27	docosano
56,40	2,39	tricosano
59,26	4,10	tetracosano
62,00	3,89	pentacosano
64,65	4,35	hexacosano
67,18	3,46	heptacosano
69,62	2,75	octacosano
71,99	2,16	nonacosano
74,27	1,35	triacontano
76,49	1,00	hentriacontano
78,63	0,62	dotriacontano

Figura 13 - Cromatograma obtido em CG-EM da fração 1.



4.2.2 Identificação da fração 8-9 (Gc-1)

A análise do espectro de RMN H^1 (Figura 15, p. 76) permitiu verificar a presença de um tripleto em δ 2,35 ppm relativo a hidrogênios metilênicos alfa à carbonila e também um multiplete entre δ 1 e 2 ppm.

O espectro de massas (Figura 16, p. 77) da fração 8-9 mostrou o pico do íon molecular em M^{*+} 256 u.m.a. Este dado permitiu atribuir a **Gc-1** uma fórmula molecular $C_{16}H_{32}O_2$. Foi exequível observar também alguns fragmentos fornecidos pela molécula, tais como M^{*+} 239 u.m.a. (referente à perda de uma hidroxila) e em M^{*+} 73 u.m.a. (referente à perda de $C_{13}H_{27}$).

Foi possível concluir que a substância codificada como **Gc-1** trata-se do ácido palmítico (Figura 14) o qual foi identificado como o constituinte majoritário desta fração e identificado também nas análises de CG-EM do extrato desta e de outras espécies de *Gracilaria* (Item 4.1, p. 66; Tabela 1, p. 68).

Fortalecendo estes dados, de acordo com a literatura, o gênero *Gracilaria* apresenta o ácido palmítico como o ácido graxo saturado em mais alta quantidade (GRESSLER et al., 2010; WEN et al., 2006; KHOTIMCHENKO, 2005; NORZIAH; CHING, 2000; VASKOWSKY et al., 1996).

Figura 14 - Estrutura química do ácido palmítico.

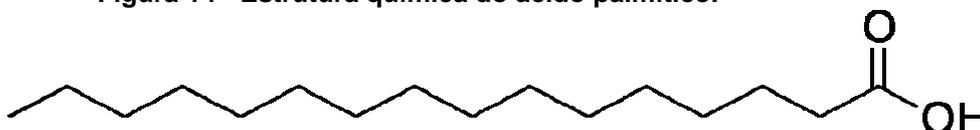


Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da substância Gc-1, isolada da fração 8-9 do extrato de *G. caudata*.

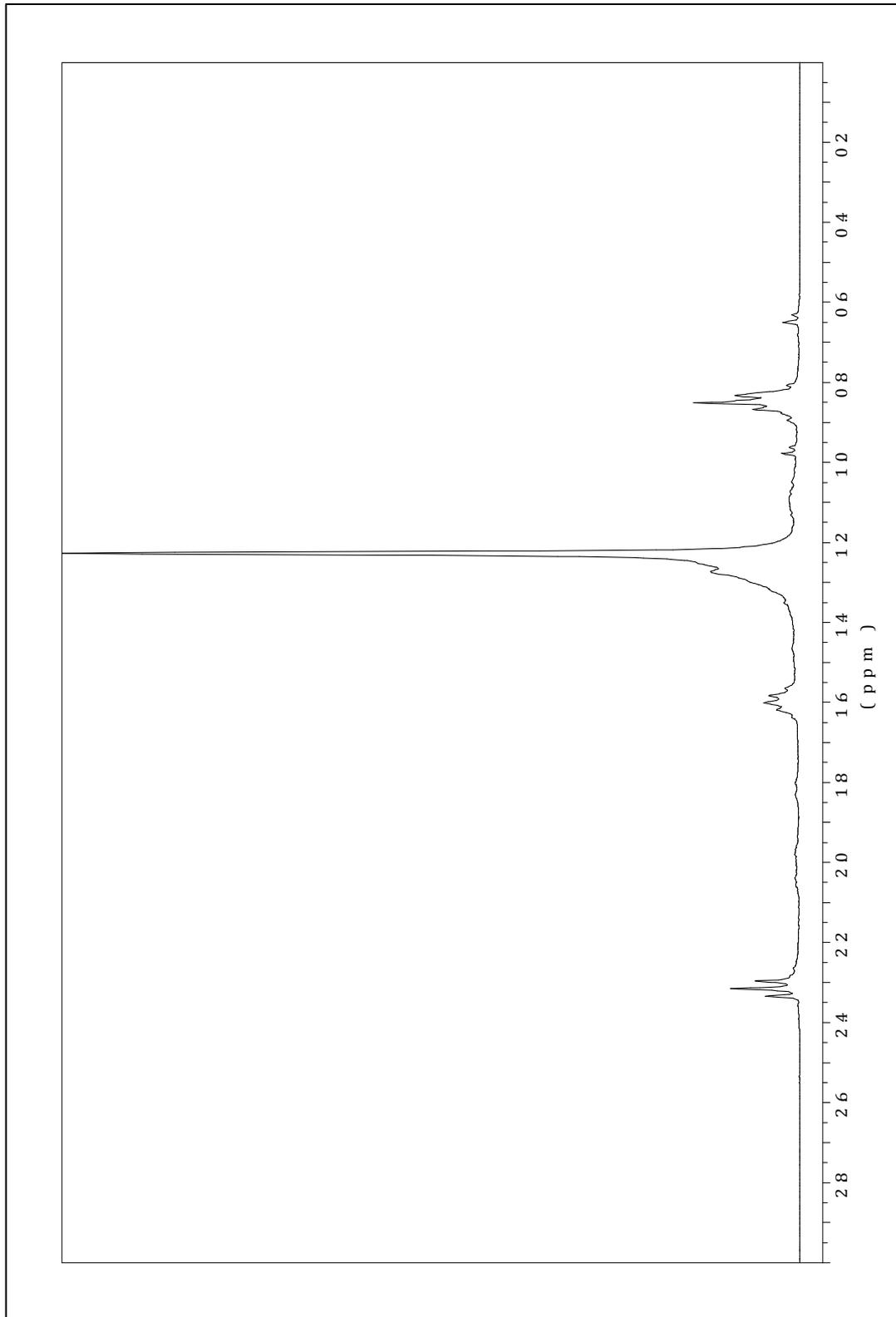
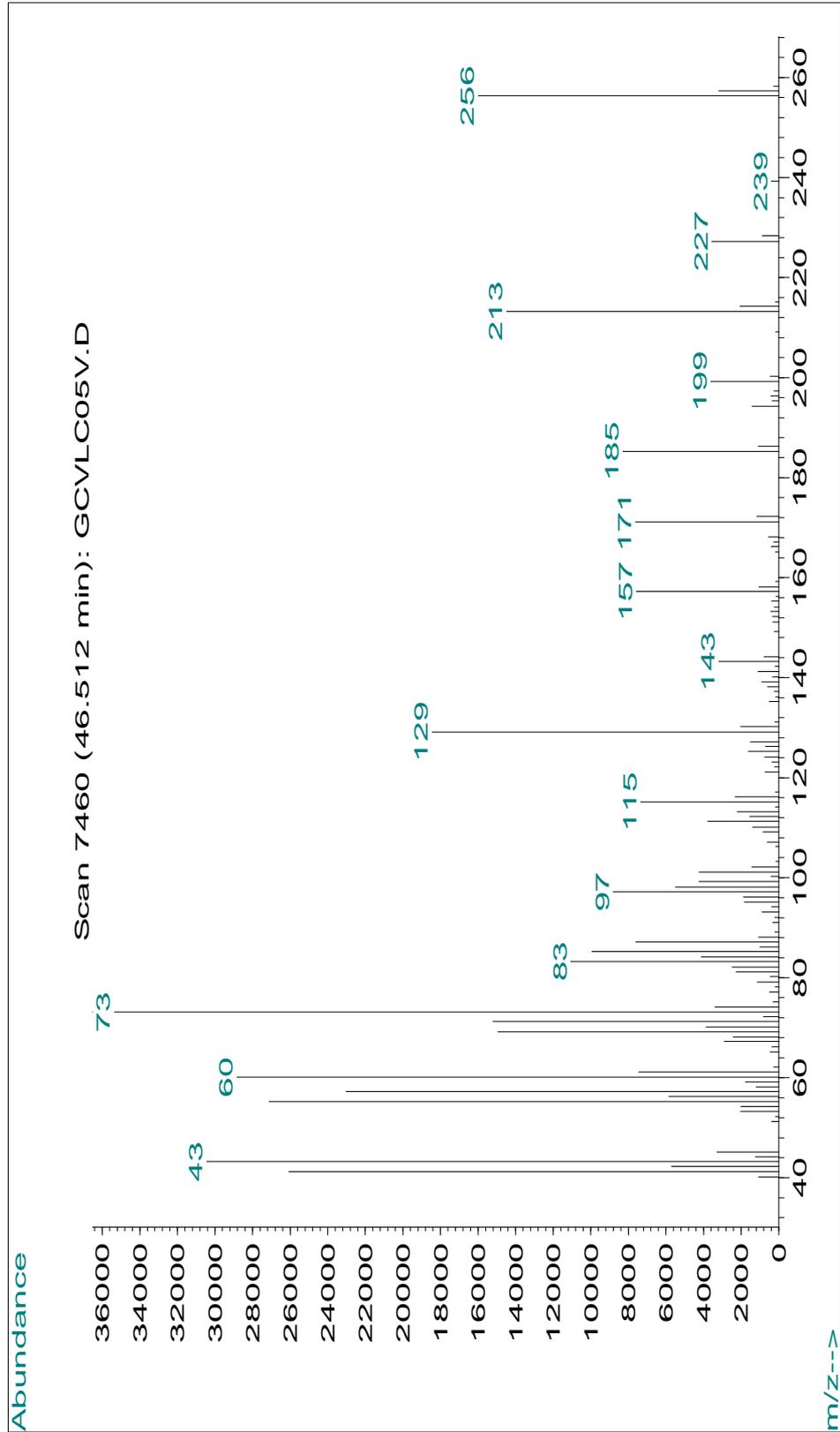


Figura 16 - Espectro de massas de Gc-1, isolada de *G. caudata*.

4.2.3 Identificação da fração 4 (Gc-2)

O cromatograma do fracionamento em CLAE da fração 7 é mostrado na figura 18 (p. 79). A fração 4 (pico 4), codificada como **Gc-2**, do referido cromatograma teve seu espectro de RMN ^1H obtido (Figura 19, p. 80). Com base na análise dos principais sinais (Tabela 3) observados neste espectro, tais como os dupletos em δ 0,89 ppm ($J = 6,2$ Hz), δ 0,84 ppm ($J = 6,7$ Hz) e δ 0,84 ppm ($J = 6,7$ Hz) referentes a hidrogênios metílicos nas posições 21, 26 e 27, respectivamente, o simpleto largo em δ 5,33 relativo ao hidrogênio olefínico na posição 6, bem como o multipletto em δ 3,50 referente ao hidrogênio na posição 3, foi possível identificar a substância **Gc-2** como sendo o colesterol (colest-5-en-3 β -ol) (Figura 17). Este resultado é consistente com estudos realizados por outros autores, uma vez que o colesterol e outros esteróis C-27 são considerados os esteróis primários das algas vermelhas (HATTAB et al., 2006; GOVINDAN et al., 1993; MOSES BABU et al., 1990; FATTORUSSO et al., 1975; GIBBONS et al., 1967). Ademais, o colesterol foi encontrado anteriormente em outras espécies do gênero *Gracilaria* (GOVINDAN et al., 1993; DAS; SRINIVAS, 1992a; DAS; SRINIVAS, 1992b; SIMS; PETTUS-JR., 1976; HENRIQUEZ et al., 1972).

Figura 17 - Estrutura química do colesterol (colest-5-en-3 β -ol).

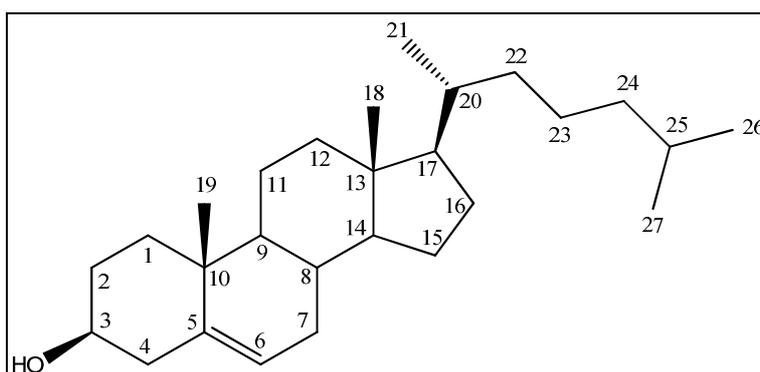


Tabela 3 - Principais sinais observados no espectro de RMN ^1H (CDCl_3) de Gc-2.

Posição	δ_{H}
3	3,50 m
6	5,33 sl
18	0,66 s
19	0,99 s
21	0,89 (d, $J = 6,2$)
26	0,84 (d, $J = 6,7$)
27	0,84 (d, $J = 6,7$)

Figura 18 - Cromatograma da fração 7 obtido em CLAE de fase normal (c-hex/AcOEt 90:10).

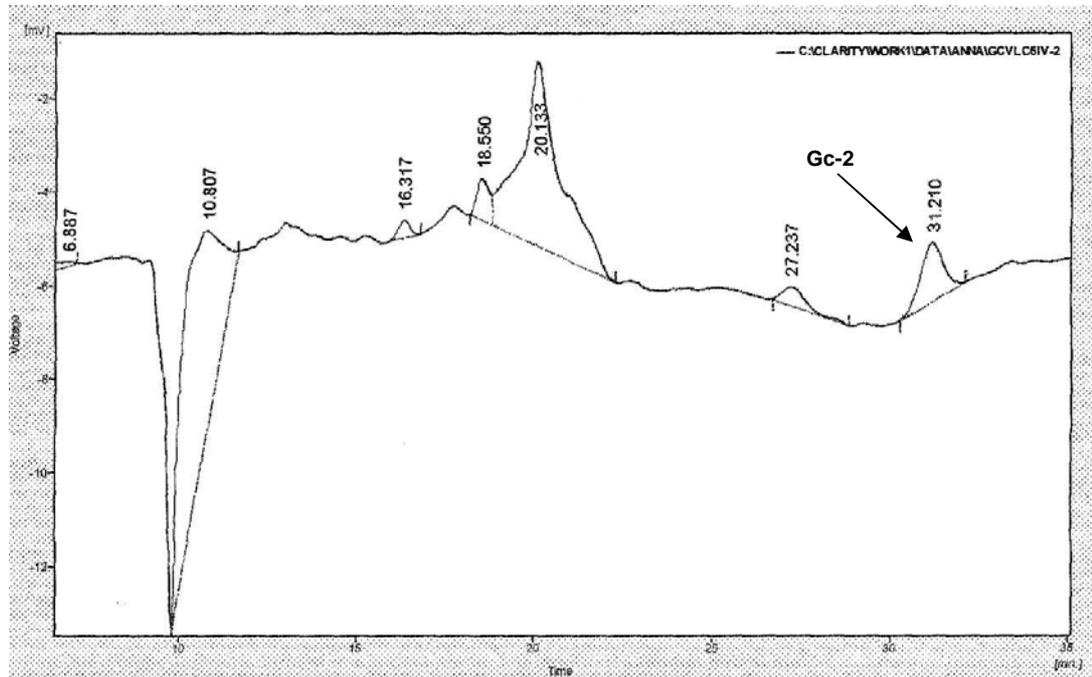
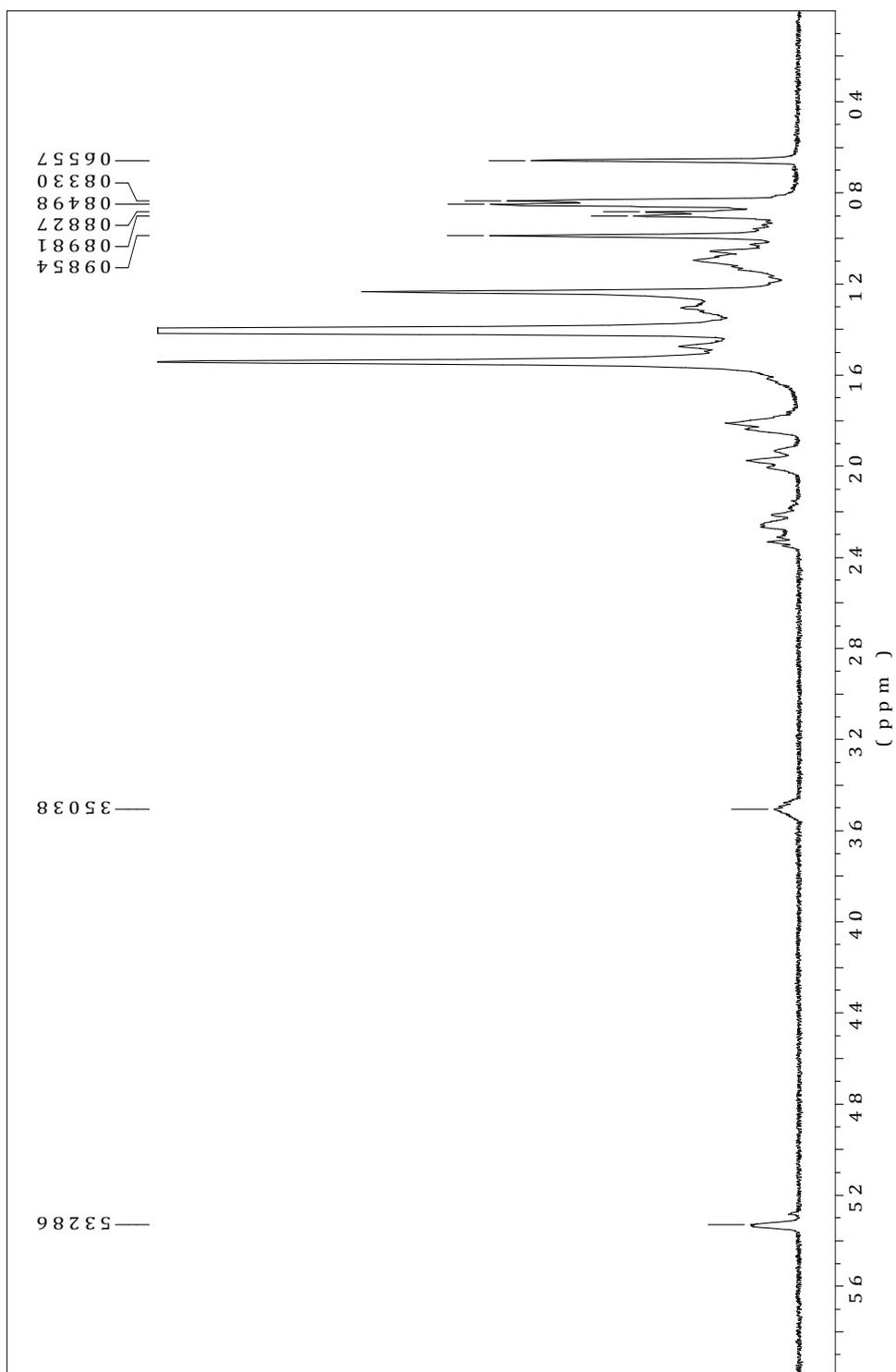


Figura 19 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de Gc-2.

4.3 Substâncias da alga *Sphaerococcus coronopifolius*

As figuras 20 a 42 (p. 81-92) mostram os cromatogramas obtidos a partir do fracionamento cromatográfico do extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de *S. coronopifolius*.

Figura 20 – Cromatograma da fração VI obtido em CLAE de fase reversa (MEOH 100%).

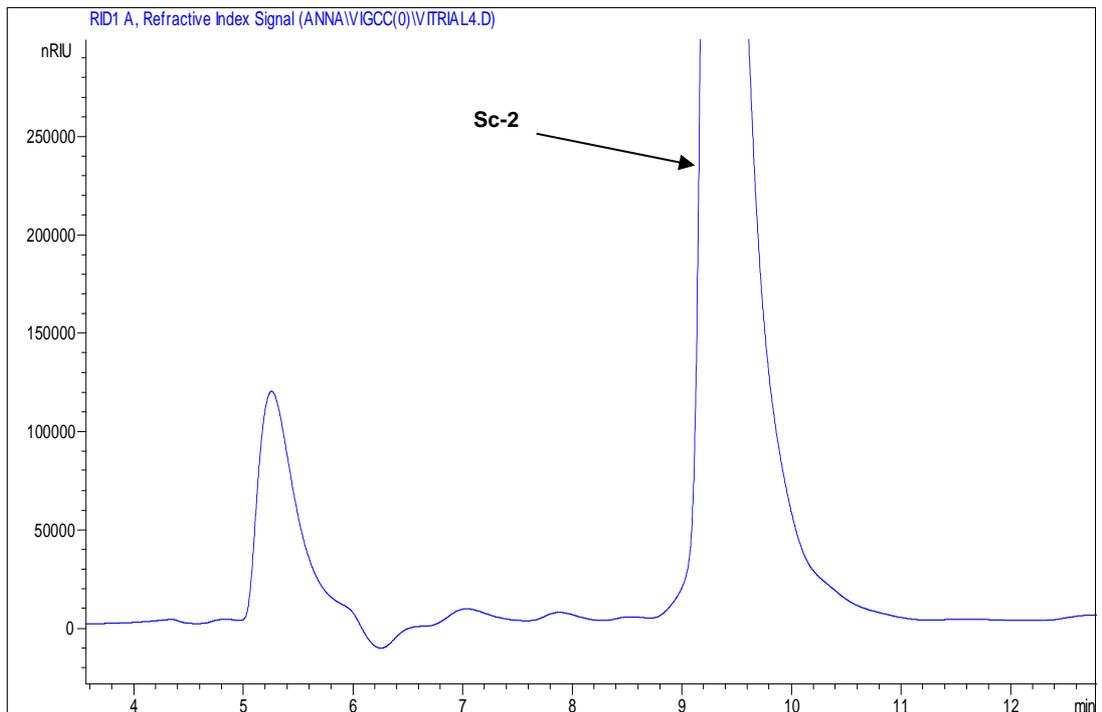


Figura 21 – Cromatograma da fração VIIM obtido em CLAE de fase reversa (MEOH 100%).

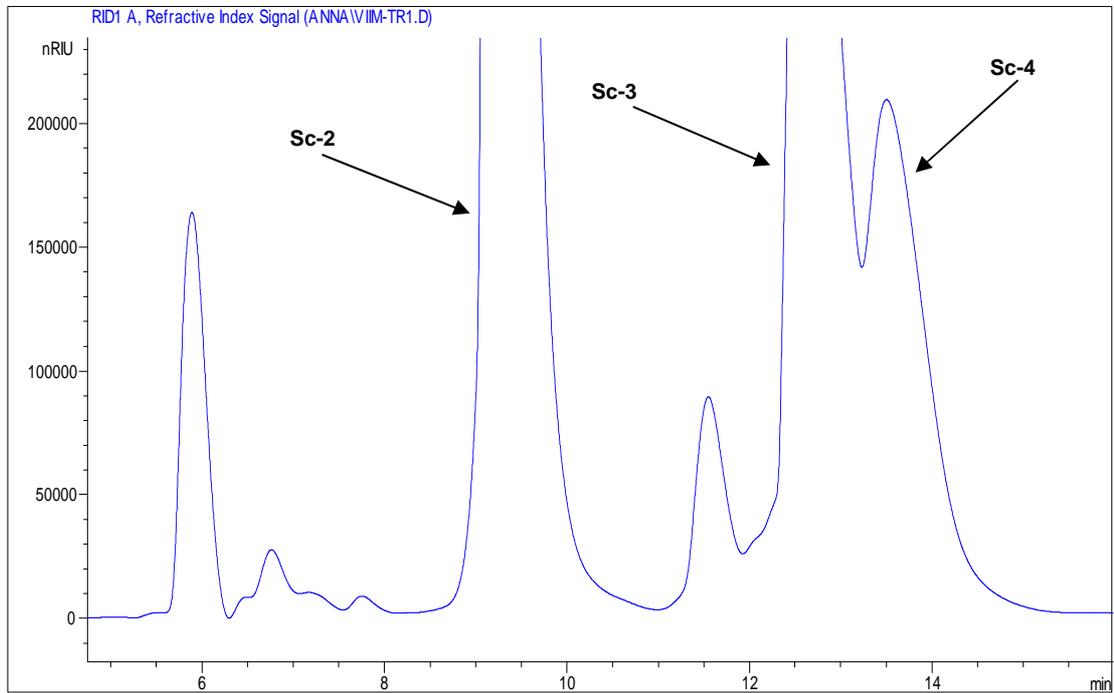


Figura 22 – Cromatograma da fração VIIM.4 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

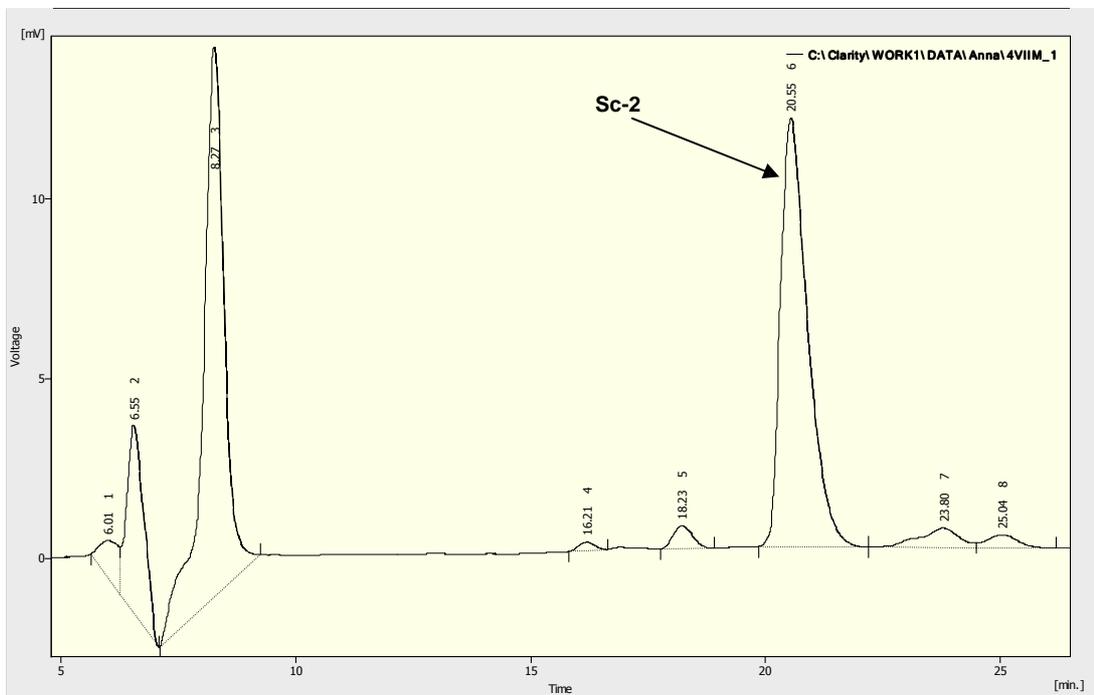


Figura 23 – Cromatograma da fração VIIM.5 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

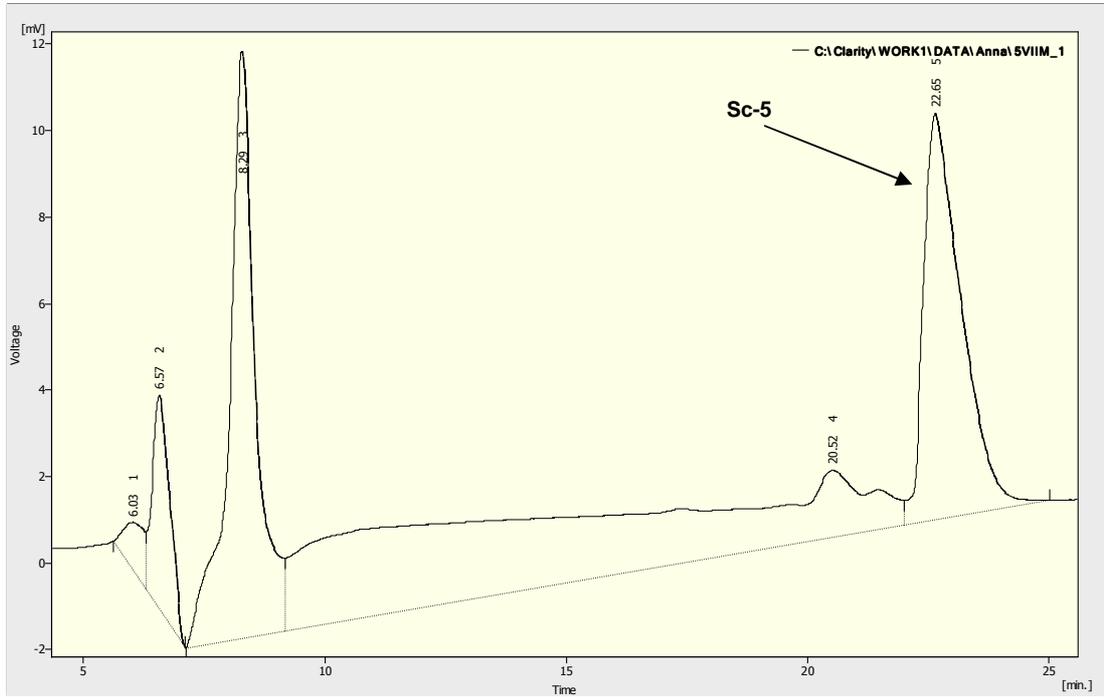


Figura 24 - Cromatograma da fração VIIM.5 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

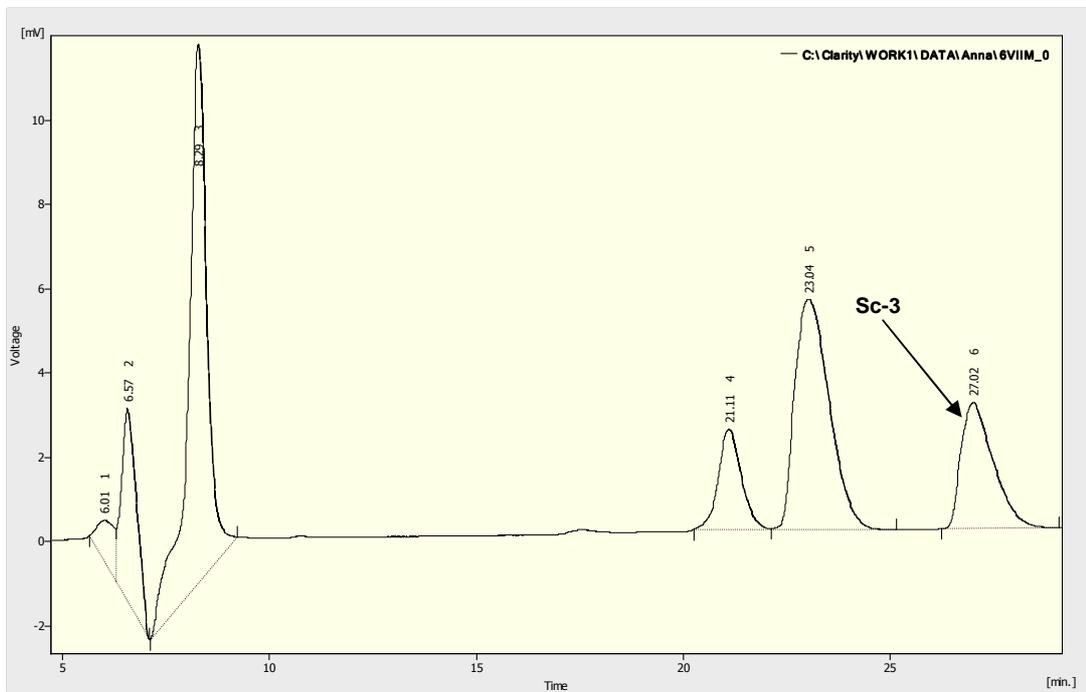


Figura 25 - Cromatograma fração VIII obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

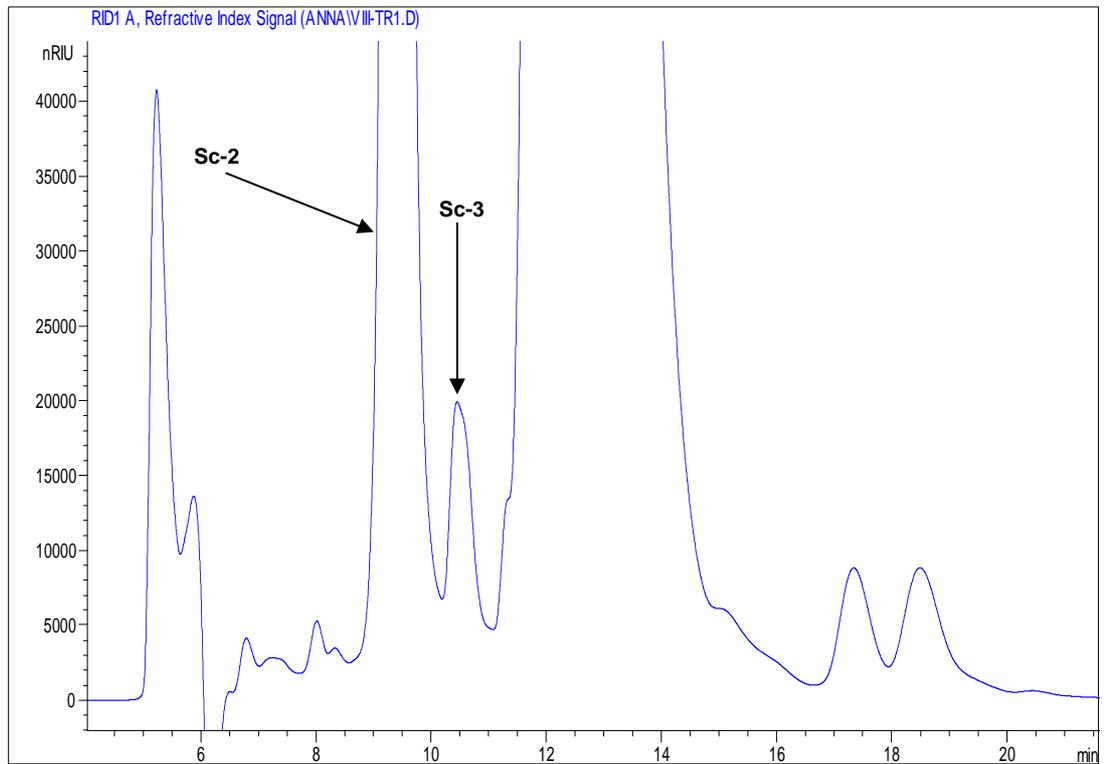


Figura 26 - Cromatograma da fração VIII.6 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

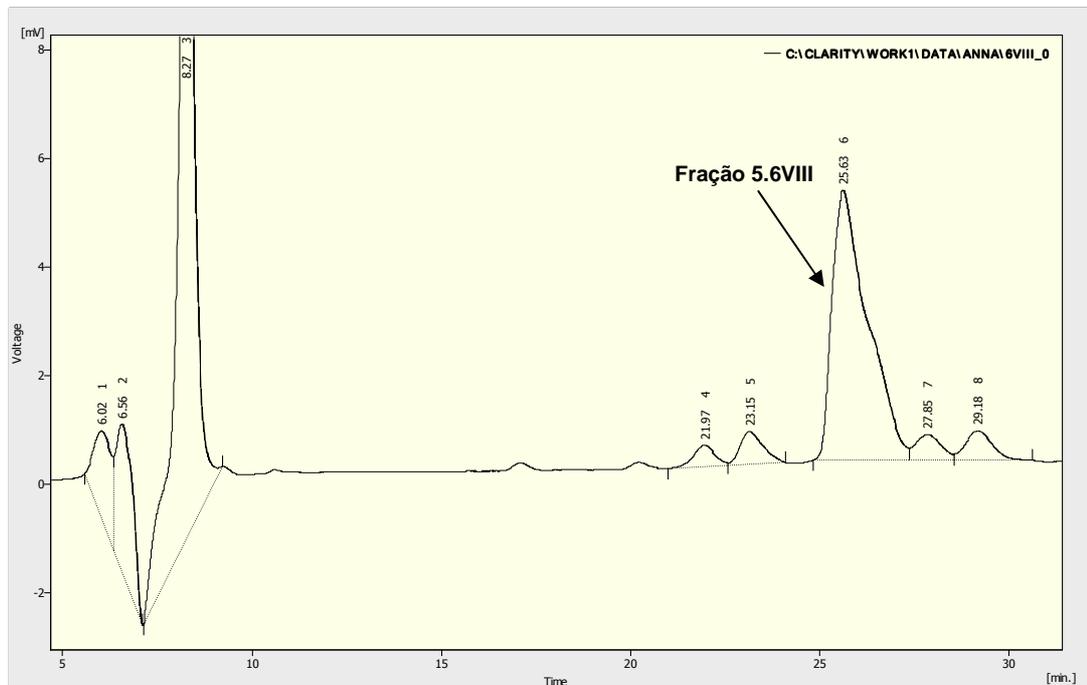


Figura 27 - Cromatograma da fração 5.6VIII obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).

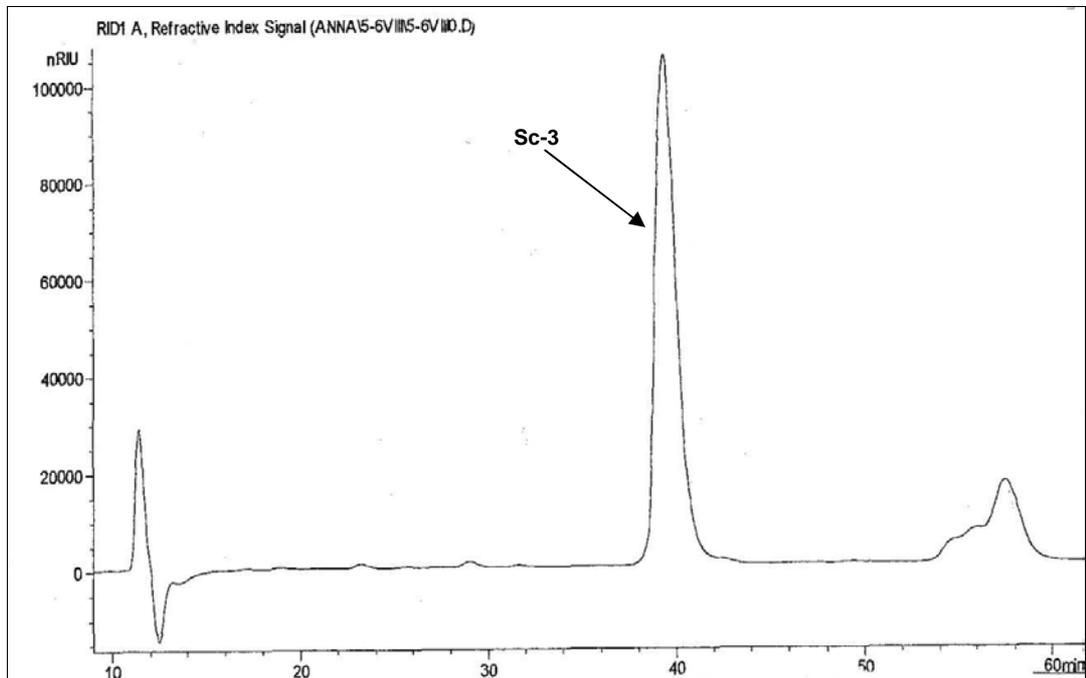


Figura 28 - Cromatograma da fração VIII.8 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

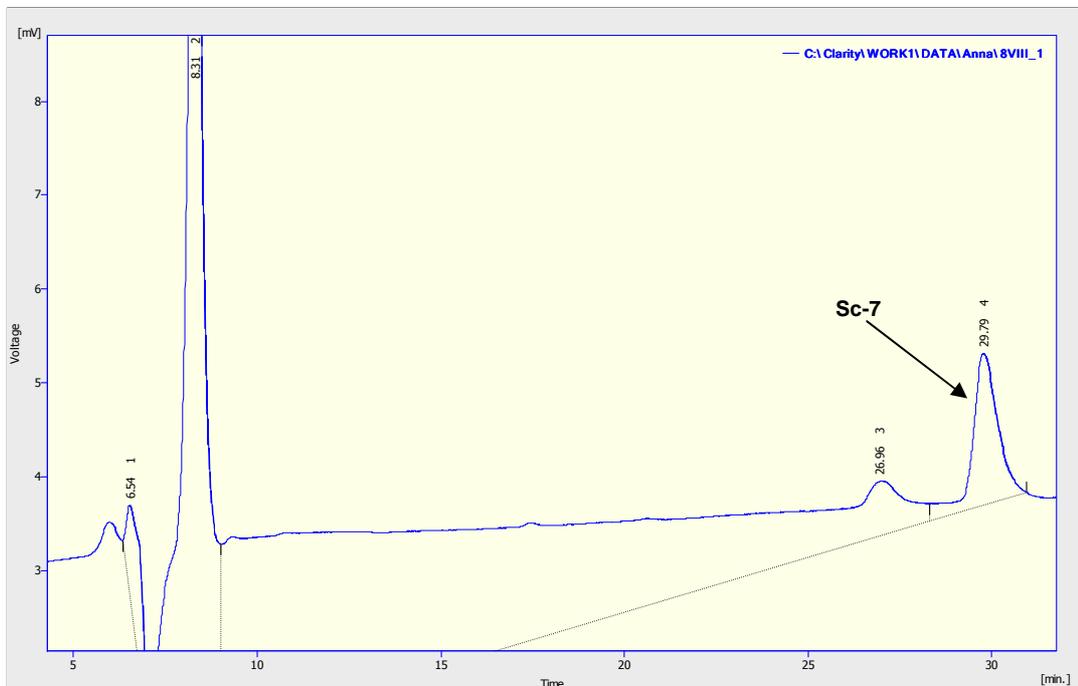


Figura 29 - Cromatograma da fração IX obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

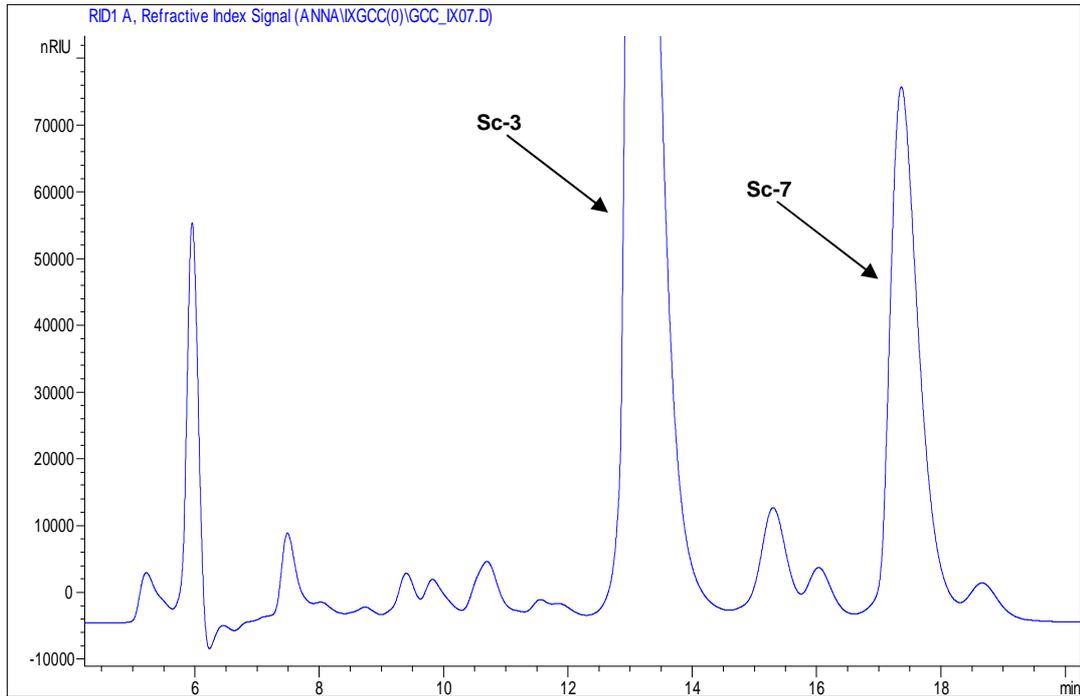


Figura 30 - Cromatograma da fração IX.9 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

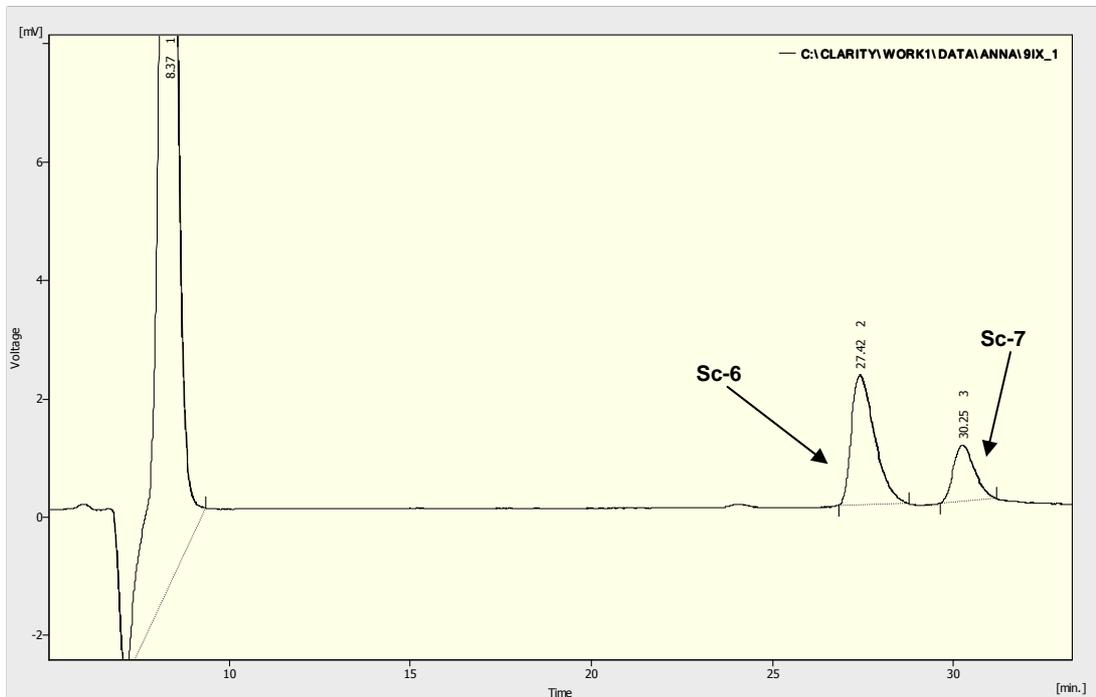


Figura 31 - Cromatograma da fração IX.W obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

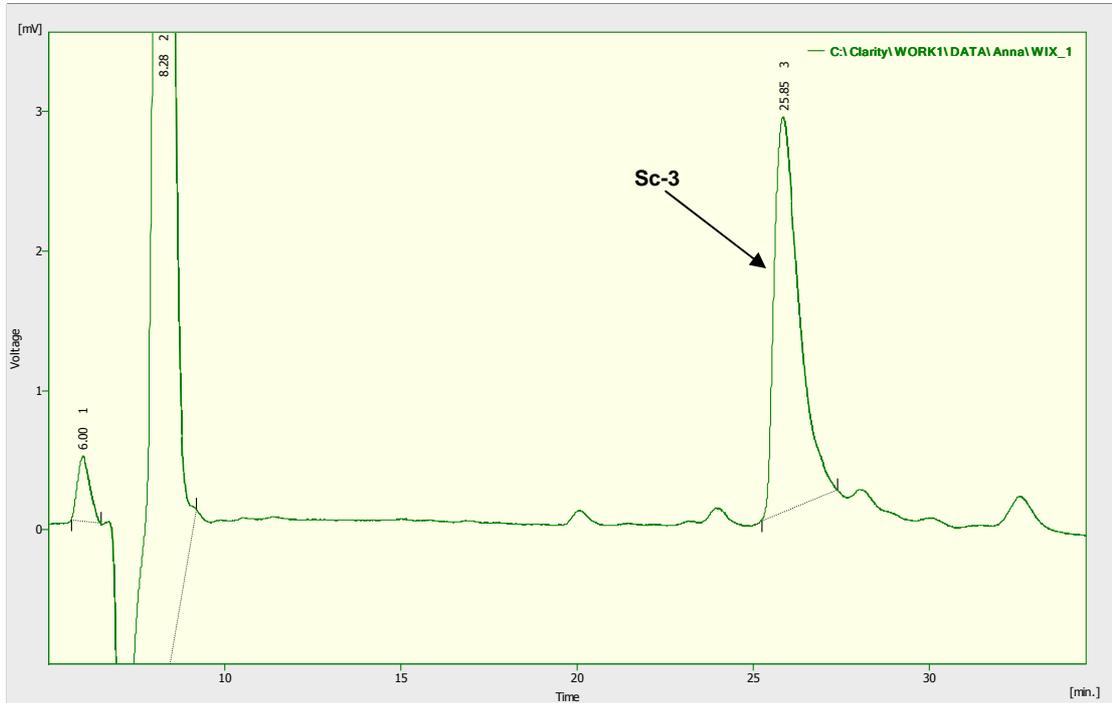


Figura 32 – Cromatograma da fração XVI obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).

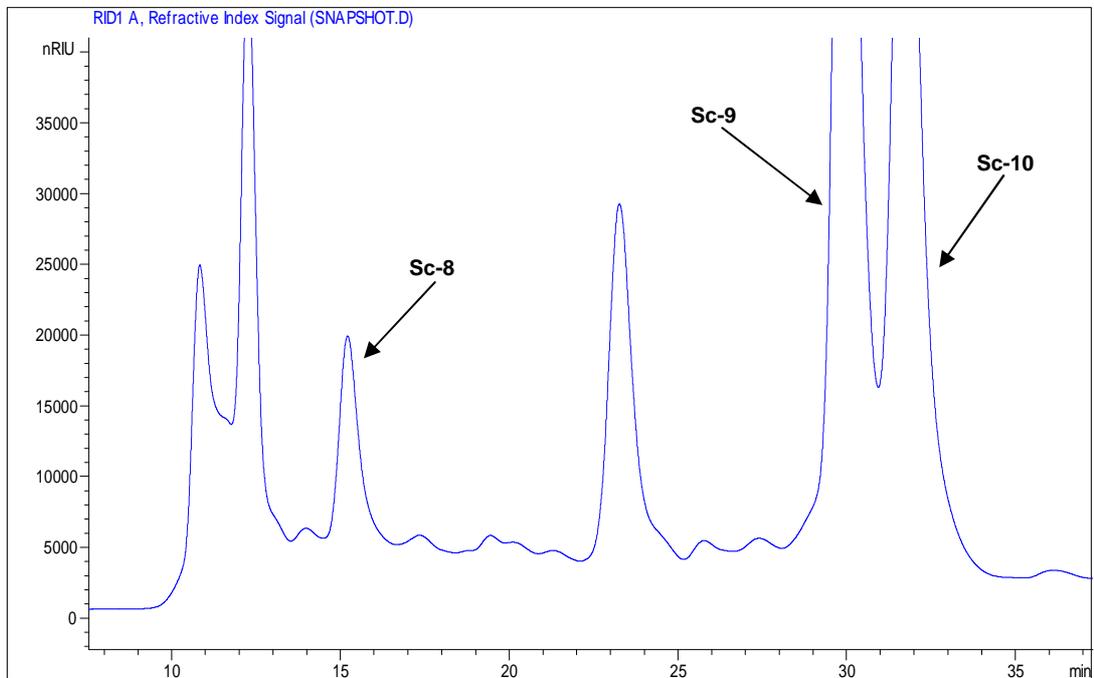


Figura 33 - Cromatograma da fração P49C obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

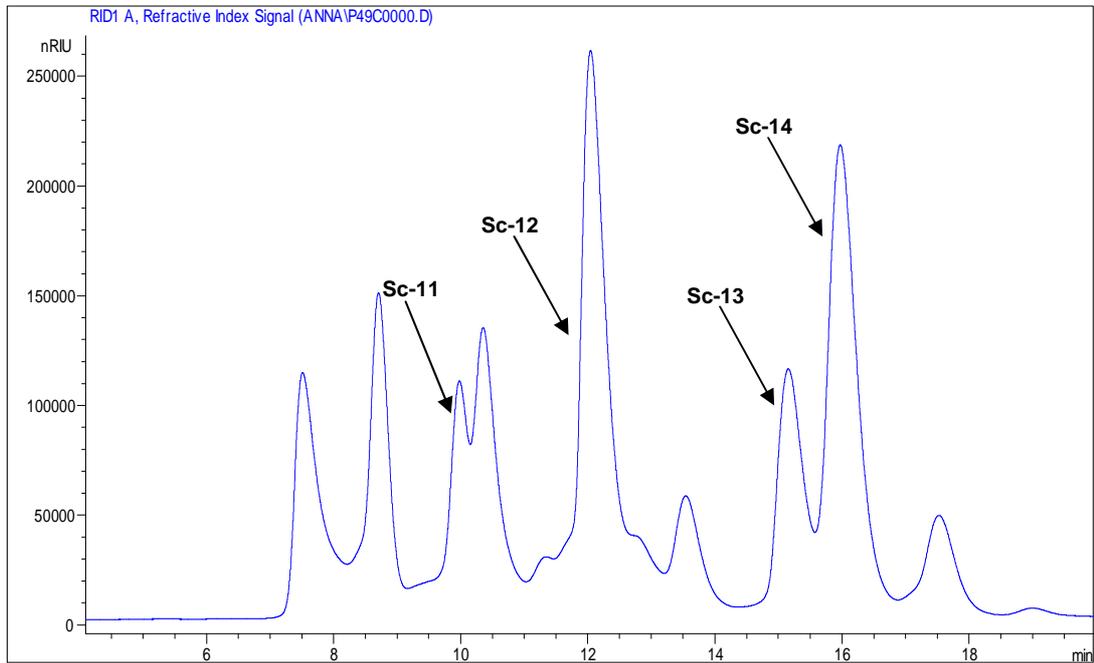


Figura 34 - Cromatograma da fração P7C obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

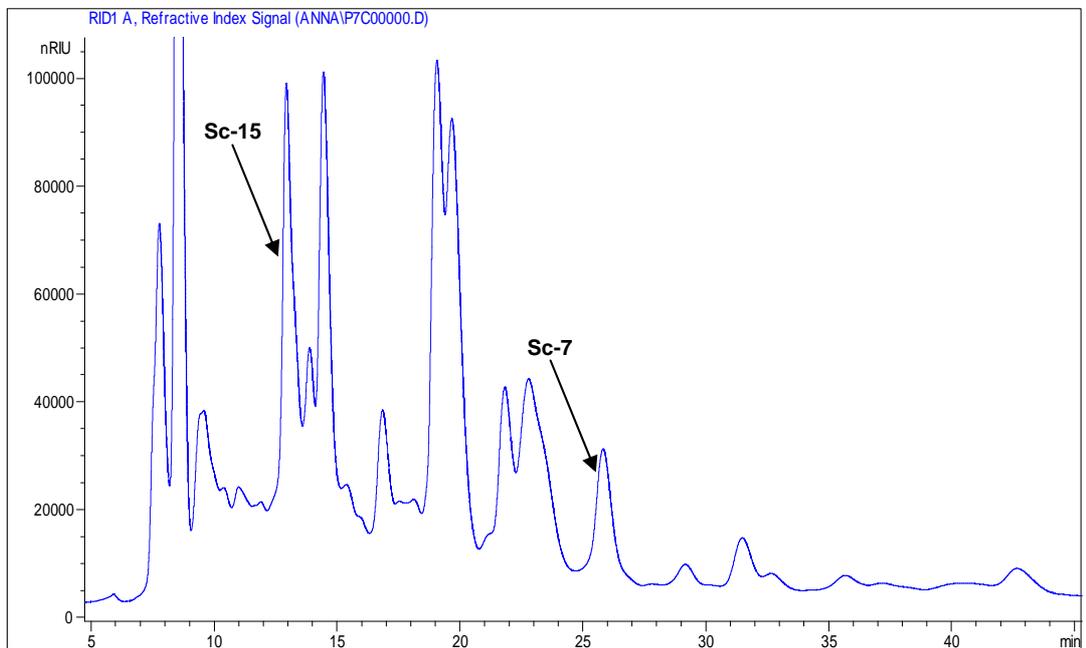


Figura 35 - Cromatograma da fração 7.P7C obtido em CLAE de fase reversa (MeCN 100%).

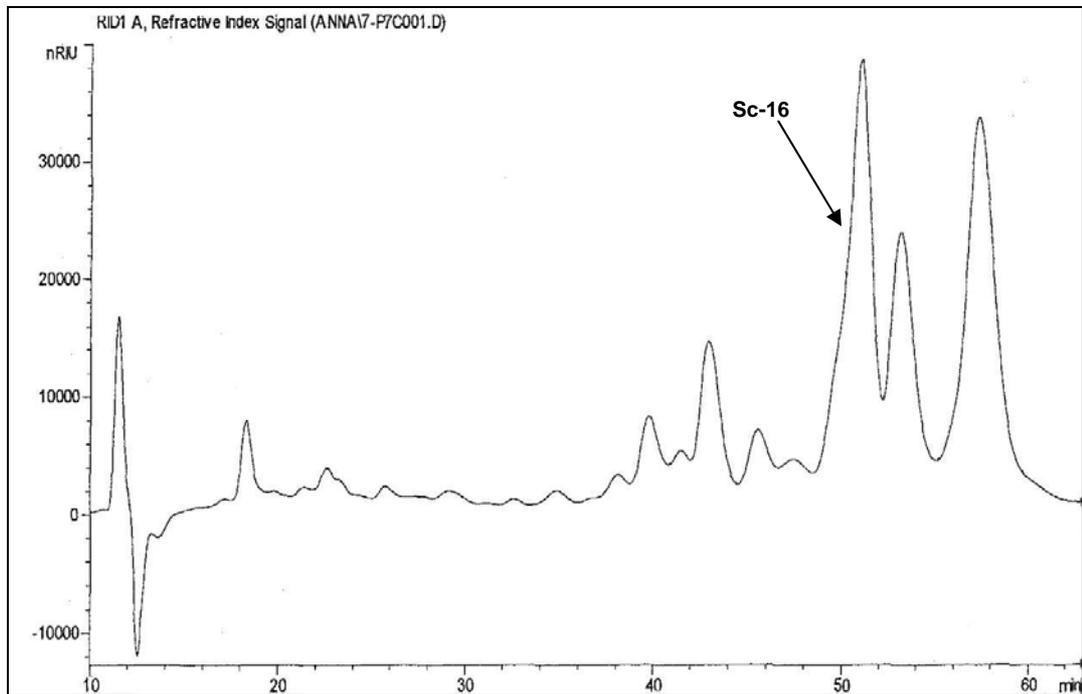


Figura 36 - Cromatograma da fração PE obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

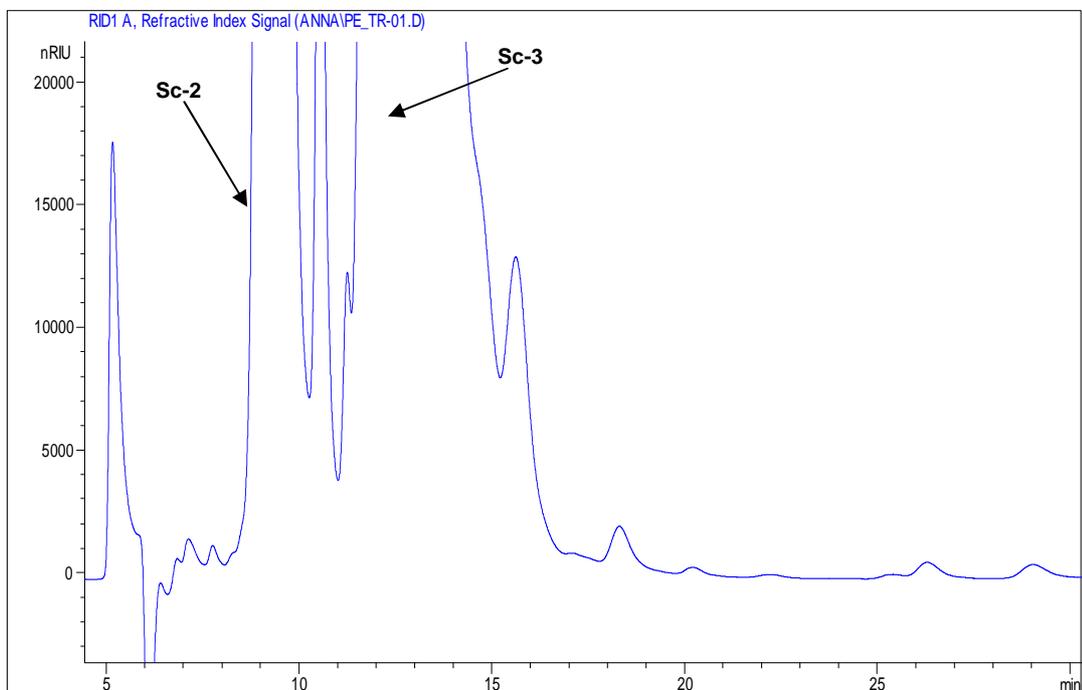


Figura 37 - Cromatograma da fração PE.5 obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

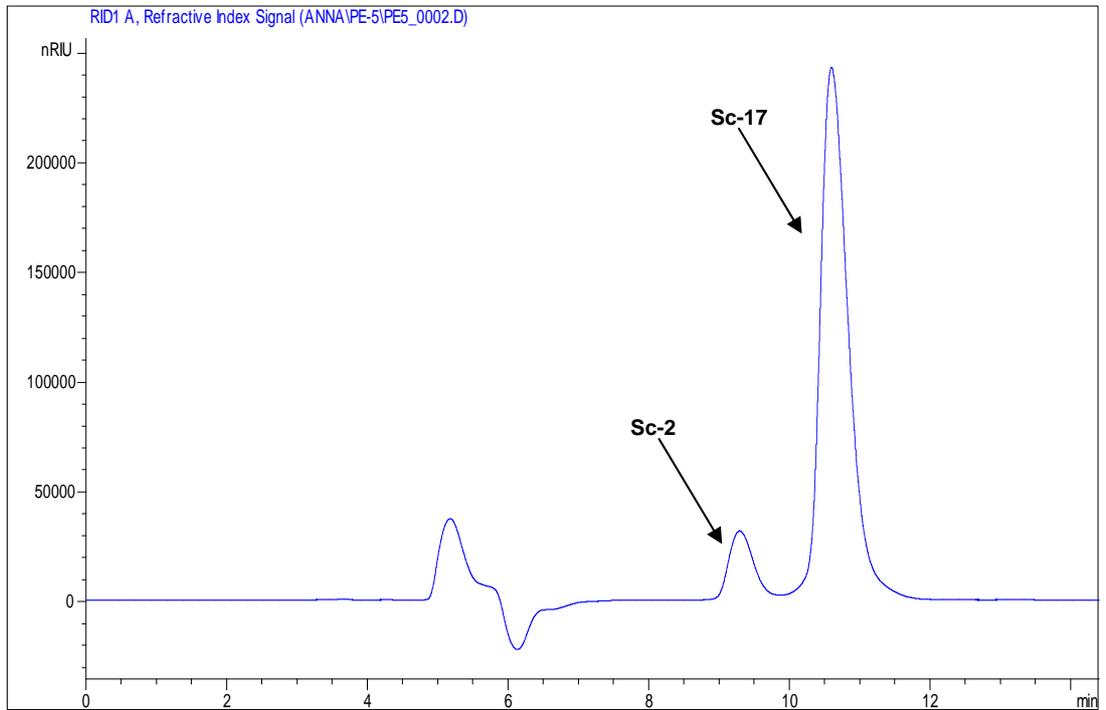


Figura 38 - Cromatograma da fração PE.10 obtido em CLAE de fase reversa (MeOH 100%).

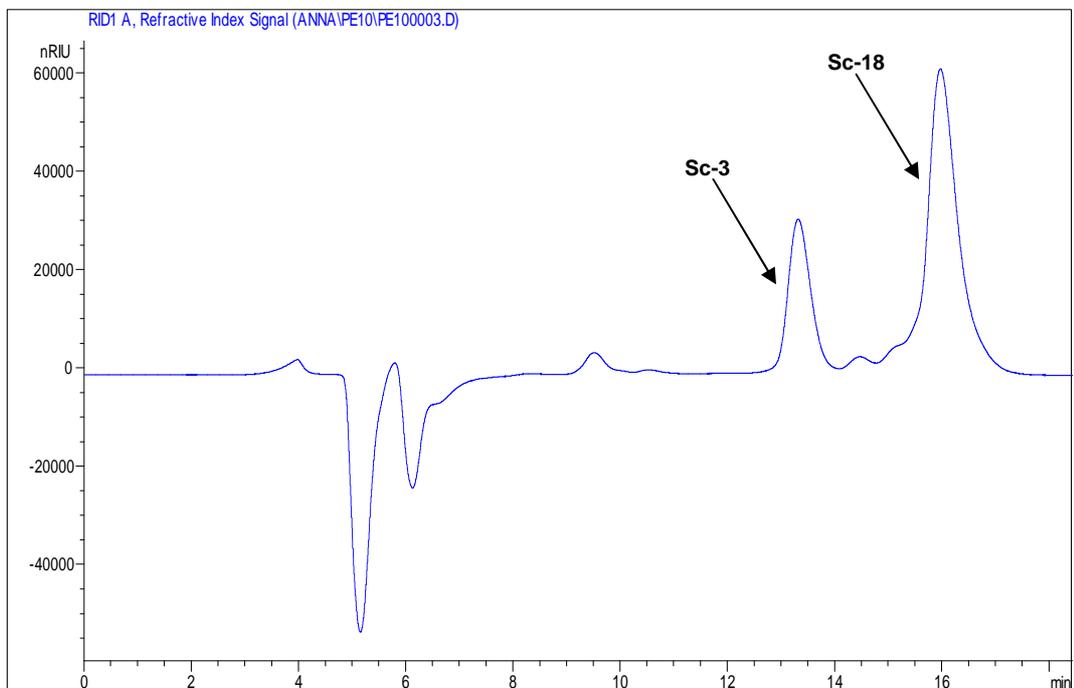


Figura 39 – Cromatograma da fração PE.4 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

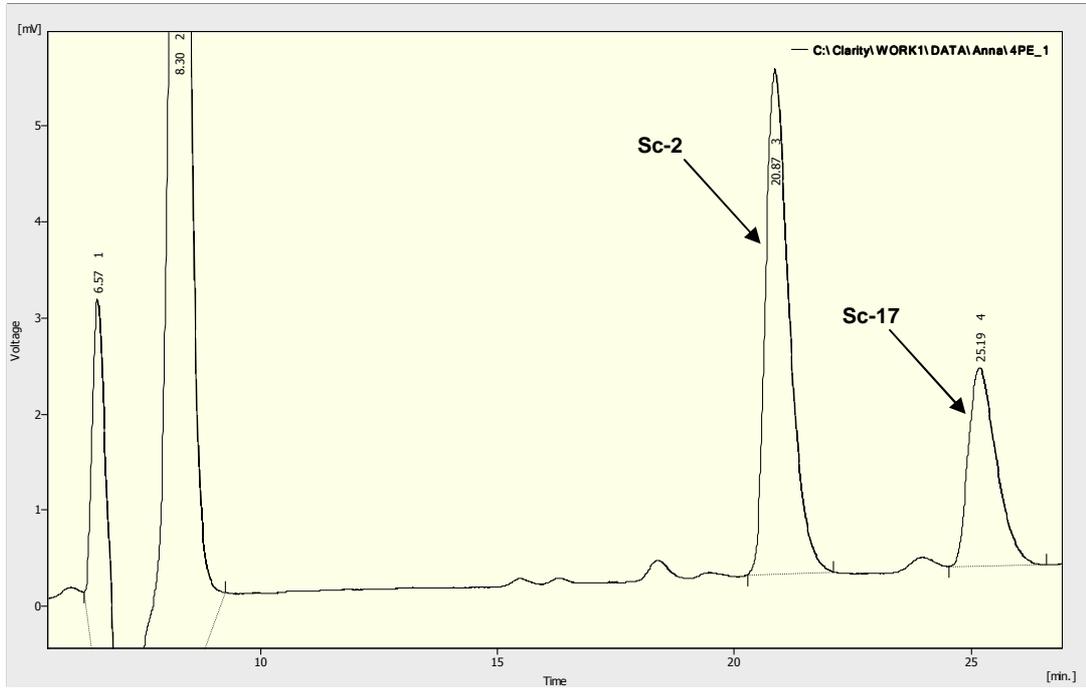


Figura 40 - Cromatograma da fração PE.6 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

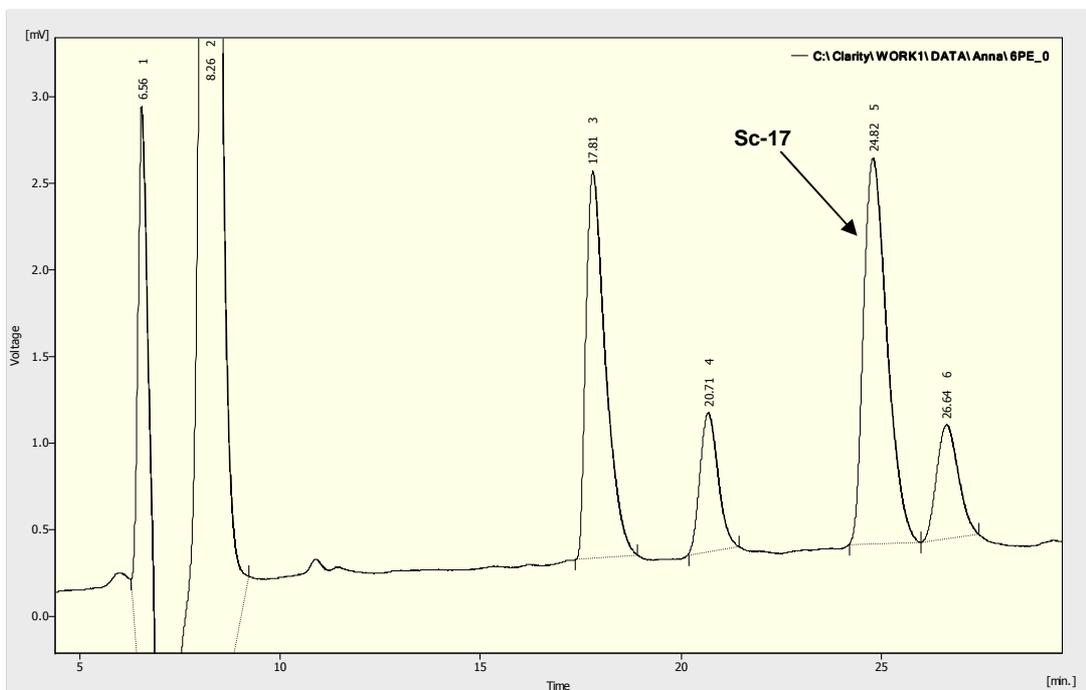


Figura 41 - Cromatograma da fração PE.7 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).

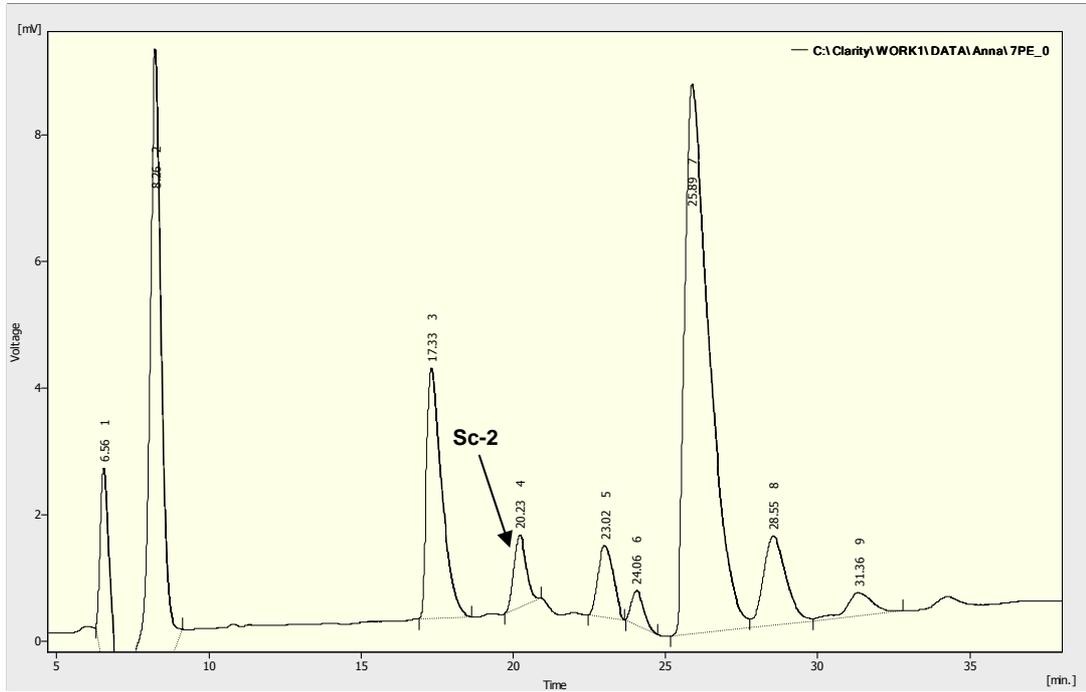
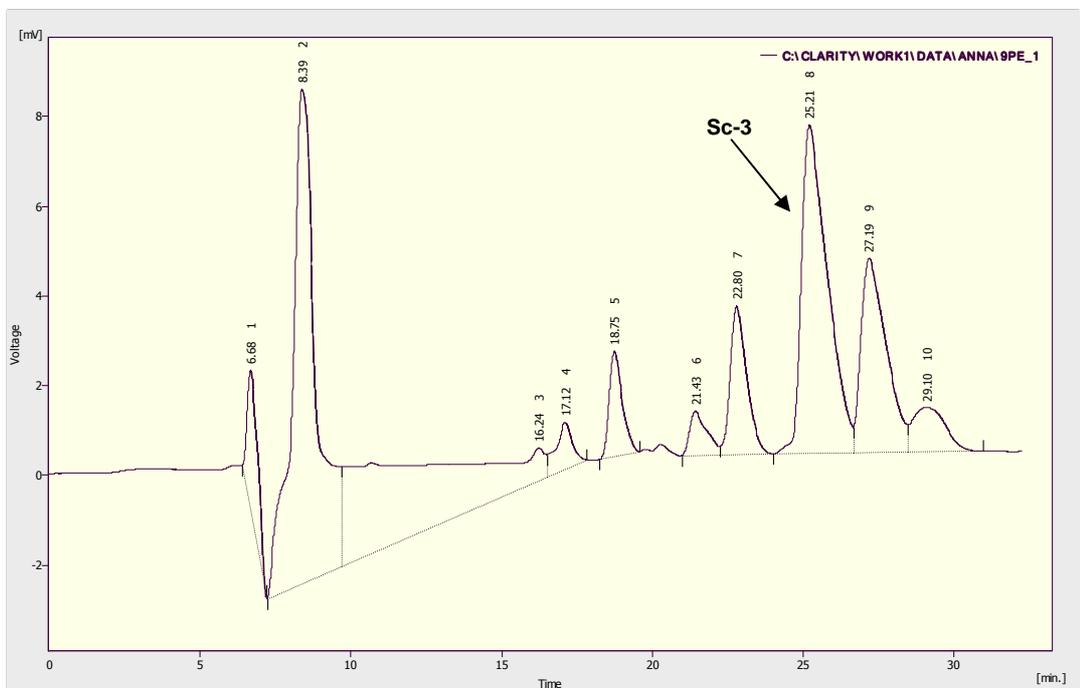


Figura 42 - Cromatograma da fração PE.9 obtido em CLAE de fase normal (5% de AcOEt em c-hex).



4.3.1 Identificação estrutural de Sc-1

O espectro de RMN ^1H (Figura 44, p. 95) e suas expansões (Figuras 45-49, p. 96-100) mostraram absorções na região entre δ 0,50 e 2,50, levando a sugerir que **Sc-1** trata-se de um mono, sesqui ou diterpeno. Dois simpletos largos em δ 4,72 e 4,70 propõem a existência de uma ligação dupla terminal (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; DE ROSA et al., 1988; FAURE et al., 1991).

Verificou-se que o espectro de RMN ^{13}C (Figura 50, p. 101) exibiu sinais para 15 carbonos, sendo 2 sp^2 e 13 do tipo sp^3 dos quais 3 são metilas, que permite propor que **Sc-1** possui um esqueleto sesquiterpênico.

A proposta de que **Sc-1** trata-se de um terpenoide foi reforçada pelo espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 51, p. 102) o qual mostrou um envelope de correlações entre hidrogênios na região entre δ 0,5 e 2,20, além dos sinais que confirmam o grupo vinila ao mostrar correlações entre os hidrogênios H-15a e H-15b em δ 4,72 e 4,70, respectivamente.

Comparações dos dados de RMN ^1H e ^{13}C com dados da literatura (Tabela 4, p. 94) permitiram propor que **Sc-1** trata-se do sesquiterpeno (-) alo-aromadendreno (Figura 43), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

O espectro de massas (Figura 52, p. 103) mostrou o pico do íon molecular em M^+ 204 u.m.a. Este dado permitiu atribuir a **Sc-1** uma fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$, ratificando, portanto, a estrutura proposta para **Sc-1**. O Esquema 7 (p. 104) exhibe alguns fragmentos fornecidos pela molécula.

Figura 43 – Estrutura química de Sc-1.

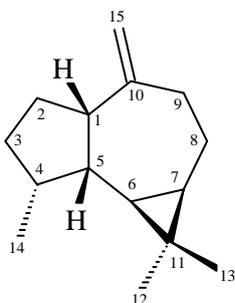


Tabela 4 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-1 com modelo Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) da literatura (DE ROSA et al., 1988).

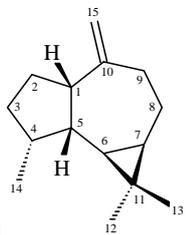
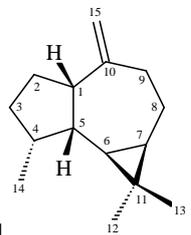
 Sc-1				 Mo-1		
No.	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	2,66	dd 8,20	50,76	2,67	m	51,00
2	a 1,89	m	28,19	a 1,73	m	28,30
	b 1,73	m		b 1,73	m	
3	a 1,73	m	31,19	a 1,80-1,90	m	31,30
	b 1,32	m		b 1,80-1,90	m	
4	2,07	m	37,78	2,07	m	37,80
5	1,86	m	42,16	1,80-1,90	m	42,30
6	0,24	dd 10,96; 9,40	23,52	0,25	dd 11,0; 9,6	23,70
7	0,55	ddd 10,96; 9,40; 5,88	24,79	0,56	m	25,00
8	a 1,83	m	22,12	a 1,80-1,90	m	22,20
	b 1,24	m		b 1,80-1,90	m	
9	a 2,31	m	35,69	a 2,32	m	35,80
	b 2,31	m		b 2,32	m	
10	–	–	152,14	–	–	152,50
11	–	–	17,13	–	–	17,30
12	1,00	s	28,56	1,00	s	28,70
13	0,96	s	15,80	0,96	s	15,80
14	0,94	d 7,04	16,37	0,94	d 7,2	16,40
15	a 4,72	sl	109,74	a 4,71	sl	109,60
	b 4,70	sl		b 4,71	sl	

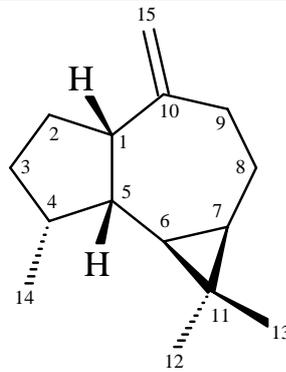
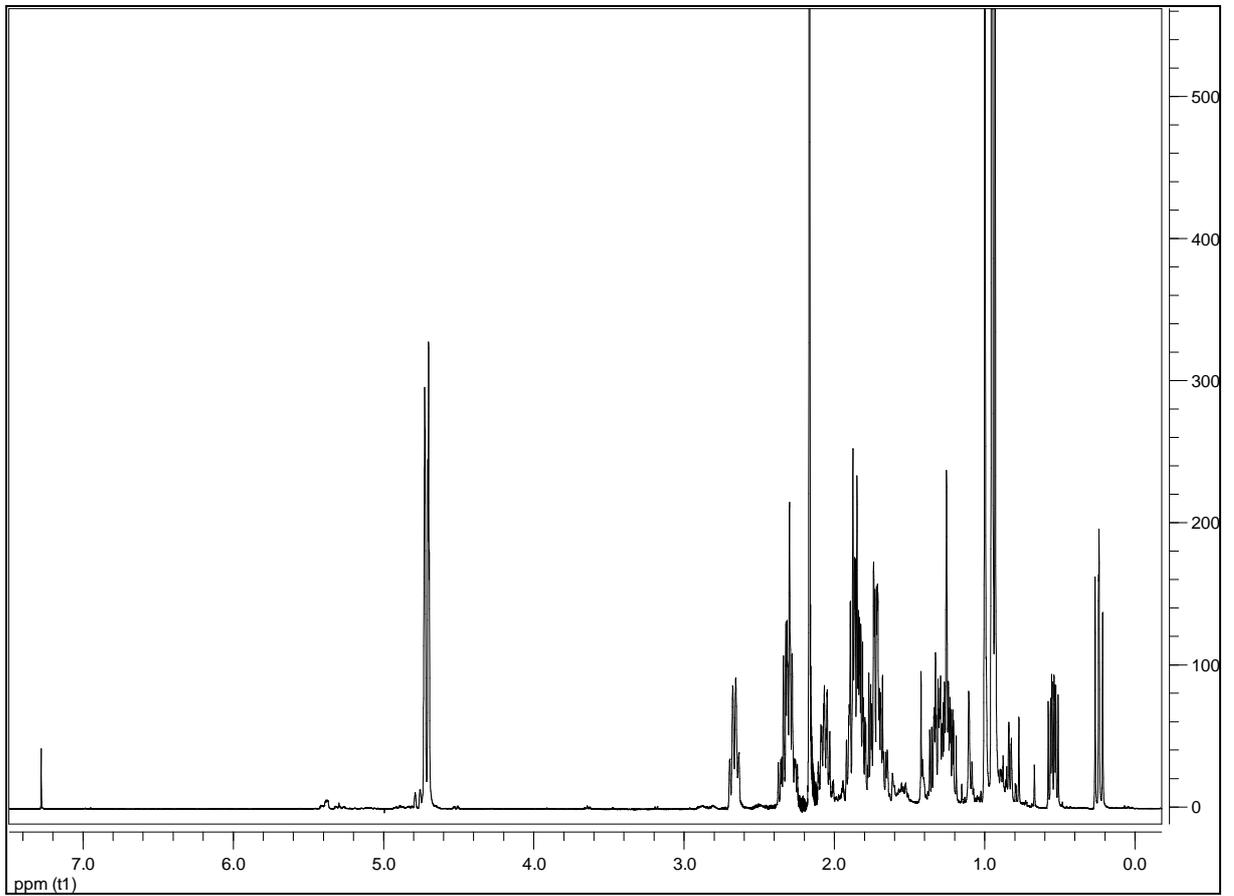
Figura 44 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

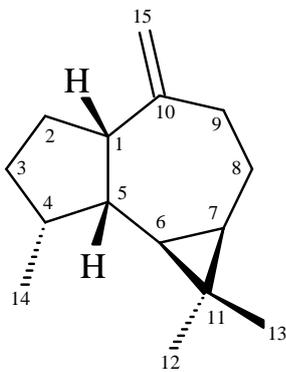
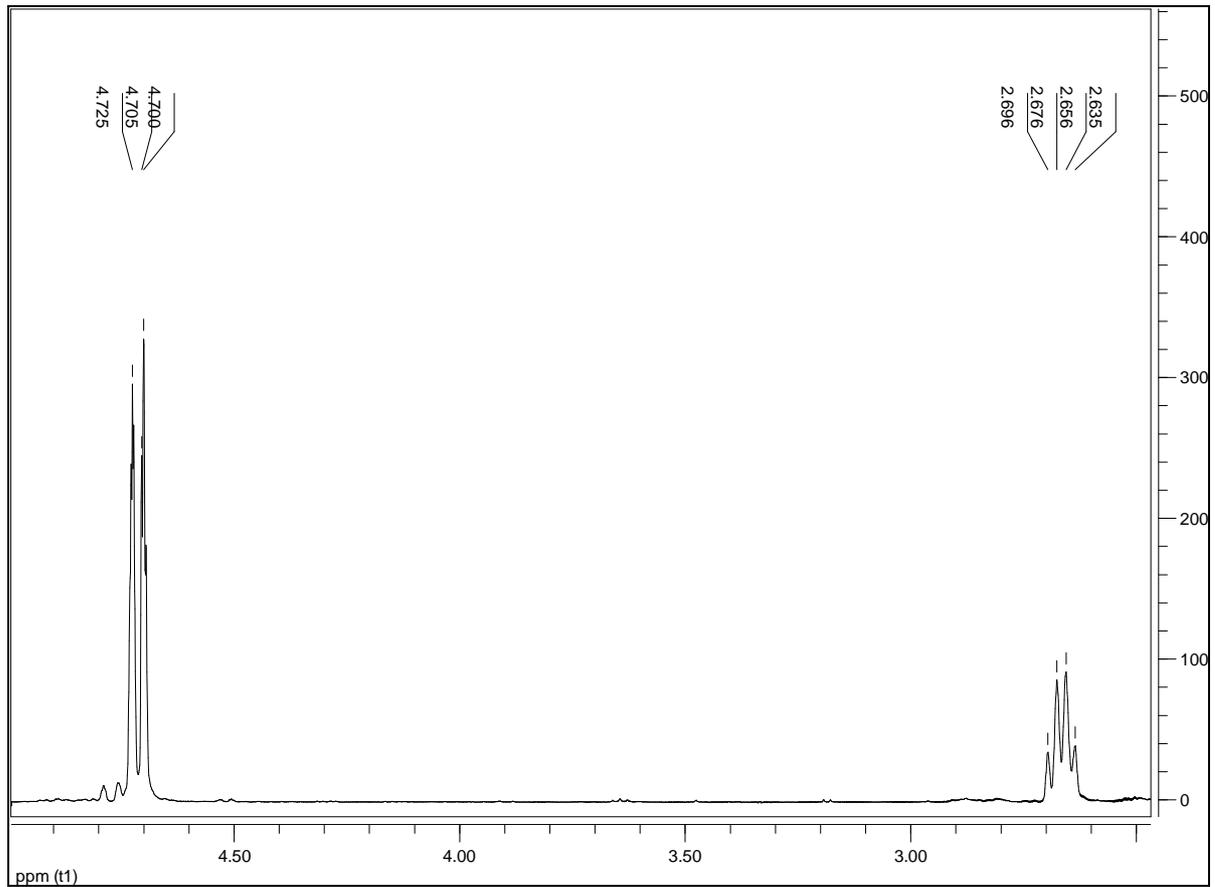
Figura 45 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

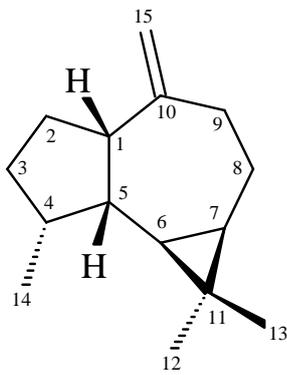
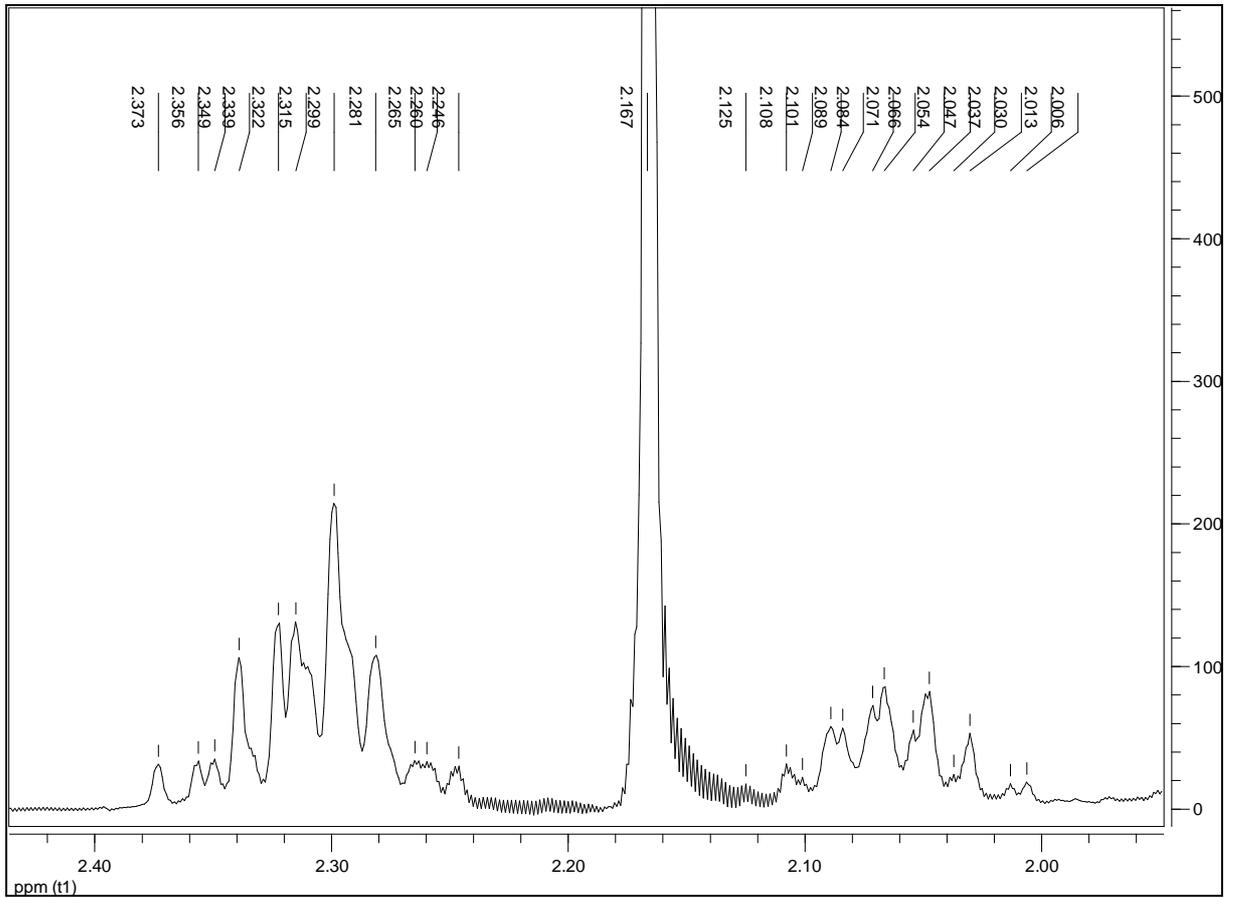
Figura 46 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

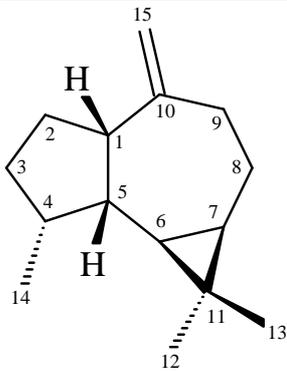
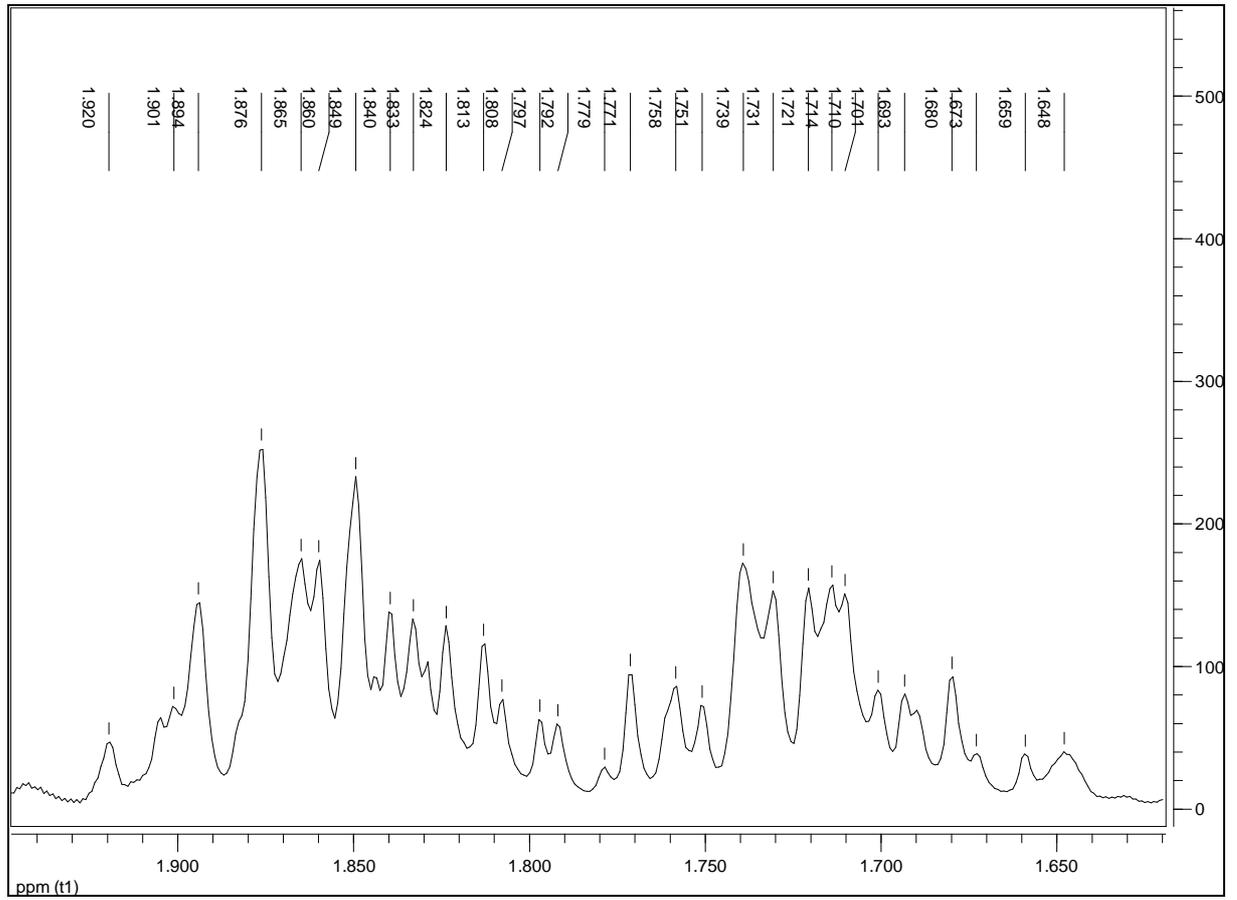
Figura 47 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

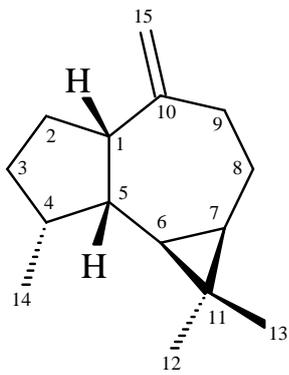
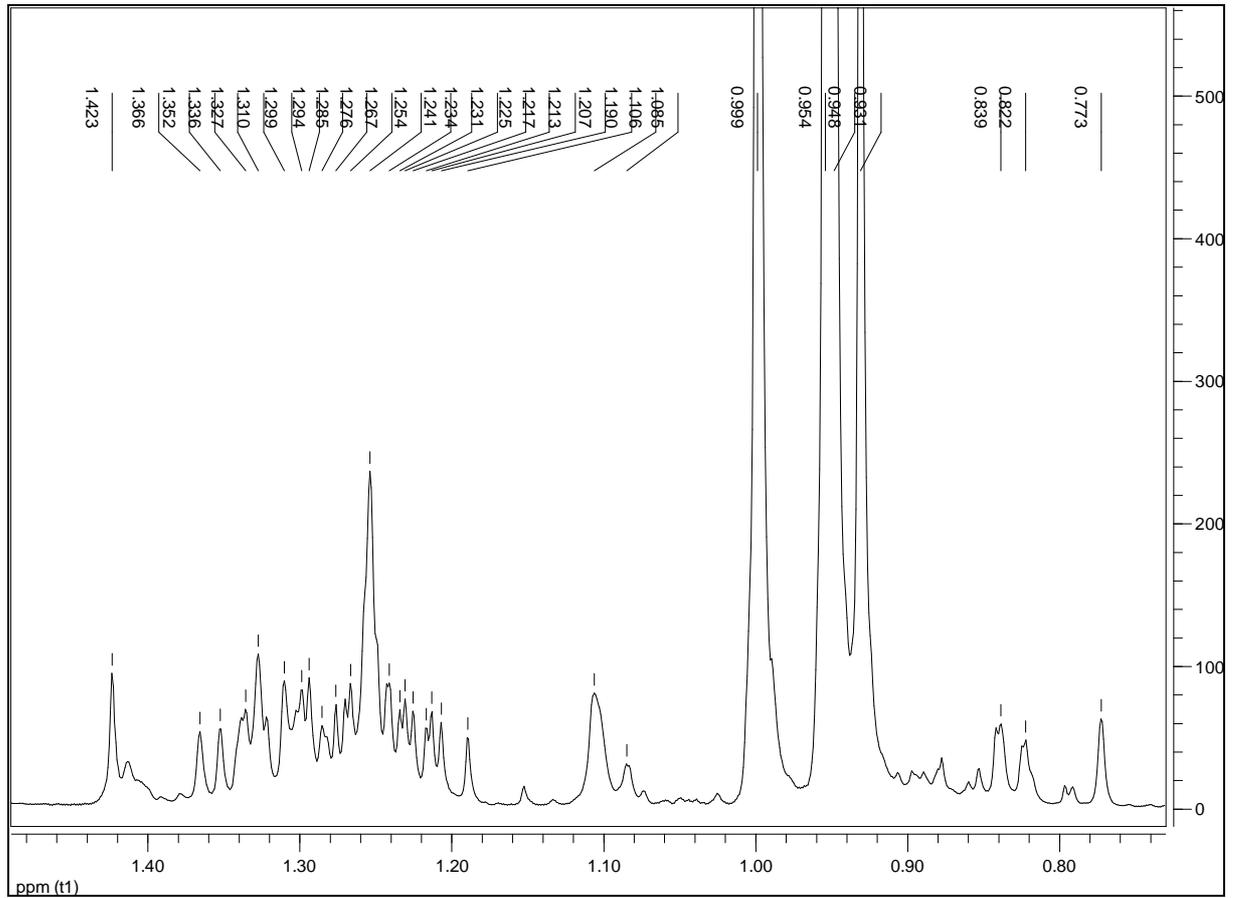
Figura 48 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

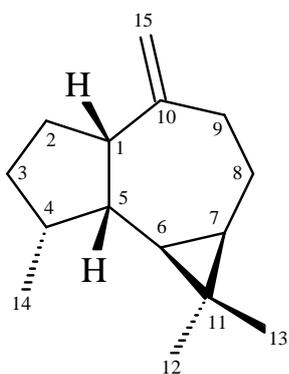
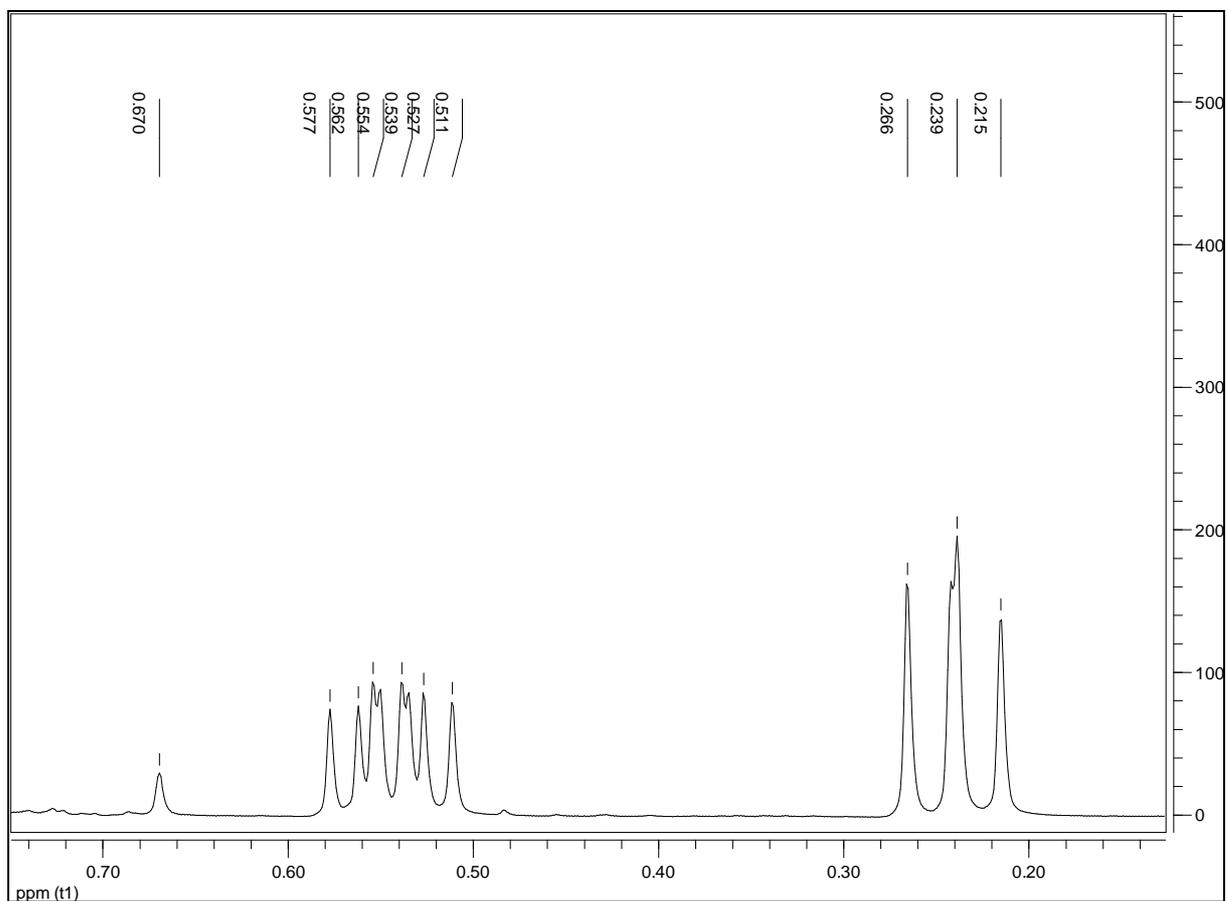
Figura 49 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

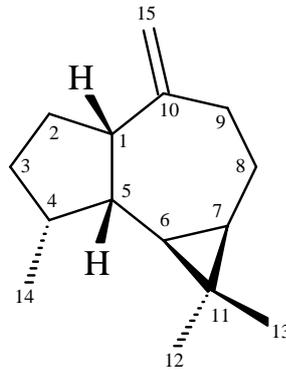
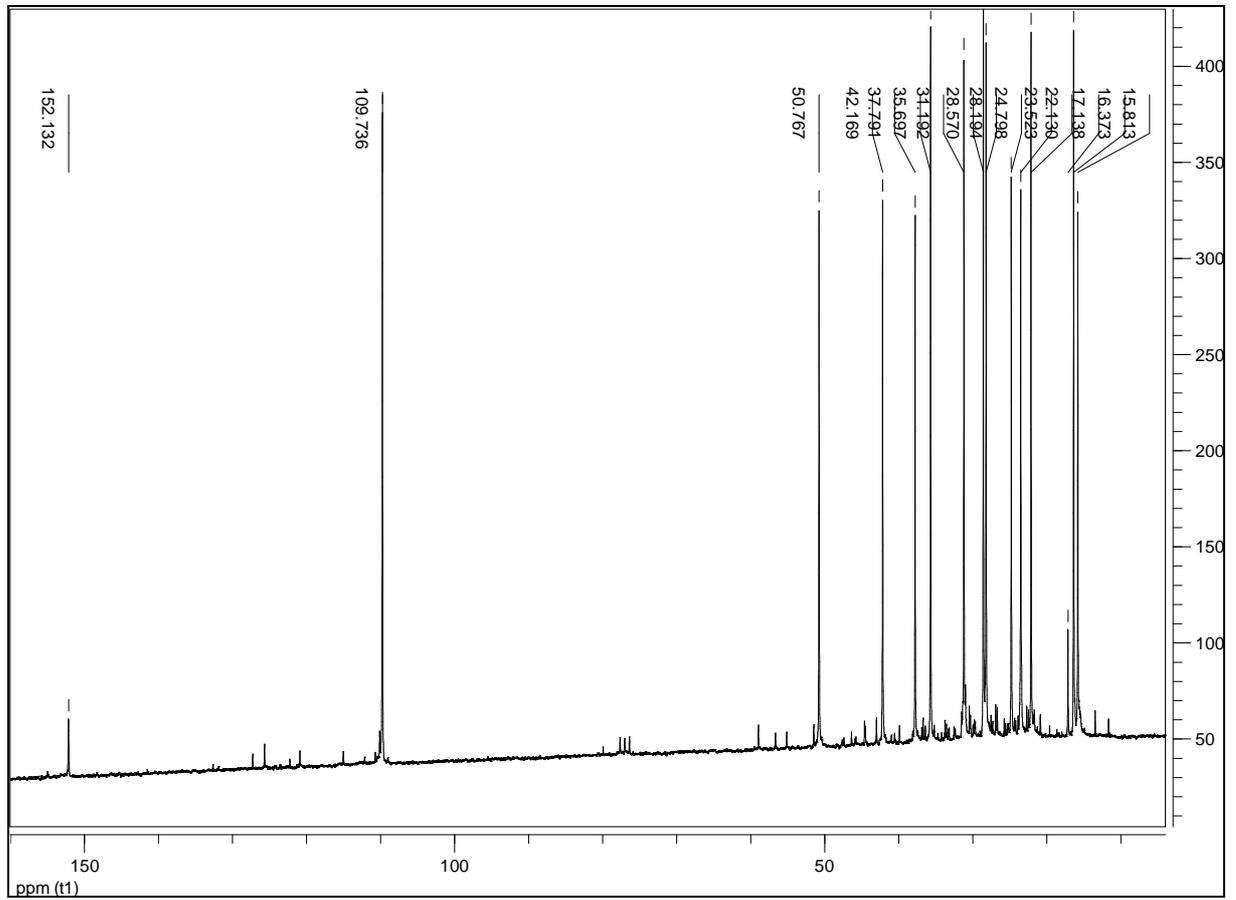
Figura 50 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-1.

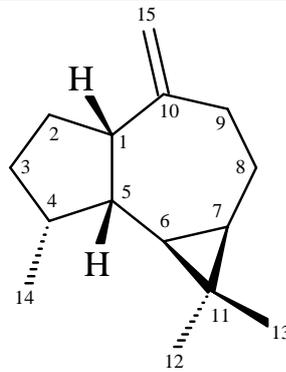
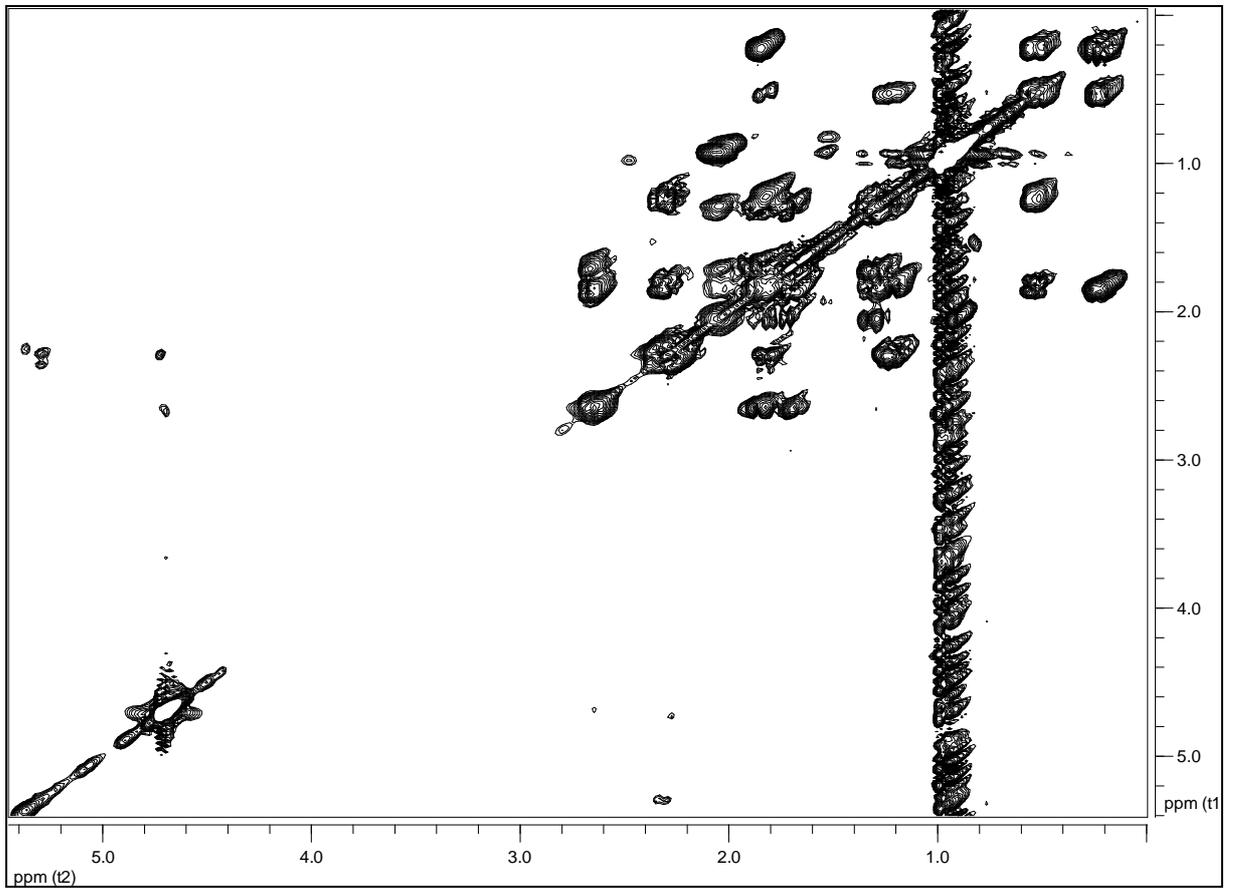
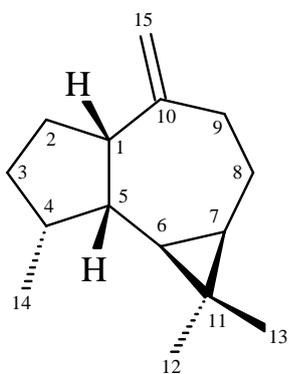
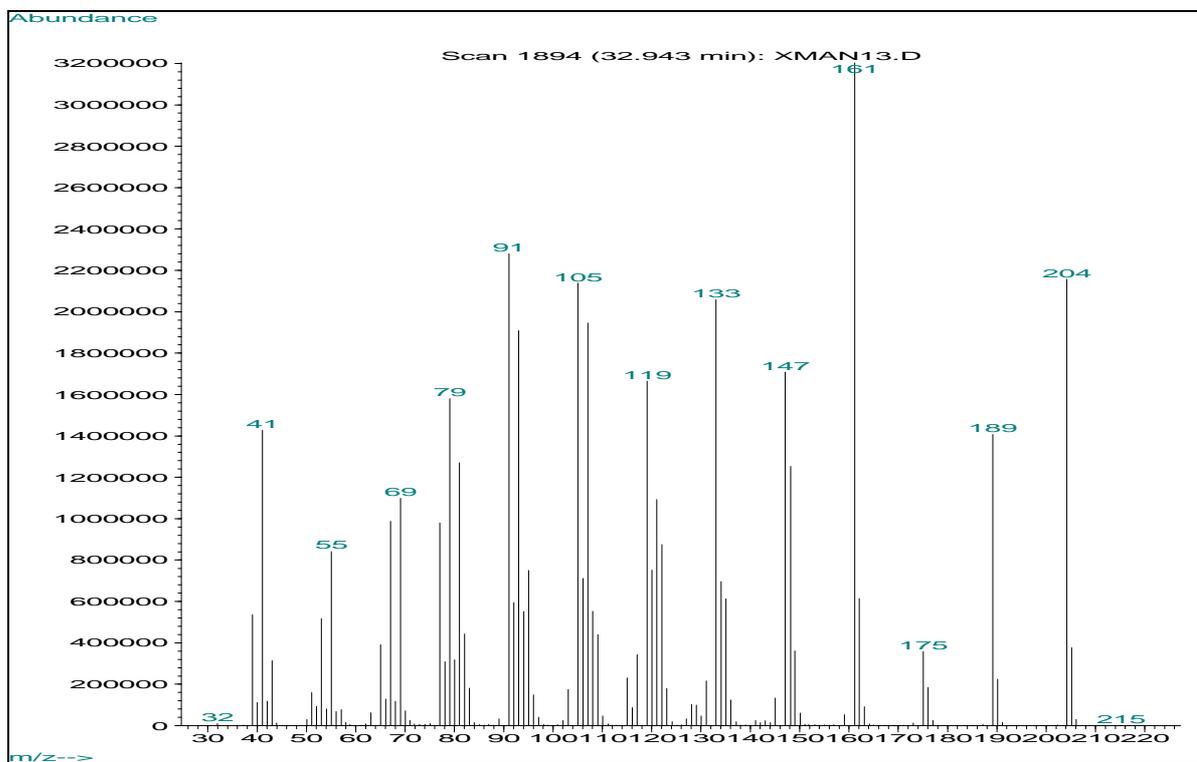
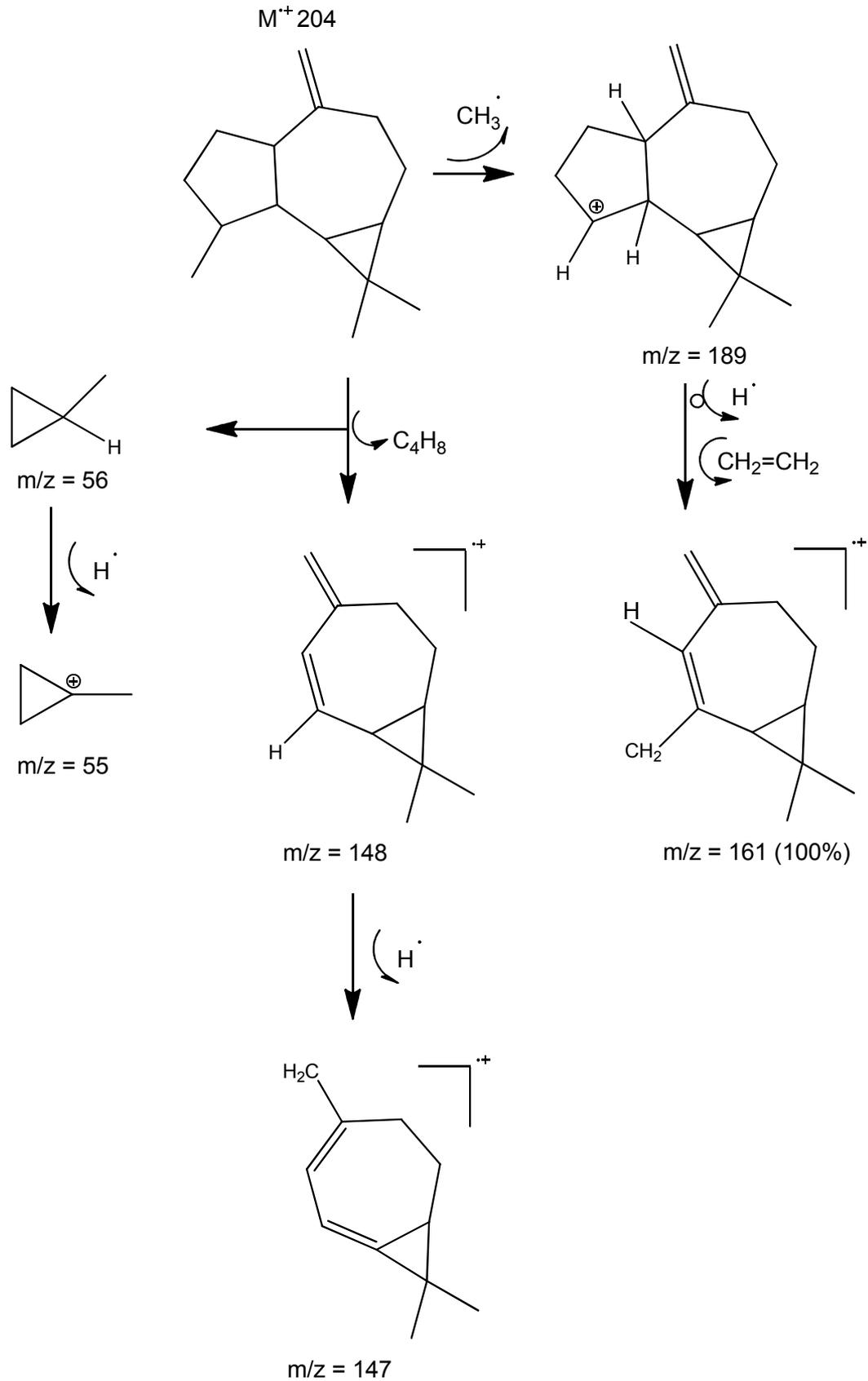
Figura 51 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-1.

Figura 52 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-1.



Esquema 7 – Proposta de estrutura para os fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-1.



4.3.2 Identificação estrutural de **Sc-2**

A substância **Sc-2** apresentou-se como cristais brancos.

Os espectros de RMN ^1H e expansões (Figuras 54-61, p. 108-115) e RMN ^{13}C e expansões (Figuras 62-64, p. 116-118) de **Sc-2** mostraram perfis semelhantes na região de δ 0 a δ 3 àqueles exibidos por **Sc-1**, sugerindo que esta molécula trata-se de um terpenoide. Todavia, a presença de sinais em δ 5,73; 6,03; 6,05 e 6,81 permite propor que **Sc-2** possui mais dois hidrogênios de carbono sp^2 , quando comparado com **Sc-1**.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C e expansões (Figuras 62-64, p. 116-118) indicou que **Sc-2** trata-se de um diterpeno ao exibir sinais para 20 carbonos.

A existência de duas duplas ligações na molécula foi ainda evidenciada pelos sinais para carbonos sp^2 metínicos em δ 162,03; 124,41; 128,19 e 127,66 ppm, enquanto a presença de um grupo carbonila de cetona α,β -insaturada é definida pelo sinal em δ 203,40 ppm.

Uma análise comparativa entre o dados de **Sc-2** (Tabela 5, p. 107) com modelos da literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a; ETAHIRI et al., 2001; DE ROSA et al., 1988; FENICAL et al., 1976) permitiu propor que **Sc-2** refere-se ao diterpeno Sphaerococcenol A (Figura 53, p. 106), substância re-isolada de *S. coronopifolius* que tem potente atividade antitumoral relatada na literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a) e, juntamente com a substância codificada como **Sc-3**, constituem substâncias majoritárias que são responsáveis por cerca de um terço do rendimento do extrato orgânico da referida alga.

O espectro de massas (Figura 65, p. 119) exibiu o pico do íon molecular em M^{*+} 380, condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{BrO}_2$ confirmando, portanto, a proposta da estrutura para **Sc-2**. O Esquema 8 (p. 120) mostra alguns fragmentos dessa molécula.

Figura 53 – Estrutura química de Sc-2.

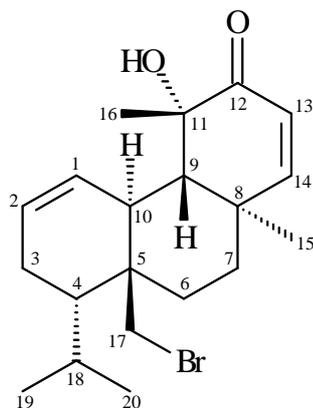


Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.

No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	6,03	dl 10,4	128,18
2	5,73	ddd 10,4; 5,0; 2,5	127,65
3	a 2,15	dddt 19,5; 7,0; 5,0; 2,5	22,28
	b 1,98		
4	1,76	dl 7,0	41,98
5	–	–	40,18
6	a 1,83	dddd 13,7; 13,2; 4,6; 2,5	32,97
	b 1,57		
7	a 1,66	ddd 13,2; 13,2; 3,7	24,45
	b 1,45		
8	–	–	36,79
9	1,91	d 12,4	45,43
10	2,88	ddd 12,4; 5,0; 2,5	35,44
11	–	–	75,27
12	–	–	203,37
13	6,05	d 10,0	124,40
14	6,81	d 10,0	162,02
15	1,07	s	21,36
16	1,32	s	31,30
17	a 3,88	d 10,4	39,86
	b 3,70		
18	1,95	m	25,80
19	0,96	d 6,8	25,92
20	0,90	d 6,8	19,45

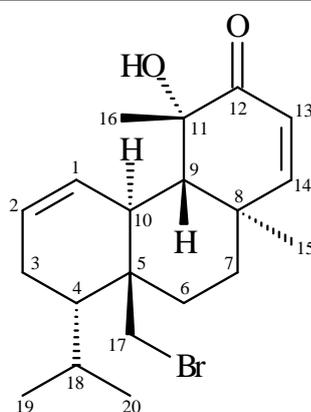


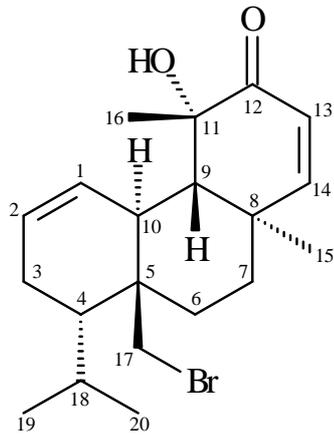
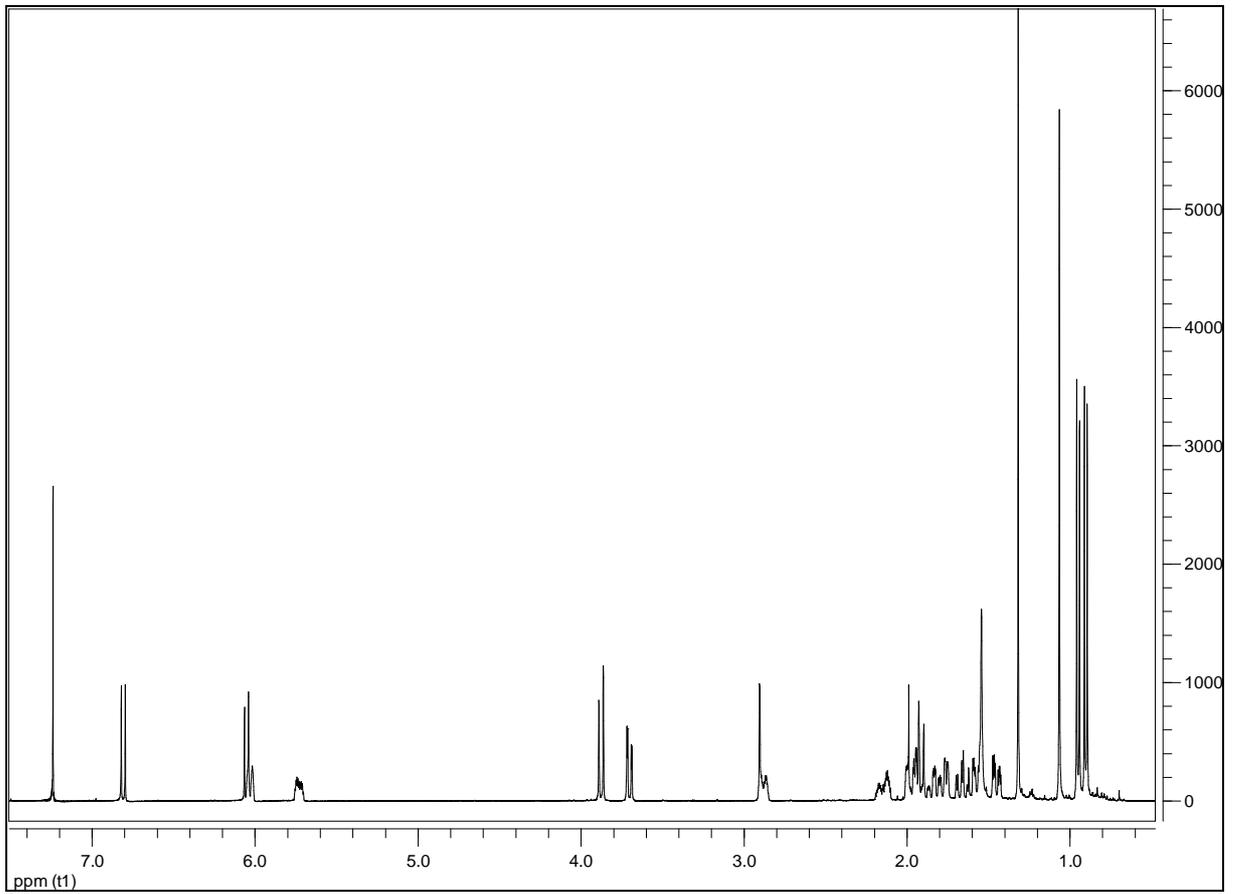
Figura 54 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

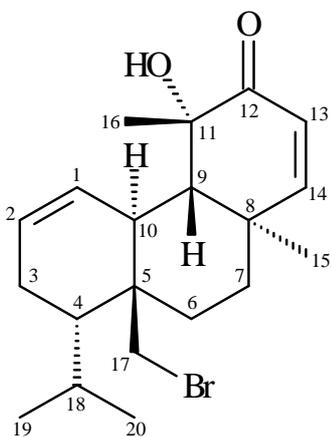
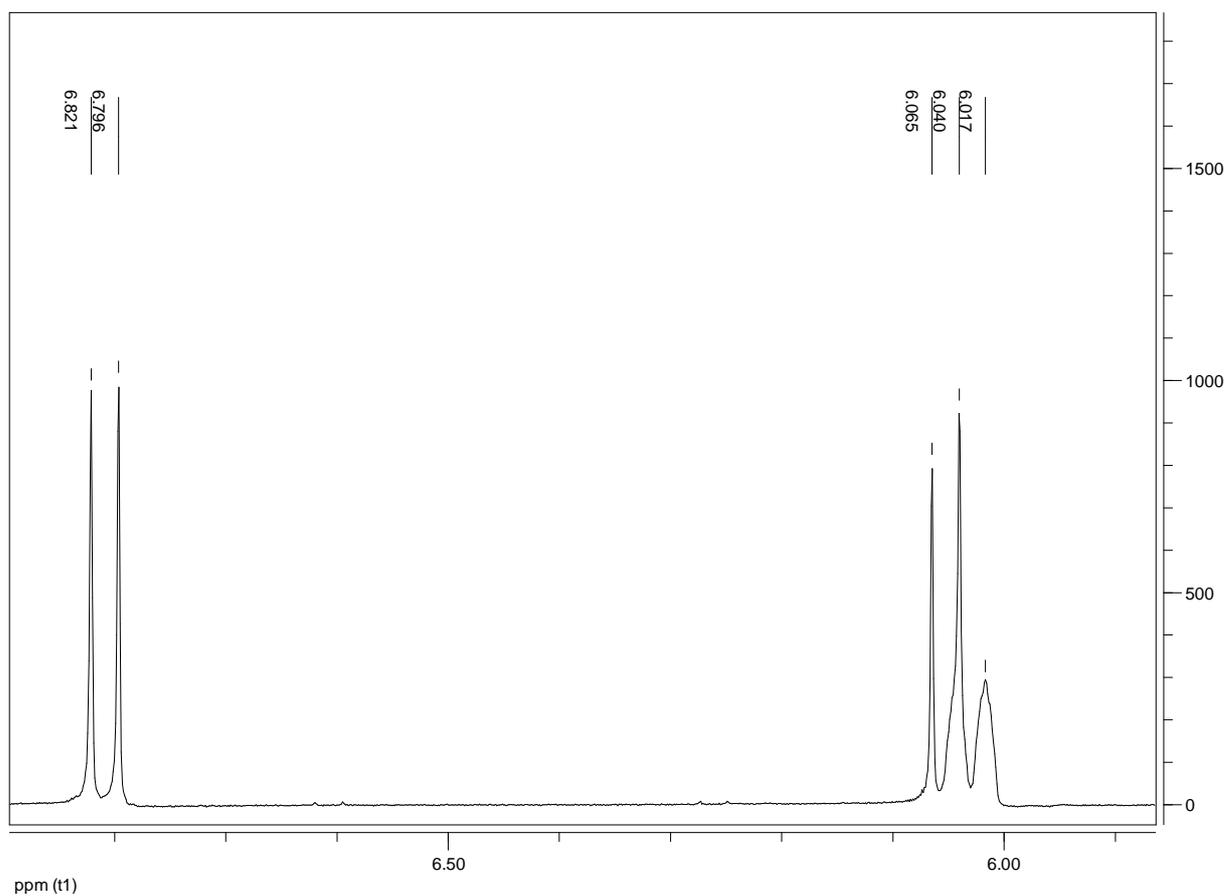
Figura 55 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

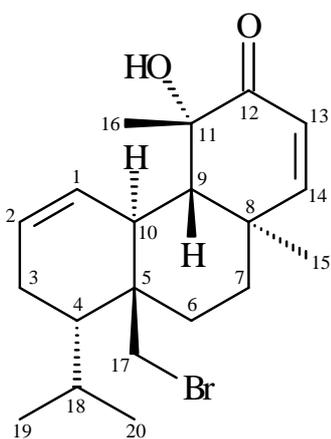
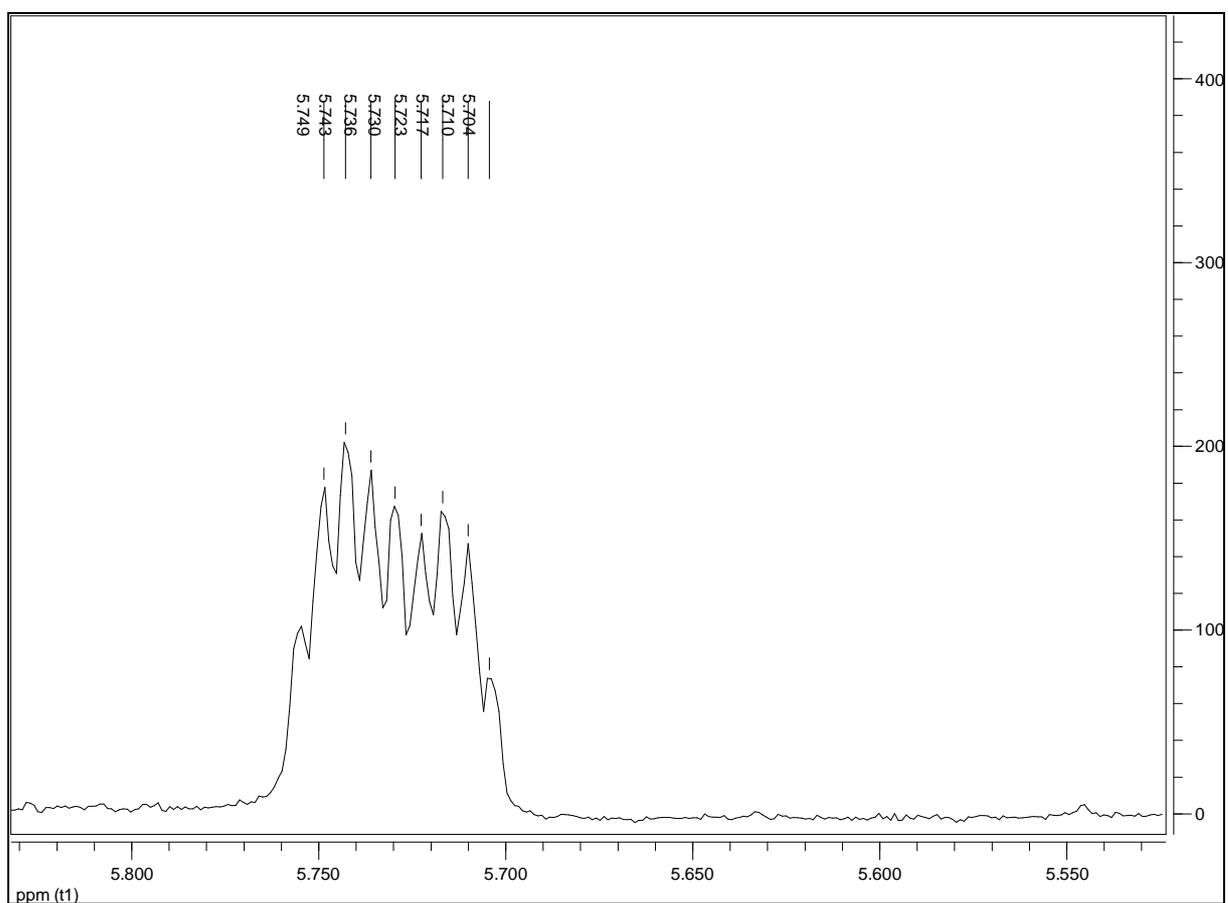
Figura 56 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

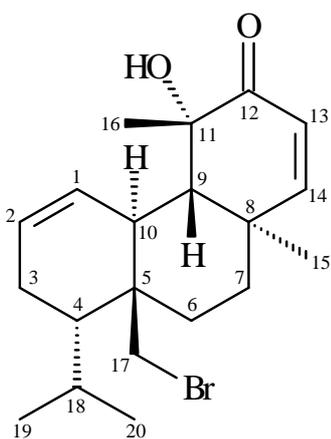
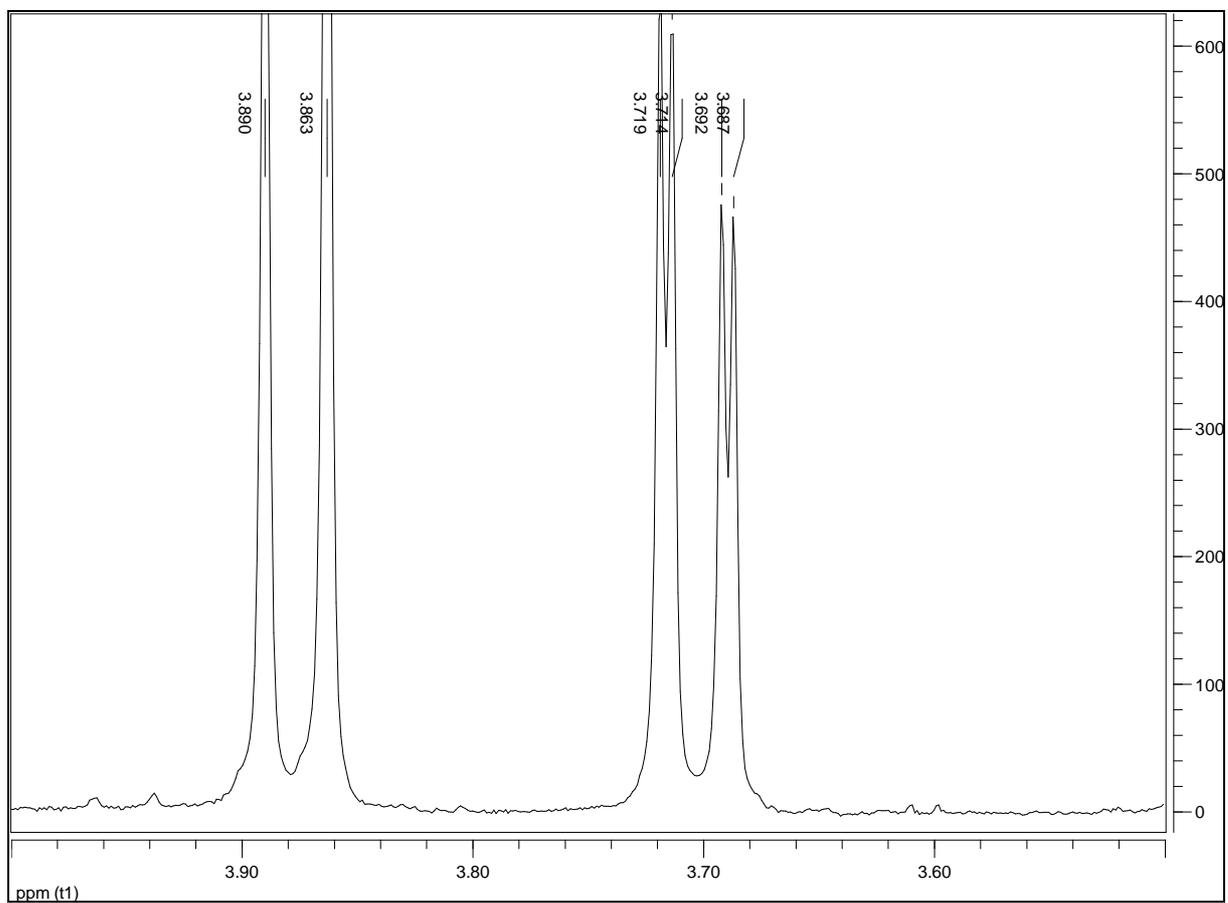
Figura 57 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

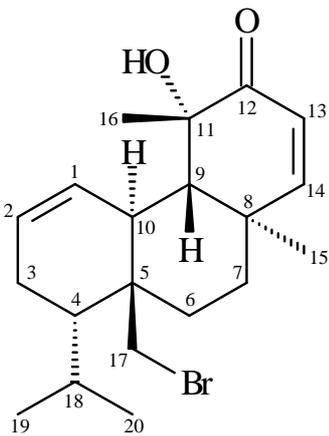
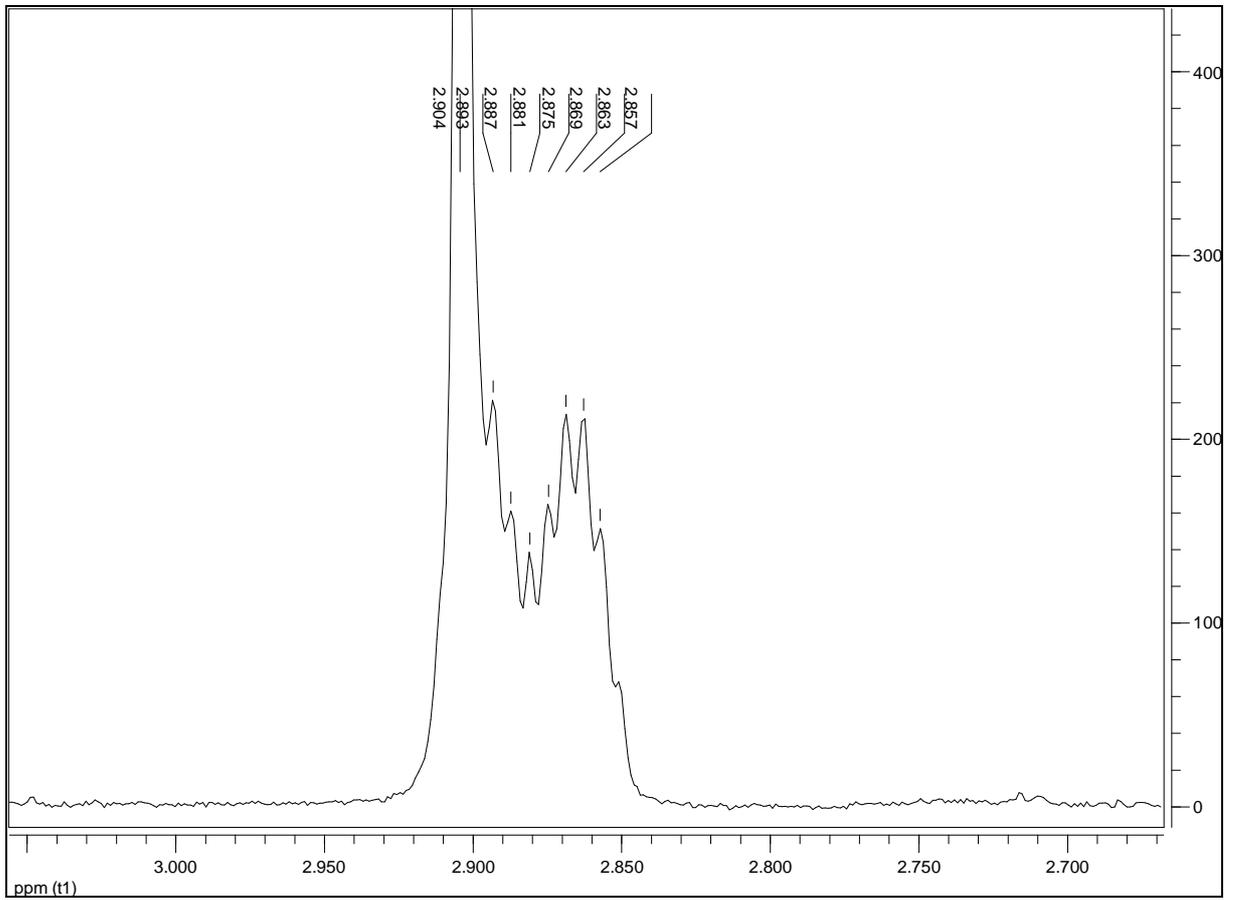
Figura 58 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

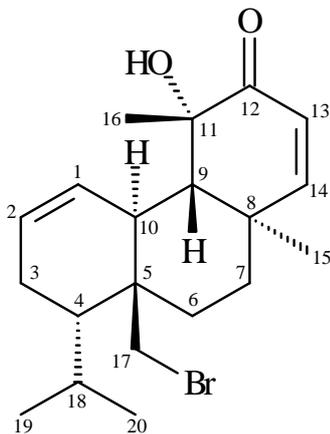
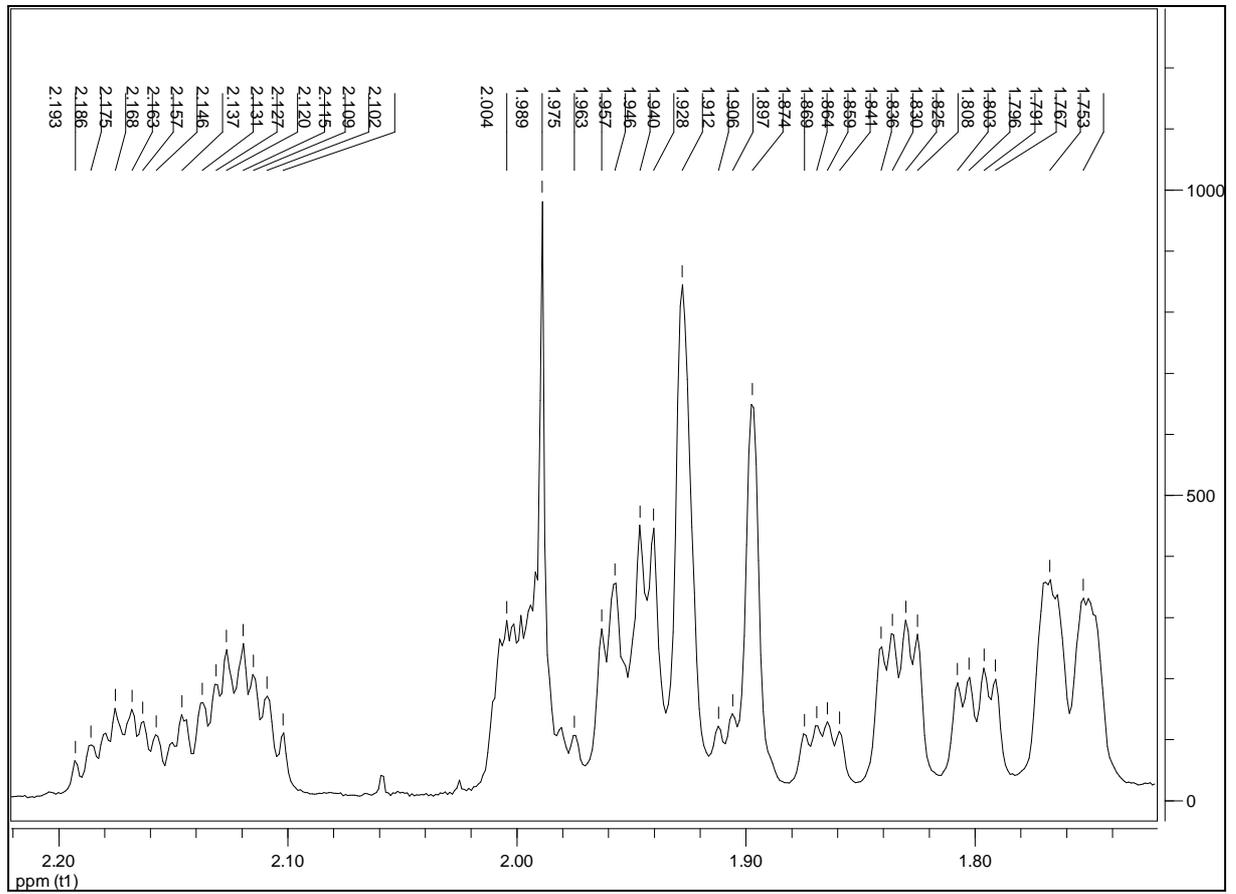
Figura 59 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

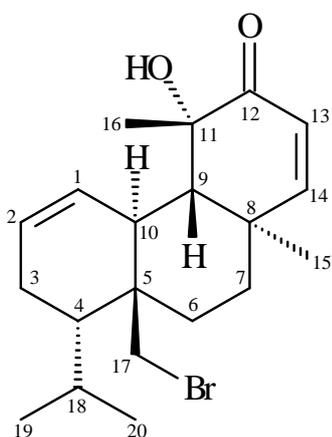
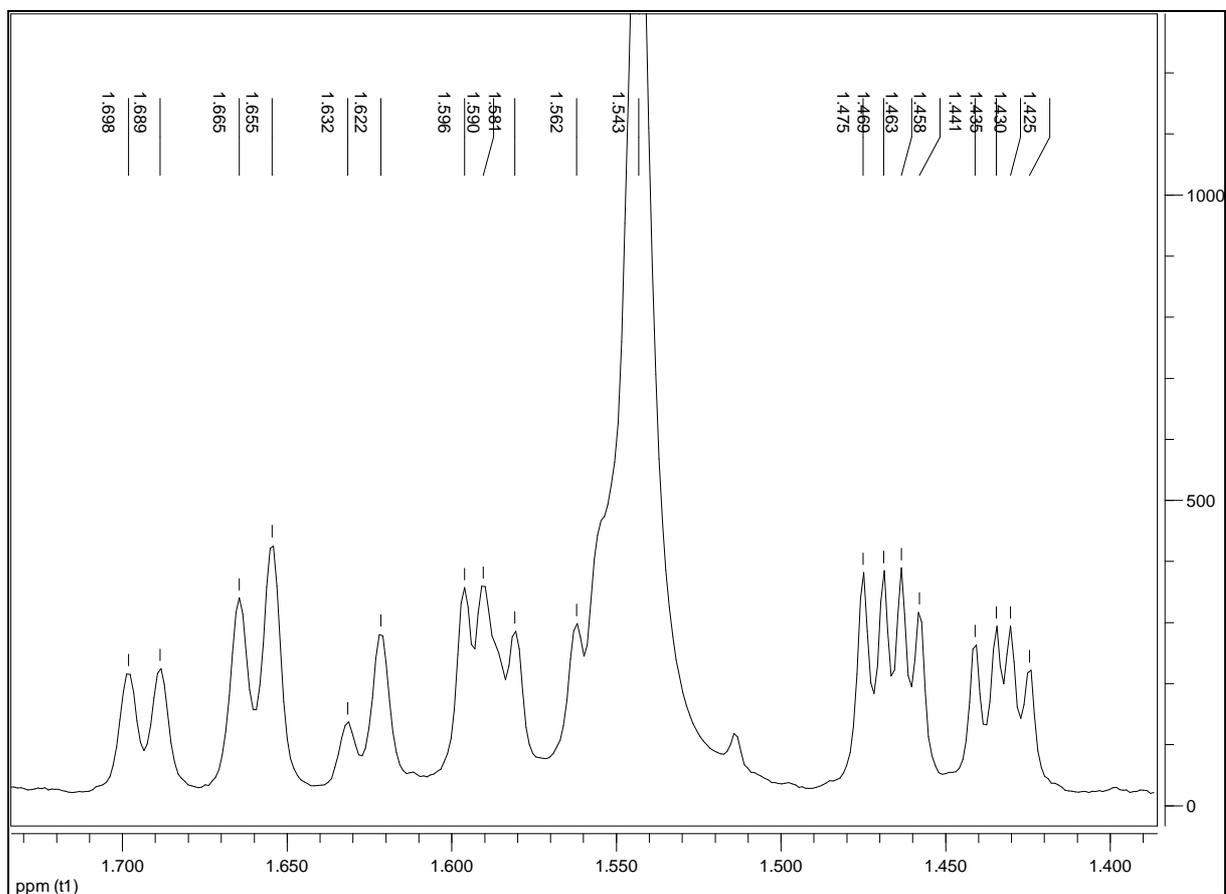
Figura 60 - Expansão 6 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

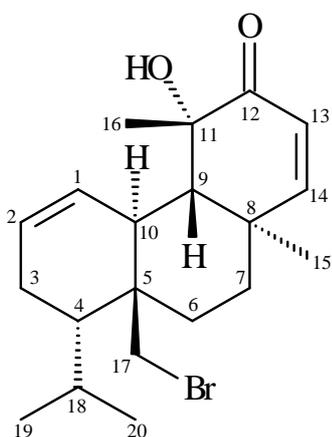
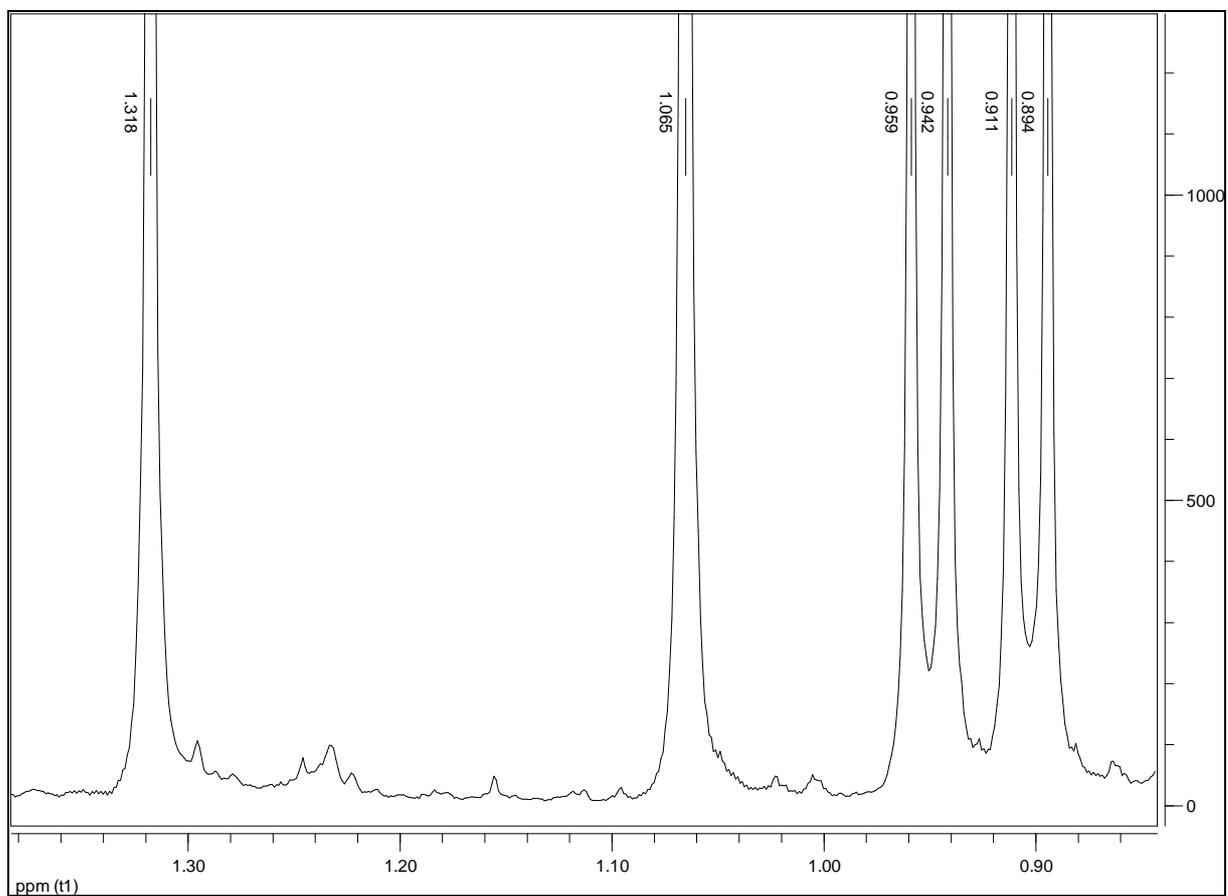
Figura 61 - Expansão 7 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-2.

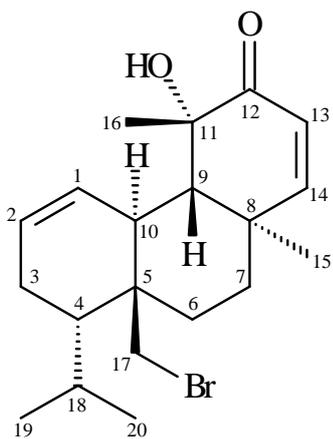
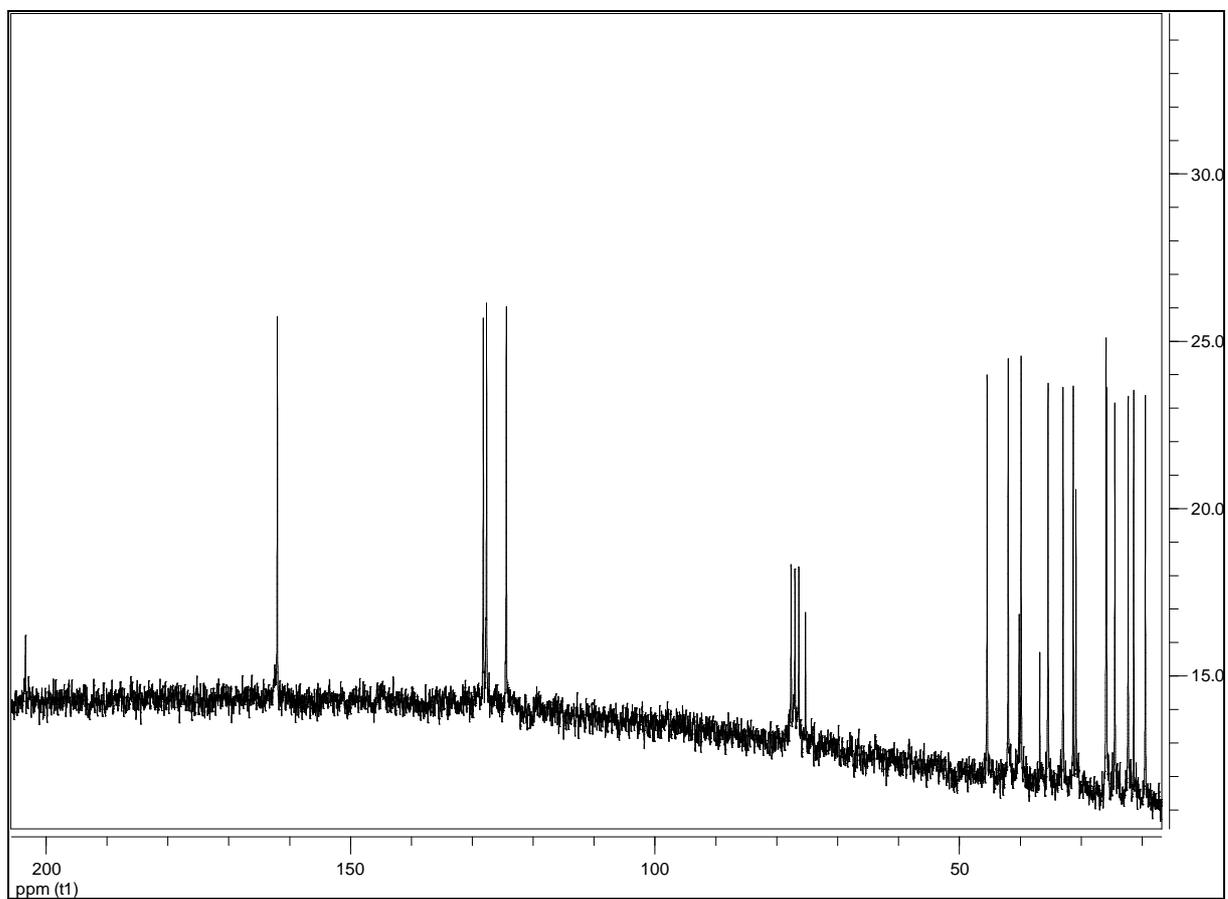
Figura 62 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.

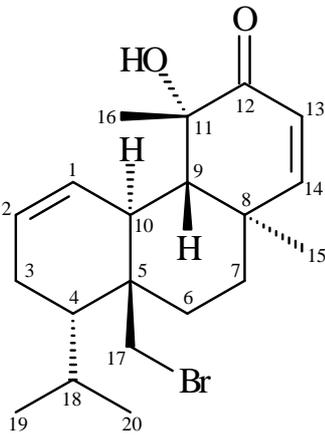
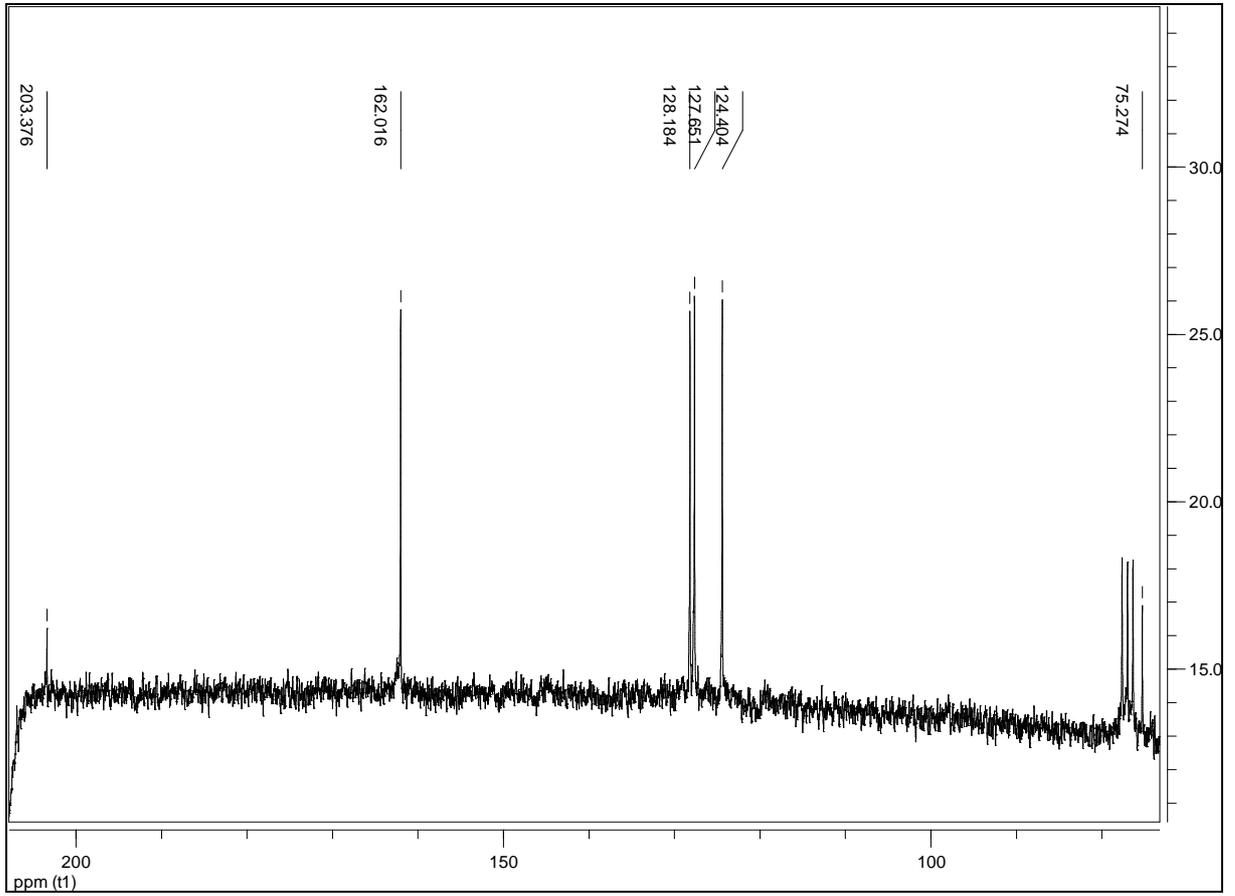
Figura 63 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.

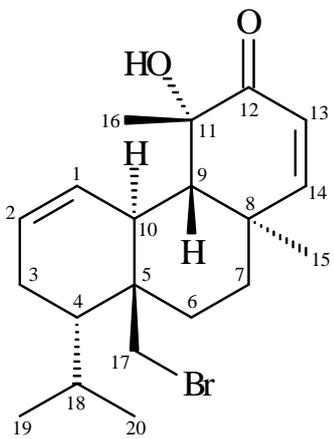
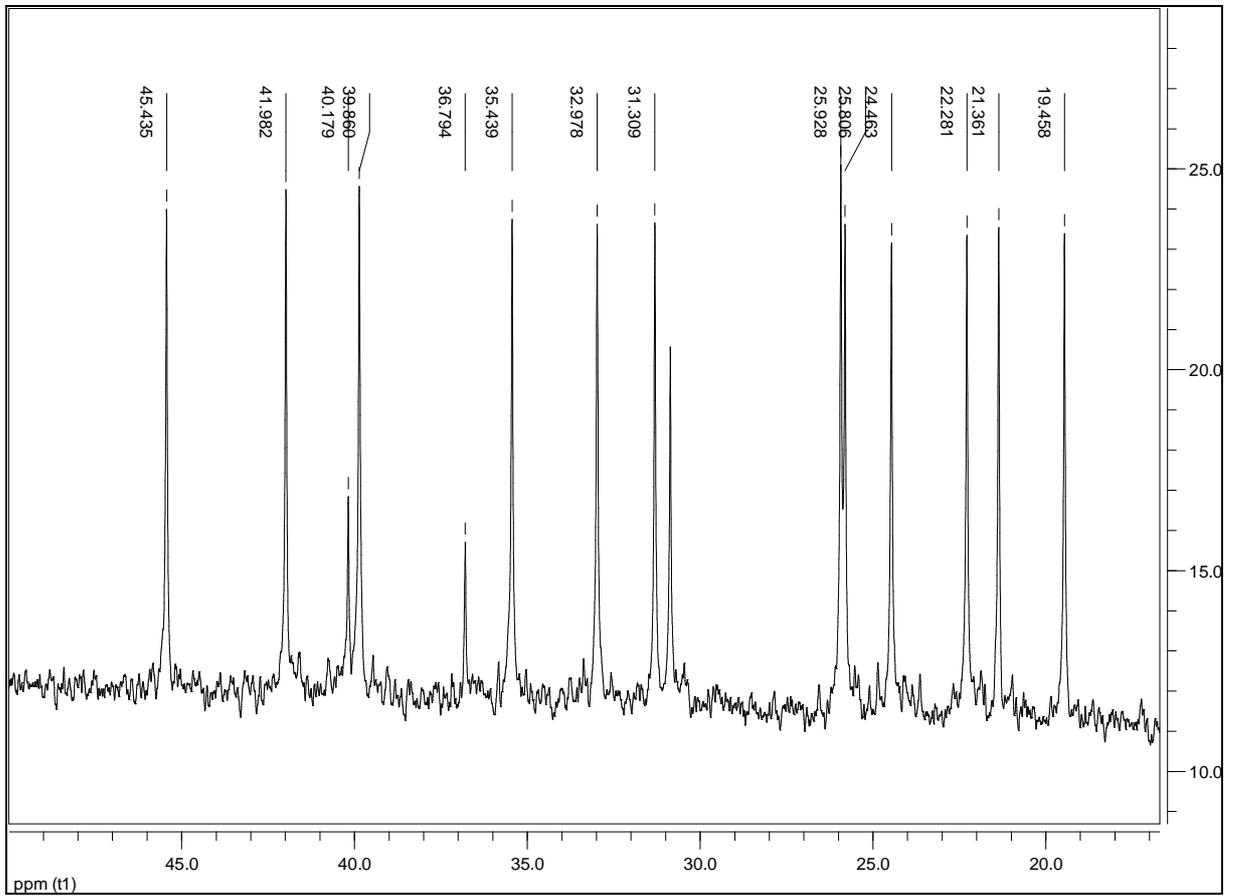
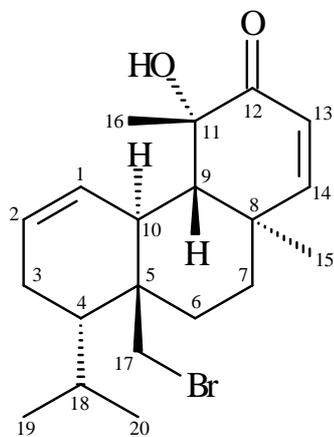
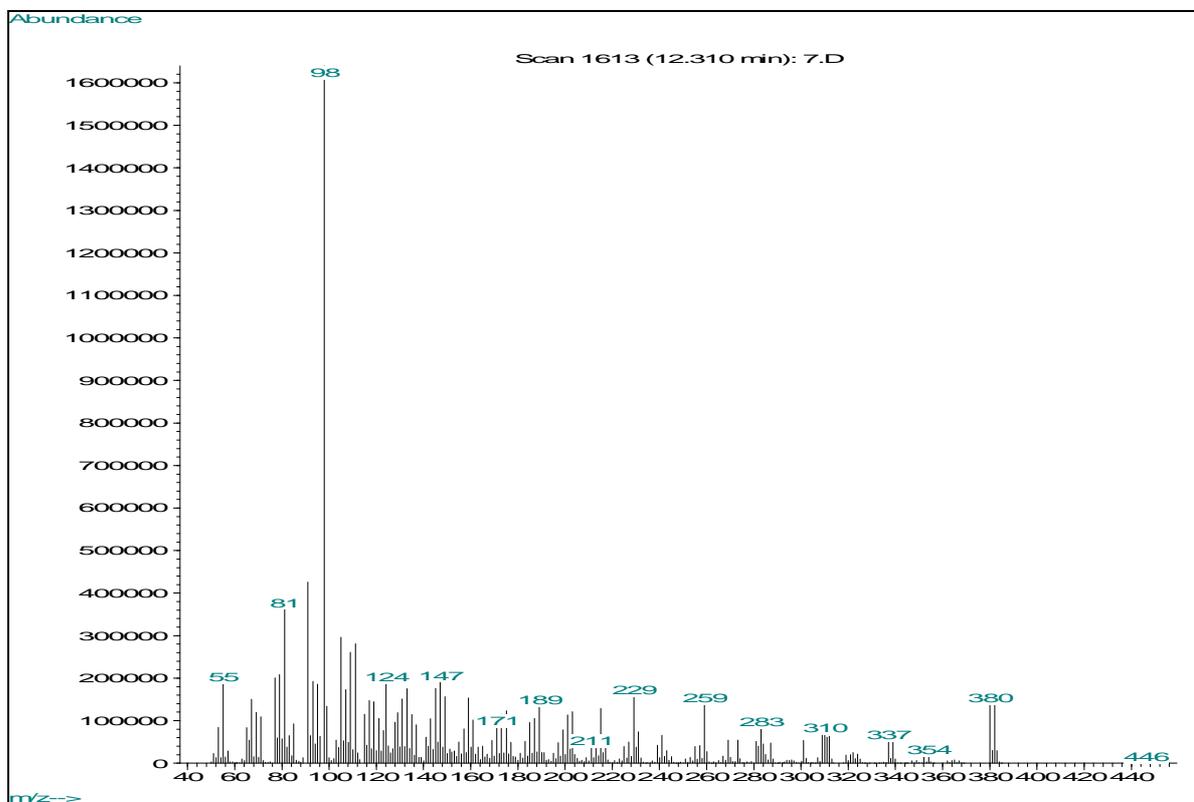
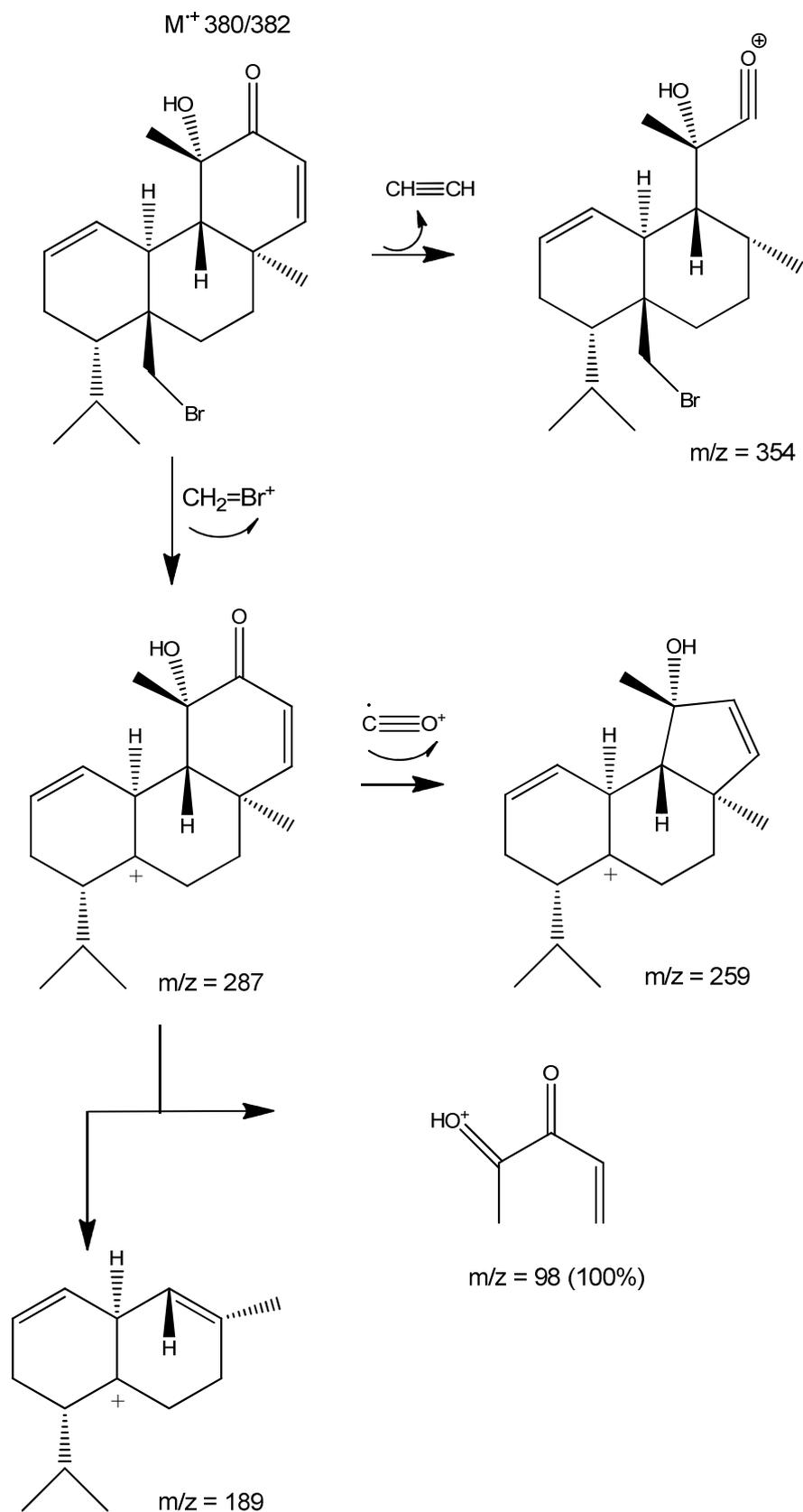
Figura 64 - Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-2.

Figura 65 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-2.

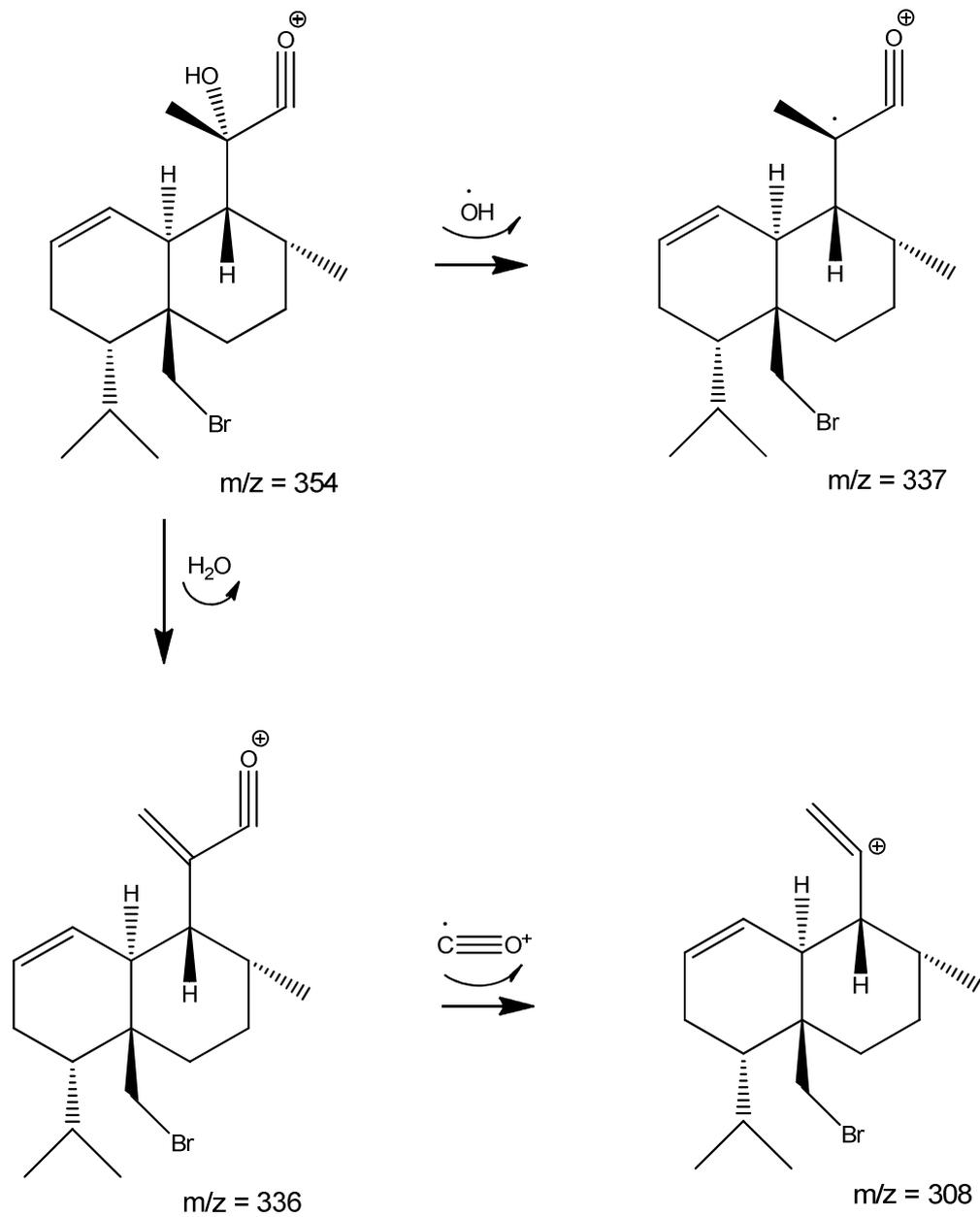


Esquema 8 – Proposição de fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-2.



continua

Continuação do Esquema 8



4.3.3 Identificação estrutural de Sc-3

Os espectros de RMN ^1H e expansões (Figuras 67-73, p. 124-130) e de RMN ^{13}C e expansões (Figuras 74-76, p. 131-133) de **Sc-3** mostraram perfis semelhantes àqueles exibidos por **Sc-2**, levando a propor que esta molécula trata-se de um terpenoide. A análise do espectro de RMN de ^{13}C permitiu sugerir que **Sc-3** trata-se também de um diterpeno ao exibir sinais para 20 carbonos.

Diferentemente de **Sc-2**, verificou-se a presença de apenas uma dupla ligação para **Sc-3**, através da observação de sinais em δ 5,67 e 5,99 referentes a hidrogênios de carbono sp^2 permitindo propor que **Sc-3** possui uma dupla ligação entre as posições 1 e 2. Esta proposta foi fortalecida pela presença de sinais para dois carbonos sp^2 metínicos, em δ 128,57 e 126,91 ppm.

A insaturação encontrada entre as posições 13 e 14 de **Sc-2**, está ausente em **Sc-3**. Além disso, notou-se a presença de mais um átomo de bromo em **Sc-3**, pelo sinal em δ 68,86 relativo a carbono bromometínico. O espectro de massas (Figura 77, p. 134) fortaleceu esta observação ao exibir o pico do íon molecular em M^{*+} 446 u.m.a., condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{O}$, e com o fragmento em 367 u.m.a. que é relativo à perda de 79 u.m.a. (Bromo).

Os dados obtidos foram comparados com a literatura (Tabela 6, p. 123) (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a; DE ROSA et al., 1988; FATTORUSSO et al., 1975) e permitiram identificar a substância **Sc-3** como sendo o diterpeno Bromosphaerol (Figura 53, p. 101), substância reisolada de *S. coronopifolius* que, juntamente com **Sc-2**, constituem substâncias majoritárias que são responsáveis por cerca de um terço do rendimento do extrato orgânico da referida alga.

Figura 66 – Estrutura química de Sc-3.

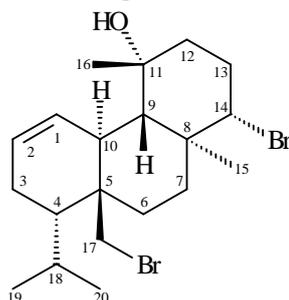


Tabela 6 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.

No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J (Hz)	^{13}C $\delta(\text{ppm})$
1	5,99	dl 10,6	128,57
2	5,67	m	126,91
3	a 2,12	m	21,85
	b 1,92	m	
4	1,72	m	42,51
5	–	–	41,83
6	a 1,66	ddd 14,5; 13,7; 4,7	24,93
	b 1,50	m	
7	a 1,83	ddd 13,7; 4,7; 2,7	36,38
	b 1,22	m	
8	–	–	40,68
9	1,46	d 11,0	50,54
10	2,96	m	37,29
11	–	–	72,27
12	a 1,72	m	46,17
	b 1,62	m	
13	a 2,39	ddt 12,9; 12,5; 4,3	30,07
	b 1,96	m	
14	3,97	dd 12,5; 3,5	68,86
15	1,28	s	13,99
16	1,36	s	35,02
17	a 3,91	d 10,6	40,40
	b 3,59	dd 10,6; 2,0	
18	1,98	m	26,05
19	0,88	d 7,0	25,81
20	0,95	d 7,0	19,84

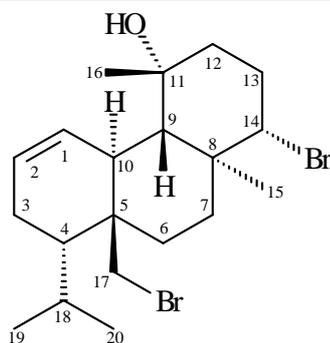


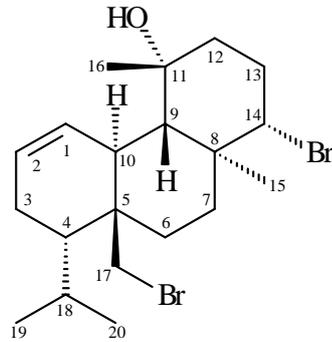
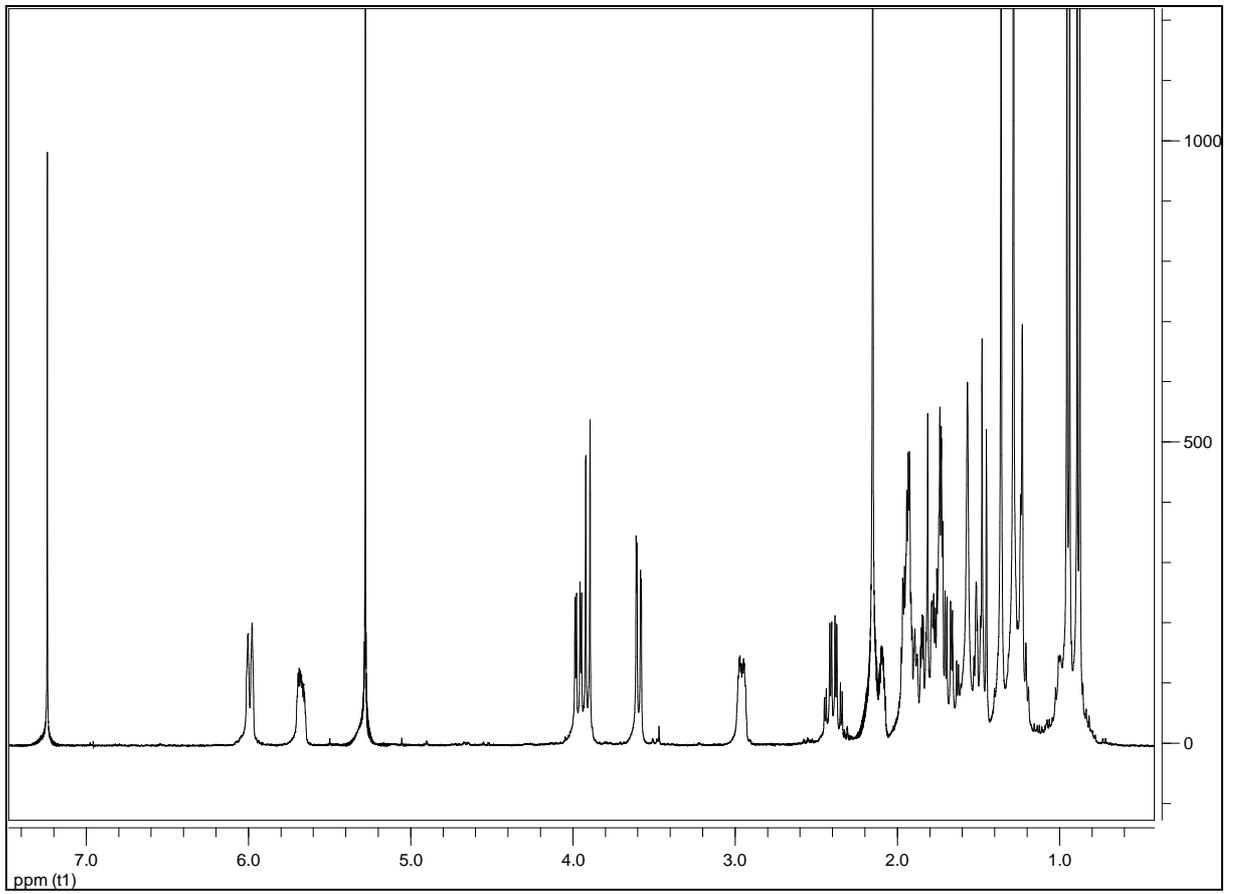
Figura 67 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

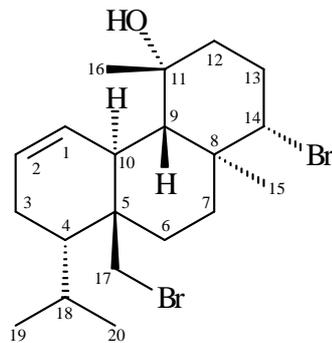
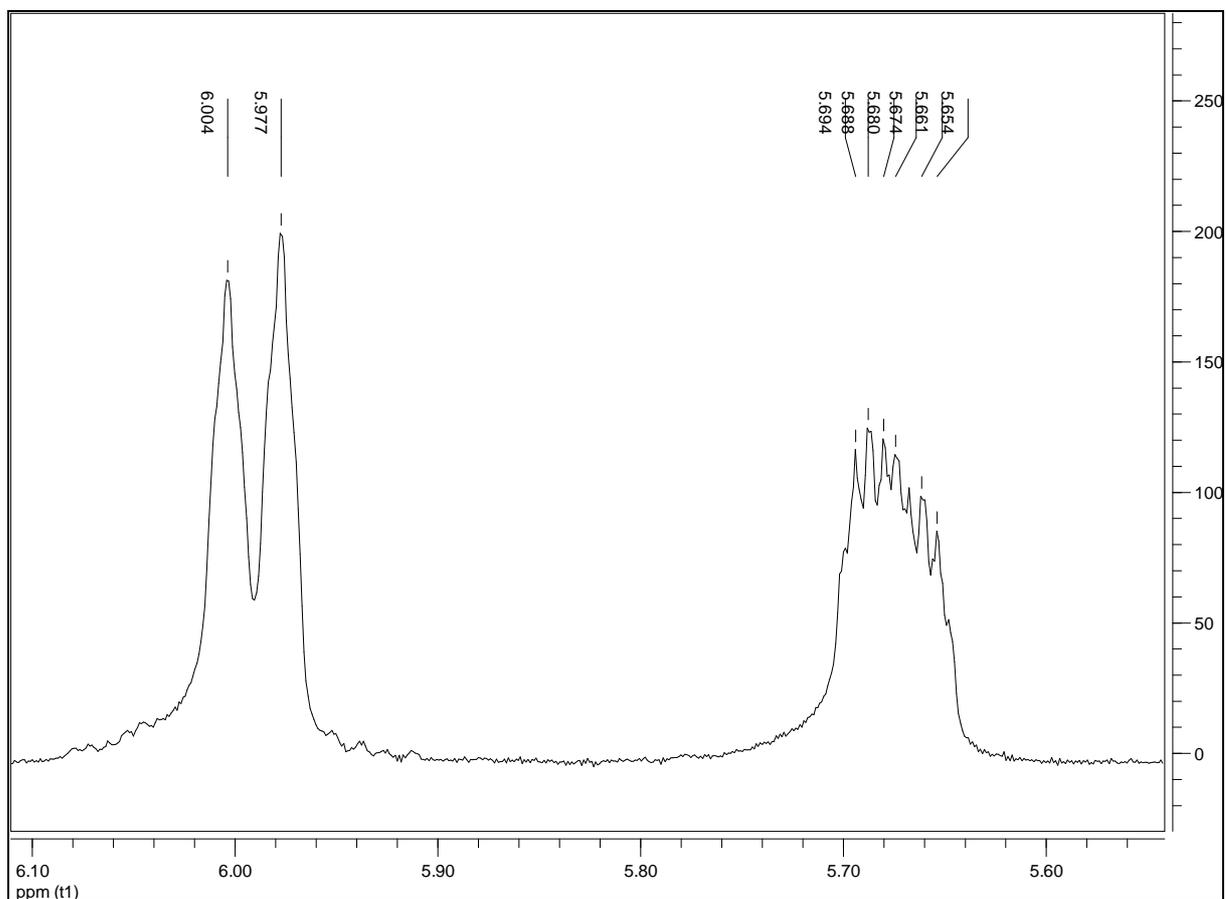
Figura 68 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

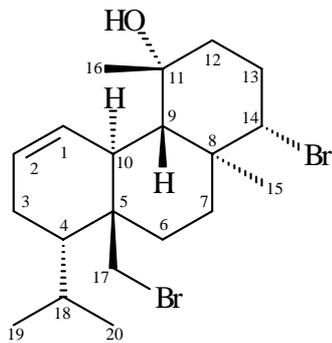
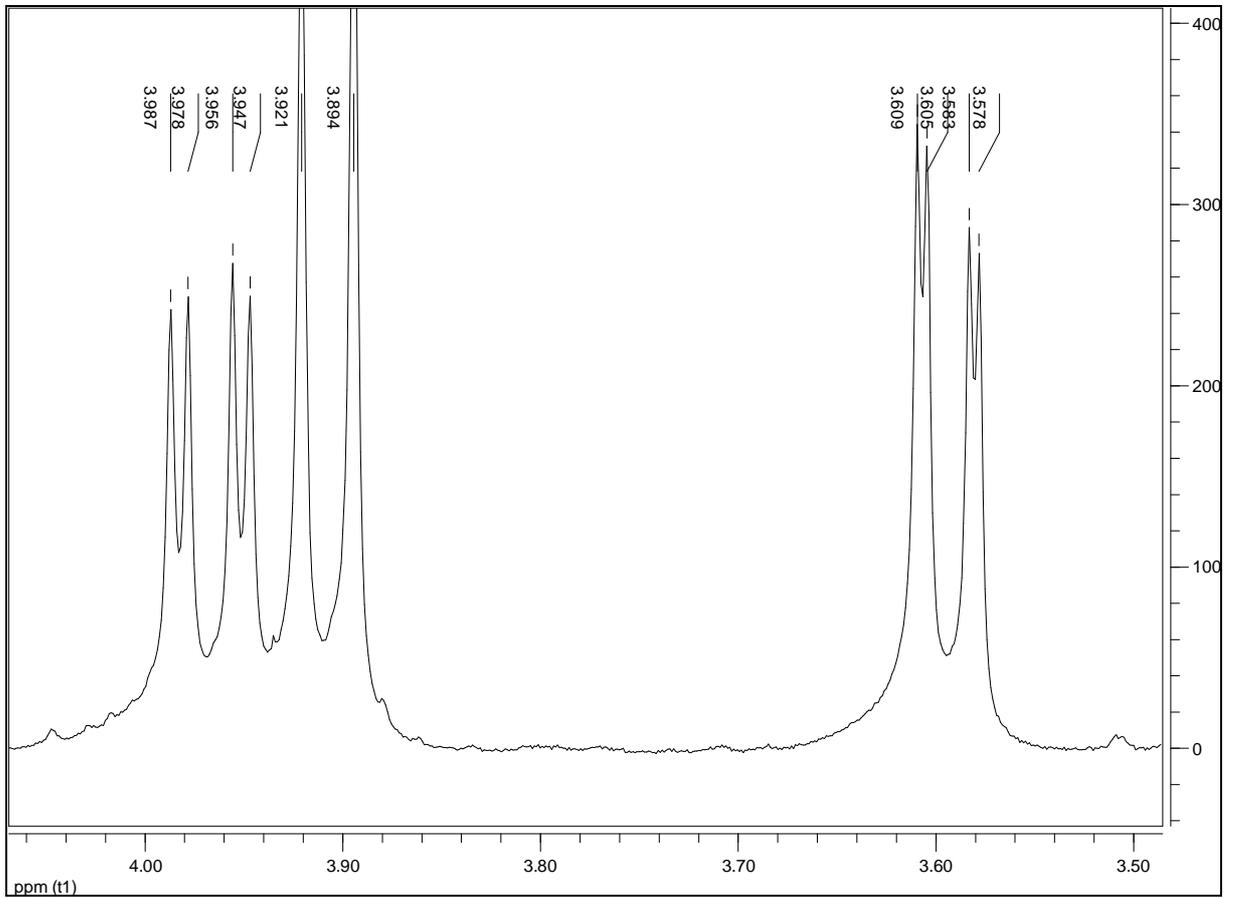
Figura 69 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

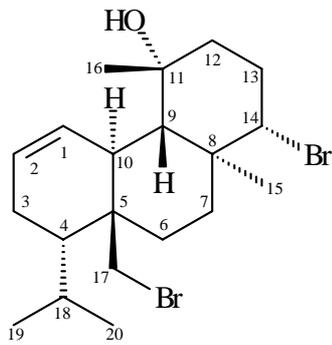
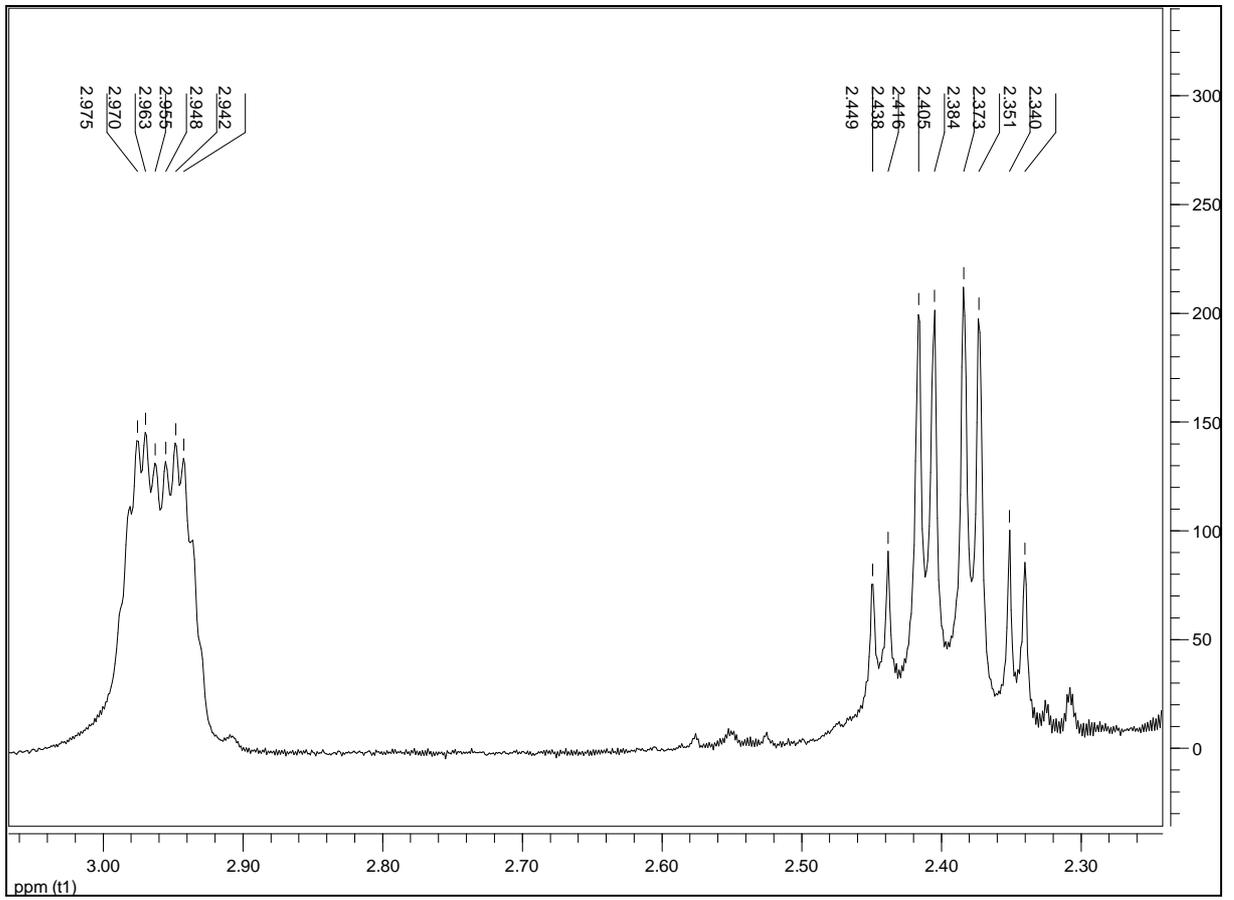
Figura 70 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

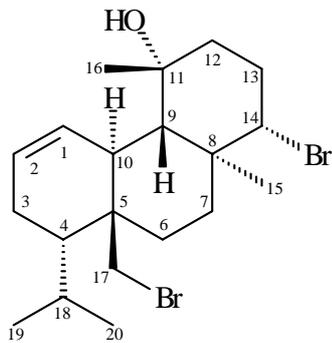
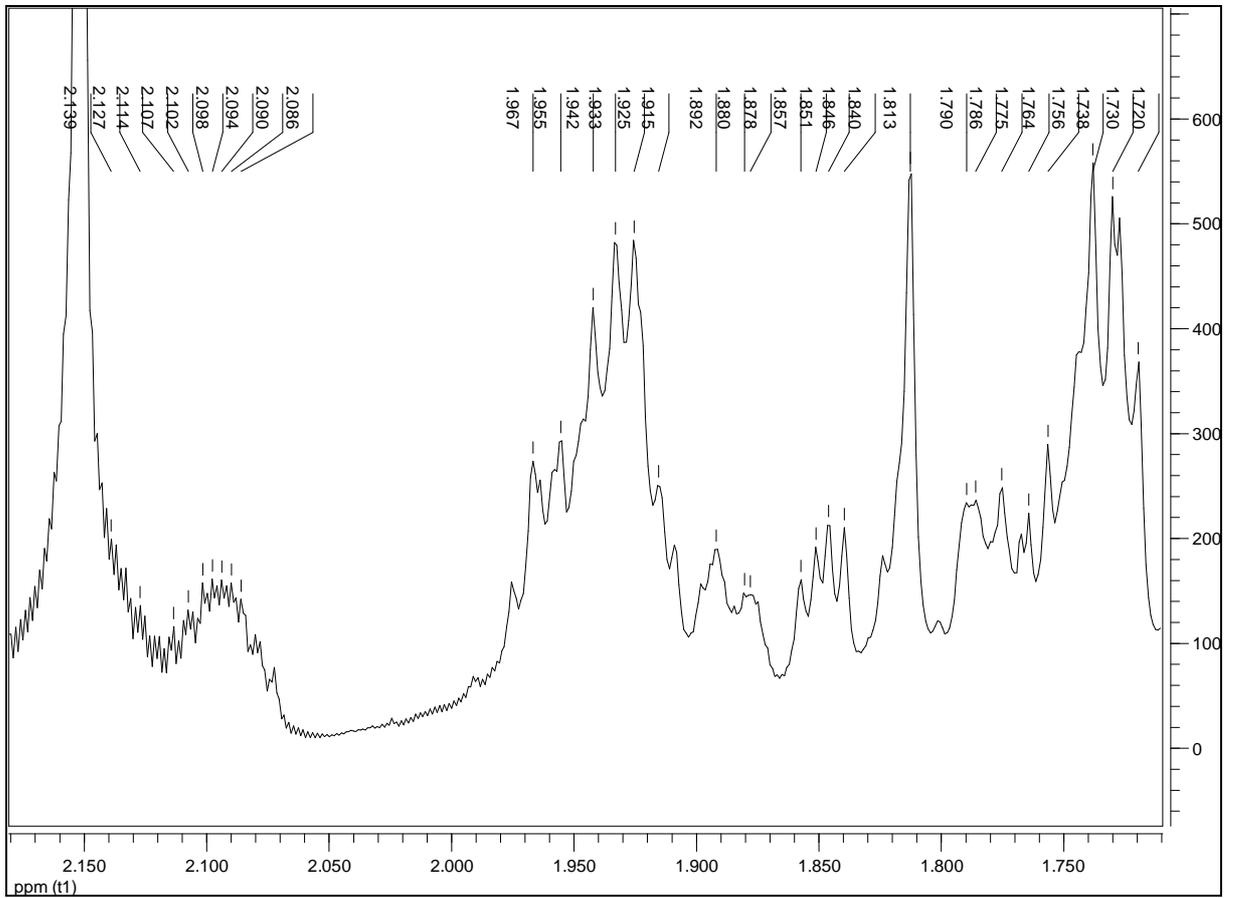
Figura 71 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

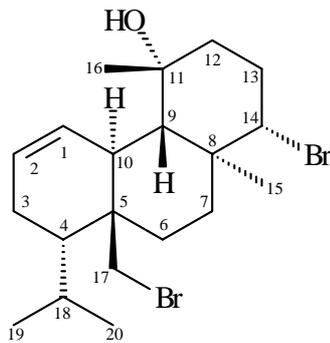
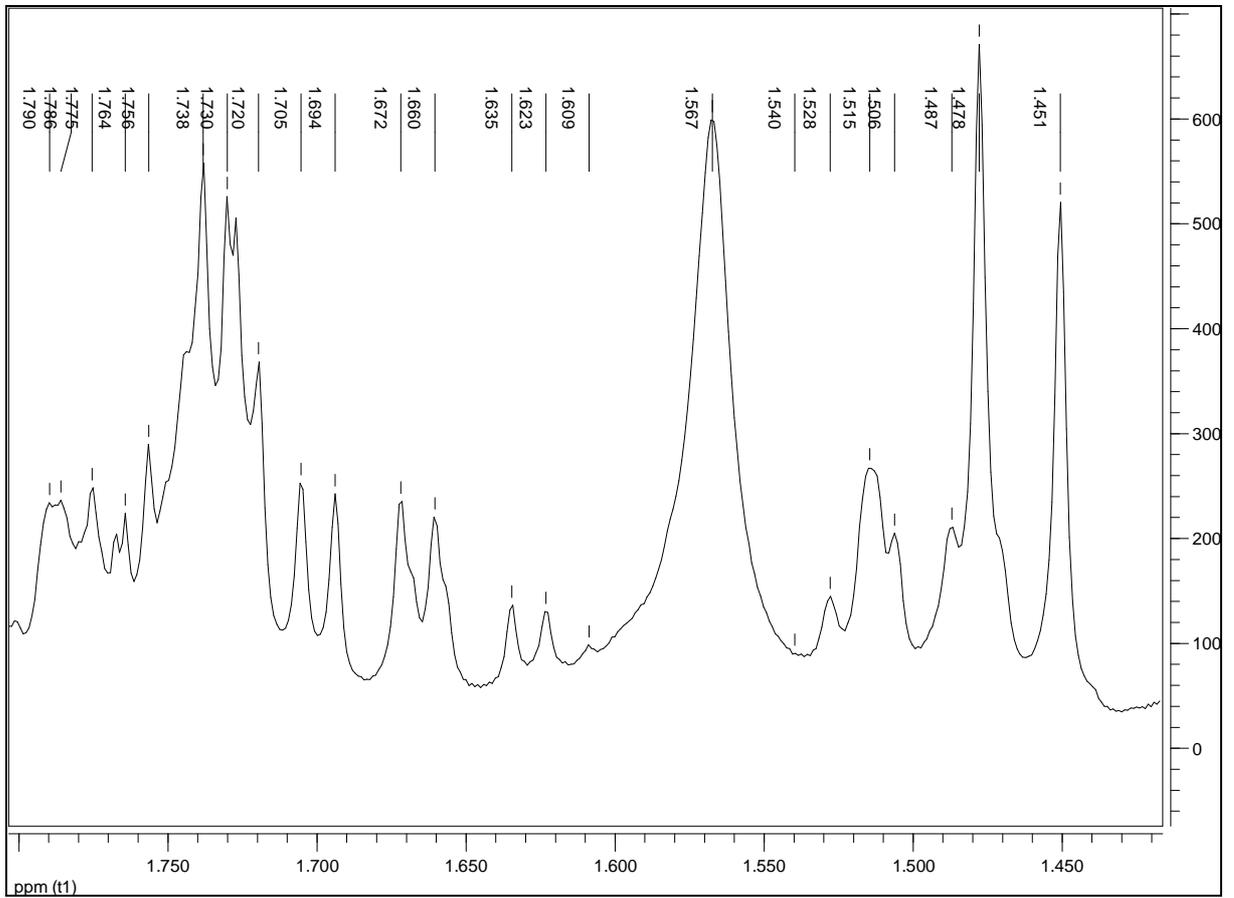
Figura 72 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

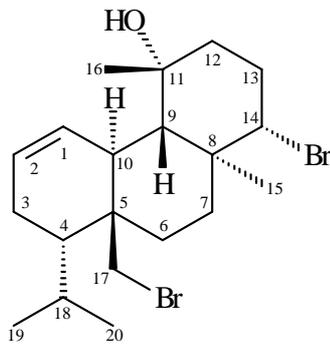
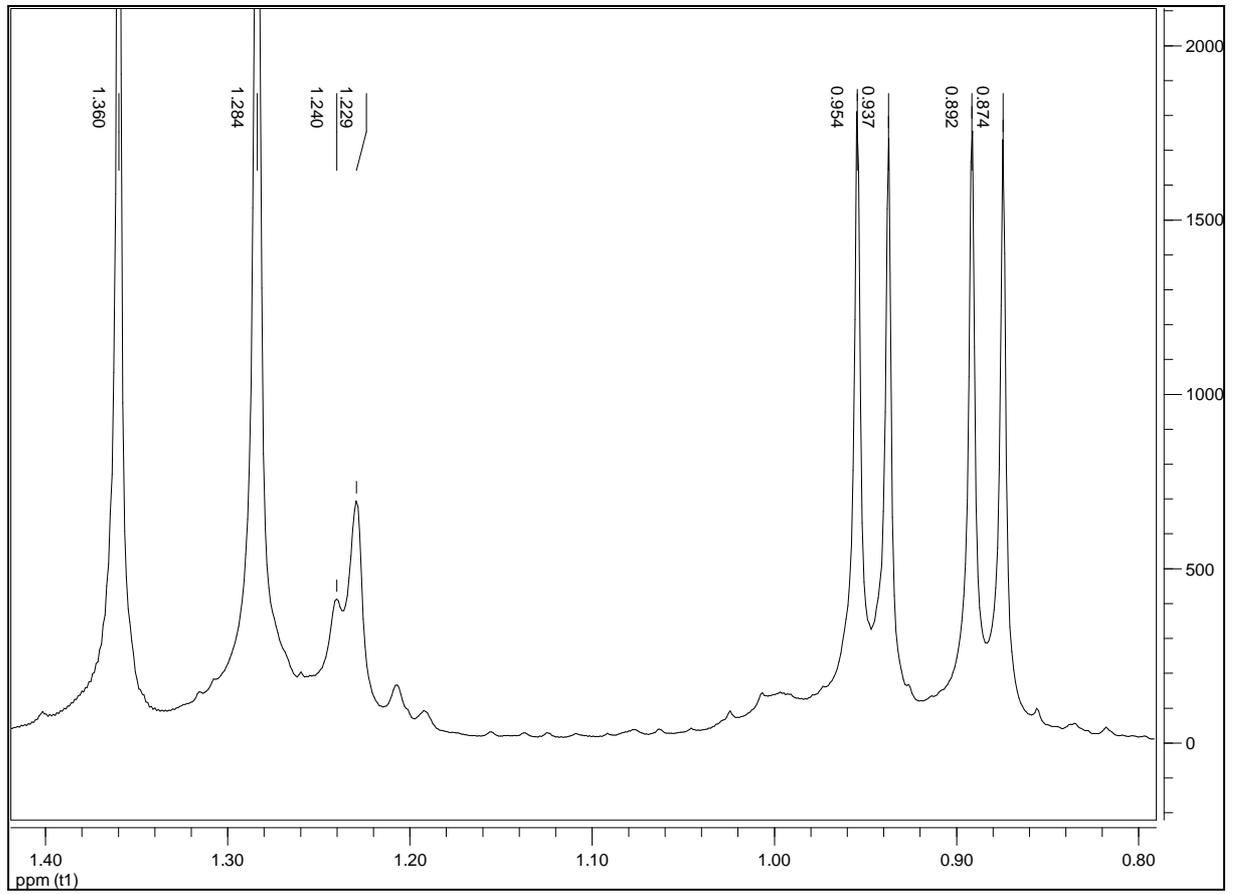
Figura 73 - Expansão 6 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-3.

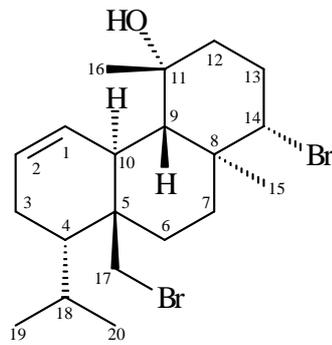
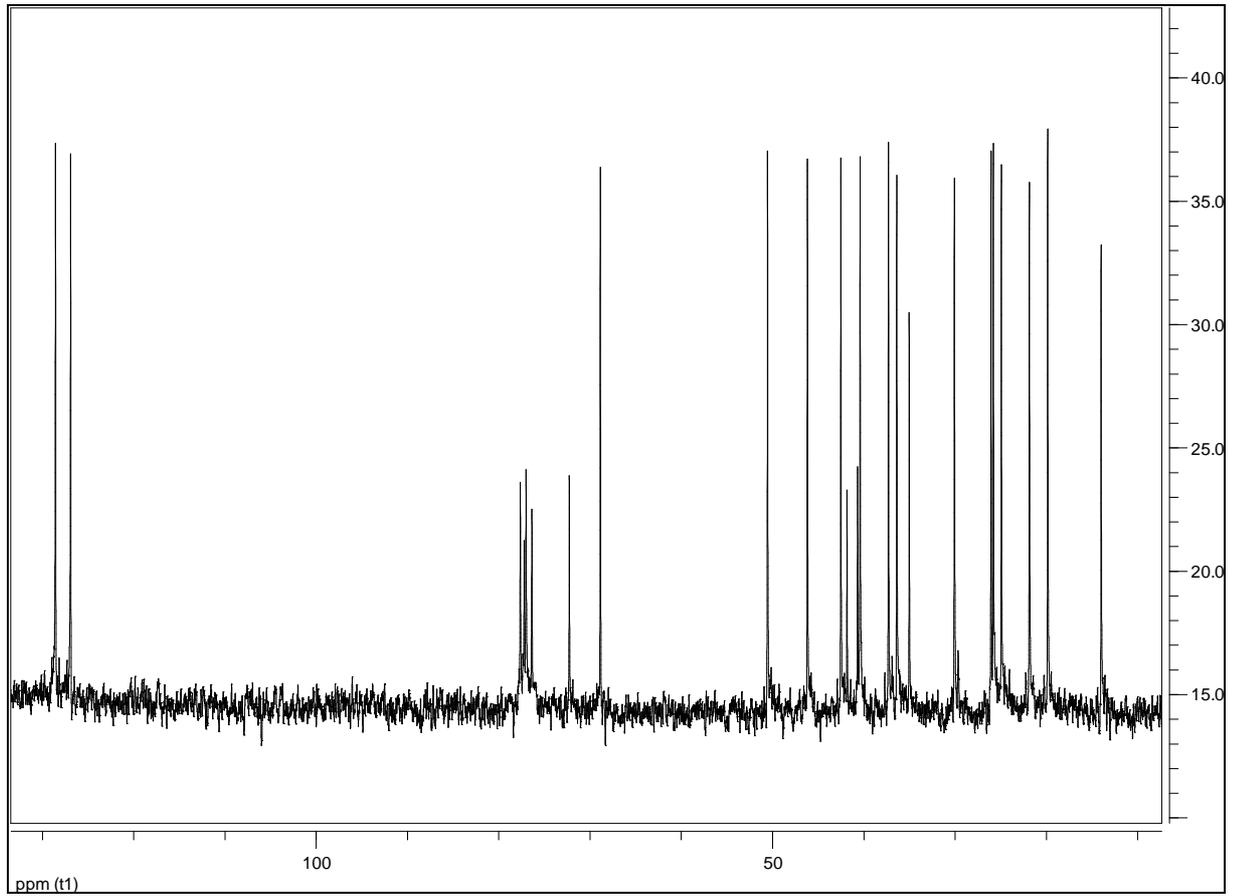
Figura 74 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.

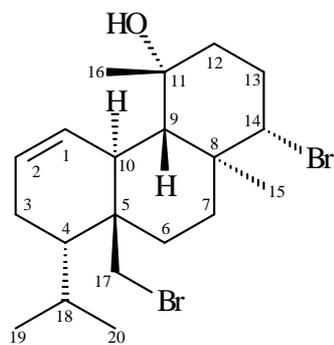
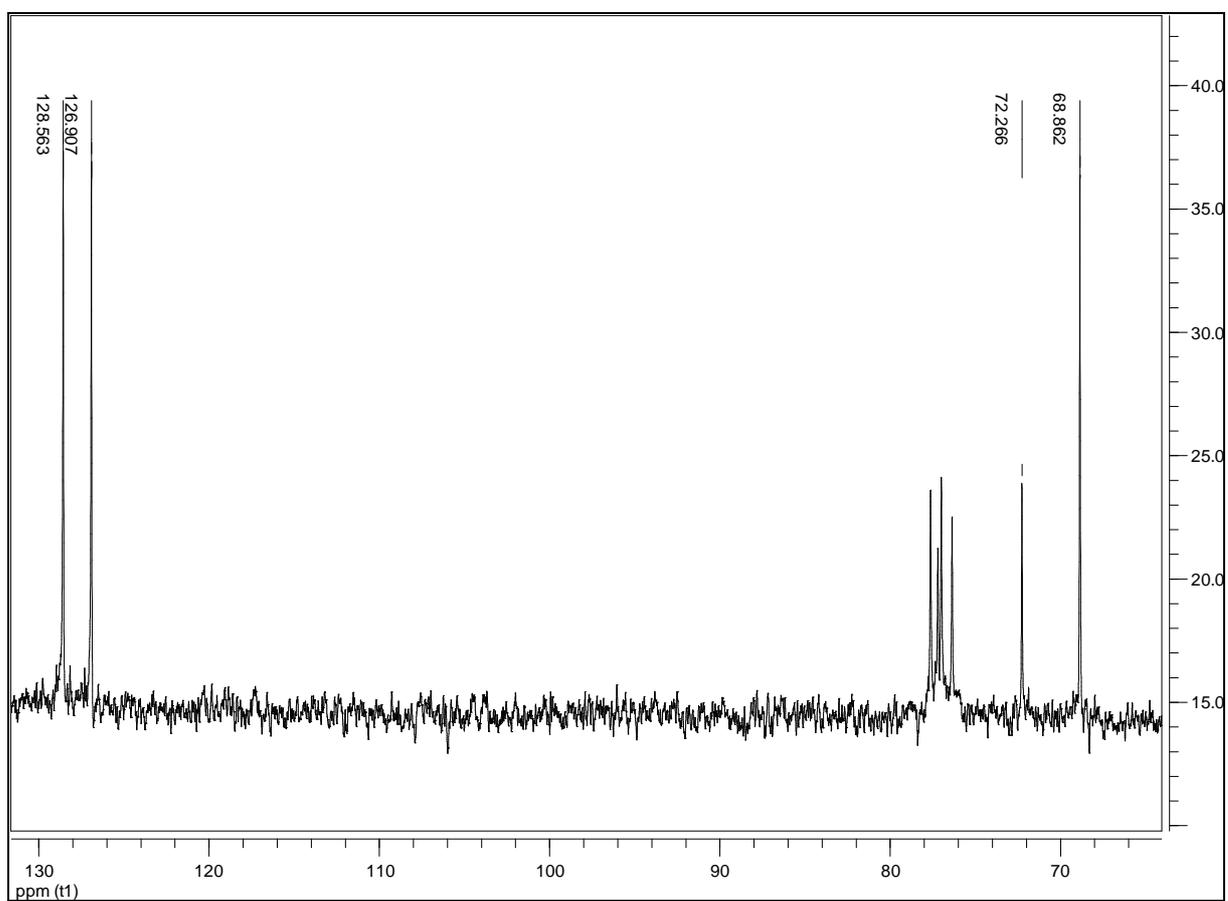
Figura 75 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.

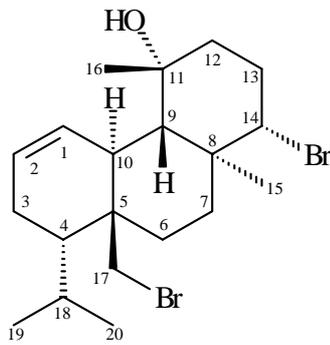
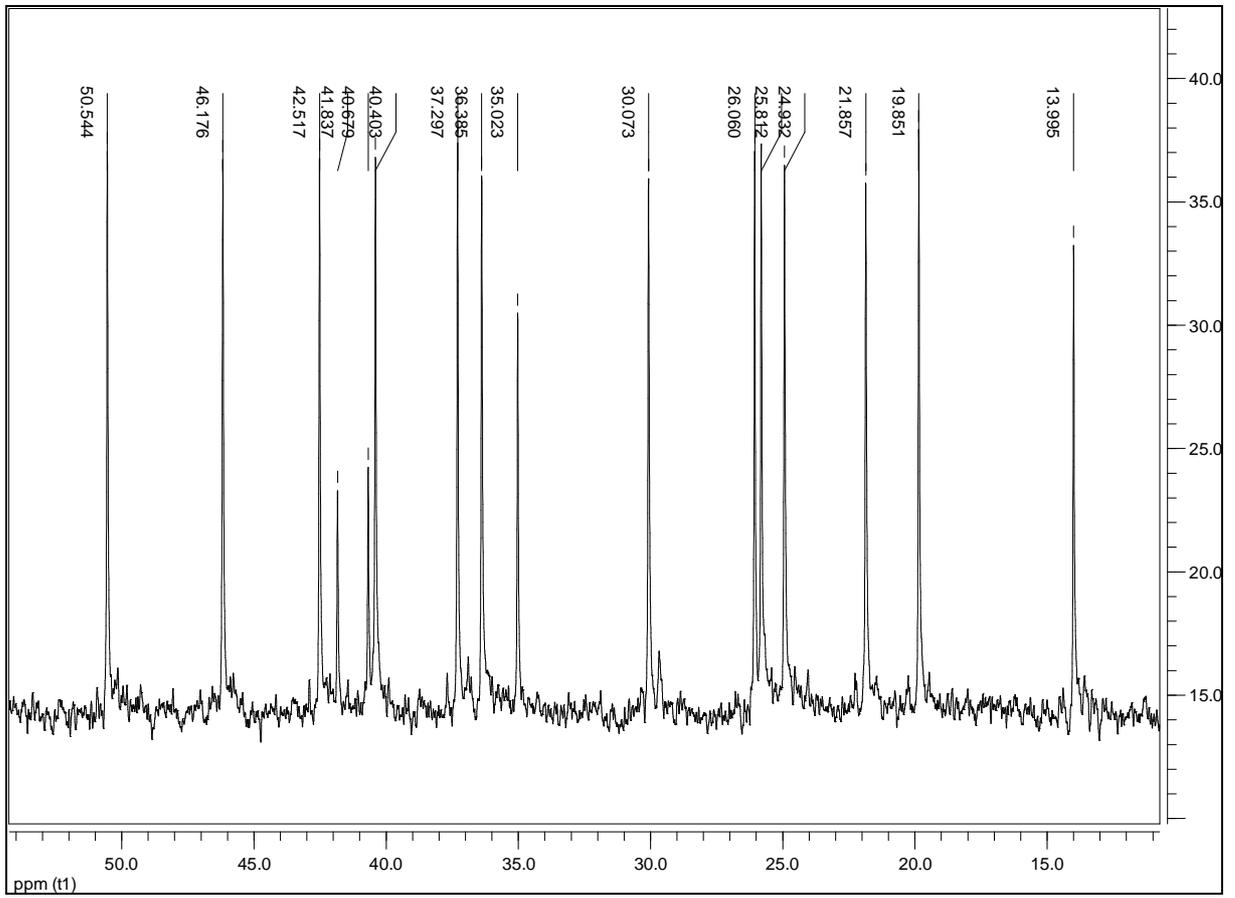
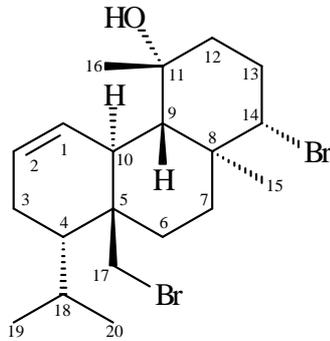
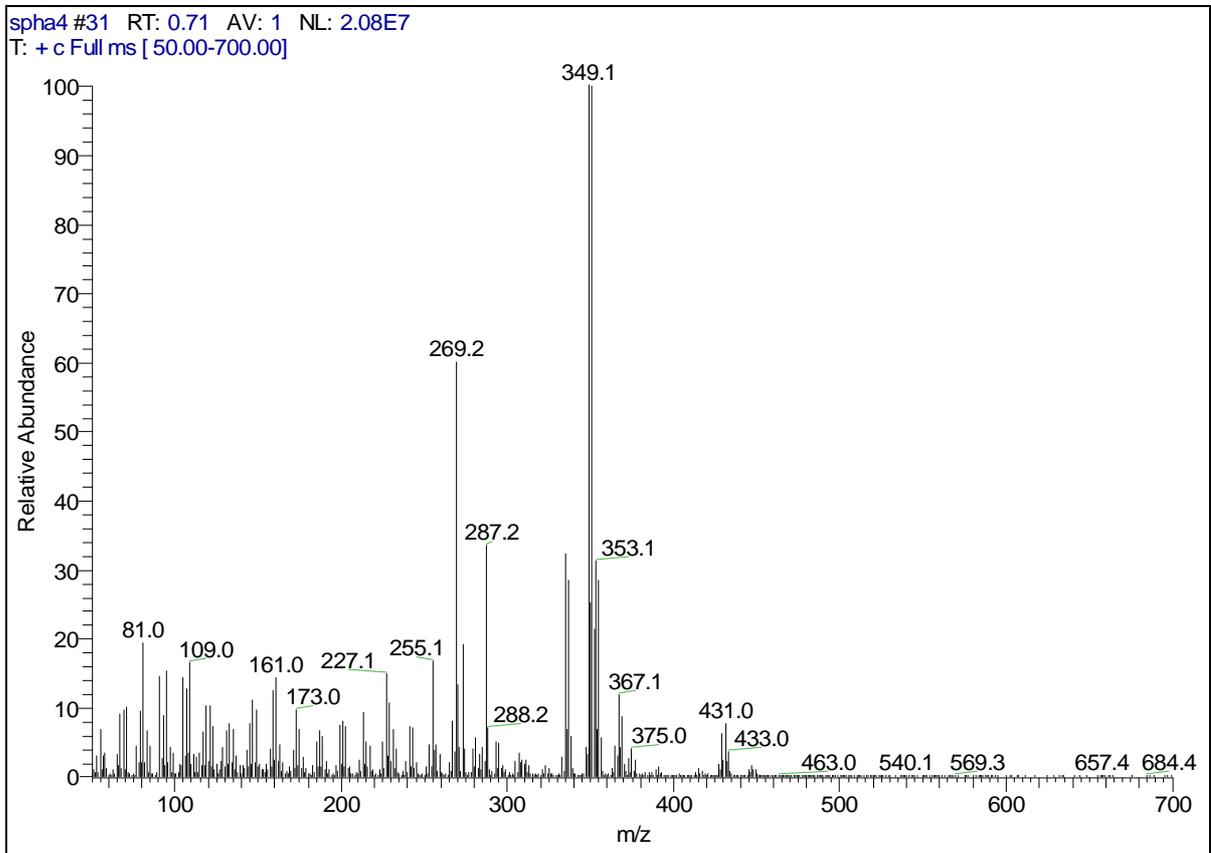
Figura 76 - Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-3.

Figura 77 - Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-3.



4.3.4 Identificação estrutural de Sc-4

O espectro de RMN ^1H (Figura 79, p. 137) e suas expansões (Figuras 80 a 82, p. 138 a 140) mostraram absorções na região entre δ 0,50 e 2,50, levando a sugerir que **Sc-4** trata-se de um terpenoide. Dois simpletos largos em δ 4,74 e 4,80 propõem a existência de uma dupla terminal. O duplo duplete em δ 5,50 e o duplo duplete dobrado em δ 5,59 indicam a presença de mais dois hidrogênios de carbono sp^2 .

Verificou-se que o espectro de RMN ^{13}C (Figura 83, p. 141) exibiu sinais para 20 carbonos, o que permite propor que **Sc-4** possui um esqueleto diterpênico, sendo 4 sp^2 , onde dois deles referem-se a um grupo vinila (δ 153,84 e 112,28) e os demais (δ 134,45 e 126,30) referem-se a sinais para carbonos sp^2 metínicos. Um carbono oxigenado foi inferido pela absorção em δ 71,68.

Os dados obtidos juntamente com comparações com a literatura (CAFIERI et al., 1984) (Tabela 7, p. 136) permitiram identificar a substância **Sc-4** como sendo o diterpeno Bromocorodienol (Figura 78), substância re-isolada de *S. coronopifolius*, todavia isolada pela primeira vez nesta espécie quando coletada no mar Jônico (Grécia).

Figura 78 – Estrutura química de Sc-4.

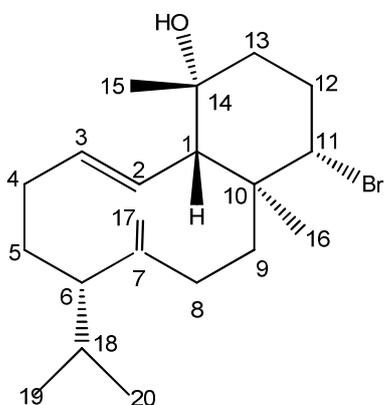


Tabela 7 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-4 com modelo Mo-4 (δ , CDCl_3 , 500 e 62,9 MHz) da literatura (CAFIERI et al., 1984).

Sc-4				Mo-4			
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	1,54	d 9,6	61,74	1	1,53	d 10,0	61,7
2	5,50	dd 9,8; 15,4	134,45	2	5,51	dd 10,0; 15,0	134,4
3	5,59	ddd 15,4; 4,0; 6,0	126,3	3	5,59	ddd 15,0; 7,0; 7,0	126,3
4a	2,22	m	27,81	4a	2,21	m	27,8
4b	1,77	m		4b	1,77	m	
5a	1,81-174**	m	31,66	5a	1,82-175**	m	31,63
5b	1,81-174**	m		5b	1,82-175**	m	
6	1,72	m	55,21	6	1,72	ddd 3,0; 3,0; 6,8	55,2
7	-	-	153,84	7	-	-	153,8
8a	1,93	dd 4,5; 11,8	25,59	8a	1,93	ddd 16,0; 4,5; 4,5	25,58
8b	1,81-174**	*		8b	1,82-175**	*	
9a	2,29	dd 3,8; 14,2	39,53	9a	2,27	ddd 4,5; 14,0; 14,0	39,51
9b	1,28	m		9b	1,26	ddd 4,5; 14,0	
10	-	-	44,93	10	-	-	44,9
11	3,94	dd 12,4; 3,2	68,93	11	3,94	dd 13,0; 4,0	68,9
12ax	2,47	ddd 13,2; 13,2;3,5	30,87	12ax	2,48	dddd 13,0; 13,0; 4,0; 13,0	30,85
12eq	2,09	m		12eq	2,08	dddd 4,0; 13,0; 4,0; 4,0	
13ax	1,45	dd 14,0; 4,0	41,11	13ax	1,44	ddd 13,0; 4,0; 13,0	41,1
13eq	1,66	m		13eq	1,66	ddd 4,0; 4,0; 13,0	
14	-	-	71,68	14	-	-	71,6
15	1,22	s	30,74	15	1,22	s	30,7
16	1,00	s	14,4	16	1,00	s	14,4
17a	4,74	sl	112,28	17a	4,75	sl	112,2
17b	4,80	sl		17b	4,81	sl	
18	1,42	d 6,4	29,84	18	1,40	d 6,8	29,8
19	0,75	d 6,4	20,51	19	0,76	d 6,8	20,5
20	0,83	d 6,4	21,52	20	0,83	d 6,8	21,5

* Dado ausente; ** Sobreposto por sinais nesta região

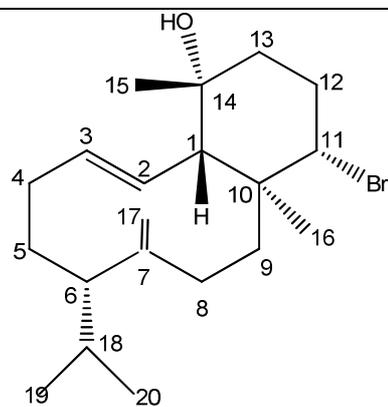
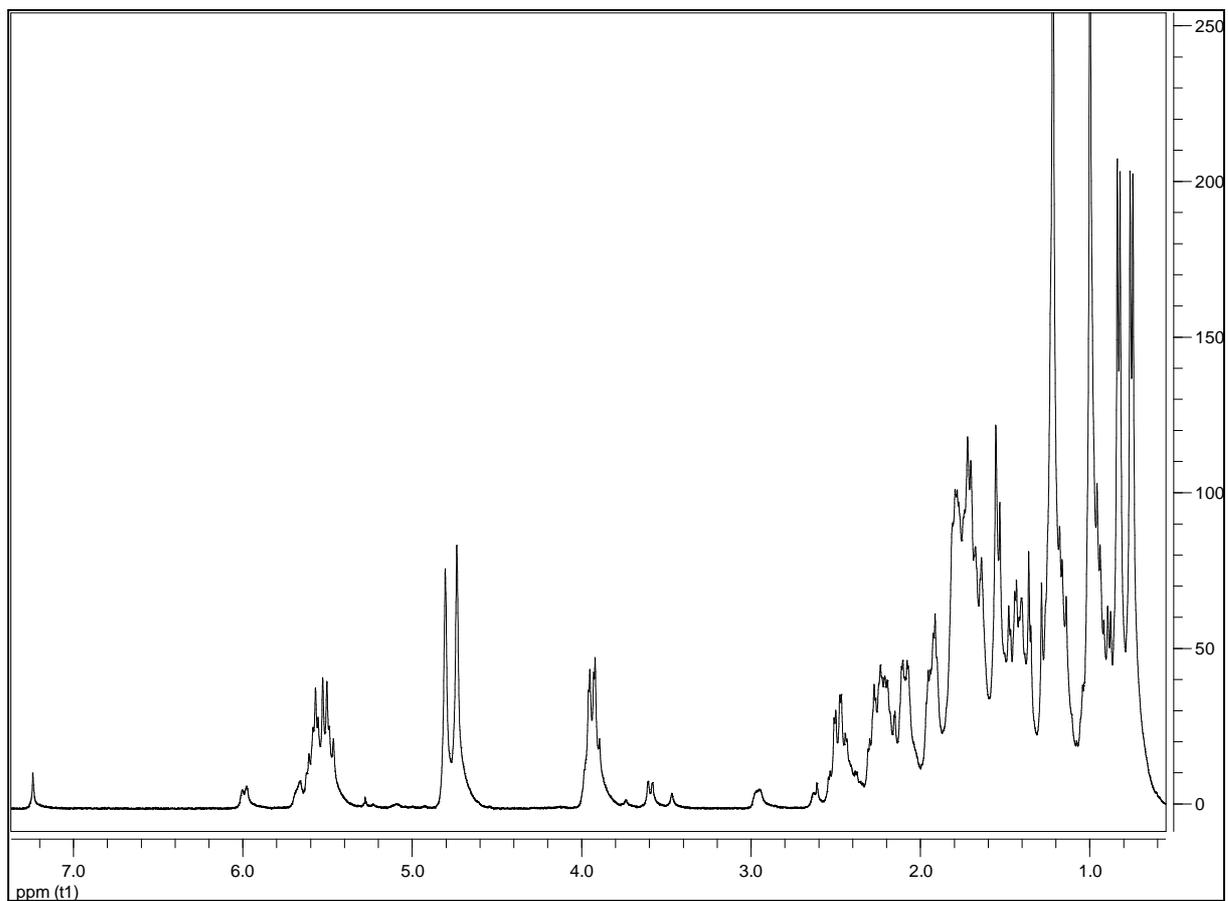
Figura 79 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.

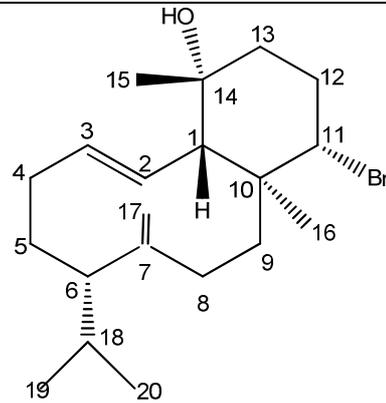
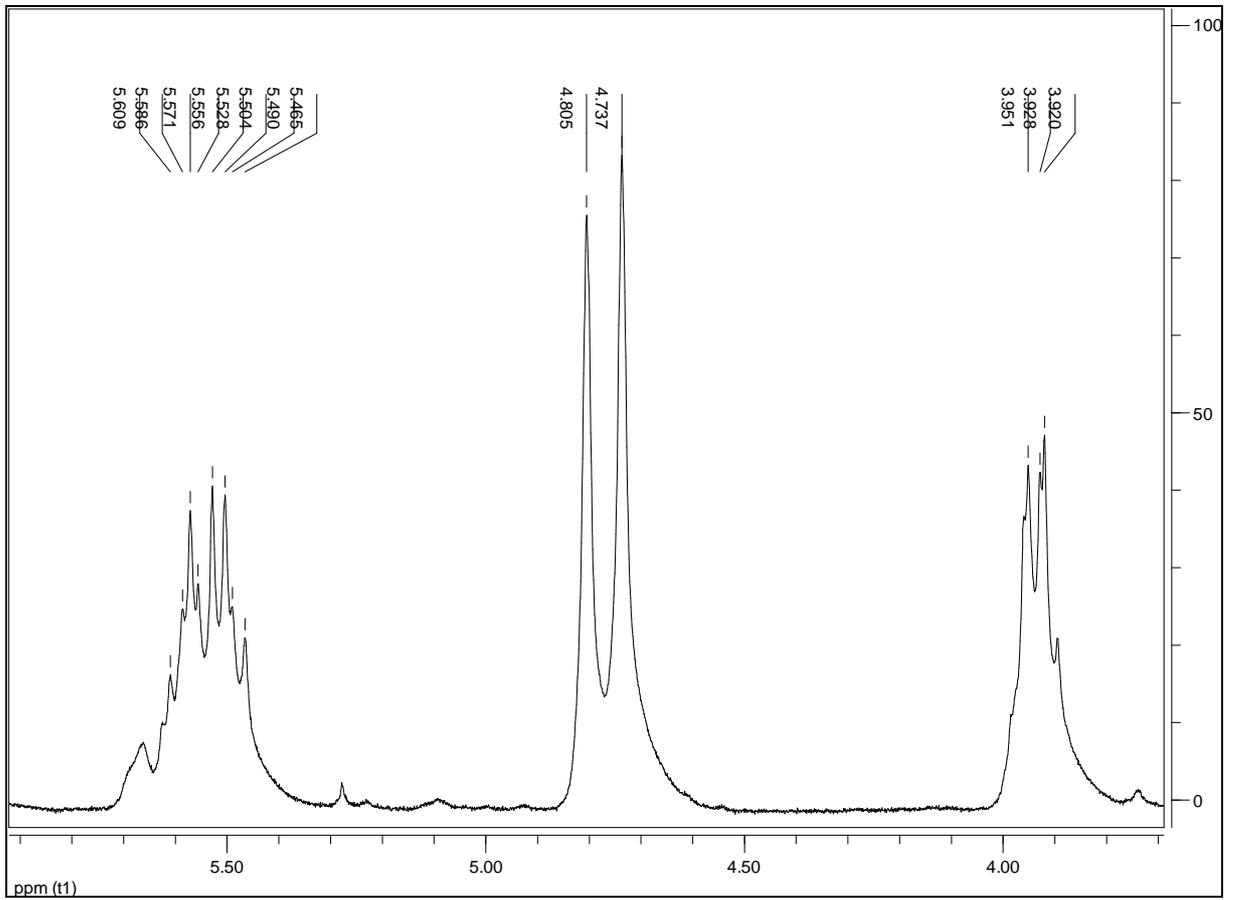
Figura 80 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.

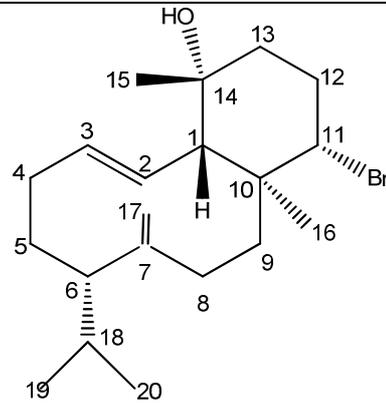
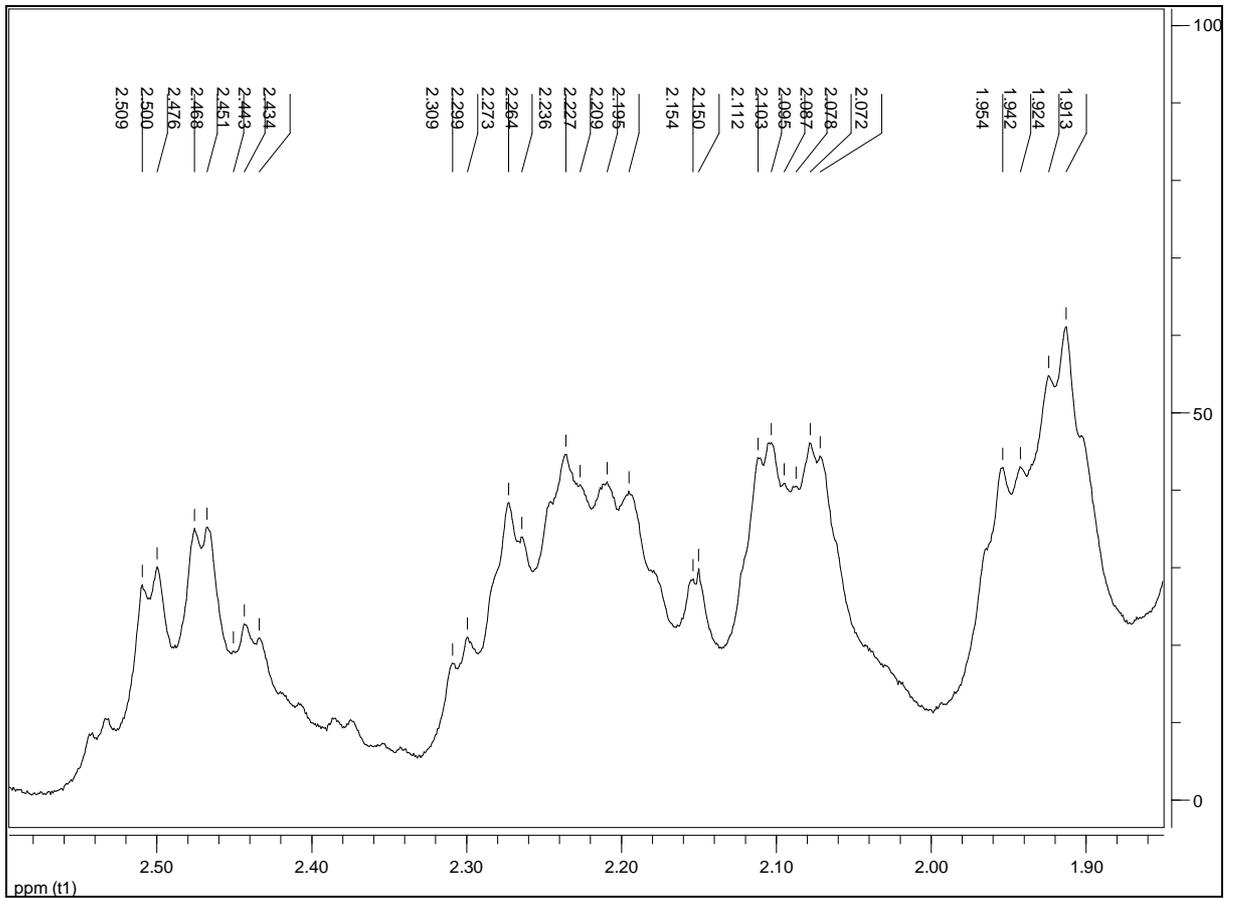
Figura 81 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.

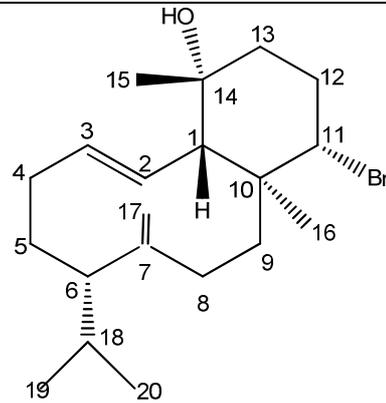
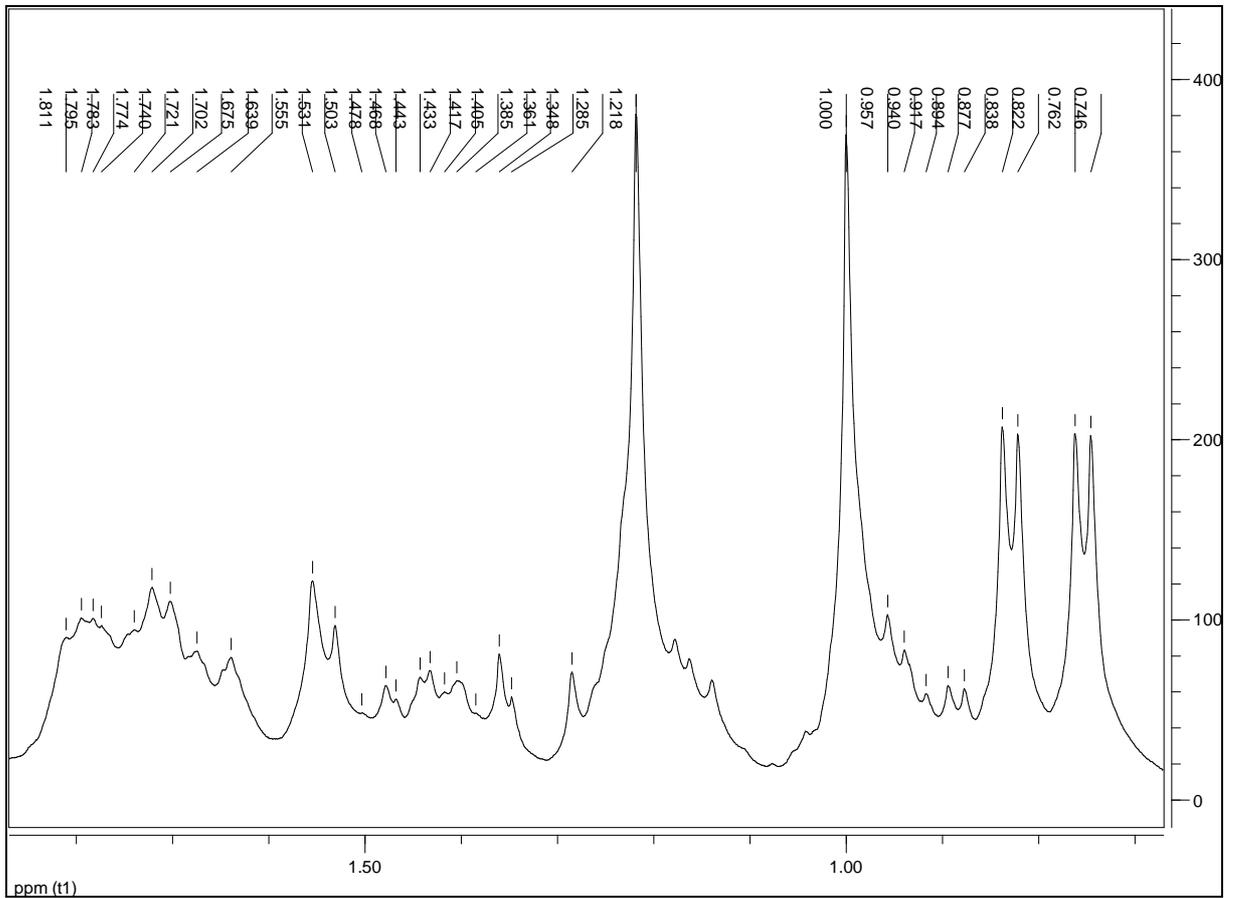
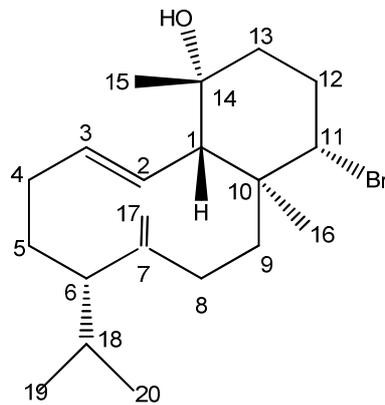
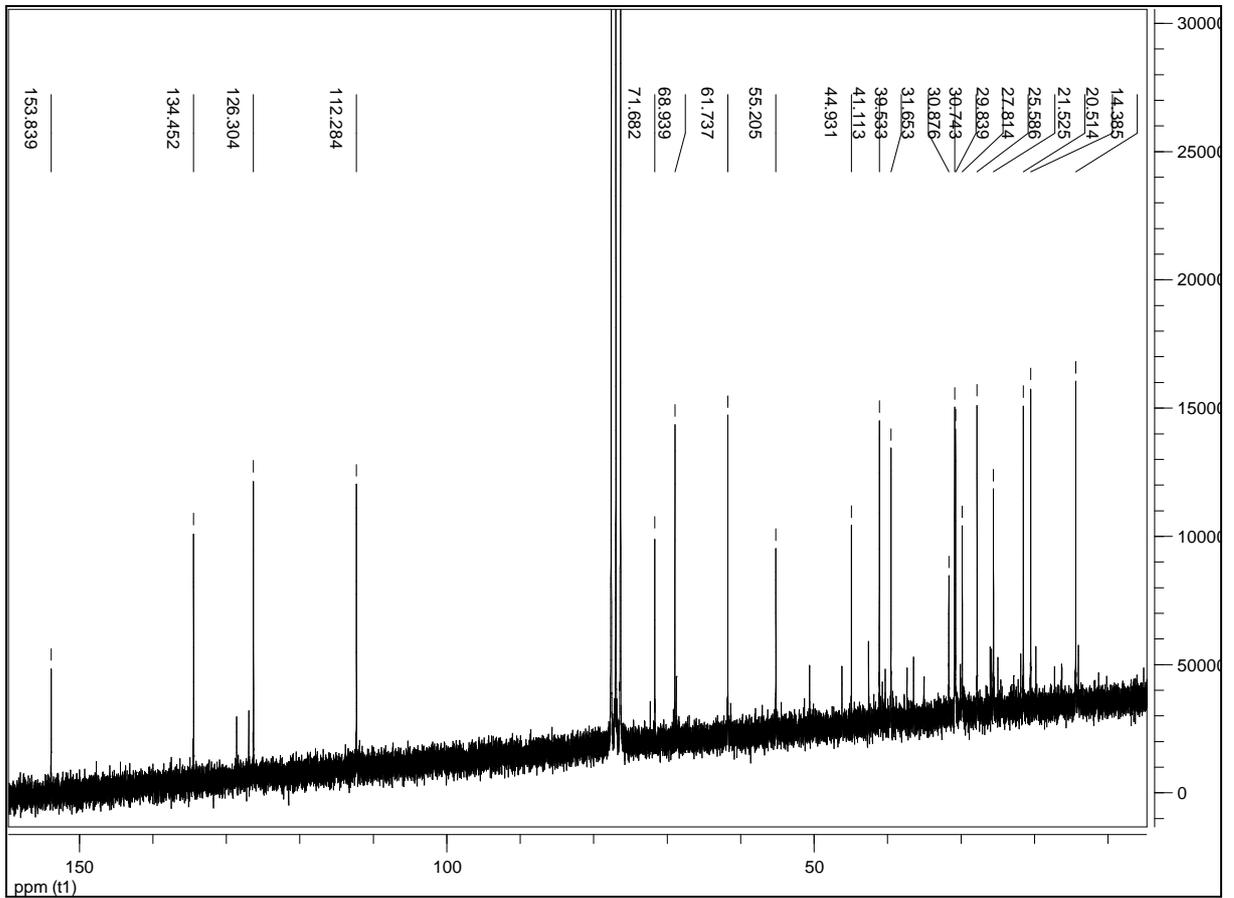
Figura 82 – Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-4.

Figura 83 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-4.

4.3.5 Identificação estrutural de Sc-5

Os espectros de RMN ^1H (Figura 85, p. 145) e suas expansões (Figuras 86 a 88, p. 146 a 148) e de RMN ^{13}C (Figura 89, p. 149) de **Sc-5** exibiram perfis semelhantes àqueles exibidos por **Sc-4**, levando a propor que esta molécula trata-se de um terpenoide. A análise do espectro de RMN de ^{13}C permitiu sugerir que **Sc-5** trata-se também de um diterpeno ao exibir sinais para 20 carbonos.

A análise do espectro de RMN ^1H de **Sc-5** mostrou três duplos dupletos em δ 5,19; 5,04 e 5,89 que propõem a existência de uma dupla terminal, como em **Sc-4**. Os multipletos em δ 5,12; 5,07 e 5,08 indicam a presença de mais três hidrogênios de carbono sp^2 .

Verificou-se que o espectro de RMN ^{13}C (Figura 89, p. 149) exibiu sinais para 8 carbonos do tipo sp^2 , onde dois deles tratam-se de um grupo vinila (δ 145,0 e 111,57), três são metínicos (δ 124,31; 124,15 e 124,01) e três não-hidrogenados (δ 135,54; 134,99 e 131,20), fortalecendo a existência de duplas ligações na molécula. De forma similar à **Sc-4**, um carbono oxigenado foi inferido pelo sinal em δ 73,41. Por outro lado, não foi observado carbono bromometínico em **Sc-5**.

O espectro de massas (Figura 90, p. 150) fortaleceu esta observação ao exibir o pico do íon molecular em M^{*+} 290 u.m.a., condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$, e evidenciou a existência do grupo hidroxila ao exibir um fragmento em 272 u.m.a. resultante da perda de 18 u.m.a. (H_2O).

A atividade óptica de **Sc-5** foi avaliada, obtendo-se um resultado de $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -11.2$ (20 °C; $c=1.2$; CHCl_3) que permitiu propor a estereoquímica da molécula.

Aliando-se os dados obtidos e comparações com a literatura (Tabela 8. p. 144) (GUELLA; PIETRA, 2000) foi possível identificar a substância **Sc-5** como sendo o diterpeno Geranil-linalool (Figura 84, p. 143), substância isolada pela primeira vez na alga *S. coronopifolius*.

Figura 84 – Estrutura química de Sc-5.

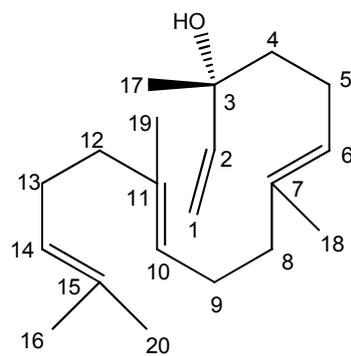


Tabela 8 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-5 com modelo Mo-5 (δ , CDCl_3) da literatura (GUELLA, G.; PIETRA, F., 2000).

Sc-5				Mo-5			
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	m, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1a	5,19	dd 1,2; 17,4	111,57	1a	5,20	dd 1,4; 17,4	111,65
1b	5,04	dd 1,2; 10,8		1b	5,05	dd 1,4; 10,7	
2	5,89	dd 10,6; 17,4	145,0	2	5,90	dd 10,7; 17,4	145,02
3	-	-	73,41	3	-	-	73,47
4 (2H)	1,53	m	42,03	4 (2H)	1,52	m	42,04
5 (2H)	2,04	m	22,62	5 (2H)	2,04	m	22,69
6	5,12	m	124,31	6	5,12	tl 6,5	124,35
7	-	-	135,54	7	-	-	135,58
8 (2H)	2,04	m	39,55	8 (2H)	2,04	m	39,63
9 (2H)	2,04	m	26,70	9 (2H)	2,04	m	26,72
10	5,07	m	124,15	10	5,08	tl 6,5	124,16
11	-	-	134,99	11	-	-	135,02
12 (2H)	2,04	m	39,61	12 (2H)	2,04	m	39,69
13 (2H)	2,04	m	26,49	13 (2H)	2,04	m	26,52
14	5,08	m	124,01	14	5,08	tl 6,5	124,07
15	-	-	131,20	15	-	-	131,24
16	1,66	sl	25,58	16	1,66	sl	25,68
17	1,26	s	27,82	17	1,26	s	27,87
18	1,58	sl	15,88	18	1,58	sl	15,99
19	1,58	sl	16,03	19	1,58	sl	16,02
20	1,58	sl	17,73	20	1,58	sl	17,67

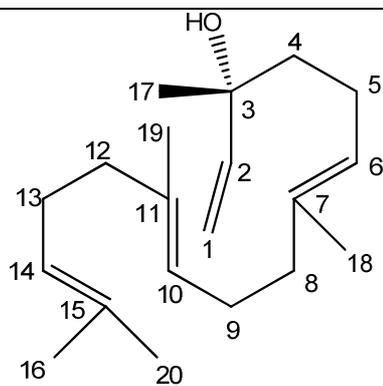
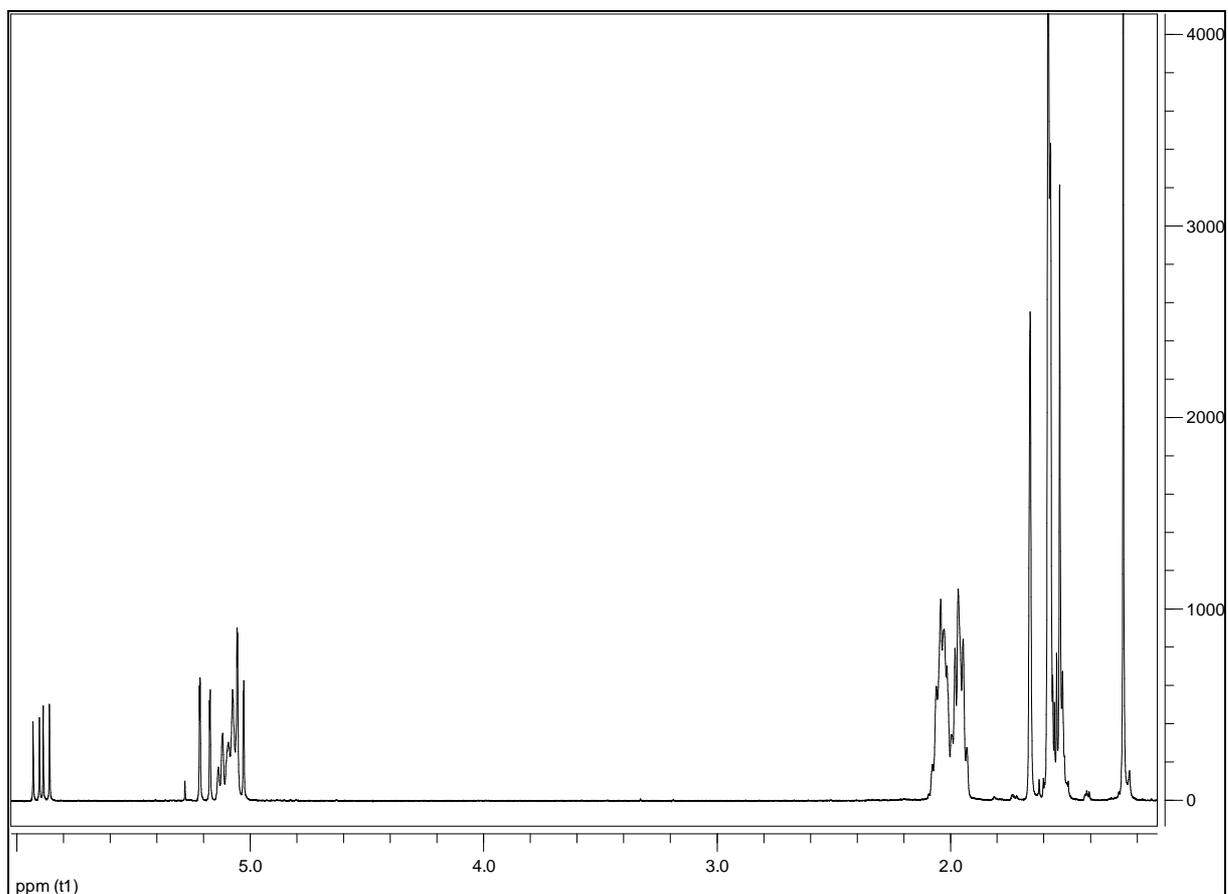
Figura 85 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.

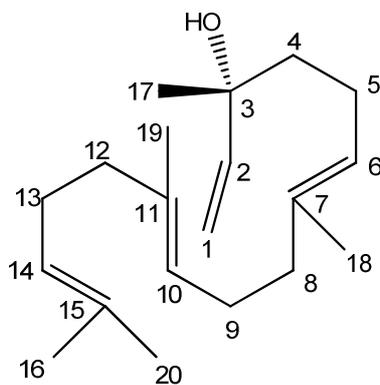
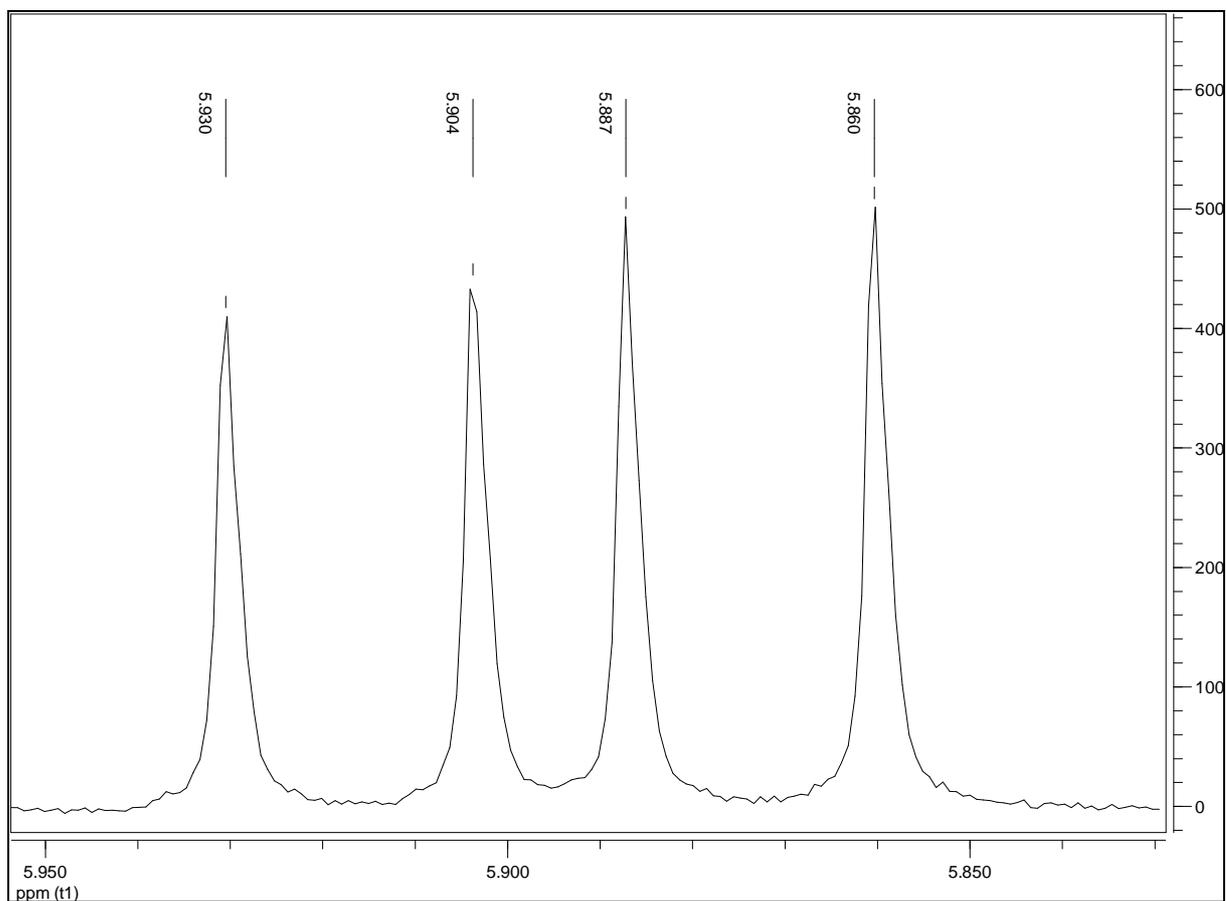
Figura 86 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.

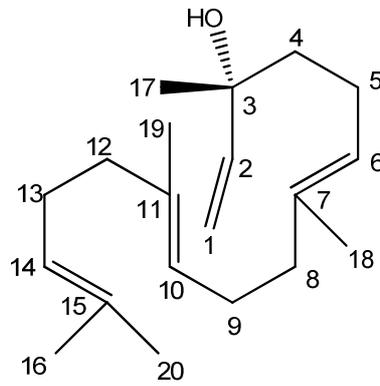
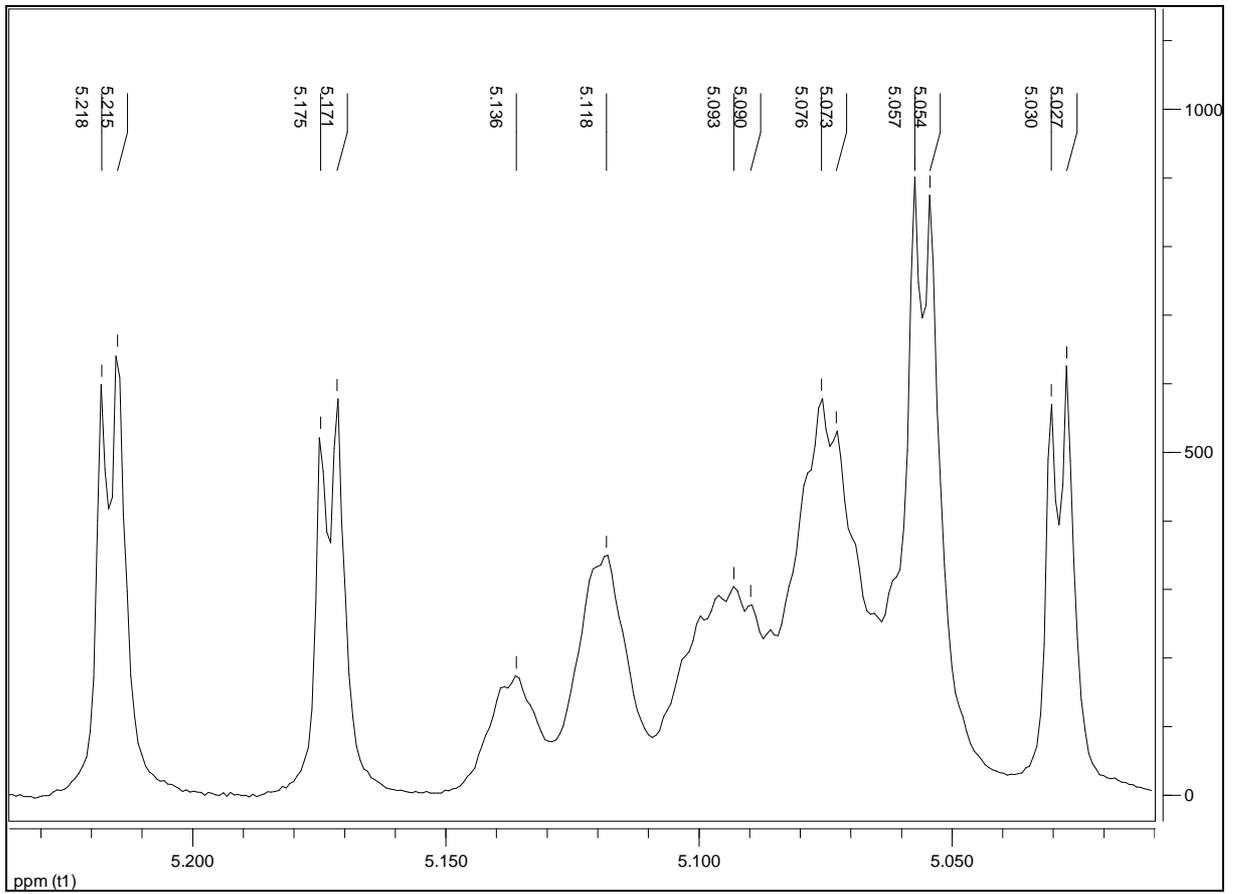
Figura 87 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.

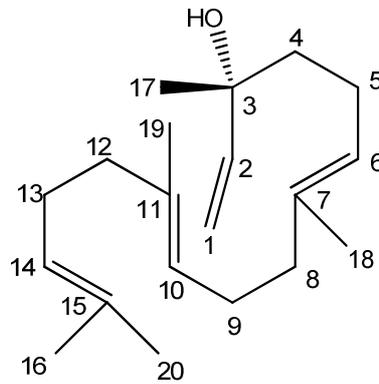
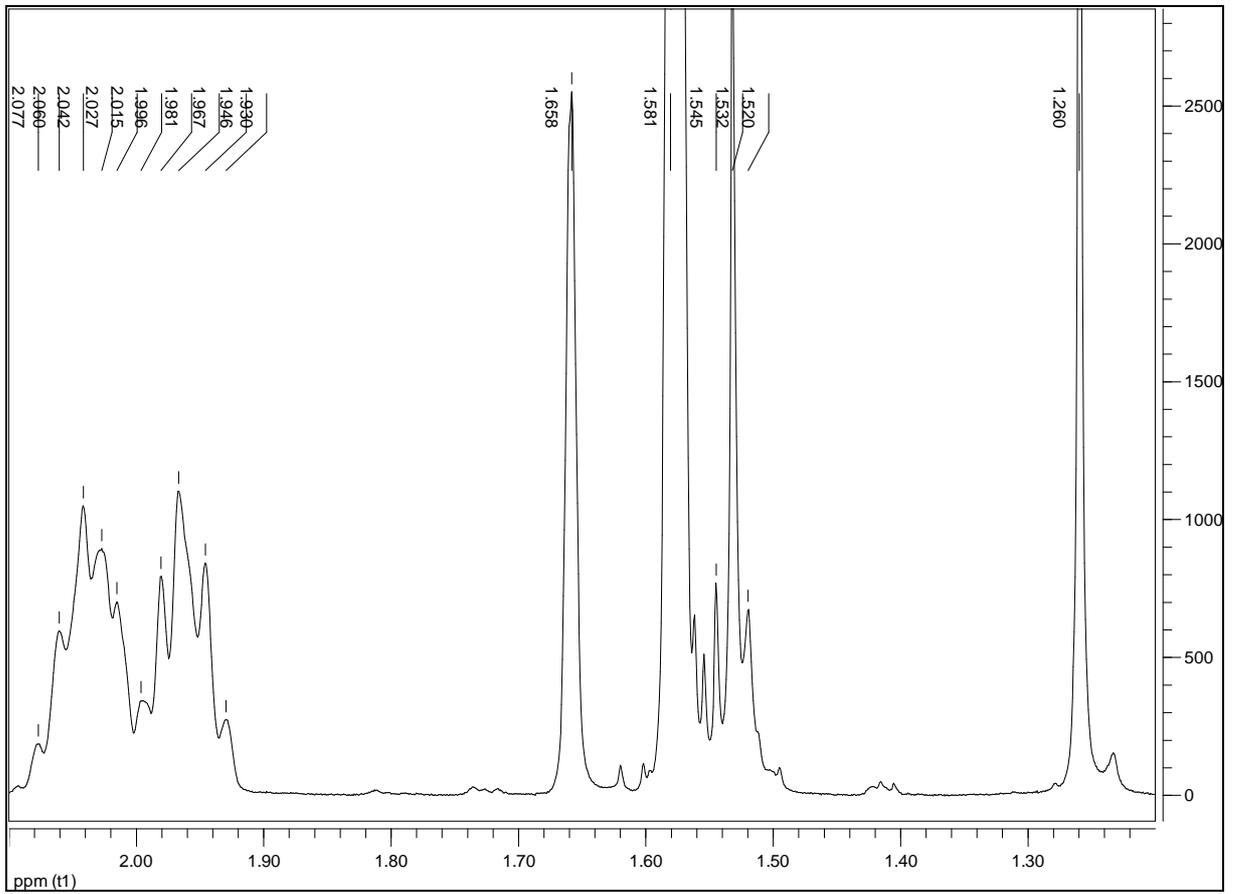
Figura 88 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-5.

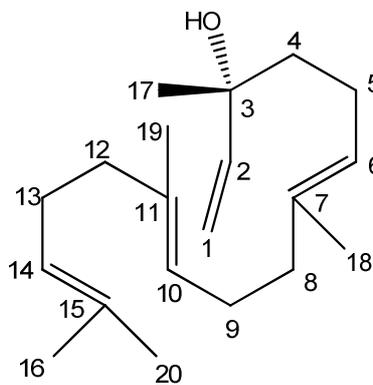
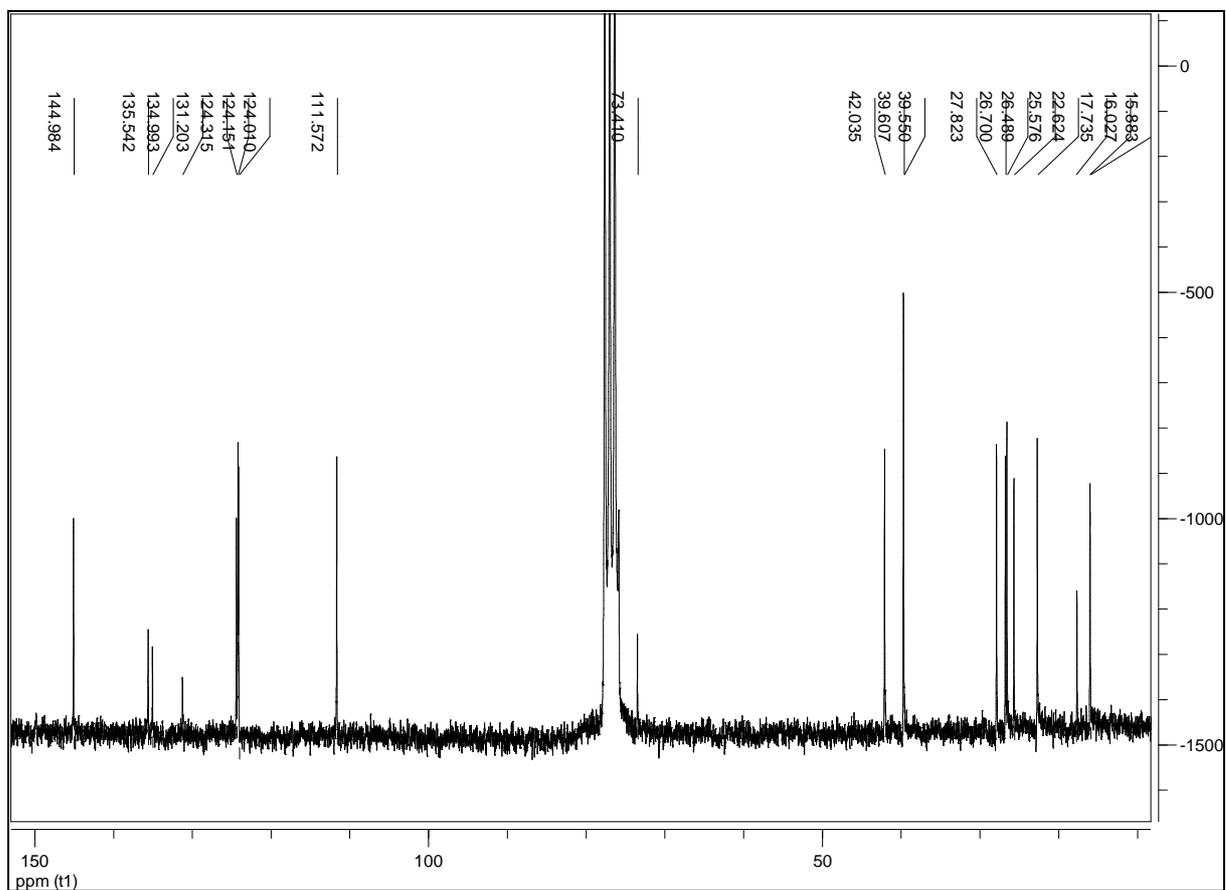
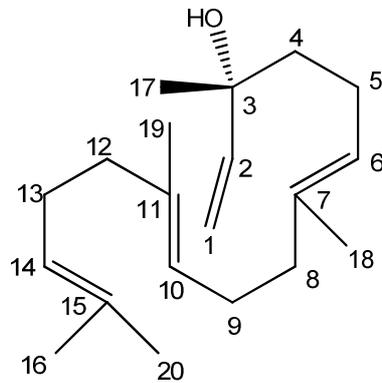
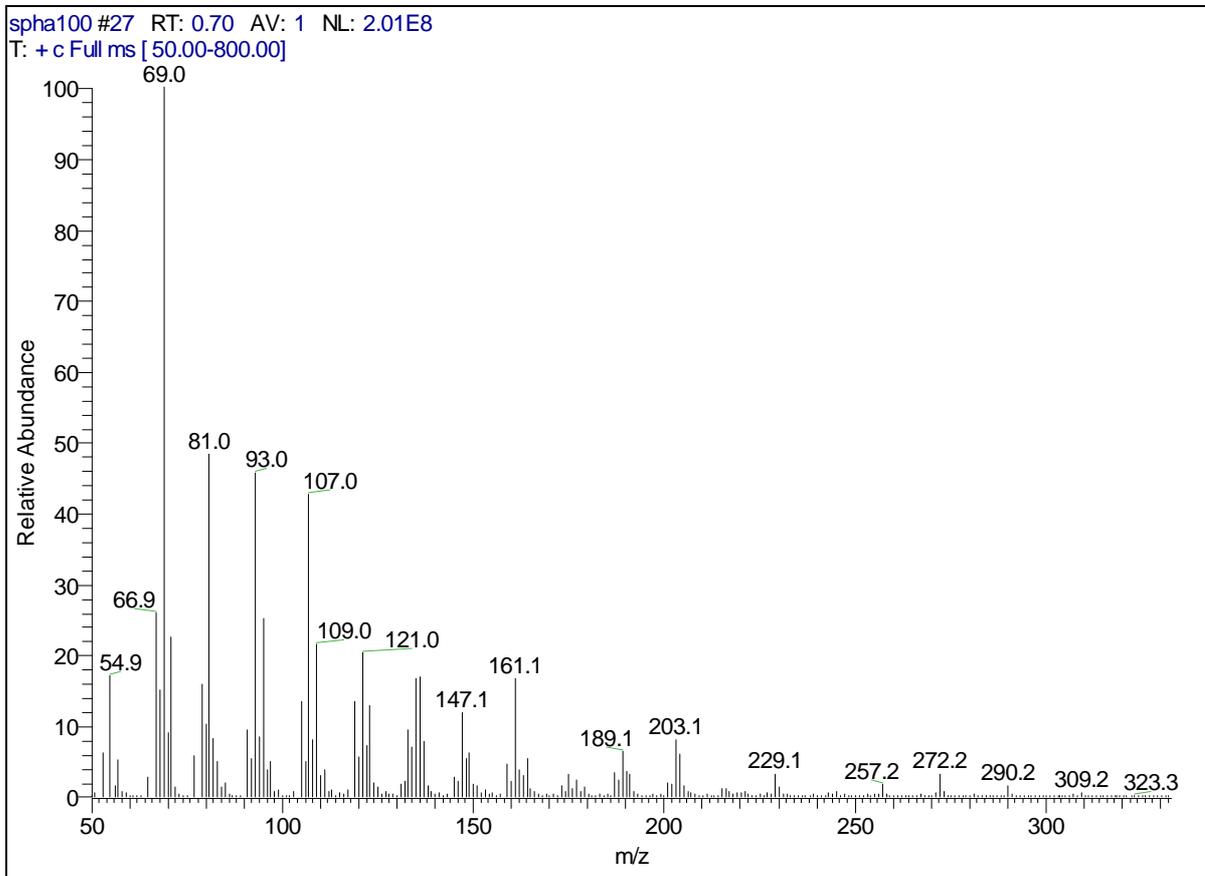
Figura 89 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-5.

Figura 90 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-5.



4.3.6 Identificação estrutural de Sc-6

A substância **Sc-6** foi purificada através de CLAE. Os dados fornecidos pelos espectros de RMN de ^{13}C (Figura 98, p. 163) e espectrometria de massas ESI (Figura 92, p. 156) com pico do íon molecular M^{*+} em 494 u.m.a. deram suporte à fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{BrIO}$. O esquema 9 (p. 157) mostra alguns dos fragmentos fornecidos por **Sc-6**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 98, p. 163) exibiu sinais para 20 carbonos, sendo três quaternários, sete metínicos, seis metilênicos e quatro metílicos. Os sinais em δ_{C} 51,94 (C-4), δ_{C} 41,45 (C-7) e δ_{C} 73,63 (C-11) foram identificados como sendo referentes a carbonos quaternários. A natureza de uma função alcoólica foi indicada pelo sinal de C-11 em região de campo mais baixo. A presença de um carbono bromometínico em **Sc-6** foi inferida pelo sinal em δ_{C} 68,49 (C-8). Um sinal em δ_{C} 25,87 foi atribuído ao carbono da posição 14. Este fato, juntamente com a observação do sinal exibido pelo espectro de RMN de ^1H em δ_{H} 3,98, são condizentes com a possível ligação deste átomo de carbono metínico com um átomo de iodo (PAVIA et al., 2001). Esta hipótese foi fortalecida através dos dados fornecidos pela espectrometria de massas ESI.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 93, p. 158) e suas expansões (Figuras 94 a 97, p. 159 a 162) ratificaram as duas últimas atribuições para carbonos ao exibir os sinais dos respectivos hidrogênios em δ_{H} 4,09 (1H, dd, $J= 12,8$ e $4,0$ Hz, H-8) que mostra acoplamento diaxial com δ_{H} 2,48 (1H, dddd, $J=13,4; 13,4; 12,6$ e $4,6$ Hz, H-9 α) visto no experimento COSY e axial-equatorial com δ_{H} 2,08 (1H, ddd, $J=13,4; 7,4;$ e $4,4$ Hz, H-9 β) e em δ_{H} 3,98 (1H, dd, $J= 8,4$ e $5,6$ Hz, H-14) o qual apresentou acoplamento diaxial com δ_{H} 1,75 (1H, dd, $J= 14,2$ e $8,6$ Hz, H-17b) e axial-equatorial com δ_{H} 2,60 (1H, dd, $J= 14,2$ e $5,6$ Hz, H-17a), também visto no COSY. Ainda através da análise do espectro de RMN de ^1H , foi exequível verificar a presença de dois grupos metílicos ligados a átomos de carbonos quaternários pelos simpletos em δ_{H} 1,56 (CH₃-15) e em δ_{H} 1,16 (CH₃-16) e duas metilas secundárias pertencentes a uma função isopropila em δ_{H} 0,85 (d, $J= 6,7$ Hz, CH₃-19) e δ_{H} 0,84 (d, $J= 6,7$ Hz, CH₃-20) que acoplam com H-18.

Todos os carbonos com seus respectivos hidrogênios foram assinalados mediante a análise dos experimentos bidimensionais HMQC (Figura 99, p. 164) e COSY (Figura 100, p. 165).

Mediante análise do espectro bidimensional HMBC (Figura 101, p. 166), verificou-se que os hidrogênios metílicos ressonando em δ_H 1,16 (CH₃-16) e δ_H 1,56 (CH₃-15) correlacionavam-se a duas ligações com os sinais em δ_C 41,45 (C-7) e δ_C 73,63 (C-11), respectivamente. Adicionalmente, os hidrogênios CH₃-16 e CH₃-15 mostraram correlações a 3J com o C-12 (δ_C 47,60), e o CH₃-15 exibiu correlação a 3J com C-10 (δ_C 43,61). Foi observada também uma correlação de CH₃-16 e H-12 (δ_H 1,97) a três ligações com C-6 (δ_C 37,81). Desta maneira, foram assinaladas as posições dos carbonos quaternários C-7 e C-11, bem como dos carbonos metilênicos C-6 e C-10.

A estereoquímica relativa global da substância em análise foi atribuída baseando-se nos valores das constantes de acoplamento obtidos no espectro de RMN 1H e medições do NOE (Figura 102, p. 167). A natureza axial do H-8 (δ_H 4,09) foi evidenciada por sua alta constante de acoplamento ($J= 12,6$ Hz) com H-9 α (δ_H 2,48). Analogamente, a relação trans diaxial entre H-12 (1H, d, $J= 12,1$ Hz, δ_H 1,97) e H-13 (1H, dl, $J= 12,1$, δ_H 1,81) foi observada.

As correlações NOE entre H₃-16/H-9 α e H₃-16/H-13 revelaram seu posicionamento *cis* estabelecendo, assim, que a junção do anel em C-7 e C-12 é *trans* diequatorial. Houve ainda correlação entre H₃-15/H-1, mas não entre H₃-15/H-9, o que poderia ser explicado pela natureza equatorial de H₃-15.

A estereoquímica de C-1 e C-4 foi estabelecida a partir do NOE encontrado entre H-6 β /H-17a, ao passo que a correlação entre H-14/H-2 e H-14/H-3 possibilitou atribuir a estereoquímica relativa de C-14 e C-3.

A análise dos dados (Tabela 9, p. 154) e comparações com modelos da literatura (Tabela 10, p. 155) possibilitou concluir que o metabólito Sc-6 trata-se de um produto natural inédito na literatura denominado lodo coronopifoliol (Figura 91, p. 153).

Figura 91 – Estrutura química de Sc-6.

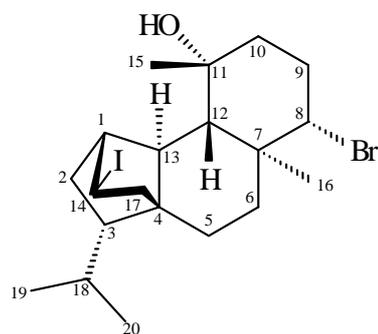


Tabela 9 - Dados de RMN de ^1H , NOESY, HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6.

No.	^1H (δ)	mult (J)	NOESY	^{13}C (δ)	Tipo	HMBC
1	2,88	sl	2, 13, 14, 15	49,38	CH	2, 4, 17
2	1,34	m	1, 14, 20	35,55	CH_2	3, 4, 14
3	1,17	m	14, 17b	48,77	CH	1, 4, 17, 19, 20
4	-			51,97	C	
5	α 1,73	m	16	22,81	CH_2	3
	β 1,31	ddd 14,2; 3,8; 3,8				
6	α 1,86	ddd 12,9; 4,0; 2,2		37,86	CH_2	12, 16
	β 1,38	ddd 12,9; 12,9; 3,8	8, 12, 17a			
7	-			41,43	C	
8	4,09	dd 12,8; 4,0	6β , 9β . 10β , 12	68,46	CH	16
9	α 2,48	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,6	10α , 16	30,94	CH_2	10β
	β 2,08	ddd 13,4; 7,4; 4,4	8, 10β			
10	β 1,68	ddd 14,5; 13,4; 4,6	8, 9β , 12	43,64	CH_2	15
	α 1,59	ddd 14,5; 4,6; 3,0	9α			
11	-			73,62	C	
12	1,97	d 12,1	6β , 8, 10β , 15, 17a	47,57	CH	15, 16
13	1,81	dl 12,1	1, 15, 16, 19	44,77	CH	2, 4, 5, 12, 14, 17
14	3,98	dd 8,4; 5,6	1, 2, 3, 17b	25,84	CH	1, 2, 13, 17
15	1,56	s	1, 12, 13	32,92	CH_3	11
16	1,16	s	5α , 9α , 13	16,51	CH_3	7, 12
17	2,60a	dd 14,4; 5,6	6β , 12	50,11	CH_2	3, 4, 13
	1,75b	dd 14,2; 8,6	3, 14			
18	1,72	m		28,31	CH	2, 3, 19, 20
19	0,85	d 6,7	13	23,42	CH_3	3, 20
20	0,84	d 6,7	2	18,78	CH_3	3, 19

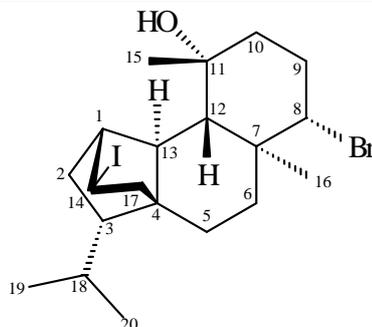
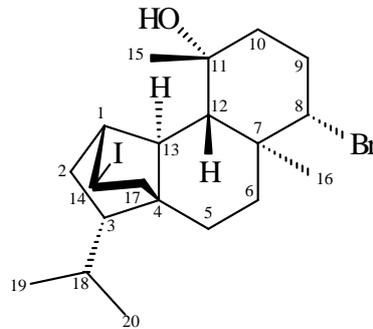
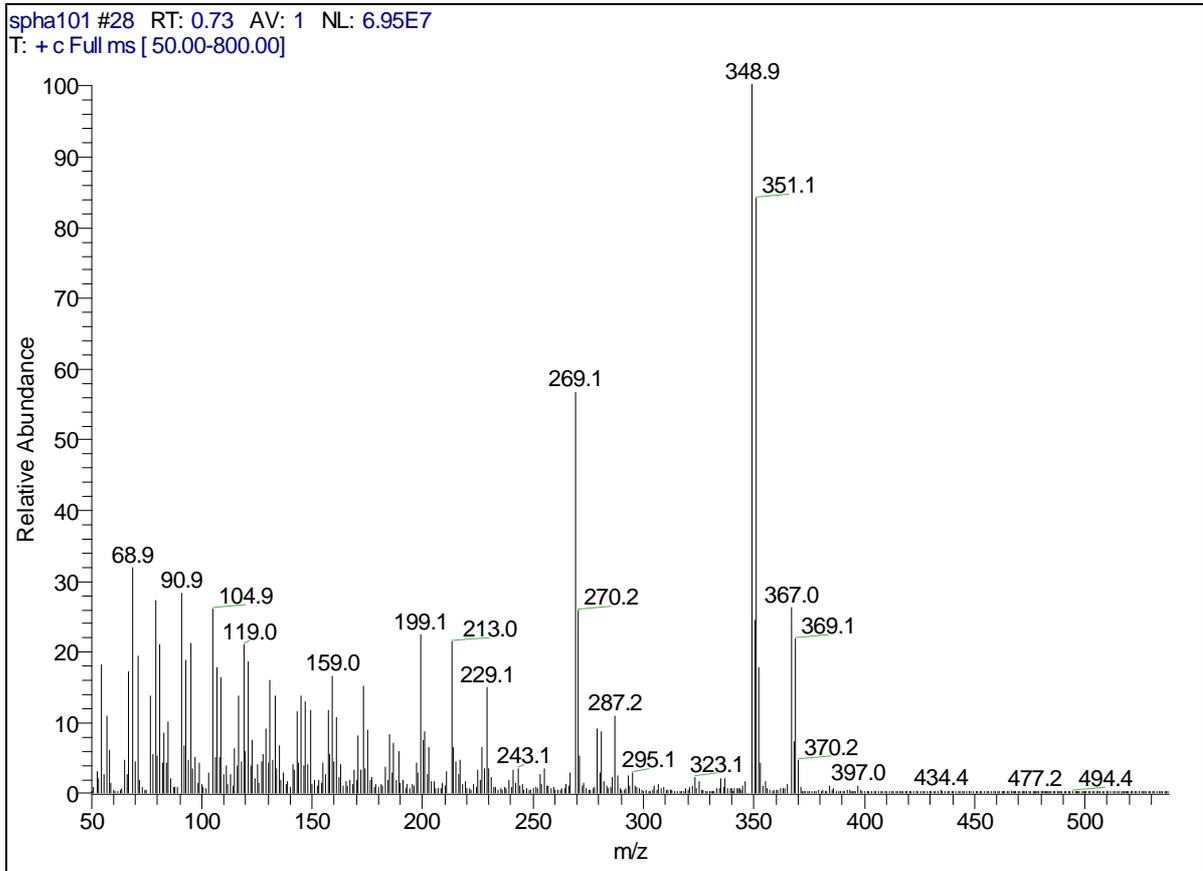


Tabela 10 – Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6 e Mo-6 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c, mesmas condições experimentais).

Sc-6				Mo-6			
No.	^1H (δ)	mult (J)	^{13}C (δ)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	2,88	sl	49,38	1	2,60	dl 4,2	48,25
2	1,34	m	35,55	2	a 1,37	m	29,45
3	1,17	m	48,77	3	b 1,17	dd 12,4; 8,7	49,26
4	-		51,97	4	1,08	dt 8,7; 6,2	49,26
5	α 1,73	m	22,81	4	-	-	49,60
	β 1,31	ddd 14,2; 3,8; 3,8		5	a 1,76	dt 4,2; 12,9	23,09
6	α 1,86	ddd 12,9; 4,0; 2,2	37,86		b 1,36	m	
	β 1,38	ddd 12,9; 12,9; 3,8		6	a 1,88	m	37,56
7	-		41,43		b 1,40	m	
8	4,09	dd 12,8; 4,0	68,46	7	-	-	41,35
9	α 2,48	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,6	30,94	8	4,06	dd 12,9; 3,7	69,28
	β 2,08	ddd 13,4; 7,4; 4,4		9	a 2,45	dtd 13,2; 12,9; 5,4	30,87
10	β 1,68	ddd 14,5; 13,4; 4,6	43,64		b 2,02	dq 13,2; 3,7	
	α 1,59	ddd 14,5; 4,6; 3,0		10	a 1,60	m	43,61
11	-		73,62		b 1,60	m	
12	1,97	d 12,0	47,57	11	-	-	73,37
13	1,81	dl 12,1	44,77	12	1,83	d 11,6	48,59
14	3,98	dd 8,4; 5,6	25,84	13	1,64	d 11,6	43,69
15	1,56	s	32,92	14	3,88	dd 7,5; 2,9	75,90
16	1,16	s	16,51	15	1,35	s	33,62
17	2,60a	dd 14,4; 5,6	50,11	16	1,15	s	15,47
	1,75b	dd 14,2; 8,6		17	a 1,86	m	46,20
18	1,72	m	28,31		b 1,38	m	
19	0,85	d 6,7	23,42	18	1,72	dhept 6,2; 6,6	28,20
20	0,84	d 6,7	18,78	19 ^b	0,85	d 6,6	23,55
				20 ^b	0,85	d 6,6	18,83

Figura 92 - Espectro de massas de Sc-6.



Esquema 9 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-6.

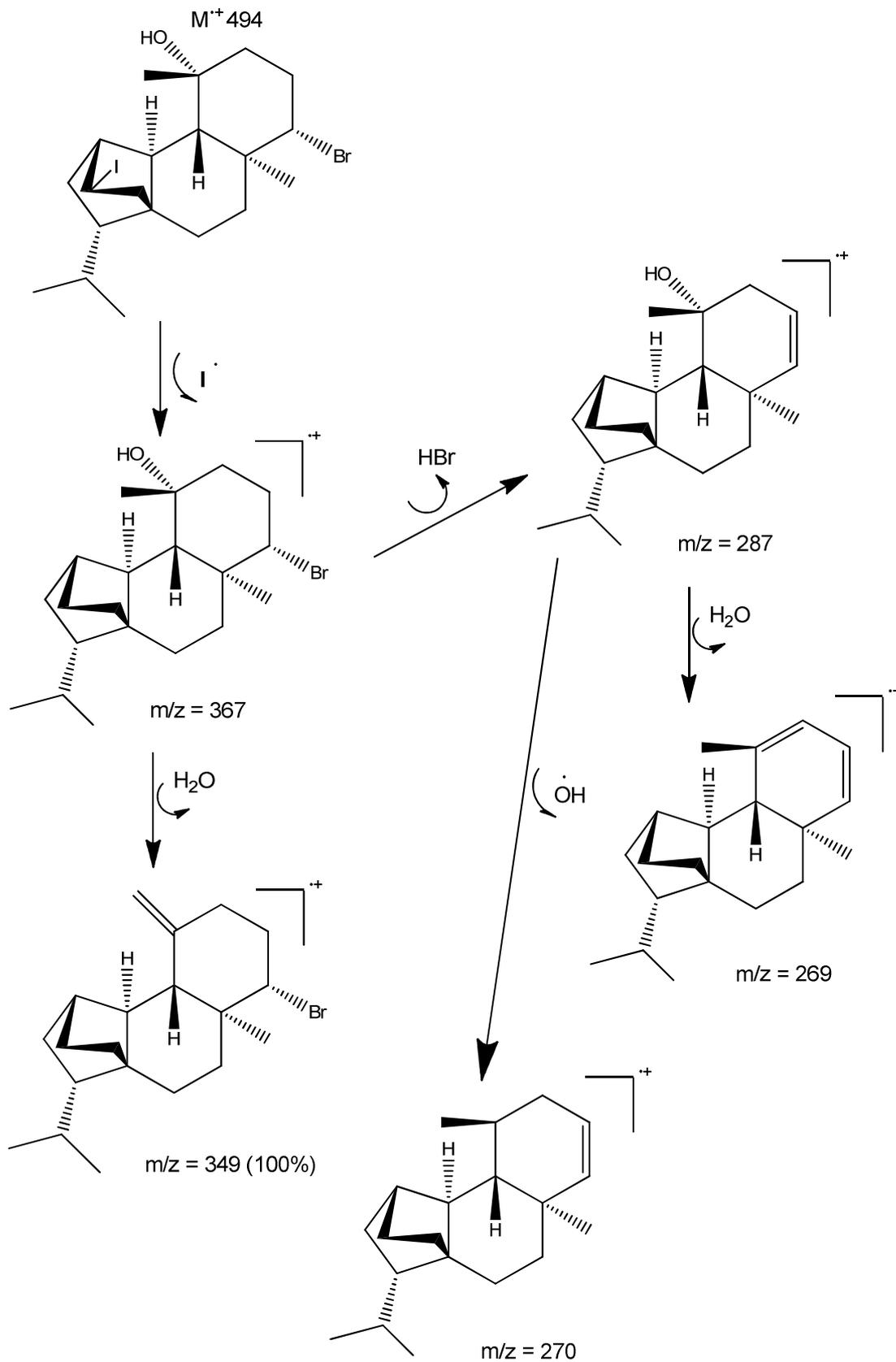


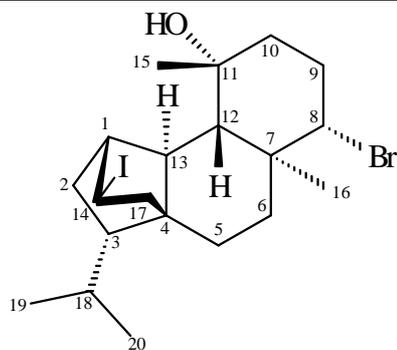
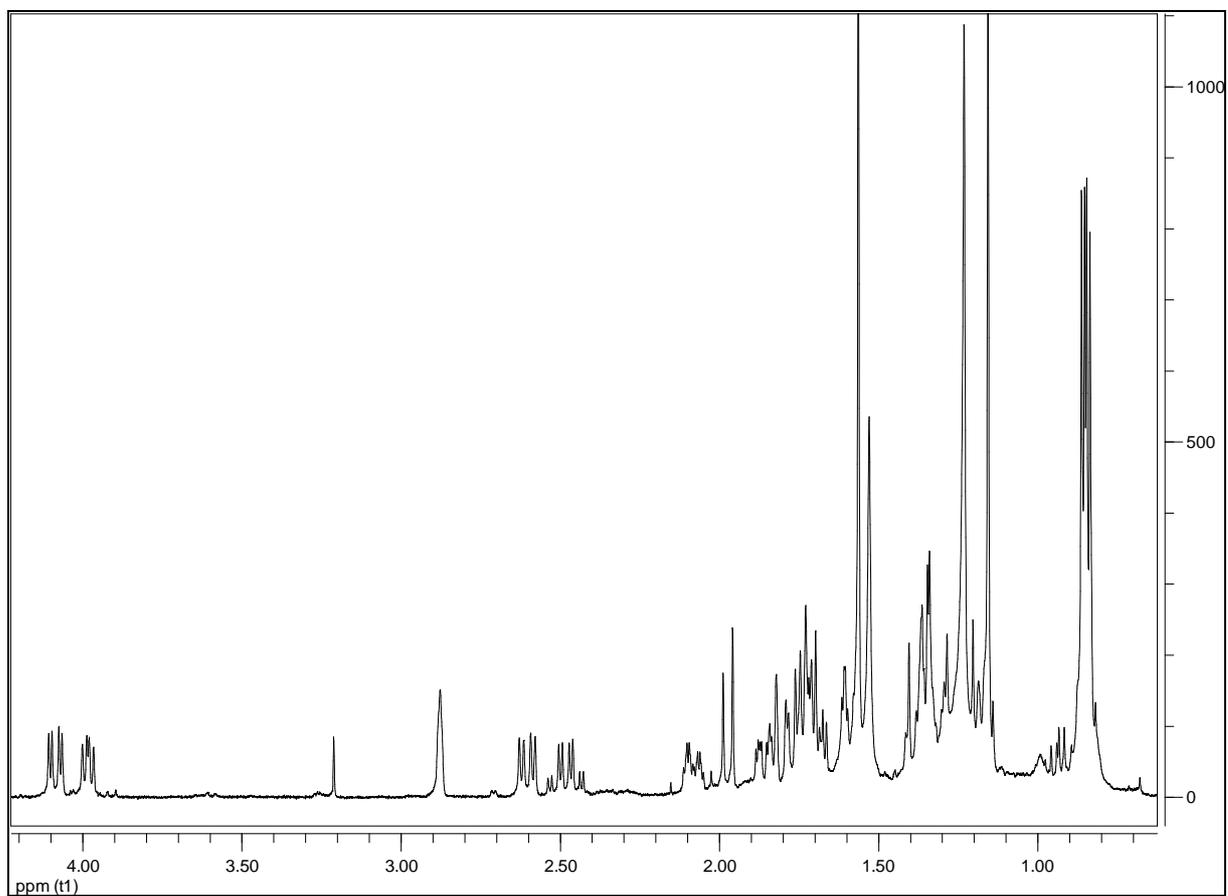
Figura 93 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

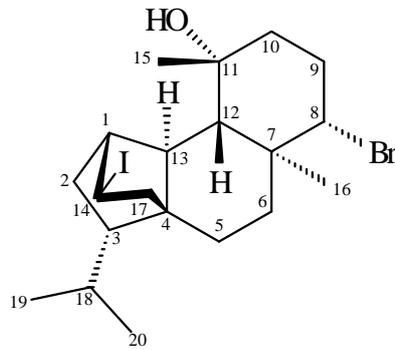
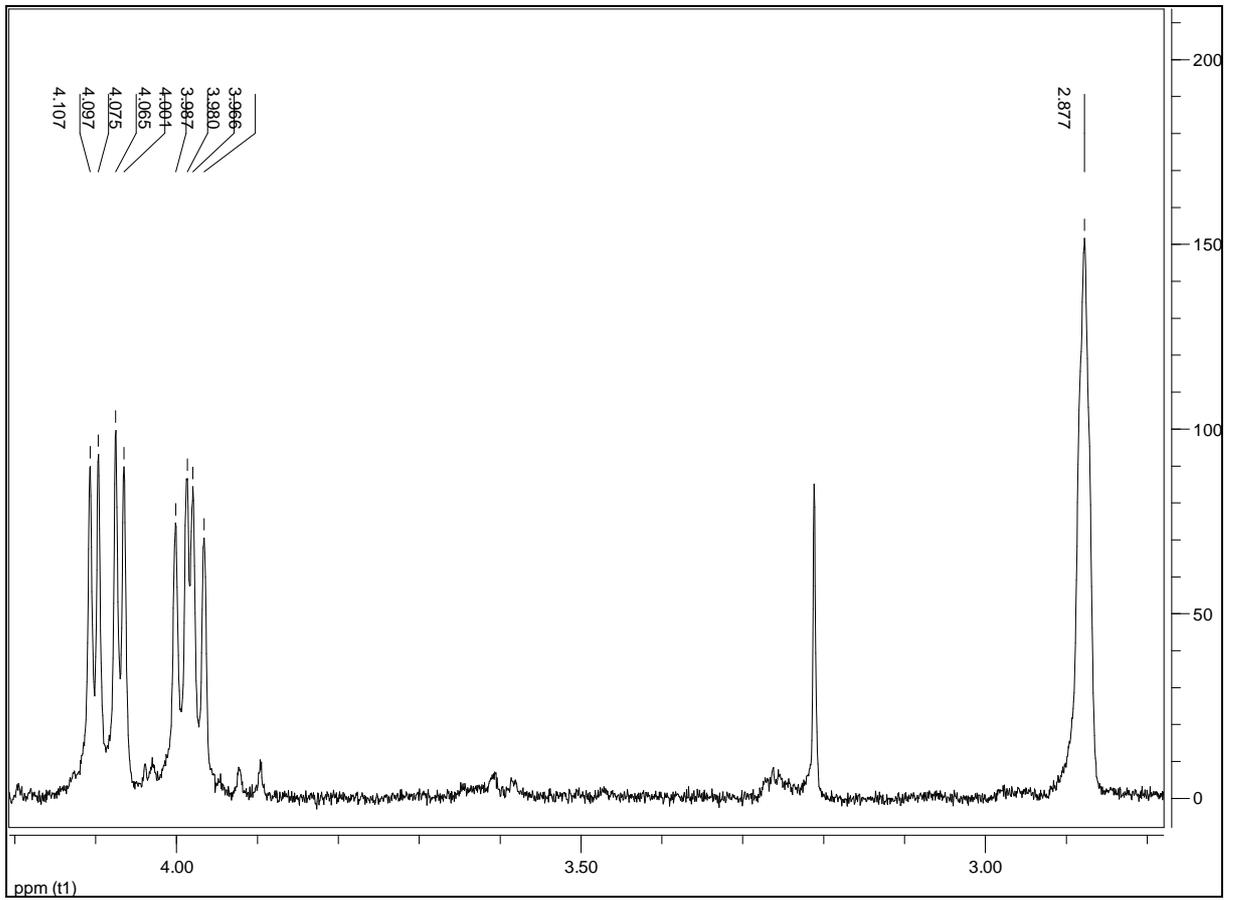
Figura 94 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

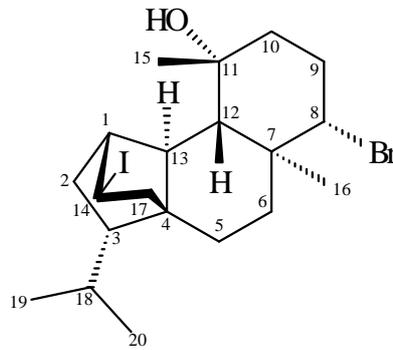
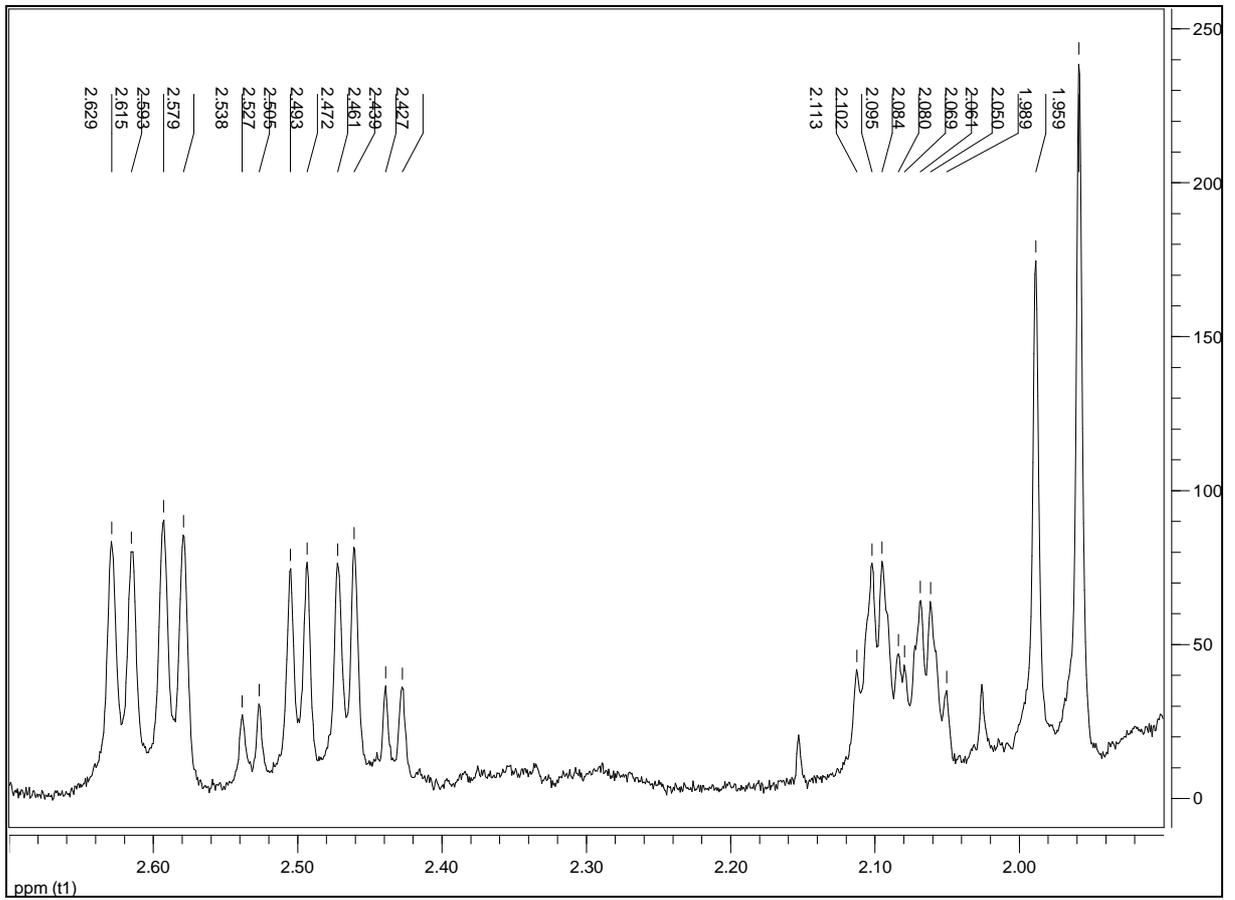
Figura 95 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

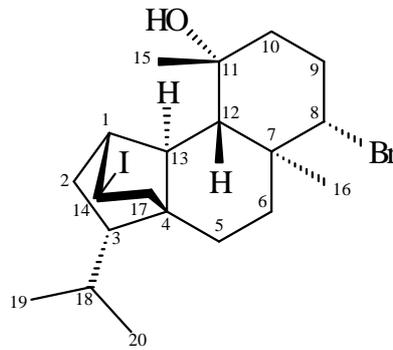
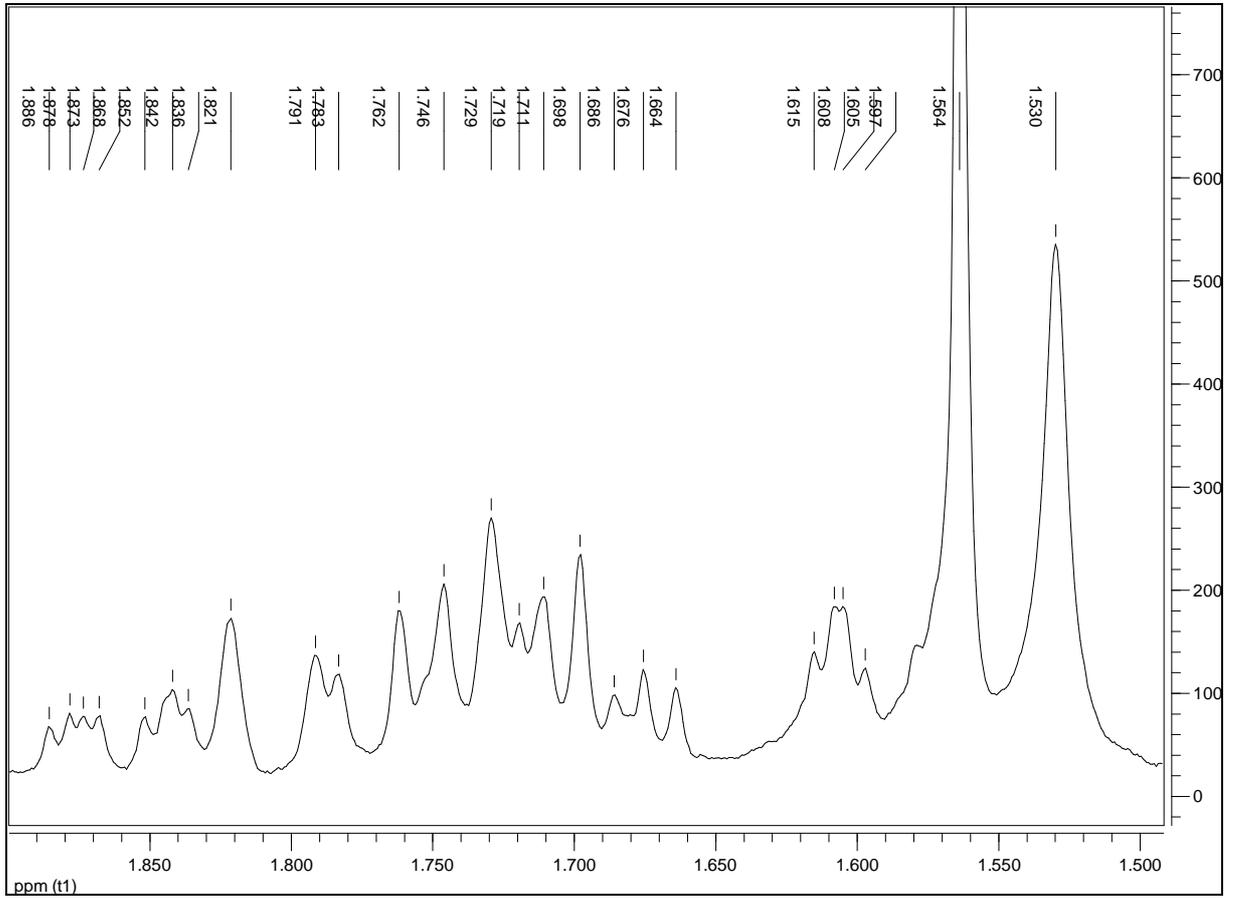
Figura 96 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

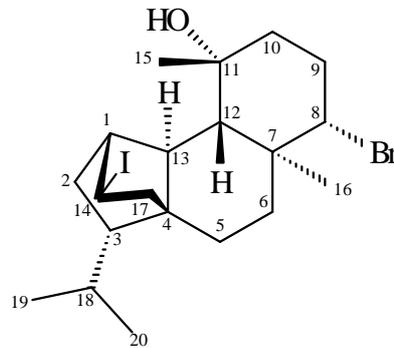
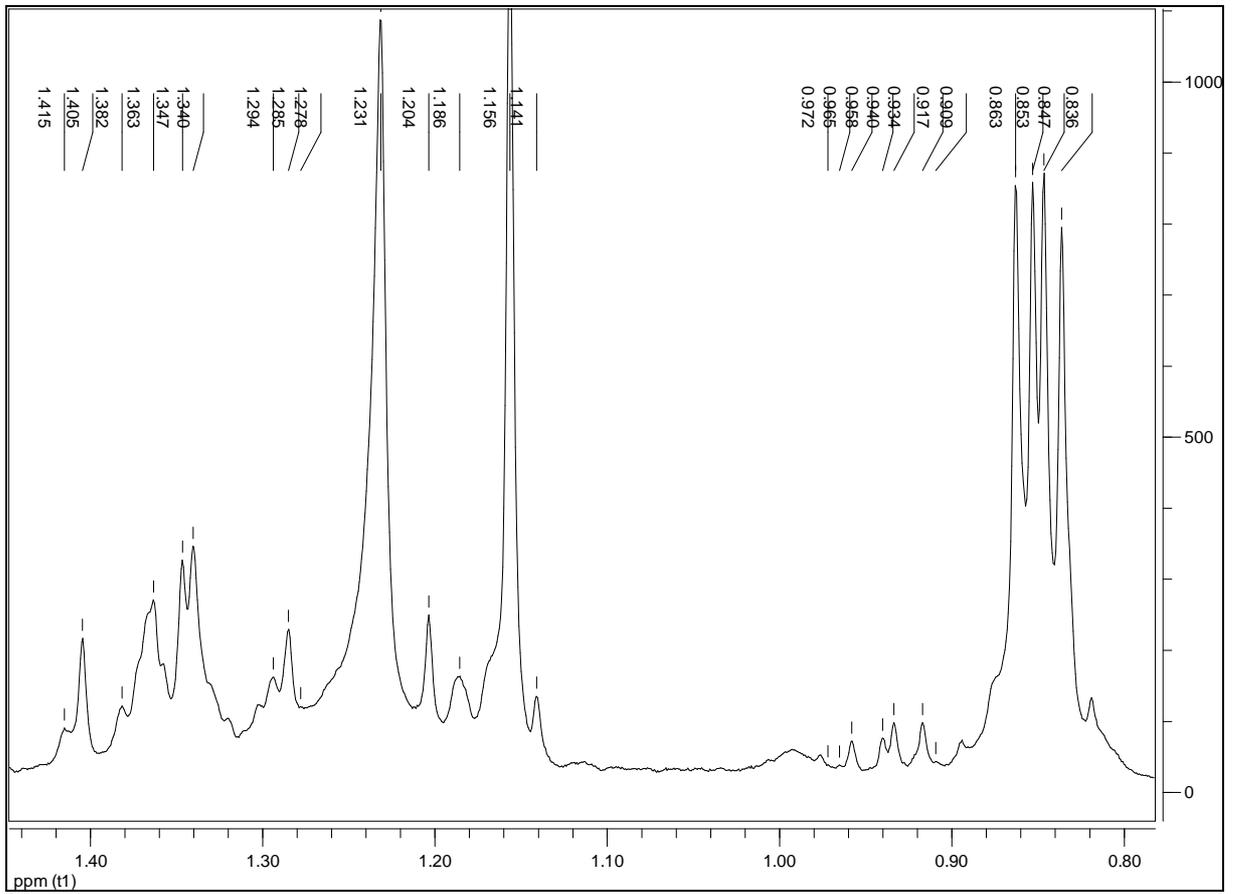
Figura 97 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

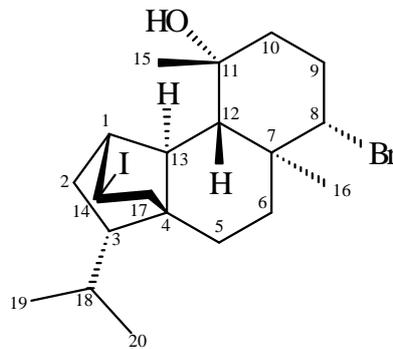
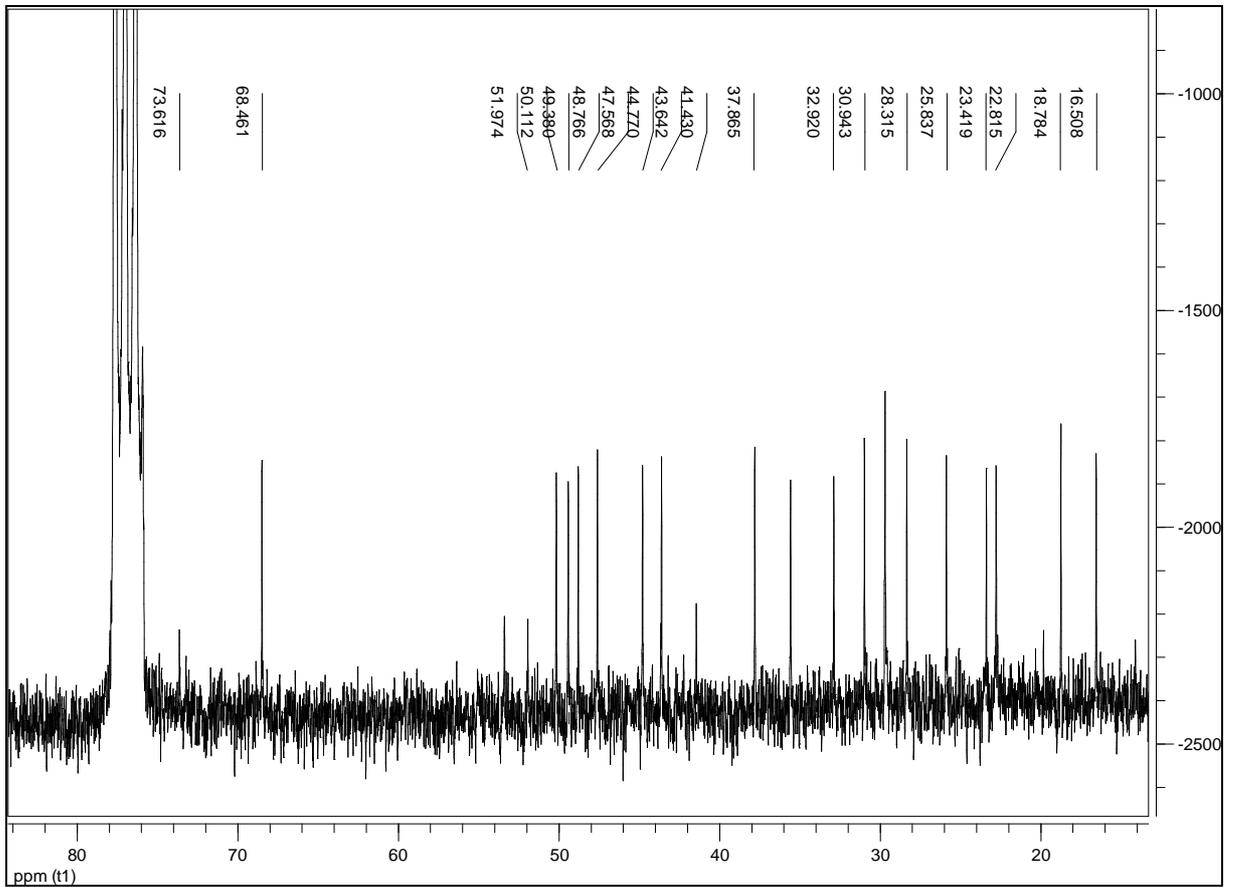
Figura 98 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-6.

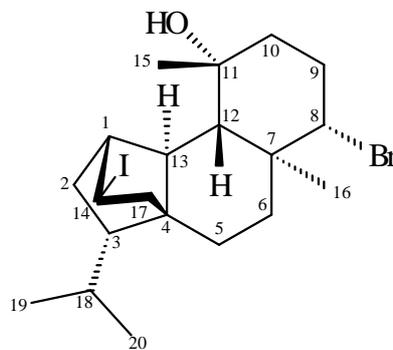
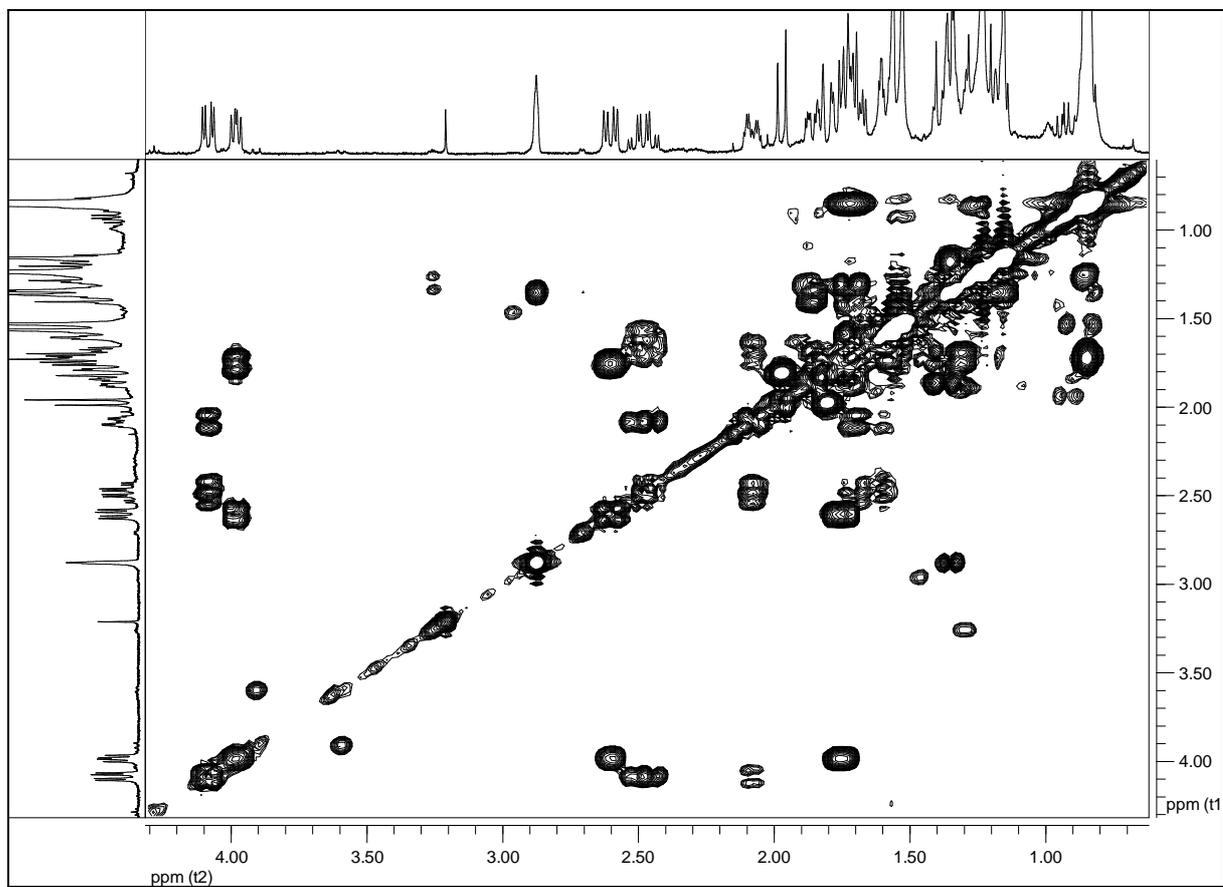
Figura 100 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

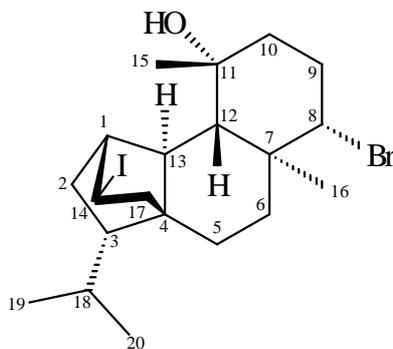
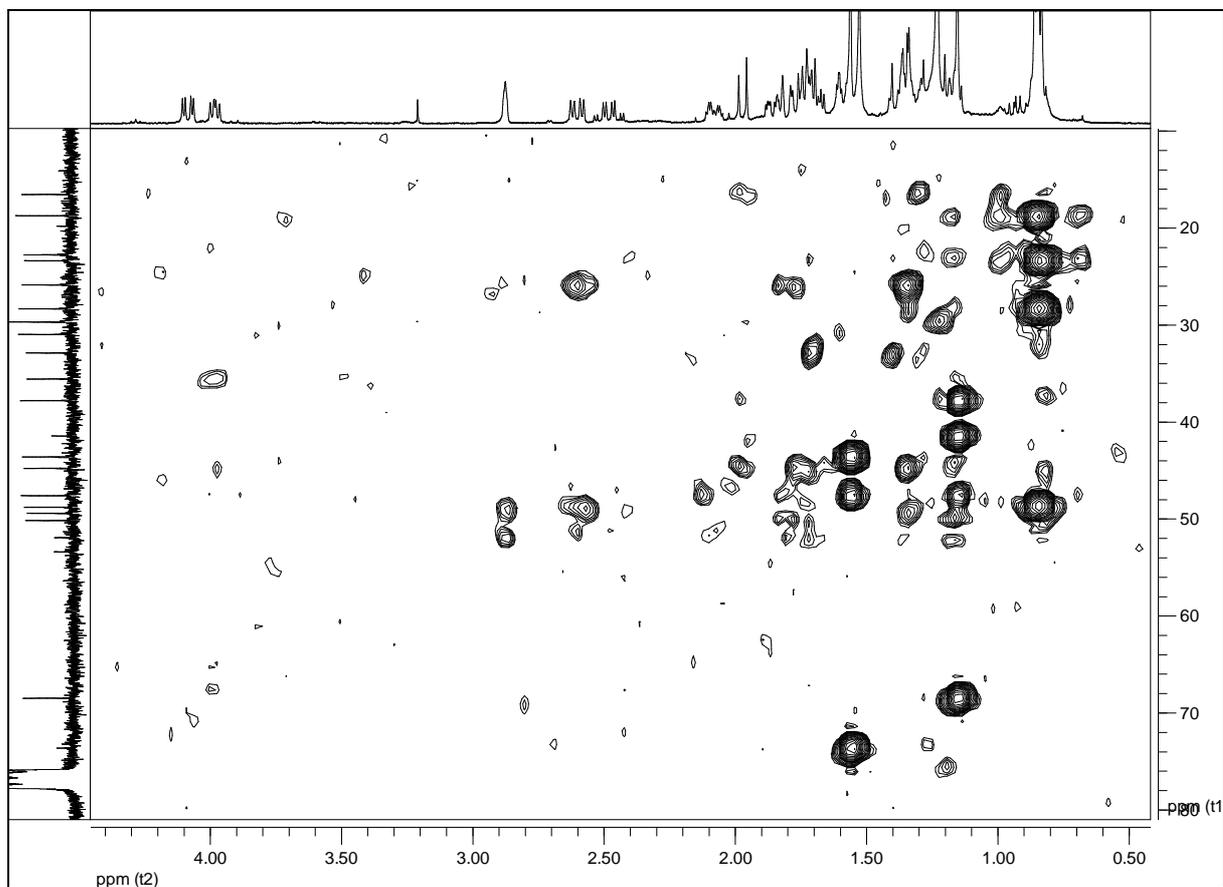
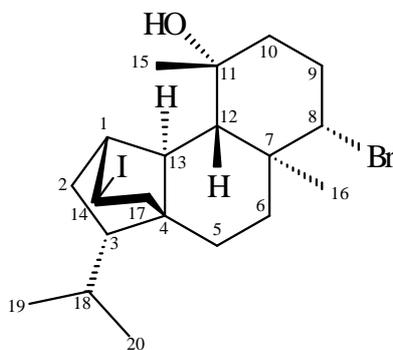
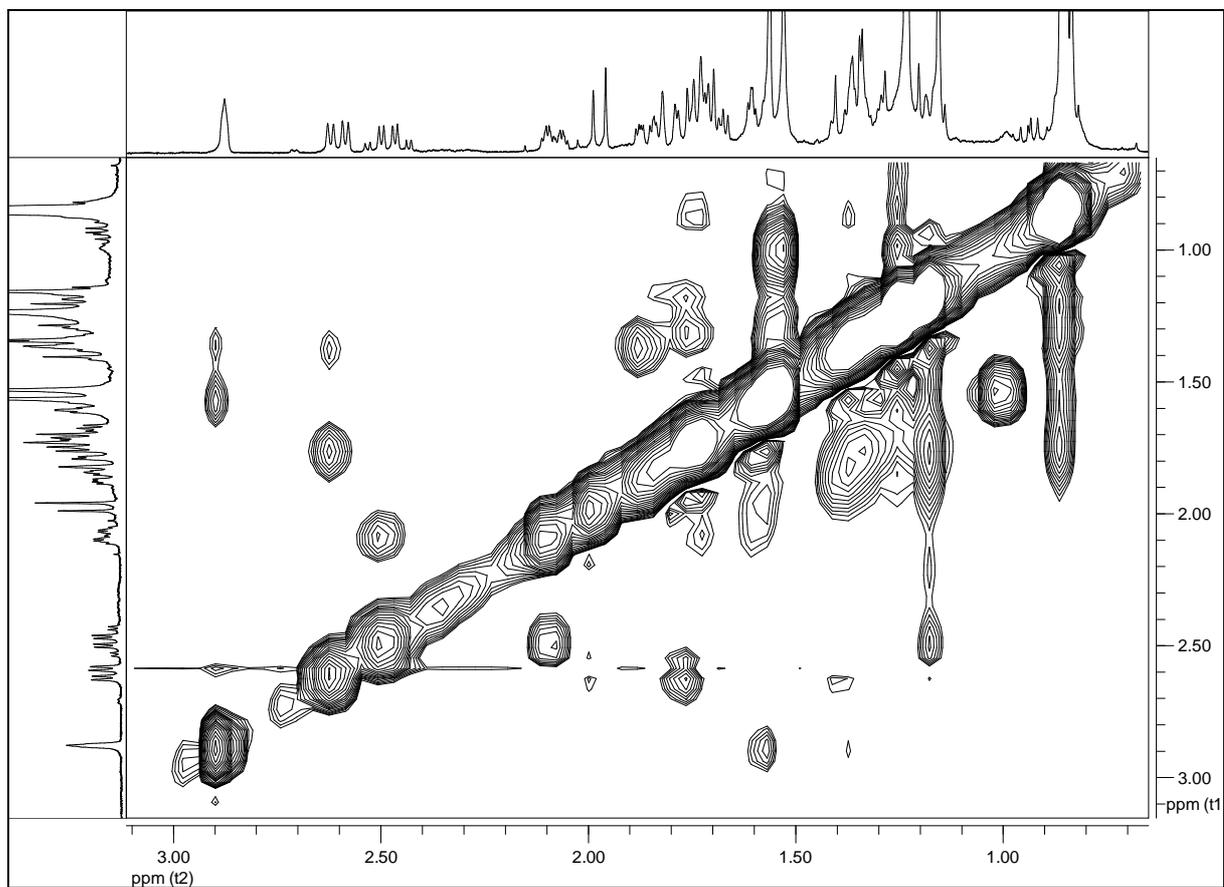
Figura 101 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

Figura 102 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-6.

4.3.7 Identificação estrutural de Sc-7

A análise dos dados espectrais de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 104-108, p. 171-175) de **Sc-7** sugeriu um perfil estrutural terpenoídico.

O espectro de RMN ^{13}C -DEPT (Figura 109, p. 176) mostrou sinais para um carbono sp^2 metínico, cinco carbonos sp^3 metínicos, seis carbonos sp^3 metilênicos e cinco metílicos.

Pode-se destacar no espectro de RMN de ^1H três simpletos referentes aos hidrogênios metílicos das posições 15 (δ 0,83), 17 (δ 1,20) e 16 (δ 1,69), bem como os dupletos em δ 0,82 ($J=6,4$ Hz) e δ 0,92 ($J=6,4$ Hz) relativos a hidrogênios das metilas nas posições 19 e 20, respectivamente.

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C -DEPT obtidos para a substância **Sc-7** (Tabela 11, p. 169) foram comparados com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009, CAFIERI et al., 1981, CAFIERI et al., 1979) e permitiram identificá-la como sendo o diterpeno Presphaerol (Figura 103), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

O espectro de massas de **Sc-7** (Figura 110, p. 177) ratificou a proposta de que **Sc-7** tratava-se do diterpeno com fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$ ao mostrar o pico do íon molecular em 290 u.m.a. Essa massa evidenciou a existência do grupo hidroxila ao exibir um fragmento em 272 u.m.a. o qual é resultante da perda de 18 u.m.a. (H_2O).

Figura 103 – Estrutura química de Sc-7.

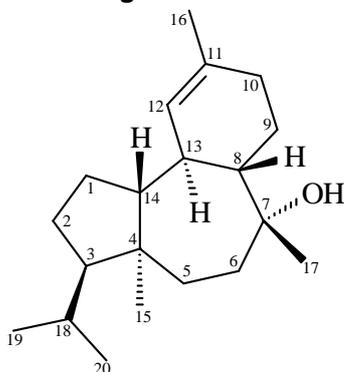
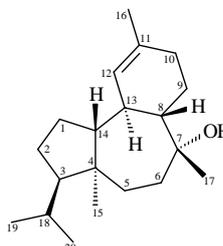
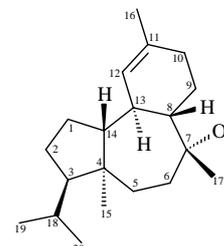


Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , C_6D_6 , 100 MHz) de Sc-7 comparados com Mo-7 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009).

 Sc-7				 Mo-7			
No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J (Hz)	^{13}C $\delta(\text{ppm})$	No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J (Hz)	^{13}C $\delta(\text{ppm})$
1	a 1,69	m	26,93	1	a 1,69	m	27,17
	b 1,41	m			b 1,38	m	
2	a 1,66	m	27,87	2	a 1,66	m	28,16
	b 1,16	m			b 1,16	m	
3	1,11	m	59,13	3	1,06	m	59,44
4	–	–		4	–	–	45,31
5	a 1,50	m	37,40	5	a 1,50	m	37,77
	b 1,47	m			b 1,49	m	
6	a 1,73	m	36,87	6	a 1,73	m	37,17
	b 1,35	m			b 1,36	m	
7	–	–		7	–	–	74,43
8	1,67	m	47,89	8	1,67	m	48,19
9	a 1,74	m	22,19	9	a 1,74	m	22,50
	b 1,47	m			b 1,49	m	
10	a 1,92	m	30,48	10	a 1,91	m	30,77
	b 1,90	m			b 1,89	m	
11	–	–		11	–	–	132,41
12	5,25	m	126,49	12	5,39	dm 3,5	126,78
13	2,36	m	35,74	13	2,45	dm 3,5	36,08
14	1,60	m	50,11	14	1,61	m	50,45
15	0,83	s	14,84	15	0,90	s	15,09
16	1,69	s	23,49	16	1,67	sl	23,75
17	1,20	s	29,40	17	1,10	s	29,65
18	1,52	m	30,68	18	1,51	m	30,91
19	0,82	d 6,4	22,68	19	0,89	d 6,7	22,93

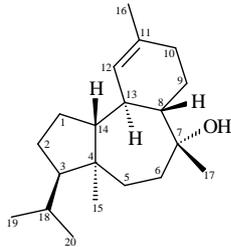
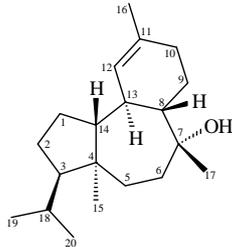
 <p style="text-align: center;">Sc-7</p>				 <p style="text-align: center;">Mo-7</p>			
No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, $J(\text{Hz})$	^{13}C $\delta(\text{ppm})$	No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, $J(\text{Hz})$	^{13}C $\delta(\text{ppm})$
20	0,92	d 6,4	23,34	20	0,98	d 6,7	23,65

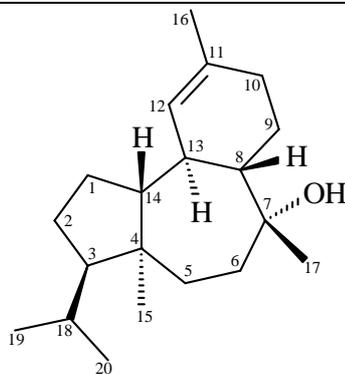
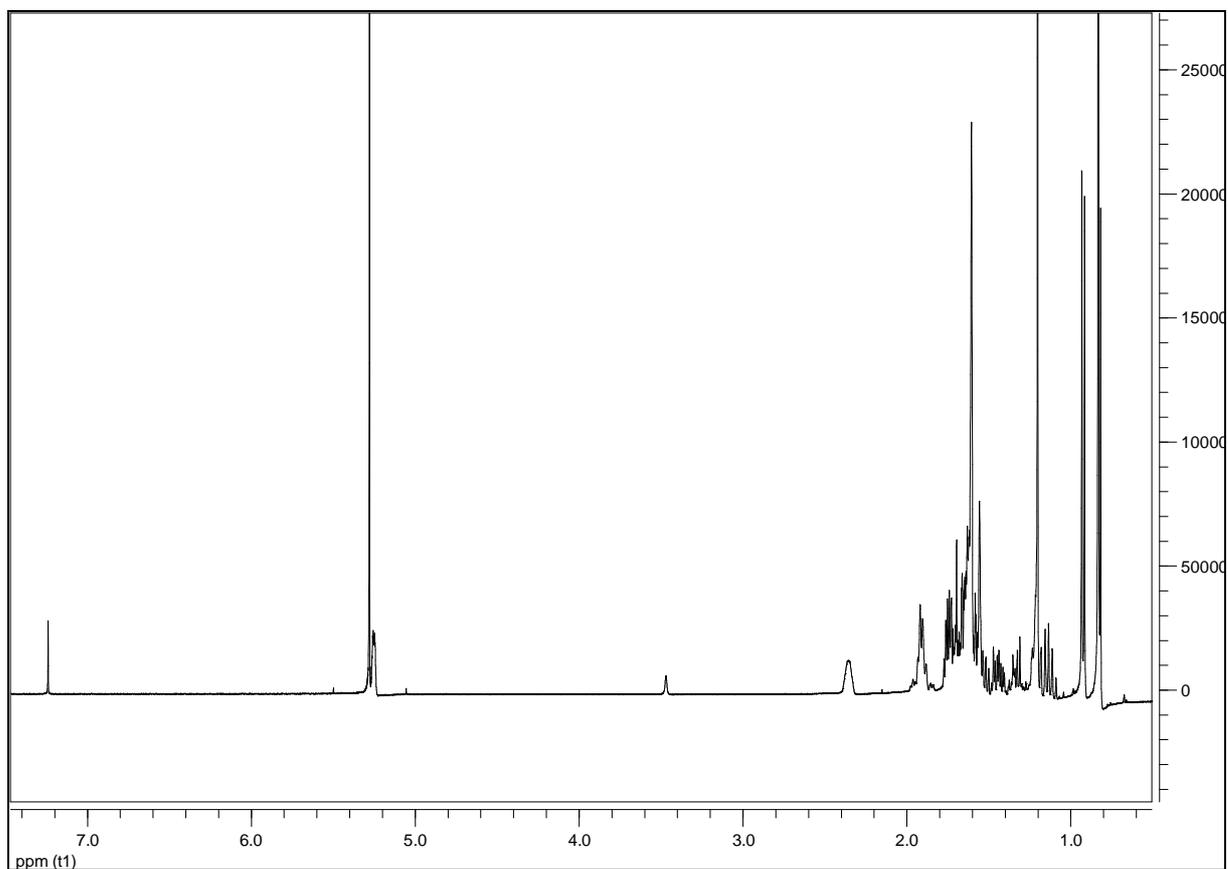
Figura 104 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.

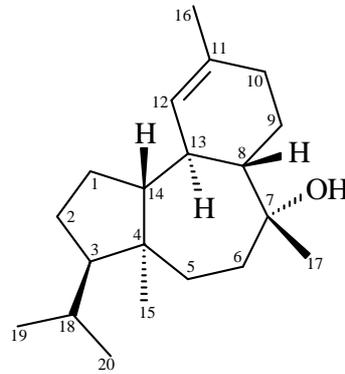
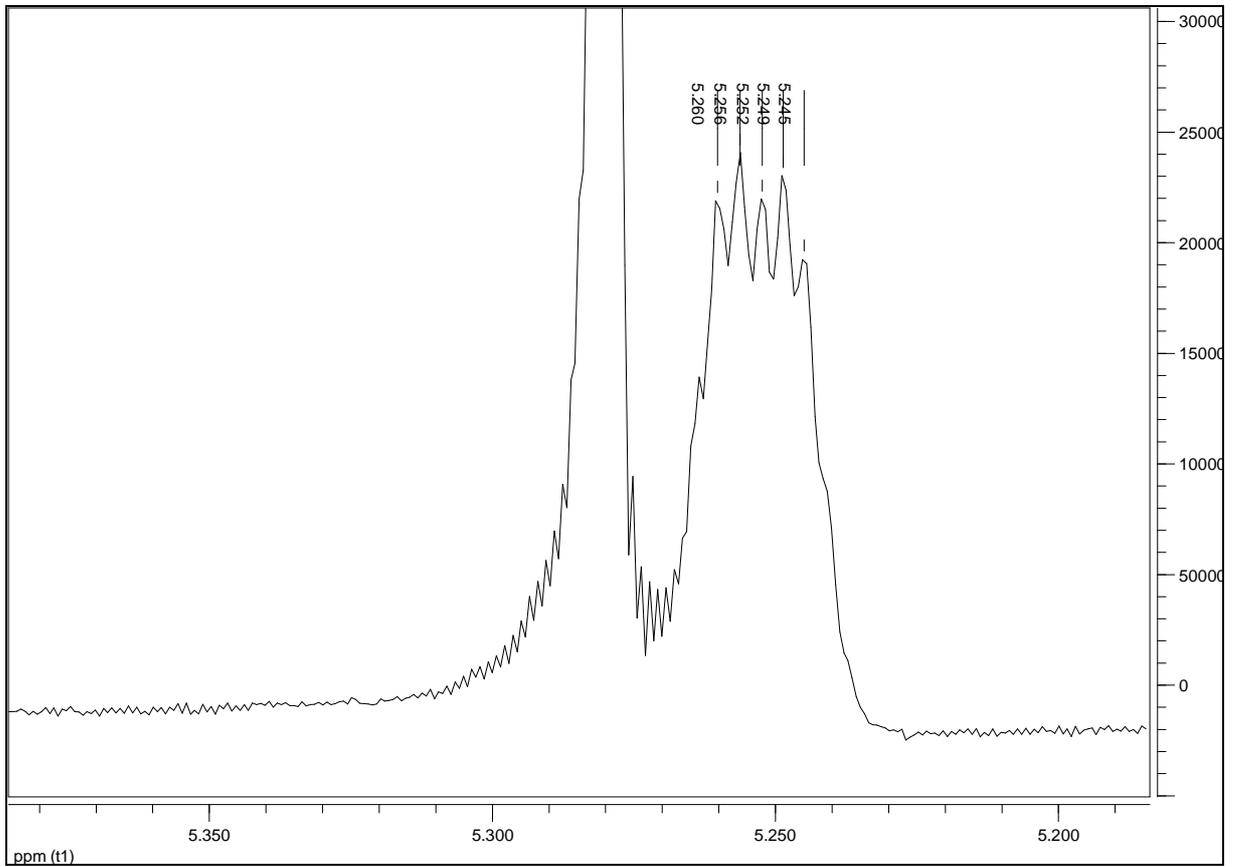
Figura 105 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.

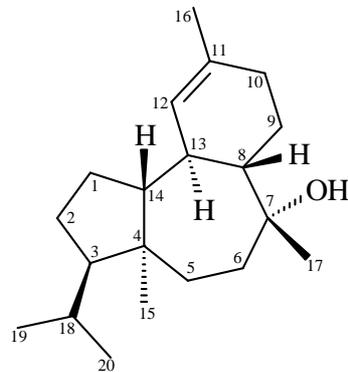
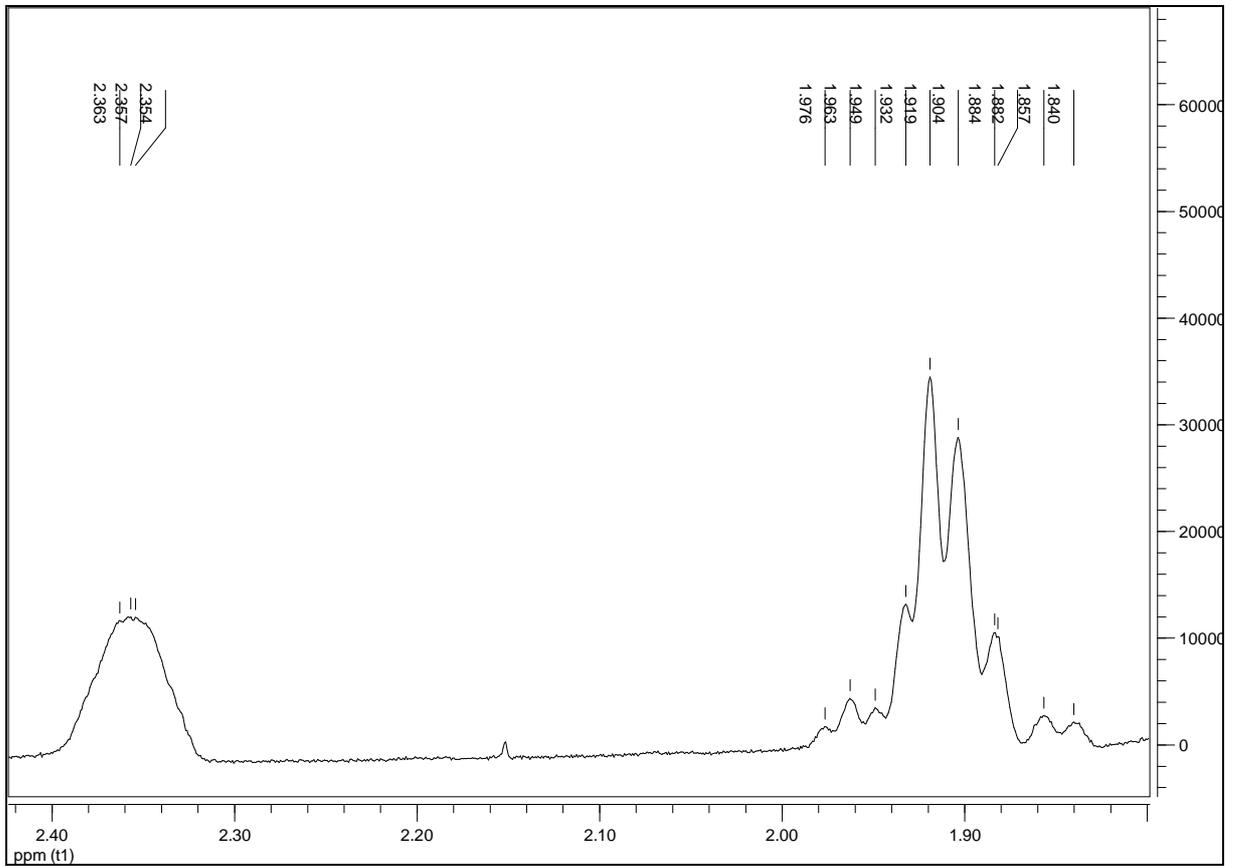
Figura 106 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.

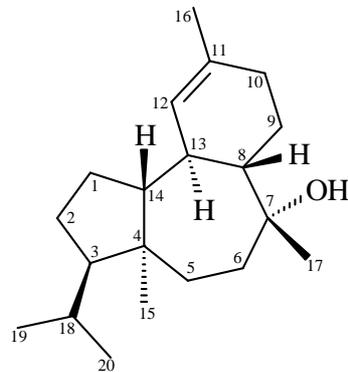
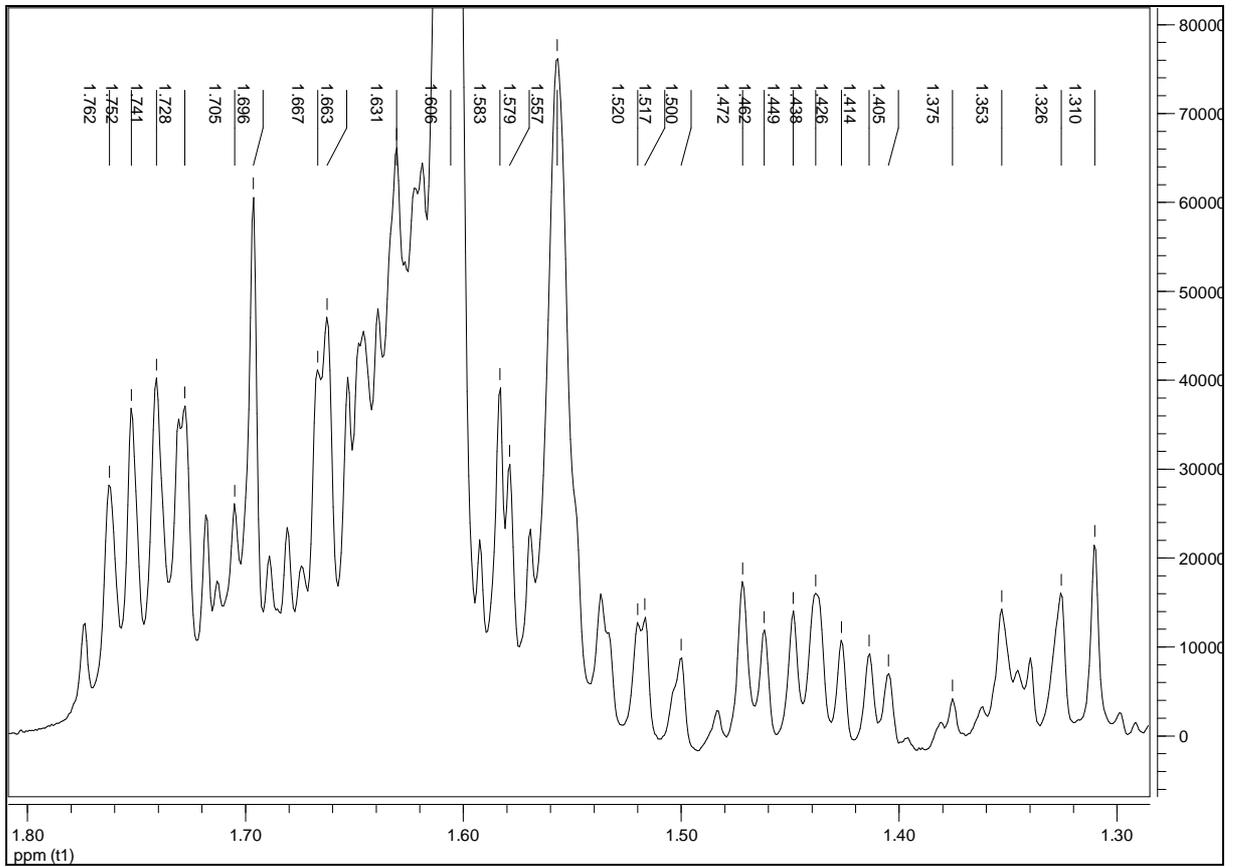
Figura 107 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.

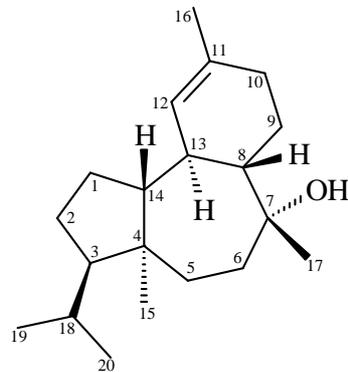
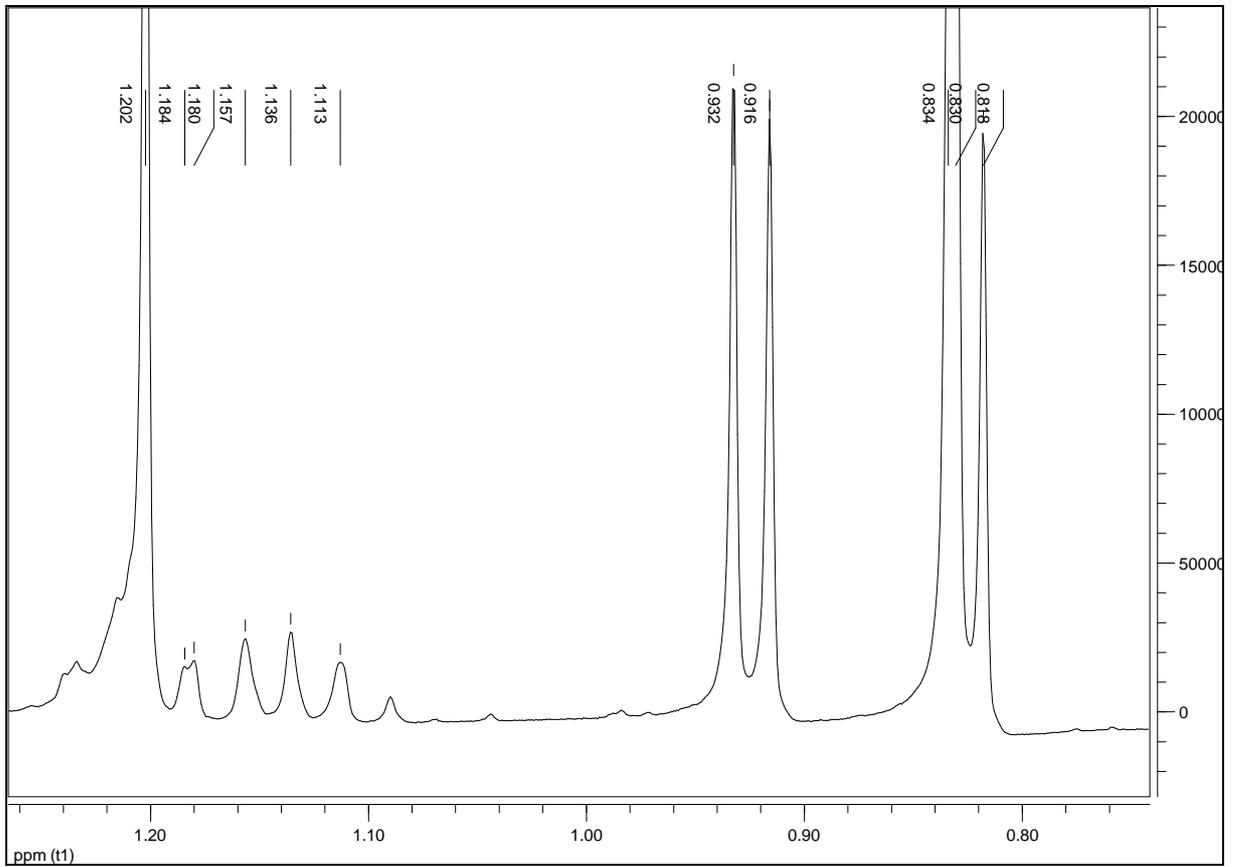
Figura 108 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-7.

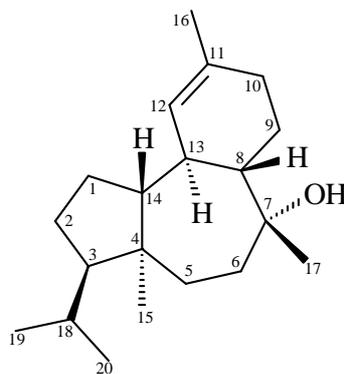
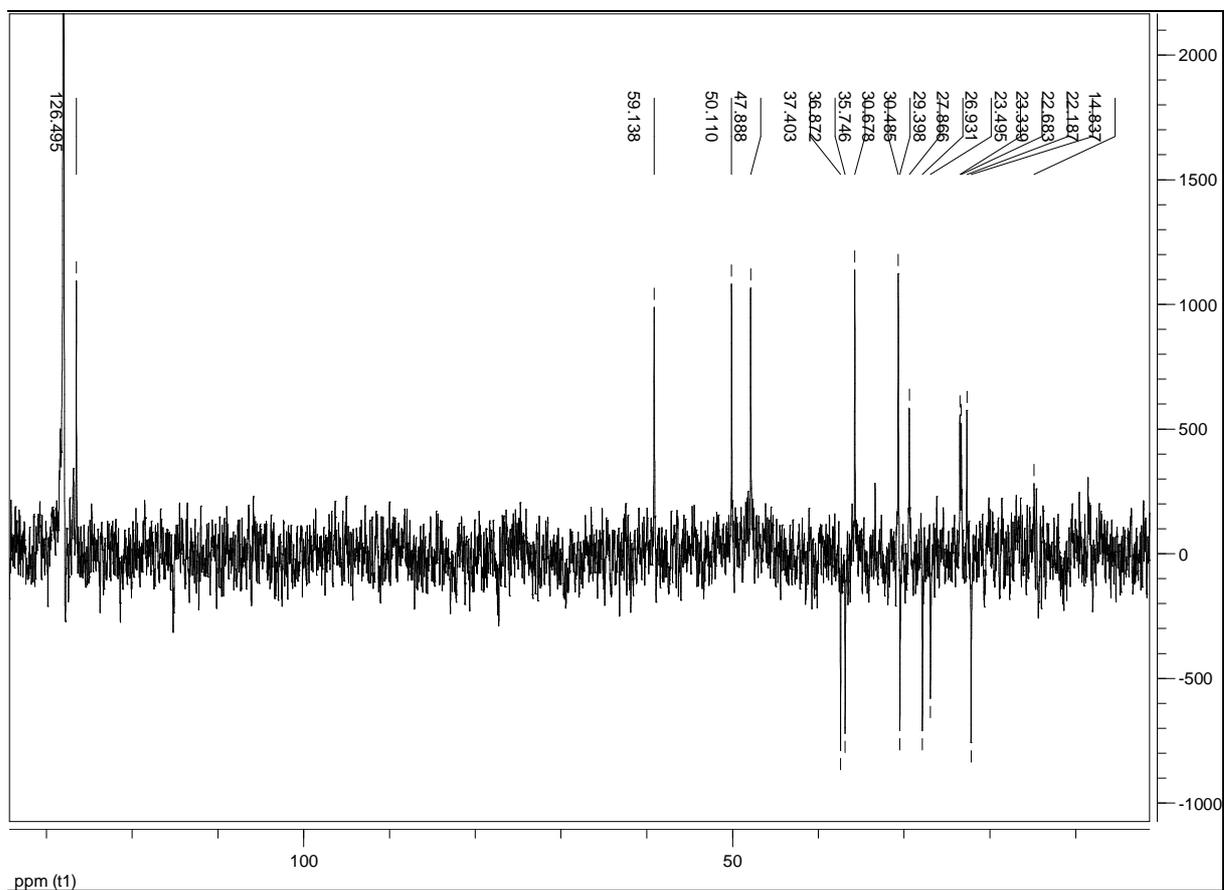
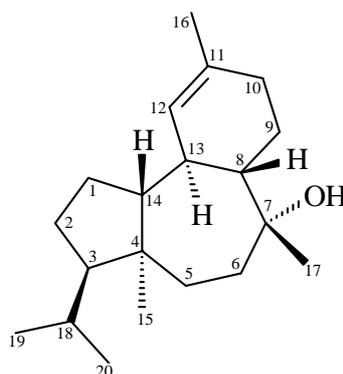
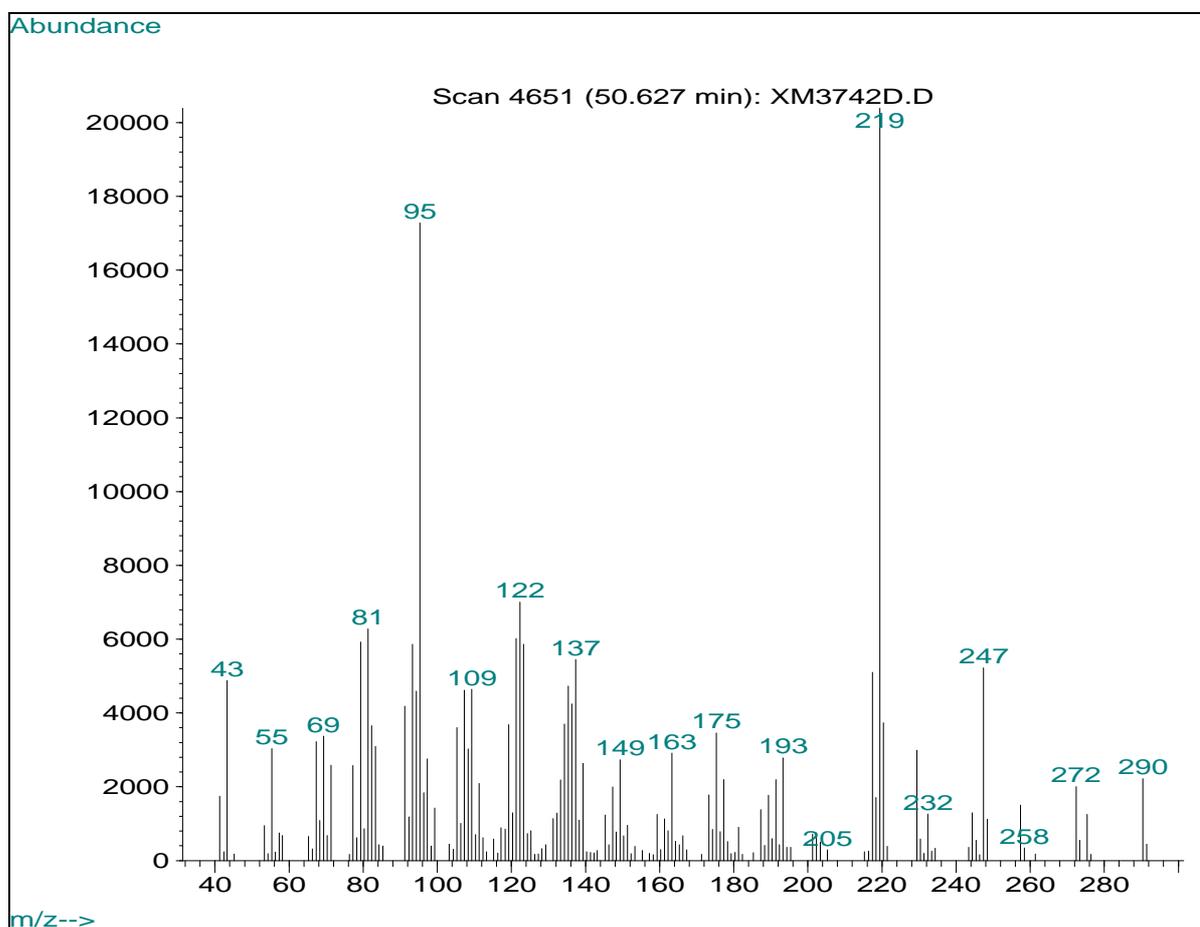
Figura 109 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , C_6D_6 , 100 MHz) de Sc-7.

Figura 110 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-7.



4.3.8 Identificação estrutural de Sc-8

O perfil espectral exibido pelo espectro de RMN de ^1H (Figura 113, p. 181) e suas expansões (Figuras 114 a 117, p. 182 a 185) da substância codificada como **Sc-8** indicou que a mesma tratava-se de uma mistura. Comparando-se seus dados com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008b) (Tabela 12, p. 179 e Tabela 13, p. 180), foi exequível propor que **Sc-8** seria uma mistura dos diterpenos 1S-hidroperoxi-12S-hidroxi-bromosphaerol-B (**Sc-8a**) (Figura 88) e 14S-bromo-1S-hidroxi-1,2,13,14-tetraidro-Sphaerococcenol A (**Sc-8b**) (Figura 89), ambos re-isolados de *S. coronopifolius*.

Figura 111 – Estrutura química de Sc-8a.

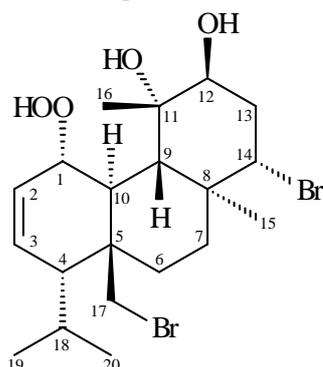


Figura 112 – Estrutura química de Sc-8b.

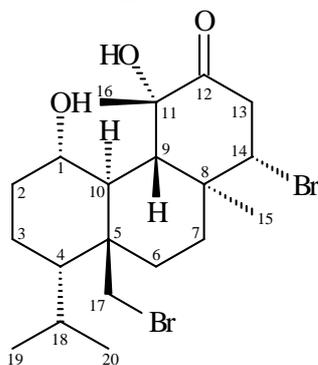


Tabela 12 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8a e Mo-8a (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a) (mesmas condições experimentais).

Sc-8a			Mo-8a		
No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)	No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)
1	4,63	dd 9,6; 2,8	1	4,63	dd 8,8; 2;8
2	6,07	dd 10,4; 2,8	2	6,07	dd 10,4; 2,8
3	5,95	dd 10,4; 5,6	3	5,95	dd 10,4; 5,6
4	2,42	dd 5,4; 4,1	4	2,42	m
5	–	–	5	–	–
6	a 1,76	ddd 14,3; 13,7; 3,4	6	a 1,76	m
	b 1,61	ddd 14,3; 3,8; 3,4		b 1,61	m
7	a 1,85	ddd 13,7; 3,8; 3,4	7	a 1,85	m
	b 1,22	ddd 13,7; 13,7; 3,4		b 1,22	m
8	–	–	8	–	–
9	1,93	d 10,9	9	1,93	d 10,8
10	2,56	dd 10,9; 9,6	10	2,56	tl 10,2
11	–	–	11	–	–
12	3,50	dd 3,4; 2,4	12	3,50	m
13	a 2,72	ddd 13,6; 13,3; 2,4	13	a 2,72	ddd 13,6; 13,4; 2,4
	b 2,13	ddd 13,6; 3,4; 3,4		b 2,13	m
14	4,51	dd 13,6; 3,6	14	4,51	dd 13,6; 3,6
15	1,27	s	15	1,27	s
16	1,46	s	16	1,46	s
17	a 3,95	d 10,6	17	a 3,95	d 10,4
	b 3,47	dl 10,6		b 3,47	d 10,0
18	2,12	m	18	2,12	m
19	0,94	d 6,8	19	0,94	d 6,8
20	1,02	d 6,8	20	1,02	d 7,2

Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8b e Mo-8b (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008b) (mesmas condições experimentais).

Sc-8b			Mo-8b		
No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)	No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)
1	3,48	m	1	3,48	m
2	a 1,99	m	2	a 1,99	m
	b 1,46	m		b 1,46	m
3	a 1,88	m	3	a 1,88	m
	b 1,42	m		b 1,42	m
4	1,78	m	4	1,78	m
5	–	–	5	–	–
6	a 1,96	m	6	a 1,96	m
	b 1,73	m		b 1,73	m
7	a 1,71	m	7	a 1,71	m
	b 1,31	m		b 1,31	m
8	–	–	8	–	–
9	1,67	m	9	1,67	m
10	1,67	m	10	1,67	m
11	–	–	11	–	–
12	–	–	12	–	–
13	a 3,19	dd 18,4; 8,2	13	a 3,19	dd 18,8; 8,0
	b 2,85	dd 18,4; 9,4		b 2,85	dd 18,8; 9,6
14	4,29	dd 9,4; 8,2	14	4,29	tl 8,0
15	0,93	s	15	0,93	s
16	1,32	s	16	1,32	s
17	a 3,73	d 10,2	17	a 3,73	d 10,0
	b 3,53	dd 10,2; 2,0		b 3,53	m
18	1,65	m	18	1,65	m
19	0,97	d 6,6	19	0,98	sl
20	0,95	d 6,6	20	0,96	sl

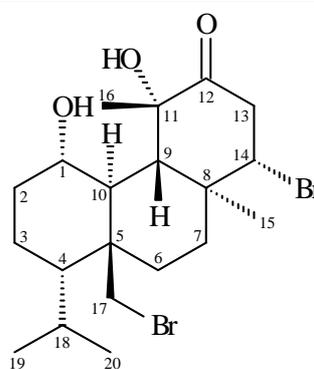
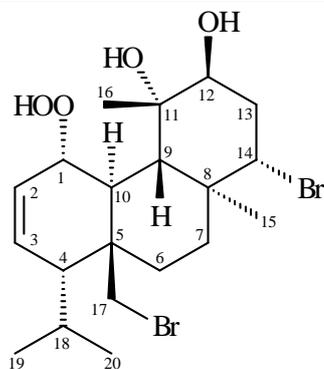
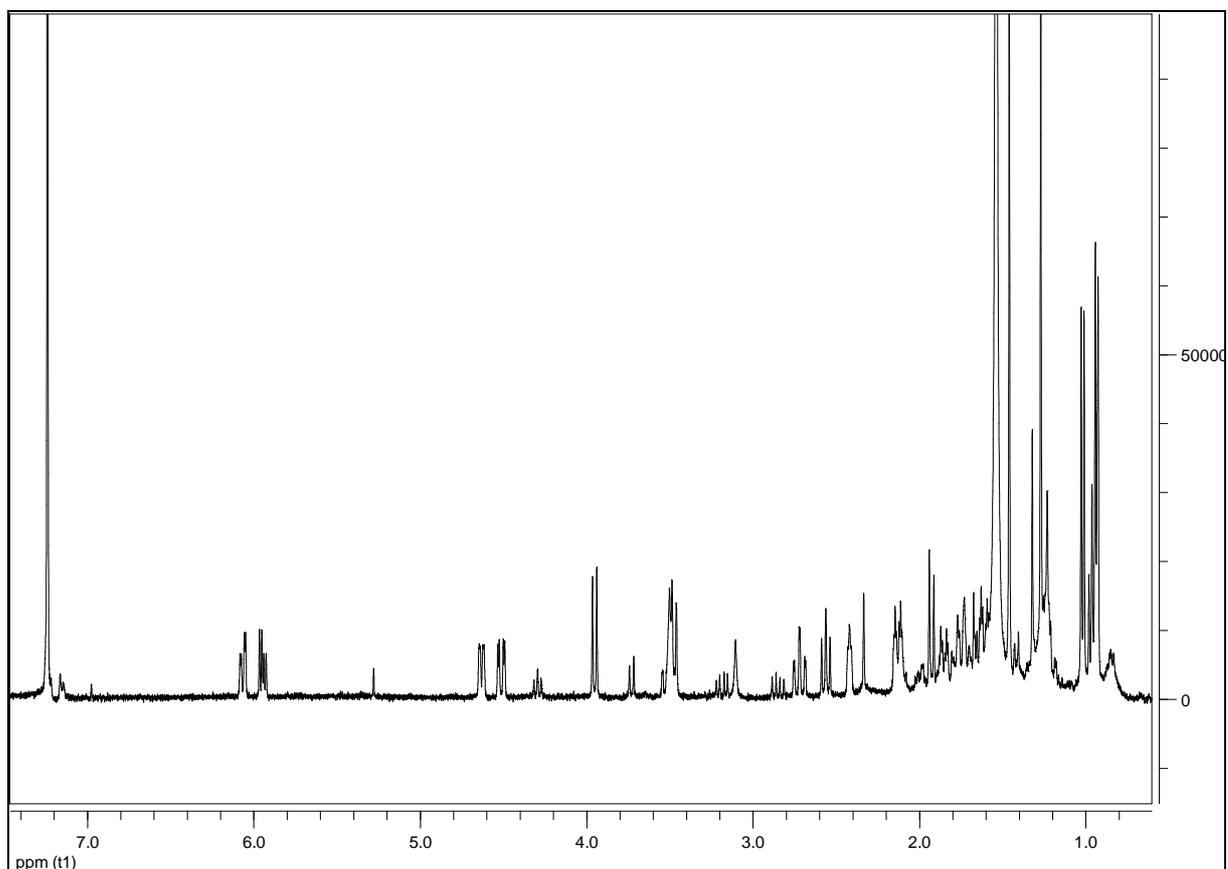
Figura 113 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).

Figura 114 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).

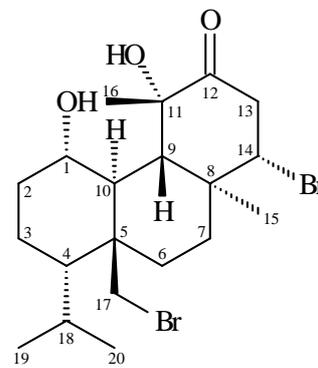
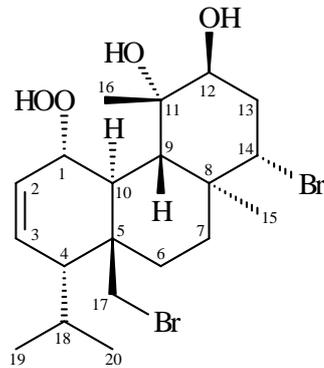
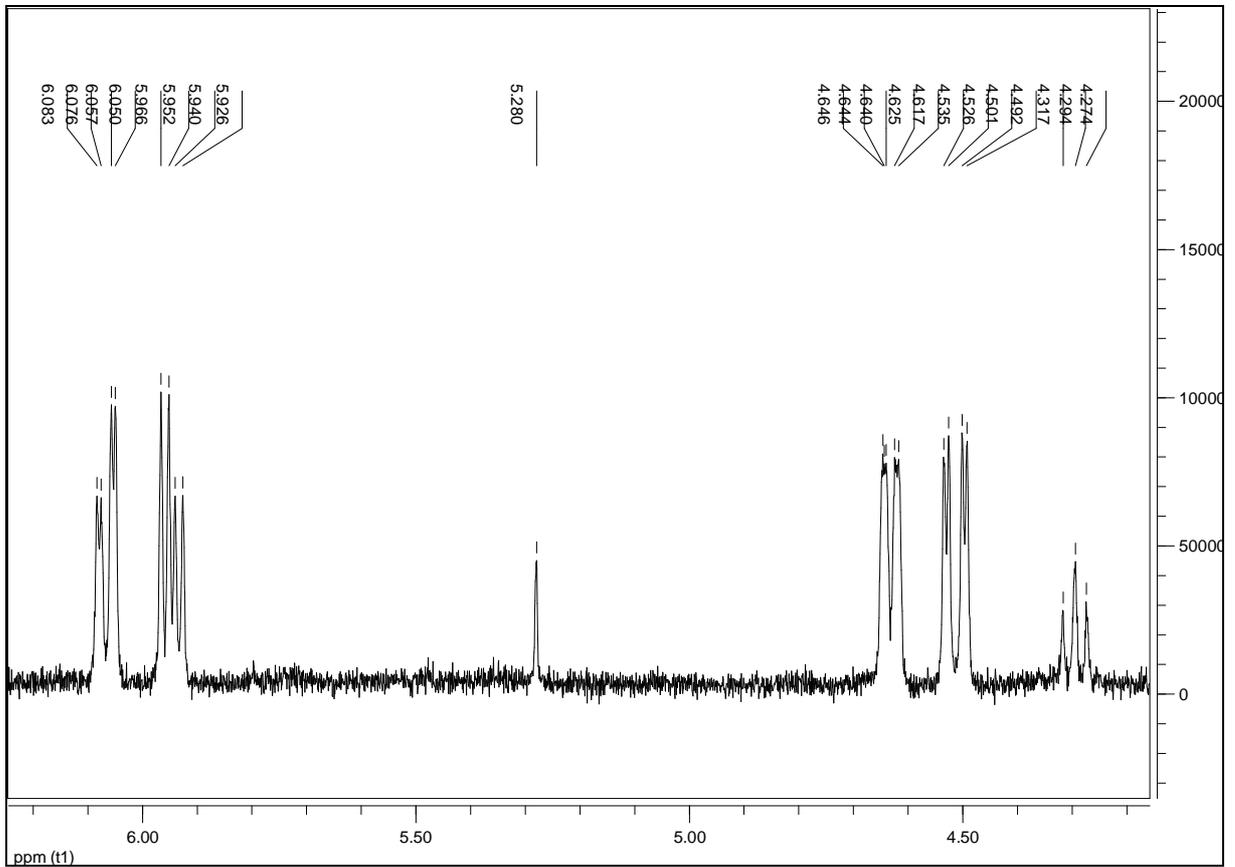


Figura 115 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).

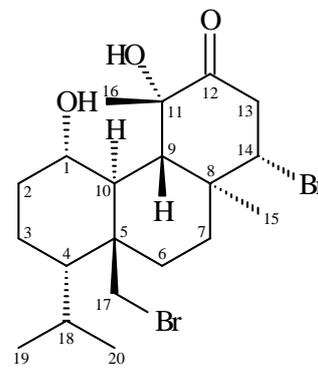
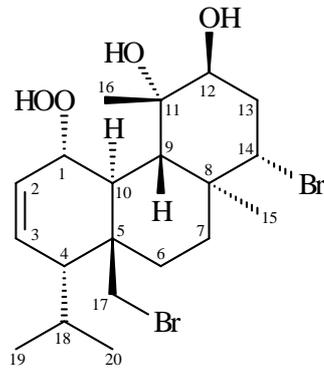
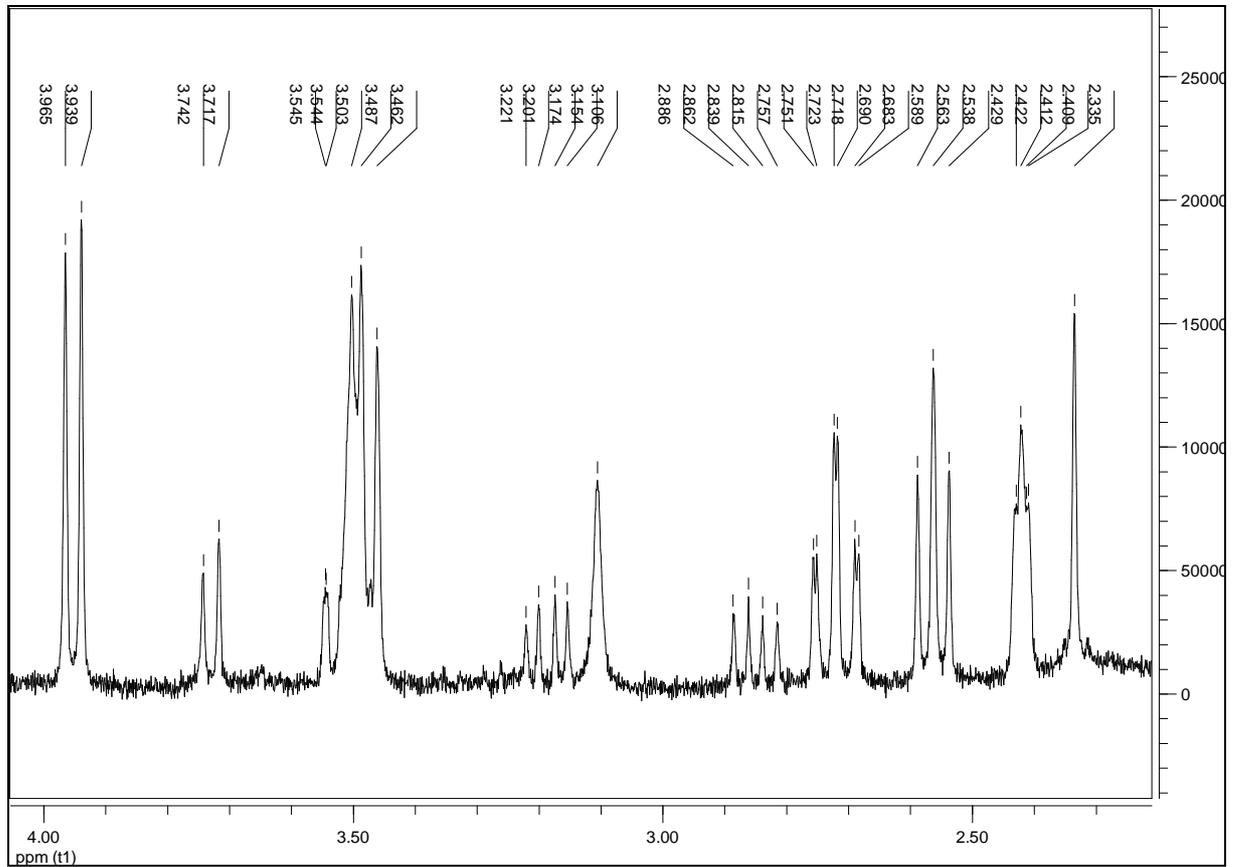


Figura 116 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).

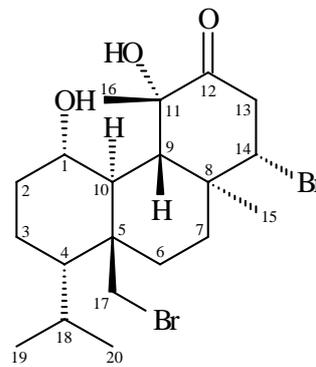
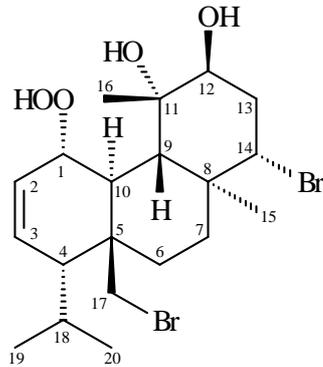
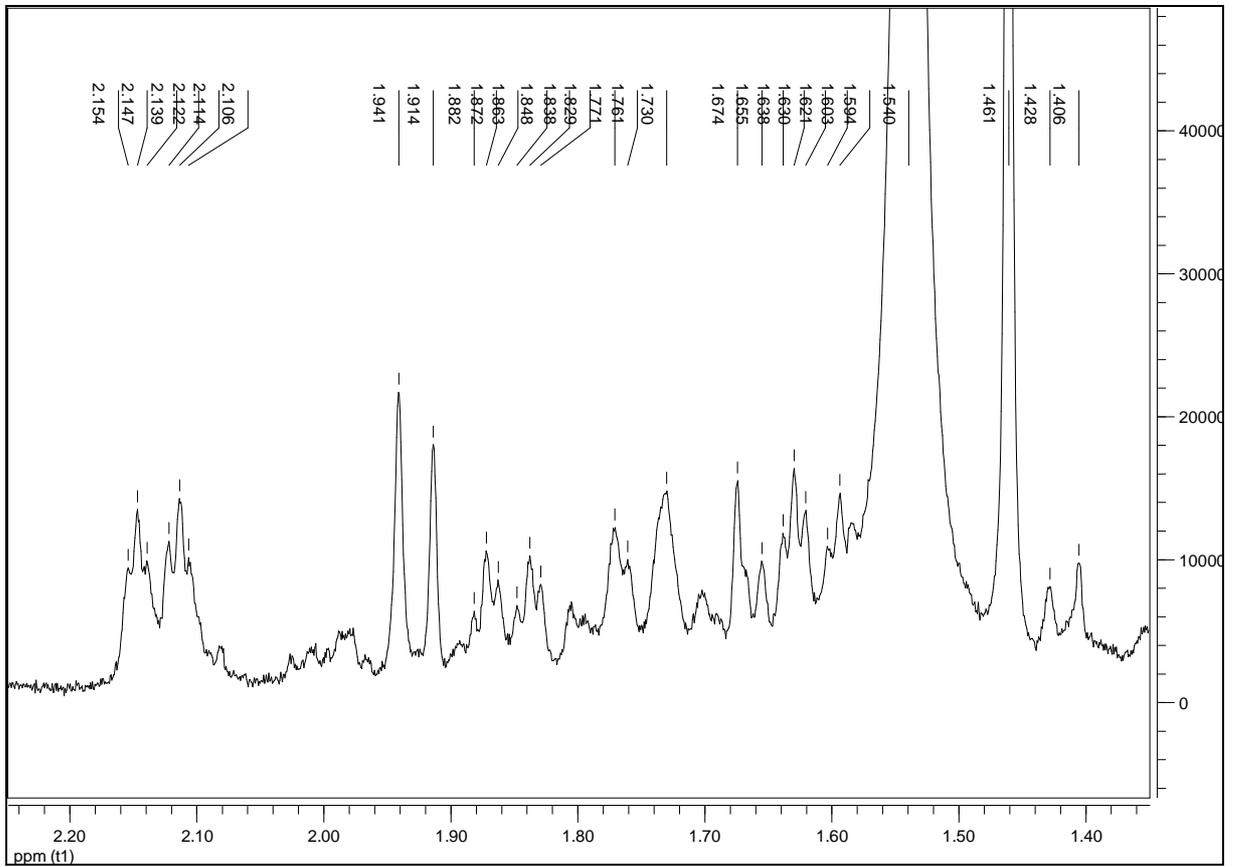
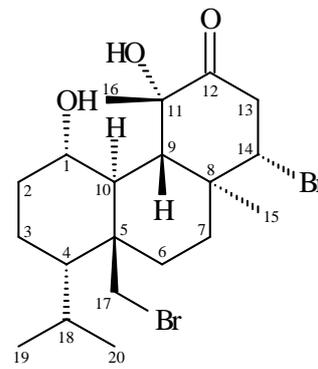
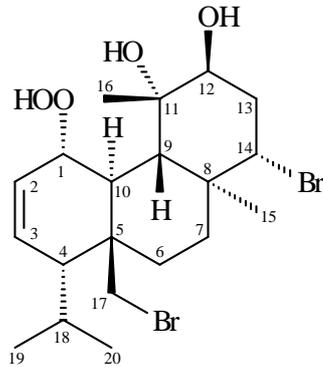
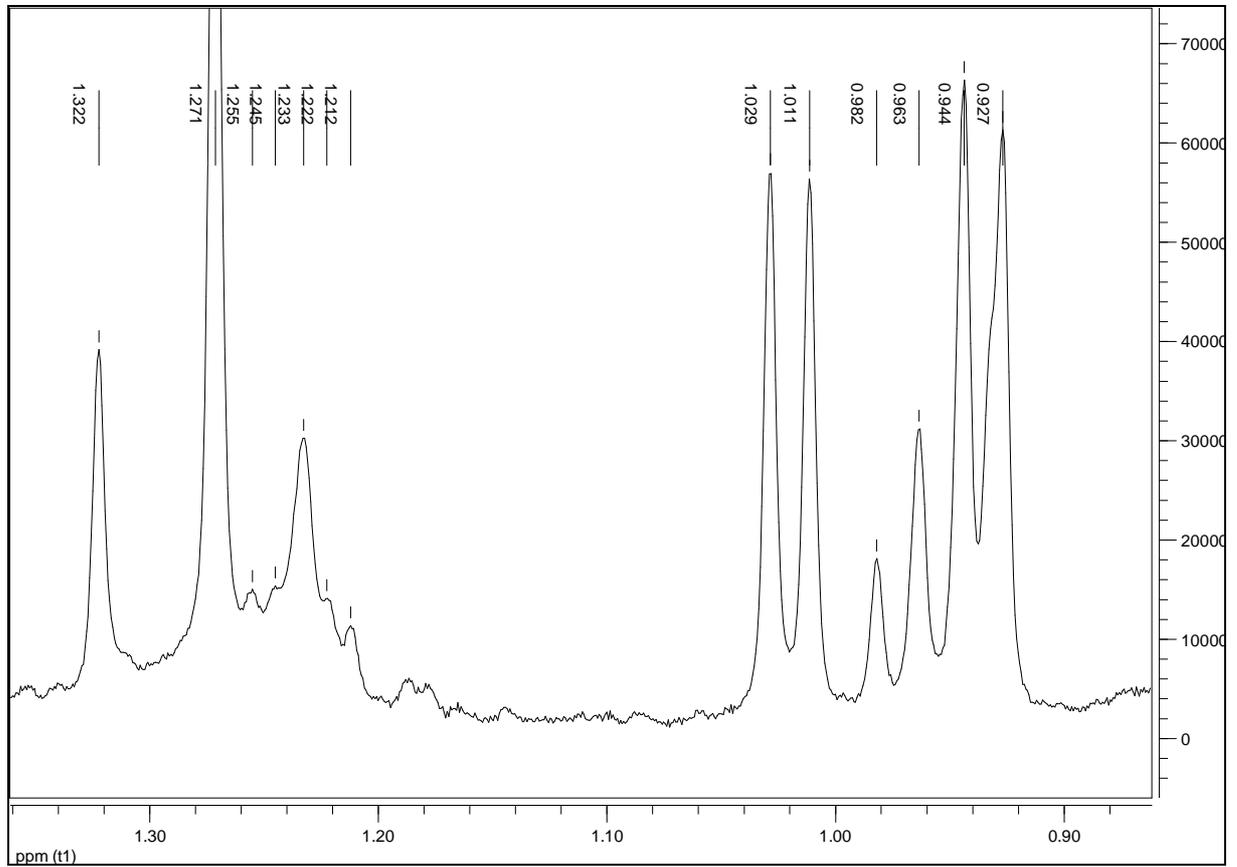


Figura 117 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-8 (Sc-8a e Sc-8b).



4.3.9 Identificação estrutural de Sc-9

A substância codificada com **Sc-9** apresentou-se como óleo incolor.

Os espectros de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 120-124, p. 191-195) e de RMN ^{13}C (Figura 125, p. 196) de **Sc-9** mostraram perfis muito semelhantes aos de **Sc-3** (Figuras 67-73, p. 124-130 e Figuras 74-76, p. 131-133), levando a propor que esta molécula trata-se também de um diterpeno. A análise do espectro de RMN de ^{13}C ratificou esta observação ao exibir sinais para 20 carbonos.

Os dados espectrais de hidrogênio e carbono de **Sc-9** e **Sc-3** foram compilados em tabela e comparados (Tabela 14, p. 187). Foi observada uma diferença muito significativa na posição 12, onde em **Sc-3** há uma ressonância para carbono metilênico em δ 46,17 e em **Sc-9** encontra-se um carbono metínico oxigenado em δ 79,36.

O espectro de massas (Figura 119, p. 190) fortaleceu esta observação ao exibir o pico do íon molecular em M^{*+} 462 u.m.a., condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{O}_2$, e o fragmento em 383 u.m.a. que é relativo à perda de 79 u.m.a. (Bromo).

Aliando-se estes dados com aqueles fornecidos pelos espectros bidimensionais COSY (Figura 126, p. 197), HMQC (Figura 127, p. 198), HMBC (Figura 128, p. 199) e NOESY (Figura 129, p. 200) (Tabela 15, p. 189) juntamente com comparações com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a; CAFIERI et al. 1982) foi possível propor que a substância **Sc-9** trata-se do diterpeno 12S-hidroxi-Bromosphaerol (Figura 118), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

Figura 118 – Estrutura química de Sc-9

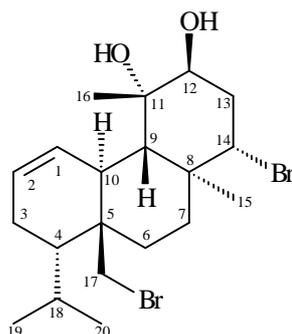
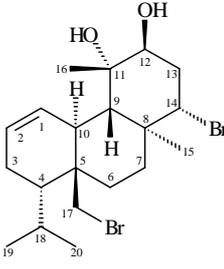
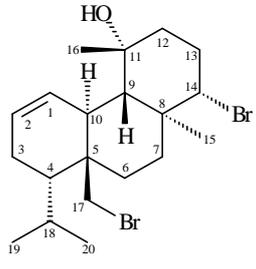


Tabela 14 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-9 e Sc-3.

 Sc-9				 Sc-3			
No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J (Hz)	^{13}C $\delta(\text{ppm})$	No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J (Hz)	^{13}C $\delta(\text{ppm})$
1	5,97	dl 10,4	128,48	1	5,99	dl 10,6	128,57
2	5,69	ddt 10,4; 5,0; 2,5	127,51	2	5,67	m 10,6	126,91
3	a 2,10	m	21,93	3	a 2,12	m	21,85
	b 1,93	m			b 1,92	m	
4	1,72	m	42,61	4	1,72	m	42,51
5	–	–	41,07	5	–	–	41,83
6	a 1,75	m	24,88	6	a 1,66	ddd 14,5; 13,7; 4,7	24,93
	b 1,51	m			b 1,50	m	
7	a 1,81	m	36,42	7	a 1,83	ddd 13,7; 4,7; 2,7	36,38
	b 1,29	m			b 1,22	m	
8	–	–	41,77	8	–	–	40,68
9	1,78	d 11,2	45,95	9	1,46	d 11,0	50,54
10	2,97	d 11,2	36,82	10	2,96	m	37,29
11	–	–	74,84	11	–	–	72,27
12	3,45	sl	79,36	12	a 1,72	m	46,17
13	a 2,70	ddd 13,7; 12,8; 2,9	37,38		b 1,62	m	
	b 2,14	dt 13,7; 3,7		13	a 2,39	ddt 12,9; 12,5; 4,3	30,07
14	4,46	dd 12,8; 3,7	63,40		b 1,96	m	
15	1,27	s	14,88	14	3,97	dd 12,5; 3,5	68,86
16	1,44	s	31,79	15	1,28	s	13,99
17	a 3,93	d 10,8	40,55	16	1,36	s	35,02
	b 3,60	dd 10,8; 2,1		17	a 3,91	d 10,6	40,40

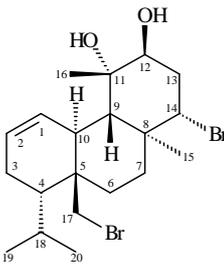
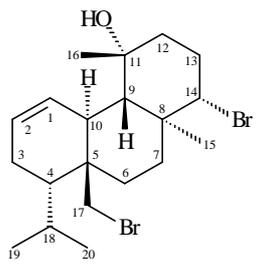
 Sc-9				 Sc-3			
No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)	No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)
18	1,93	m	25,90		b 3,59	dd 10,6; 2,0	
19	0,89	d 7,0	19,70	18	1,98	m	26,05
20	0,95	d 7,0	25,90	19 ^b	0,88	d 7,0	25,81
				20 ^b	0,95	d 7,0	19,84

Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) uni bidimensionais de Sc-9.

No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^1H - ^1H NOESY	^{13}C δ (ppm)	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ HMBC
1	5,97	dl 10,4	16	128,48	3, 5
2	5,69	ddt 10,4; 5,0; 2,5		127,51	4
3	a 2,10	m	17b	21,93	1, 4
	b 1,93	m	10		
4	1,72	m		42,61	5, 6, 17, 19, 20
5	–	–	–	41,07	
6	a 1,75	m		24,88	7, 17
	b 1,51	m			
7	a 1,81	m		36,42	6b, 9, 15
	b 1,29	m	14, 17a		
8	–	–	–	41,77	
9	1,78	d 11,2	14	45,95	8, 11, 12, 15, 16
10	2,97	d 11,2	3b, 15, 19	36,82	1
11	–	–	–	74,84	
12	3,45	sl	16	79,36	16
13	a 2,70	ddd 13,7; 12,8; 2,9	15	37,38	
	b 2,14	dt 13,7; 3,7	14		
14	4,46	dd 12,8; 3,7	7b, 9, 13b	63,40	12, 13, 15
15	1,27	s	10, 13a	14,88	8, 9, 14
16	1,44	s	1, 12	31,79	11
17	a 3,93	d 10,8	7b	40,55	5
	b 3,60	dd 10,8; 2,1	3a		
18	1,93	m		25,90	19, 20
19	0,89	d 7,0	10	19,70	4, 20
20	0,95	d 7,0		25,90	4, 19

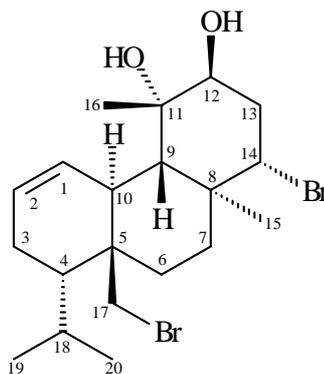


Figura 119 - Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-9.

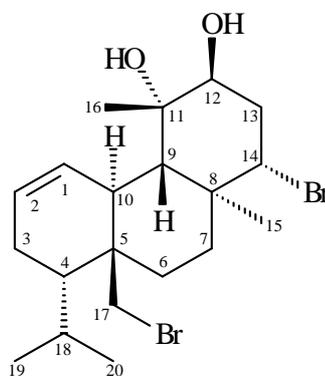
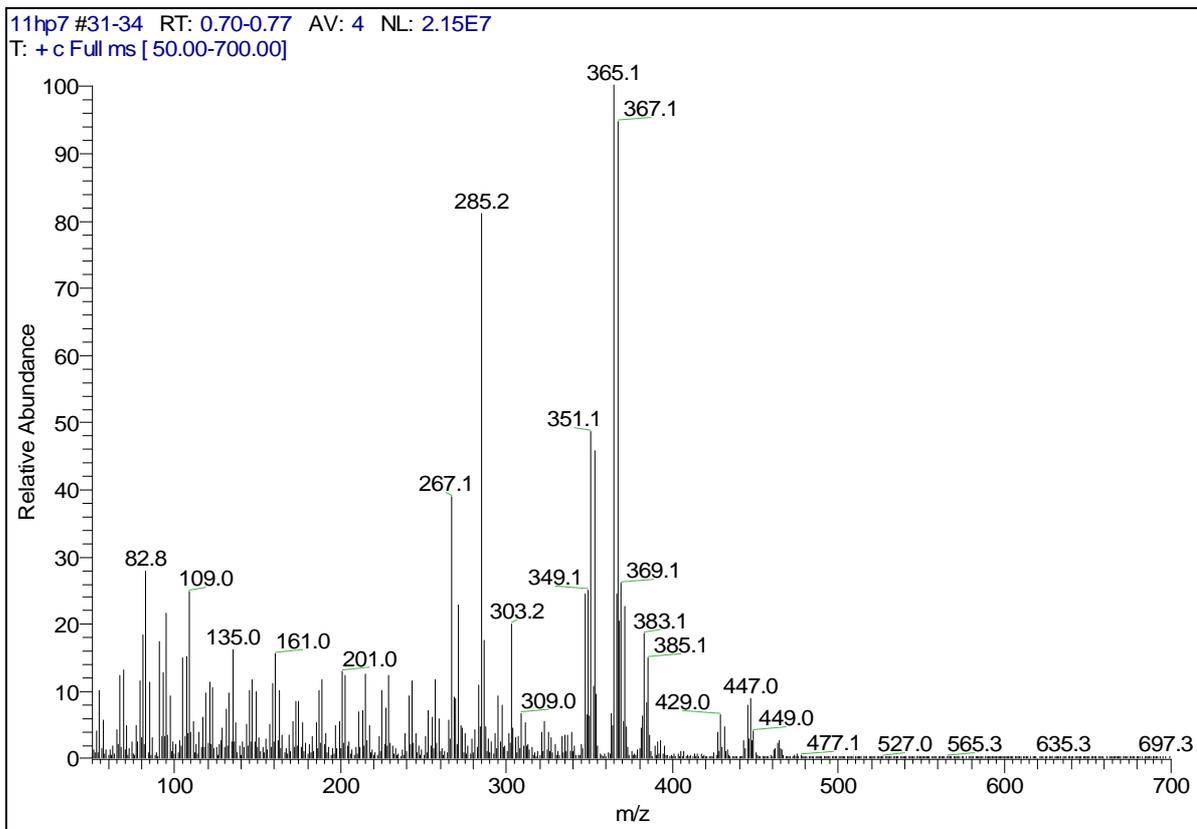


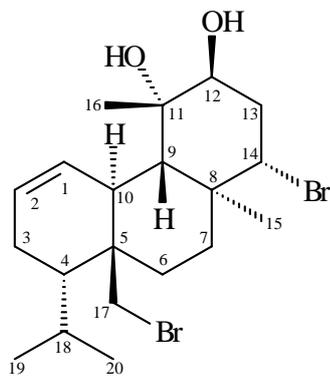
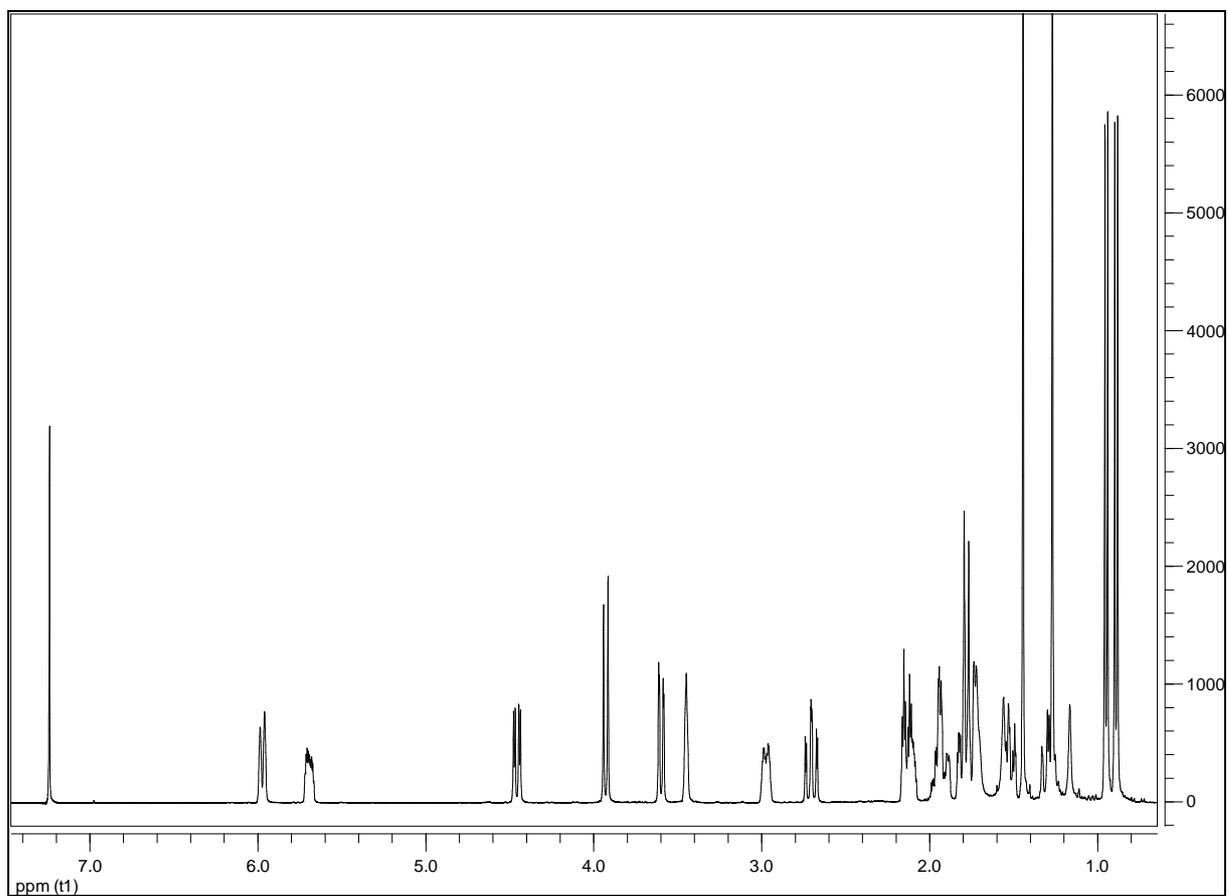
Figura 120 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

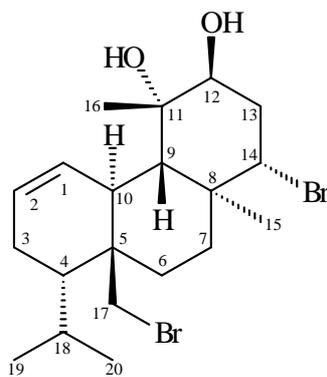
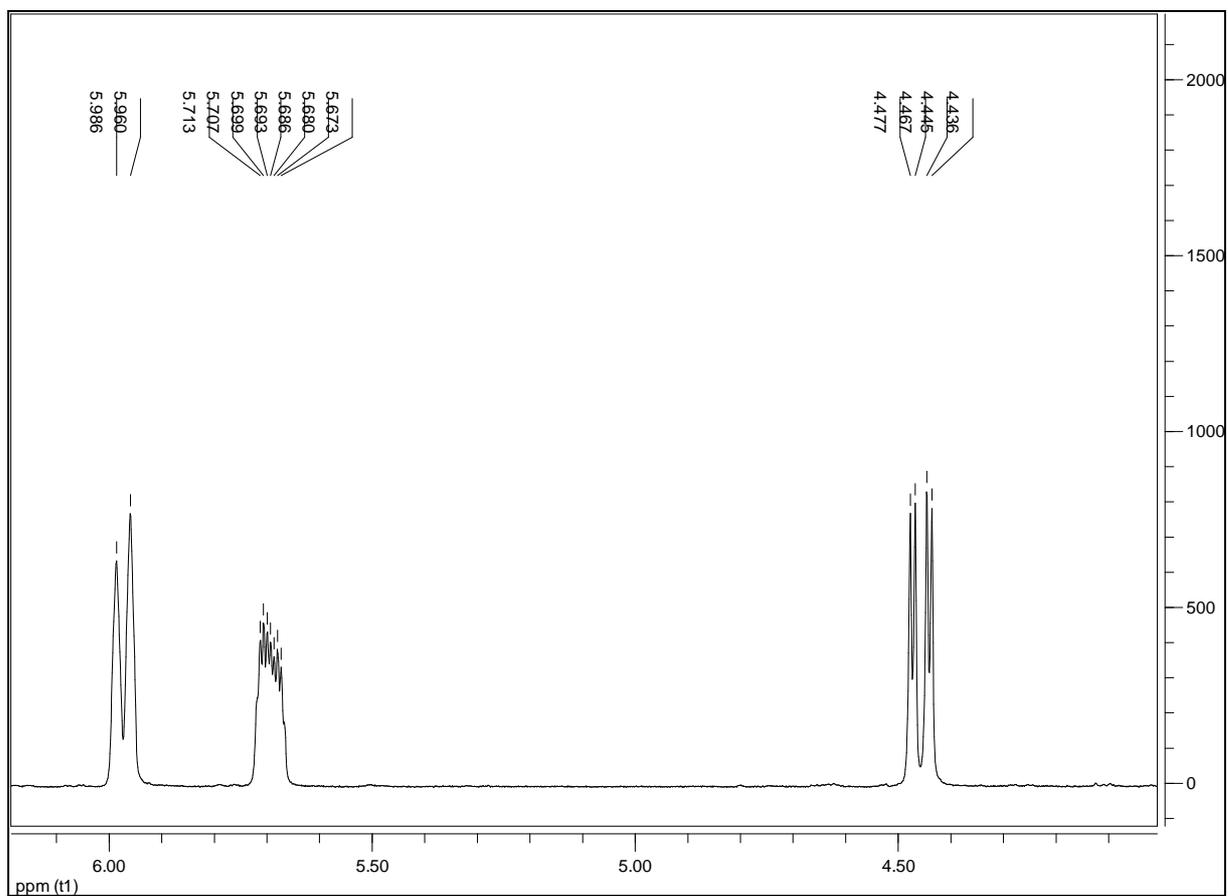
Figura 121 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

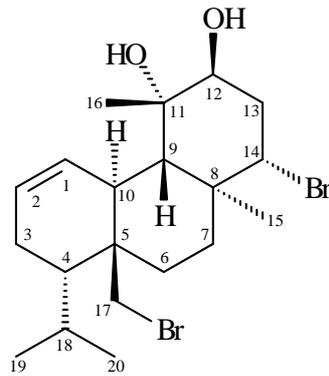
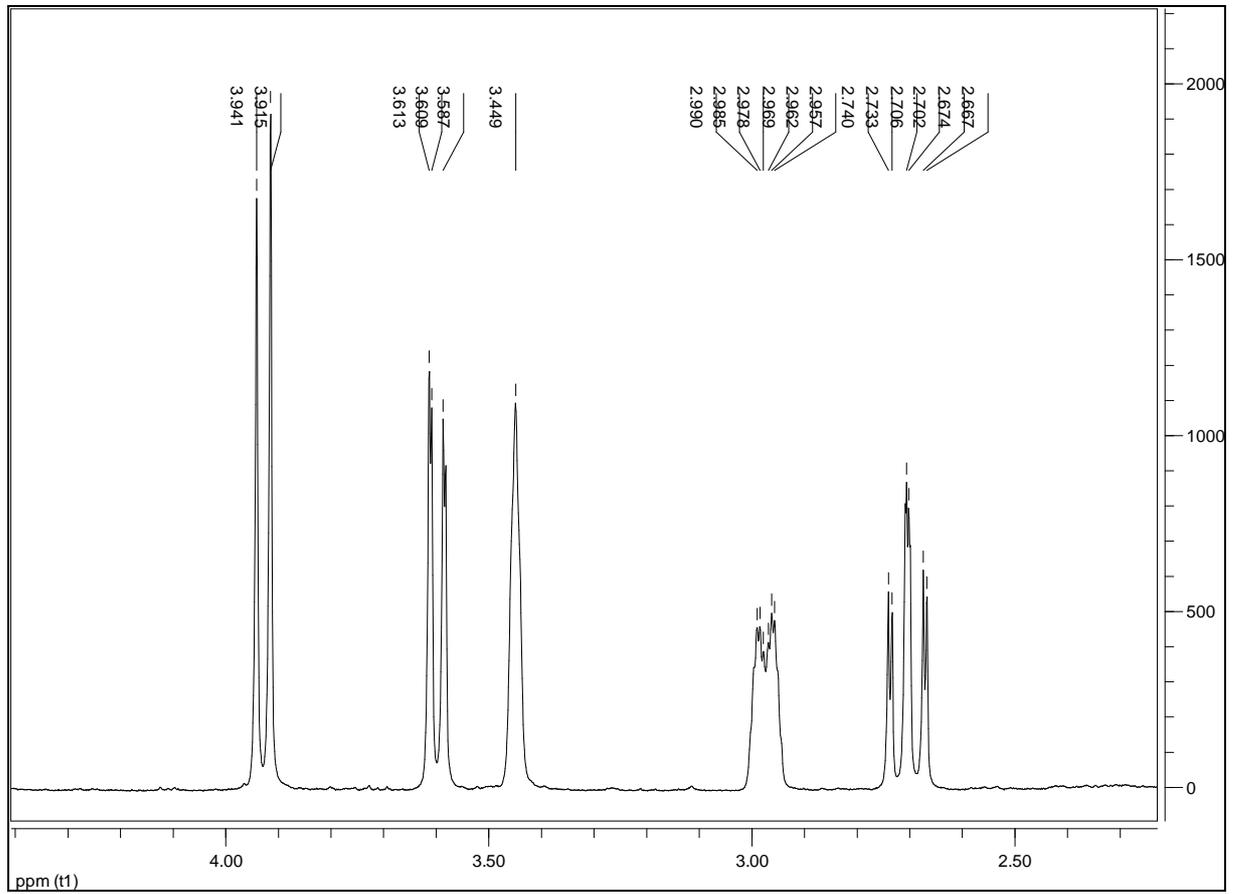
Figura 122 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

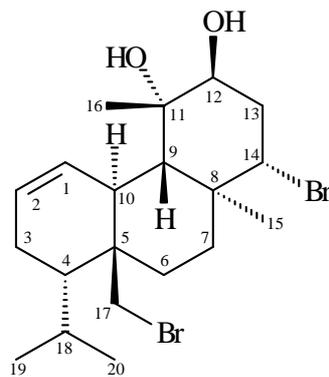
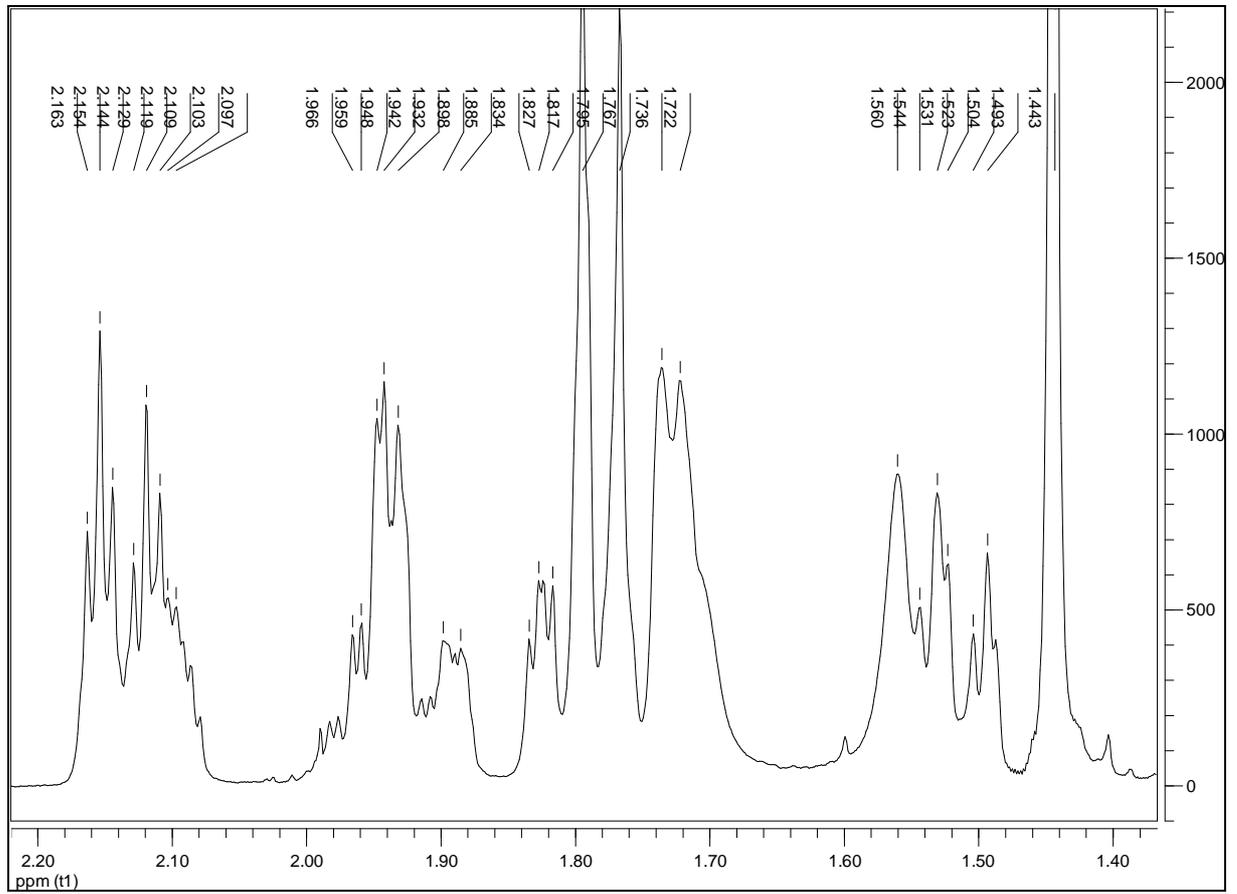
Figura 123 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

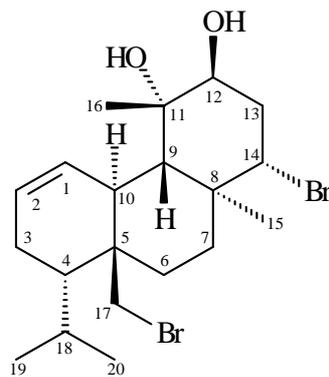
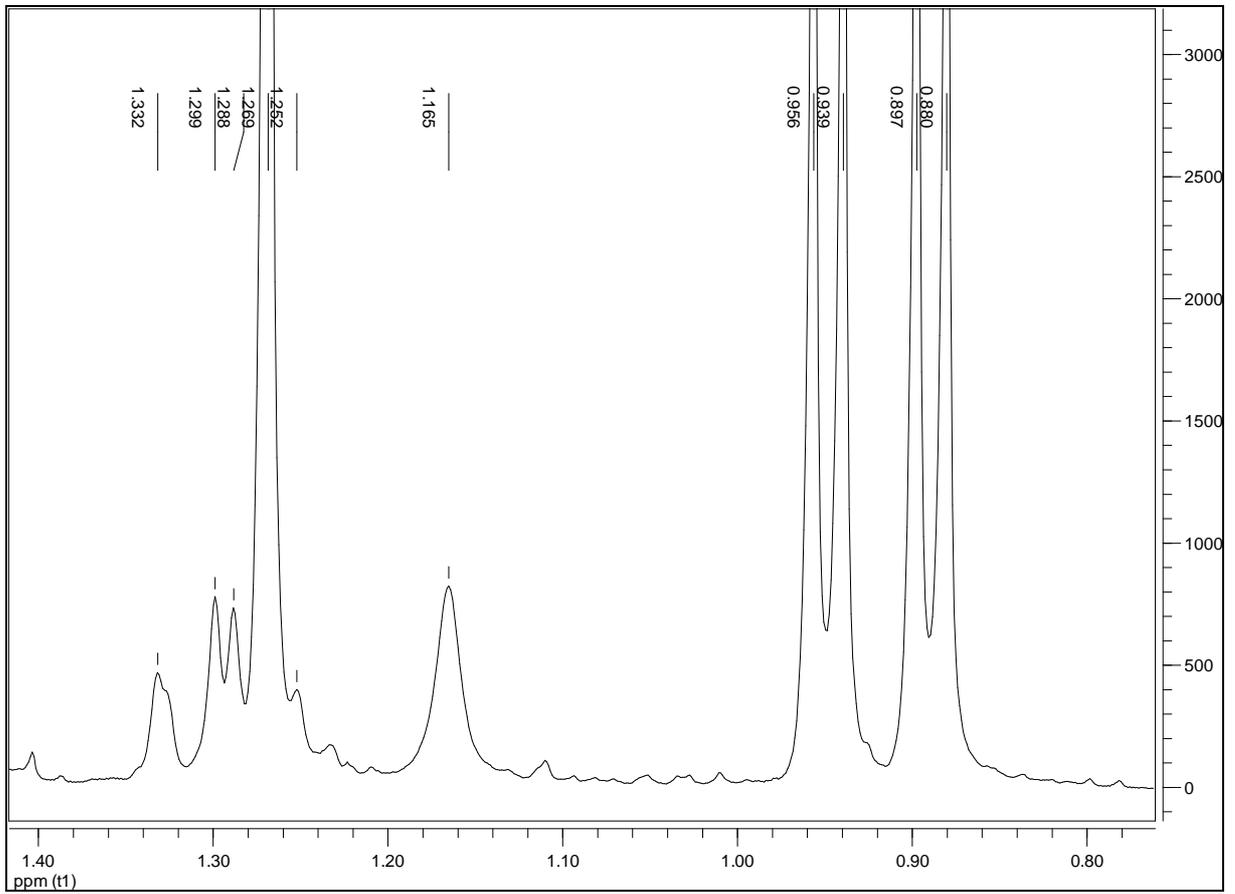
Figura 124 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

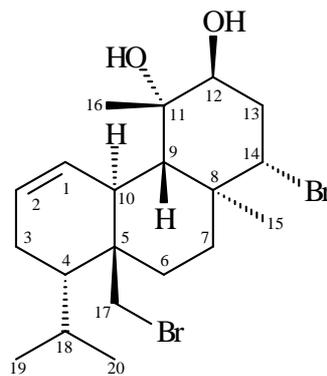
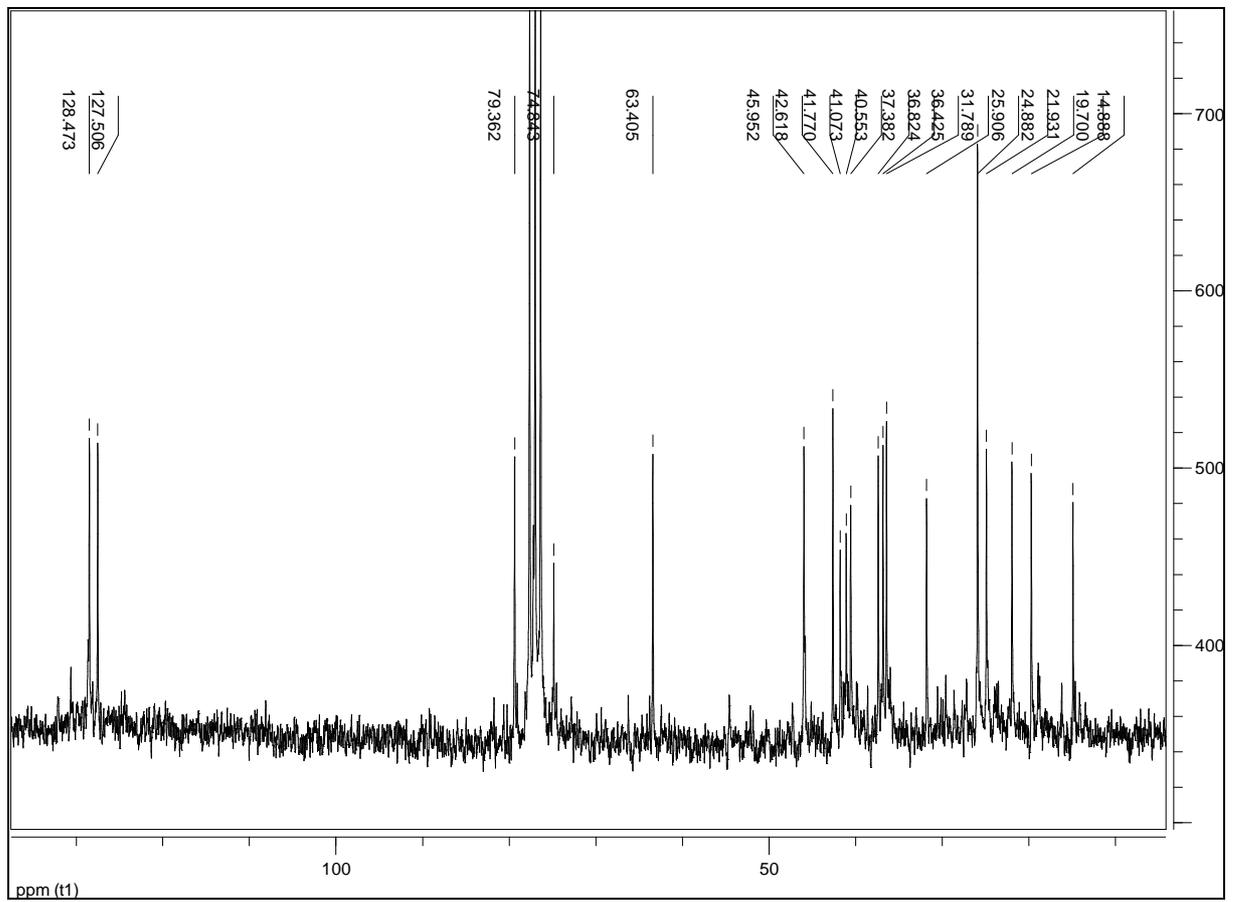
Figura 125 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-9.

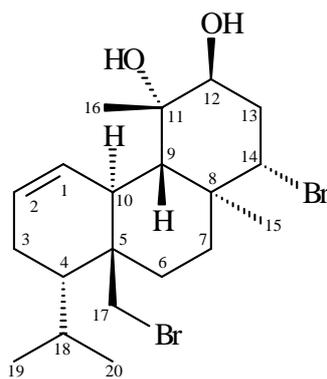
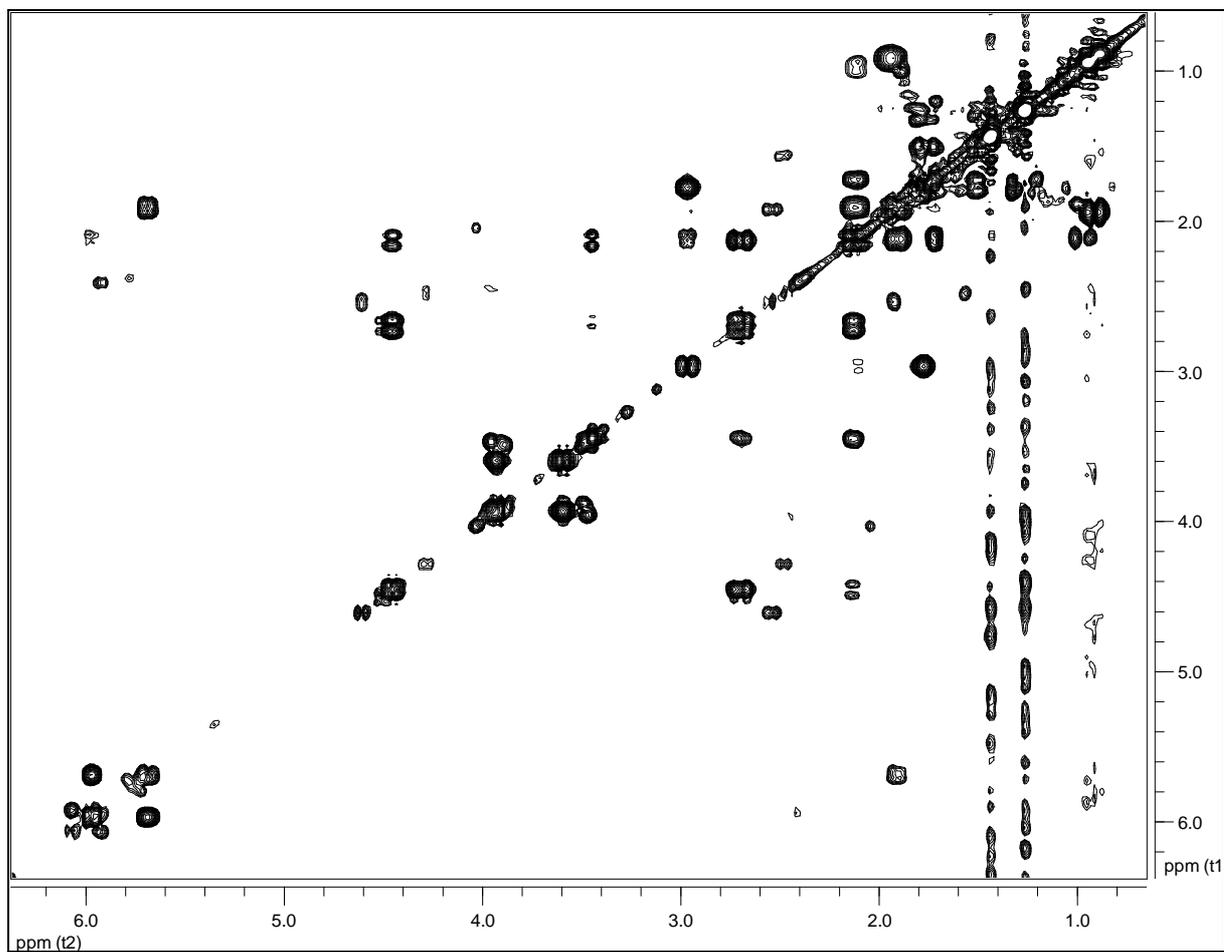
Figura 126 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

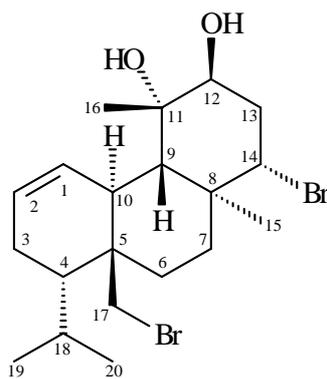
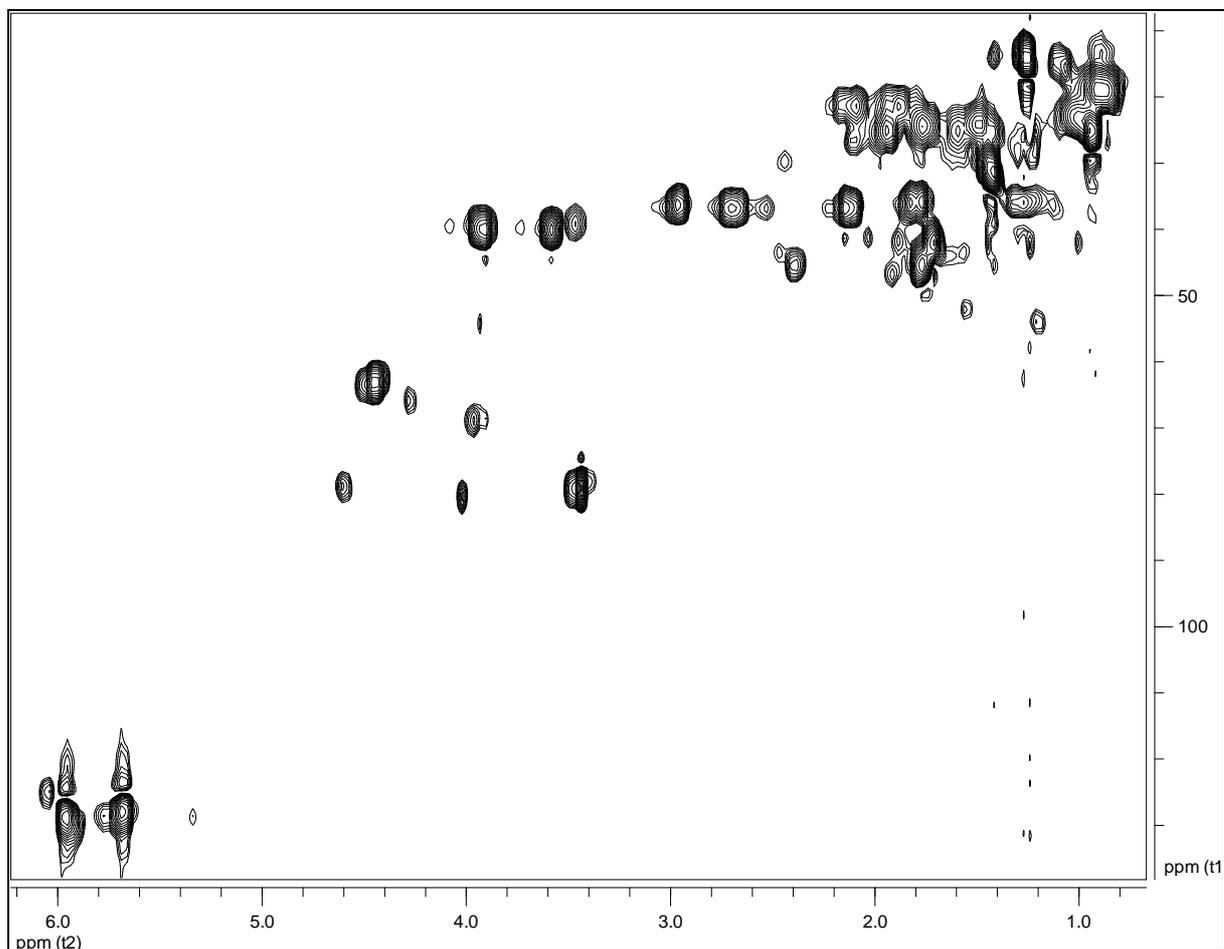
Figura 127 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

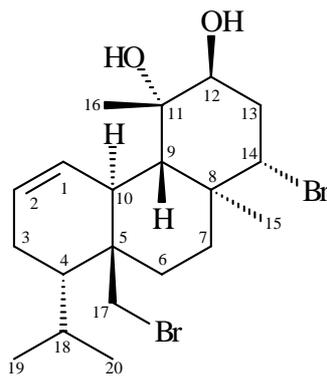
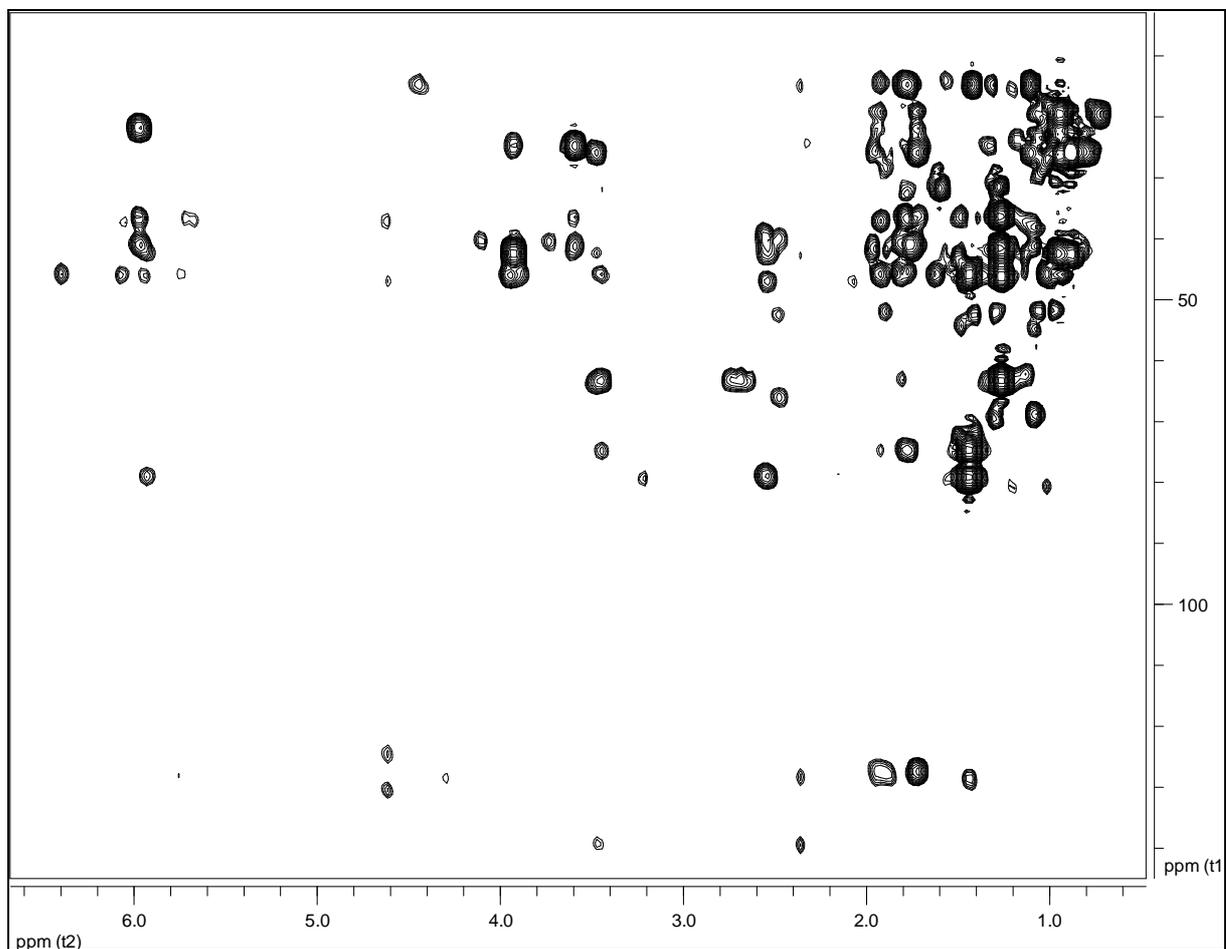
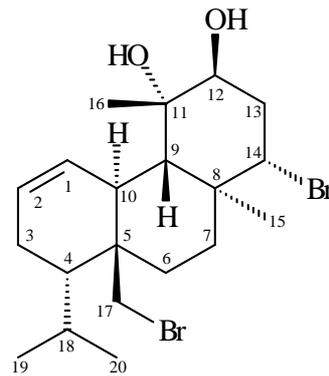
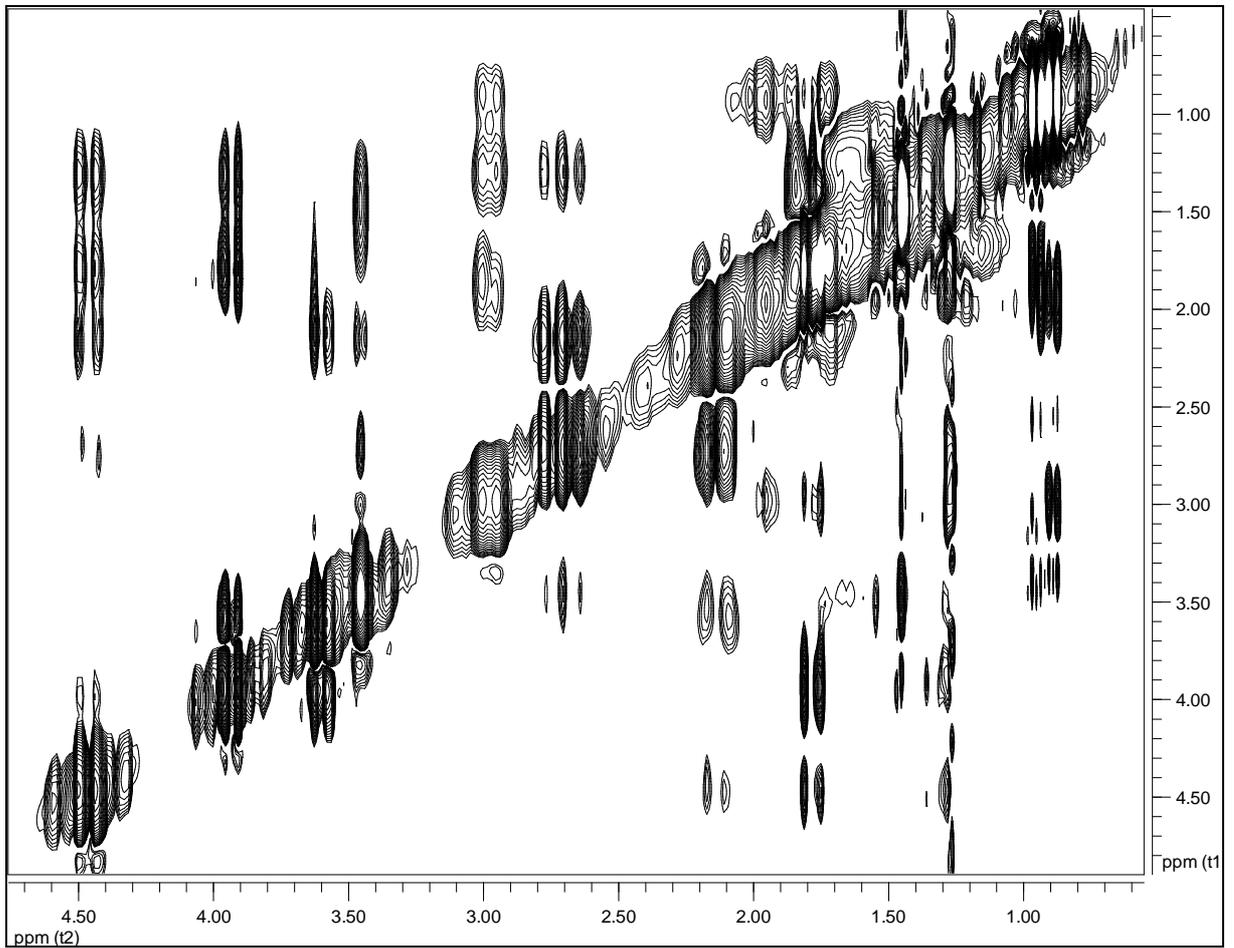
Figura 128 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

Figura 129 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-9.

4.3.10 Identificação estrutural de Sc-10

A substância codificada como **Sc-10** apresentou-se como um sólido cristalino. Seus espectros de RMN ^1H e expansões (Figuras 131-136, p. 205-210) e RMN ^{13}C (Figura 137, p. 211) mostraram-se semelhantes aos espectros de RMN ^1H (Figuras 120-124, p. 191-195) e RMN ^{13}C (Figura 125, p. 196) de **Sc-9**.

Todavia, uma análise comparativa entre os dados de **Sc-10** com **Sc-9** (Tabela 17, p. 203) mostrou uma diferença significativa na posição 12, onde em **Sc-9** encontra-se um carbono metínico oxigenado em δ 79,36 e em **Sc-10** há uma absorção para carbono metilênico em δ 45,21, dados estes fortalecidos pelo espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (Figura 138, p. 212).

Verificou-se a presença de uma dupla ligação para **Sc-10**, assim como em **Sc-9**. No entanto, em diferentes posições, tendo em vista que foram observados sinais em δ 5,73 e 5,80 referentes a hidrogênios de carbono sp^2 para posições 2 e 3 de **Sc-10**. Esta proposta foi fortalecida pelas ressonâncias para dois carbonos sp^2 metínicos, em δ 128,68 e 128,17 ppm.

Aliando-se os dados obtidos com os bidimensionais HMQC, COSY, HMBC e NOESY (Figuras 140 a 143, p. 214 a 217) (Tabela 16, p. 202) e com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2008a; CAFIERI et al., 1977) foi exeqüível propor que a substância **Sc-10** trata-se do diterpeno Bromosphaerodiol (Figura 130), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

O espectro de massas (Figura 139, p. 213) fortaleceu esta proposta ao exibir um pico em 446 u.m.a. relativo à perda de uma molécula de água a partir de M^{*+} 464 u.m.a. ($\text{M}^{*+} - \text{H}_2\text{O}$), fato que é condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{O}_2$.

Figura 130 – Estrutura química de Sc-10.

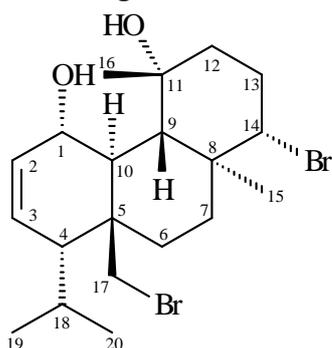
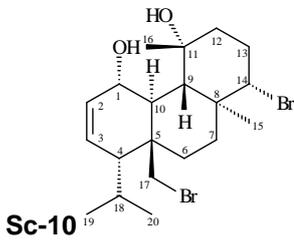
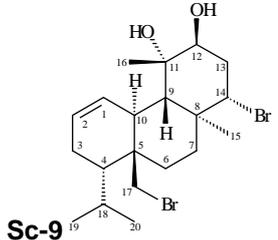


Tabela 16 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensionais de Sc-10.

No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^1H - ^1H NOESY	^{13}C δ (ppm)	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ HMBC
1	4,29	dl 8,0	9, 16, 17b	66,25	3, 10
2	5,73	dd 10,2; 2,88	17b	128,68	1
3	5,80	dd 10,2; 5,4	20	128,17	4, 5
4	2,39	dd 5,36; 3,8	17b, 20	45,83	2, 10, 17, 19, 20
5	–	–	–	42,29	
6	a 1,77	m		25,94	17
	b 1,59	ddd 14,08; 3,72; 3,72			
7	a 1,89	ddd 13,68; 3,72; 3,72		36,20	5, 8, 15
	b 1,13	ddd 13,68; 13,68; 3,72	14, 17a		
8	–	–	–	41,35	
9	1,56	d 10,76	1, 14, 17a	52,62	1, 7, 10, 11, 15, 16
10	2,48	dd 10,76; 8,32	15, 19	43,98	1, 2, 5, 9, 17
11	–	–	–	72,02	
12	a 1,80	ddd 14,92; 3,32; 3,32		45,21	11, 16
	b 1,63	ddd 14,92; 13,28; 4,56	14		
13	a 2,44	dddd 13,28; 13,28; 12,88; 3,32	15	30,16	11, 12
	b 1,93	dddd 13,28; 4,56; 3,76; 3,32	14		
14	3,99	dd 12,88; 3,76	7b, 9, 12b, 13b	69,45	9, 12, 13, 15
15	1,30	s	10, 13a	14,13	8, 9, 14
16	1,41	s	1	33,02	11
17	a 3,89	d 10,0	7b, 9	39,88	5, 6, 10
	b 3,49	dl 10,0	1, 2, 4		
18	2,13	dhept 3,32; 6,64	19, 20	27,18	19, 20
19	0,95	d 6,8	10, 18	18,97	18, 20
20	1,01	d 6,8	3, 4, 18	23,83	18, 19

Tabela 17 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10 e Sc-9.

 Sc-10				 Sc-9			
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	4,29	dl 8,0	66,25	1	5,97	dl 10,4	128,48
2	5,73	dd 10,2; 3,0	128,68	2	5,69	ddt 10,4; 5,0; 2,5	127,51
3	5,80	dd 10,2; 5,4	128,17	3	a 2,10	m	21,93
4	2,39	dd 5,36; 3,8	45,83		b 1,93	m	
5	–	–	42,29	4	1,72	m	42,61
6	a 1,77	m	25,94	5	–	–	41,07
	b 1,59	ddd 14,08; 3,72; 3,72		6	a 1,75	m	24,88
7	a 1,89	ddd 13,68; 3,72; 3,72	36,20	7	b 1,51	m	36,42
	b 1,13	ddd 13,68; 13,68; 3,72			a 1,81	m	
8	–	–	41,35		b 1,29	m	
9	1,56	d 10,76	52,62	8	–	–	41,77
10	2,48	dd 10,76; 8,32	43,98	9	1,78	d 11,2	45,95
11	–	–	72,02	10	2,97	d 11,2	36,82
12	a 1,80	ddd 14,92; 3,32; 3,32	45,21	11	–	–	74,84
	b 1,63	ddd 14,92; 13,28; 4,56		12	3,45	sl	79,36
13	a 2,44	dddd 13,28; 13,28; 12,88; 3,32	30,16	13	a 2,70	ddd 13,7; 12,8; 2,9	37,38
	b 1,93	dddd 13,28; 4,56; 3,76; 3,32			b 2,14	dt 13,7; 3,7	
14	3,99	dd 12,80; 3,60	69,45	14	4,46	dd 12,8; 3,7	63,40

15	1,30	s	14,13	15	1,27	s	14,88
16	1,41	s	33,02	16	1,44	s	31,79
17	a 3,89	d 10,0	39,88	17	a 3,93	d 10,8	40,55
	b 3,49	dl 10,0			b 3,60	dd 10,8; 2,1	
18	2,13	dhept 3,32; 6,64	27,18	18	1,93	m	25,90
19	0,95	d 6,8	18,97	19	0,89	d 7,0	19,70
20	1,01	d 6,8	23,83	20	0,95	d 7,0	25,90

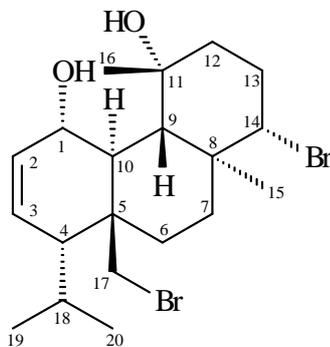
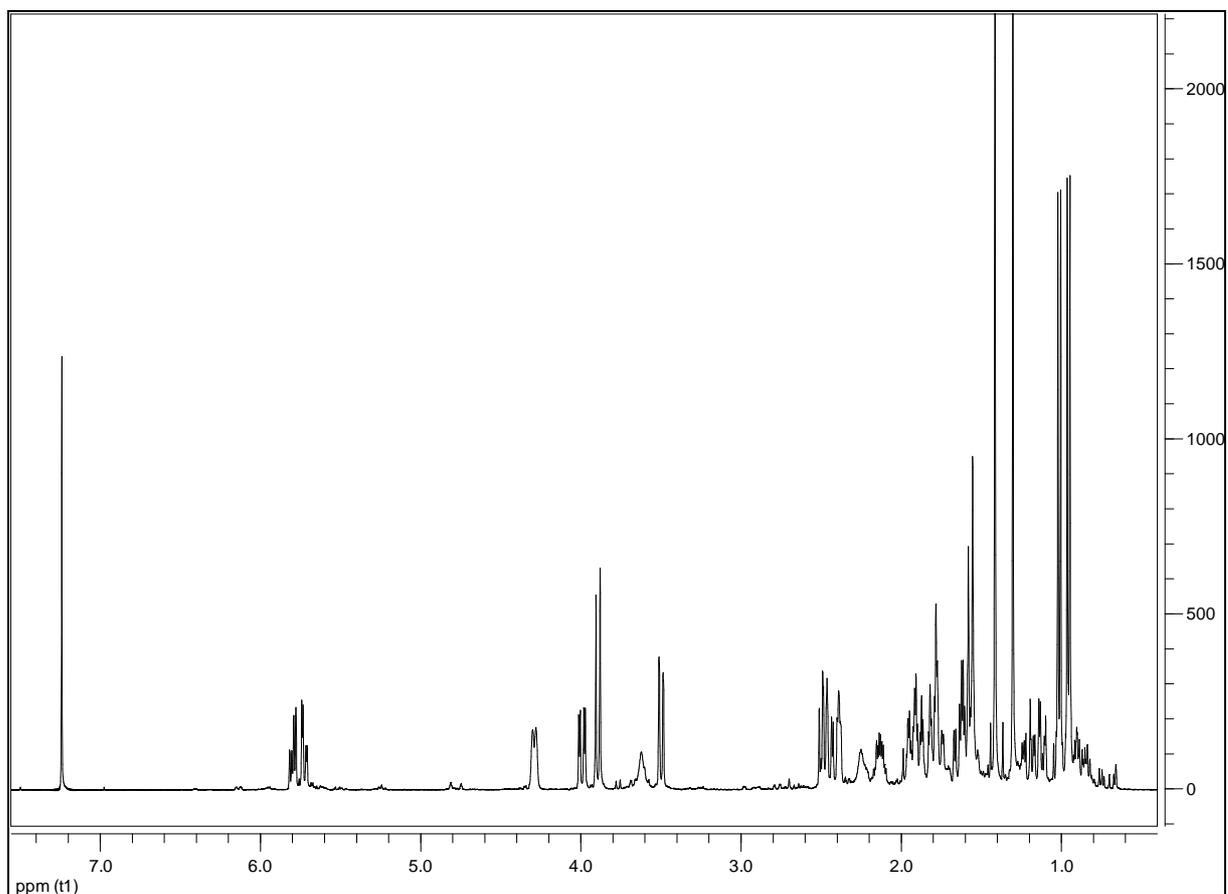
Figura 131 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

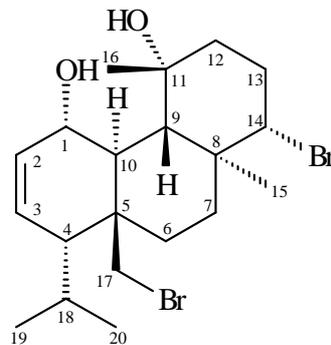
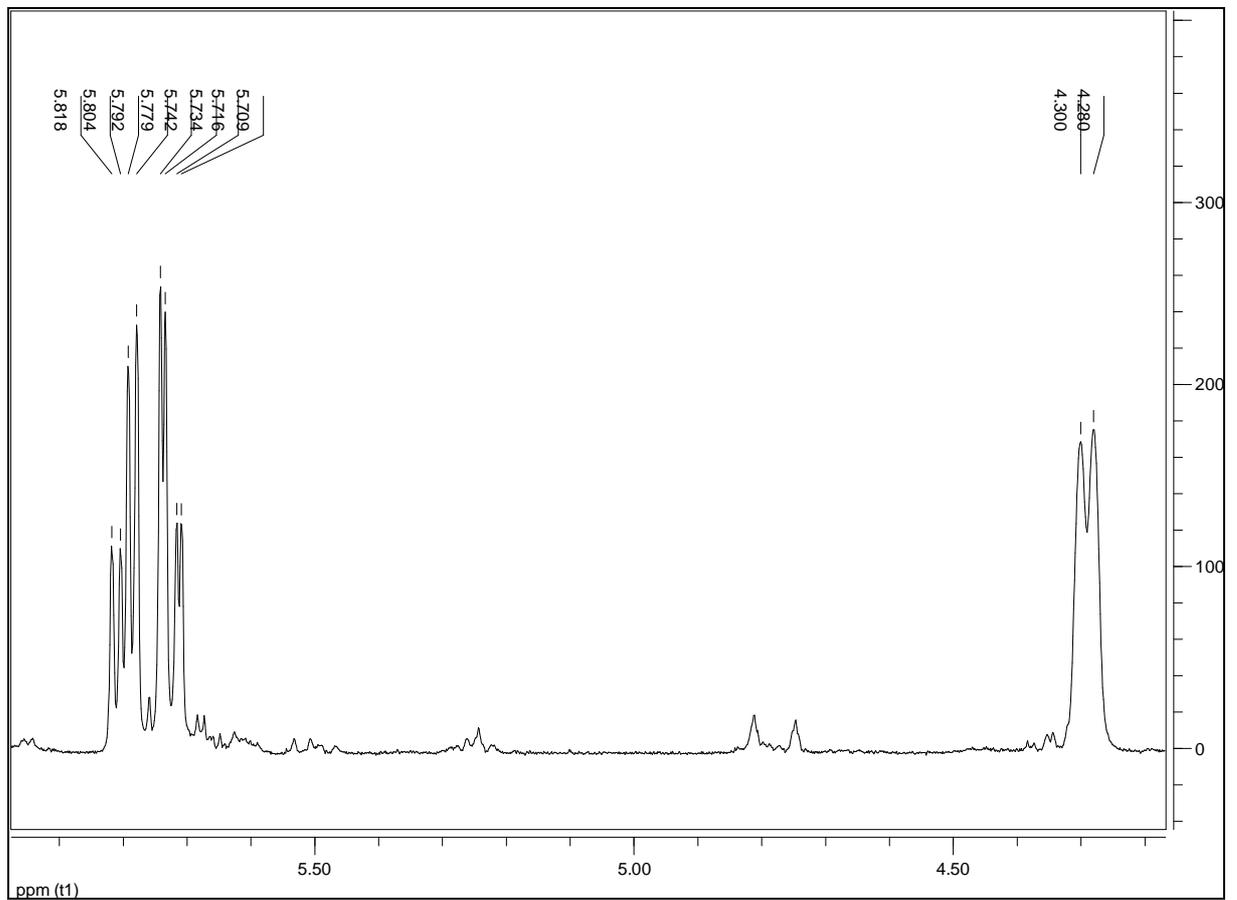
Figura 132 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

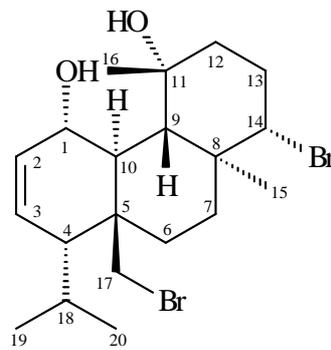
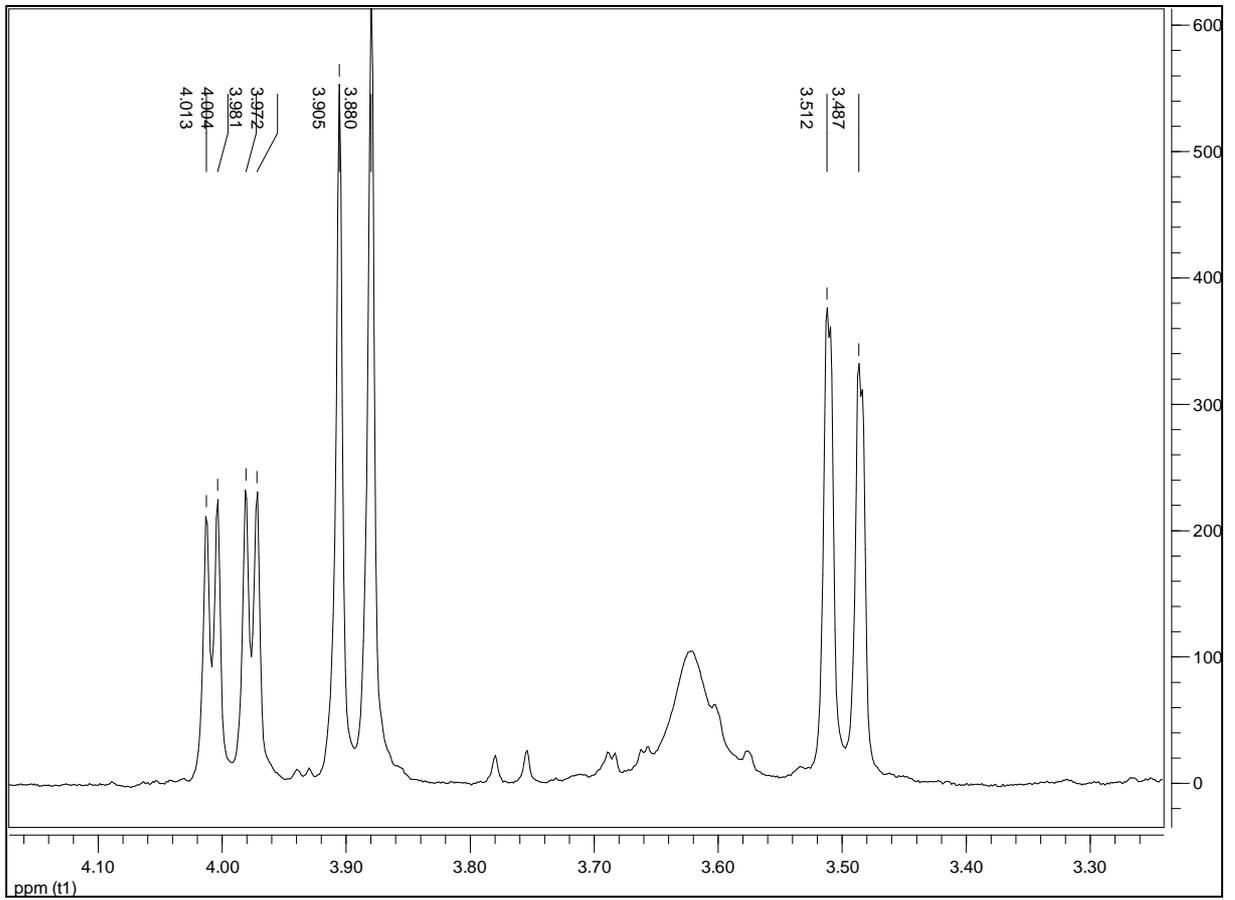
Figura 133 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

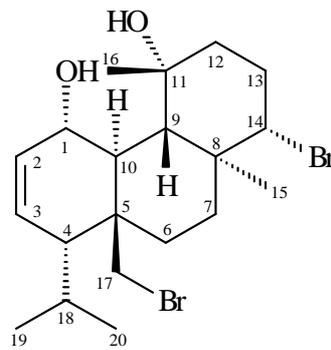
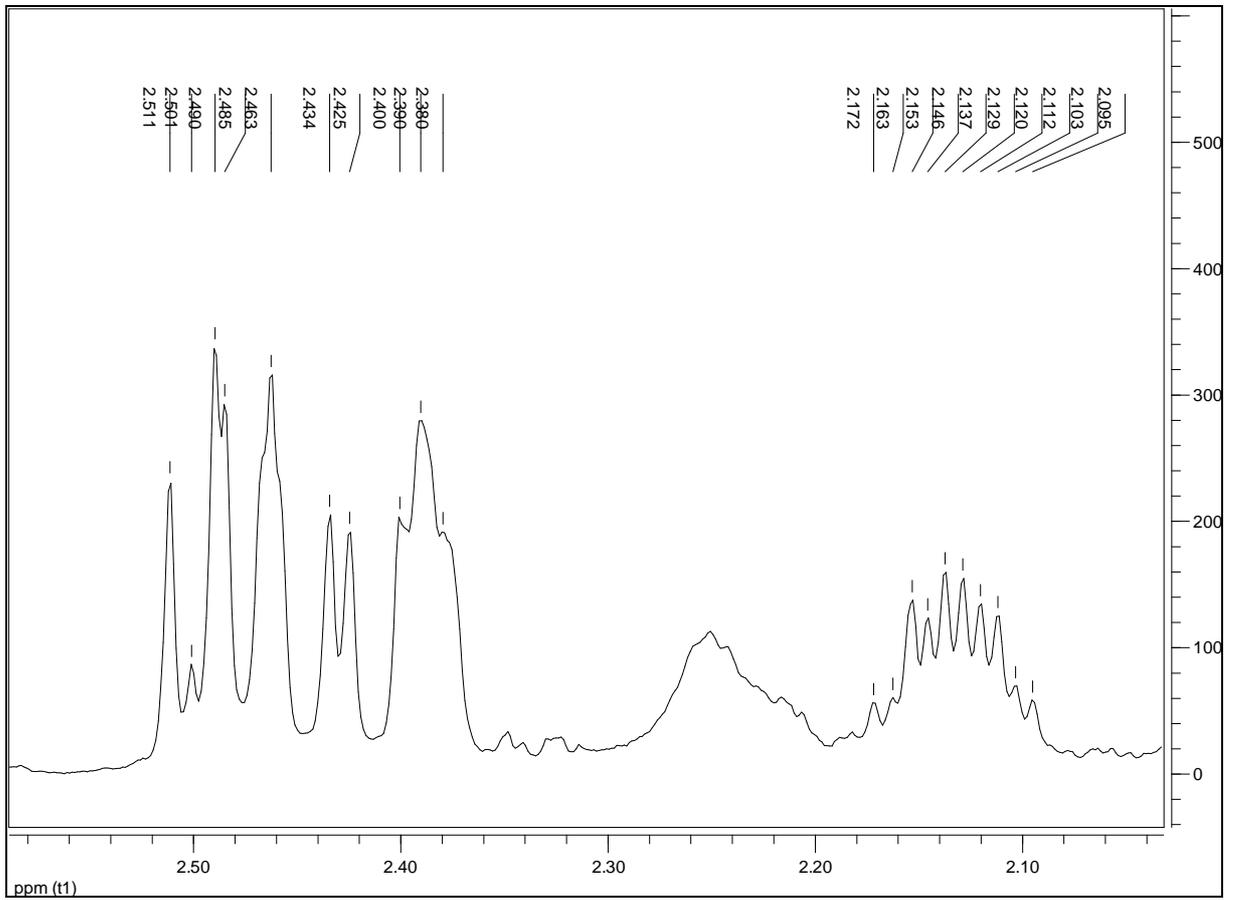
Figura 134 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

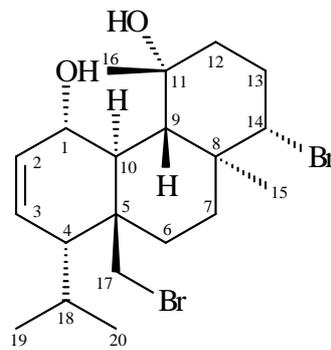
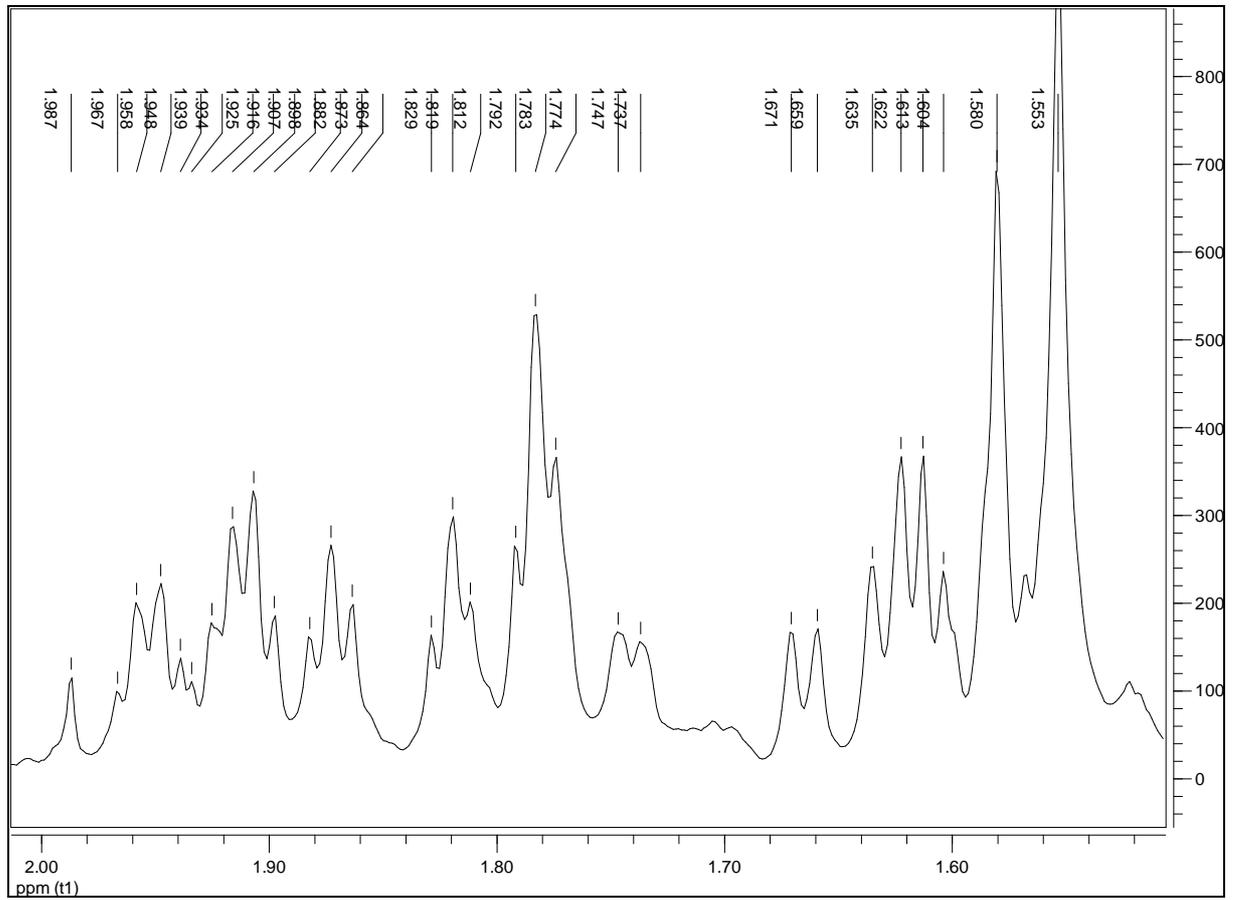
Figura 135 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

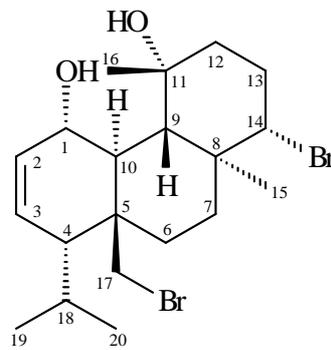
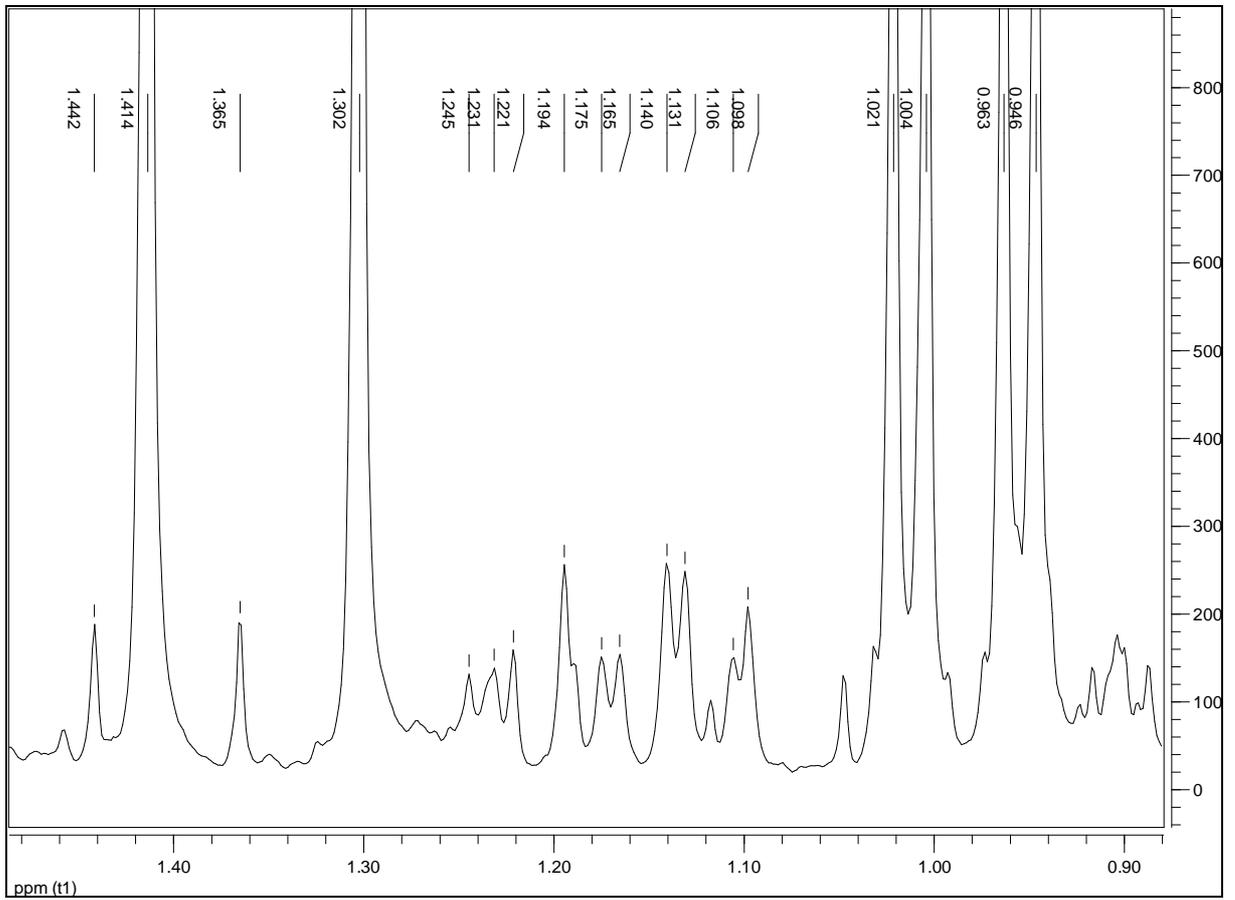
Figura 136 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

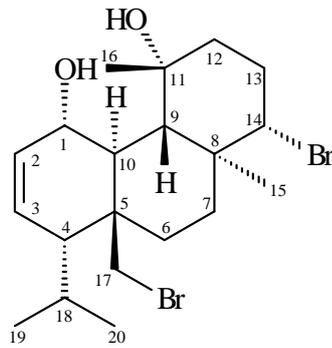
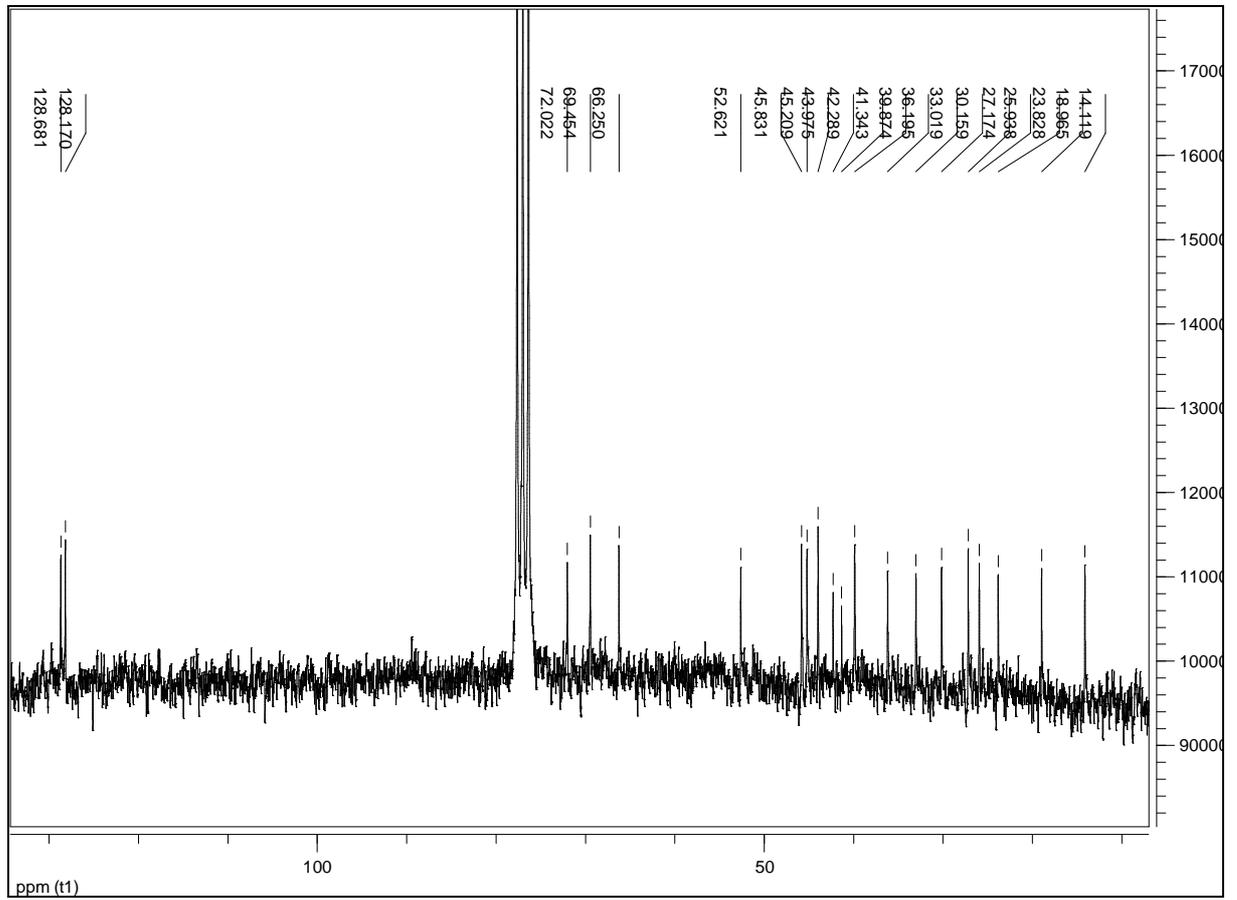
Figura 137 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10.

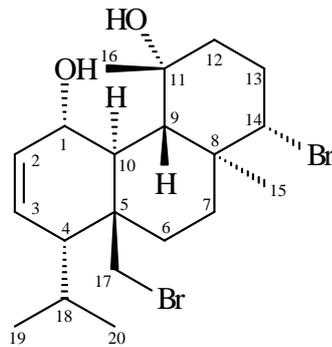
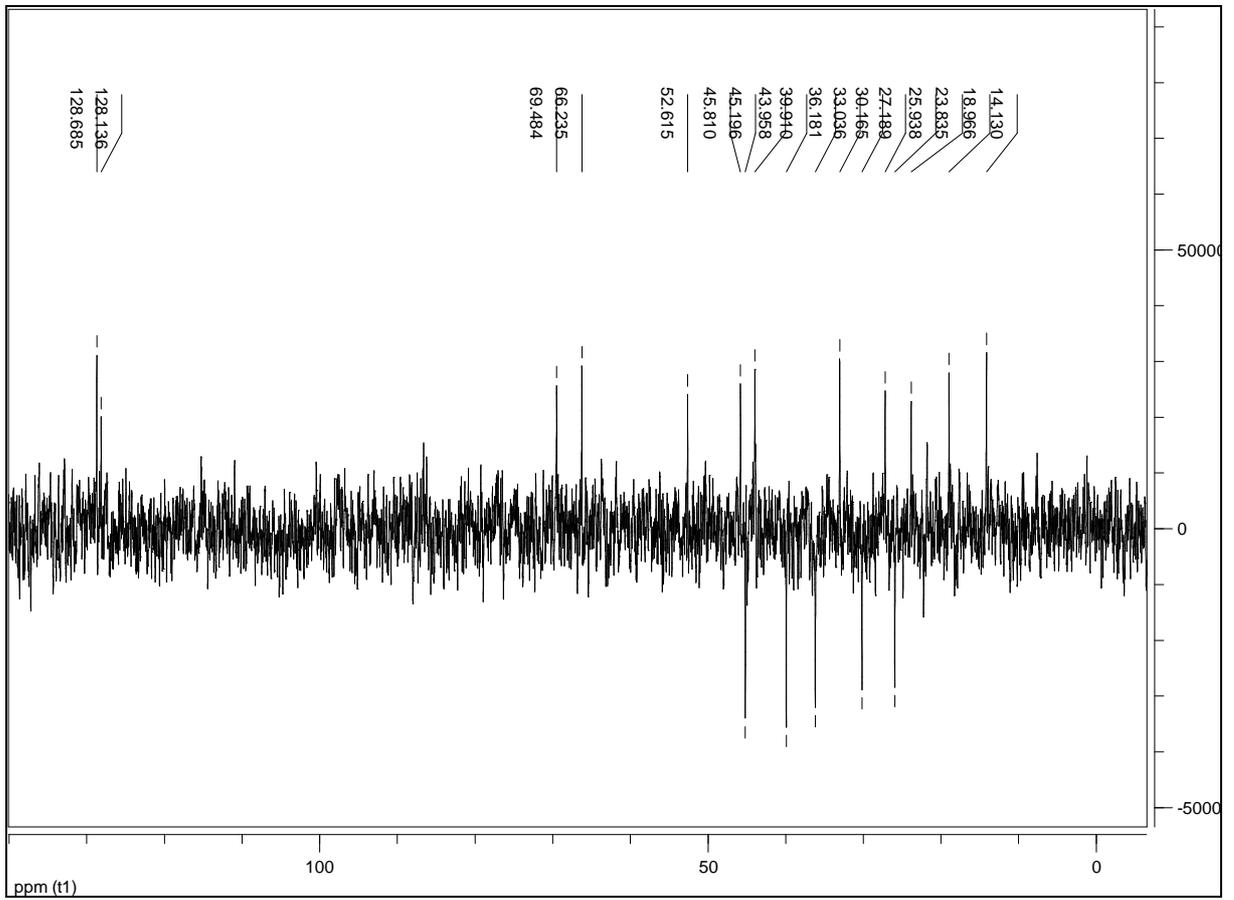
Figura 138 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT-135 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-10.

Figura 139 - Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-10.

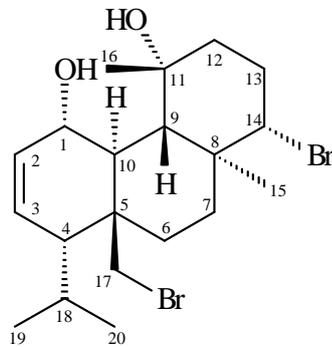
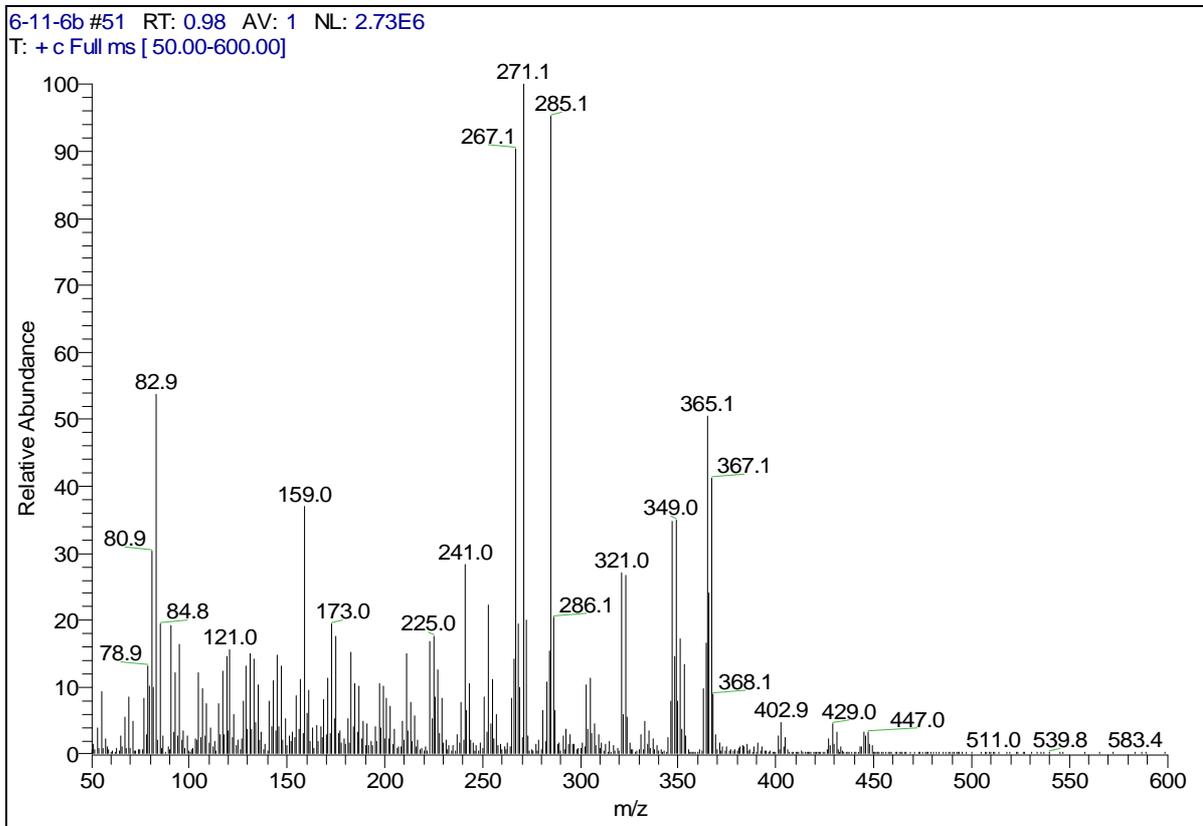


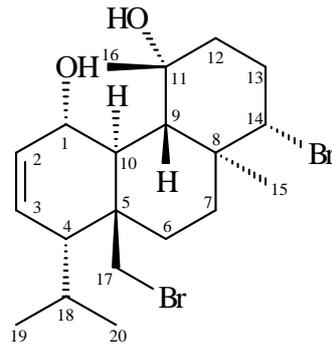
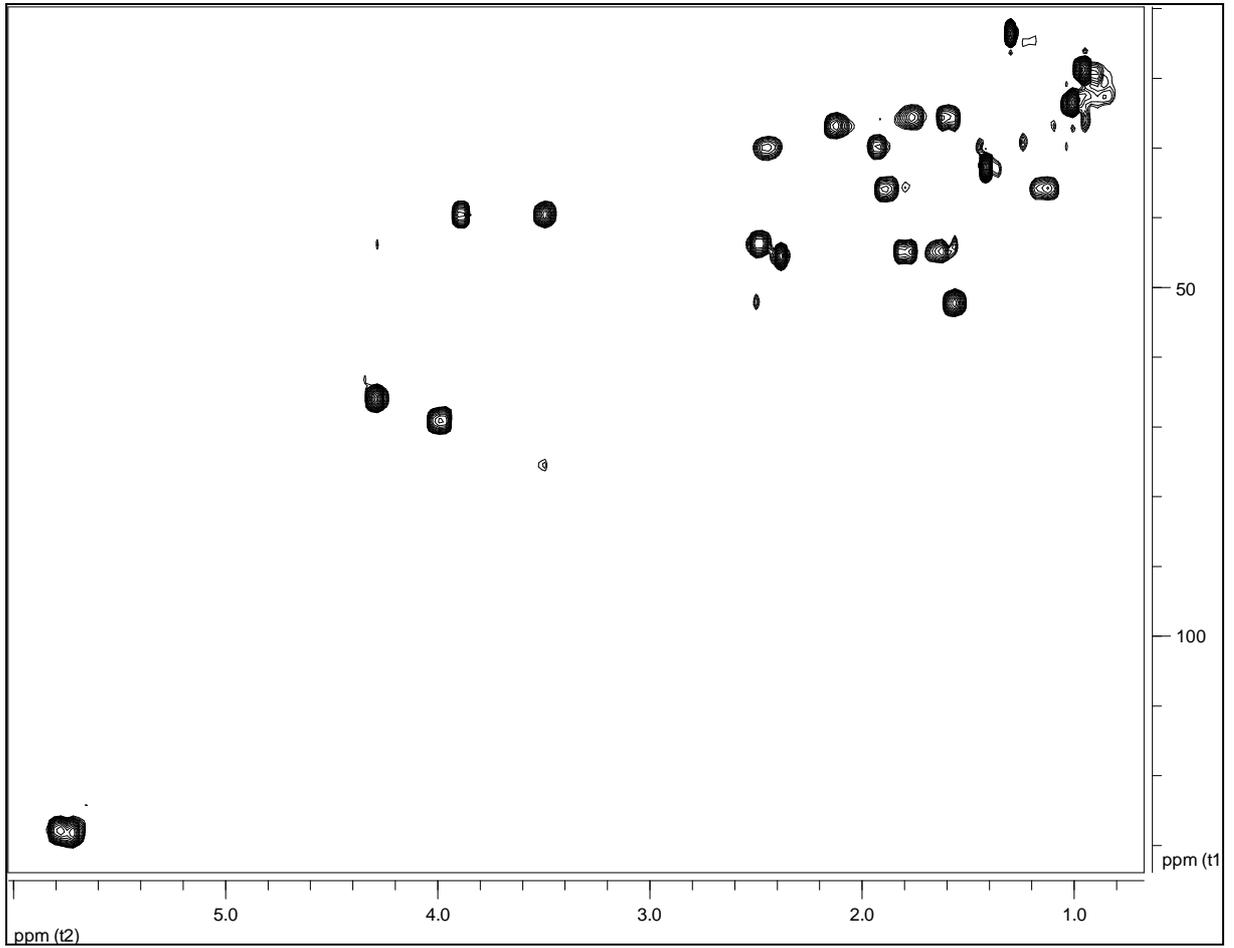
Figura 140 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

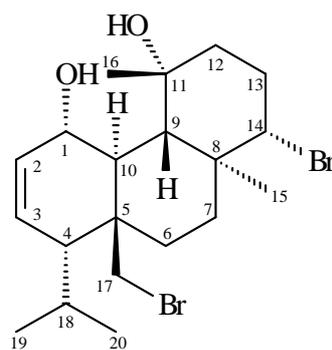
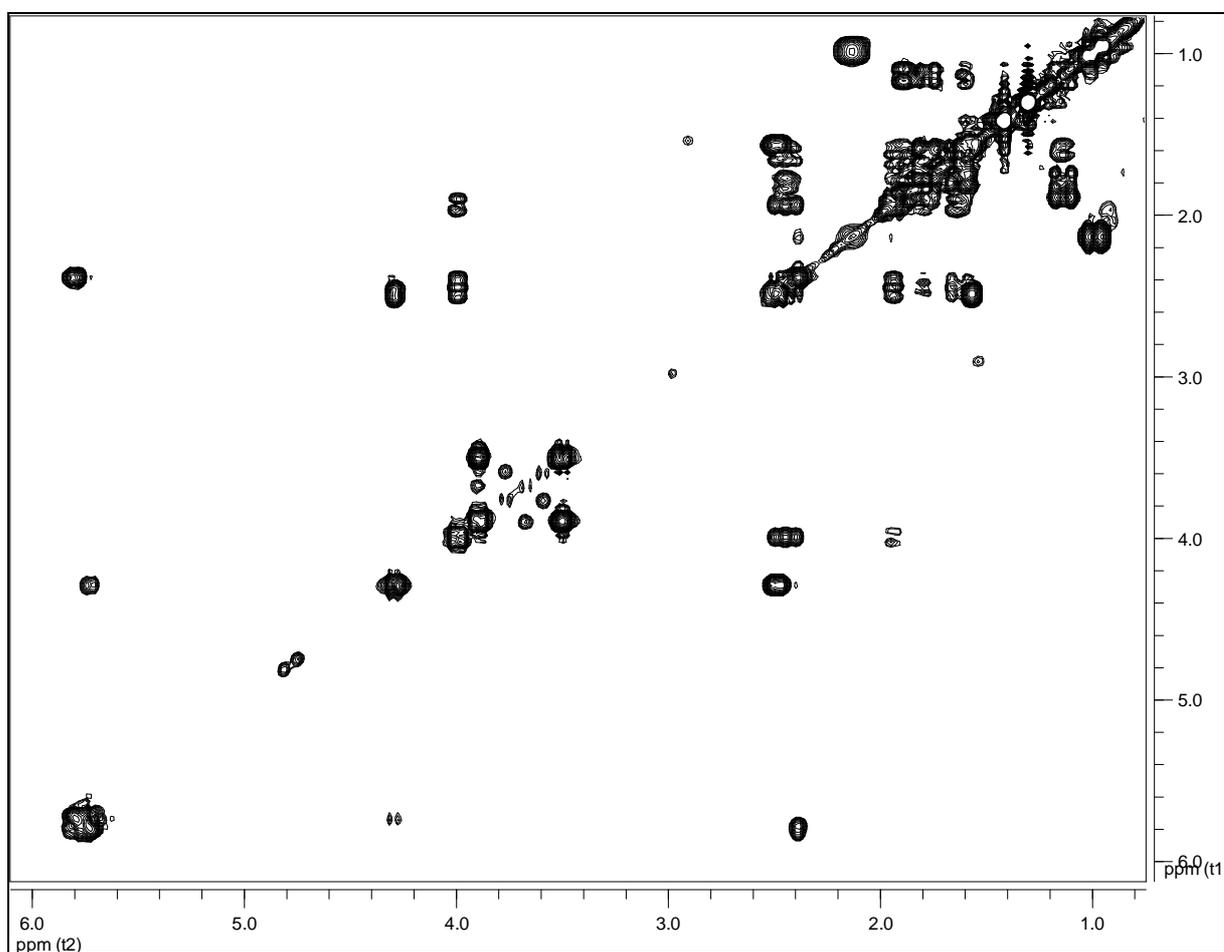
Figura 141 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

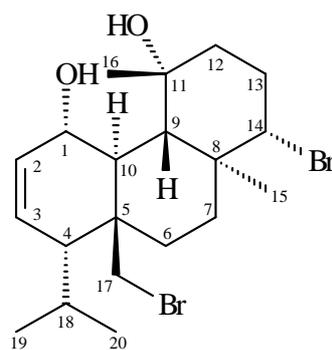
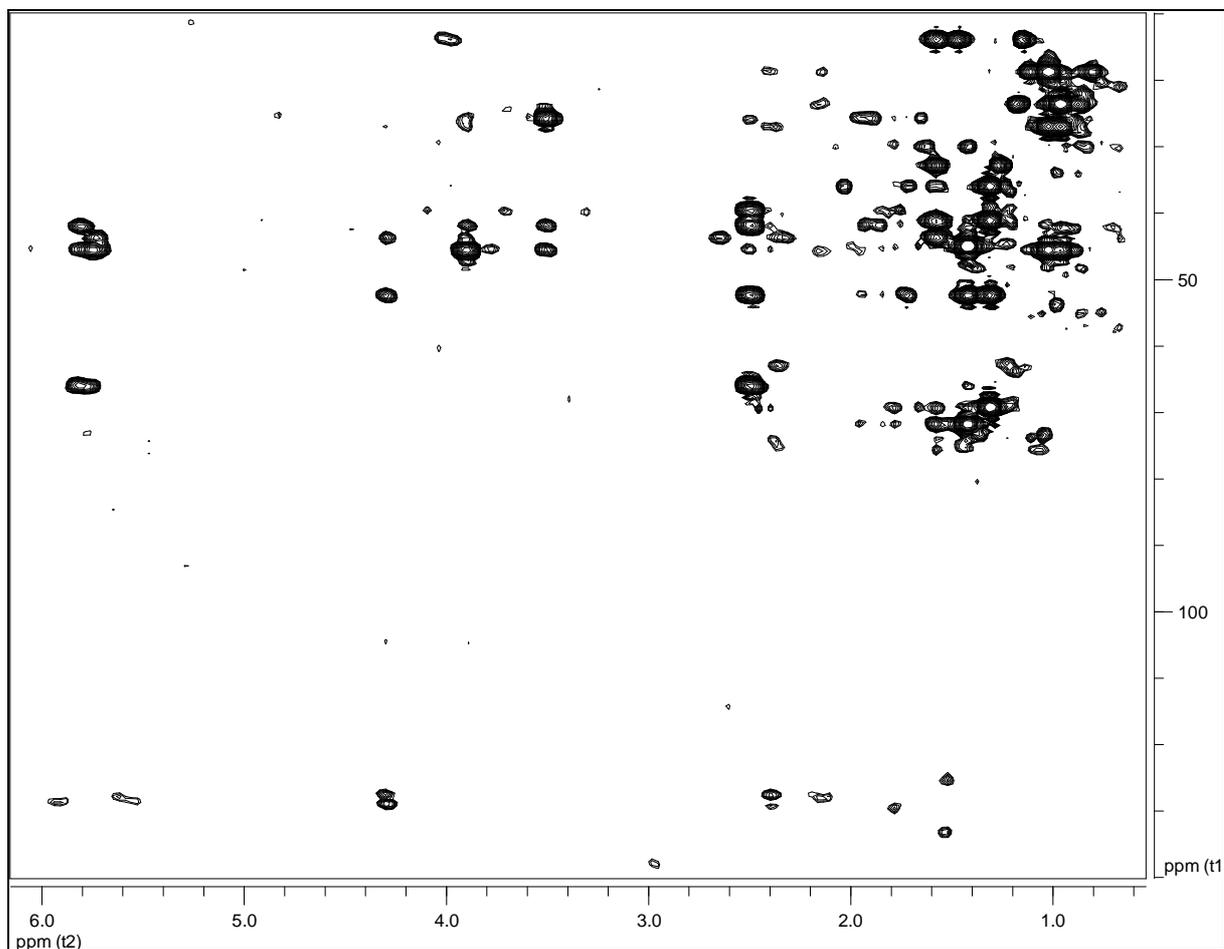
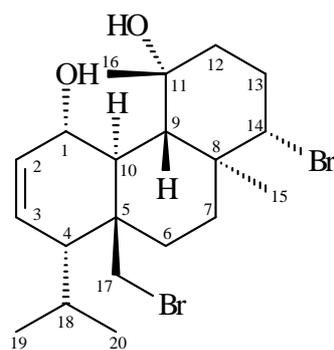
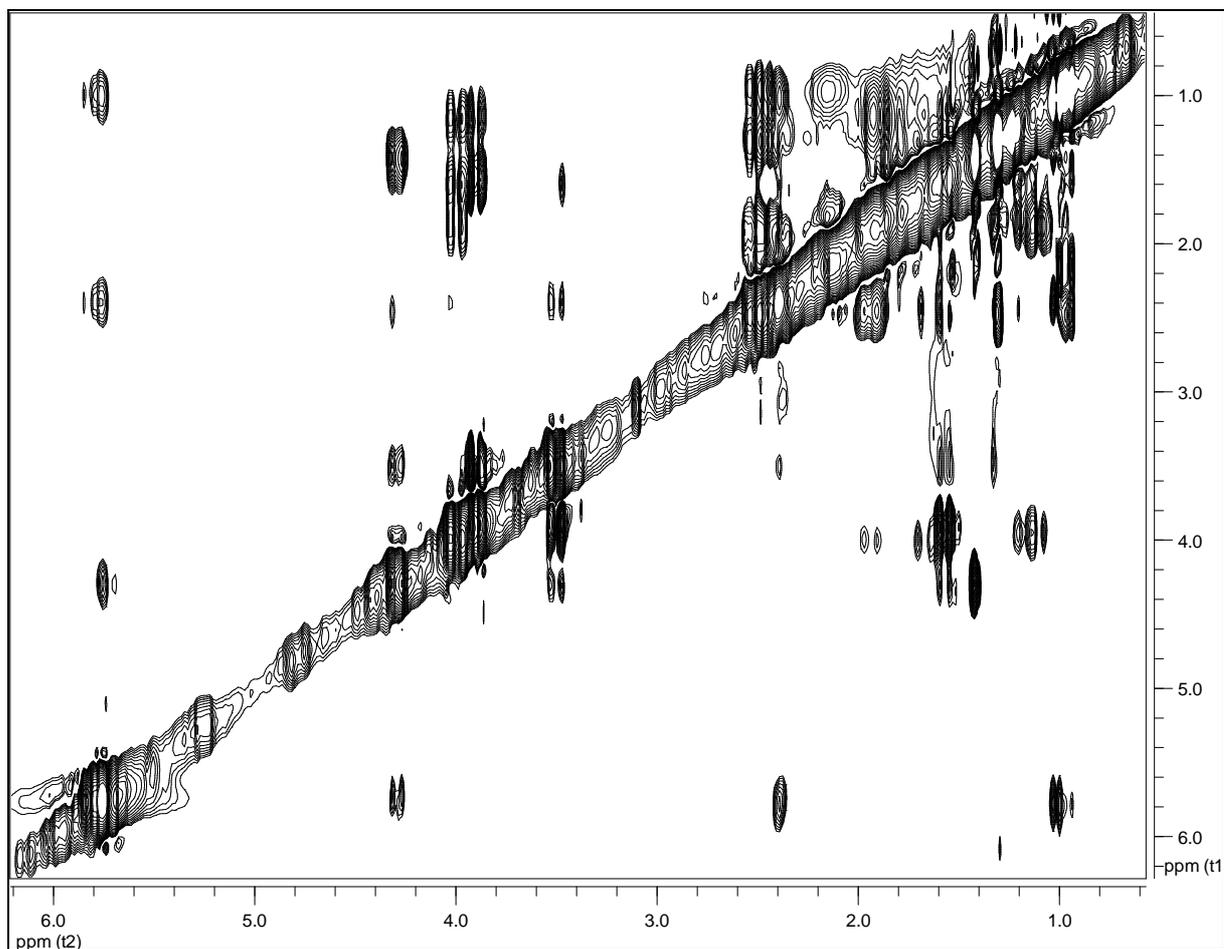
Figura 142 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

Figura 143 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-10.

4.3.11 Identificação estrutural de Sc-11

O perfil espectral exibido pelo espectro de RMN de ^1H (Figura 146, p. 221) e suas expansões (Figuras 147 a 150, p. 222 a 225) da substância codificada como **Sc-11** indicou que a mesma tratava-se de uma mistura. Comparando-se seus dados com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) (Tabela 18, p. 219 e Tabela 19, p. 220), foi exequível propor que **Sc-11** seria uma mistura dos diterpenos Ioniol-II (**Sc-11a**) (Figura 144) e 3S-hidroxi-1-desoxi- Bromotetrasphaerol (**Sc-11b**) (Figura 145), ambos re-isolados de *S. coronopifolius*.

Figura 144 – Estrutura química de Sc-11a.

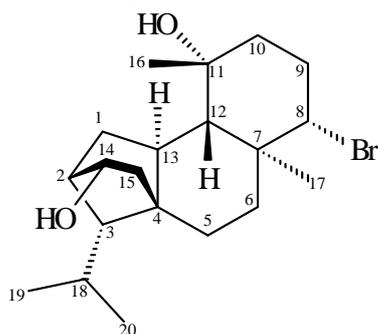


Figura 145 – Estrutura química de Sc-11b.

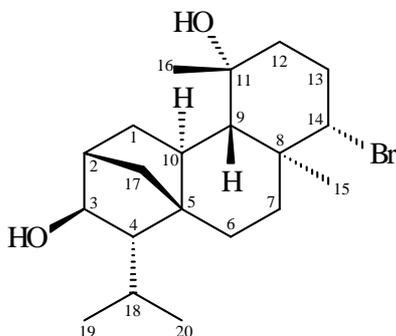


Tabela 18 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11a e Mo-11a (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) (mesmas condições experimentais).

Sc-11a			Mo-11a		
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)
1	a 1,80	m	1	a 1,80	ddd 13,3; 10,8; 5,8
	b 0,89	m		b 0,89	m
2	1,99	dl 5,2	2	1,99	dl 5,8
3	1,47	d 8,0	3	1,46	dl 9,1
4	–	–	4	–	–
5	a 1,89	m	5	a 1,89	ddd 13,7; 13,3; 3,7
	b 1,42	m		b 1,42	dt 13,3; 3,3
6	a 1,78	m	6	a 1,78	ddd 13,3; 3,7; 3,3
	b 1,11	m		b 1,11	ddd 13,7; 13,3; 3,3
7	–	–	7	–	–
8	3,97	td 12,6; 4,0	8	3,98	dd 12,9; 3,7
9	a 2,46	m	9	a 2,46	dddd 13,2; 12,9; 10,8; 7,4
	b 2,03	m		b 2,03	dq 13,2; 3,7
10	a 1,60	m	10	a 1,60	m
	b 1,60	m		b 1,60	m
11	–	–	11	–	–
12	1,25	d 9,2	12	1,24	d 11,2
13	2,17	m	13	2,17	ddd 11,2; 10,8; 7,0
14	3,55	dl 6,8	14	3,55	dl 7,4
15	a 2,34	dd 14,2; 7,4	15	a 2,34	dd 14,1; 7,4
	b 0,95	m		b 0,94	dl 14,1
16	1,19	s	16	1,19	s
17	1,20	s	17	1,20	s
18	1,70	m	18	1,70	dhept 9,1; 6,6
19	0,90	d 6,8	19	0,90	d 6,6
20	0,99	d 6,4	20	0,99	d 6,6

Tabela 19 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11b e Mo-11b (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) (mesmas condições experimentais).

Sc-11b			Mo-11b		
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)
1	a 1,52	m	1	a 1,52	m
	b 1,52	m		b 1,52	m
2	1,91	m	2	1,91	m
3	3,43	sl	3	3,44	sl
4	0,94	dl 3,2	4	0,94	dd 9,1; 2,9
5	–	–	5	–	–
6	a 1,96	m	6	a 1,96	ddd 14,1; 12,8; 4,1
	b 1,47	m		b 1,47	m
7	a 1,86	m	7	a 1,86	ddd 12,8; 4,1; 3,3
	b 1,20	m		b 1,20	m
8	–	–	8	–	–
9	1,11	sl	9	1,10	d 10,4
10	1,80	m	10	1,80	ddd 10,4; 7,9; 4,1
11	–	–	11	–	–
12	a 1,58	m	12	a 1,58	m
	b 1,58	m		b 1,58	m
13	a 2,46	m	13	a 2,46	tdd 12,8; 12,4; 6,6
	b 2,04	m		b 2,04	dtd 12,8; 4,1; 3,3
14	3,97	dd 12,6; 4,0	14	3,95	dd 12,8; 4,1
15	1,11	s	15	1,11	s
16	1,17	sl	16	1,17	s
17	a 1,74	sl	17	a 1,74	dl 10,4
	b 1,25	sl		b 1,25	dl10,4
18	1,65	m	18	1,65	dhept 9,1; 6,6
19	1,04	d 6,8	19	1,05	d 6,6
20	1,08	d 6,4	20	1,08	d 6,6

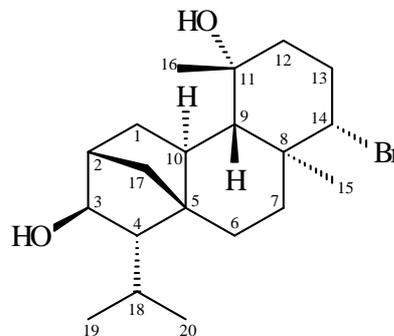
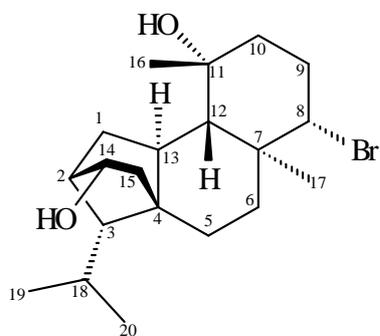
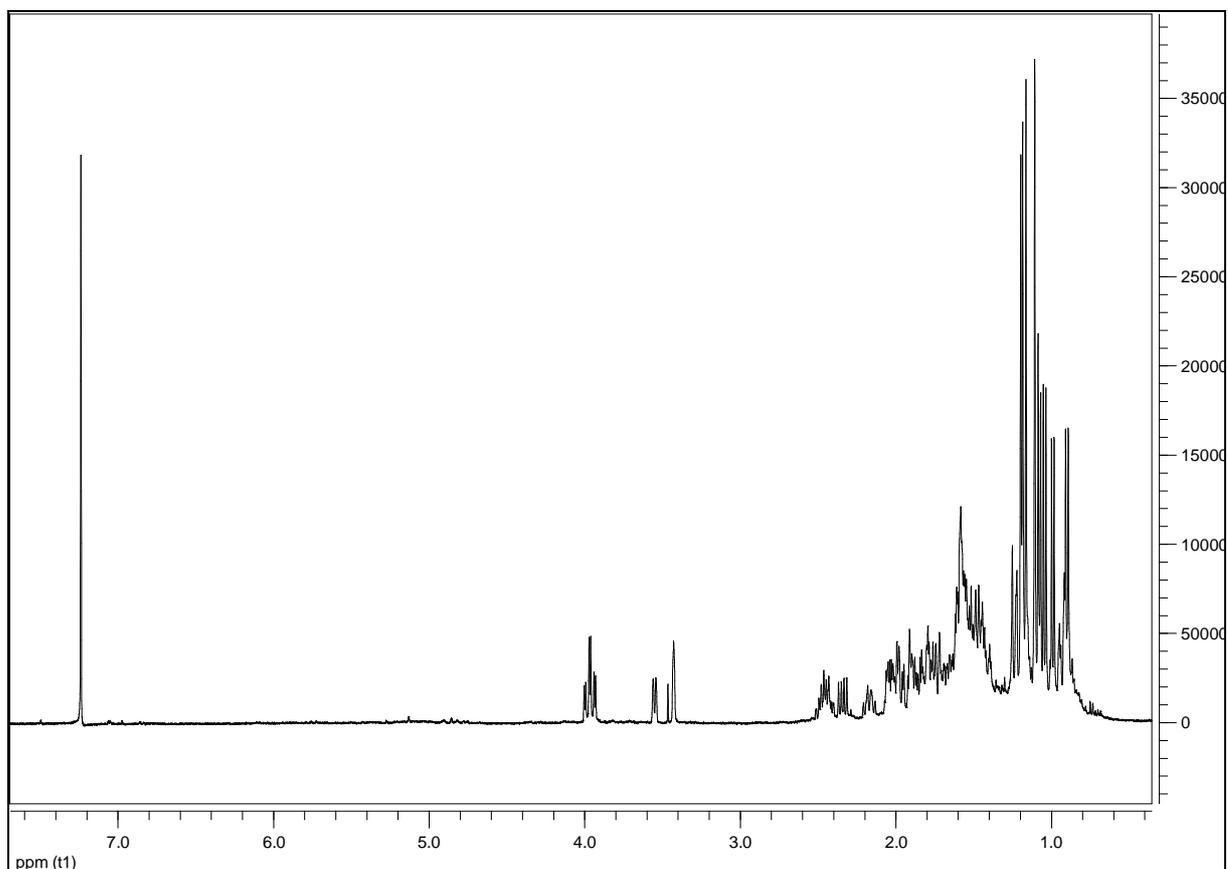
Figura 146 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).

Figura 147 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).

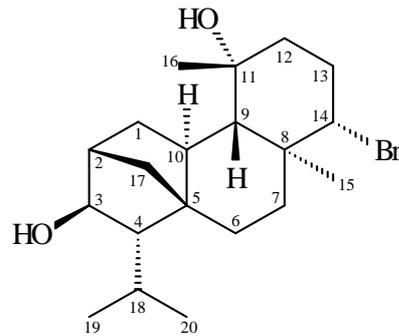
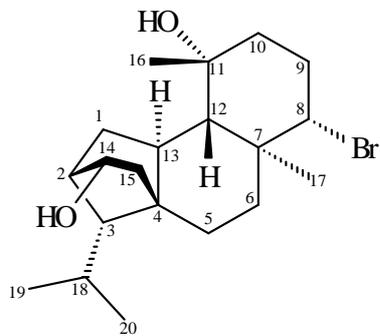
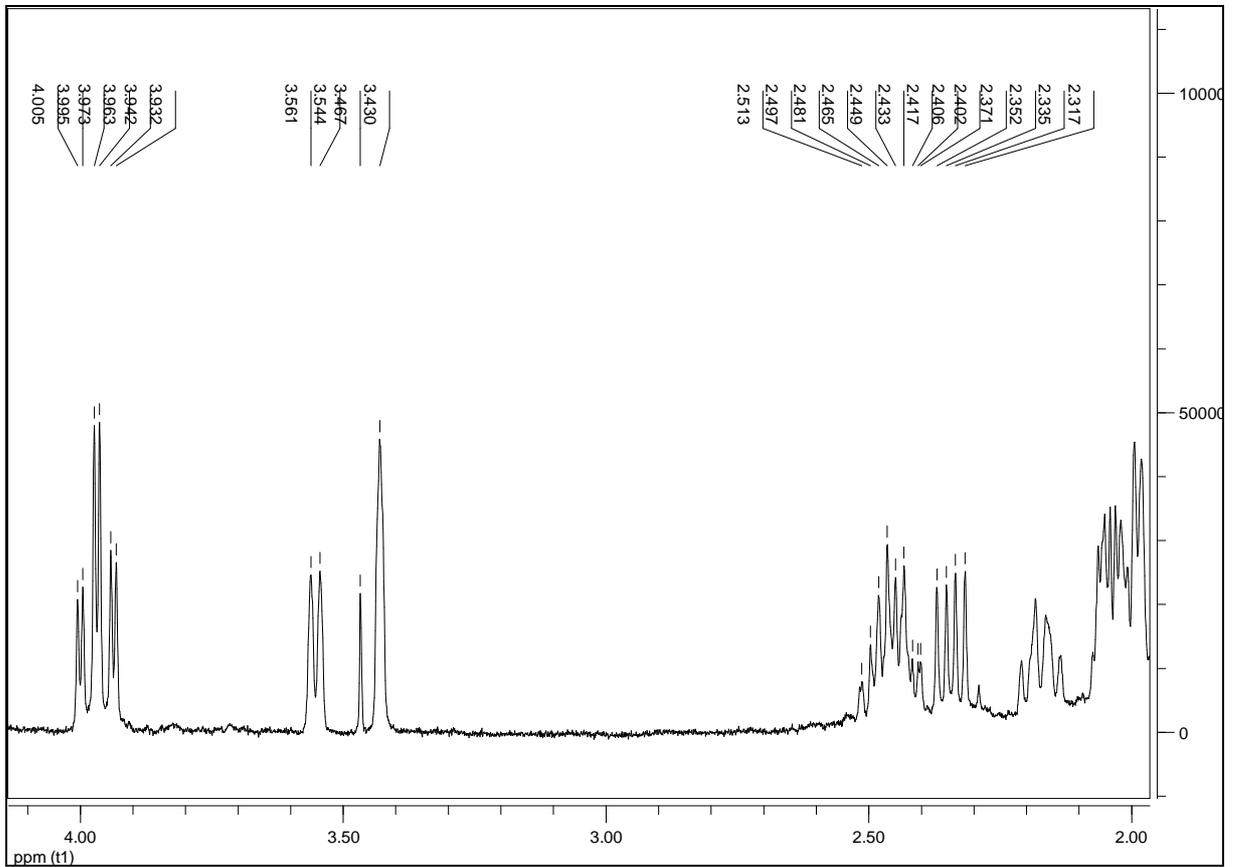


Figura 148 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).

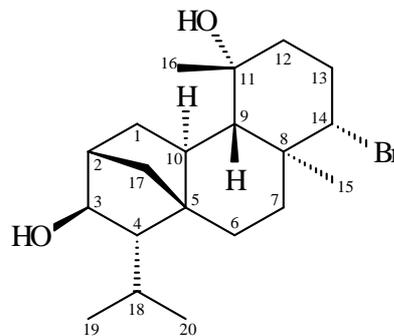
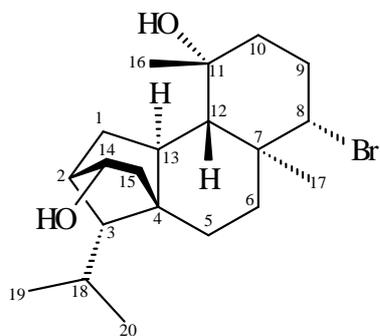
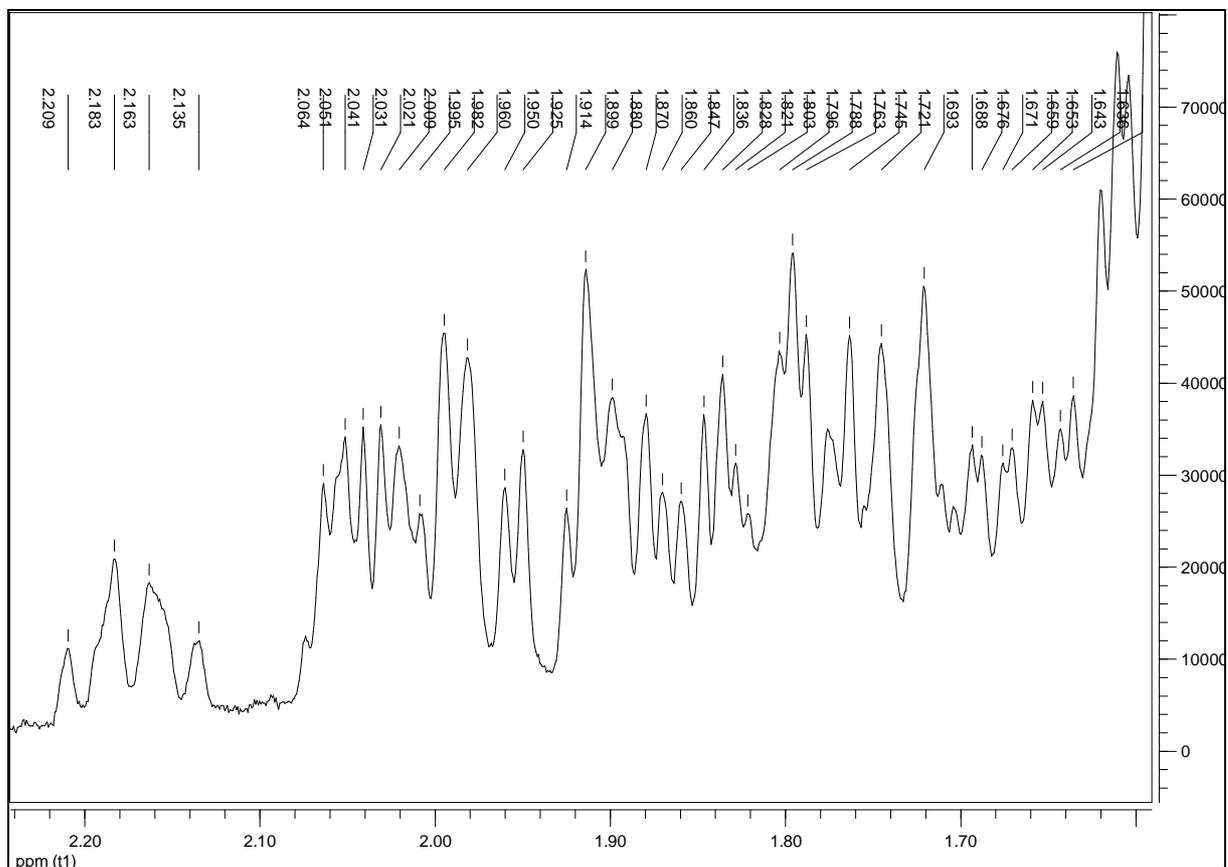


Figura 149 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).

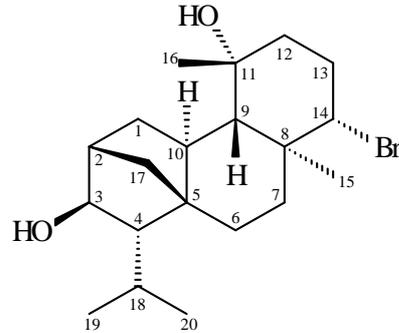
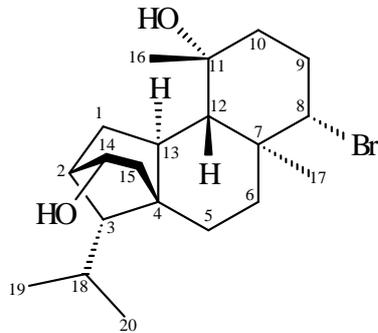
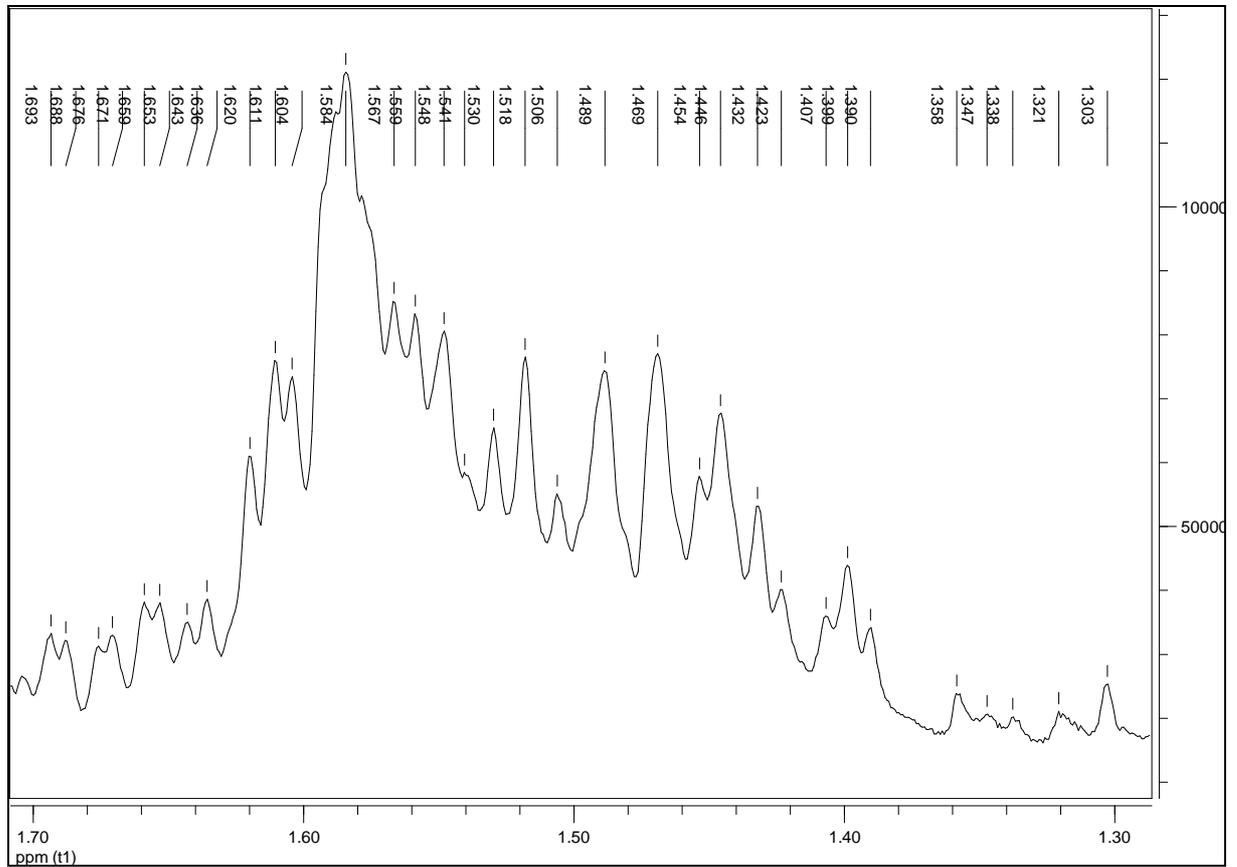
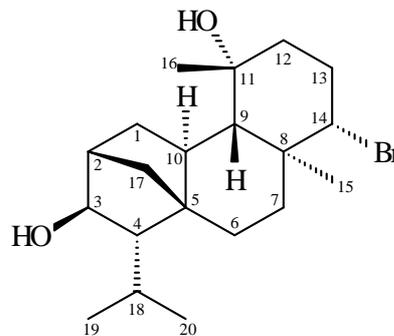
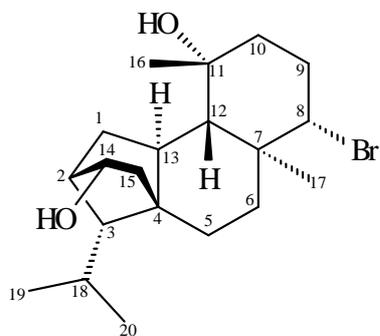
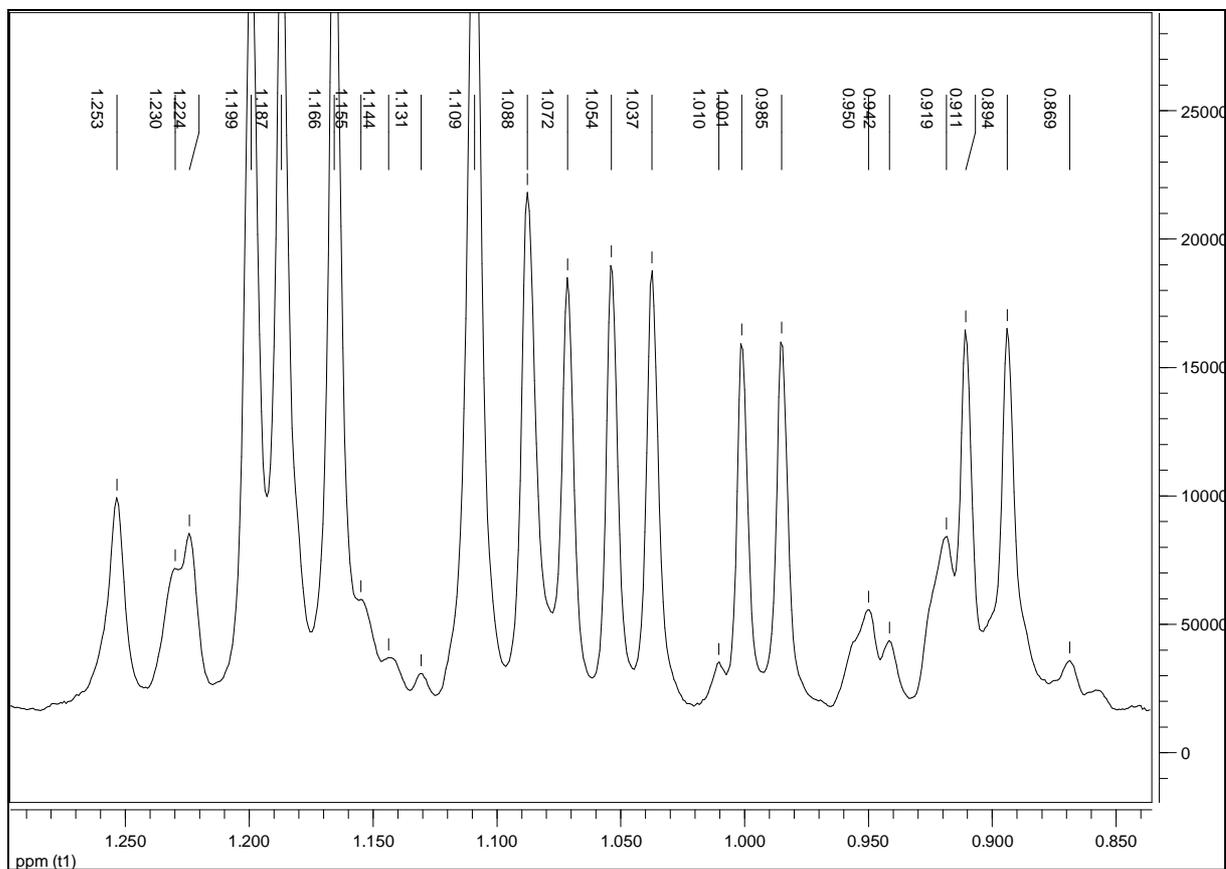


Figura 150 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-11 (Sc-11a e Sc-11b).



4.3.12 Identificação estrutural de Sc-12

Os espectros de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 152-155, p. 229-232) e RMN ^{13}C (Figura 156, p. 233) de **Sc-12** e RMN ^1H e expansões (Figuras 93-97, p. 158-162) e RMN ^{13}C (Figura 98, p. 163) de **Sc-6** mostraram-se muito semelhantes.

Todavia, uma análise comparativa entre os dados de **Sc-12** com **Sc-6** (Tabela 20, p. 227) mostrou uma diferença significativa na posição 14, onde o carbono metínico de **Sc-6** exibe uma ressonância em δ 25,87 referente a um carbono cujo substituinte é o iodo, enquanto em **Sc-12** nesta mesma posição o carbono apresenta uma hidroxila como substituinte e absorve em δ 75,90. O espectro RMN ^{13}C DEPT (Figura 157, p. 234) fortalece esse dado ao mostrar sinal para carbono metínico oxigenado em δ 75,91.

O espectro de massas (Figura 158, p. 235) evidenciou a existência de grupo hidroxila ao exibir um fragmento em 366 u.m.a. resultante da perda de 18 u.m.a. (H_2O) a partir de M^{++} 384 u.m.a., condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{BrO}_2$.

A compilação dos dados obtidos com informações fornecidas pelos espectros bidimensionais HMQC e COSY (Figuras 159 e 160, p. 236 e 237, respectivamente) e sua comparação com modelos da literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c; CAFIERI et al., 1985) permitiram identificar a substância **Sc-12** como sendo o diterpeno Coronopifoliol (Figura 151), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

Figura 151 – Estrutura química de Sc-12.

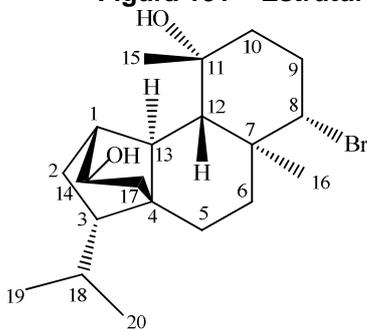
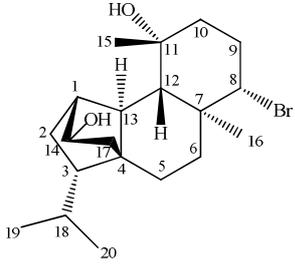
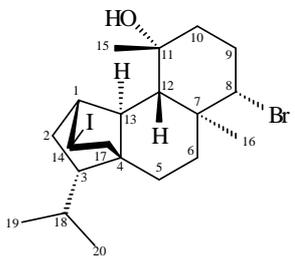


Tabela 20 - Comparação dos dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12 e Sc-6.

							
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No.	^1H (δ)	mult (J)	^{13}C (δ)
1	2,60	dl 4,2	48,25	1	2,88	sl	49,38
2	a 1,37	m	29,45	2	1,34	m	35,57
	b 1,17	dd 12,4; 8,7					
3	1,08	dt 8,7; 6,2	49,26	3	1,17	m	48,79
4	–	–	49,60	4	-		51,94
5	a 1,76	dt 4,2; 12,9	23,10	5	α 1,73	m	22,78
	b 1,36	m			β 1,31	ddd 14,2; 3,8; 3,8	
6	a 1,88	m	37,57	6	α 1,86	ddd 12,9; 4,0; 2,2	37,81
	b 1,40	m			β 1,38	ddd 12,9; 12,9; 3,8	
7	–	–	41,35	7	-		41,45
8	4,06	dd 12,9; 3,7	69,28	8	4,09	dd 12,6; 4,0	68,49
9	a 2,45	ddd 13,2; 12,8; 5,2	30,88	9	α 2,48	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,6	30,98
	b 2,02	ddd 13,4; 7,2; 4,0			β 2,08	dddd 13,4; 4,6; 4,0; 3,0	
10	a 1,60	m	43,62	10	β 1,68	ddd 14,5; 13,4; 4,6	43,61
	b 1,60	m			α 1,59	ddd 14,5; 4,6; 3,0	
11	–	–	73,37	11	-		73,63
12	1,83	d 11,6	48,59	12	1,97	d 12,1	47,60
13	1,64	d 11,6	43,69	13	1,81	dl 12,1	44,79
14	3,88	dd 7,5; 2,9	75,90	14	3,98	dd 8,6; 5,6	25,87
15	a 1,86	m	46,20	15	1,56	s	32,92
	b 1,38	m					

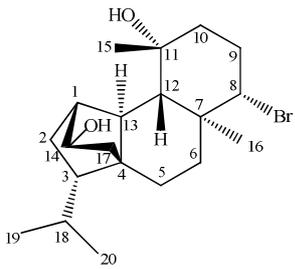
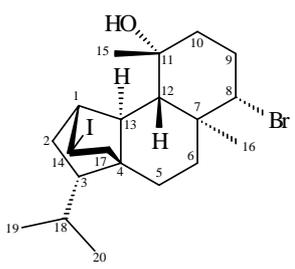
 Sc-12				 Sc-6			
No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)	No.	¹ H (δ)	mult (J)	¹³ C (δ)
16	1,35	s	33,63	16	1,16	s	16,51
17	1,15	s	15,47	17	2,60a 1,75b	dd 14,2; 5,6 dd 14,2; 8,6	50,11
18	1,72	dhept 6,2; 6,6	28,21	18	1,72	m	28,31
19 ^b	0,85	d 6,6	23,55	19	0,85	d 6,7	23,31
20 ^b	0,85	d 6,6	18,84	20	0,84	d 6,7	18,78

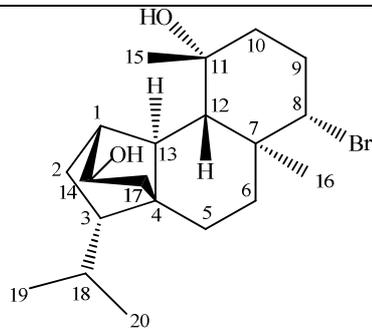
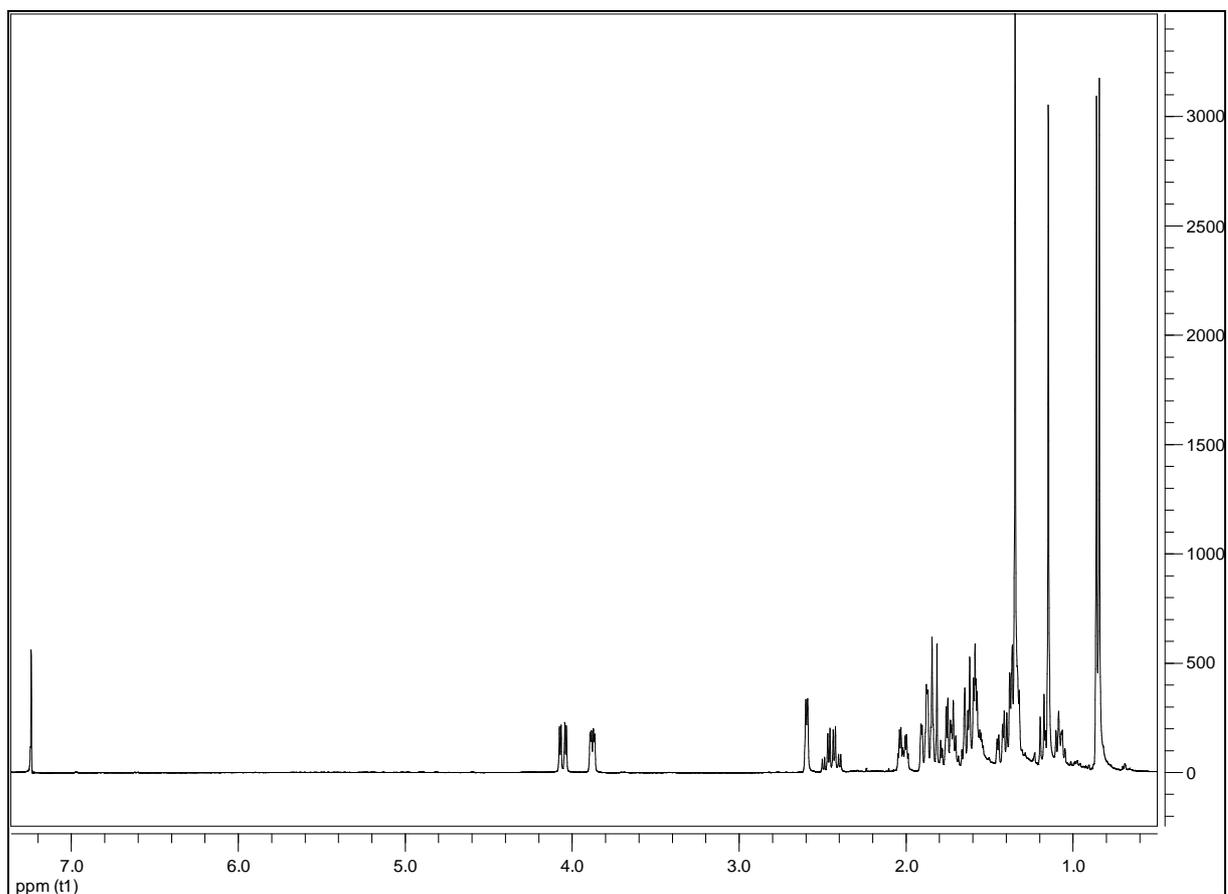
Figura 152 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

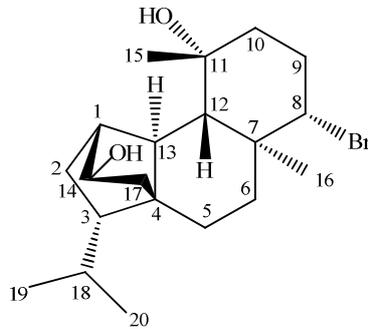
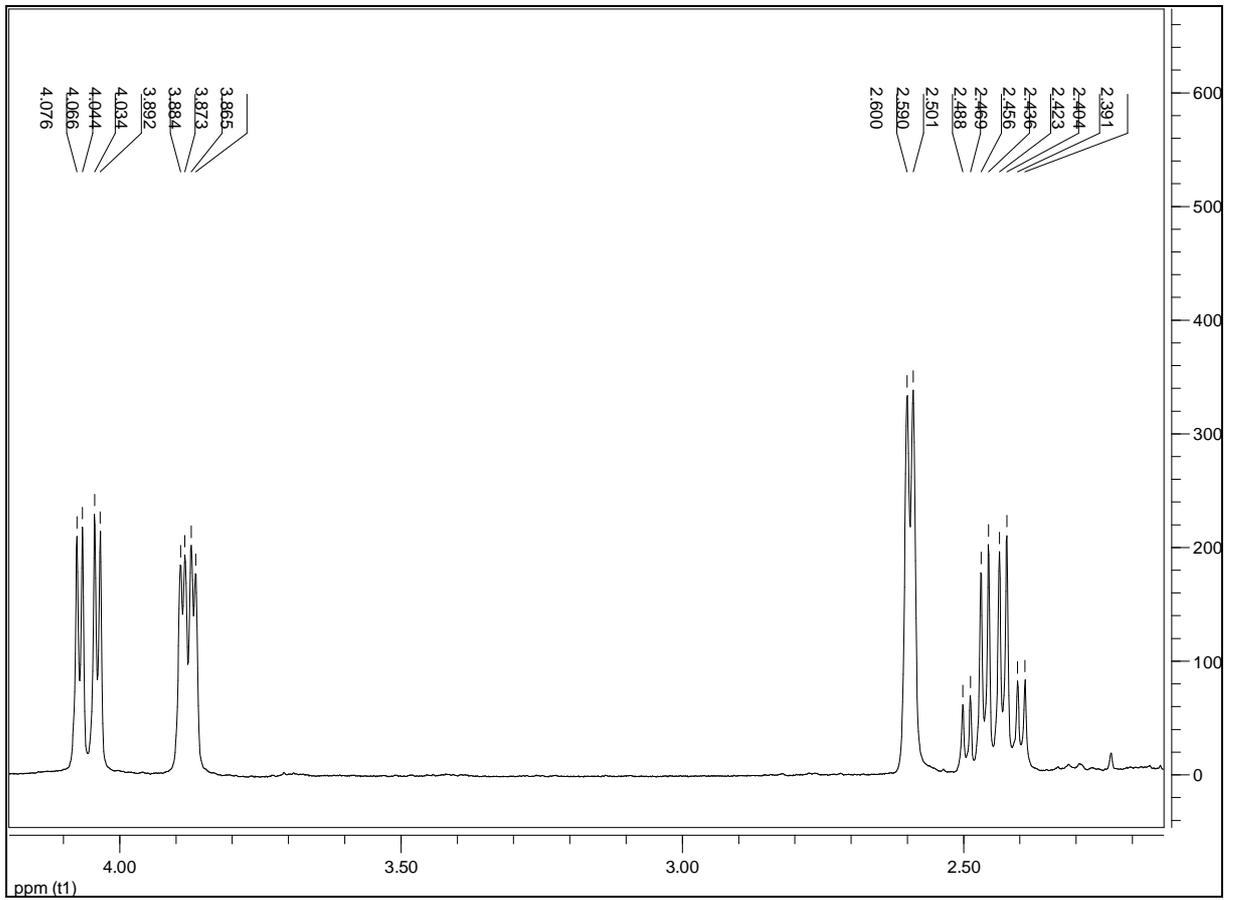
Figura 153 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

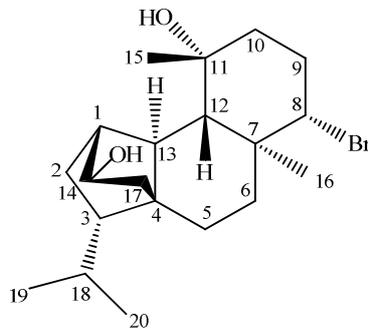
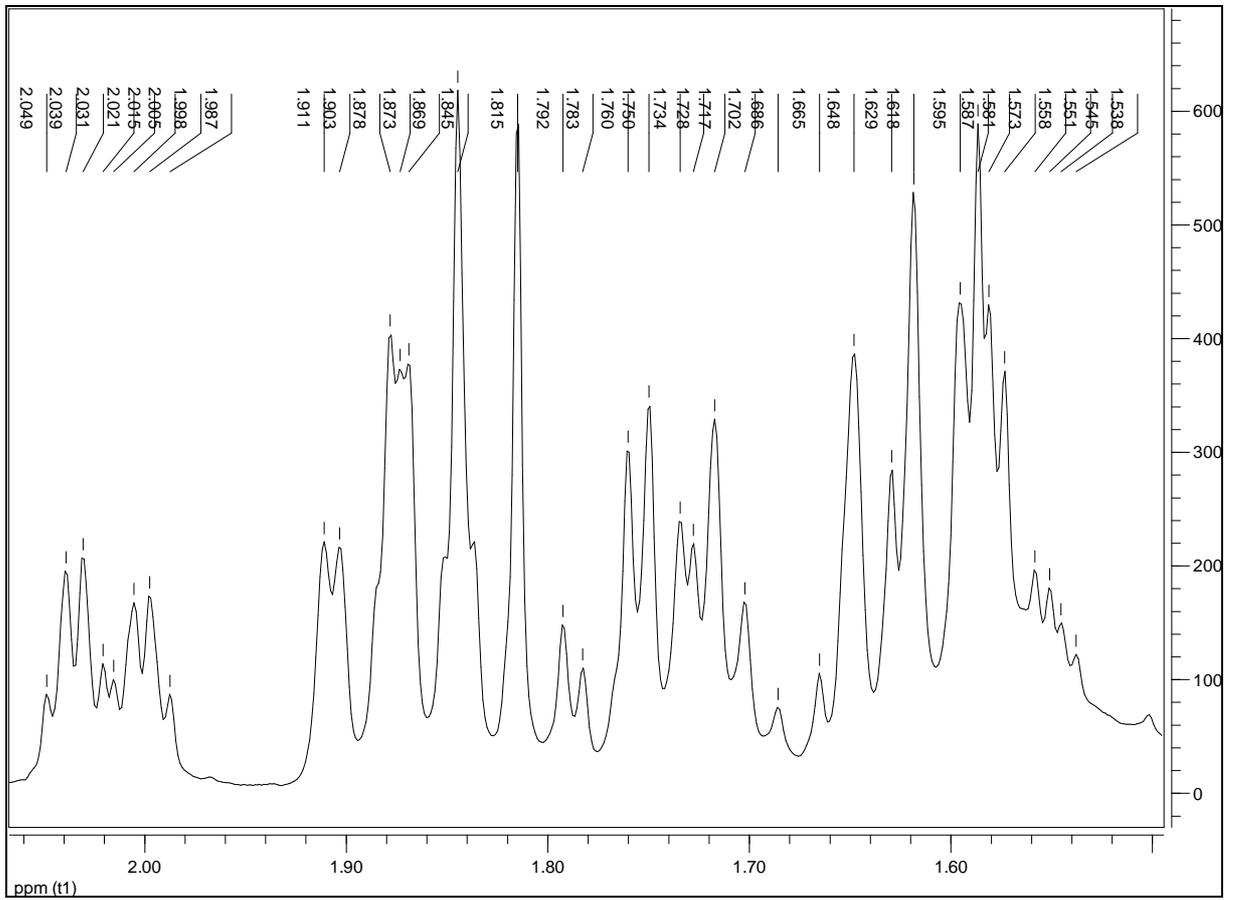
Figura 154 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

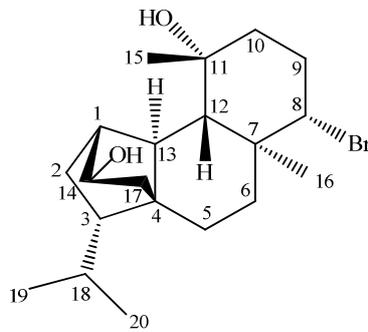
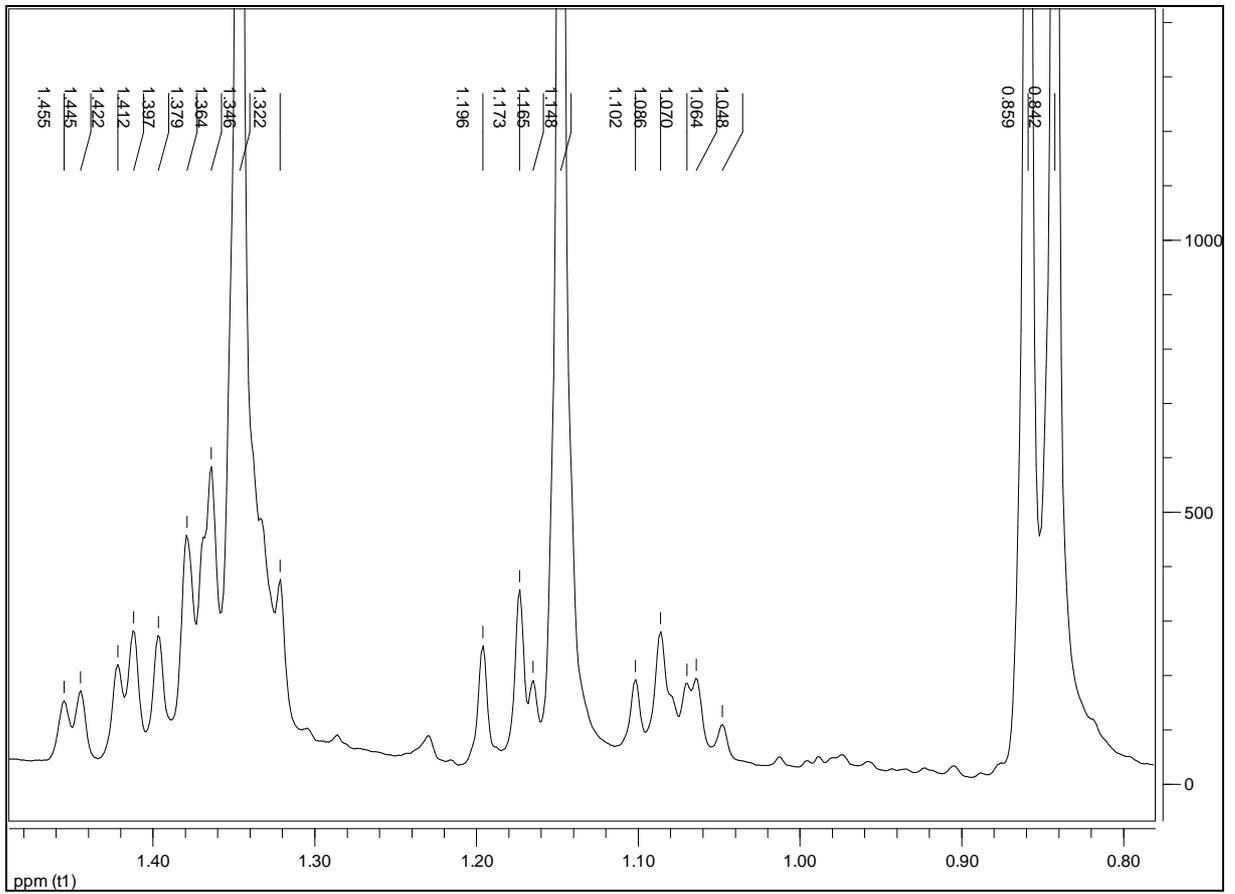
Figura 155 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

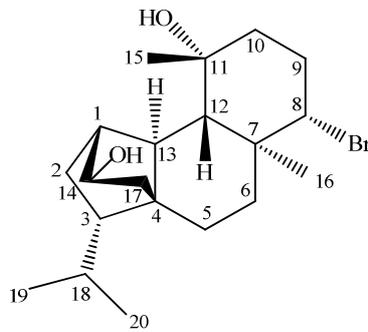
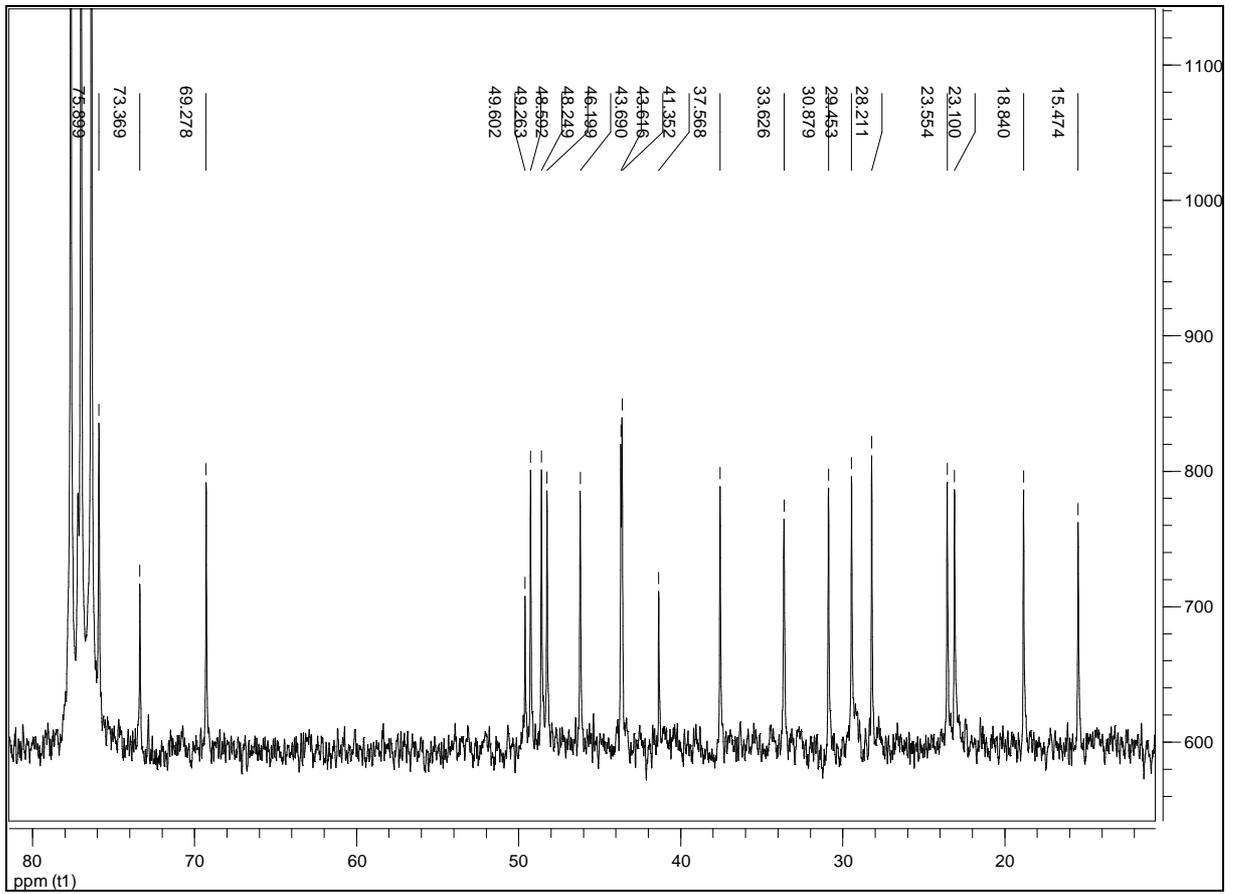
Figura 156 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12.

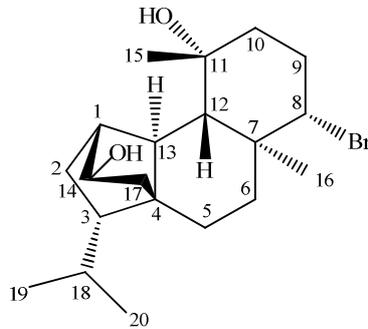
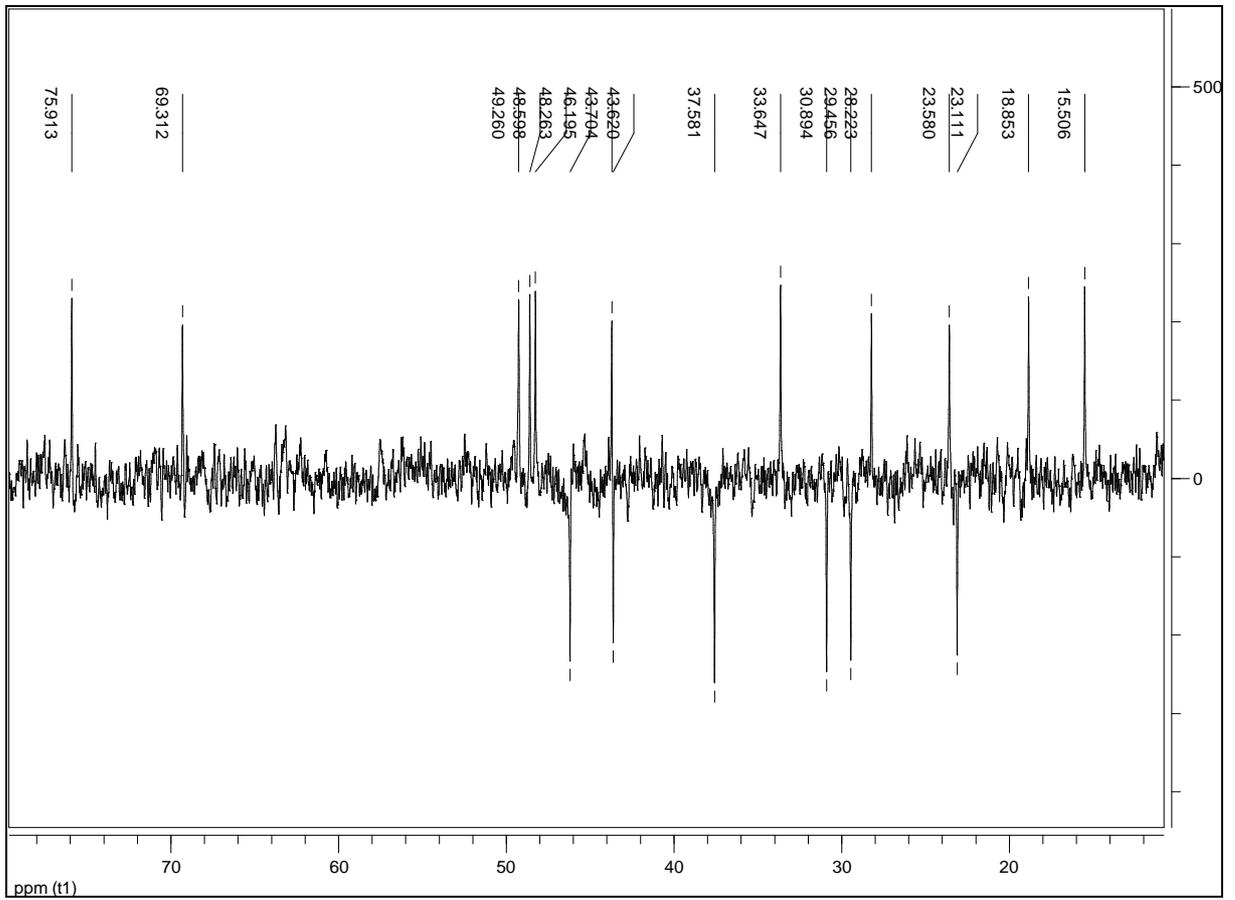
Figura 157 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-12.

Figura 158 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-12.

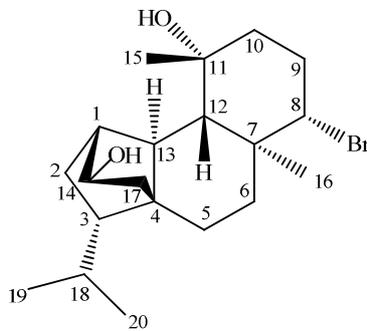
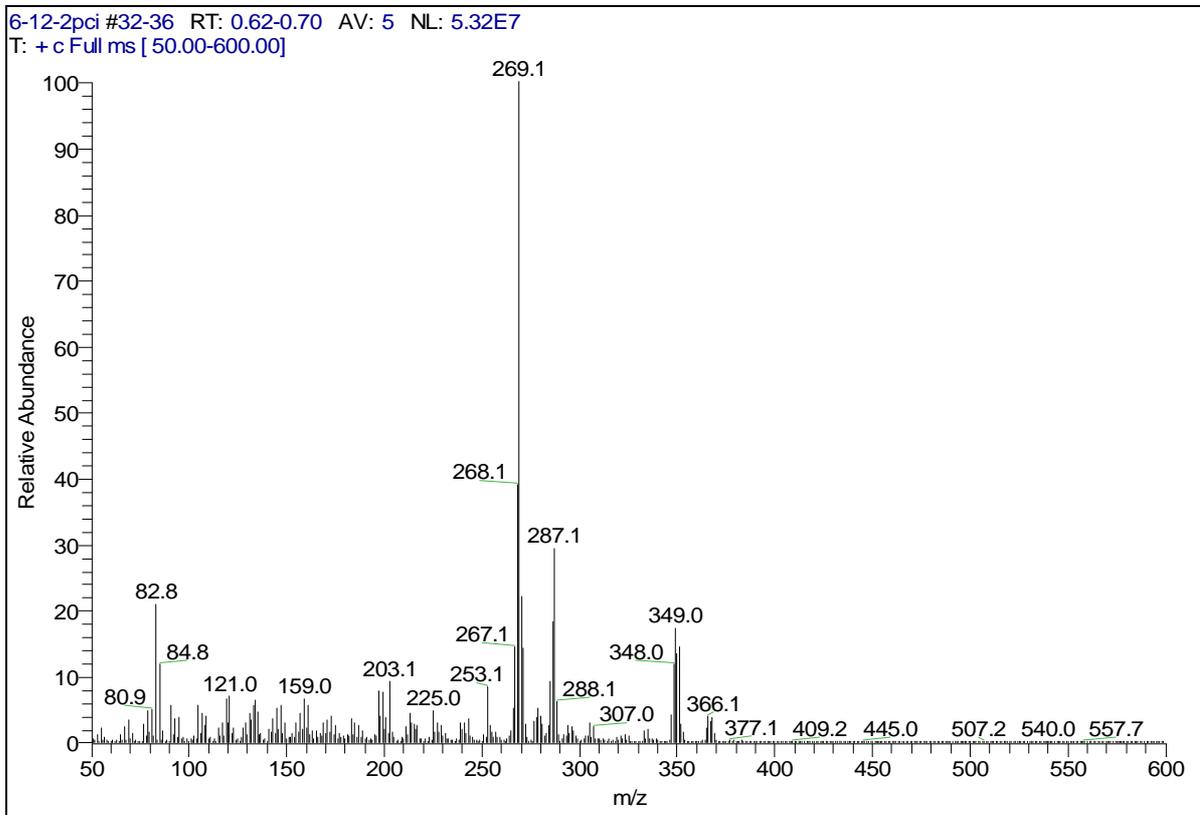


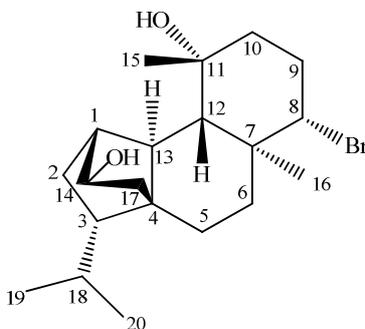
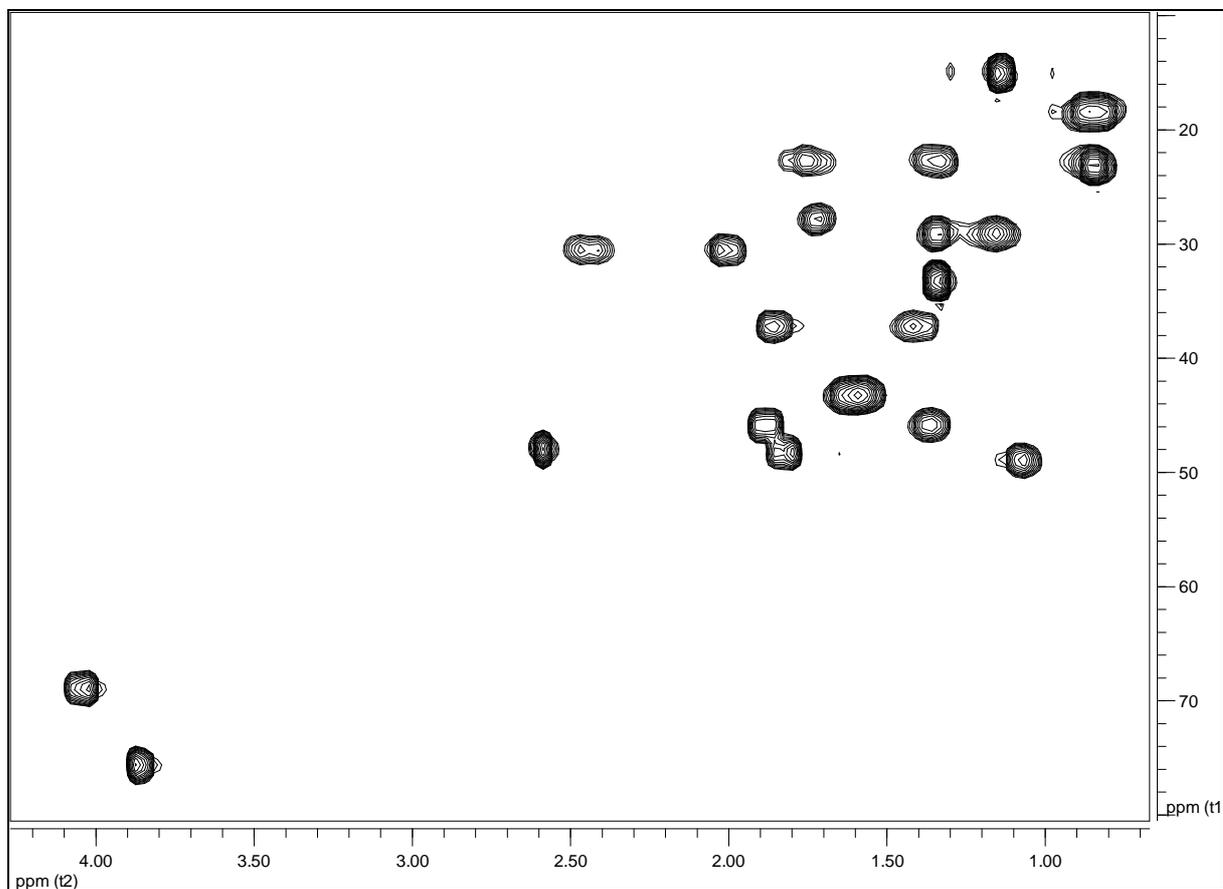
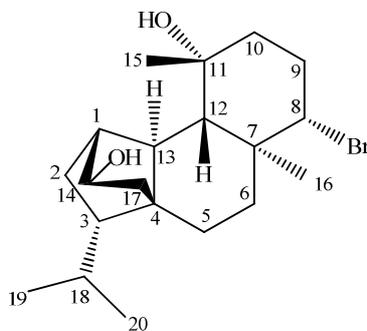
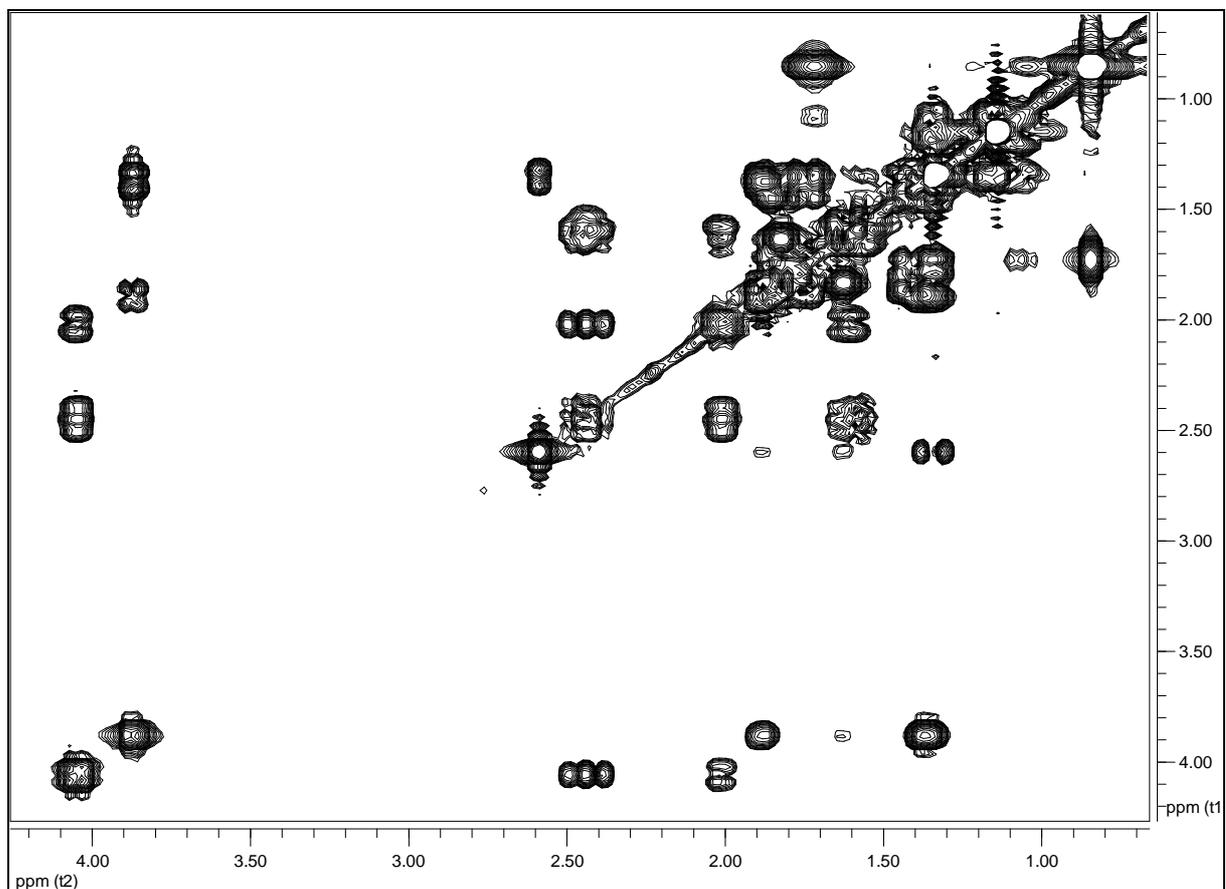
Figura 159 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

Figura 160 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-12.

4.3.13 Identificação estrutural de Sc-13

A substância codificada como **Sc-13** apresentou-se como um sólido amorfo.

O espectro de massas (Figura 169, p. 249) evidenciou a existência de grupo hidroxila ao exibir um fragmento em 366 u.m.a. resultante da perda de 18 u.m.a. (H₂O) a partir de M⁺ 384 u.m.a. condizente com a fórmula molecular C₂₀H₃₃BrO₂.

A análise comparativa dos dados espectrais de RMN ¹H e suas expansões (Figuras 162-166, p. 242-246) e de ¹³C (Figura 167, p. 247) de **Sc-13** com os de **Sc-10** (Tabela 21, p. 239) permitiu inferir a presença de um anel ciclobutano na molécula, tendo em vista que o carbono metilênico da posição 17 de **Sc-10** possui um átomo de bromo como substituinte exibindo uma absorção em δ 39,88. O carbono metilênico 17 de **Sc-13**, por sua vez, absorve em δ 34,49. Outro dado importante que fortalece a presença do ciclobutano é o carbono metínico da posição 1, o qual em **Sc-10** apresenta uma hidroxila como substituinte e ressona em δ 66,25 e em **Sc-13** verifica-se um sinal em δ 45,38. O espectro de RMN de ¹³C DEPT (Figura 168, p. 248) ratifica esta proposta tendo em vista que mostra absorções para carbonos hidrogenados.

O perfil espectral proposto foi corroborado pelas observações realizadas nos espectros bidimensionais de **Sc-13** (Figuras 170 a 175, p. 250 a 255).

Os dados obtidos (Tabela 22, p. 241) foram comparados com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c) e permitiram identificar a substância **Sc-13** como sendo o diterpeno Ioniol-I (Figura 161), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

Figura 161 –Estrutura química de Sc-13.

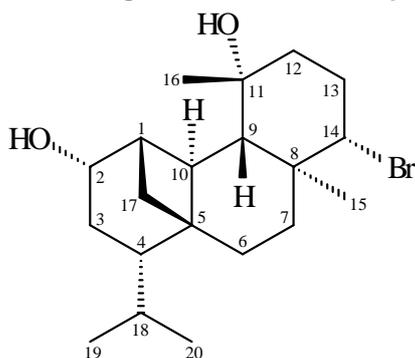
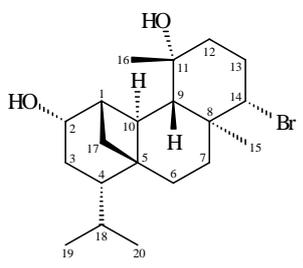
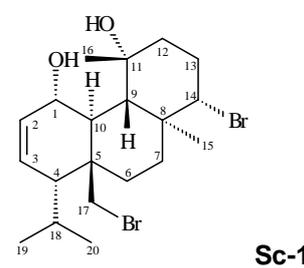


Tabela 21 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , 400 MHz) e ^{13}C (δ , 100 MHz) de Sc-13 e Sc-10.

 Sc-13				 Sc-10			
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	2,12	m	45,38	1	4,29	dl 8,0	66,25
2	4,14	dt 7,5; 1,6	72,84	2	5,73	dd 10,2; 2,88	128,68
3	a 2,14	m	27,65	3	5,80	dd 10,2; 5,4	128,17
	b 1,56	m		4	2,39	dd 5,36; 3,8	45,83
4	1,59	m	48,44	5	–	–	42,29
5	–	–	43,33	6	a 1,77	m	25,94
6	a 1,62	m	23,97		b 1,59	ddd 14,08; 3,72; 3,72	
	b 0,92	m		7	a 1,89	ddd 13,68; 3,72; 3,72	36,20
7	a 1,91	ddd 13,3; 4,6; 2,5	36,91		b 1,13	ddd 13,68; 13,68; 3,72	
	b 1,32	dt 13,2; 4,0		8	–	–	41,35
8	–	–	39,13	9	1,56	d 10,76	52,62
9	1,49	d 9,9	51,80	10	2,48	dd 10,76; 8,32	43,98
10	2,11	m	31,49	11	–	–	72,02
11	–	–	72,89	12	a 1,80	ddd 14,92; 3,32; 3,32	45,21
12	a 1,65	m	42,54		b 1,63	ddd 14,92; 13,28; 4,56	
	b 1,55	m		13	a 2,44	dddd 13,28; 13,28; 12,88; 3,32	30,16
13	a 2,48	dq 4,4; 13,6	30,50		b 1,93	dddd 13,28; 4,56; 3,76; 3,32	
	b 2,03	m		14	3,99	dd 12,88; 3,76	69,45
14	4,03	dd 12,4; 4,0	68,67	15	1,30	s	14,13
15	1,06	s	15,86	16	1,41	s	33,02
16	1,13	s	31,06	17	a 3,89	d 10,0	39,88

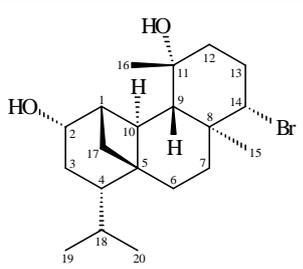
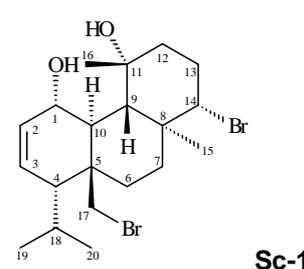
							
Sc-13				Sc-10			
No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)	No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)
17	a 2,42	dd 10,2; 7,6	34,49		b 3,49	dl 10,0	
	b 0,65	dd 10,2; 5,4		18	2,13	dhept 3,32; 6,64	27,18
18	2,04	m	27,47	19	0,95	d 6,8	18,97
19	0,91	d 6,8	15,86	20	1,01	d 6,8	23,83
20	0,88	d 6,8	22,67				

Tabela 22 – Dados espectrais de RMN de ^1H (δ , 400 MHz) e ^{13}C (δ , 100 MHz) uni e bidimensionais de Sc-13.

No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^1H - ^1H NOESY	^{13}C δ (ppm)	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ HMBC
1	2,12	m	16	45,38	5, 9, 17
2	4,14	dt 7,5; 1,6	17b	72,84	3, 10, 17
3	a 2,14	m		27,65	1, 5, 18
	b 1,56	m			
4	1,59	m	17b	48,44	3, 5, 6, 17, 18, 19, 20
5	–	–	–	43,33	
6	a 1,62	m		23,97	5, 17
	b 0,92	m			
7	a 1,91	ddd 13,3; 4,6; 2,5	15	36,91	5, 6, 8, 9, 14, 15
	b 1,32	dt 13,2; 4,0	9, 14, 17a		
8	–	–	–	39,13	
9	1,49	d 9,9	7b, 14, 16, 17a	51,80	1, 8, 7, 10, 11, 12, 15, 16
10	2,11	m	15	31,49	2, 4, 9, 17
11	–	–	–	72,89	
12	a 1,65	m	16	42,54	11, 13, 16
	b 1,55	m	16		
13	a 2,48	dq 4,4; 13,6	15	30,50	11
	b 2,03	m	14		
14	4,03	dd 12,4; 4,0	7b, 9, 13b	68,67	8, 9, 12, 13, 15
15	1,06	s	7a, 10, 13a	15,86	7, 8, 9, 14
16	1,13	s	1, 9, 12a	31,06	11
17	a 2,42	dd 10,2; 7,6	7b, 9	34,49	1, 2, 4, 5, 6, 10
	b 0,65	dd 10,2; 5,4	2, 4		
18	2,04	m		27,47	3, 19, 20
19 ^b	0,91	d 6,8		15,86	20
20 ^b	0,88	d 6,8		22,67	19

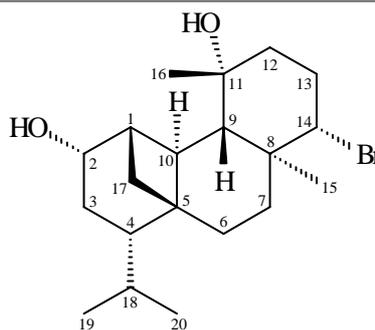


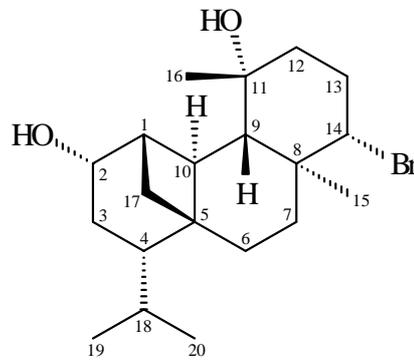
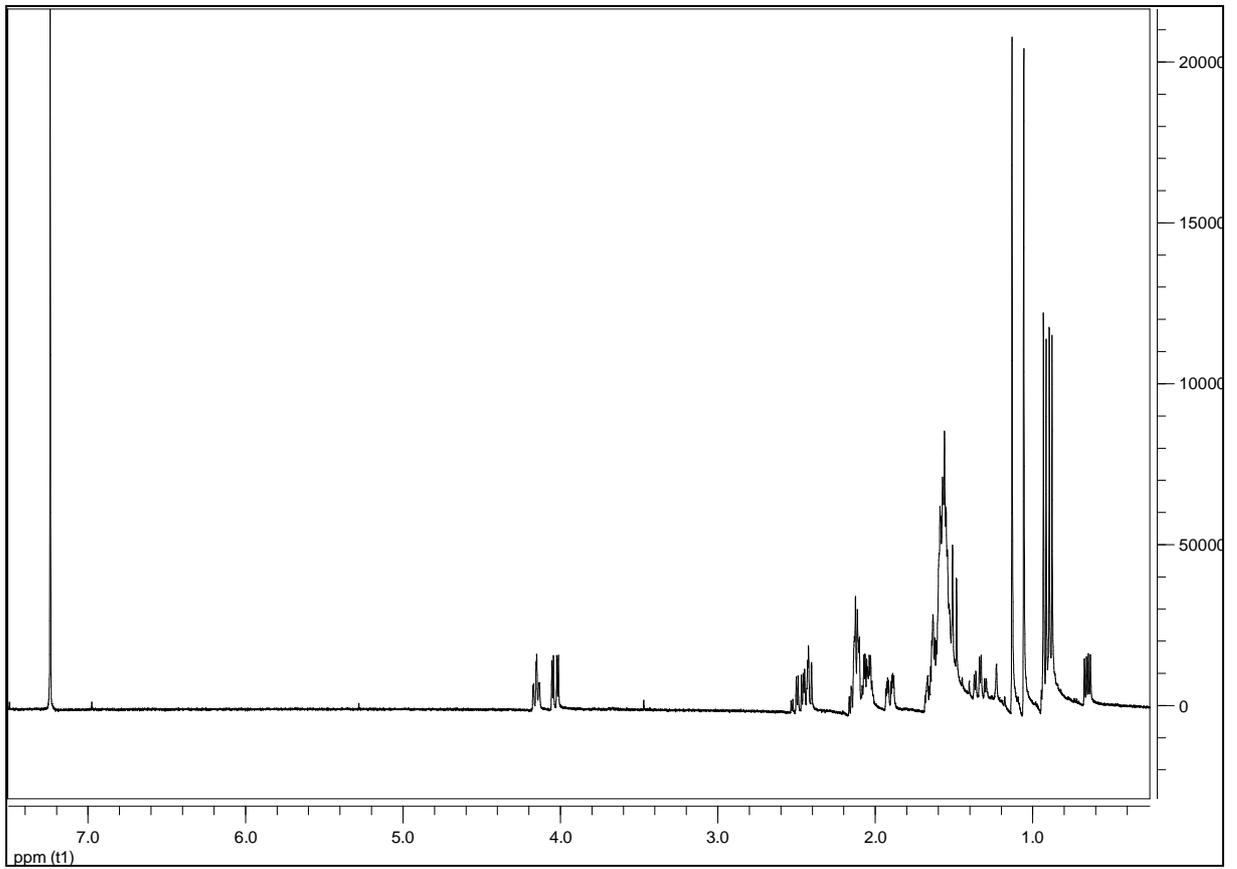
Figura 162 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

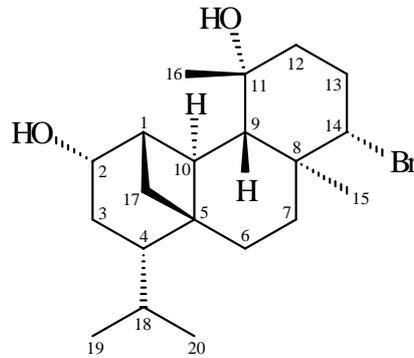
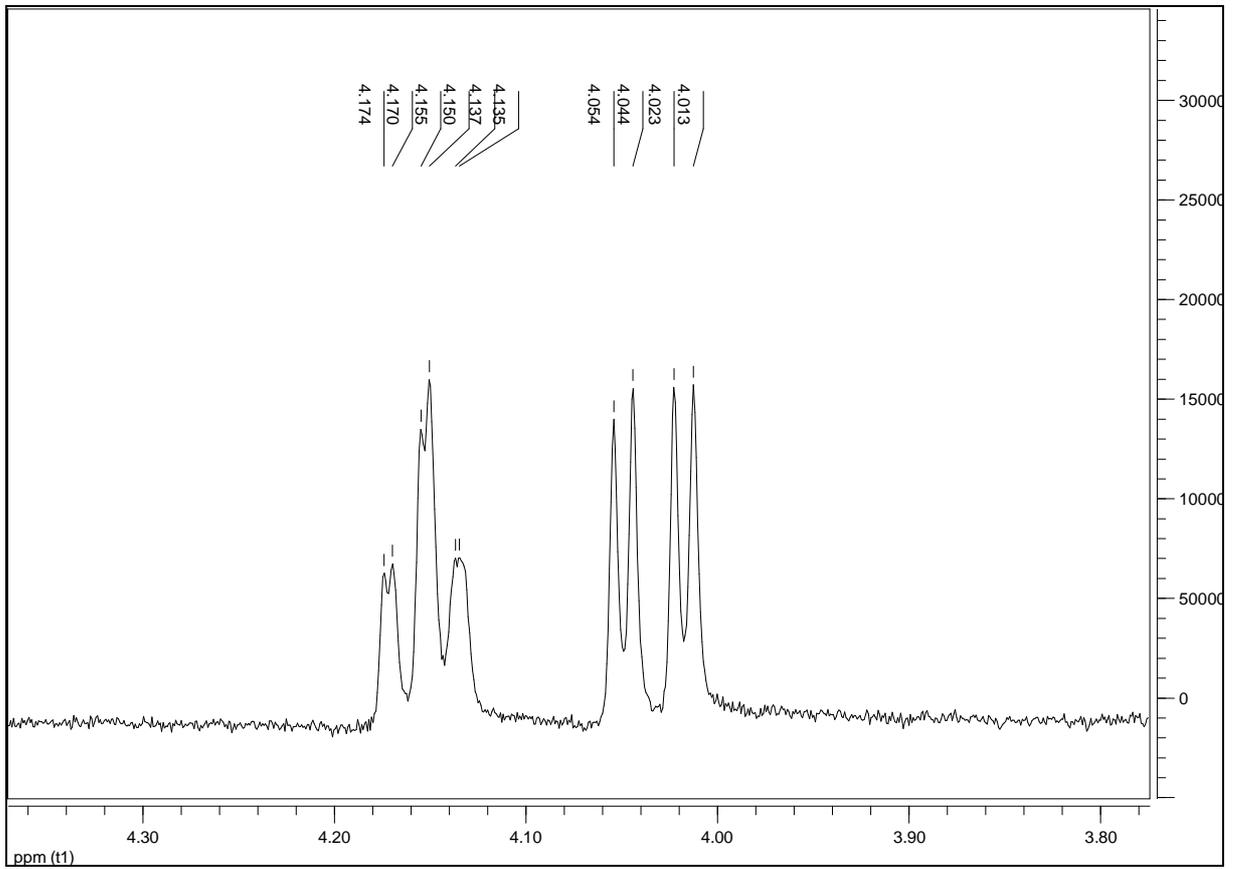
Figura 163 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

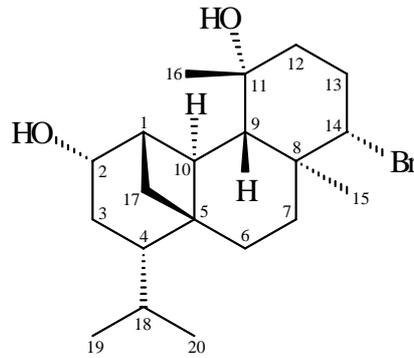
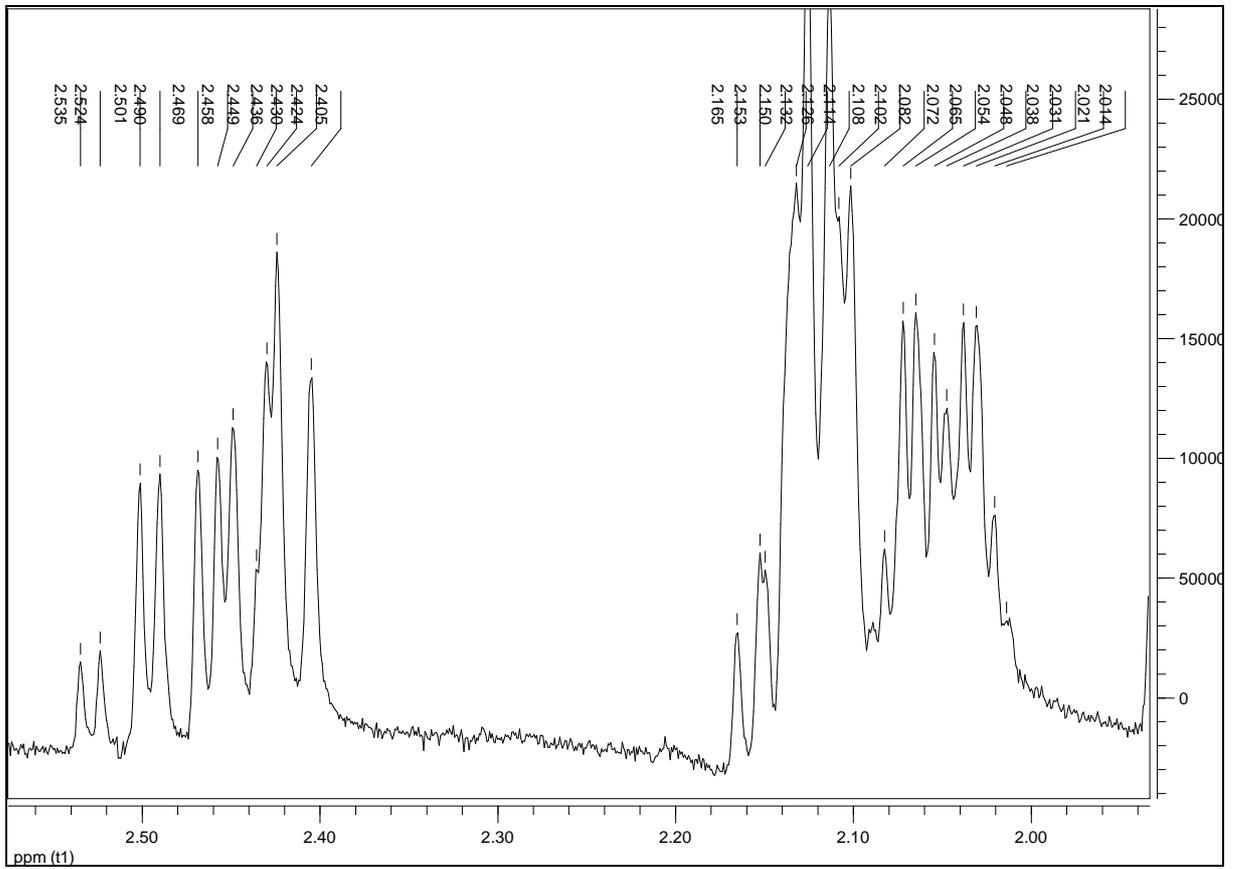
Figura 164 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

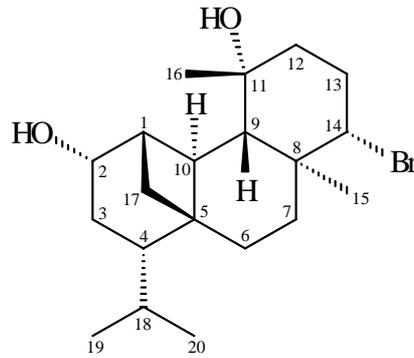
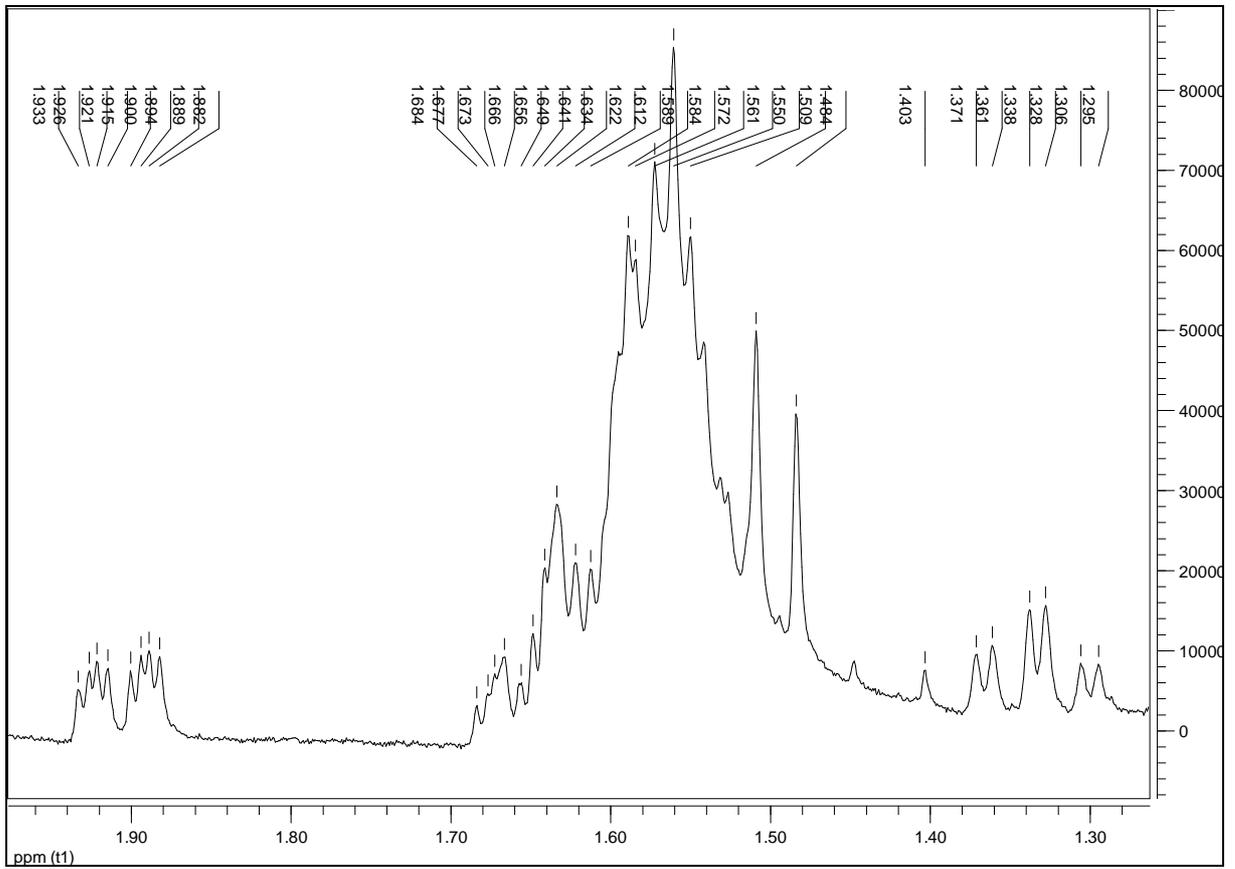
Figura 165 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

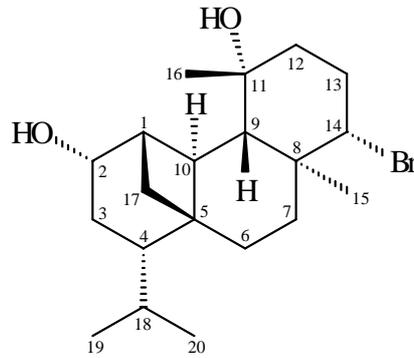
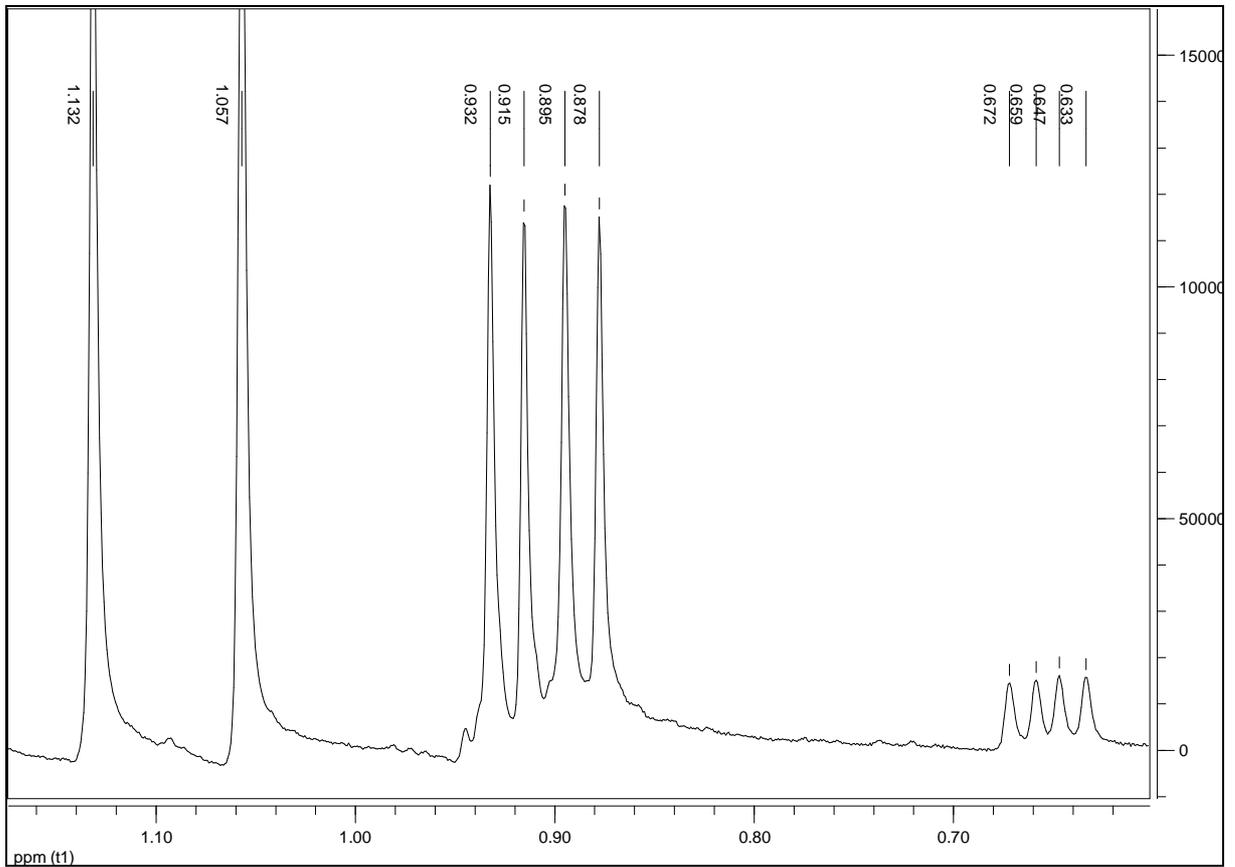
Figura 166 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

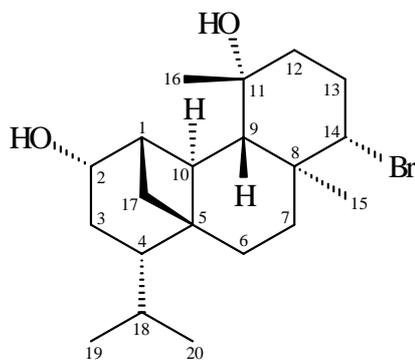
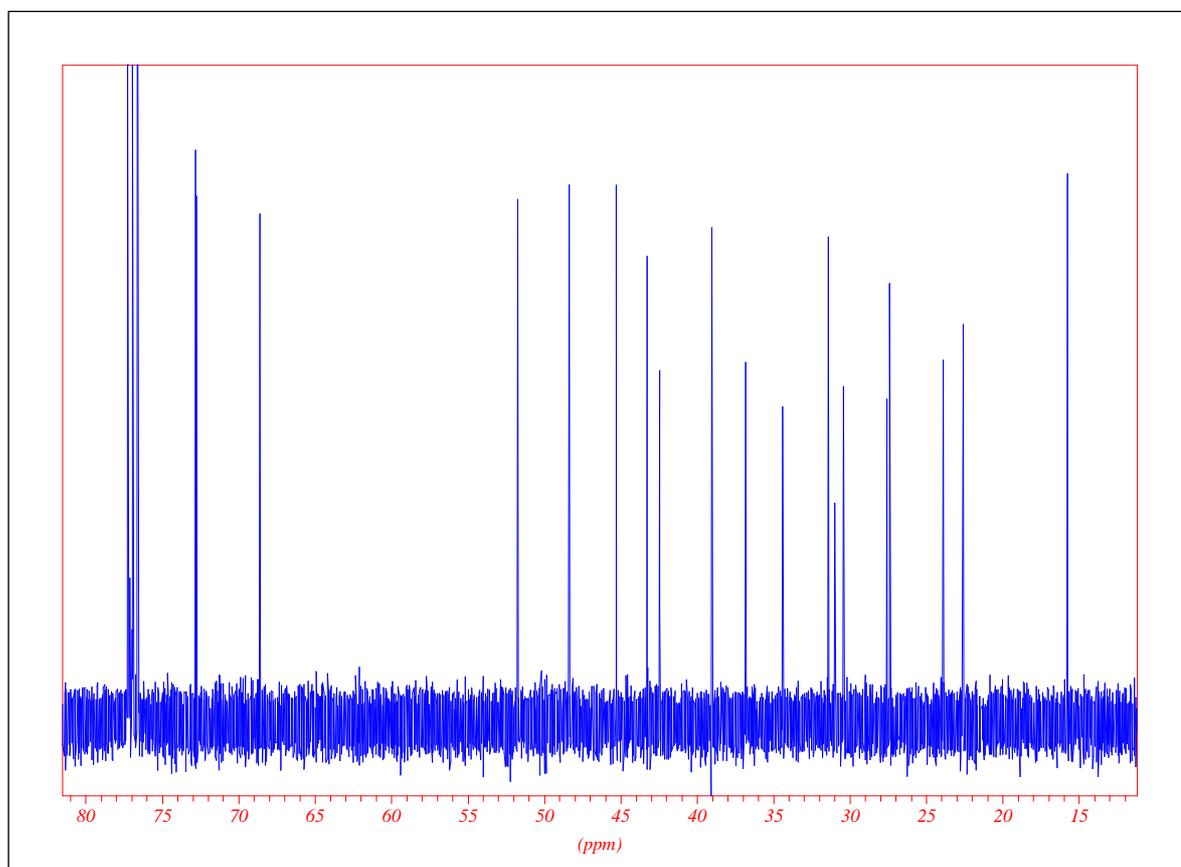
Figura 167 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.

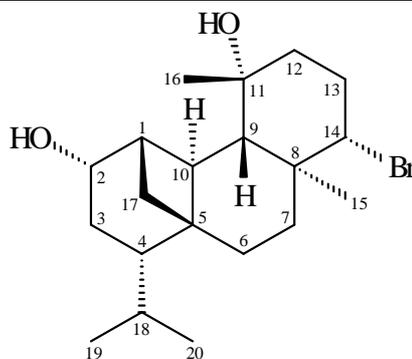
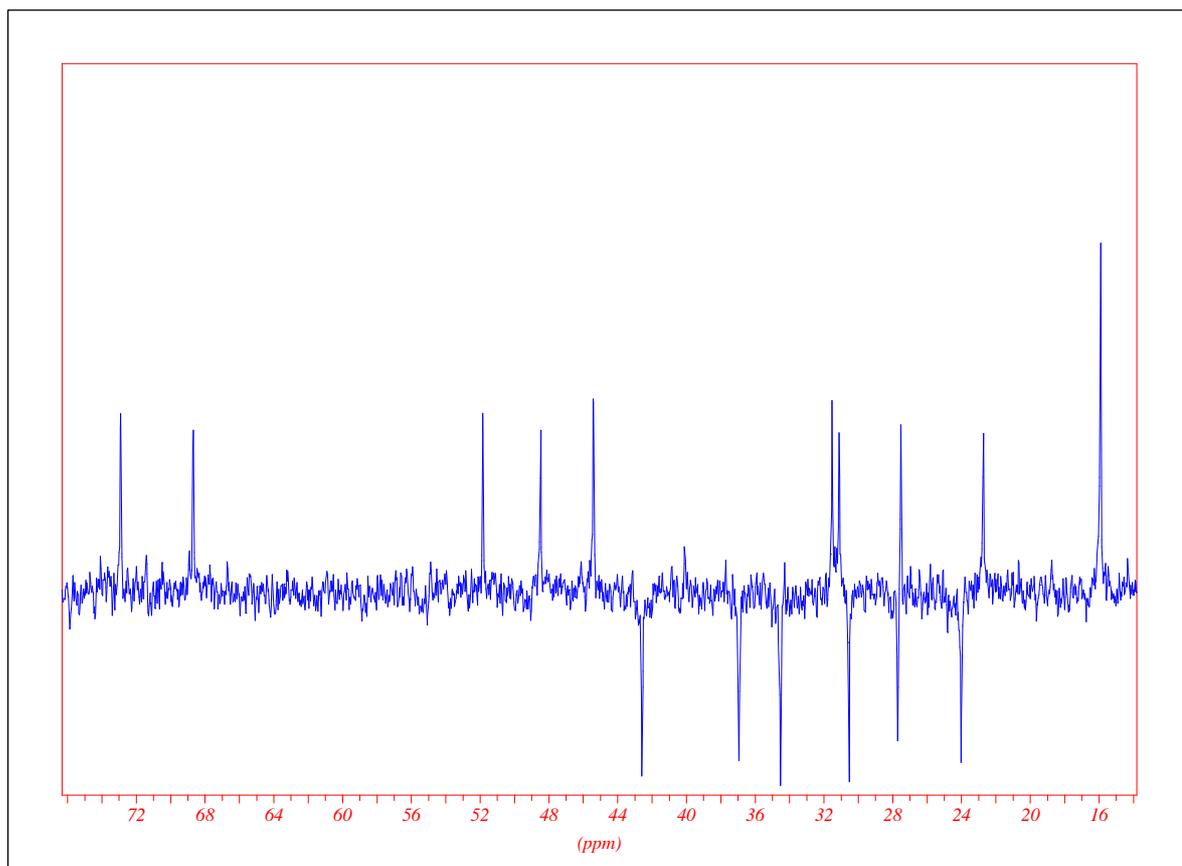
Figura 168 - Espectro de ^{13}C -DEPT 135 (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.

Figura 169 – Espectros de massas (CI(+)-MS) de Sc-13.

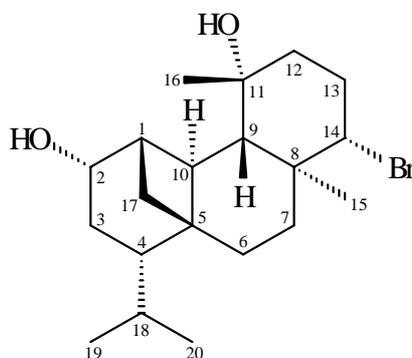
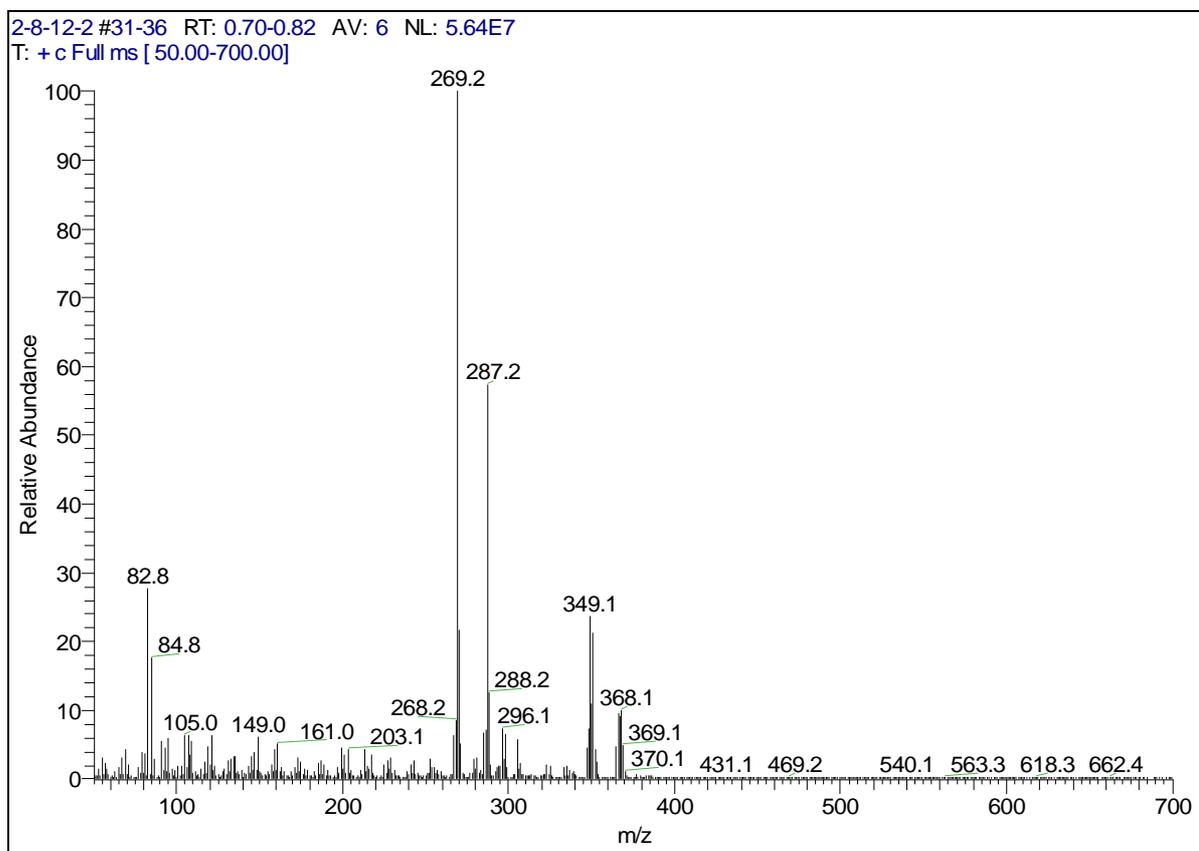


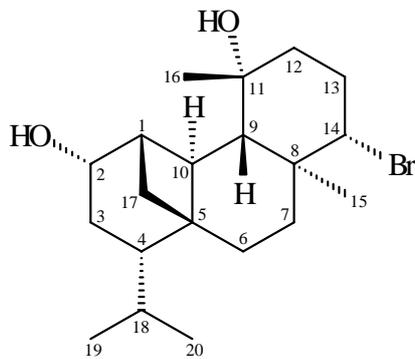
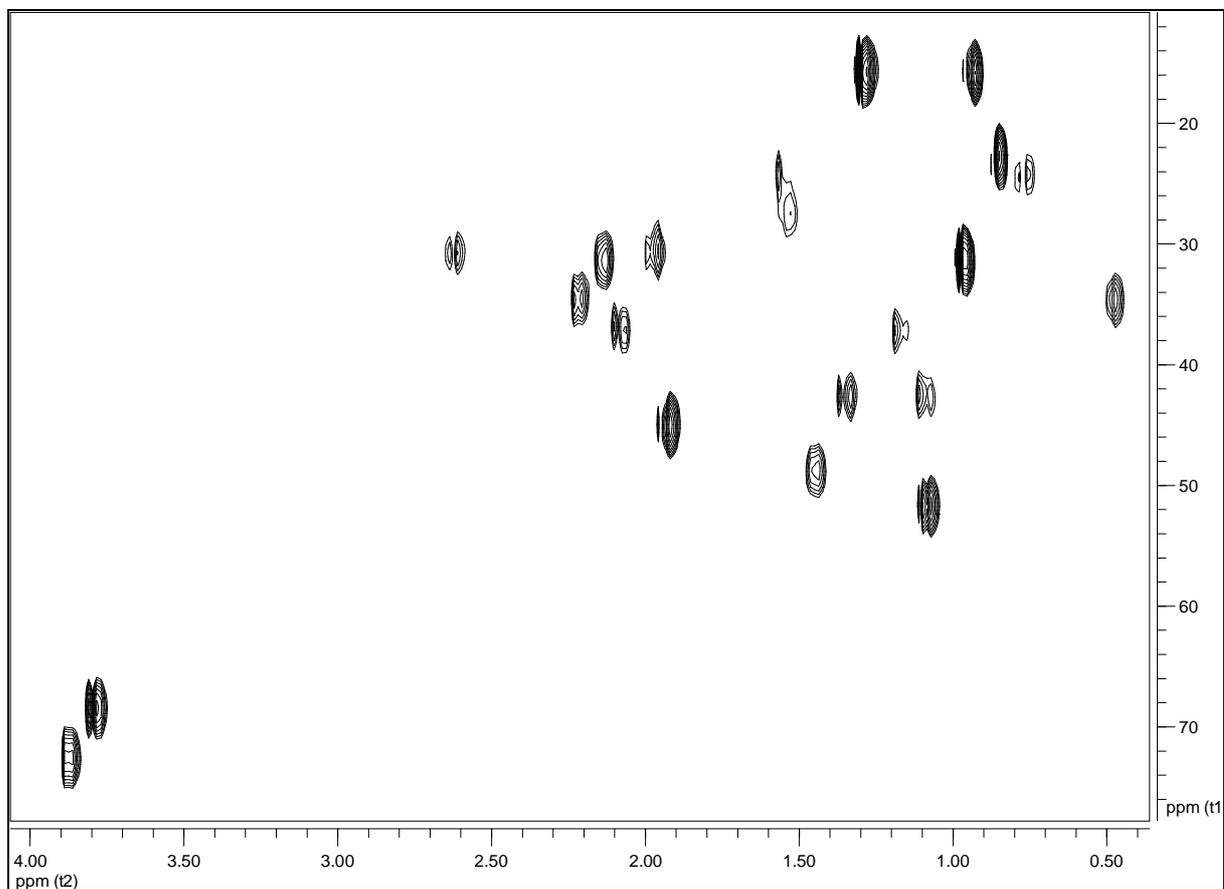
Figura 170 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC-DEPT (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.

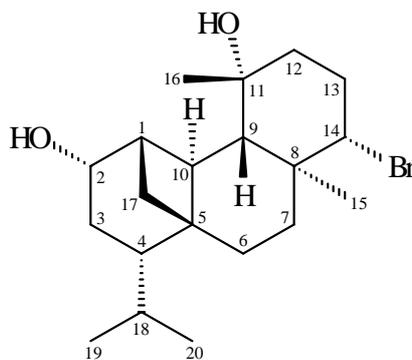
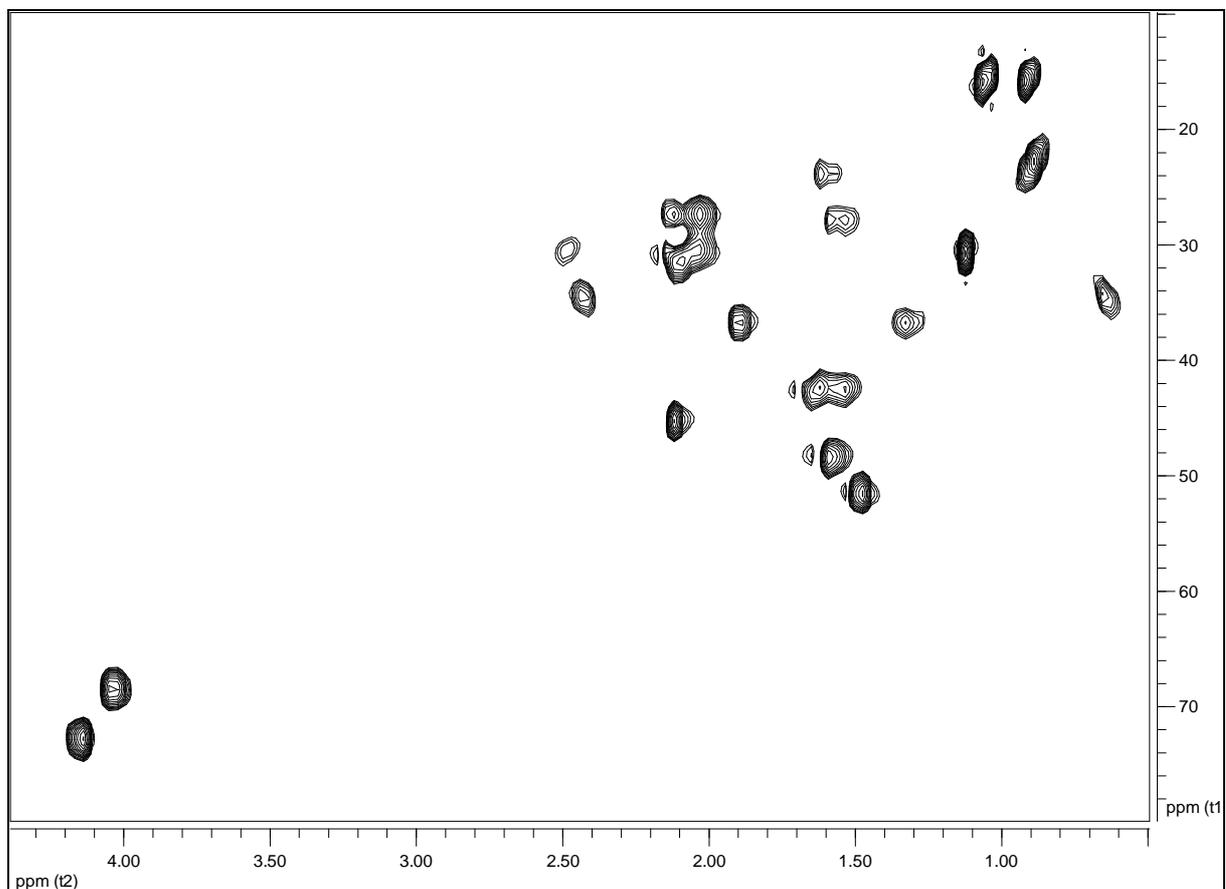
Figura 171 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

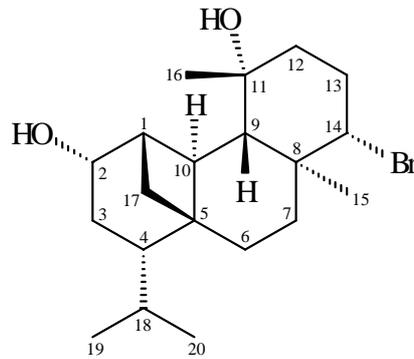
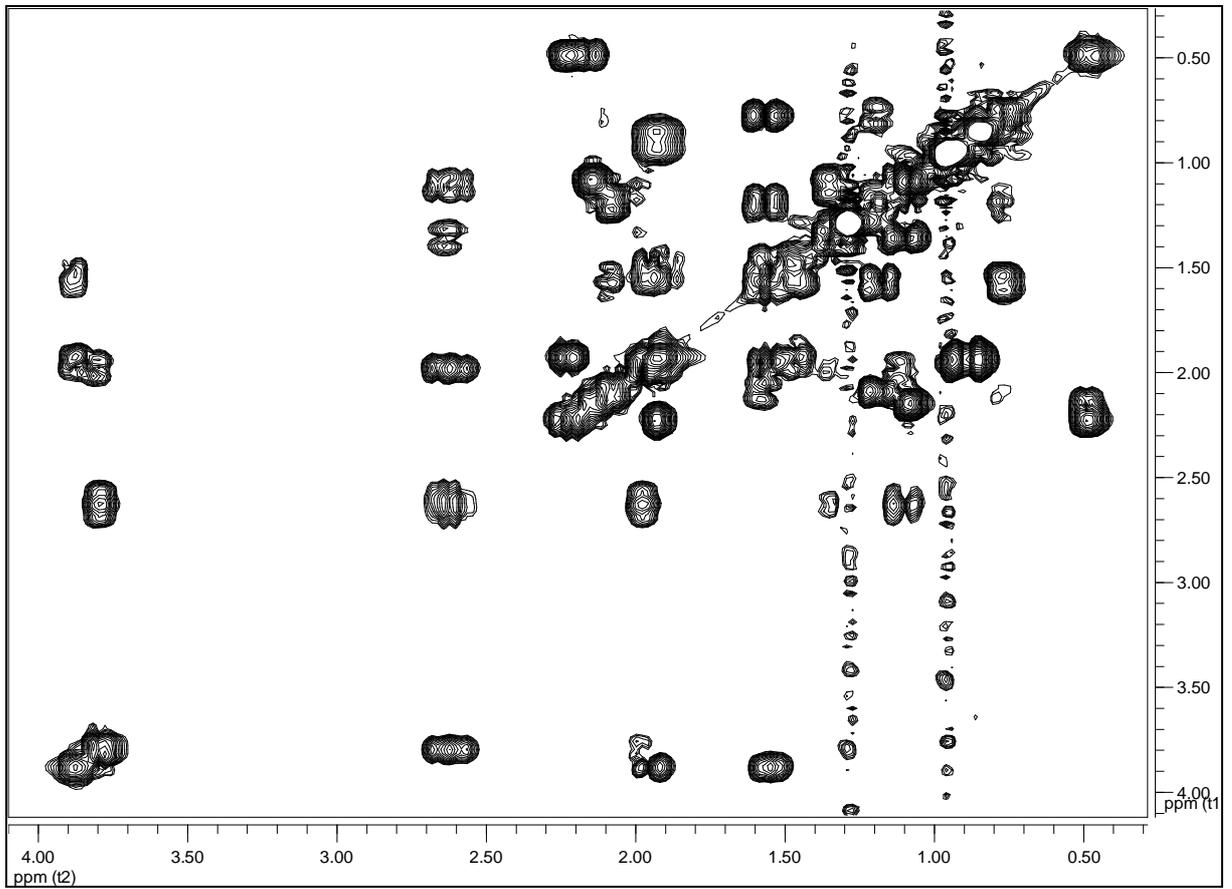
Figura 172 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.

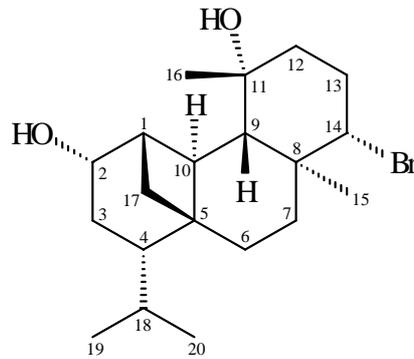
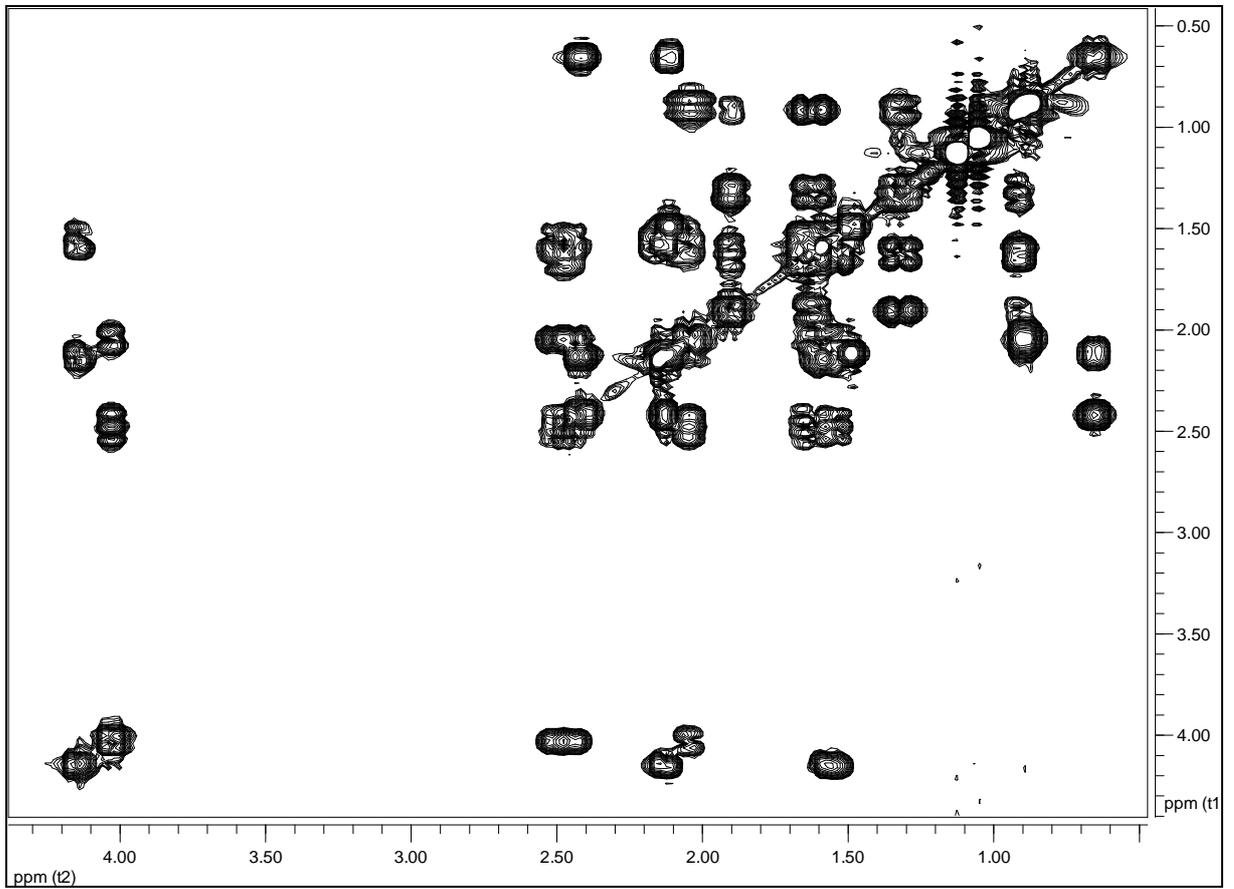
Figura 173 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

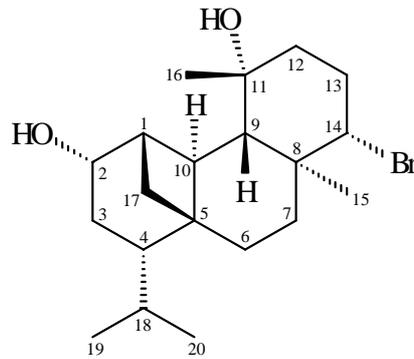
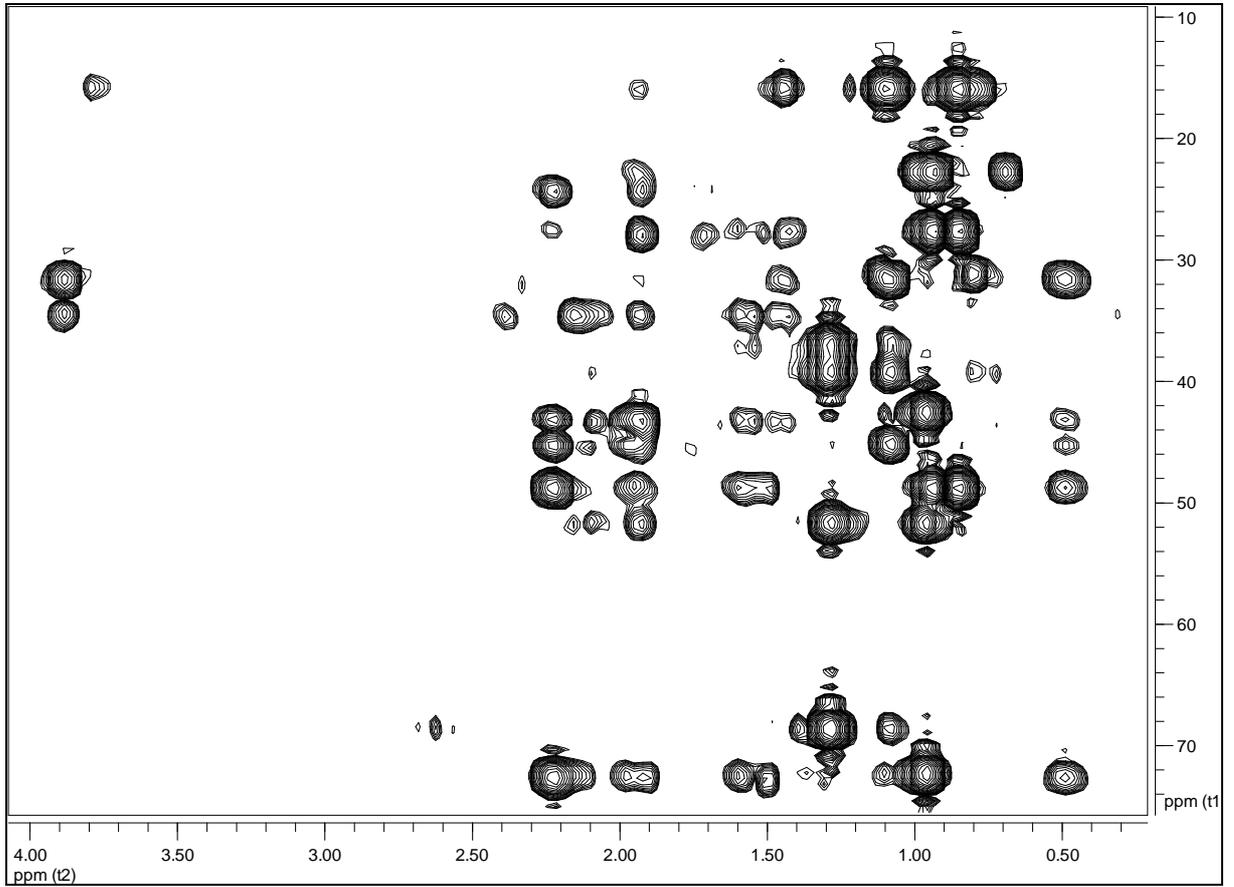
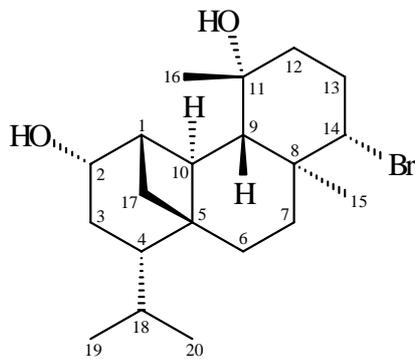
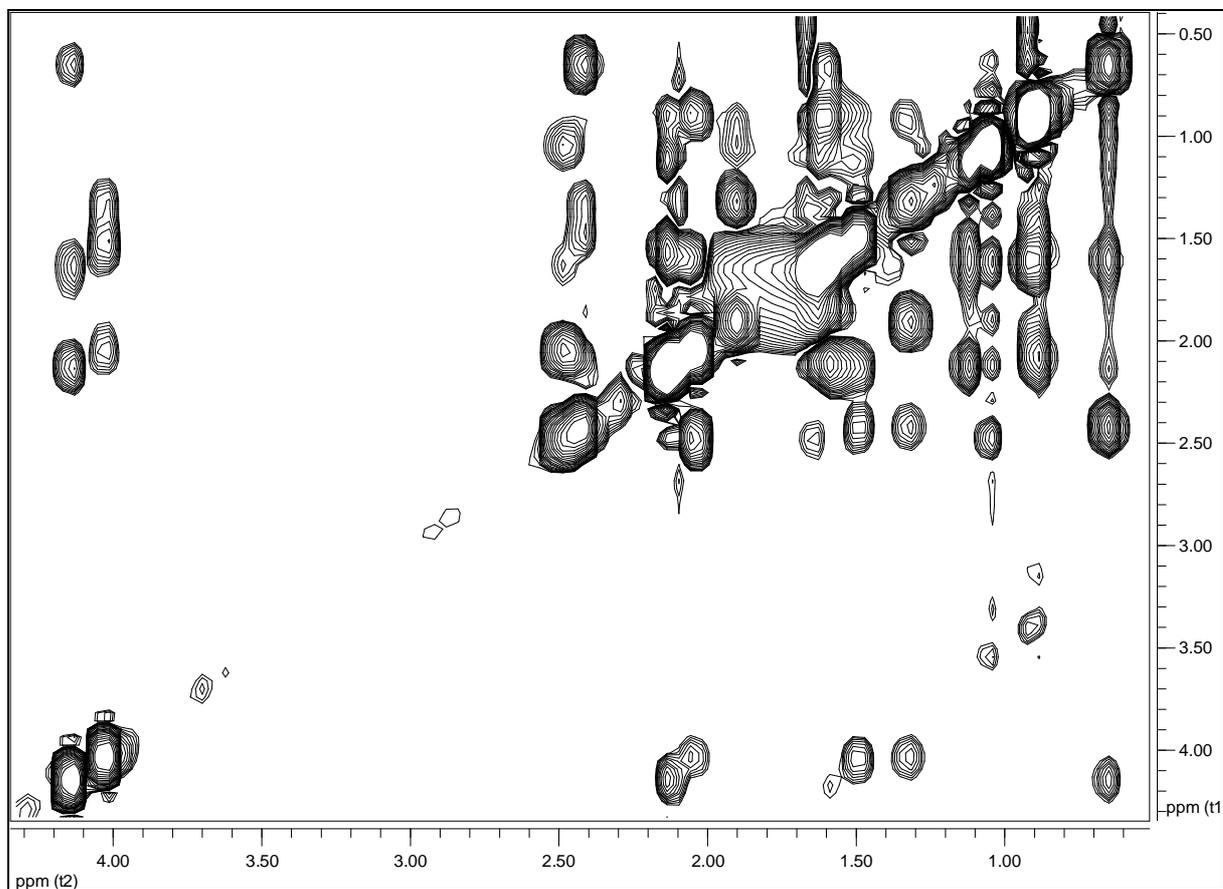
Figura 174 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , C_6D_6 , 400 MHz) de Sc-13.

Figura 175 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-13.

4.3.14 Identificação estrutural de Sc-14

Comparações dos espectros de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 177-181, p. 261-265) e de RMN ^{13}C de **Sc-14** (Figura 182, p. 266) com os dados espectrais de **Sc-13** (Tabela 23, p. 259) mostraram importantes similaridades. Todavia, a molécula de **Sc-14** apresenta um anel ciclopentano, diferentemente de **Sc-13** que exibe um anel ciclobutano. Essa proposta foi inferida pela presença de um substituinte hidroxila no carbono metínico da posição 1 (δ 80,37) em **Sc-14**. Esse mesmo substituinte encontra-se no carbono metínico da posição 2 (δ 72,84) em **Sc-13**.

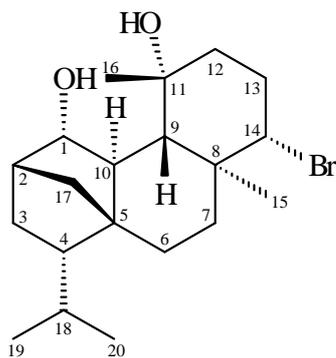
Mediante análise do espectro bidimensional COSY (Figura 185, p. 269) de **Sc-14**, é possível confirmar a presença do anel ciclopentano na molécula através do acoplamento observado entre o hidrogênio metínico em δ 4,01 (t, $J=3,4$) geminal à hidroxila e os hidrogênios nas posições 2 (δ 2,04) e 10 (δ 1,74).

Os dados obtidos para ^1H e ^{13}C juntamente com os dados dos experimentos bidimensionais HMQC (Figura 184, p. 268) e COSY (Figura 185, p. 269) foram comparados com modelos da literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c; CAFIERI et al., 1986) e permitiram propor que a substância **Sc-14** trata-se do diterpeno Bromotetrasphaerol (Figura 176, p. 258), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

O espectro de massas (Figura 183, p. 267) evidenciou a existência de grupo hidroxila ao exibir um fragmento em 366 u.m.a. resultante da perda de 18 u.m.a. (H_2O) a partir de M^{++} 384 u.m.a. condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{BrO}_2$.

É interessante observar que a co-ocorrência dos metabólitos **Sc-11a**, **Sc-12**, **Sc-13** e **Sc-14** nesse mesmo organismo indica a possibilidade de que eles derivem de um metabólito em comum, o bromosphaerol (**Sc-3**). O Esquema 10 (p. 258) mostra uma proposta biogenética para esta situação (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c).

Figura 176 – Estrutura química de Sc-14.



Esquema 10 – Proposta biogênica para os diterpenos Sc-11a, Sc-12, Sc-13 e Sc-14 a partir de Sc-3 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010c).

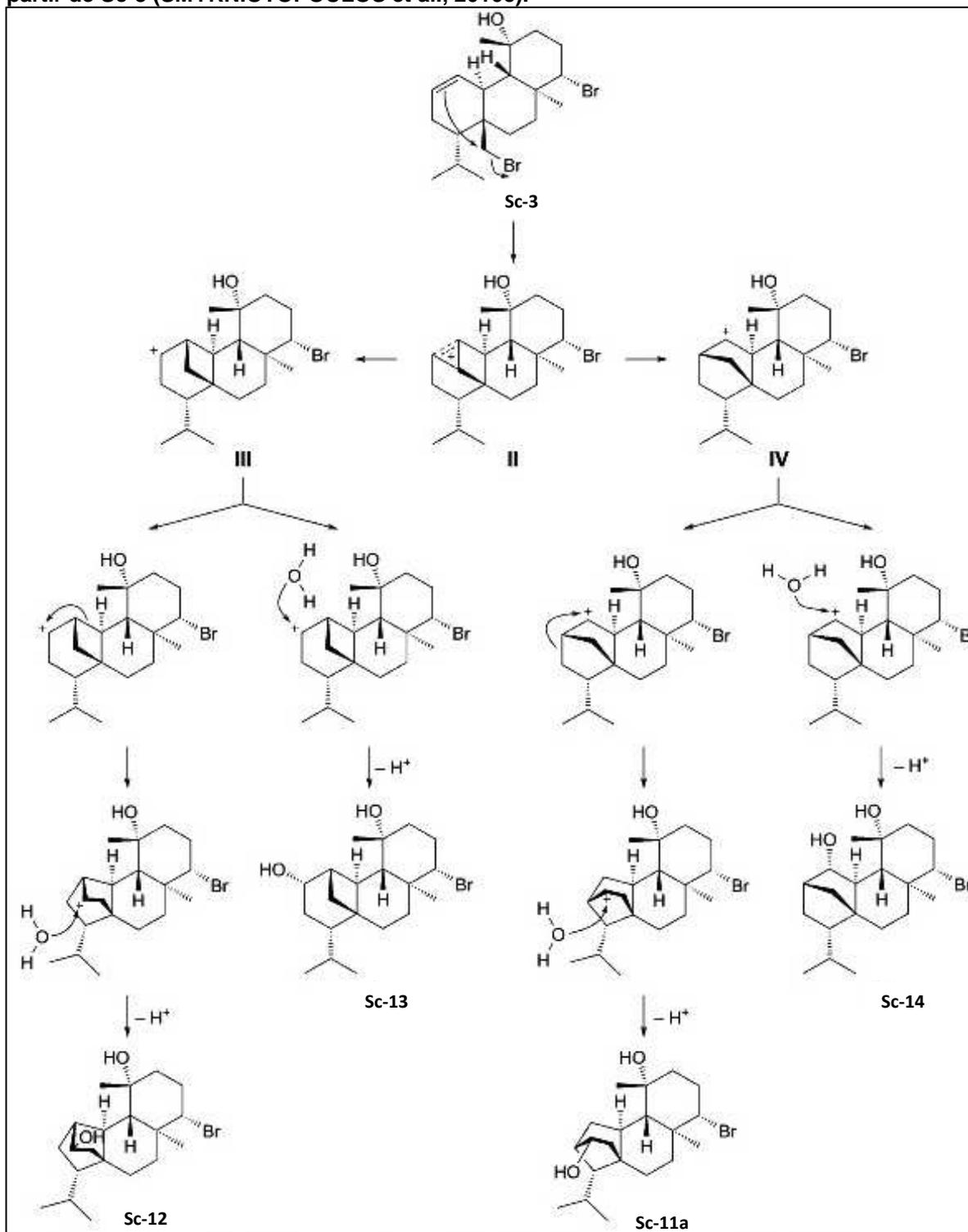


Tabela 23 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-14 e Sc-13.

Sc-14				Sc-13			
No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	mult, J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	4,01	t 3,4	80,37	1	2,12	m	45,38
2	2,04	m	41,67	2	4,14	dt 7,5; 1,6	72,84
3	a 1,62	m	28,35	3	a 2,14	m	27,65
	b 1,62	m		b 1,56	m		
4	1,26	m	52,30	4	1,59	m	48,44
5	–	–	51,82	5	–	–	43,33
6	a 1,97	m	27,14	6	a 1,62	m	23,97
	b 1,24	m		b 0,92	m		
7	a 1,86	m	38,60	7	a 1,91	ddd 13,3; 4,6; 2,5	36,91
	b 1,11	dt 13,2; 3,7		b 1,32	dt 13,2; 4,0		
8	–	–	40,81	8	–	–	39,13
9	1,19	d 11,2	54,61	9	1,49	d 9,9	51,80
10	1,74	dl 10,8	41,50	10	2,11	m	31,49
11	–	–	72,75	11	–	–	72,89
12	a 1,61	m	44,22	12	a 1,65	m	42,54
	b 1,61	m		b 1,55	m		
13	a 2,47	dq 5,2; 12,8	30,56	13	a 2,48	dq 4,4; 13,6	30,50
	b 2,00	m		b 2,03	m		
14	3,95	dd 12,8; 4,0	68,97	14	4,03	dd 12,4; 4,0	68,67
15	1,09	s	16,08	15	1,06	s	15,86
16	1,40	s	30,87	16	1,13	s	31,06
17	a 1,87	m	42,58	17	a 2,42	dd 10,2; 7,6	34,49
	b 0,99	m		b 0,65	dd 10,2; 5,4		
18	1,82	m	29,61	18	2,04	m	27,47

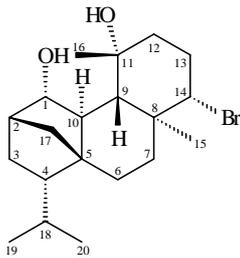
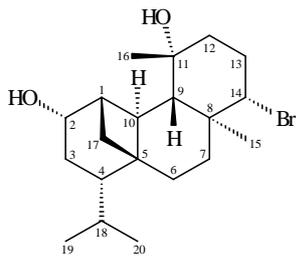
							
Sc-14				Sc-13			
No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)	No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)
19 ^b	0,98	d 6,4	23,66	19 ^b	0,91	d 6,8	15,86
20 ^b	1,05	d 6,4	23,76	20 ^b	0,88	d 6,8	22,67

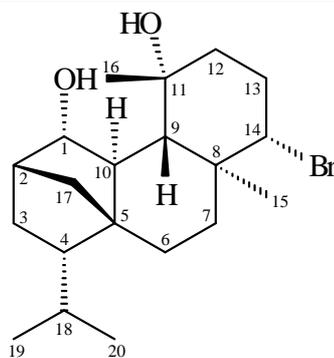
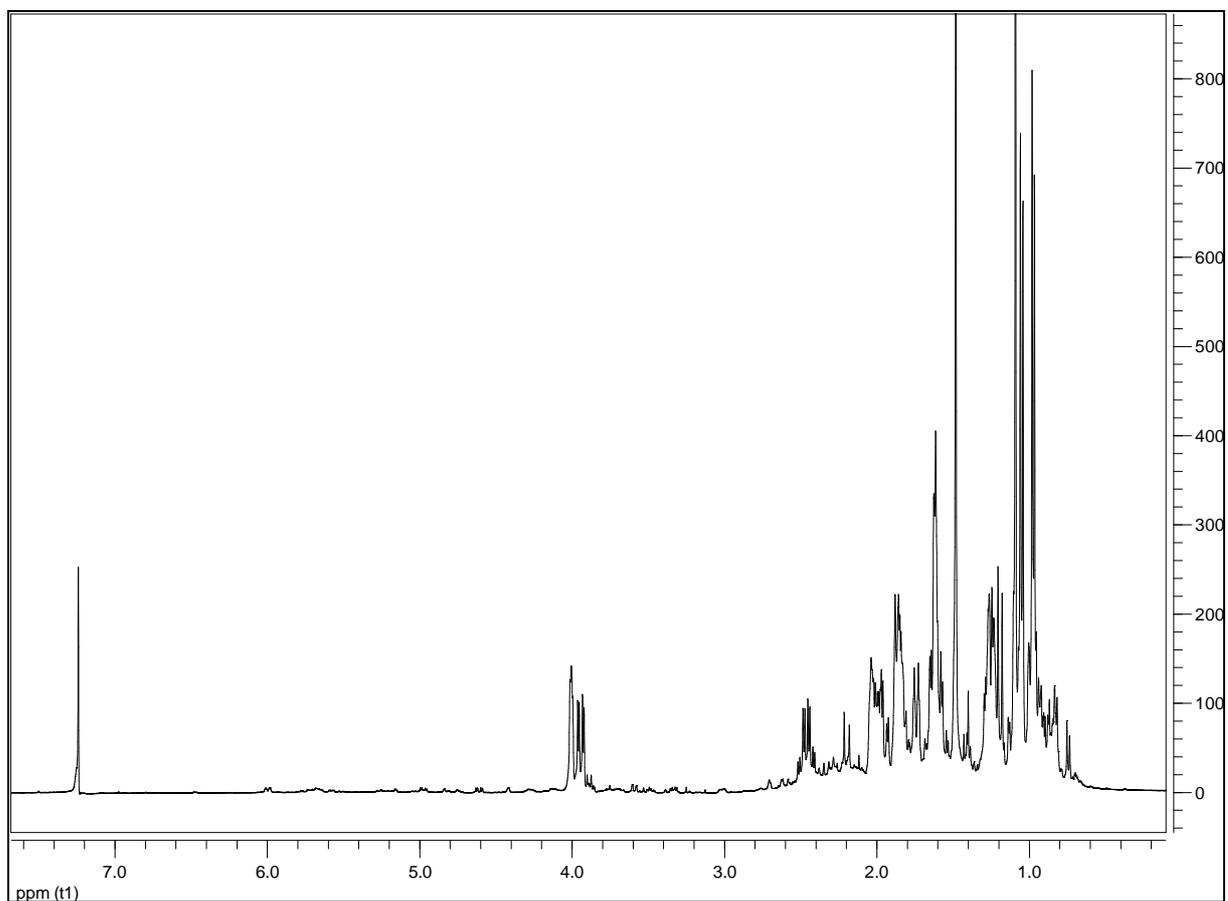
Figura 177 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

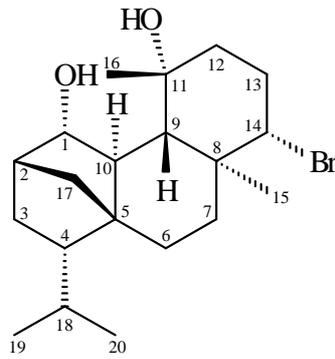
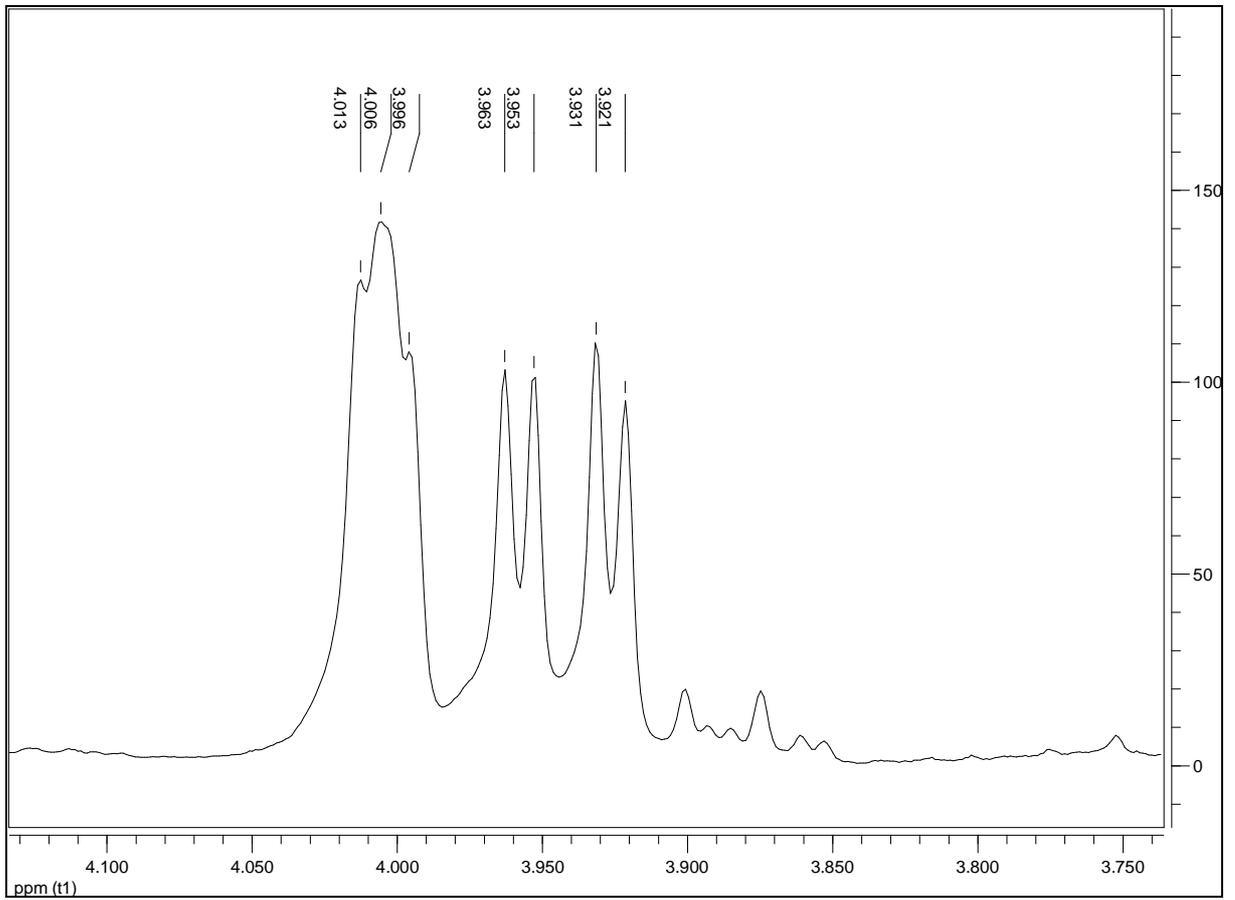
Figura 178 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

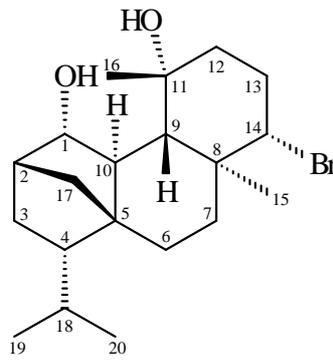
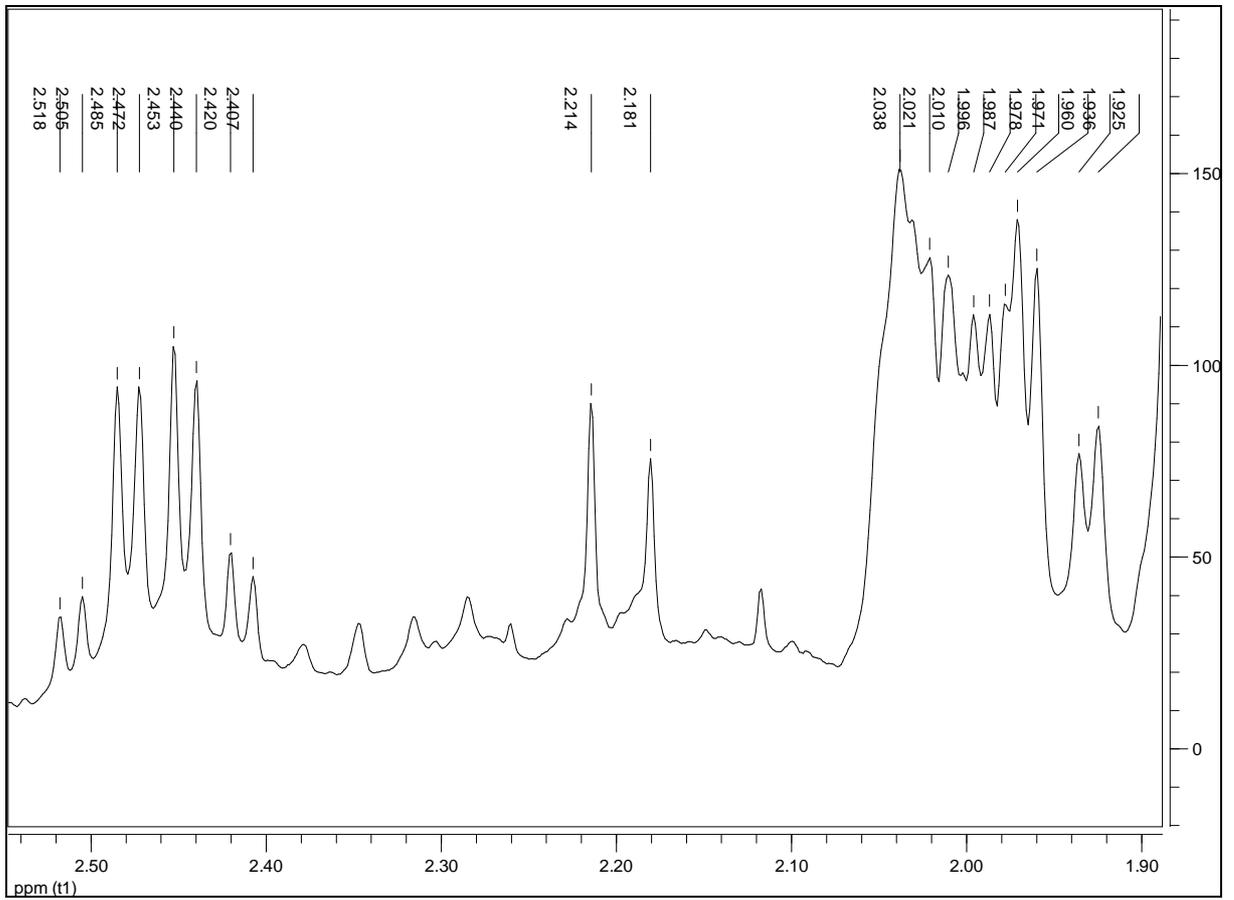
Figura 179 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

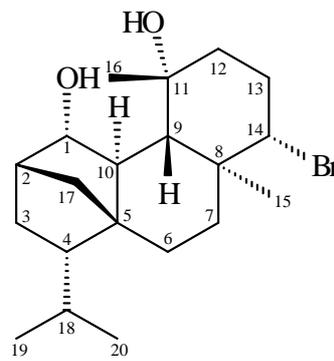
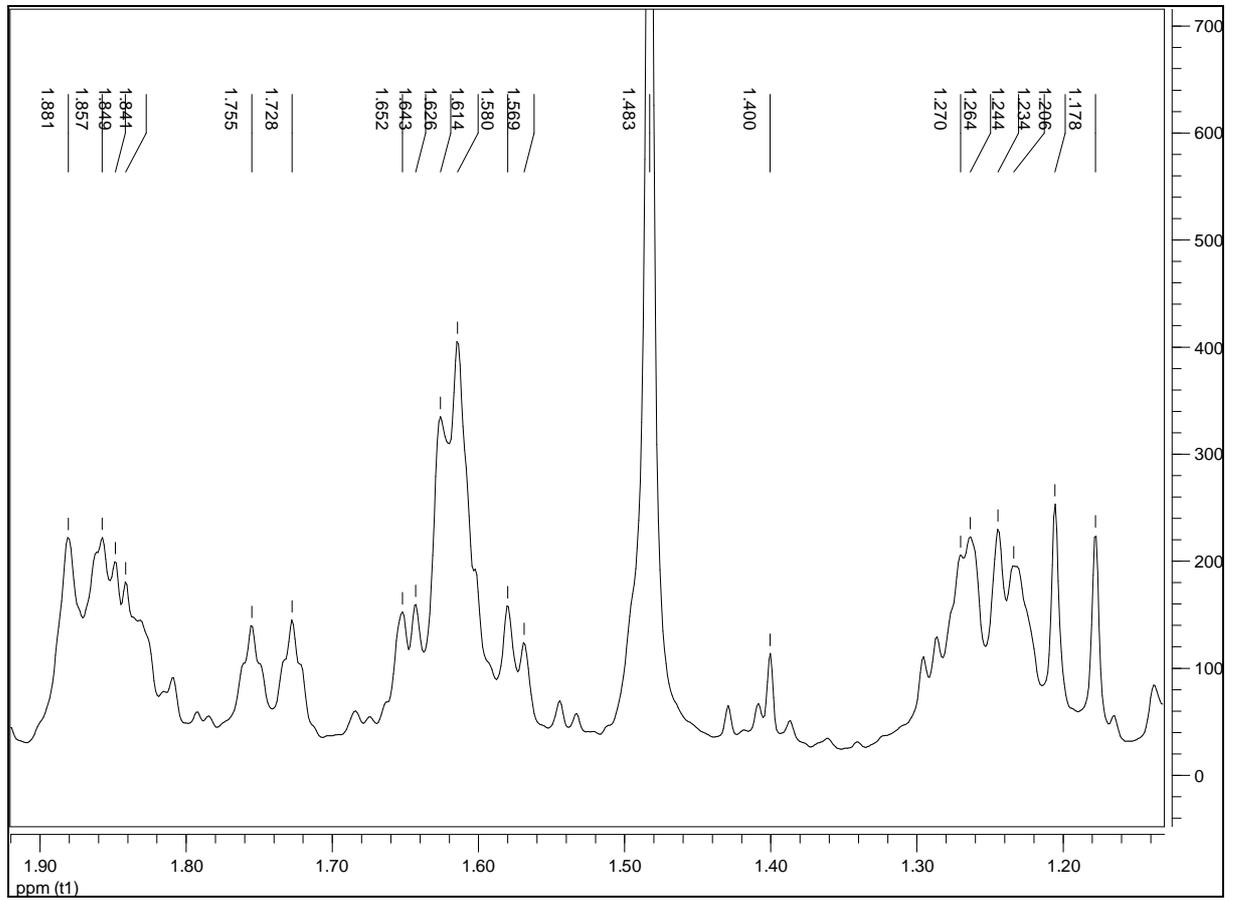
Figura 180 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

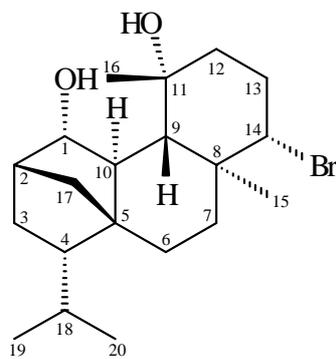
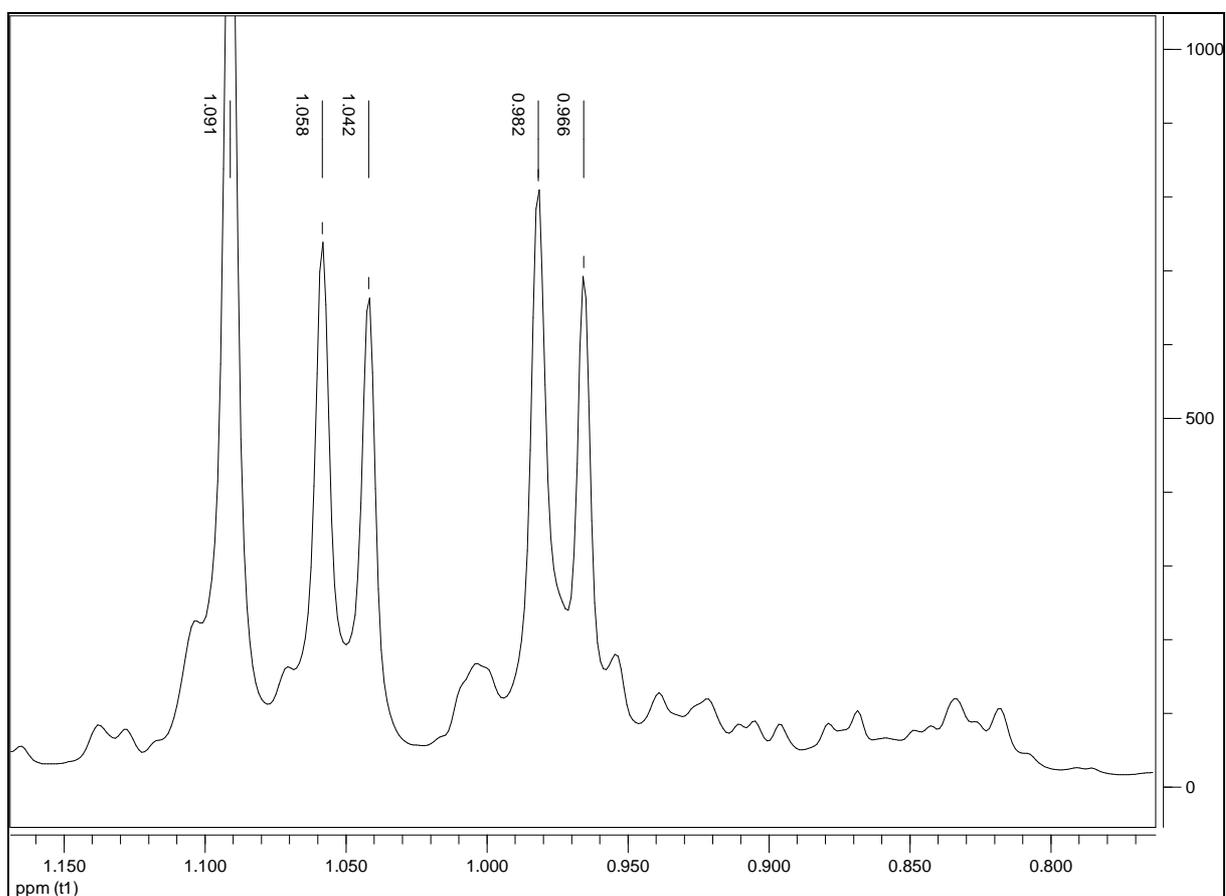
Figura 181 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

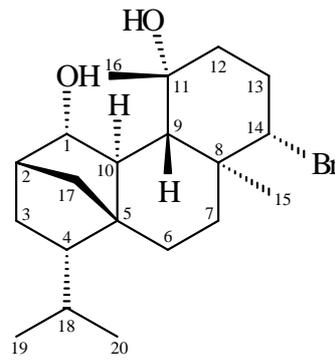
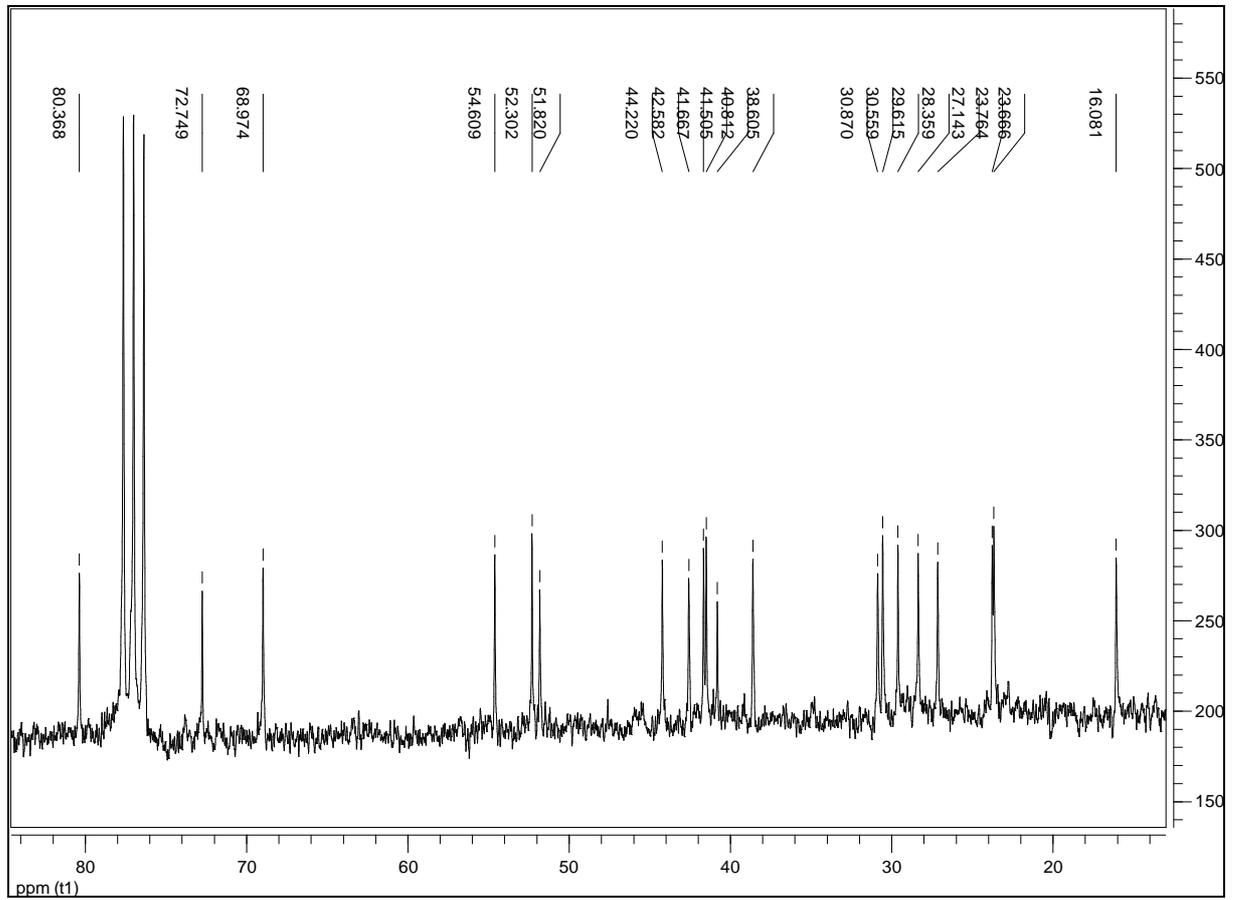
Figura 182 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-14.

Figura 183 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-14.

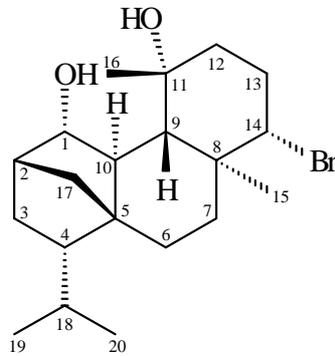
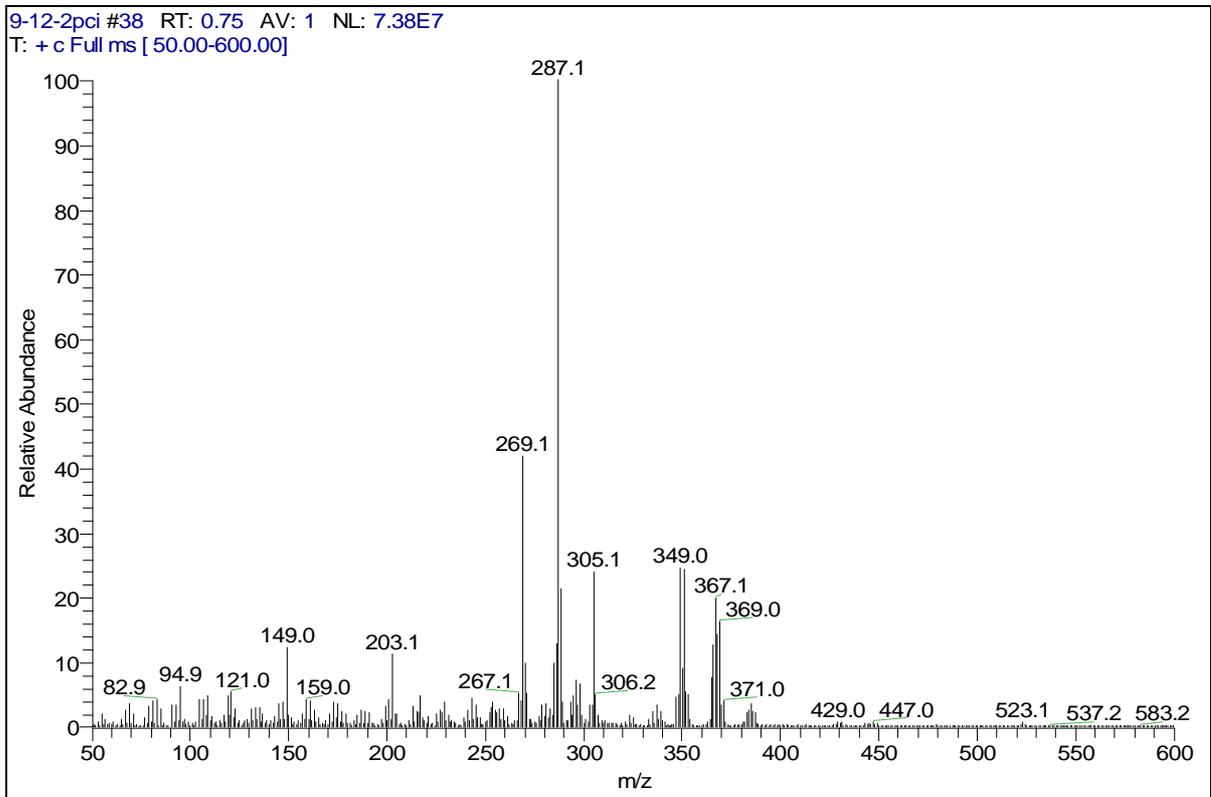


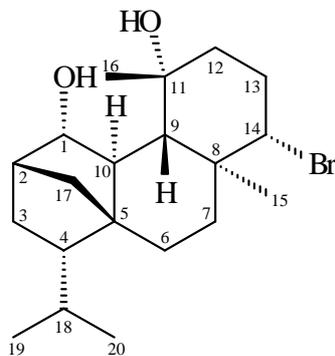
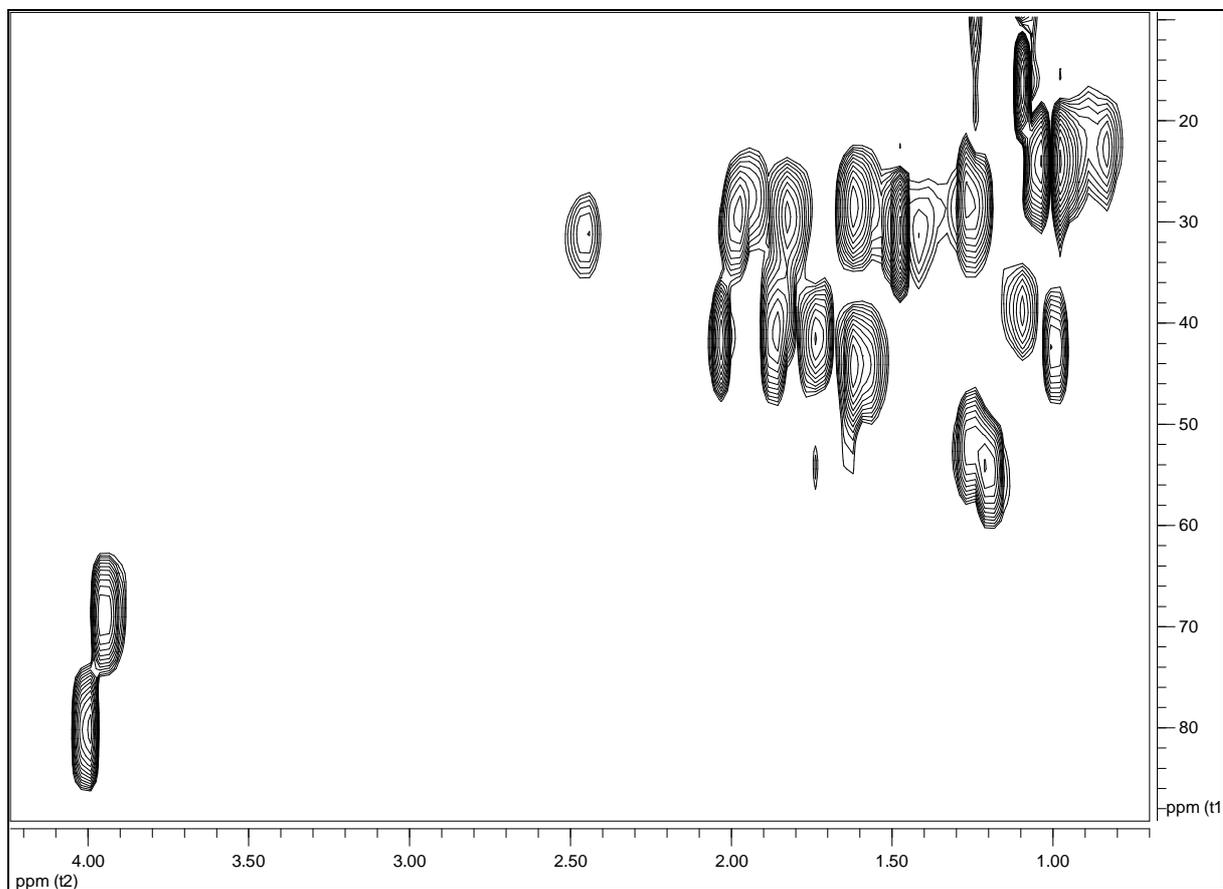
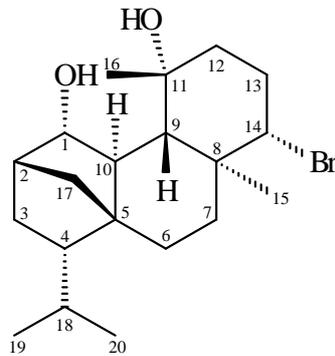
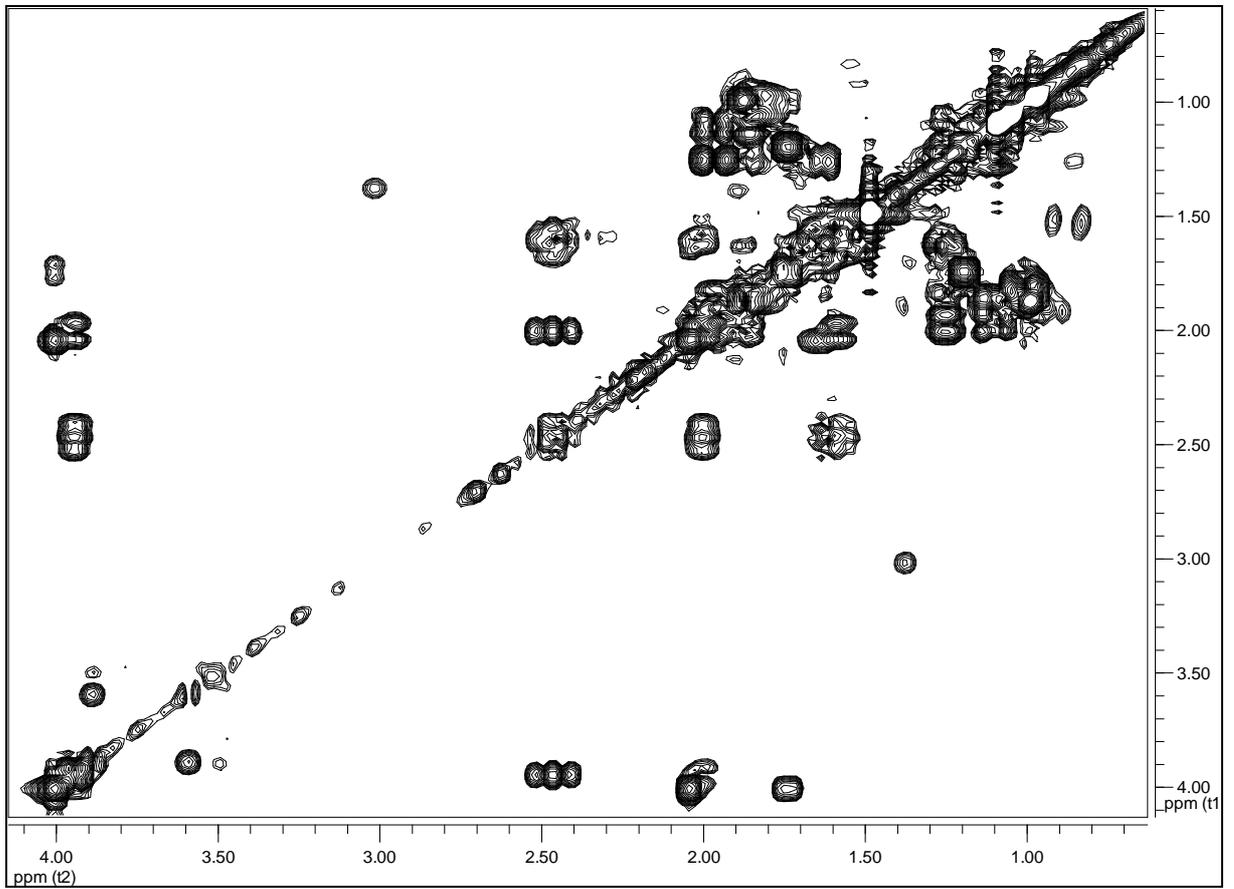
Figura 184 - Espectro de RMN ^1H x ^{13}C -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

Figura 185 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-14.

4.3.15 Identificação estrutural de Sc-15

A análise do espectros de RMN de ^1H e suas expansões (Figuras 187-191, p. 273-277) e de ^{13}C (Figura 192, p. 278) levaram a sugerir que **Sc-15** trata-se de uma substância de natureza terpenoídica.

A existência de um grupo éster na molécula foi inferida pelos sinais em δ_{H} 2,06 (s) e δ_{C} 21,21 referentes à metila alfa à carbonila, e também a presença da carbonila de éster em δ_{C} 170,78.

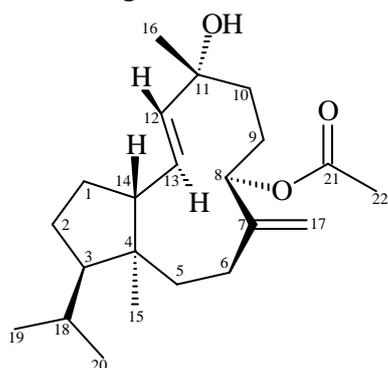
Aliando-se os dados obtidos àqueles fornecidos pelos espectros bidimensionais COSY (Figura 194, p. 280), HMBC (Figura 195, p. 281) e NOESY (Figura 196, p. 282) (Tabela 24, p. 272) e comparações com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010a; SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009) foi possível propor que a substância **Sc-15** trata-se do terpeno Sferolano-I (Figura 186), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

Podem-se destacar no espectro de massas (Figura 193, p. 279) o pico do íon molecular em M^{++} 348 u.m.a. e o pico em 330 u.m.a. referente à perda de uma molécula de água. Este dado permitiu atribuir a **Sc-15** uma fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$, ratificando, portanto, a estrutura proposta para **Sc-15**.

É importante observar que a co-ocorrência dos metabólitos **Sc-15** e **Sc-7** no mesmo organismo indica a possibilidade de que eles derivem de um precursor comum, o cátion neodolabelano (CAFIERI et al., 1984).

O Esquema 11 (p. 271) mostra a proposta de origem biogenética para **Sc-7** e **Sc-15** (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009).

Figura 186 – Estrutura química de Sc-15.



Esquema 11 - Proposta de origem biogênica para Sc-7 e Sc-15 (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2009).

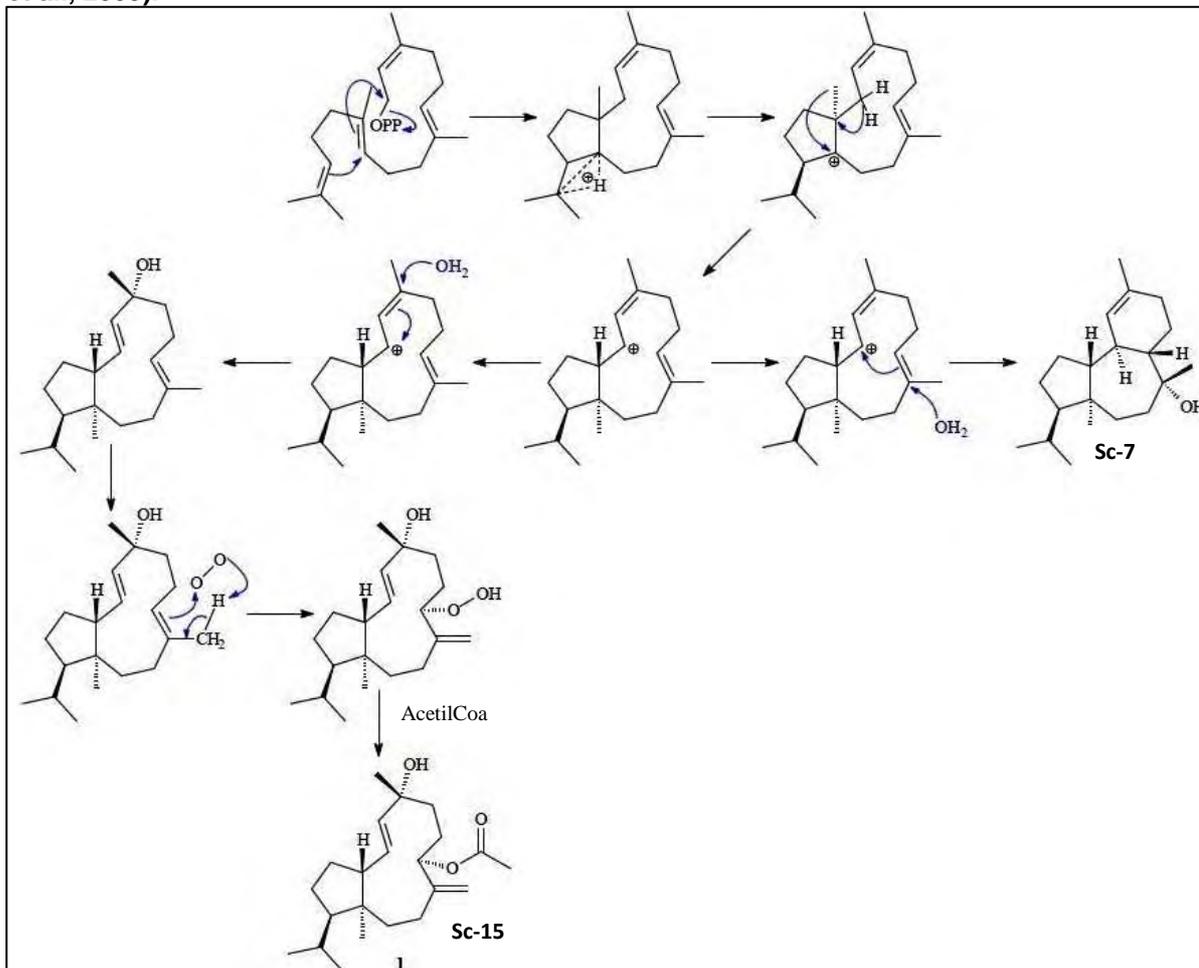


Tabela 24 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-15.

No	^1H $\delta(\text{ppm})$	mult, J(Hz)	^1H - ^1H NOESY	^{13}C $\delta(\text{ppm})$	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ HMBC
1	a 1,47	m	12, 14	27,88	2, 3, 4
	b 1,36	m	13, 15		
2	a 1,85	m		27,12	1, 4, 18
	b 1,81	m			
3	1,21	m	15	55,43	1, 2, 4, 15, 18, 19, 20
4	–	–	–	47,09	
5	a 2,07	m	20	37,04	3, 4, 7, 15
	b 1,28	m	8, 17b		
6	a 2,16	m	8, 13, 15	30,91	5, 17, 17b
	b 1,97	m	17b		
7	–	–	–	149,78	
8	5,41	dl 8,0	5b, 6a, 17a	75,69	6, 7, 9, 10, 17, 21
9	a 1,89	m		28,29	10, 11
	b 1,42	m			
10	a 1,66	ddd 14,5; 7,9; 1,2		38,20	8, 9, 11, 16
	b 1,48	m			
11	–	–	–	73,36	
12	5,52	d 15,2	1a, 14, 16	137,33	10, 11, 13, 16
13	5,66	dd 15,2; 10,0	1b, 6a, 15	127,50	11, 12
14	2,18	m	1a, 12	59,38	3, 5, 15
15	0,77	s	1b, 3, 6a, 13	10,91	3, 4, 5b
16	1,24	s	12	30,75	10, 11
17	a 4,74	sl	8	107,05	6, 7, 8
	b 4,65	sl	5b, 6b		
18	1,56	hept 6,6		30,30	3, 19, 20
19	0,83	d 6,6		22,49	3, 18, 20
20	0,95	d 6,6	5a	23,47	3, 18, 19
21	–	–	–	170,78	
22	2,06	s		21,21	21

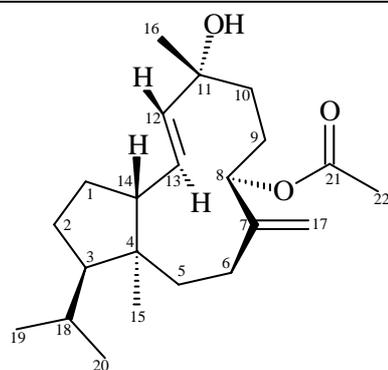
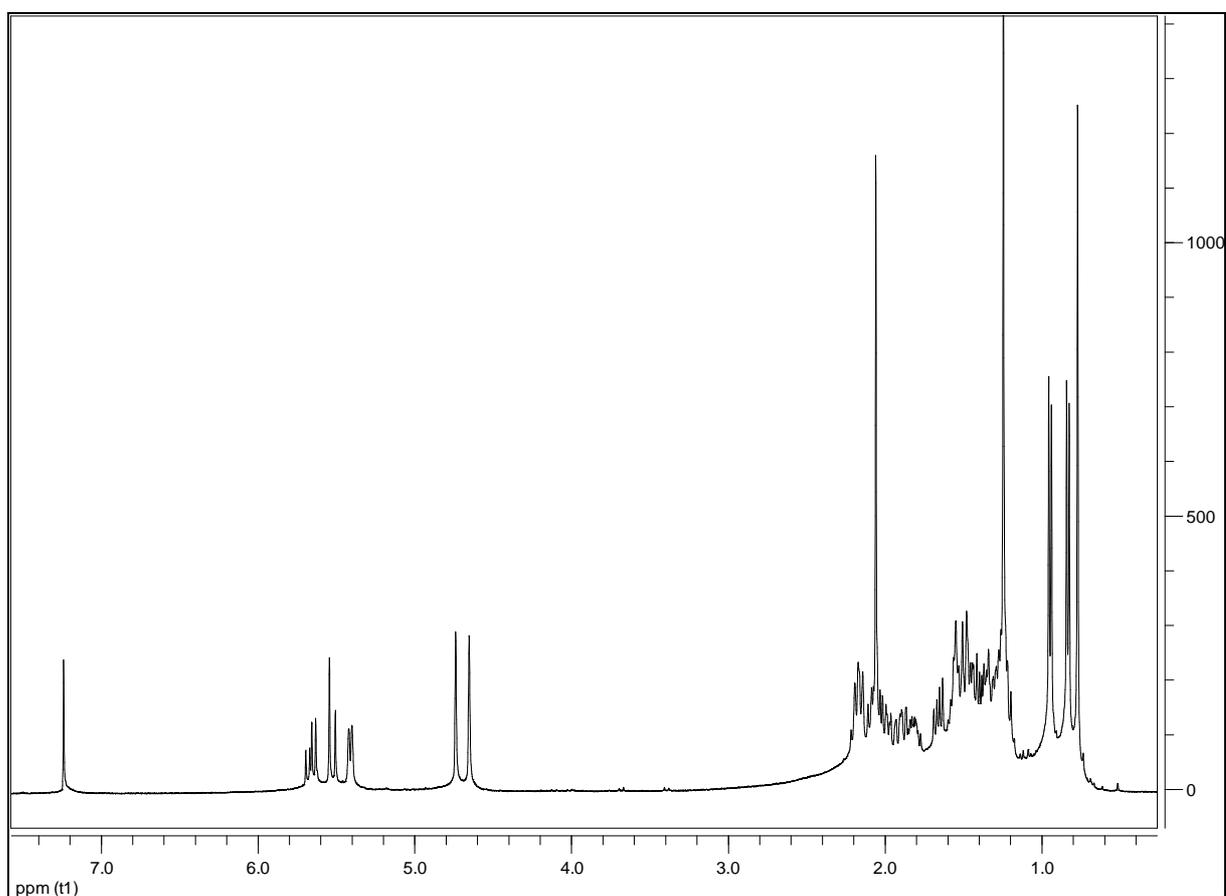
Figura 187 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

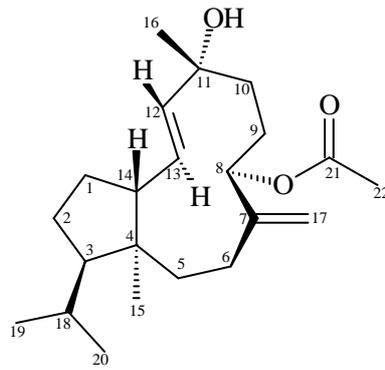
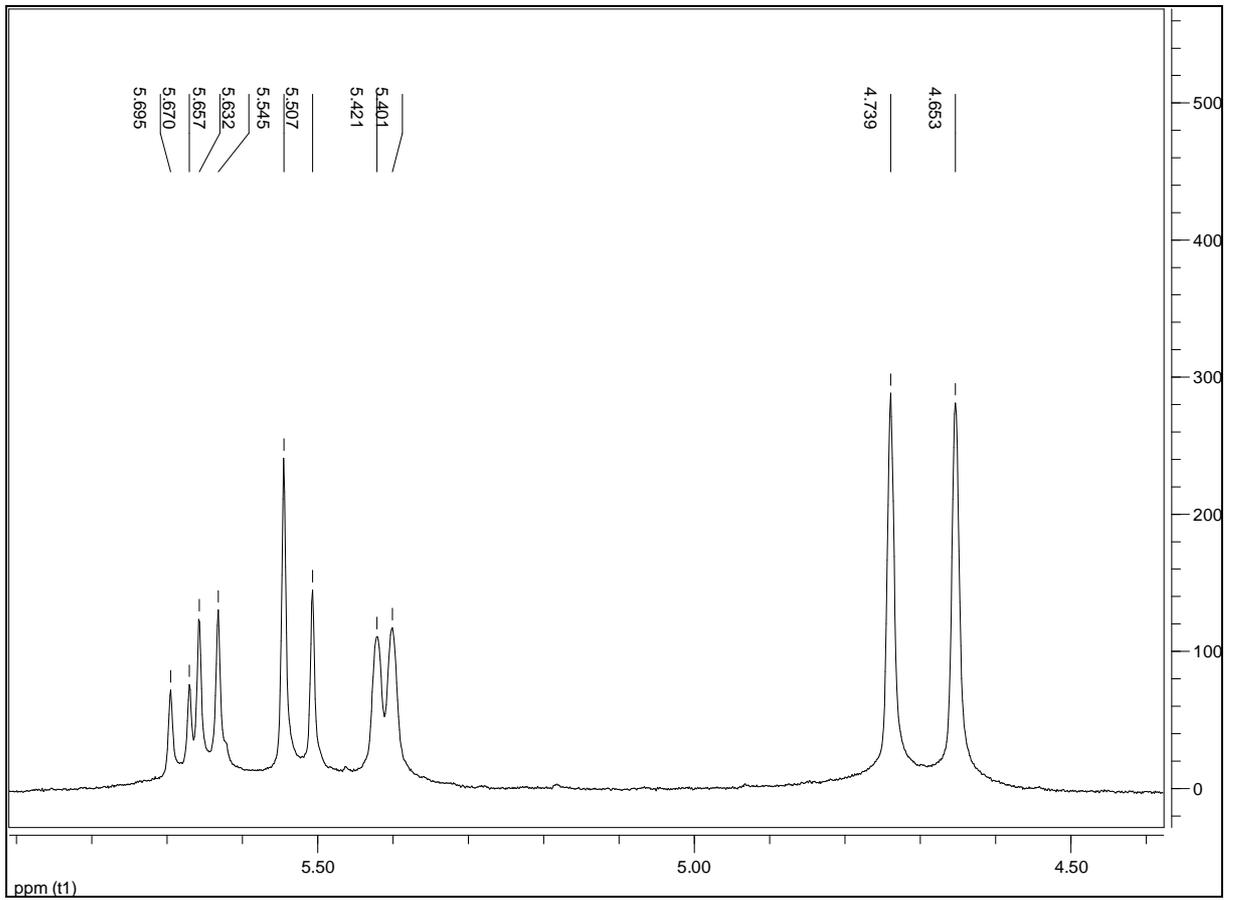
Figura 188 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

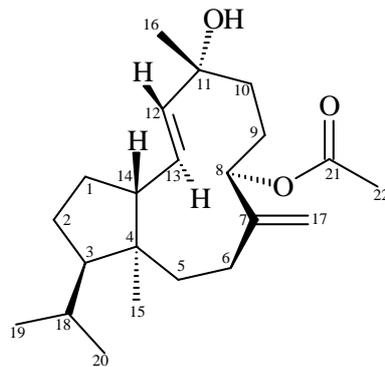
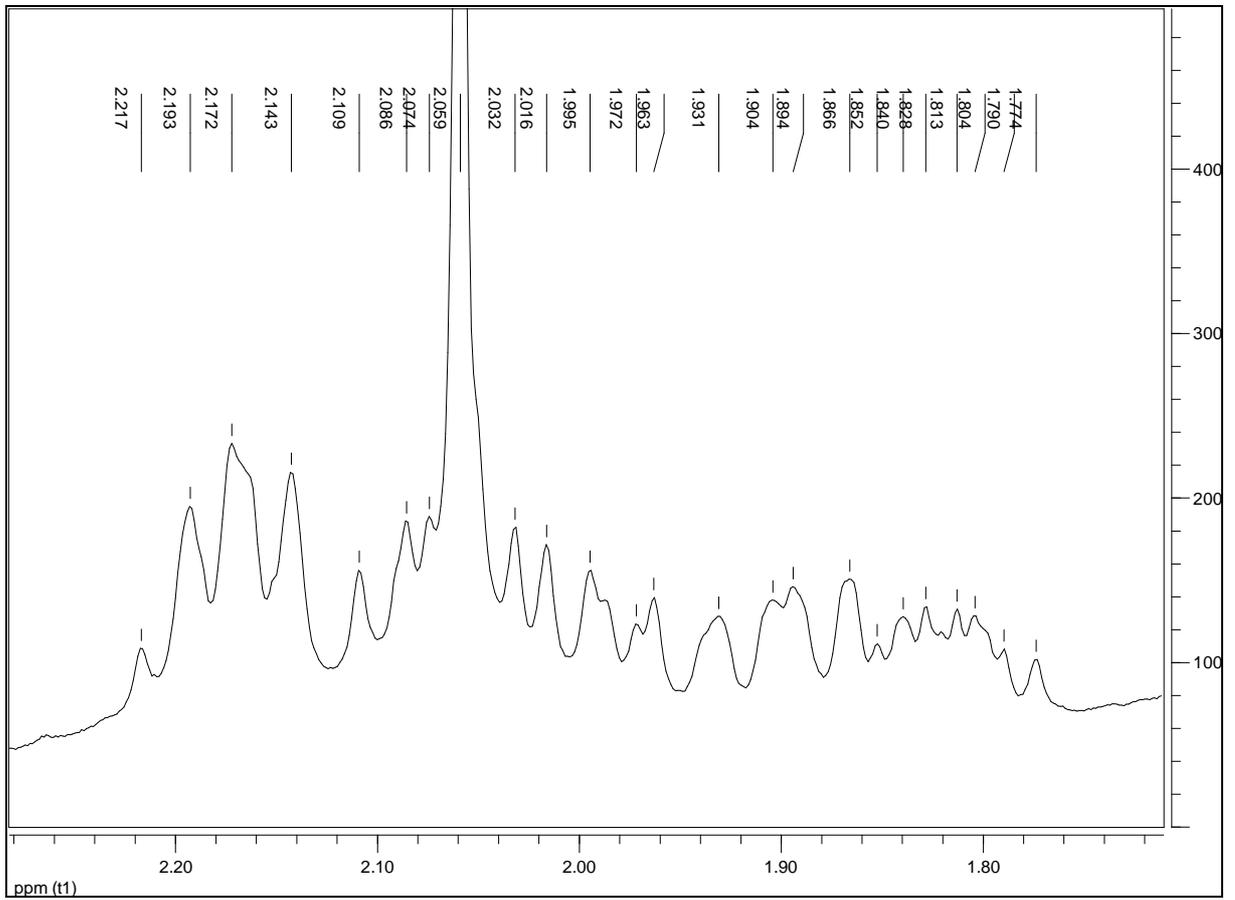
Figura 189 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

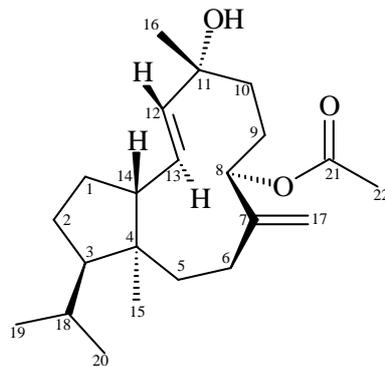
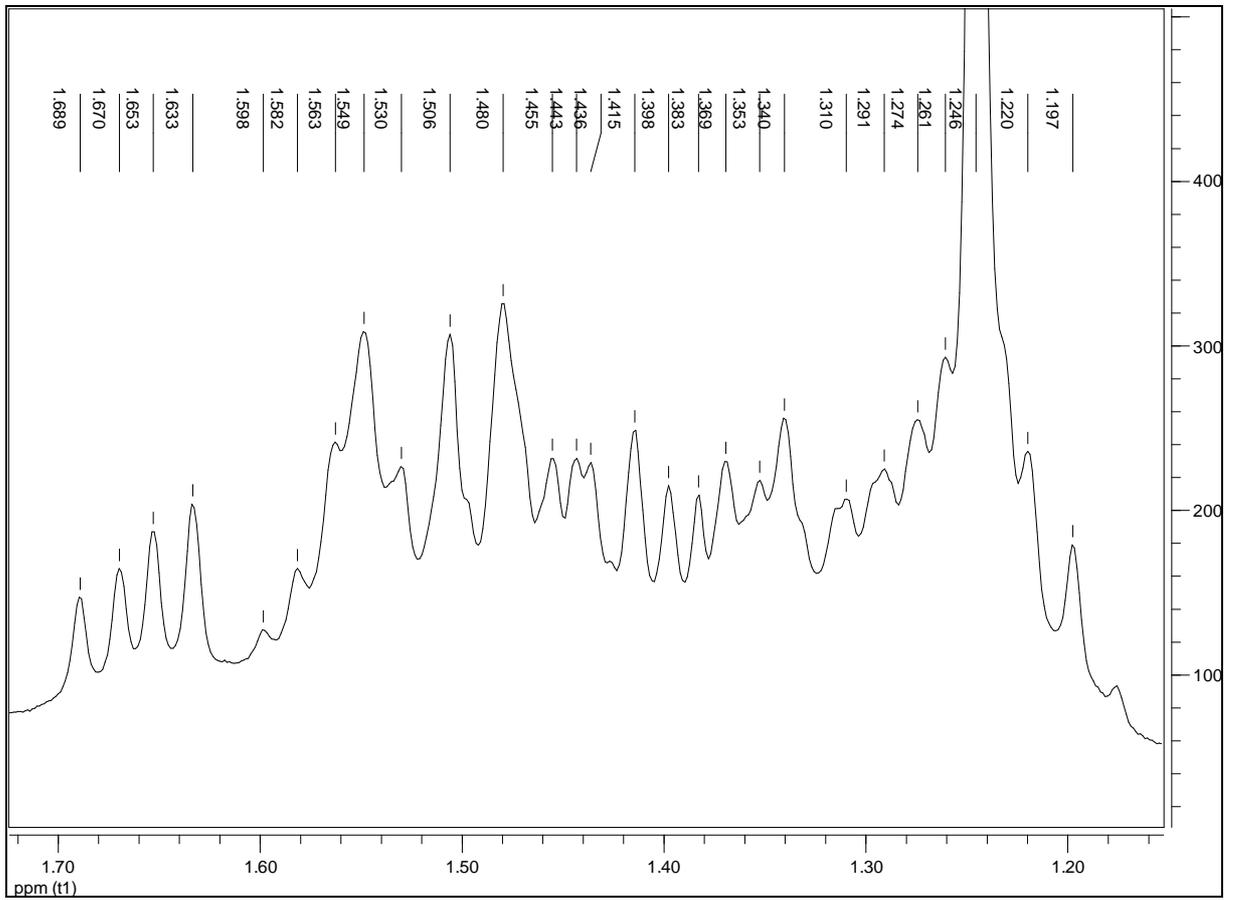
Figura 190 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

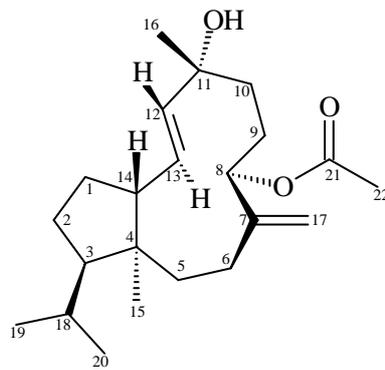
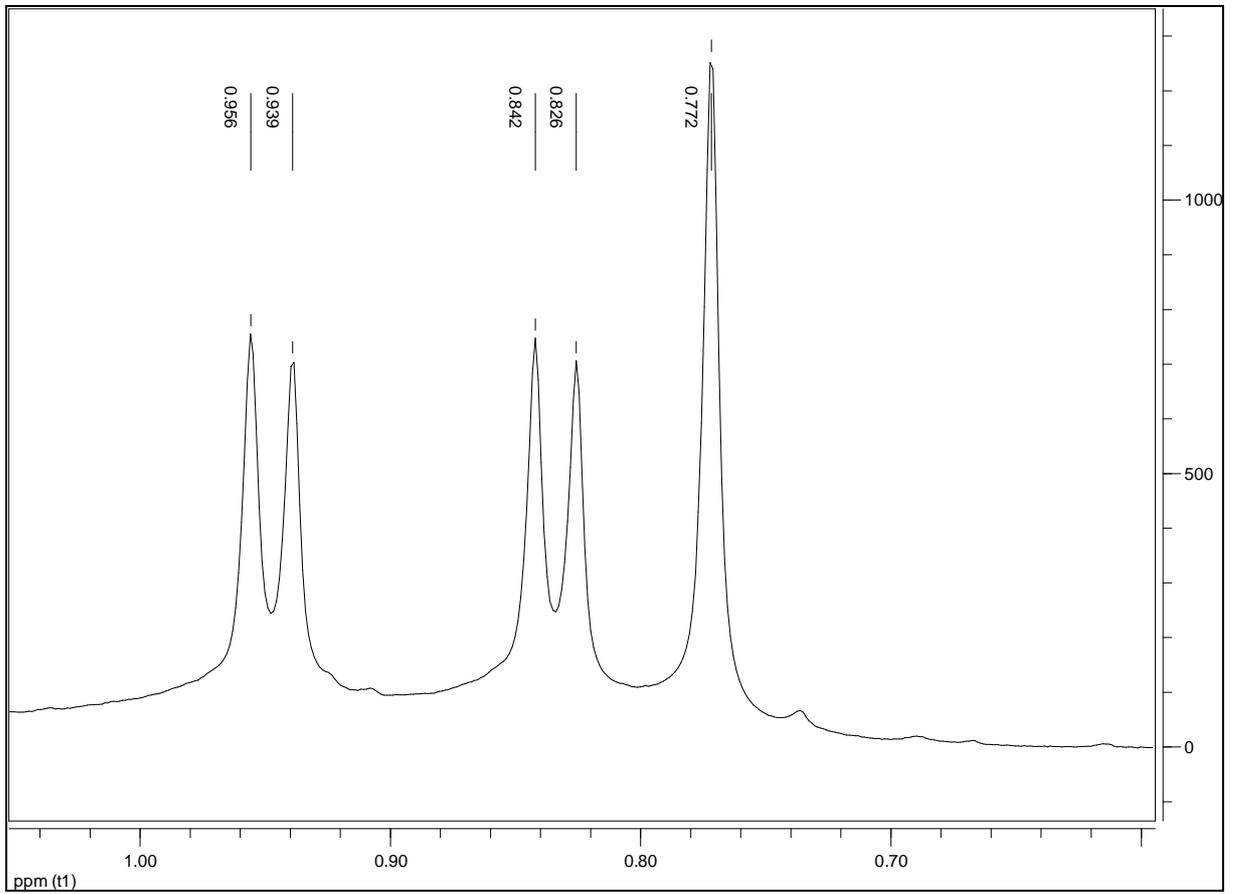
Figura 191 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

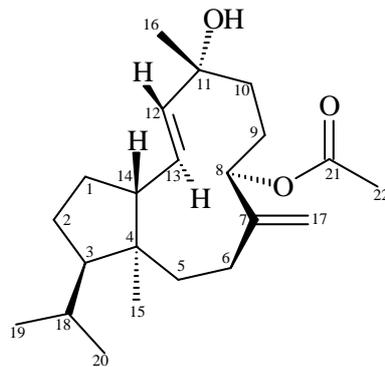
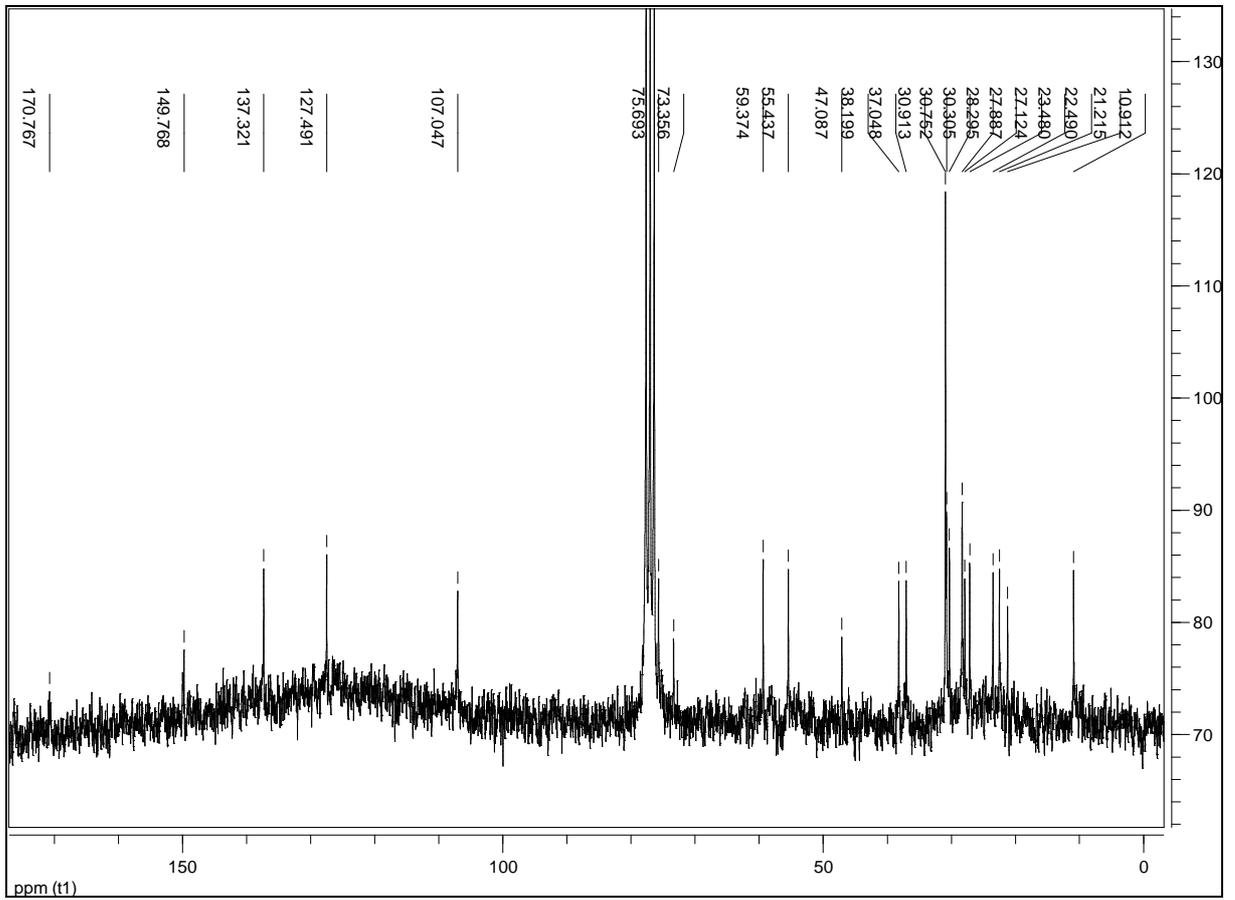
Figura 192 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-15.

Figura 193 - Espectro de massas (EI-MS) de Sc-15.

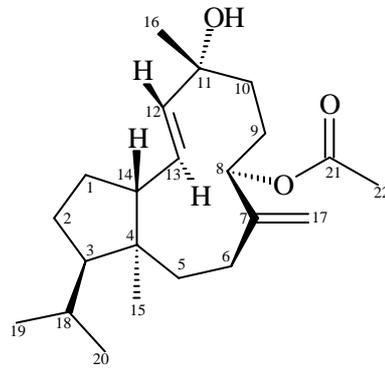
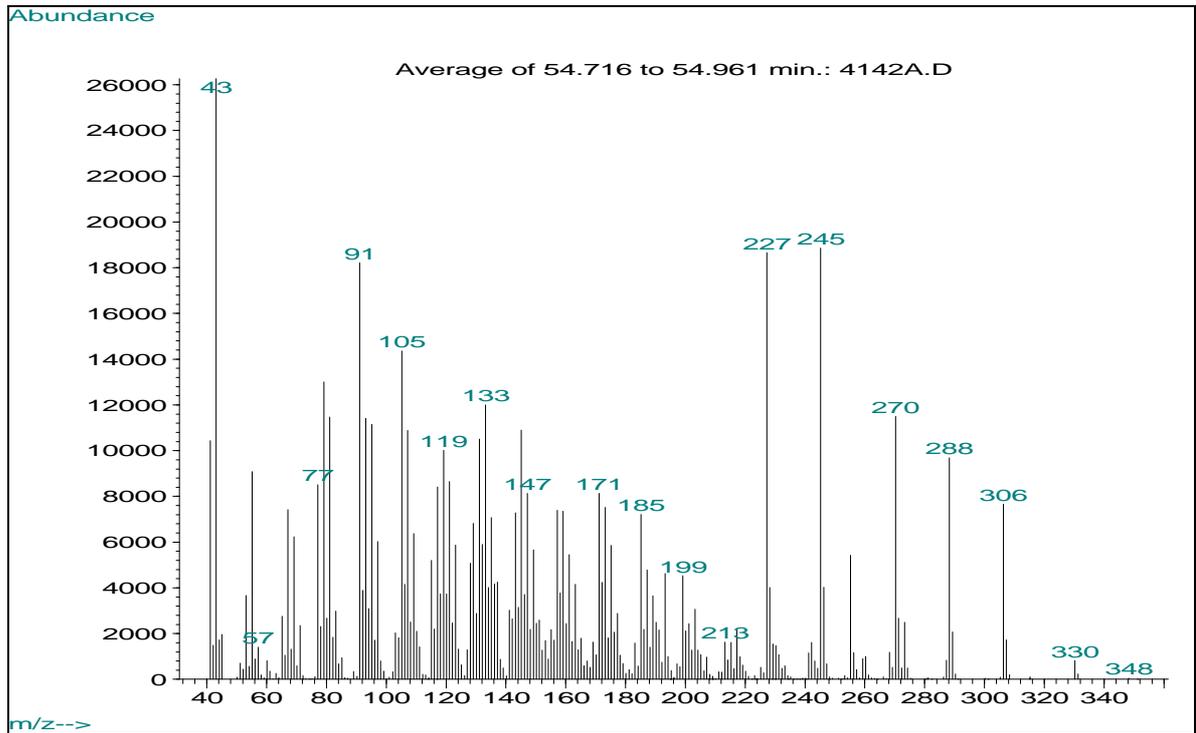


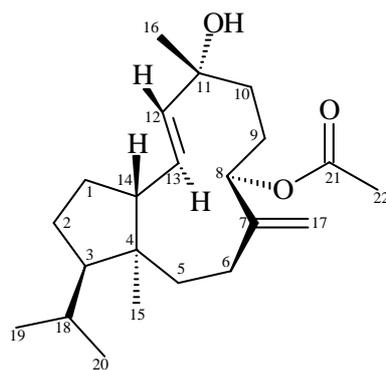
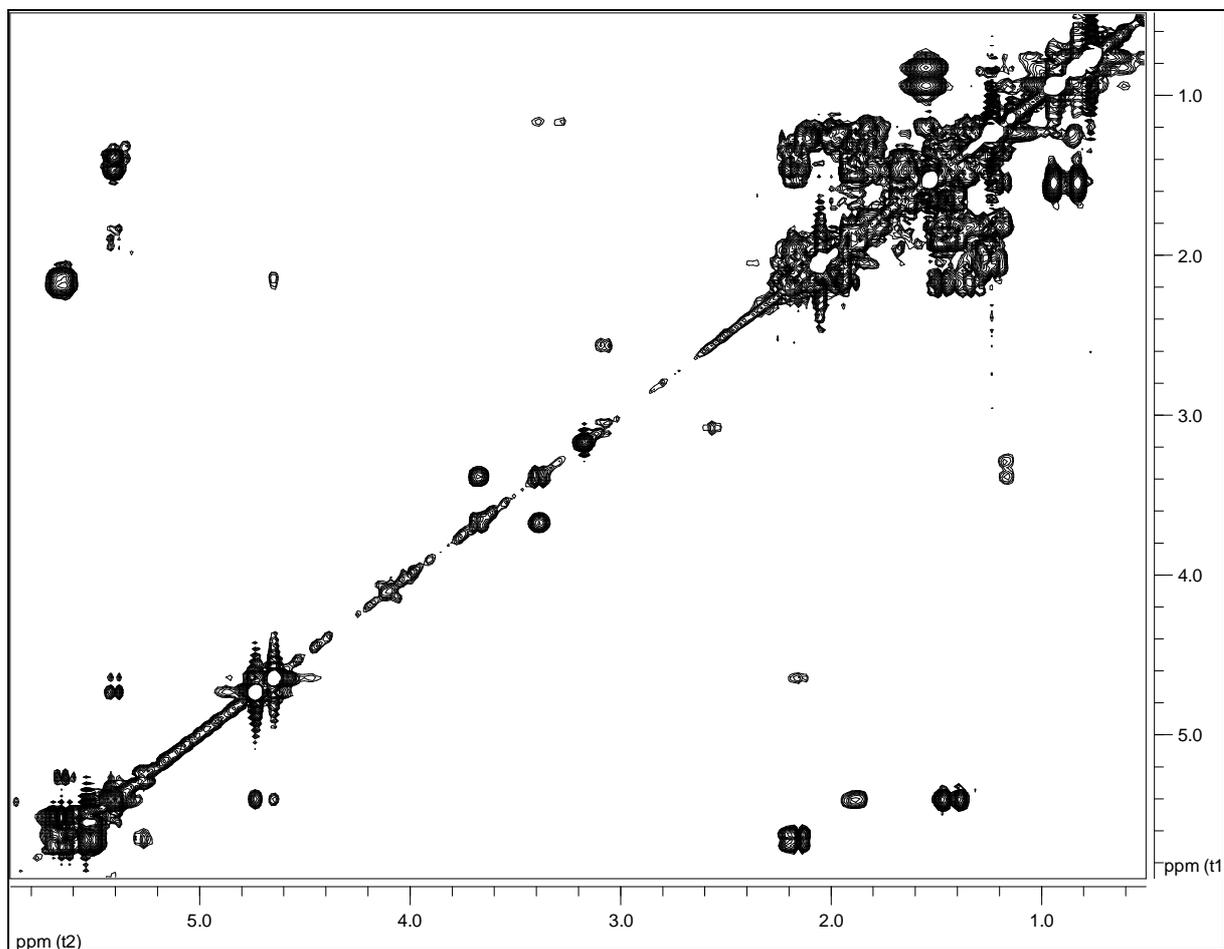
Figura 194 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

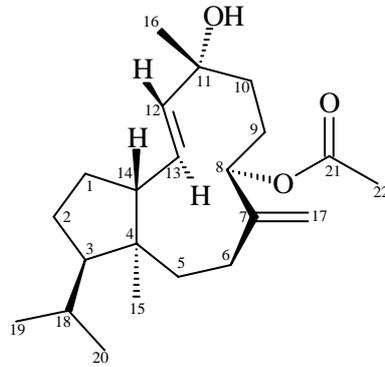
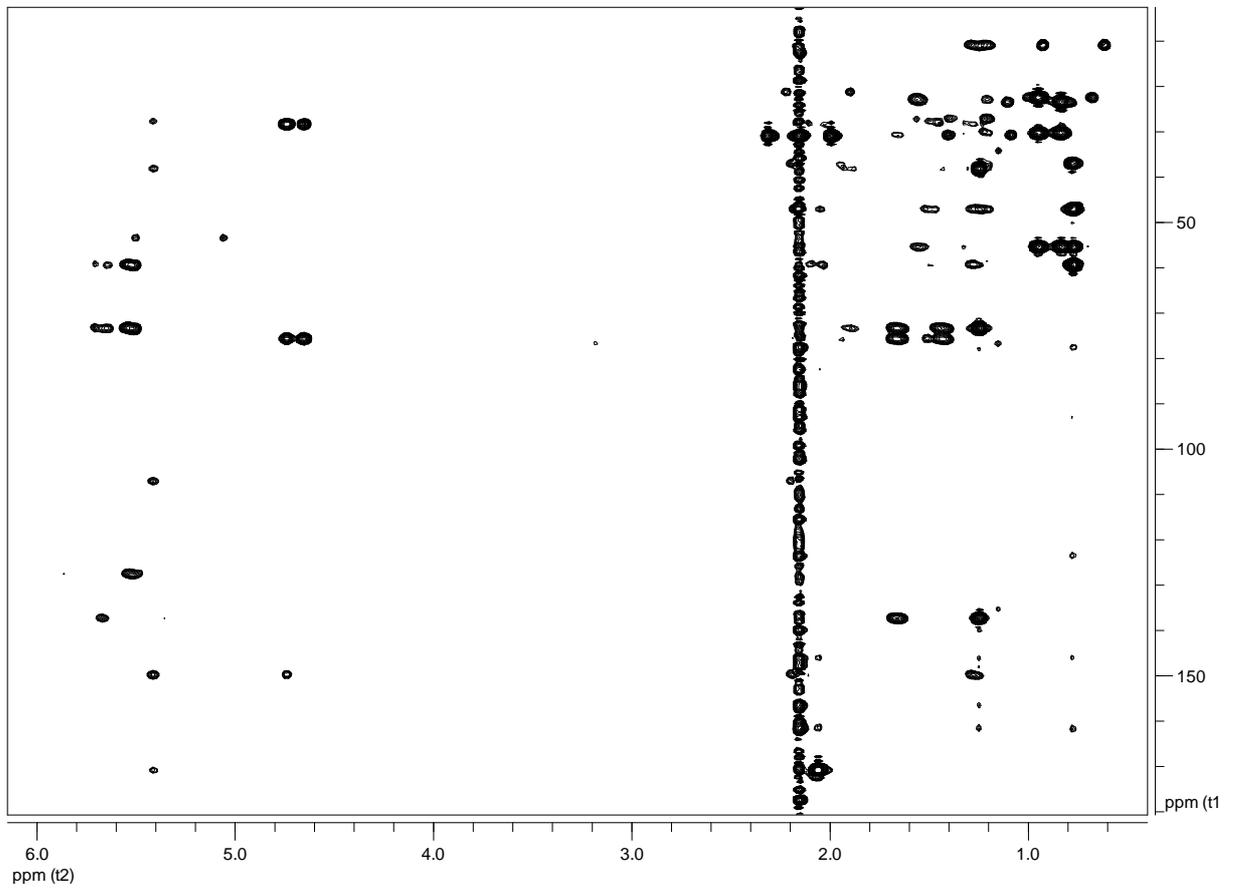
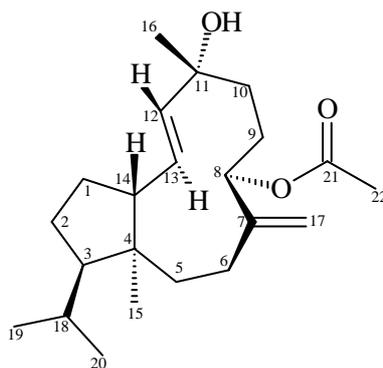
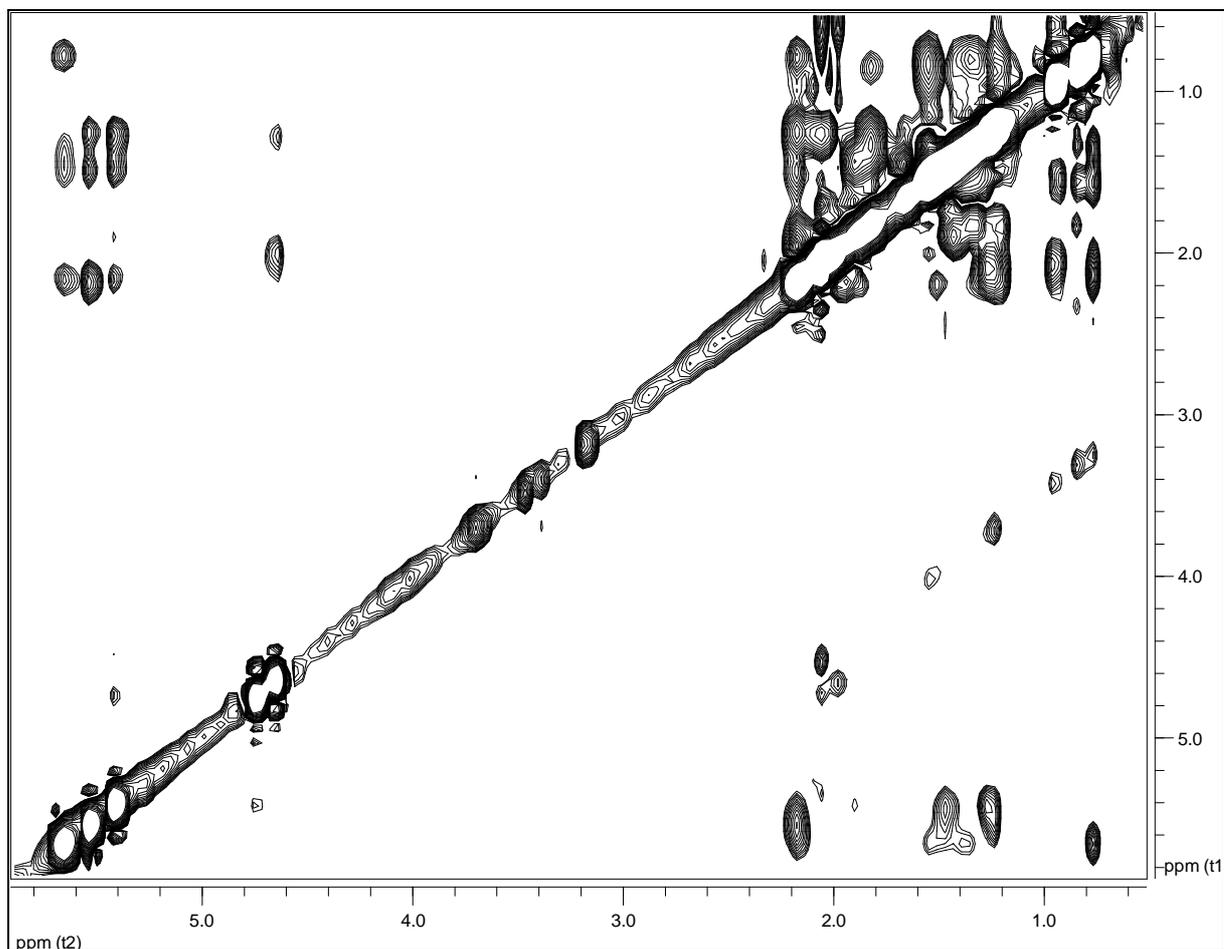
Figura 195 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

Figura 196 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-15.

4.3.16 Identificação estrutural de Sc-16

A substância codificada como **Sc-16** apresentou-se como um óleo incolor.

Comparações dos espectros de RMN de ^1H e suas expansões (Figuras 198-203, p. 287-292) e de RMN ^{13}C de **Sc-16** (Figura 204, p. 293) com os dados espectrais de **Sc-14** (Tabela 25, p. 284) mostraram importantes similaridades. Todavia, a molécula de **Sc-16** apresenta um átomo de carbono a mais em sua estrutura. Esta observação foi ratificada pela presença de um substituinte metoxila no carbono metínico da posição 1, onde constatou-se um multipletto em δ 3,42 acoplado ao hidrogênio metínico e um sinal em δ 89,09 referente ao carbono metínico substituído. Verificou-se, ainda, um simpleto em δ 3,09 condizente com hidrogênios da função metoxila.

Os dados espectrais de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais HMQC (Figura 205, p. 294), COSY (Figura 206, p. 295), HMBC (Figura 207, p. 296) e NOESY (Figura 208, p. 297) obtidos para S-16 foram compilados (Tabela 26, p. 286) e comparados com a literatura (SMYRNIOTOPOULOS et al., 2010b) e permitiram identificar a substância **Sc-16** como sendo o diterpeno 1S-1-metoxi-Bromotetrasphaerol (Figura 197), substância re-isolada de *S. coronopifolius*.

À estrutura proposta para **Sc-16** foi atribuída uma fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{BrO}_2$ inferida no espectro de massas (Figura 209, p. 298) pela observação do pico em 380 u.m.a. referente à perda de uma molécula de água a partir de $\text{M}^{+\bullet}$ 398 u.m.a.

Figura 197 – Estrutura química de Sc-16.

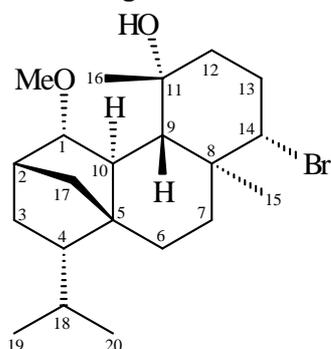
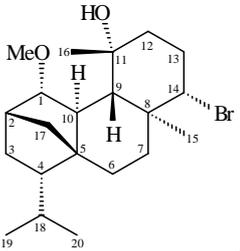
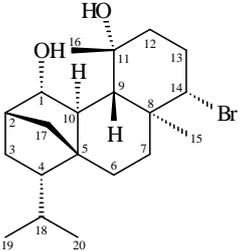


Tabela 25 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16 e Sc-14.

 Sc-16				 Sc-14			
No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)	^{13}C δ (ppm)	No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	3,42	m	89,09	1	4,01	t 3,4	80,37
2	2,24	m	36,94	2	2,04	m	41,67
3	a 1,57	m	27,87	3	a 1,62	m	28,35
	b 1,44	ddd 12,4; 5,4; 2,5			b 1,62	m	
4	1,23	m	52,41	4	1,26	m	52,30
5	–	–	50,89	5	–	–	51,82
6	a 1,94	dt 14,1; 4,6	27,02	6	a 1,97	m	27,14
	b 1,24	m			b 1,24	m	
7	a 1,85	ddd 12,8; 4,6; 2,5	38,65	7	a 1,86	m	38,60
	b 1,11	ddd 14,1; 12,8; 4,2			b 1,11	dt 13,2; 3,7	
8	–	–	40,89	8	–	–	40,81
9	1,20	d 10,8	54,59	9	1,19	d 11,2	54,61
10	1,74	dt 11,2; 2,5	40,44	10	1,74	dl 10,8	41,50
11	–	–	72,61	11	–	–	72,75
12	a 1,66	ddd 14,5; 4,6; 2,9	43,86	12	a 1,61	m	44,22
	b 1,55	m			b 1,61	m	
13	a 2,48	ddt 13,3; 12,8; 4,6	30,68	13	a 2,47	dq 5,2; 12,8	30,56
	b 2,00	ddt 13,3; 4,2; 2,9			b 2,00	m	
14	3,95	dd 12,8; 4,0	69,07	14	3,95	dd 12,8; 4,0	68,97
15	1,09	s	16,23	15	1,09	s	16,08
16	1,37	s	29,32	16	1,40	s	30,87
17	a 1,82	dl 9,6	42,13	17	a 1,87	m	42,58
	b 0,99	m			b 0,99	m	
18	1,79	m	29,86	18	1,82	m	29,61

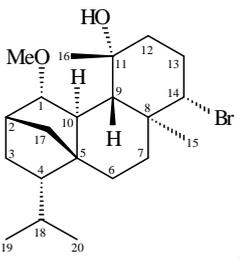
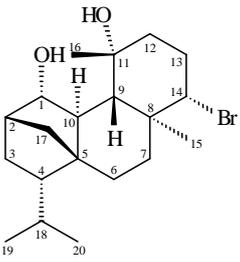
							
Sc-16				Sc-14			
No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)	No	¹ H δ(ppm)	mult, J (Hz)	¹³ C δ(ppm)
19	0,94	d 6,6	23,52	19	0,98	d 6,4	23,66
20	1,02	d 6,6	23,67	20	1,05	d 6,4	23,76
21	3,09	s	55,51				

Tabela 26 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16.

No	^1H δ (ppm)	mult, J(Hz)	^1H - ^1H NOESY	^{13}C δ (ppm)	$^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ HMBC
1	3,42	m	2, 9, 16, 17a, 21	89,09	3, 9, 10, 17, 21
2	2,24	m	1, 3a, 3b, 21	36,94	17
3	a 1,57	m	2, 4	27,87	17
	b 1,44	ddd 12,4; 5,4; 2,5	2, 19, 21		
4	1,23	m	3a	52,41	17, 19, 20
5	–	–	–	50,89	
6	a 1,94	td 14,1; 4,6	15, 20	27,02	4, 5, 10, 17
	b 1,24	m			
7	a 1,85	ddd 12,8; 4,6; 2,5	14, 17a	38,65	6, 9, 15
	b 1,11	ddd 14,1; 12,8; 4,2			
8	–	–	–	40,89	
9	1,20	d 10,8	1, 14	54,59	8, 10, 15, 16
10	1,74	dt 11,2; 2,5	15, 20	40,44	5, 17
11	–	–	–	72,61	
12	a 1,66	ddd 14,5; 4,6; 2,9	14	43,86	16
	b 1,55	m			
13	a 2,48	ddt 13,3; 12,8; 4,6	15	30,68	
	b 2,00	ddt 13,3; 4,2; 2,9	14		
14	3,95	dd 12,8; 4,0	7b, 9, 12b, 13b	69,07	9, 12, 15
15	1,09	s	6a, 10, 13a	16,23	8, 9, 14
16	1,37	s	1, 21	29,32	11
17	a 1,82	dl 9,6	1, 7b	42,13	5, 10
	b 0,99	m			
18	1,79	m		29,86	19, 20
19	0,94	d 6,6	3b	23,52	18, 20
20	1,02	d 6,6	6a, 10	23,67	18, 19
21	3,09	s	1, 2, 3b, 16	55,51	

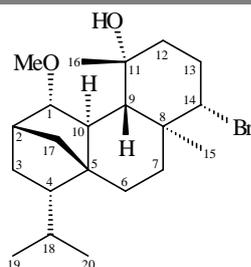


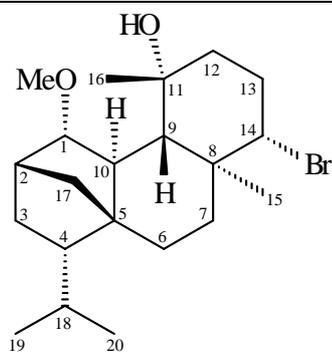
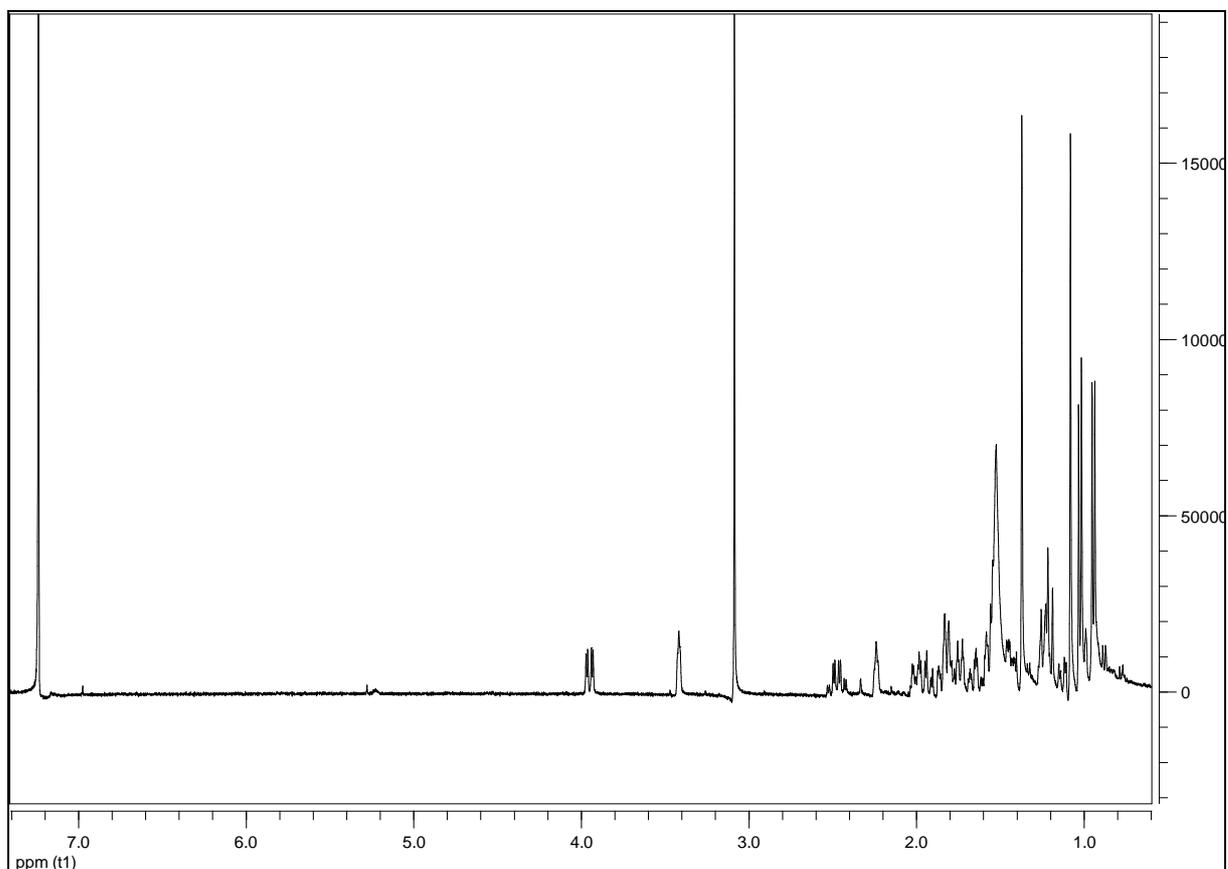
Figura 198 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

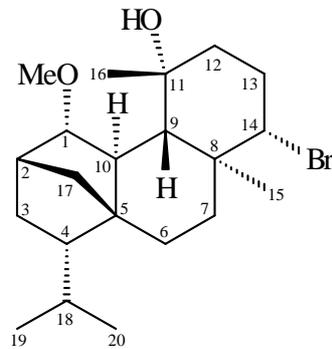
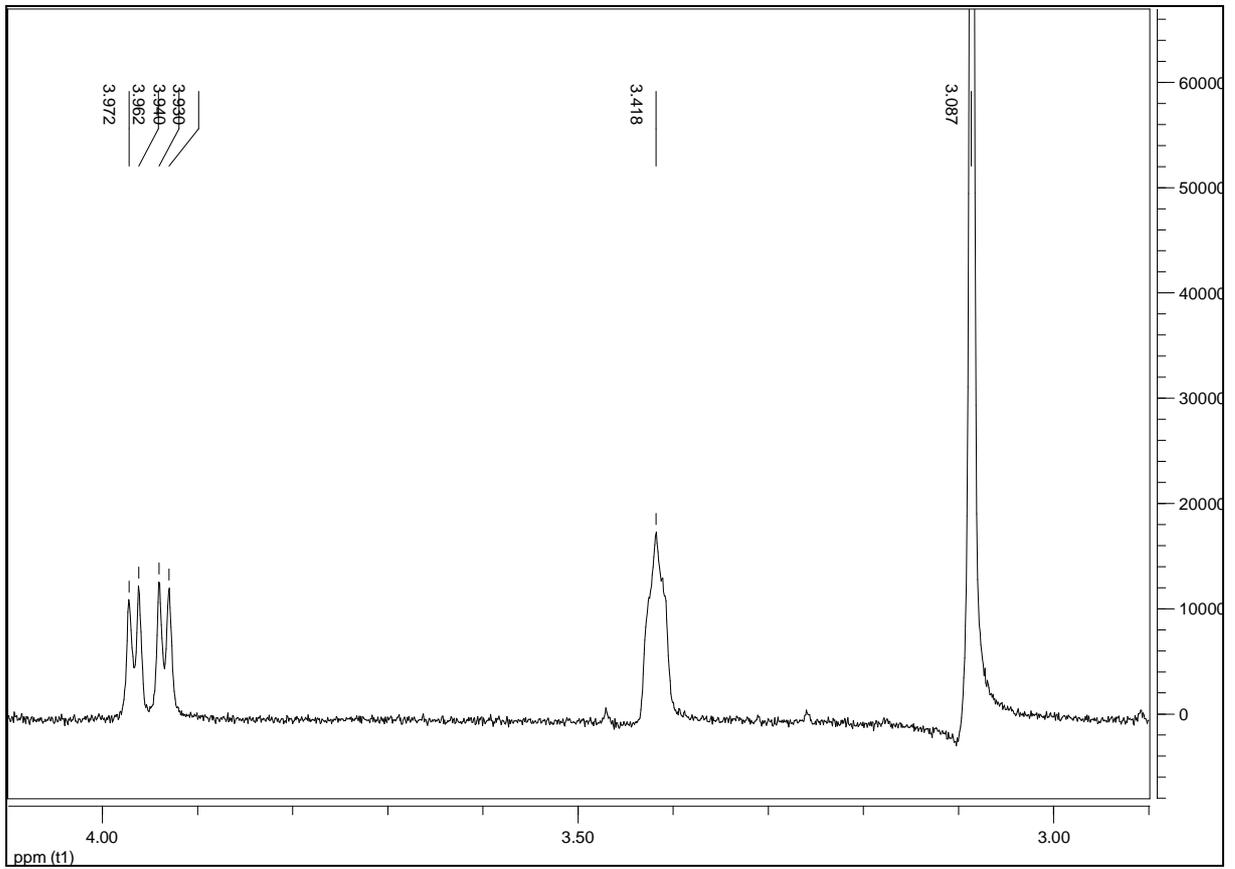
Figura 199 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

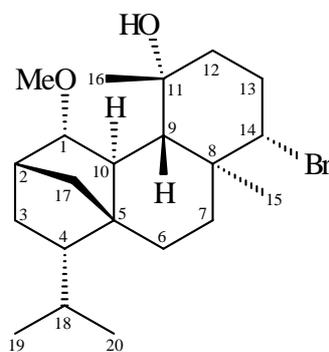
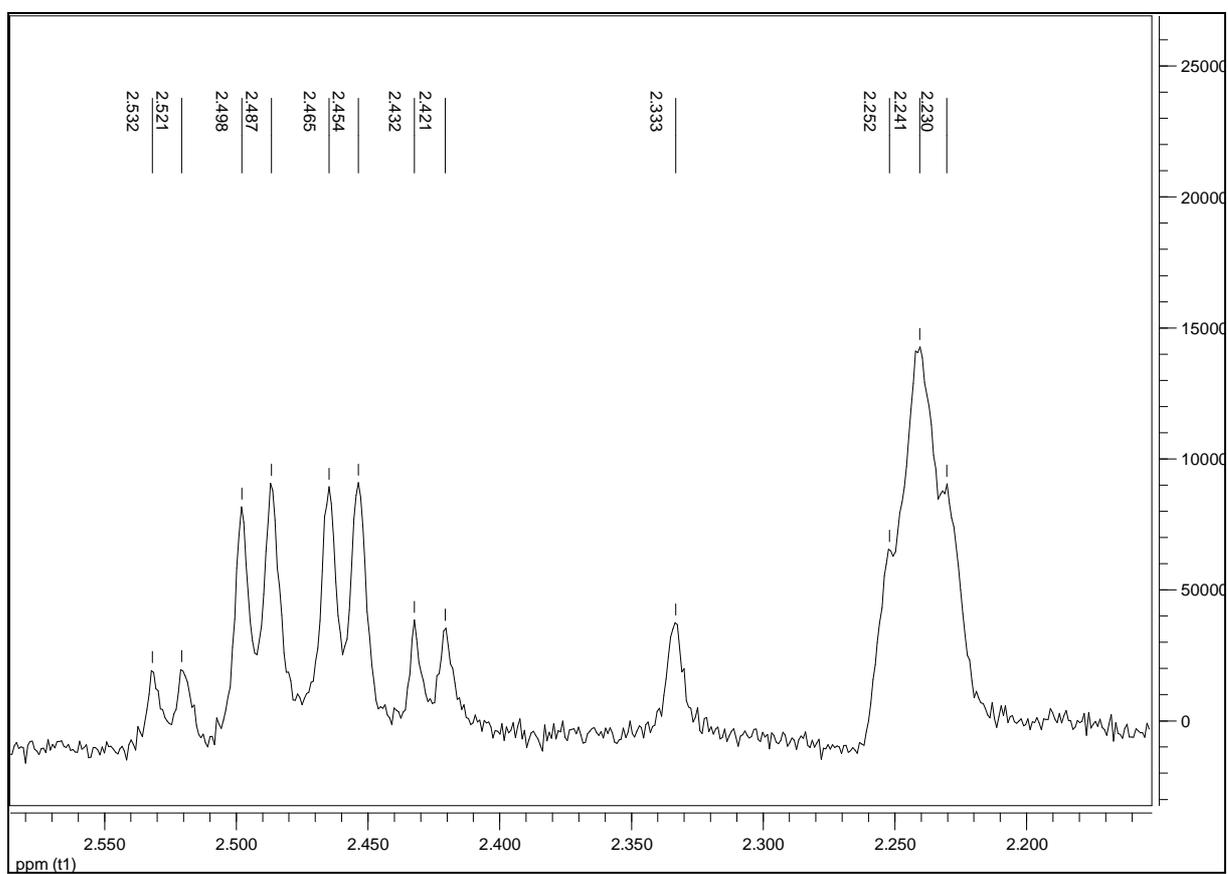
Figura 200 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

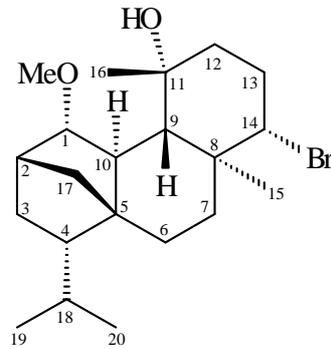
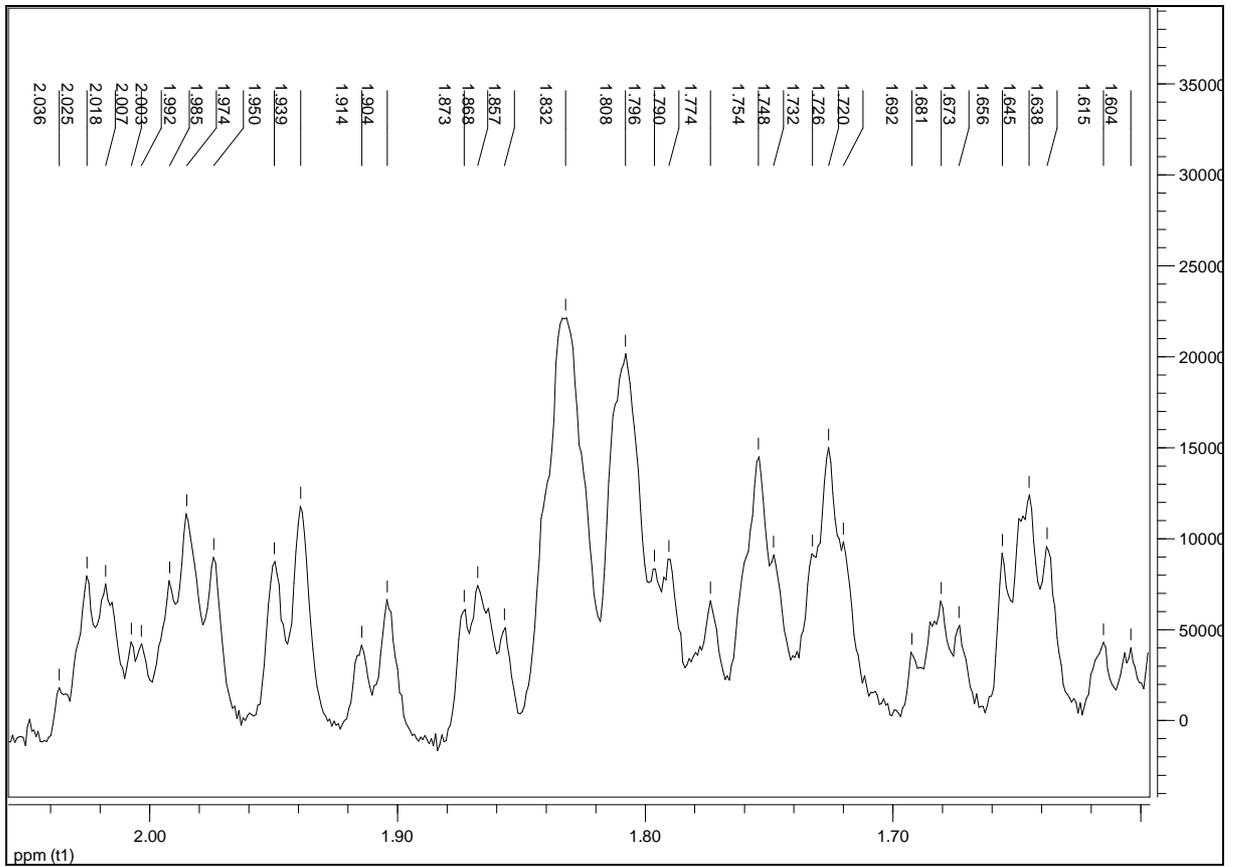
Figura 201 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

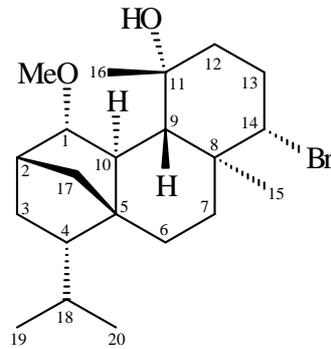
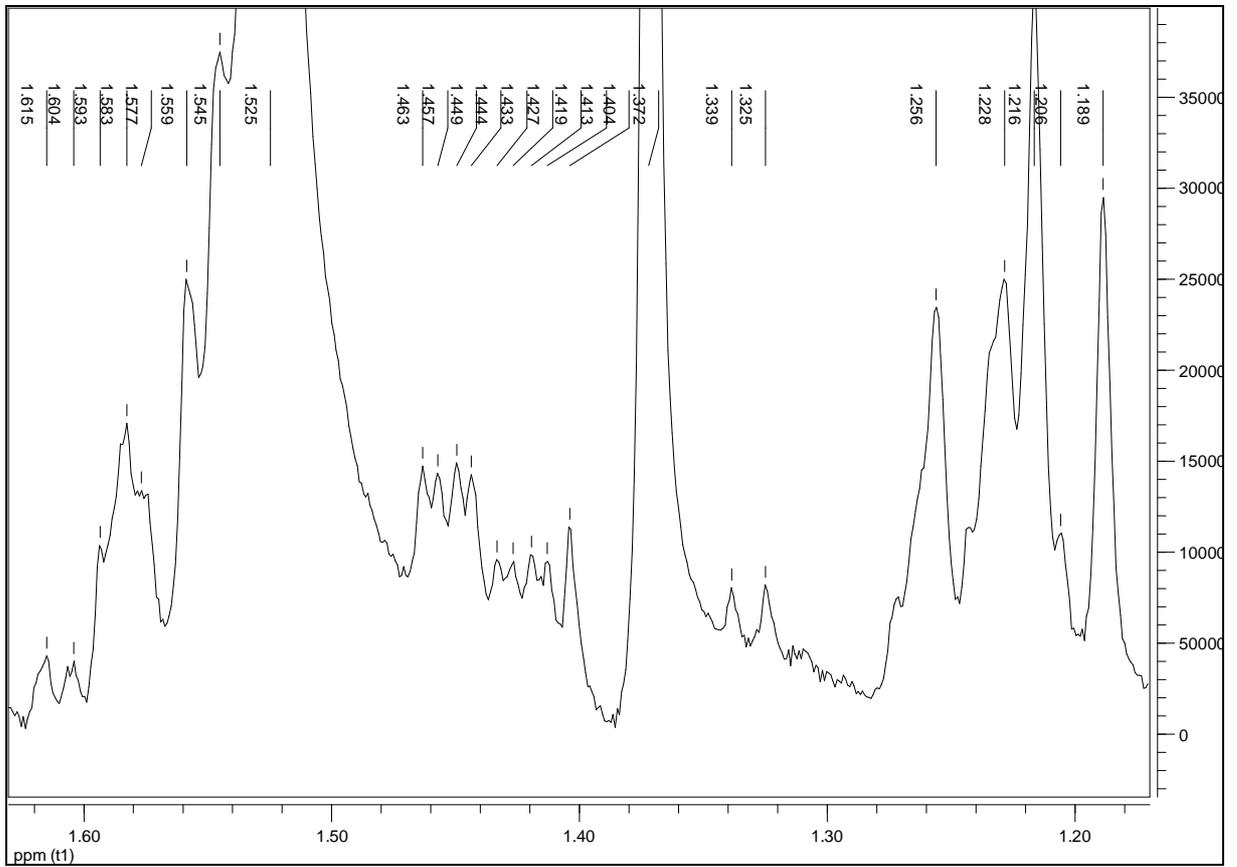
Figura 202 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

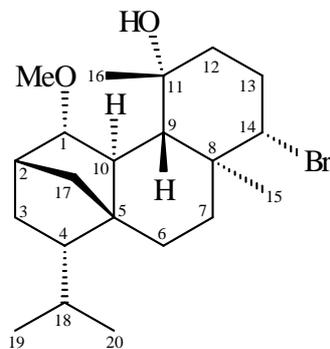
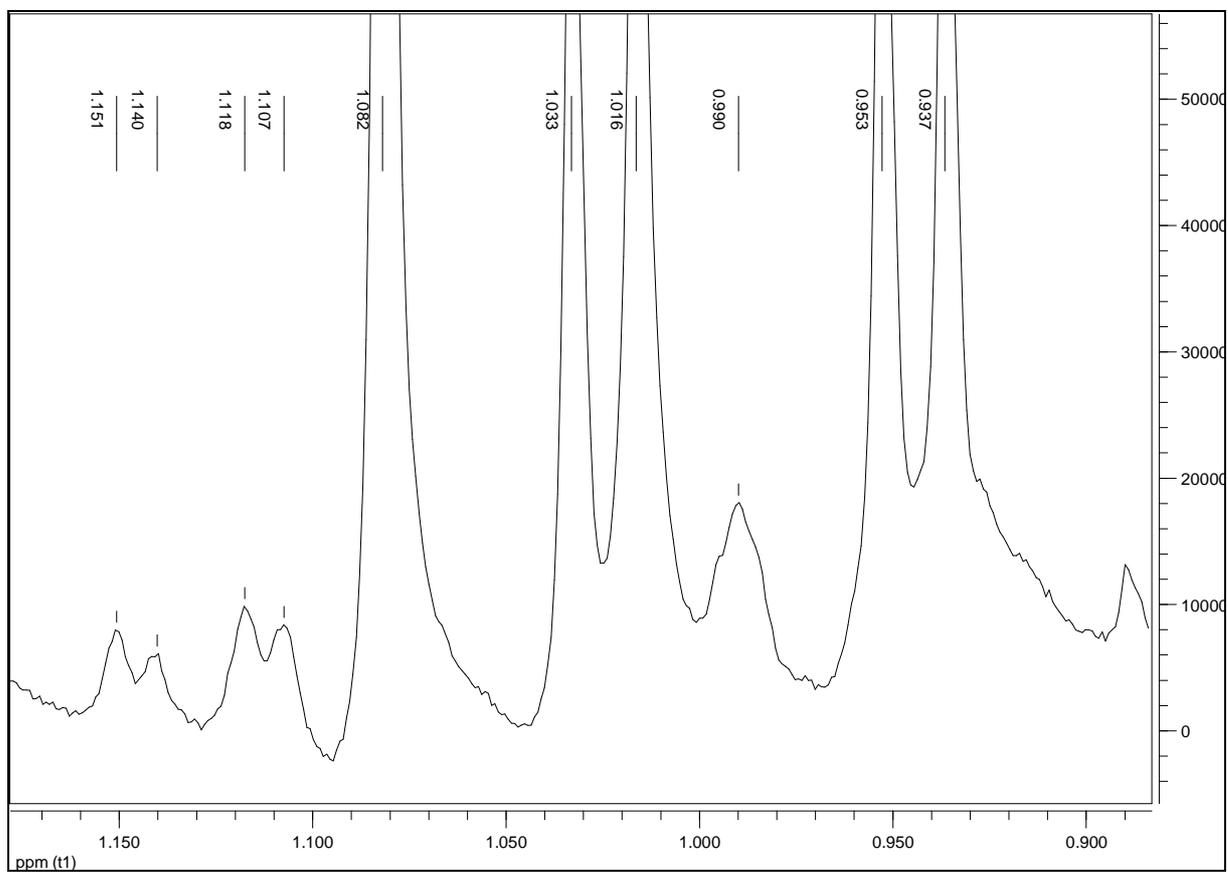
Figura 203 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

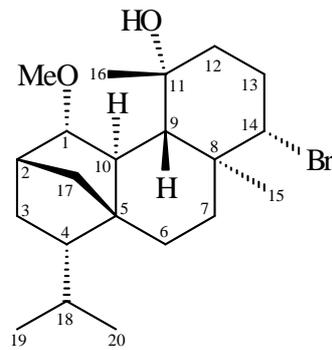
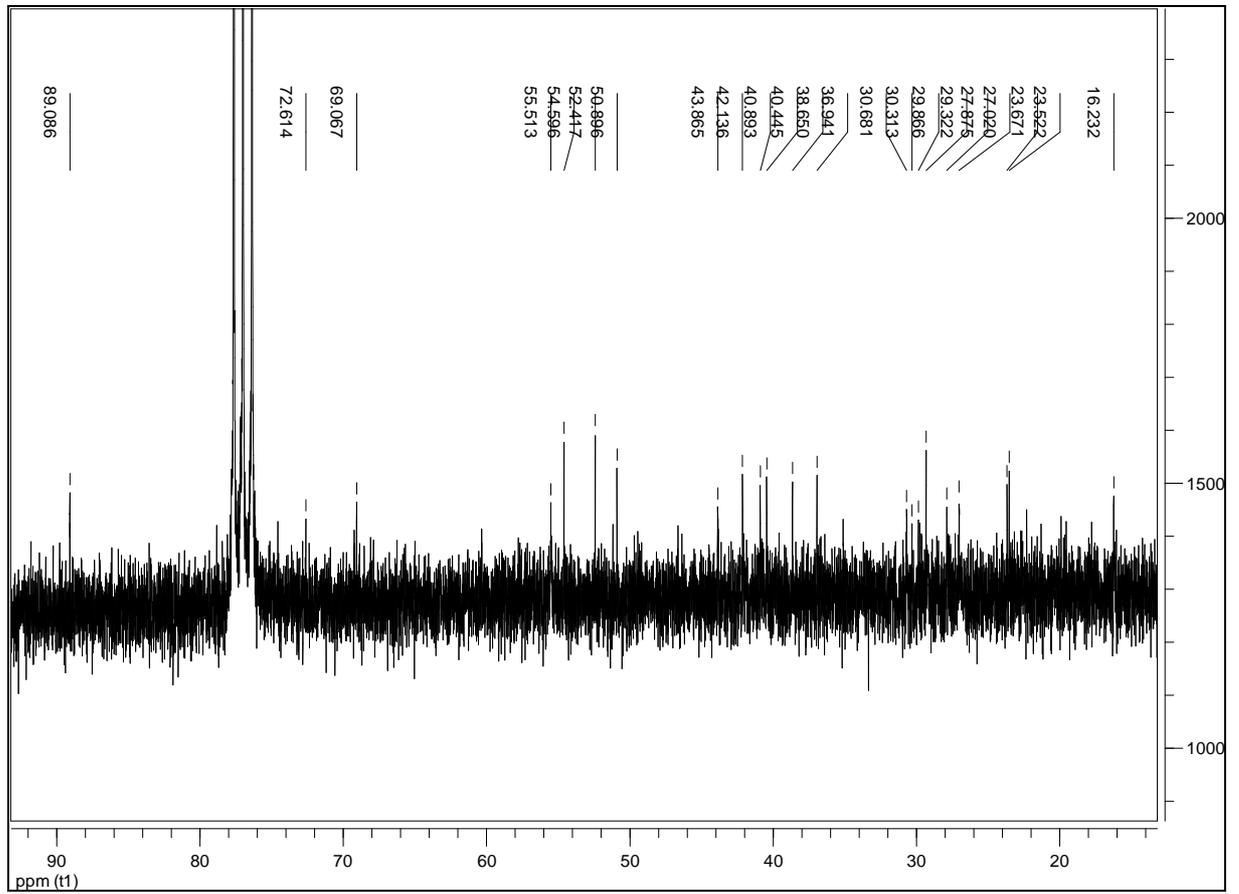
Figura 204 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-16.

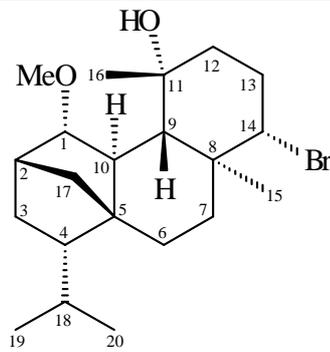
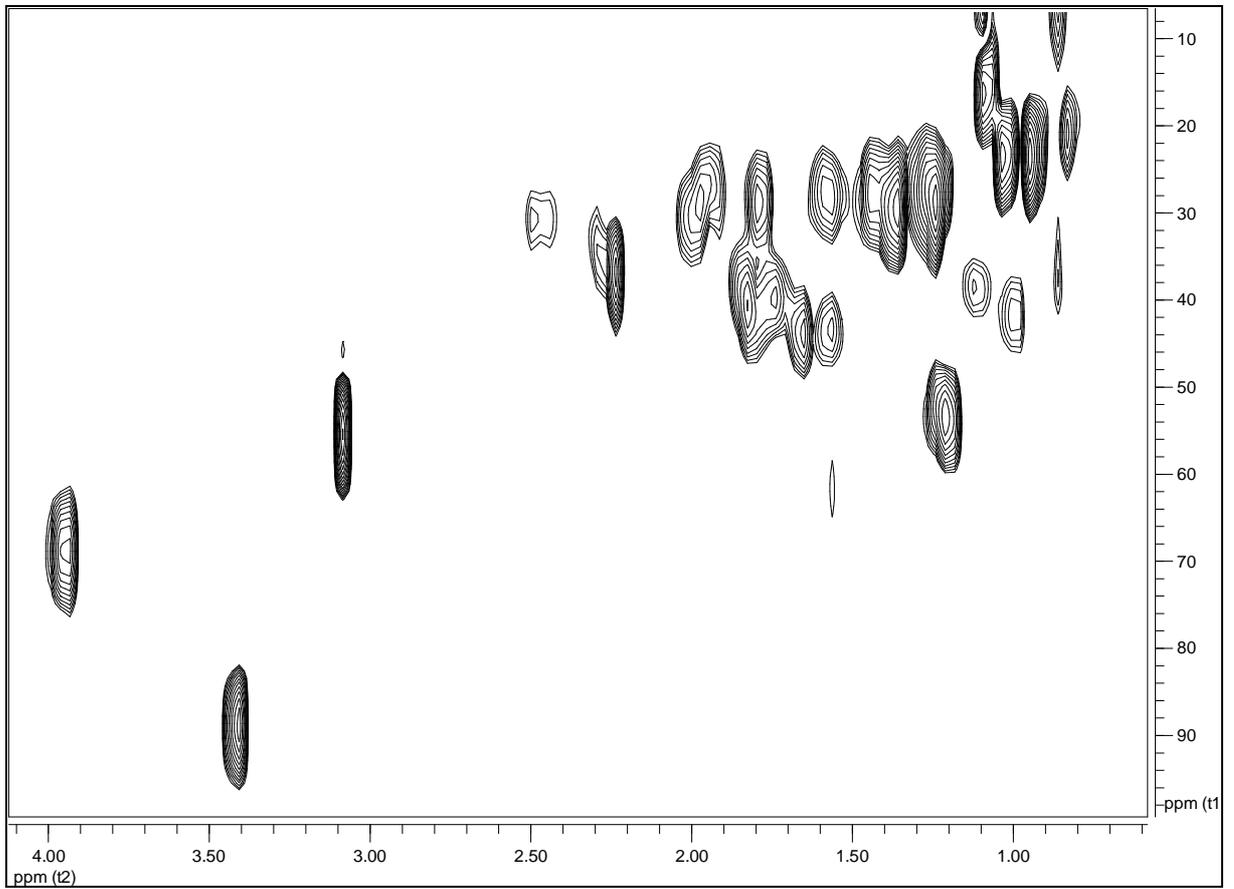
Figura 205 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

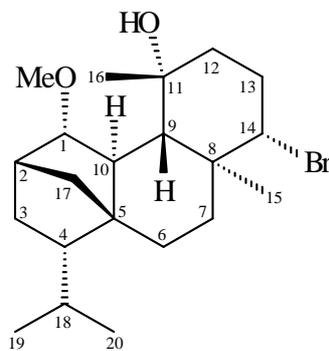
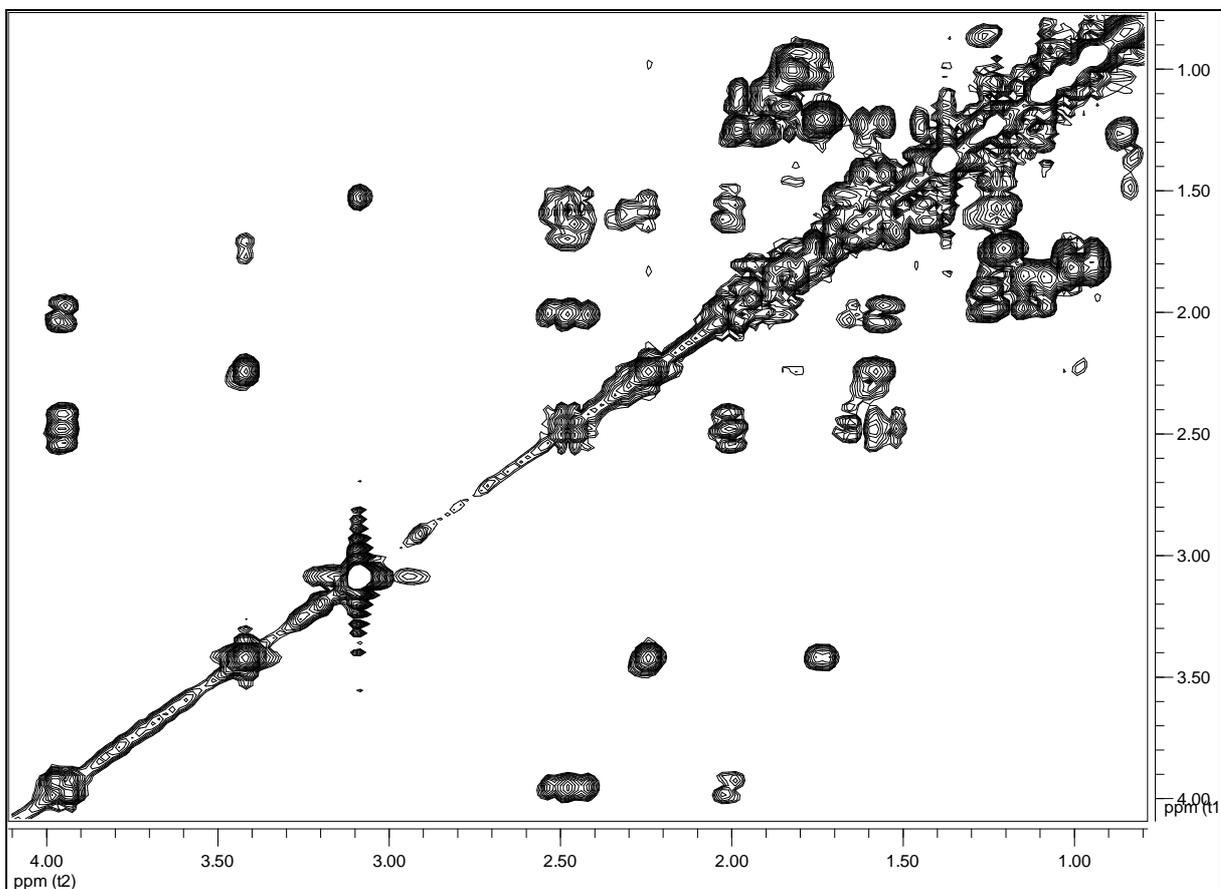
Figura 206 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

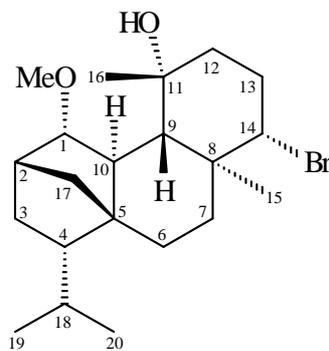
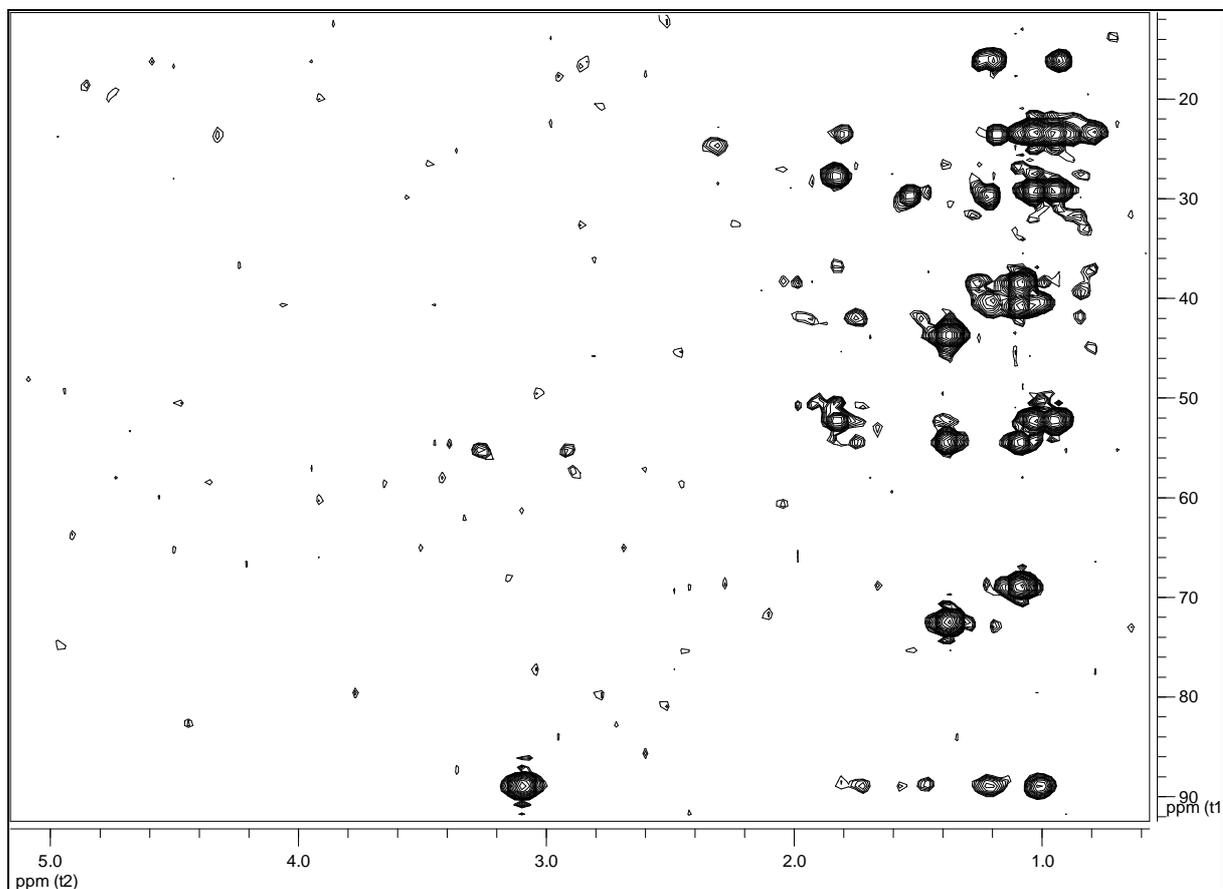
Figura 207 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

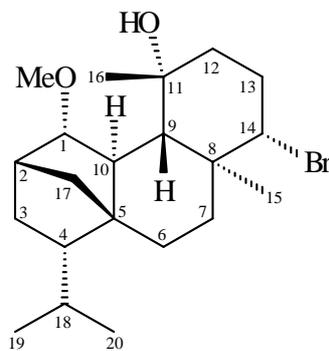
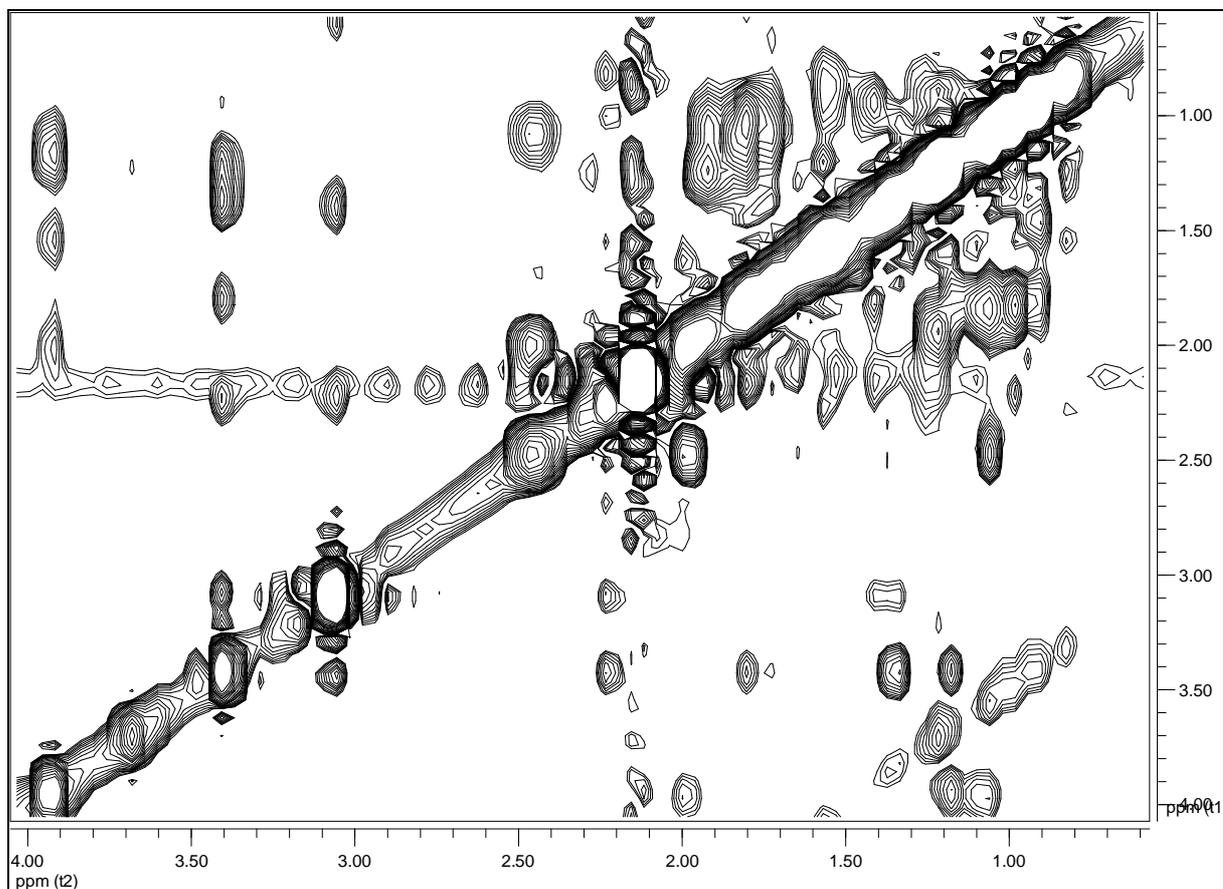
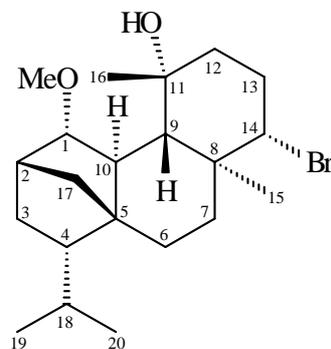
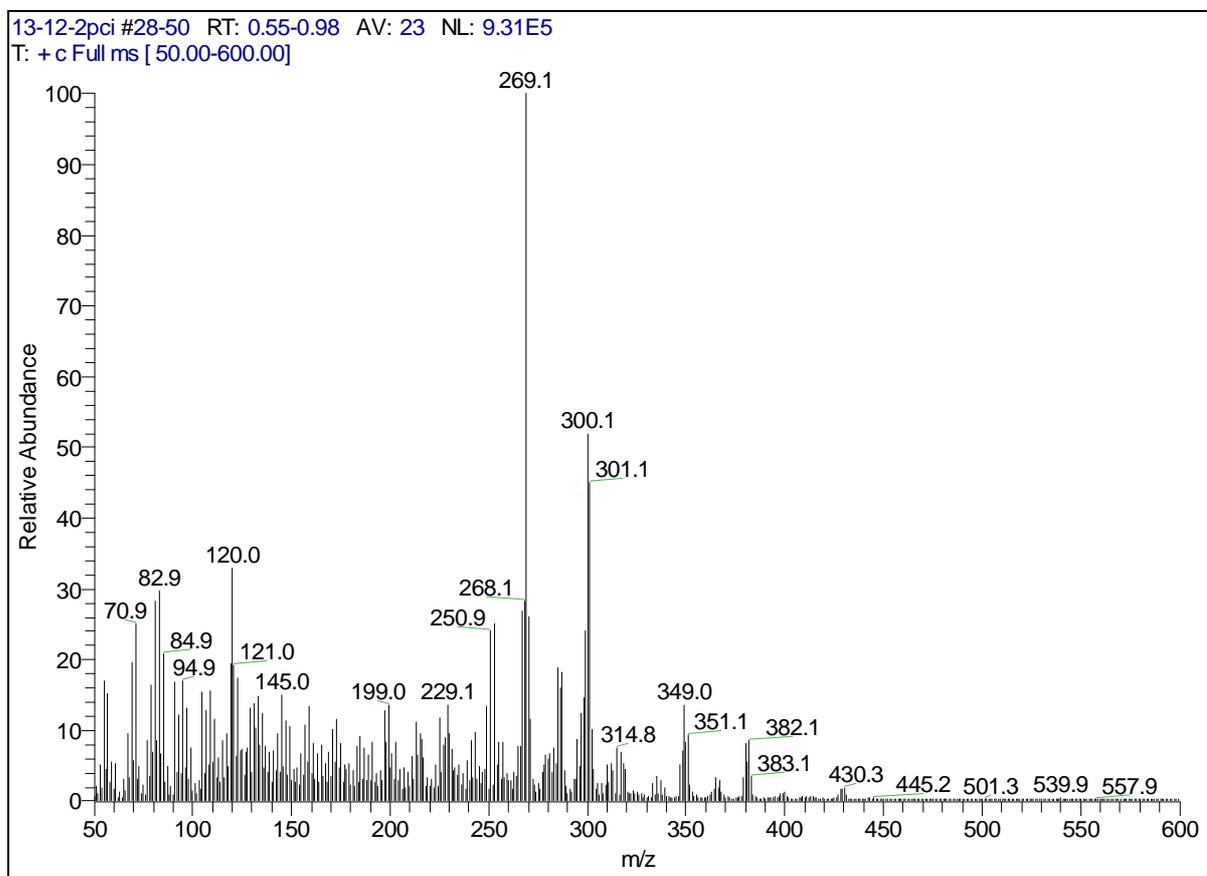
Figura 208 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-16.

Figura 209 – Espectro de massas (CI(+)-MS) de Sc-16.



4.3.17 Identificação estrutural de Sc-17

A substância **Sc-17** foi purificada através de CLAE e foi isolada como um óleo incolor. Os dados fornecidos pelos espectros de RMN ^{13}C e sua expansão (Figuras 217 e 218, p. 312-313) e espectrometria de massas ESI (Figura 211, p. 304) com pico do íon molecular M^{++} em 435 u.m.a. (412+Na) deram suporte à fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{BrO}_3$. O esquema 12 (p. 305) mostra alguns dos fragmentos fornecidos por **Sc-17**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 217, p. 312) e sua expansão (Figura 218, p. 313) exibiram sinais para 21 carbonos, sendo quatro quaternários, sete metínicos, cinco metilênicos e cinco metílicos. Dentre os carbonos, um era carbonílico, absorvendo em δ_{C} 216,91, dois foram identificados como olefínicos ressonando em δ_{C} 127,65 (C-2) e δ_{C} 128,99 (C-1), um era brominado absorvendo em δ_{C} 40,56 (C-17) e três eram oxigenados, com absorções em δ_{C} 76,32 (C-11), δ_{C} 83,80 (C-14) e δ_{C} 57,50 (C-21).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 212, p. 307) e suas expansões (Figuras 213 a 216, p. 308 a 311) mostraram sinais para dois hidrogênios olefínicos sendo um duplo multiplete em δ_{H} 5,69 (H-2) e um duplete largo em δ_{H} 5,95 (H-1) acoplado *cis* entre si com J de 10,5 Hz, um duplete largo relativo a um hidrogênio oximetínico em δ_{H} 3,09 (H-14) o qual acopla vicinal ($J=6,9$ Hz) com o duplo duplete em δ_{H} 2,81 (H-13 α) e este exibe acoplamento geminal ($J=18,4$ Hz) com o duplete em δ_{H} 2,67 (H-13 β).

Ainda, um simpleto relativo a hidrogênios metoxílicos em δ_{H} 3,36 (OCH₃-21), dois hidrogênios halometilênicos sendo um duplete em δ_{H} 3,93 (H-17a) que acopla geminal com o duplo duplete em δ_{H} 3,70 (H-17b) que acopla a longa distância com H-2 ($J=1,8$ Hz).

Na região de campo alto, duas metilas secundárias de um grupo isopropílico em δ_{H} 0,87 (CH₃-19) e δ_{H} 0,93 (CH₃-20) mostram acoplamento vicinal ($J=6,8$ Hz) com um duplo hepteto do grupo metínico que absorve em δ_{H} 1,94 (H-18) com o qual encontram-se ligadas. Presentes ainda, dois simpletos pertinentes a metilas

quaternárias em δ_H 1,29 (CH₃-16) e δ_H 0,76 (CH₃-15), como também um hidrogênio intercambiável em δ_H 3,48 (C11-OH).

Com grau de insaturação 5, sugeriu-se que a estrutura contivesse, além do grupo carbonílico, uma ligação dupla e três anéis.

Todos os carbonos e seus respectivos hidrogênios foram assinalados mediante a análise dos experimentos bidimensionais COSY (Figura 219, p. 314) e HMQC (Figura 220, p. 315).

A comparação dos dados de **Sc-17** com aqueles de **Sc-2** (Sphaerococcenol A) (Tabela 27, p. 302) sugeriu que o metabólito em questão poderia tratar-se de um derivado do referido diterpeno.

Baseando-se nas correlações observadas no espectro de HMBC (Figura 221, p. 316) a três ligações de H-14 (δ_H 3,09), CH₃-16 (δ_H 1,29) e C11-OH (δ_H 3,48) e a duas ligações de H-13 α e 13 β (δ_H 2,81 e 2,67, respectivamente) com a carbonila C-12 (δ_C 216,91), foi possível definir a posição da carbonila em C-12. A posição da ligação olefínica entre C-2 e C-1 foi estabelecida a partir de correlações do H-1 (δ_H 5,95) a 2J com C-10 (δ_C 35,39) e a 3J com C-3 (δ_C 22,65), C-5 (δ_C 40,09) e C-9 (δ_C 42,88) e do H-4 (δ_H 1,74) a 3J com C-2 (δ_C 127,65).

A correlação no HMBC a 3J entre os hidrogênios metílicos CH₃-19 (δ_H 0,87) e CH₃-20 (δ_H 0,93) e o C-4 (δ_C 42,03) permitiram confirmar a posição do grupo isopropila no C-4.

Ainda no espectro de HMBC, a correlação entre o H-17a (δ_H 3,93) com C-4 (δ_C 40,09) e C-5 (δ_C 24,68) e do H-17b (δ_H 3,70) com C-4 (δ_C 40,09) assegurou a posição do grupo bromometila no C-5 (δ_C 40,09).

O carbono metoxilado foi posicionado em C-14, mediante o que pôde ser concluído pelas correlações a 2J do H-13 β (δ_H 2,67) e a 3J do H-9 (δ_H 2,46), CH₃-15 (δ_H 0,76) e CH₃-21 (δ_H 3,36) com o C-14 (δ_C 83,80) e pelas correlações a 3J entre o H-14 (δ_H 3,09) com C-9 (δ_C 42,88) e C-12 (δ_C 216,91).

Ademais, as correlações entre CH₃-15 (δ_H 0,76) a 2J com C-8 (δ_C 39,75) e a 3J com C-7 (δ_C 29,13), C-9 (δ_C 42,88) e C-14 (δ_C 83,80), e entre CH₃-16 (δ_H 1,29) a 2J

com C-11 (δ_C 76,32) e a 3J com C-9 (δ_C 42,88) e C-12 (δ_C 216,91) confirmaram as posições dos grupos metílicos quaternários.

A estereoquímica relativa de **Sc-17** foi atribuída através de experimentos NOE (Figura 222, p. 317). As correlações NOE entre H-1/H-9, H-1/CH₃-16, H-9/CH₃-16, H-17a/H-9, H-17b/H-3 β e H-17a/H-7 β e H-17b/H-4, estabeleceram a estereoquímica em C-4, C-5, C-9 e C-11.

As correlações entre H-10/CH₃-15 e H-10/CH₃-19 permitiram inferir a estereoquímica em C-8 e C-10.

A ausência de correlação entre H-14/H-9 e as correlações NOE entre CH₃-15/H-14, H-14/H-7 α , H-14/H-13 α , estabeleceram a estereoquímica em C-14.

A configuração *trans* diaxial dos hidrogênios H-9 (δ_H 2,46) e H-10 (δ_H 2,71) foi suportada pela alta constante de acoplamento ($J=12,9$ Hz) apresentada pelos mesmos.

A análise de todos os dados (Tabela 28, p. 302) culminou com a conclusão de que o metabólito **Sc-17** trata-se do 14R-metoxi-13,14-diidro-Sphaerococcenol A (Figura 210), substância isolada pela primeira vez como produto natural.

Figura 210 – Estrutura química de Sc-17

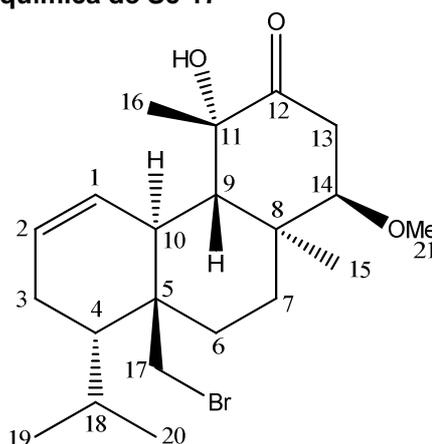


Tabela 27 - Dados comparativos de de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17 e Sc-2.

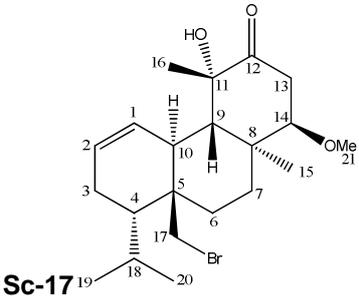
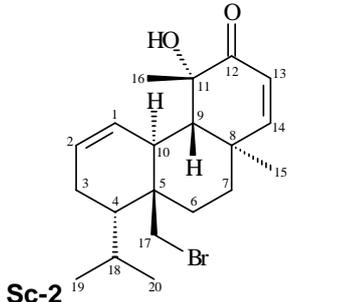
							
No.	^1H (δ)	mult (J)	^{13}C (δ)	No	^1H (δ (ppm))	mult, J (Hz)	^{13}C (δ (ppm))
1	5,95	dl 10,5	128,99	1	6,03	dl 10,4	128,18
2	5,69	dm 10,5	127,65	2	5,73	ddt 10,4; 5,0; 2,5	127,65
3	2,10 β 1,98 α	m m	22,65	3	a 2,15	ddd 19,5; 7,0; 5,0; 2,5	22,28
4	1,74	M	42,03	4	b 1,98 1,76	m dl 7,0	41,98
5	-		40,09	5	-	-	40,18
6	1,73 α 1,50 β	ddd 14,0; 14,0; 4,0 ddd 14,0; 4,7; 2,9	24,68	6	a 1,83	dddd 13,7; 13,2; 4,6; 2,5	32,97
7	2,13 β 0,97 α	ddd 14,0; 14,0; 4,7 ddd 14,0; 4,0; 2,9	29,13	7	b 1,57 a 1,66	ddd 13,7; 2,7; 2,5 ddd 13,2; 13,2; 3,7	24,45
8	-		39,75	8	b 1,45	ddd 13,2; 4,6; 2,5	36,79
9	2,46	d 12,9	42,88	9	-	-	45,43
10	2,71	dm 12,9	35,39	10	1,91	d 12,4	45,43
11	-		76,32	11	2,88	ddd 12,4; 5,0; 2,5	35,44
12	-		216,91	12	-	-	75,27
13	2,81 α 2,67 β	dd 18,4; 6,9 d 18,4	38,90	13	-	-	203,37
14	3,09	dl 6,9	83,80	14	6,05	d 10,0	124,40
15	0,76	s	17,21	15	6,81	d 10,0	162,02
16	1,29	s	31,17	16	1,07	s	21,36
17	3,93a 3,70b	d 10,5 dd 10,5; 1,8	40,56	17	1,32	s	31,30
18	1,94	dhept 6,7; 2,0	25,82	18	a 3,88	d 10,4	39,86
19	0,87	d 6,7	19,25	19	b 3,70	dd 10,4; 2,5	39,86
20	0,93	d 6,7	25,82	20	1,95	m	25,80
21	3,36	s	57,50	21	0,96	d 6,8	25,92
11OH	3,48	s	-	22	0,90	d 6,8	19,45

Tabela 28 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensionais de Sc-17.

No.	^1H (δ)	mult (J)	NOESY ($^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$)	^{13}C (δ)	Tipo	HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)
1	5,95	dl 10,5	12, 15, 11OH	128,99	CH	3 α , 9, 10
2	5,69	dm 10,5	2 α , 2 β	127,65	CH	3 α , 3 β , 4, 5, 10
	2,10	m	1, 3, 17b	22,65	CH ₂	1, 2, 4, 18
3	β	m	1, 13			
	1,98					
4	α					
	1,74	m	2 β , 17b	42,03	CH	6 α , 6 β , 10, 17a, 17b, 18, 19, 20
5	-			40,09	C	
6	1,73	ddd 14,0; 14,0; 4,0	13, 16, 18	24,68	CH ₂	7 β , 8, 17a, 17b
	1,50	ddd 14,0; 4,7; 2,9	6 α , 6 β			
7	β					
	2,13	ddd 14,0; 14,0; 4,7	5 β , 12, 17a, 21	29,13	CH ₂	6 α , 8, 14, 15
8	α					
	0,97	ddd 14,0; 4,0; 2,9	5 β , 8, 16			
9	-			39,75	C	
10	2,46	d 12,9	6 β , 14, 15, 17a	42,88	CH	1, 8, 11, 14, 15, 16, 11OH
	2,71	dm 12,9	2 α , 5 α , 16, 19	35,39	CH	1, 2, 4, 6 α , 6 β , 9
11	-			76,32	C	
12	-			216,91	C	
	2,81	dd 18,4; 6,9	8, 16	38,90	CH ₂	8, 11, 13 α , 13 β , 14
13	α	d 18,4	15, 21			
	2,67					
14	β					
	3,09	dl 6,9	6 α , 9 α , 16, 21	83,80	CH	8, 9, 12, 13 β , 15, 21
15	0,76	s	5 α , 6 α , 8, 9 α , 13, 11OH	17,21	CH ₃	7 β , 8, 9, 14
16	1,29	s	9 β , 12, 14, 11OH	31,17	CH ₃	9, 11, 12
	3,93a	d 10,5	6 β , 12	40,56	CH ₂	4, 6 α , 6 β
17	3,70b	dd 10,5; 1,8	2 β , 3			
	1,94	dhept 6,7; 2,0	5 α	25,82	CH	19, 20
18	0,87	d 6,7	13	19,25	CH ₃	4, 18, 20
19	0,93	d 6,7		25,82	CH ₃	4, 18, 19
20	3,36	s	8, 6 β , 9 β	57,50	CH ₃	14
21	3,48	s	14, 15, 16	-	OH	11, 12

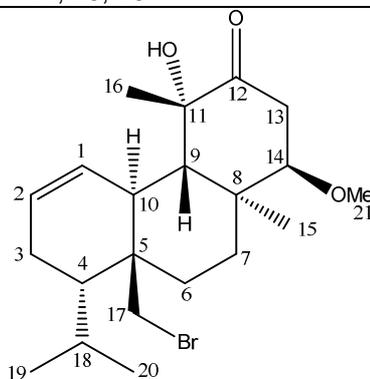
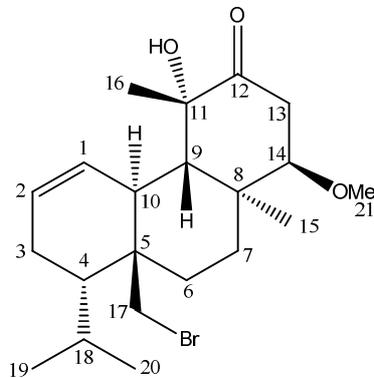
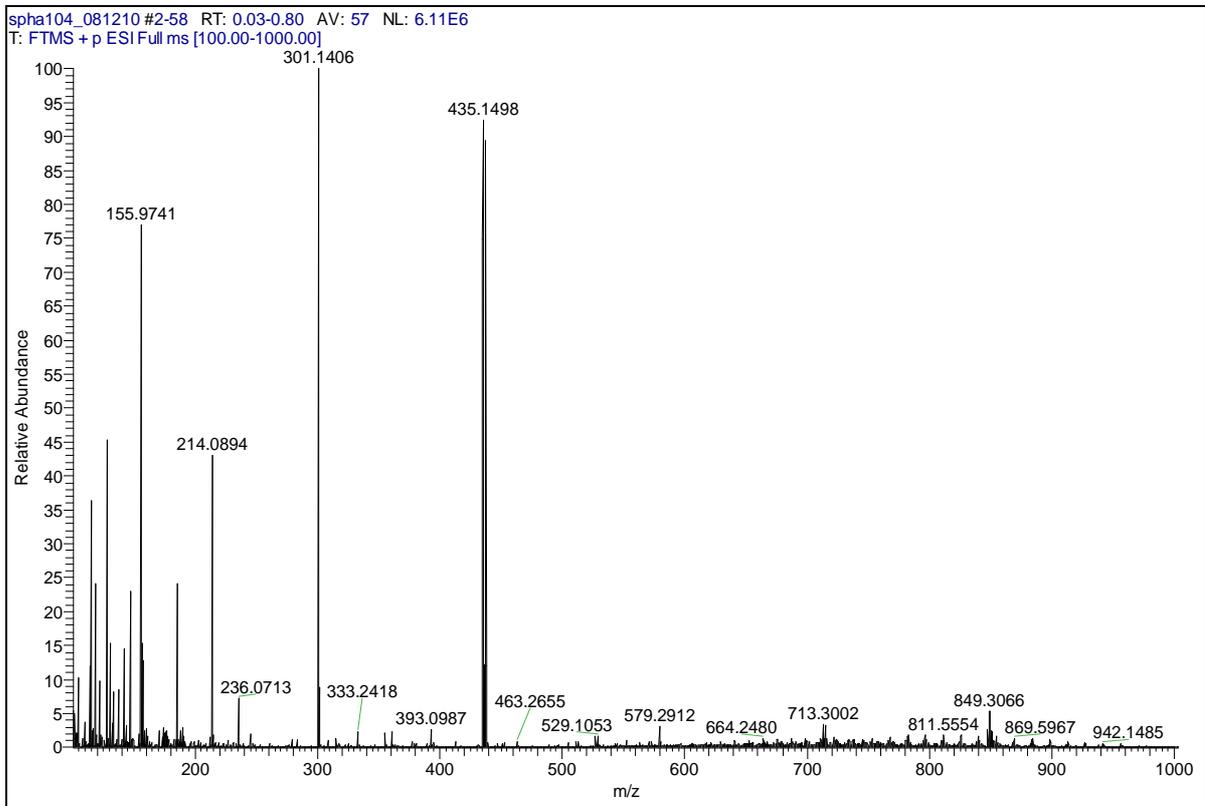
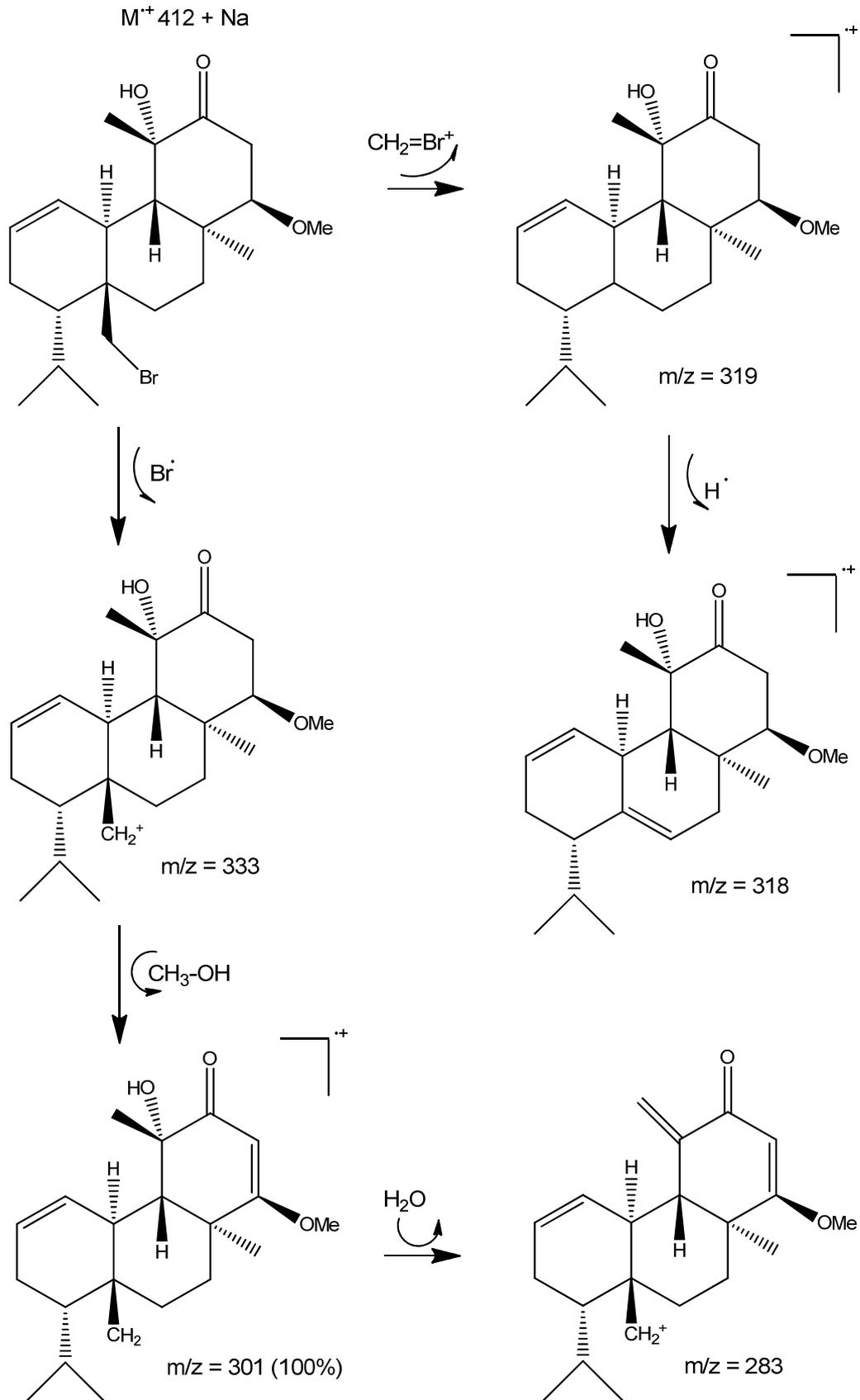


Figura 211 - Espectro de massas (ESI(+)-MS) de Sc-17



Esquema 12 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-17



continua

Continuação do Esquema 12

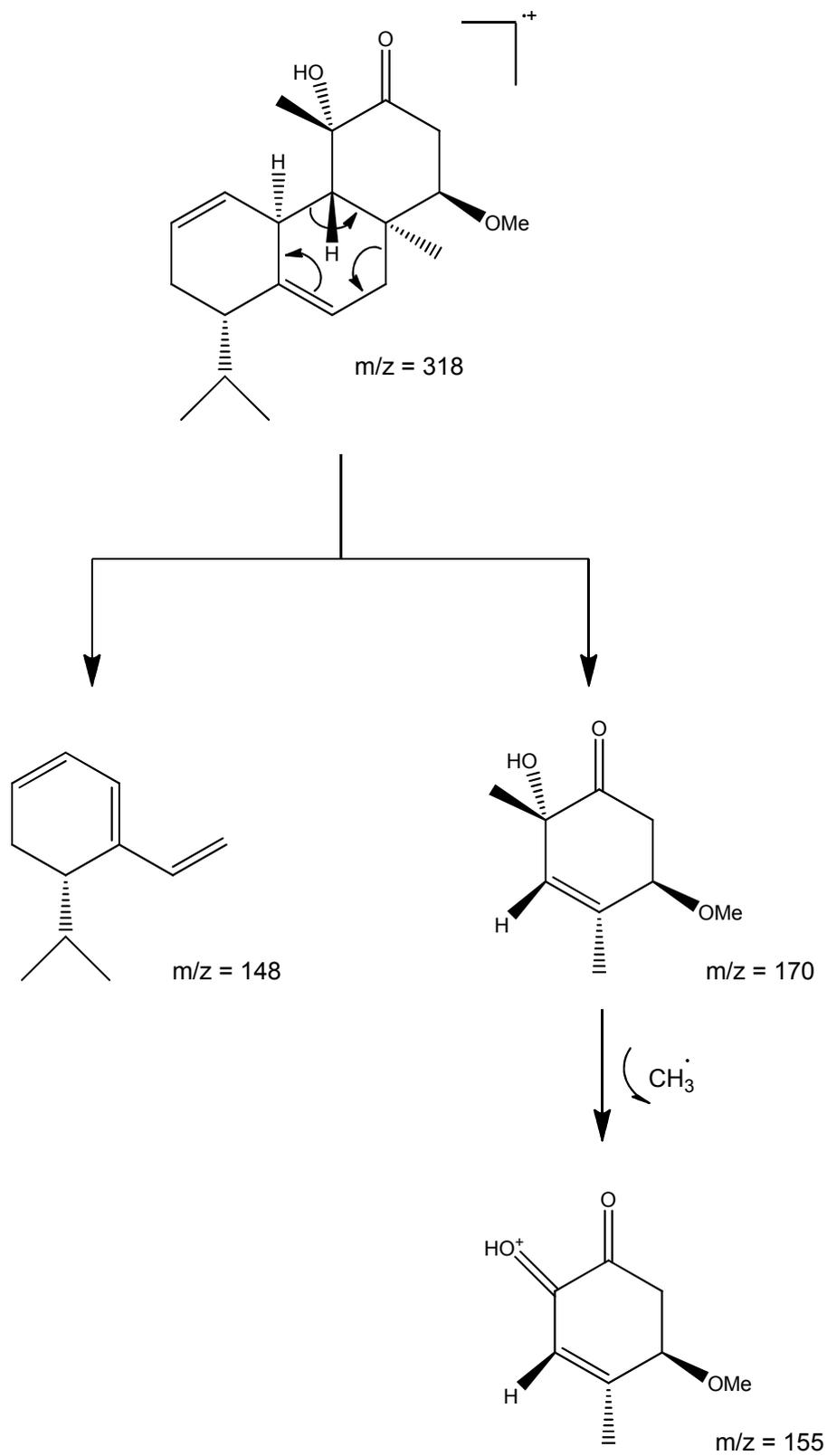


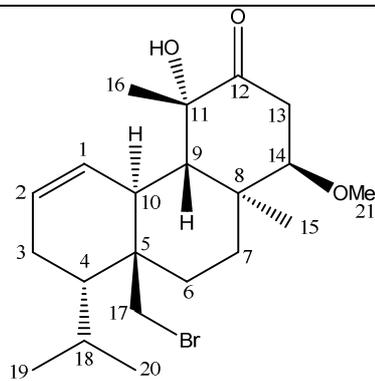
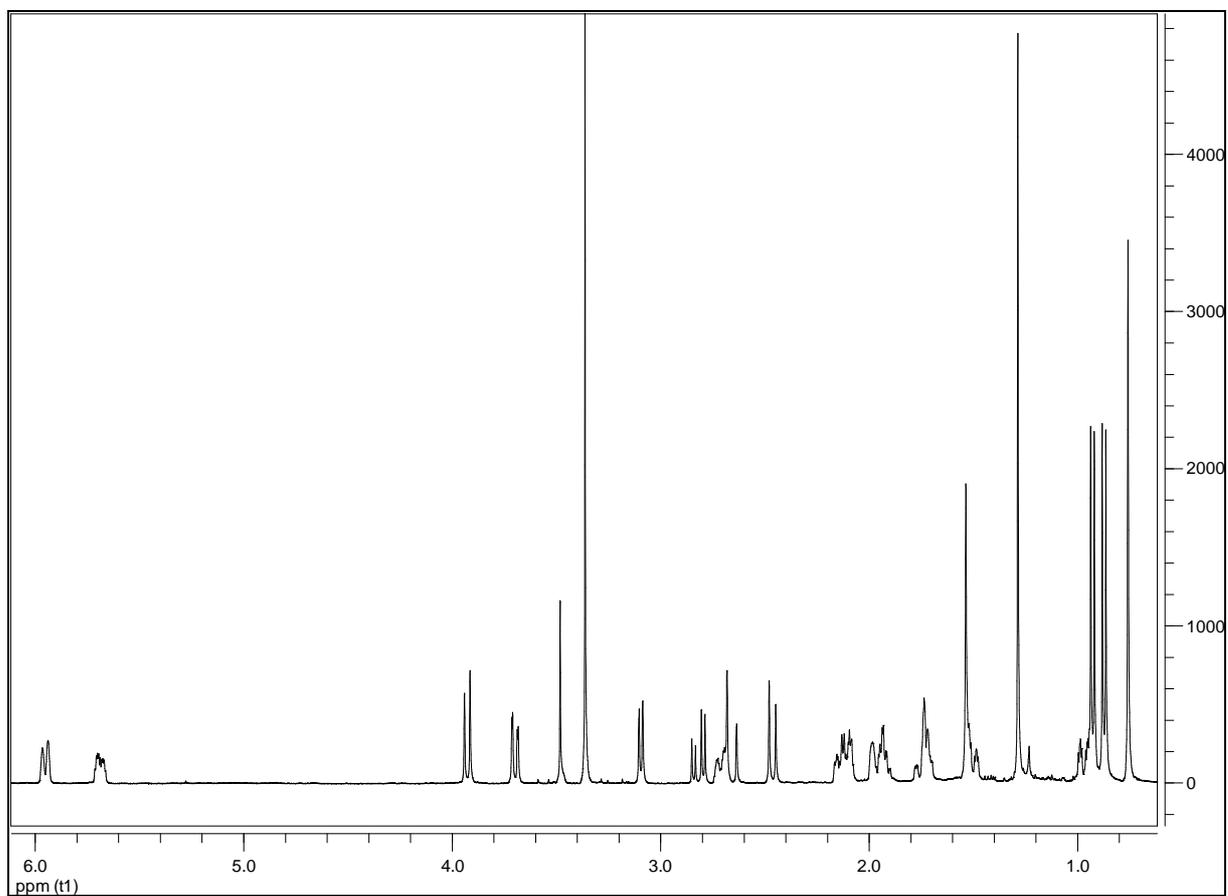
Figura 212 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

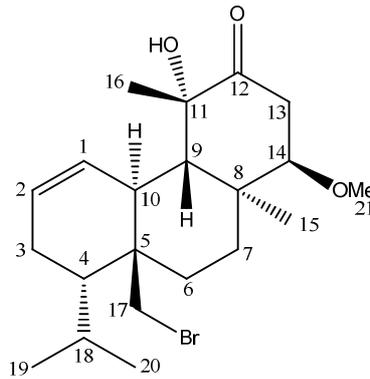
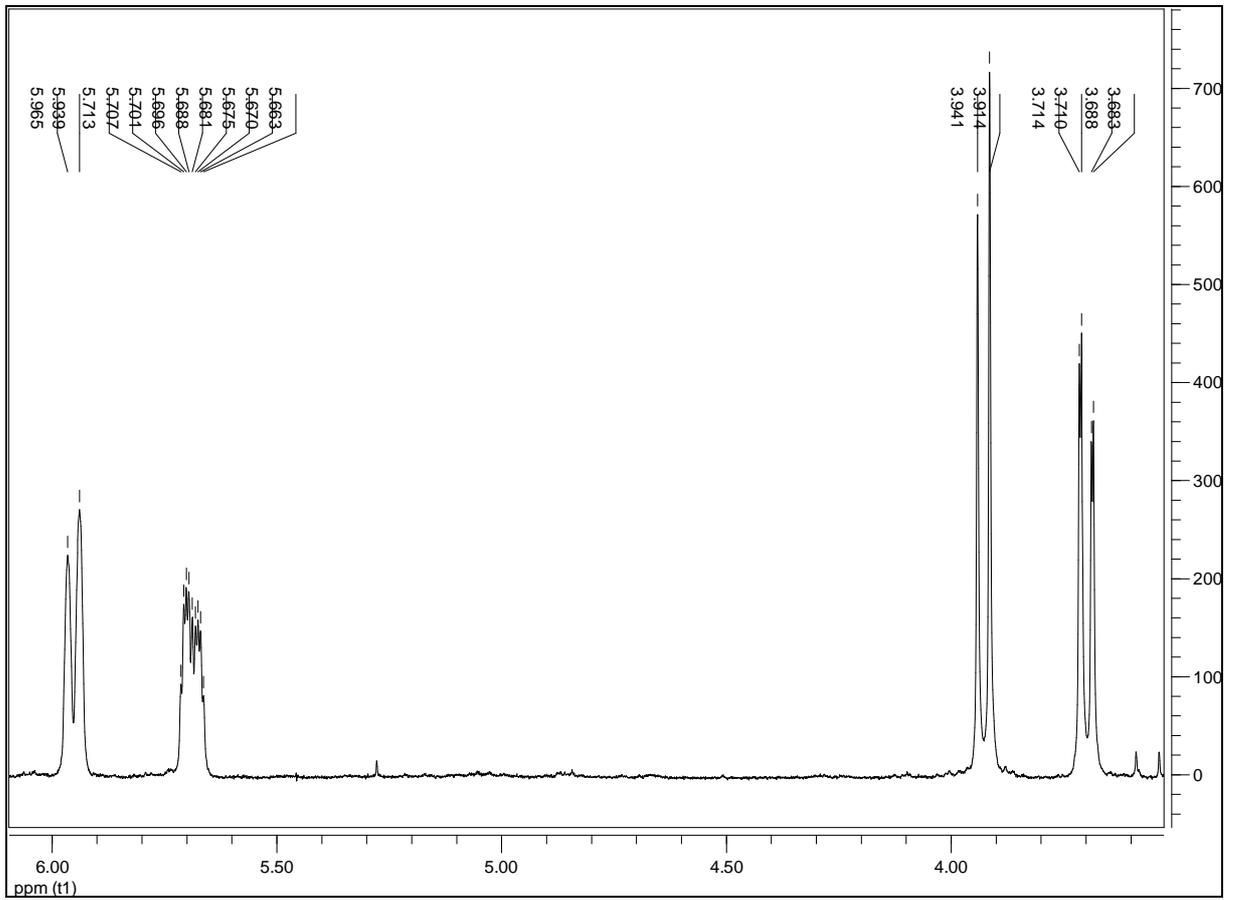
Figura 213 - Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

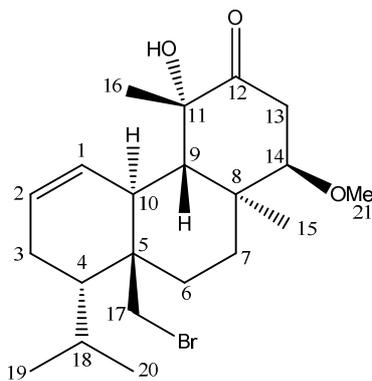
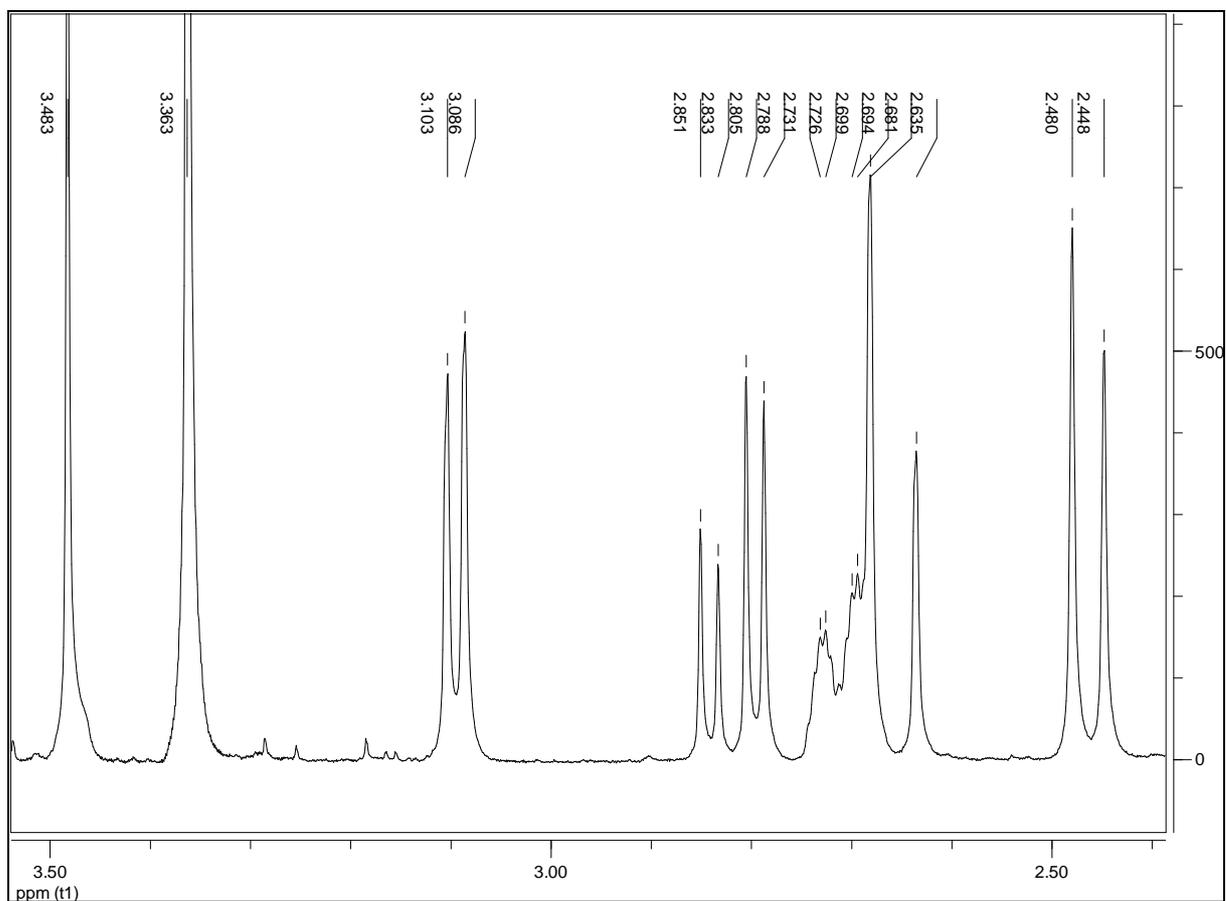
Figura 214 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

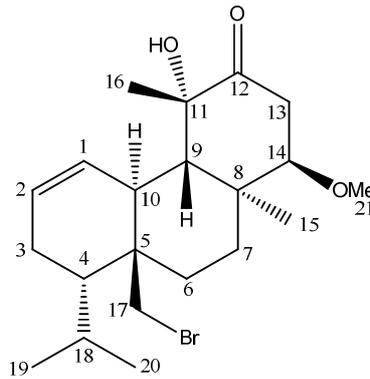
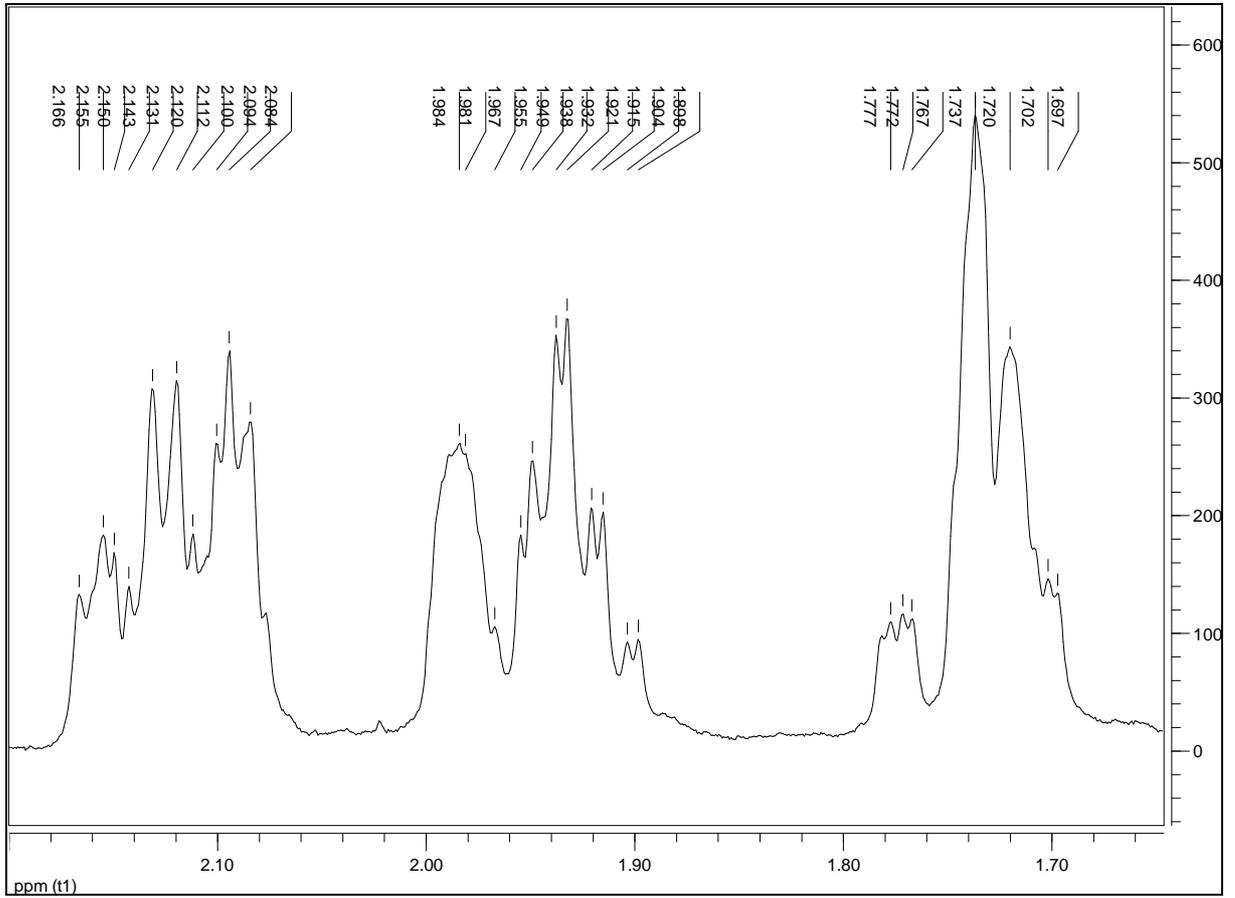
Figura 215 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

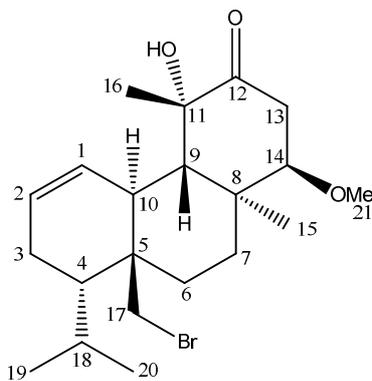
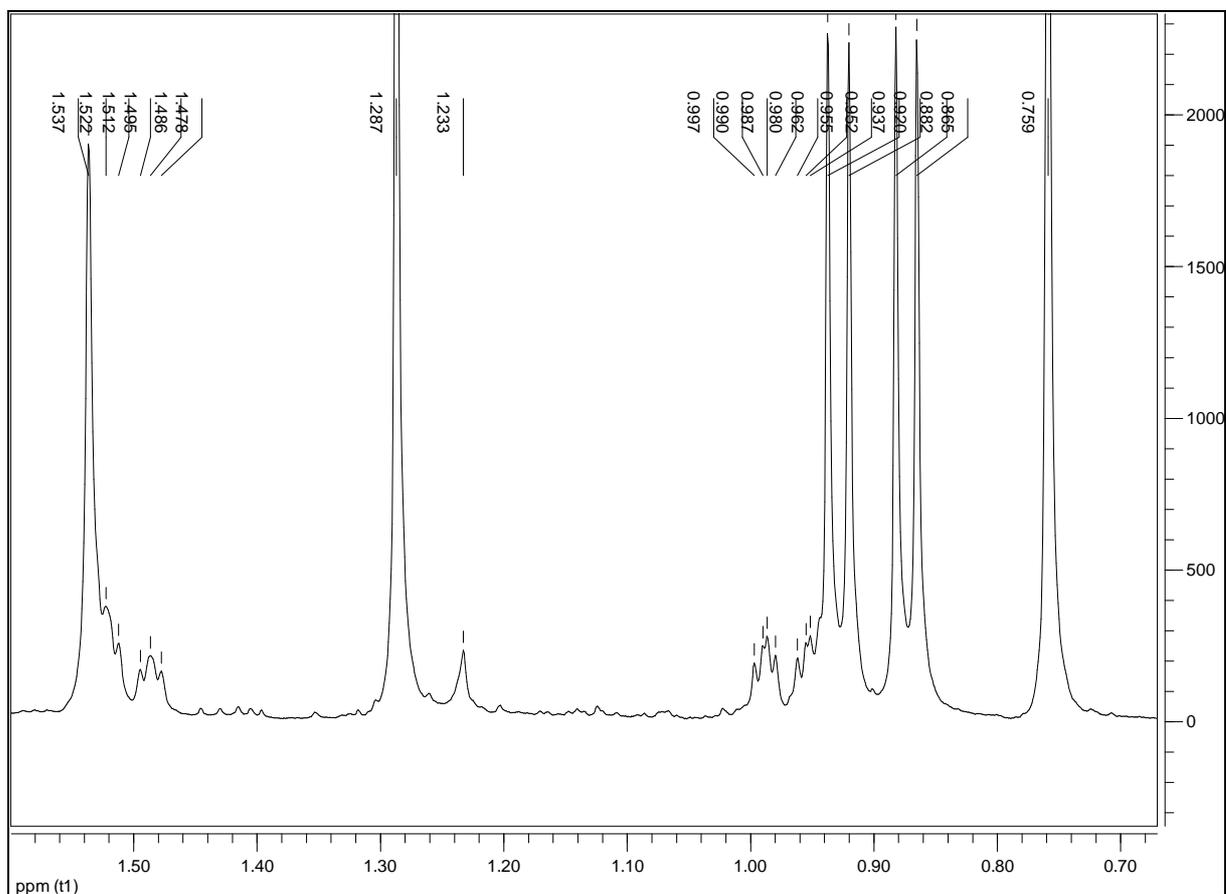
Figura 216 – Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

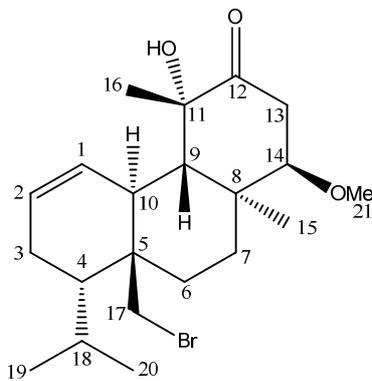
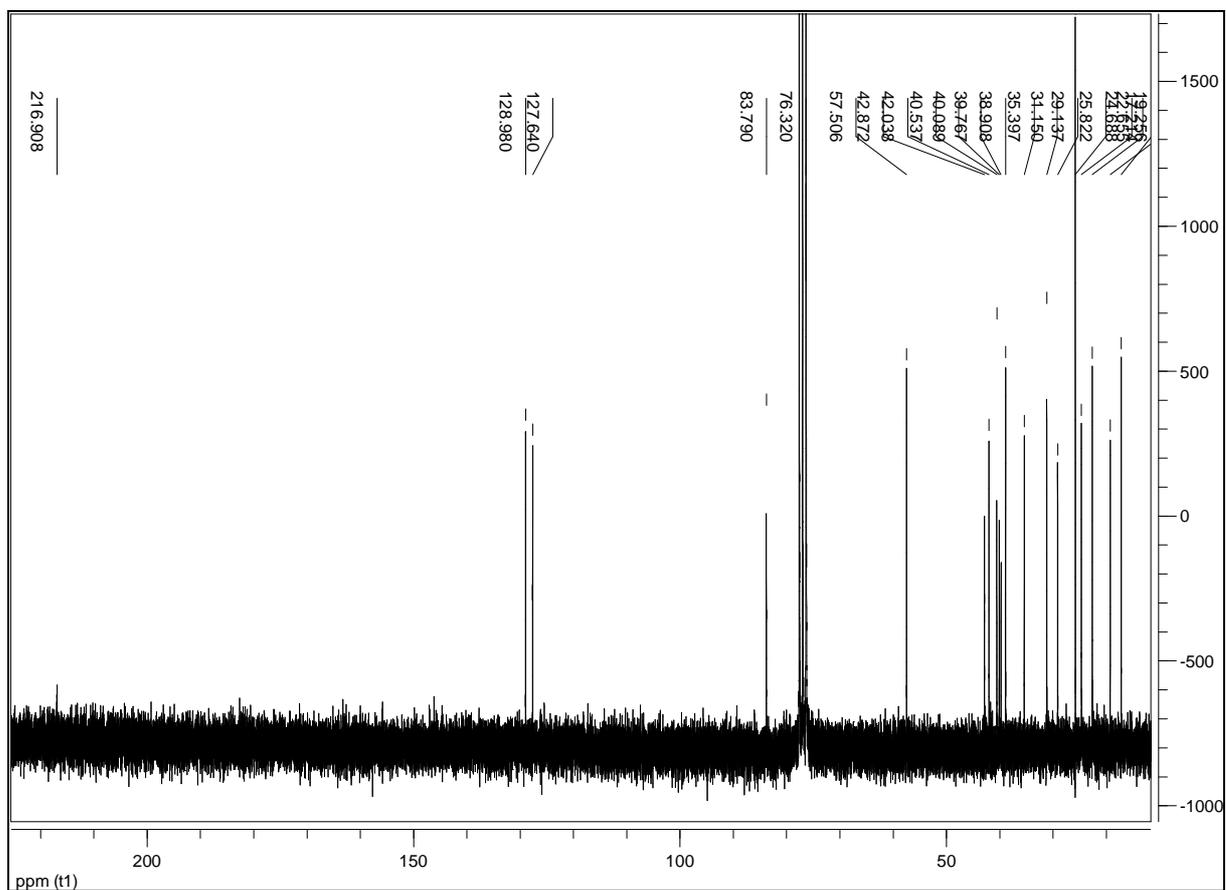
Figura 217 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17.

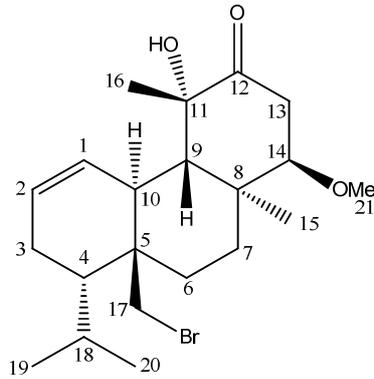
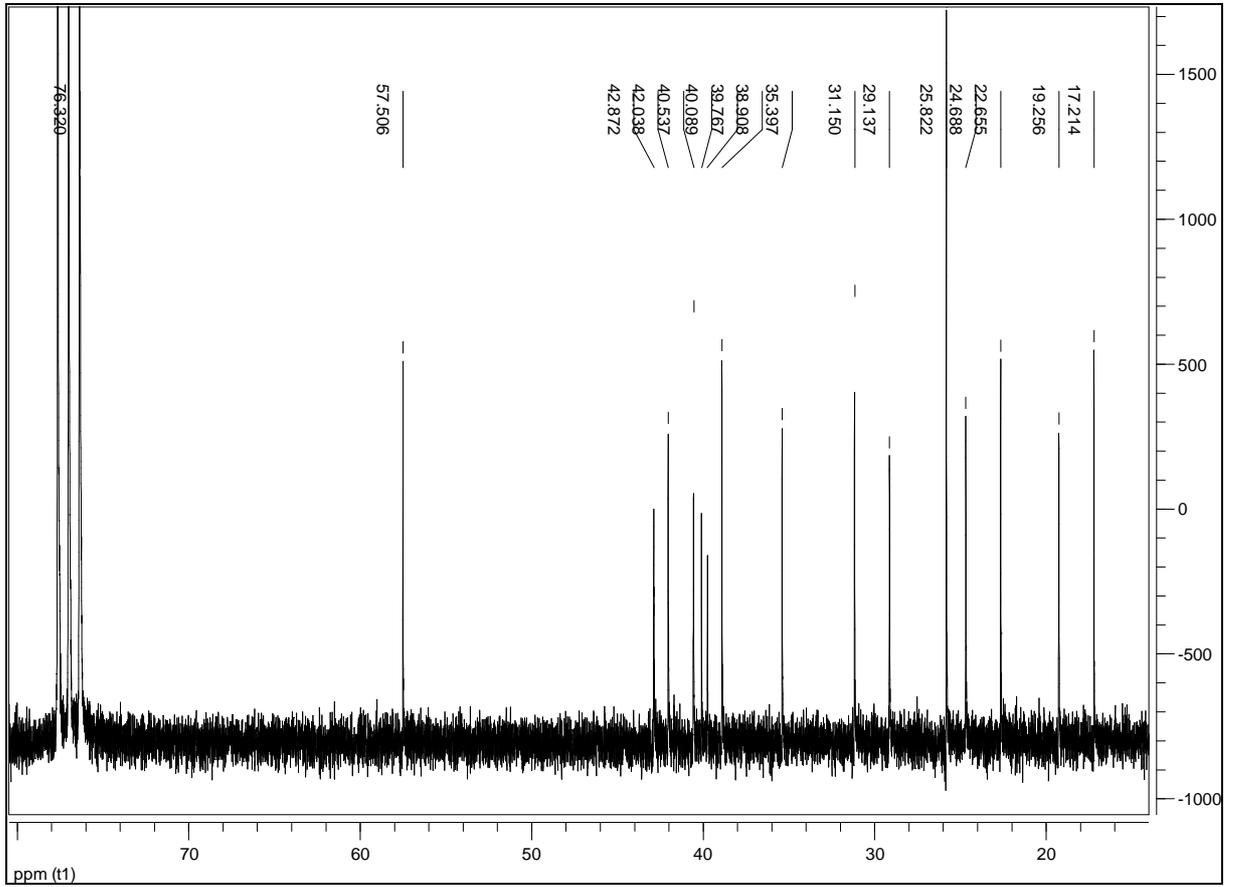
Figura 218 - Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-17.

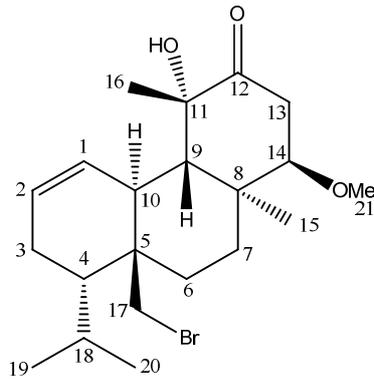
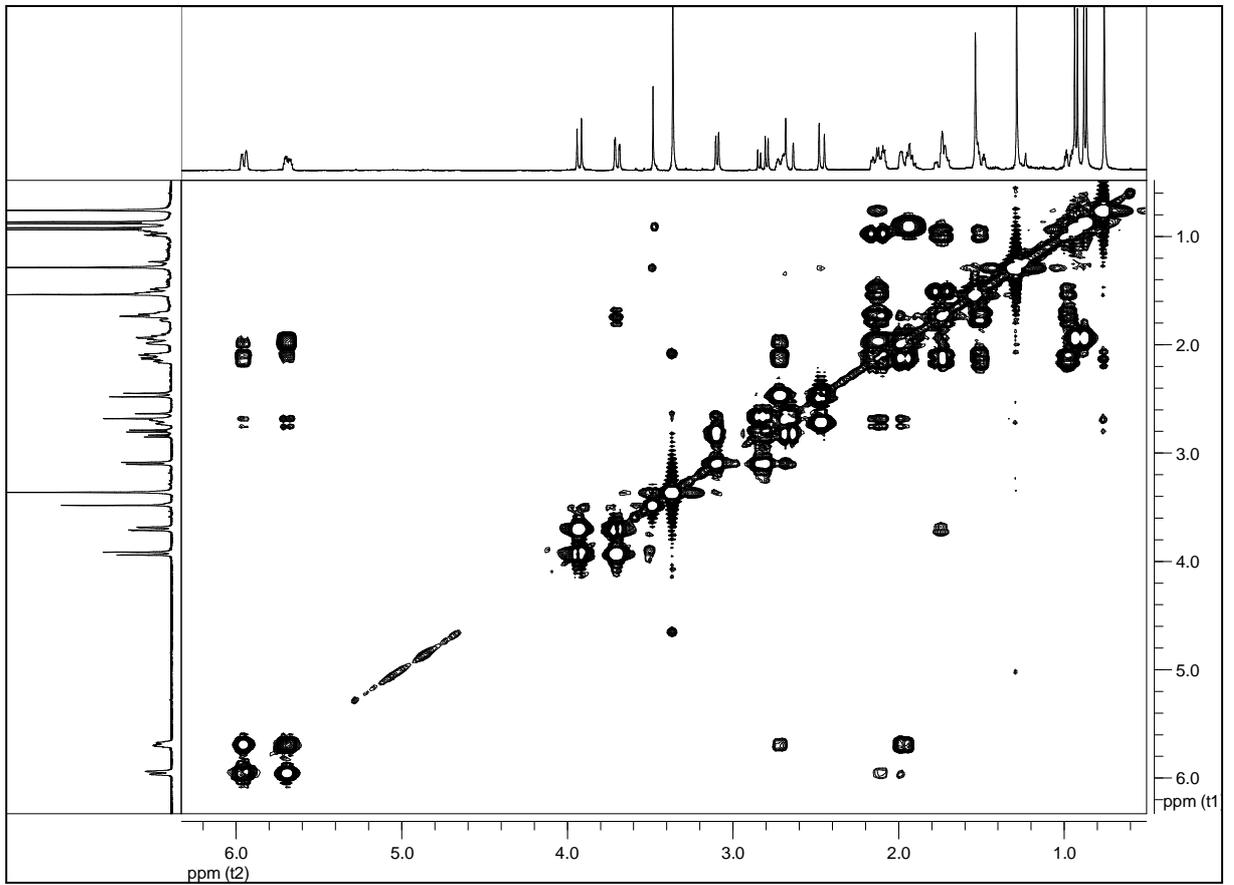
Figura 219 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

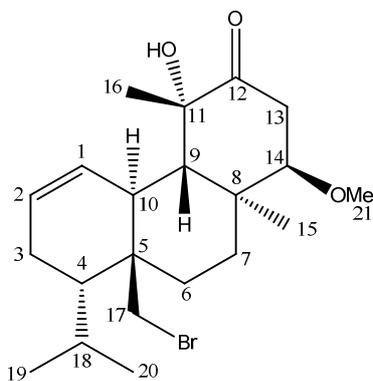
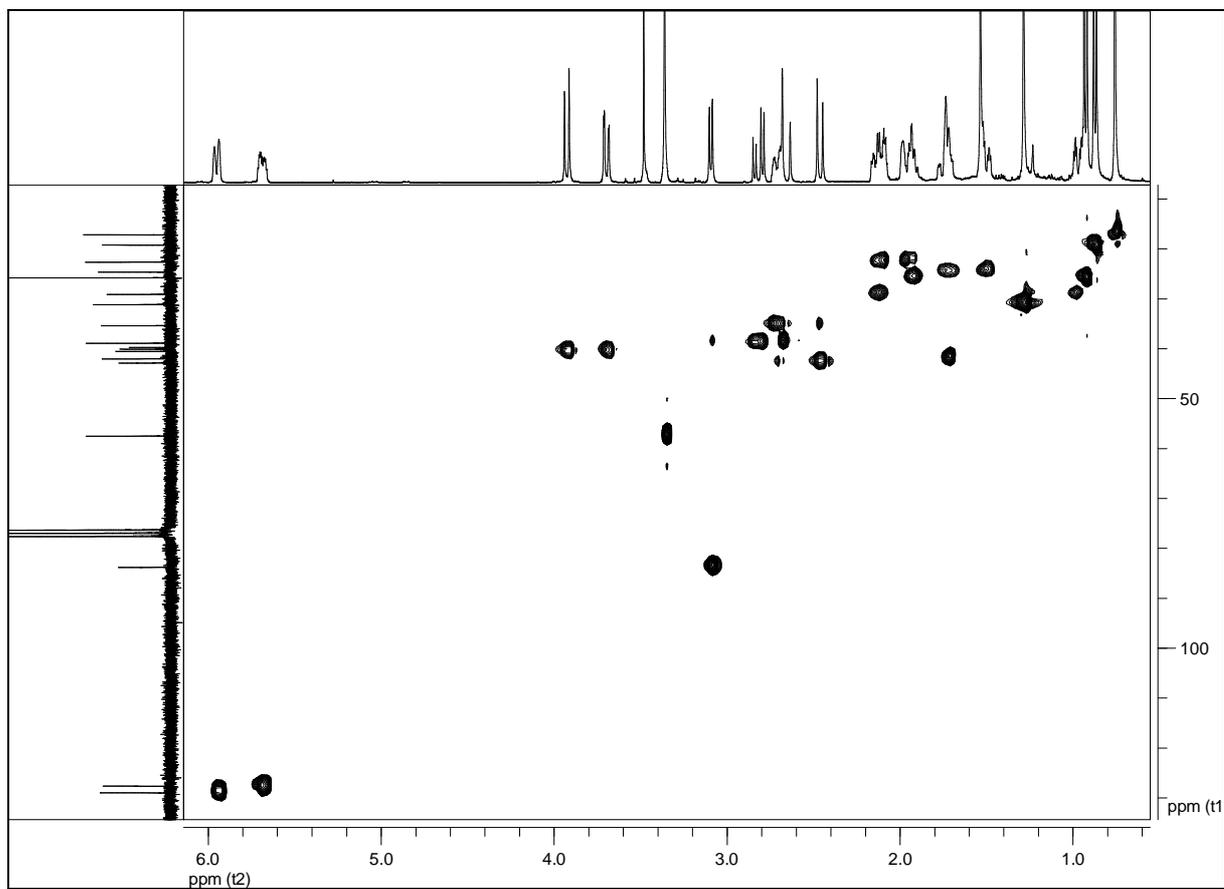
Figura 220 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

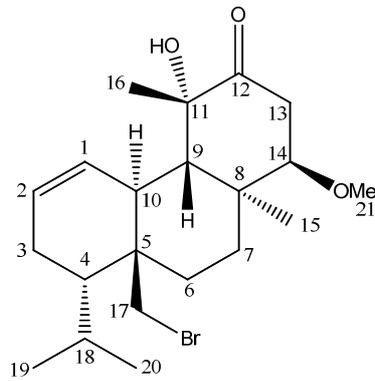
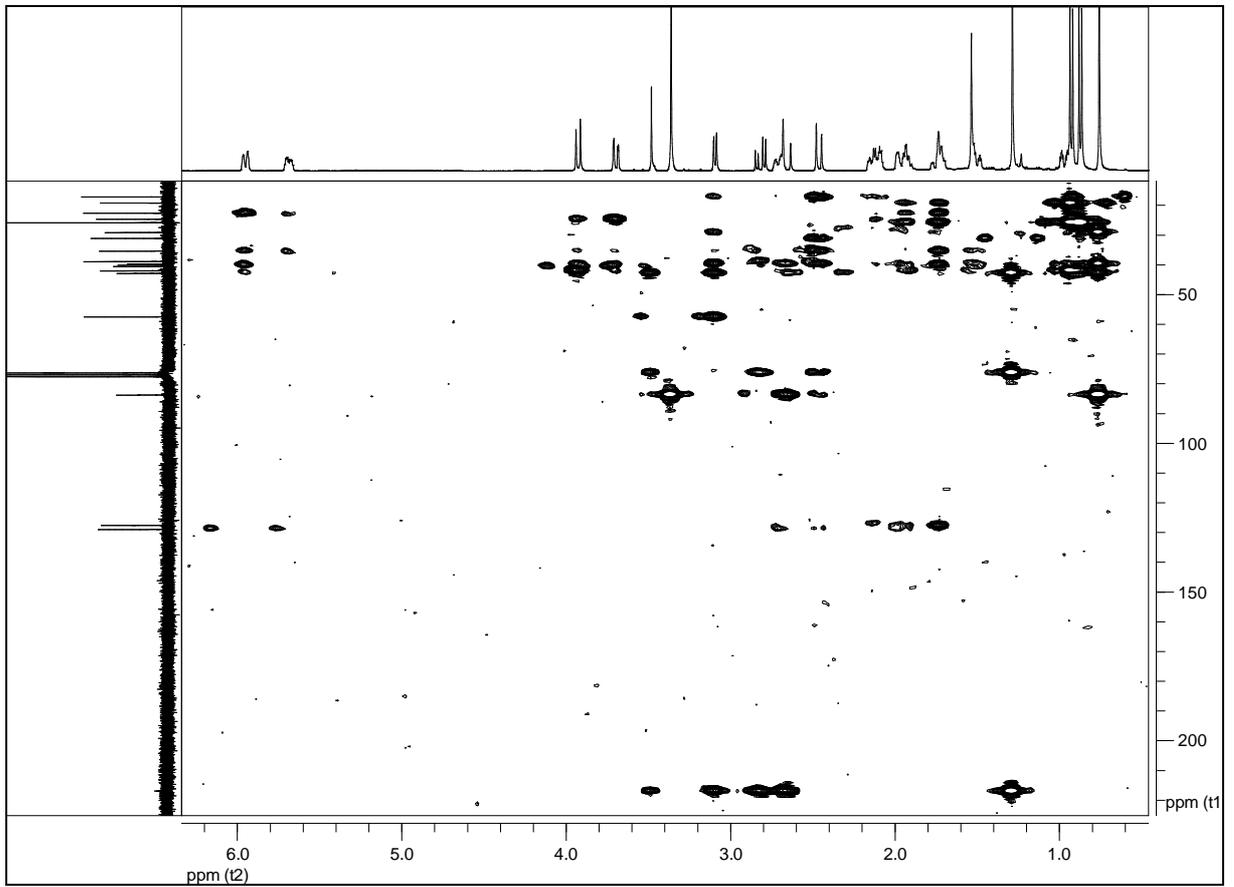
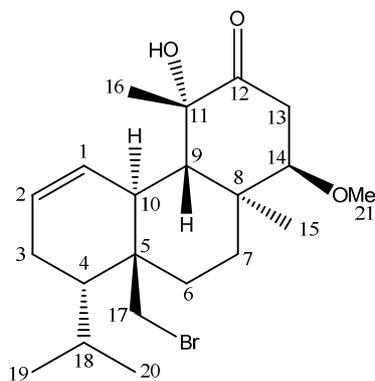
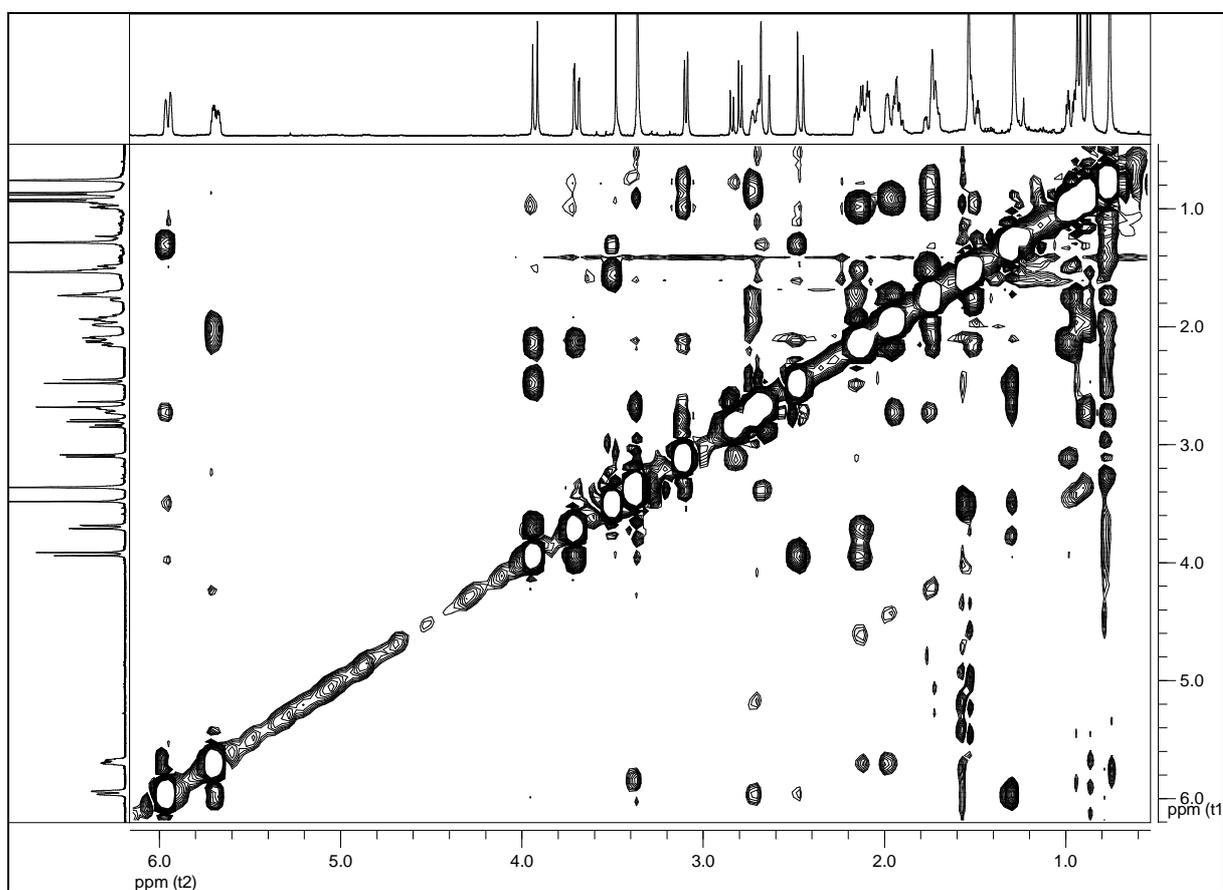
Figura 221 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

Figura 222 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-17.

4.3.18 Identificação estrutural de Sc-18

A substância **Sc-18** foi purificada através de CLAE. Os dados fornecidos pelos espectros de RMN de ^{13}C (Figura 232, p. 331), DEPT (Figura 233, p. 332) e espectrometria de massas ESI (Figura 225, p. 323) com pico do íon molecular $\text{M}^{+\bullet}$ em 448 u.m.a. deram suporte à fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{O}$. O esquema 13 (p. 324) mostra alguns dos fragmentos fornecidos por **Sc-18**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 232, p. 331) exibiu sinais para 20 carbonos, sendo três quaternários, sete metínicos, seis metilênicos e quatro metílicos. Os sinais em δ_{C} 51,33 (C-4), δ_{C} 41,43 (C-7) e δ_{C} 73,47 (C-11) foram identificados como sendo referentes a carbonos quaternários.

A natureza de uma função alcoólica foi indicada pela ressonância de C-11 em região de campo mais baixo. Dois átomos de carbonos bromometínicos foram inferidos pelos sinais em δ_{C} 68,57 (C-8) e δ_{C} 52,46 (C-14).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 226, p. 325) e suas expansões (Figuras 227 a 231, p. 326 a 330) ratificaram as duas últimas atribuições para carbonos ao exibir as ressonâncias dos respectivos hidrogênios em δ_{H} 4,07 (1H, dd, $J= 12,6$ e $4,1$ Hz, H-8) que mostra acoplamento diaxial com δ_{H} 2,47 (1H, dddd, $J=13,4, 13,4, 12,6$ e $4,7$ Hz, H-9 α) e axial-equatorial com δ_{H} 2,06 (1H, dddd, $J=13,4, 4,7, 4,1$ e $2,9$ Hz, H-9 β). O sinal em δ_{H} 4,03 (1H, dd, $J= 8,5$ e $5,0$ Hz, H-14) apresentou acoplamento diaxial com δ_{H} 1,75 (1H, dd, $J= 14,3$ e $8,5$ Hz, H-17b) e axial-equatorial com δ_{H} 2,52 (1H, dd, $J= 14,3$ e $5,0$ Hz, H-17a).

Ainda através da análise do espectro de RMN de ^1H , foi exequível verificar a presença de dois grupos metílicos ligados a átomos de carbonos quaternários pelos simpletos em δ_{H} 1,49 (CH_3 -15) e em δ_{H} 1,16 (CH_3 -16) e duas metilas secundárias pertencentes a uma função isopropila em δ_{H} 0,86 (d, $J= 6,4$ Hz, CH_3 -19) e δ_{H} 0,85 (d, $J= 6,4$ Hz, CH_3 -20).

Todos os carbonos e seus respectivos hidrogênios foram assinalados mediante a análise dos experimentos bidimensionais HMQC (Figura 234, p. 333) e COSY (Figura 235, p. 334).

Mediante análise do espectro bidimensional HMBC (Figura 236, p. 335), verificou-se que os hidrogênios metílicos ressonando em δ_H 1,16 (CH₃-16) e δ_H 1,49 (CH₃-15) correlacionavam-se a duas ligações com os sinais em δ_C 41,43 (C-7) e δ_C 73,47 (C-11), respectivamente. Foram observadas correlações a ²J entre H-6 α (δ_H 1,88) e H-12 (δ_H 1,93) e C-7. Adicionalmente, os hidrogênios CH₃-16 e CH₃-15 mostraram correlações a ³J com o C-12 (δ_C 47,87), e o (CH₃-15) exibiu correlação a ³J com C-10 (δ_C 43,67). Foi observada também uma correlação do CH₃-16 a ³J e do H-5 β (δ_H 1,36) a ²J com o C-6 (δ_C 37,69). Desta maneira, foram ratificadas, inequivocamente, as posições dos carbonos quaternários.

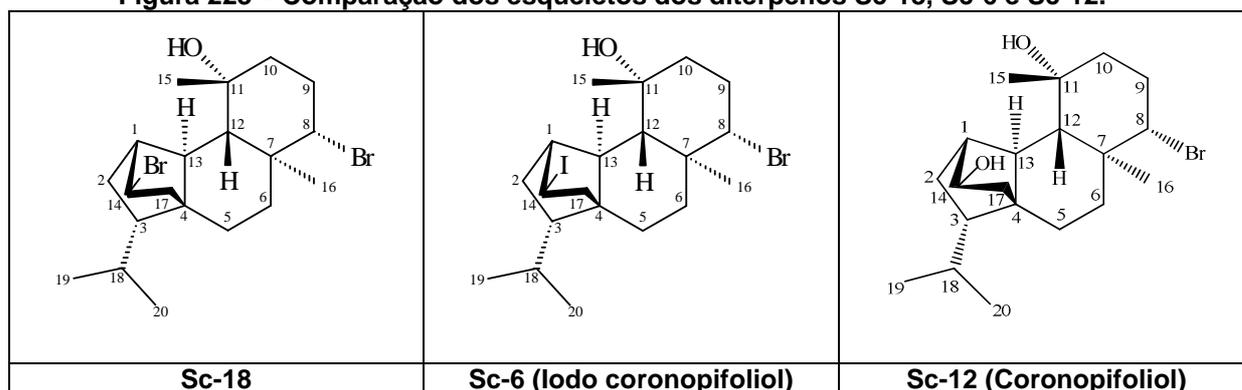
A estereoquímica relativa global da substância em análise foi atribuída baseando-se nos valores das constantes de acoplamento obtidos no espectro de RMN ¹H e medições do NOE (Figura 237, p. 336). A natureza axial do H-8 (δ_H 4,07) foi evidenciada por sua alta constante de acoplamento (J = 12,6 Hz) com H-9 α (δ_H 2,47). Analogamente, a relação trans diaxial entre H-12 (1H, d, J = 12,0 Hz, δ_H 1,93) e H-13 (1H, m, δ_H 1,74) deveria ter sido observada, diante do valor da constante de acoplamento. No entanto, H-13 apresentou-se como multipletto.

As correlações NOE entre CH₃-16/H-9 α e CH₃-16/H-13 revelaram seu posicionamento *cis* estabelecendo, assim, que a junção do anel em C-7 e C-12 é *trans* diequatorial. Houve ainda correlação entre CH₃-15/H-1, mas não entre CH₃-15/H-9, o que poderia ser explicado pela natureza equatorial de CH₃-15.

A estereoquímica de C-1 e C-4 foi estabelecida a partir do NOE encontrado entre H-6 β /H-17b, ao passo que a correlação entre H-14/H-2 β e H-14/H-3 possibilitou atribuir a estereoquímica relativa de C-13 e C-3.

A comparação dos dados de **Sc-18** com **Sc-6** (lodo coronopifoliol) (Tabela 29, p. 321) apresentaram muitas similaridades e permitiram sugerir que a substância em questão pode tratar-se também de um derivado do coronopifoliol (**Sc-12**) conforme mostra a Figura 223 (p. 320).

Figura 223 – Comparação dos esqueletos dos diterpenos Sc-18, Sc-6 e Sc-12.



A análise de todos os dados (Tabela 30, p. 322) permitiu concluir que o metabólito **Sc-18** trata-se de uma substância isolada e relatada pela primeira vez na literatura denominada bromo-Coronopifoliol (Figura 224).

Figura 224 – Estrutura química de Sc-18.

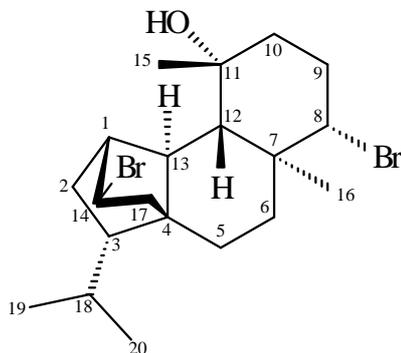


Tabela 29 - Dados comparativos de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18 e Sc-6.

Sc-18				Sc-6			
No.	^1H (δ)	mult (J)	^{13}C (δ)	No.	^1H (δ)	mult (J)	^{13}C (δ)
1	2,90	dl 4,1	49,25	1	2,88	sl	49,38
2	1,48 α	m	33,98	2	1,34	m	35,55
	1,34 β	m					
3	1,14	m	48,86	3	1,17	m	48,77
4	—		51,33	4	—		51,97
5	1,76 α	m	22,87	5	α 1,73	m	22,81
	1,36 β	m		β 1,31	ddd 14,2; 3,8; 3,8		
6	1,88 α	ddd 13,2; 4,7; 2,3	37,69	6	α 1,86	ddd 12,9; 4,0; 2,2	37,86
	1,40 β	ddd 13,2; 13,2; 3,2		β 1,38	ddd 12,9; 12,9; 3,8		
7	—		41,43	7	—		41,43
8	4,07	dd 12,6; 4,1	68,57	8	4,09	dd 12,8; 4,0	68,46
9	2,47 α	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,7	30,94	9	α 2,48	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,6	30,94
	2,06 β	ddd 13,6; 7,0; 4,4		β 2,08	ddd 13,4; 7,4; 4,4		
10	1,66 β	ddd 14,3; 13,4; 4,7	43,67	10	β 1,68	ddd 14,5; 13,4; 4,6	43,64
	1,58 α	ddd 14,3; 4,7; 2,9		α 1,59	ddd 14,5; 4,6; 3,0		
11	—		73,47	11	—		73,62
12	1,93	d 12,0	47,87	12	1,97	d 12,0	47,57
13	1,74	m	44,45	13	1,81	dl 12,1	44,77
14	4,03	dd 8,5; 5,0	52,46	14	3,98	dd 8,4; 5,6	25,84
15	1,49	s	33,18	15	1,56	s	32,92
16	1,16	s	16,25	16	1,16	s	16,51
17	2,52 a	dd 14,3; 5,0	48,61	17	2,60a	dd 14,4; 5,6	50,11
	1,75 b	dd 14,3; 8,5		1,75b	dd 14,2; 8,6		
18	1,71	m	28,25	18	1,72	m	28,31
19	0,86	d 6,4	23,44	19	0,85	d 6,7	23,42
20	0,85	d 6,4	18,79	20	0,84	d 6,7	18,78

Tabela 30 - Dados de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) e bidimensionais de Sc-18.

No.	^1H (δ)	mult (J)	NOESY ($^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$)	^{13}C (δ)	Tipo	HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)
1	2,90	dl 4,1	$2\alpha, 2\beta, 13, 14, 15$	49,25	CH	2, 4, 13
2	1,48 α	m	1, 13	33,98	CH ₂	3, 14, 18
	1,34 β	m	1, 14			
3	1,14	m	14, 17b	48,86	CH	2 β , 4, 5 α , 17, 19, 20
4	—			51,33	C	
5	1,76 α	m	16	22,87	CH ₂	6 α
	1,36 β	m	17a			
6	1,88 α	ddd 13,2; 4,7; 2,3	16	37,69	CH ₂	4, 5 β , 7, 16
	1,40 β	ddd 13,2; 13,2; 3,2	8, 12, 17b			
7	—			41,43	C	
8	4,07	dd 12,6; 4,1	6 β , 9 β , 10 β , 12	68,57	CH	9 α , 10, 12, 16
	2,47 α	dddd 13,4; 13,4; 12,6; 4,7	10 α , 16			
9	2,06 β	ddd 13,6; 7,0; 4,4	8, 10 α , 10 β	30,94	CH ₂	10 α , 10 β
	1,66 β	ddd 14,3; 13,4; 4,7	8, 9 β , 12			
10	1,58 α	ddd 14,3; 4,7; 2,9	9 α , 9 β	43,67	CH ₂	15
	—					
11	—			73,47	C	
12	1,93	d 12,0	6 β , 8, 10 β , 15, 17a	47,87	CH	7, 15, 16
13	1,74	m	1, 2 α , 16	44,45	CH	2 β , 3, 4 5 α , 14, 17b
14	4,03	dd 8,5; 5,0	1, 2 β , 3, 17b	52,46	CH	2, 17
15	1,49	s	1, 12	33,18	CH ₃	11
16	1,16	s	5 α , 6 α , 9 α , 13	16,25	CH ₃	7, 12
17	2,52a	dd 14,3; 5,0	5 β , 6 β , 12	48,61	CH ₂	1, 4
	1,75b	dd 14,3; 8,5	3, 14			
18	1,71	m		28,25	CH	3, 19, 20
19	0,86	d 6,4		23,44	CH ₃	3, 20
20	0,85	d 6,4		18,79	CH ₃	3, 18, 19

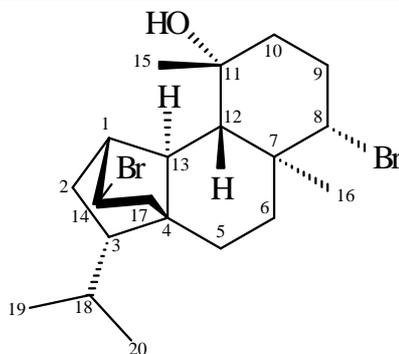
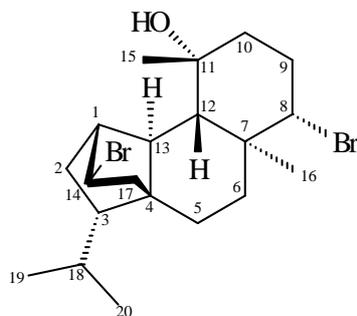
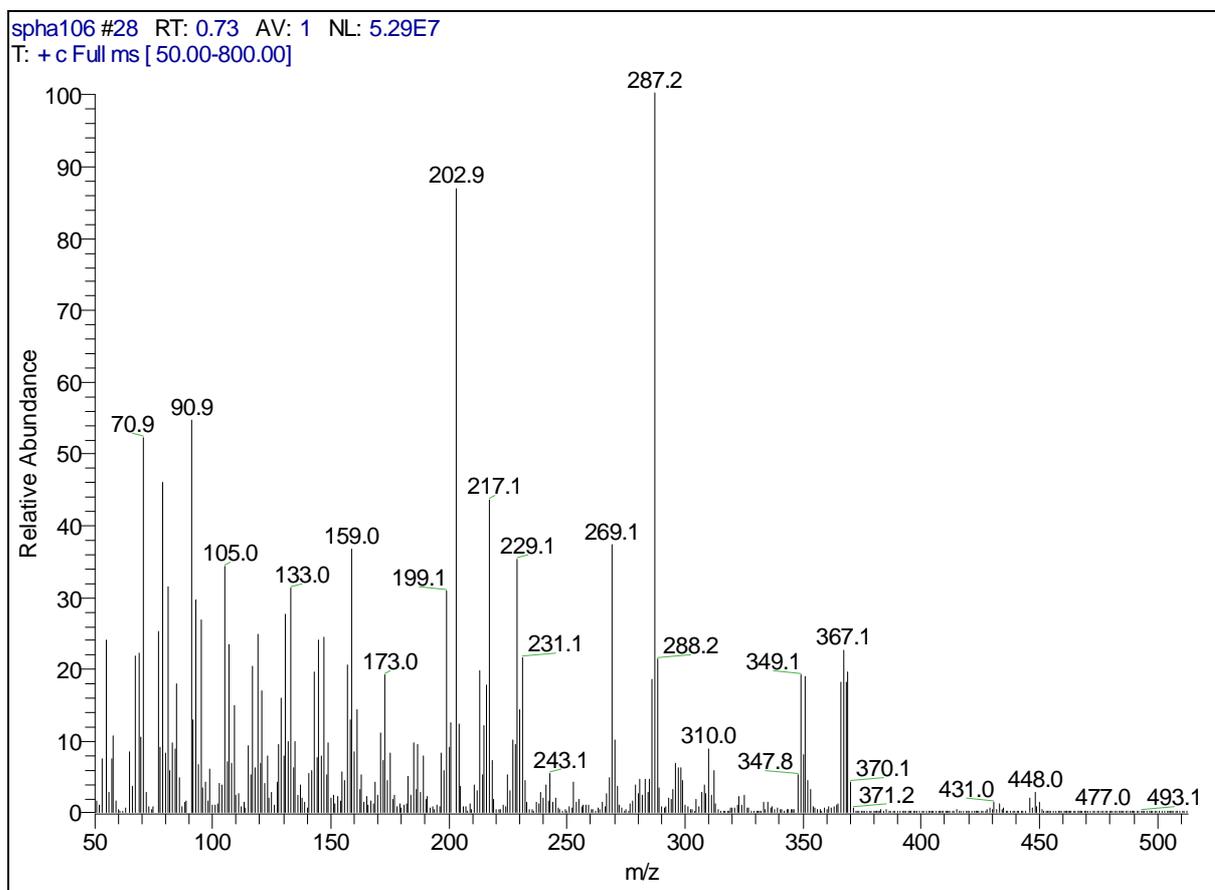


Figura 225 - Espectro de massas de Sc-18.



Esquema 13 – Fragmentos fornecidos pela molécula de Sc-18.

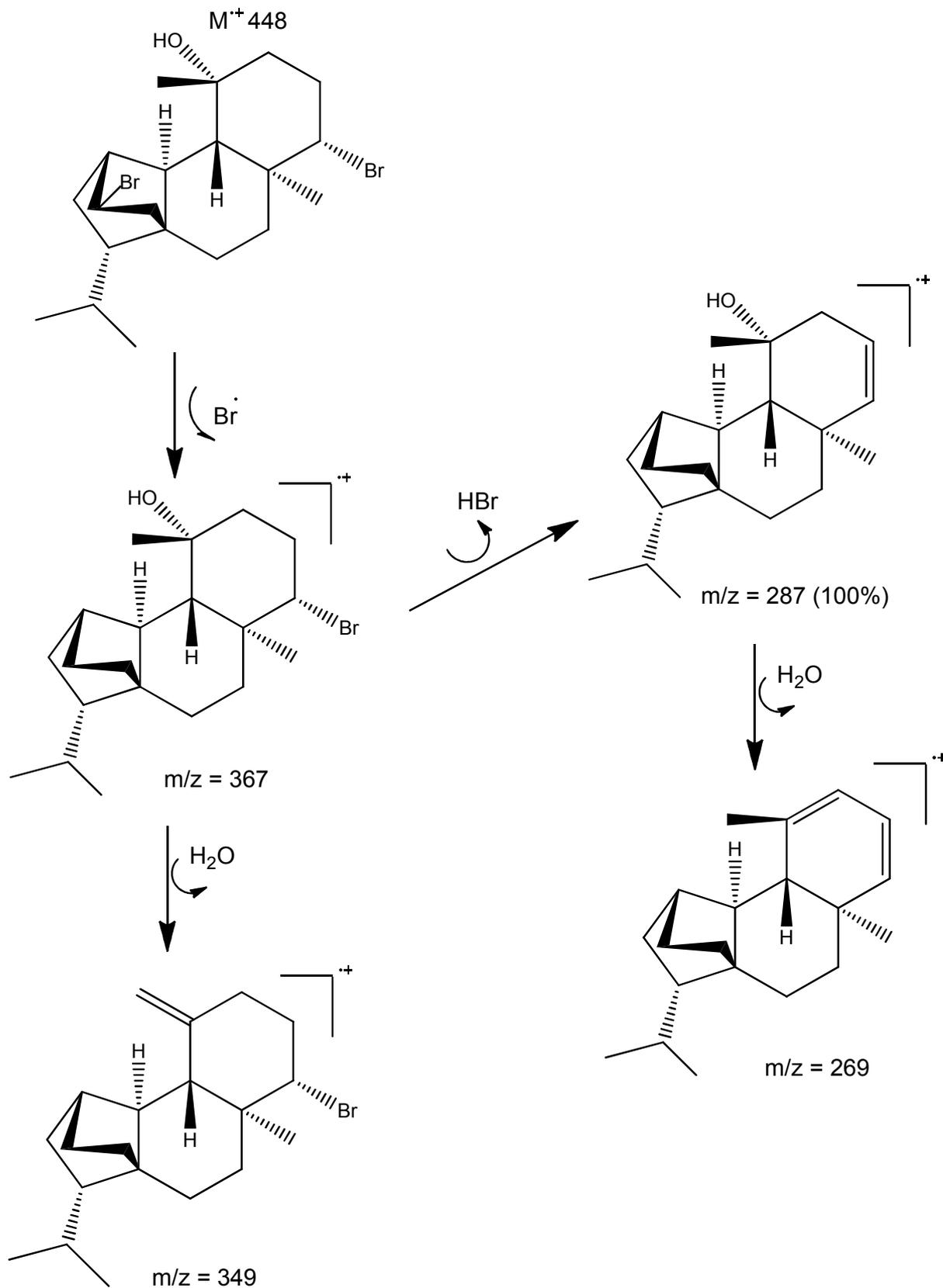


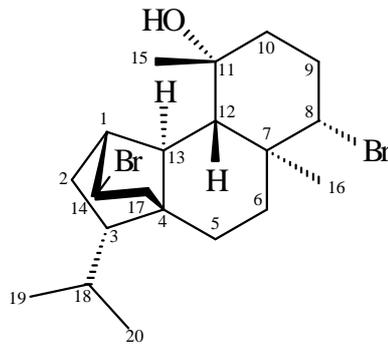
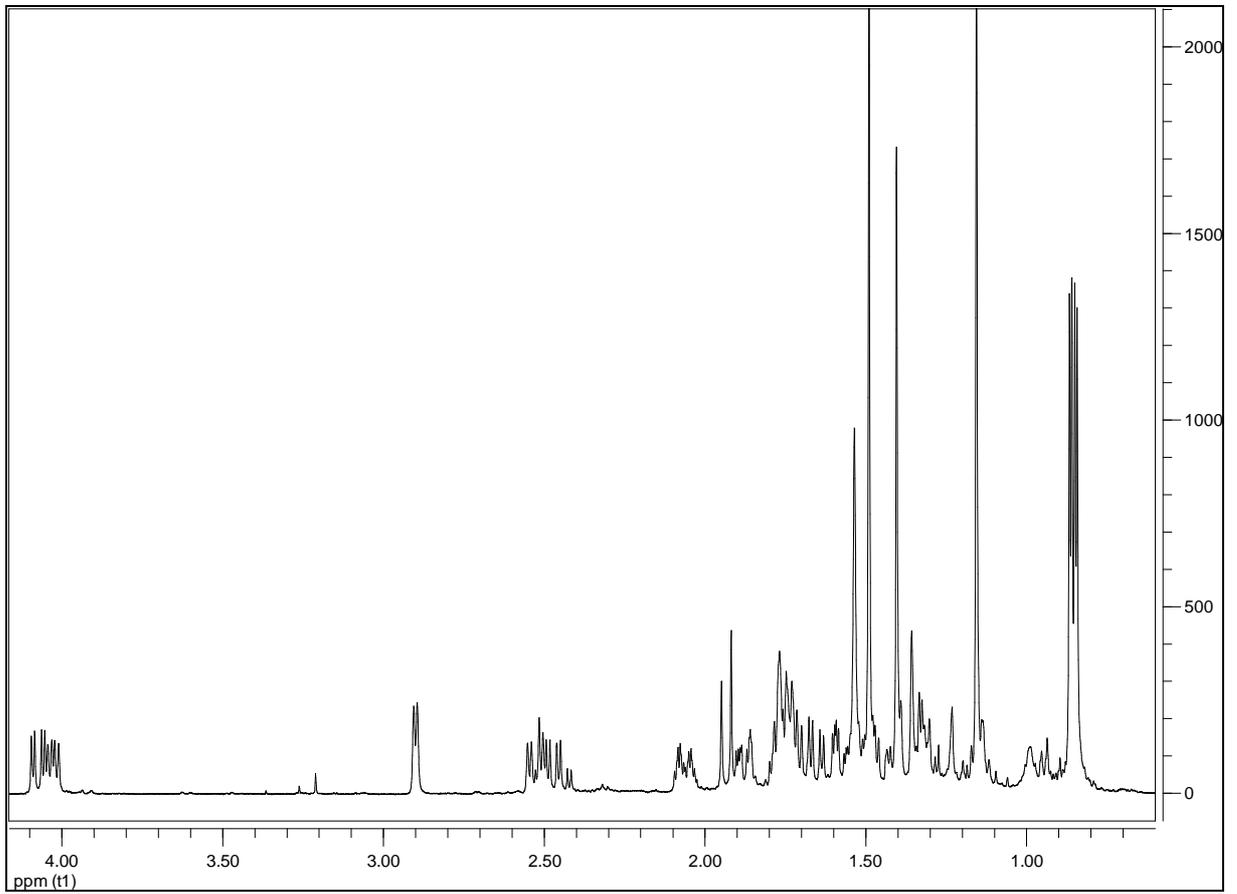
Figura 226 - Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

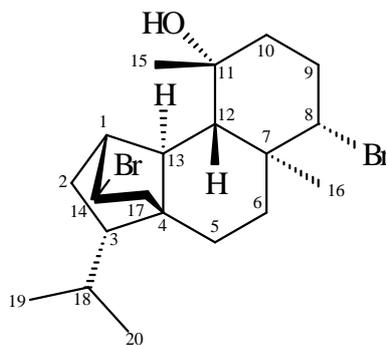
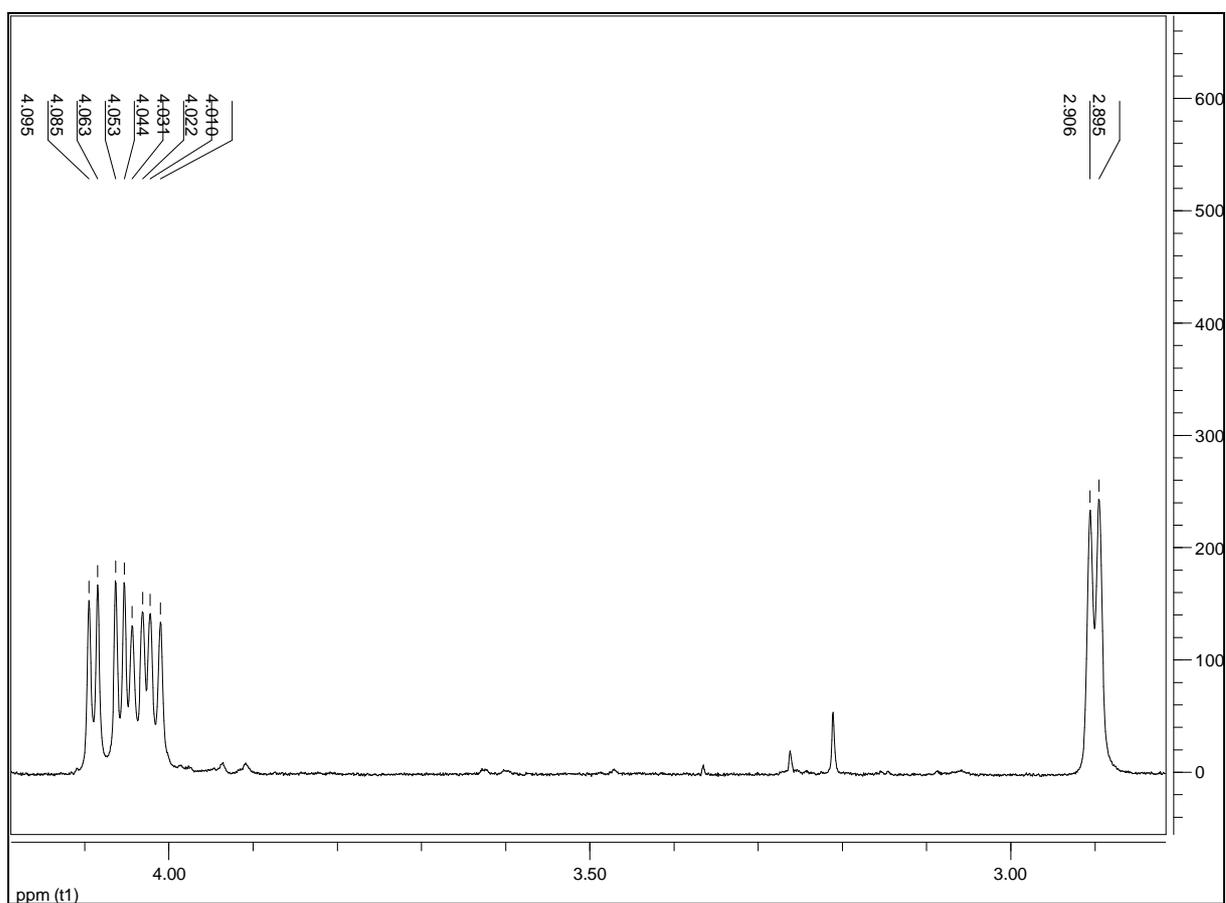
Figura 227 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

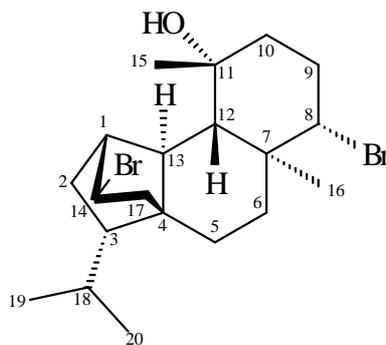
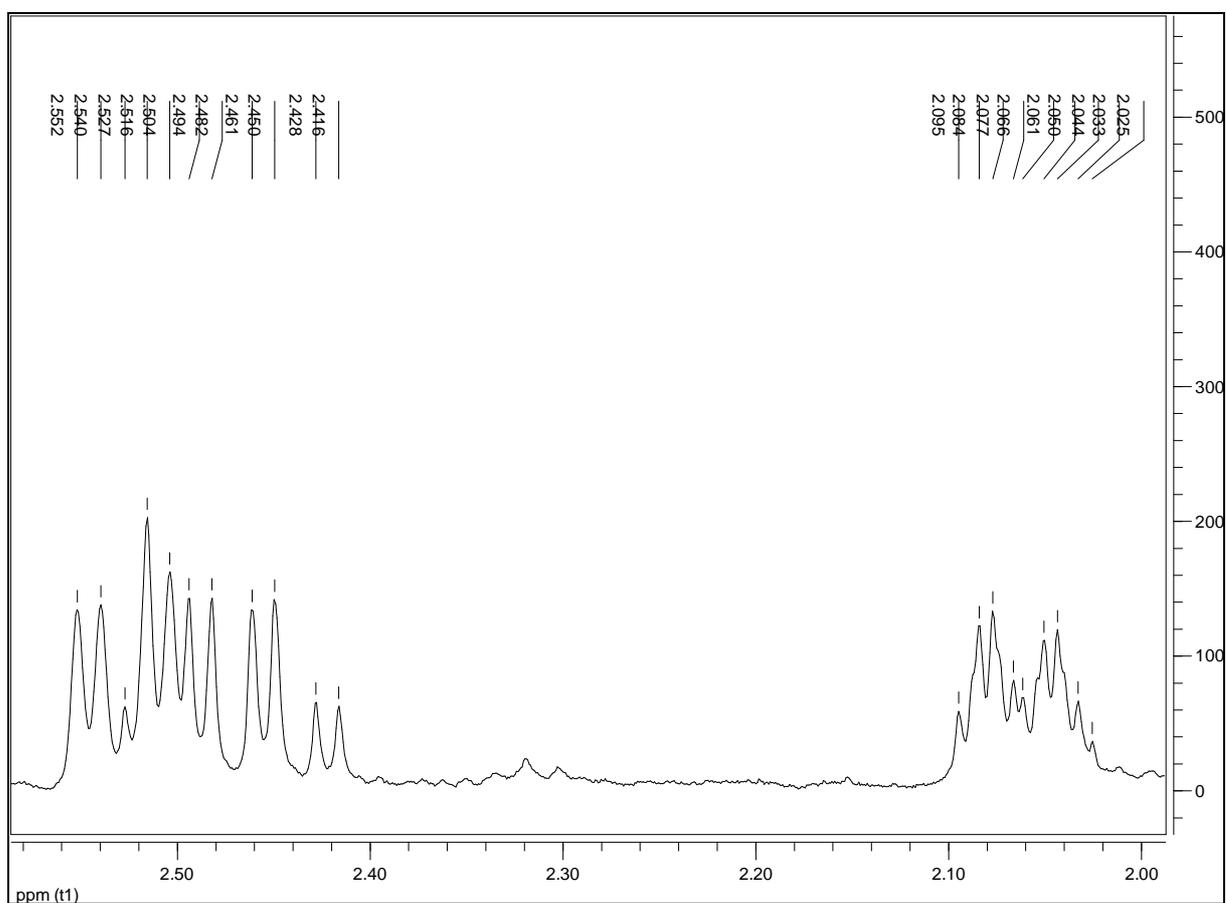
Figura 228 - Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

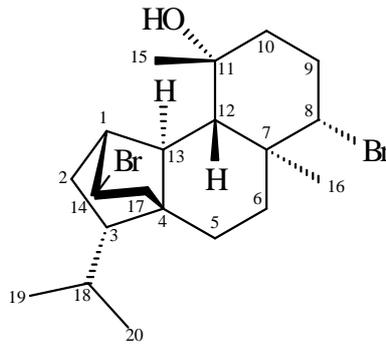
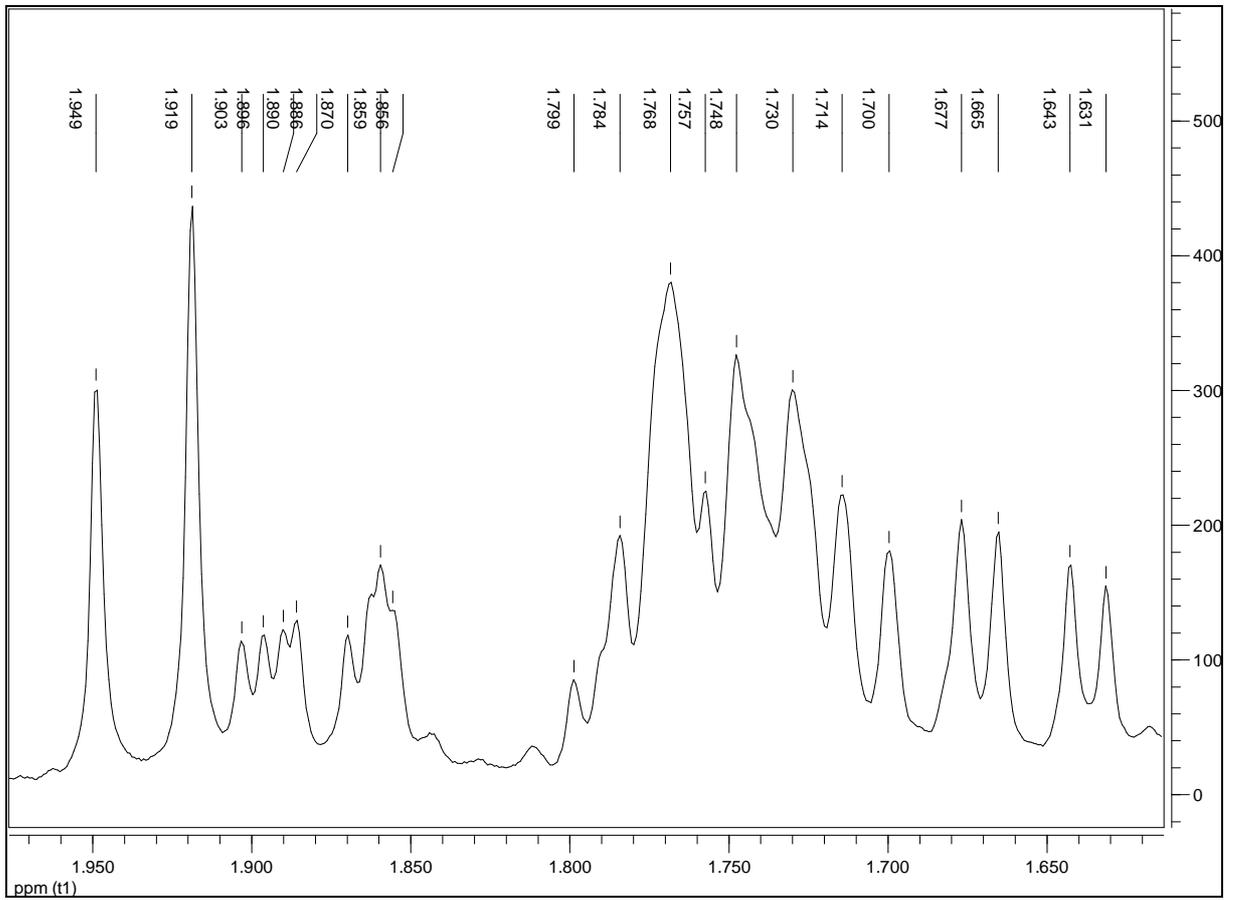
Figura 229 - Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

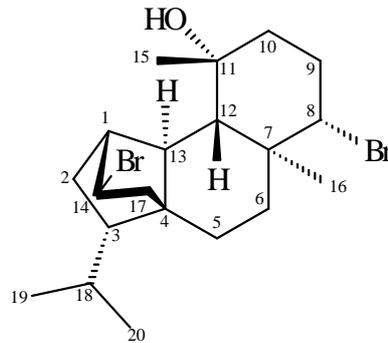
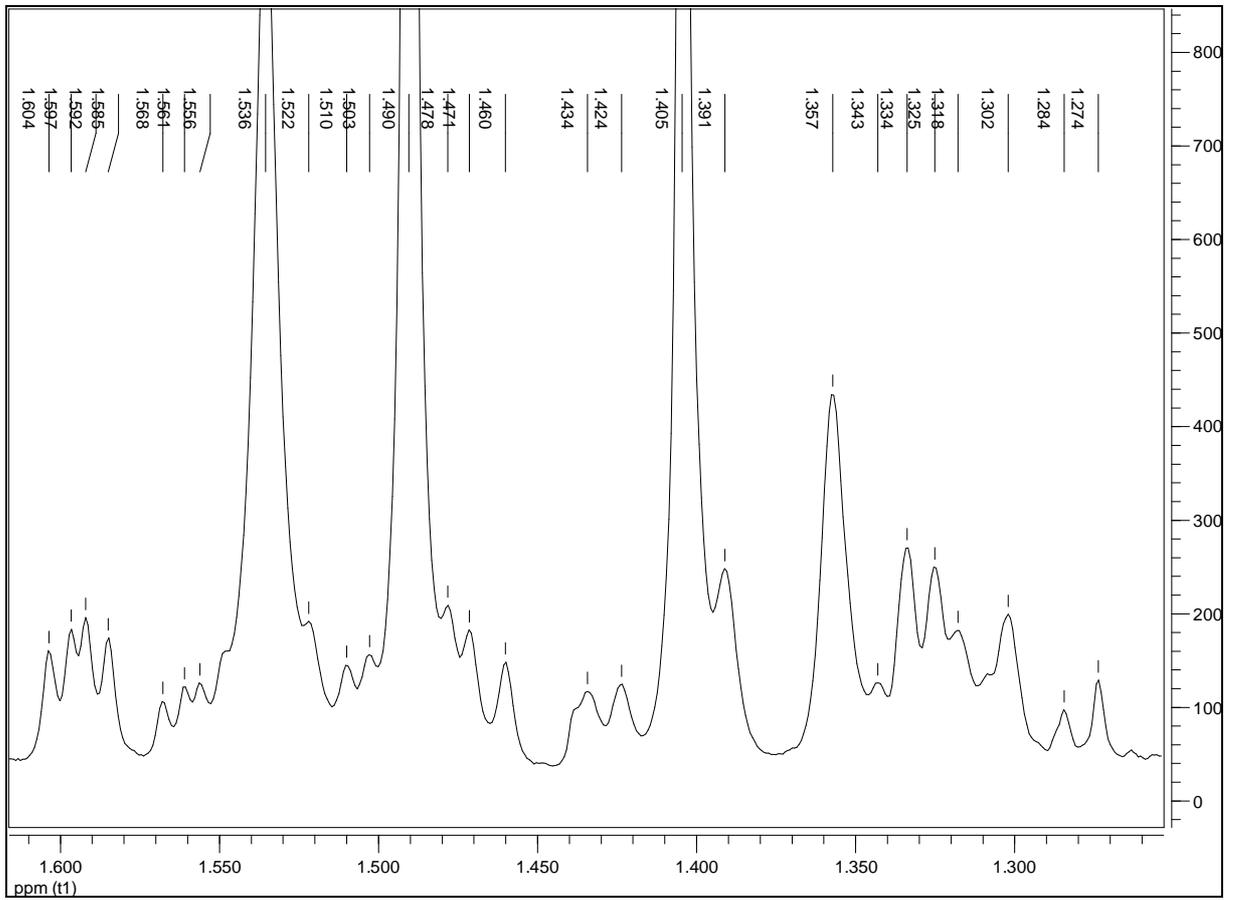
Figura 230 - Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

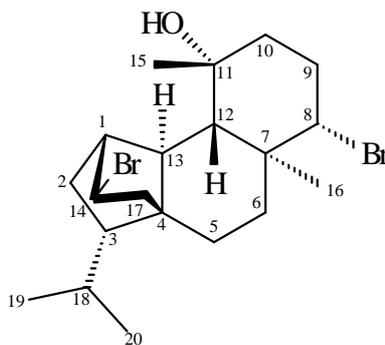
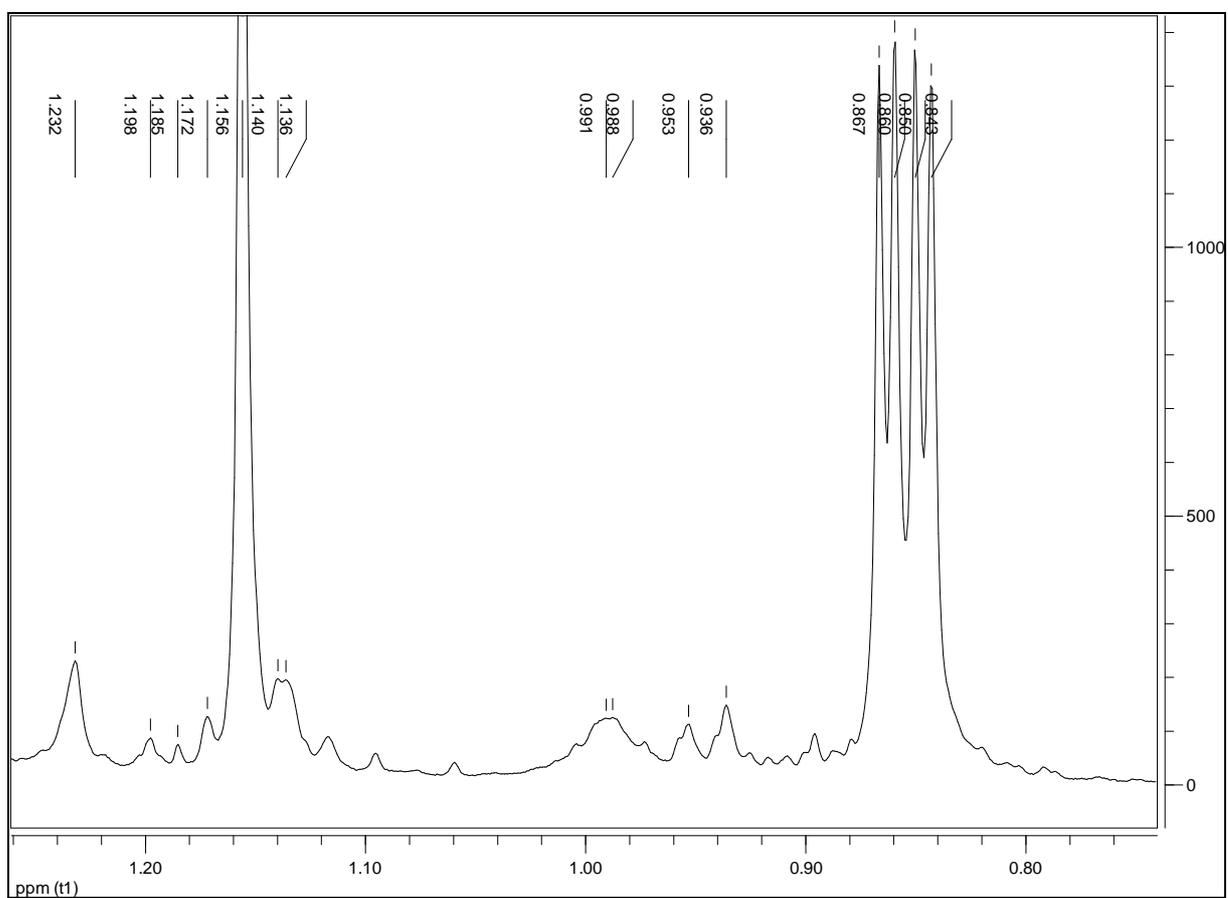
Figura 231 - Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

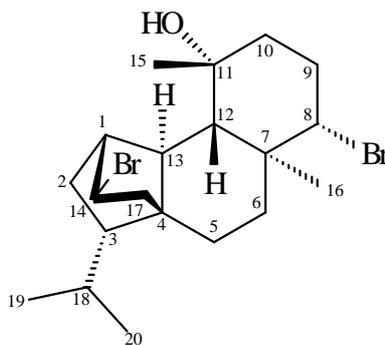
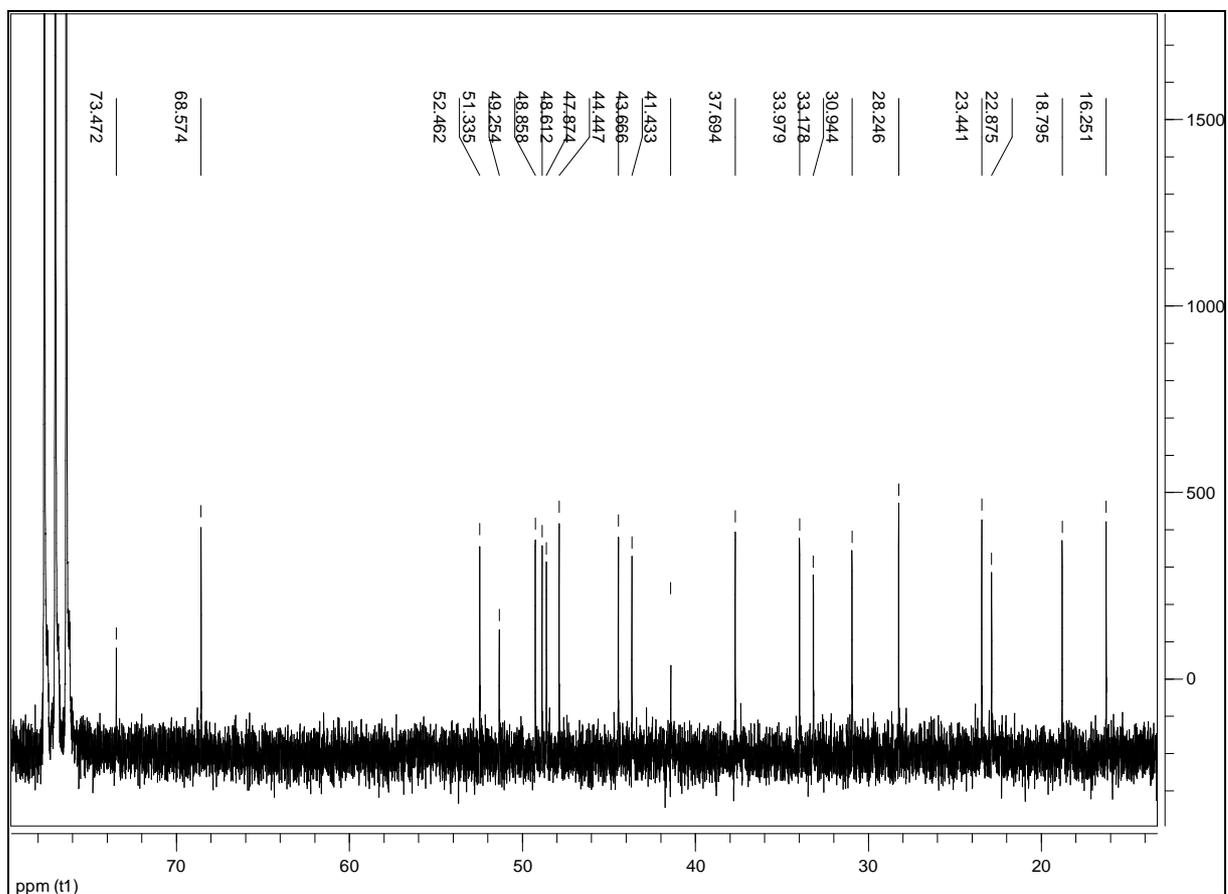
Figura 232 - Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18.

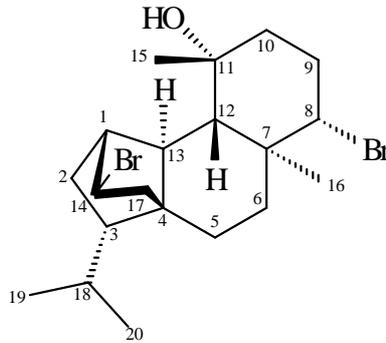
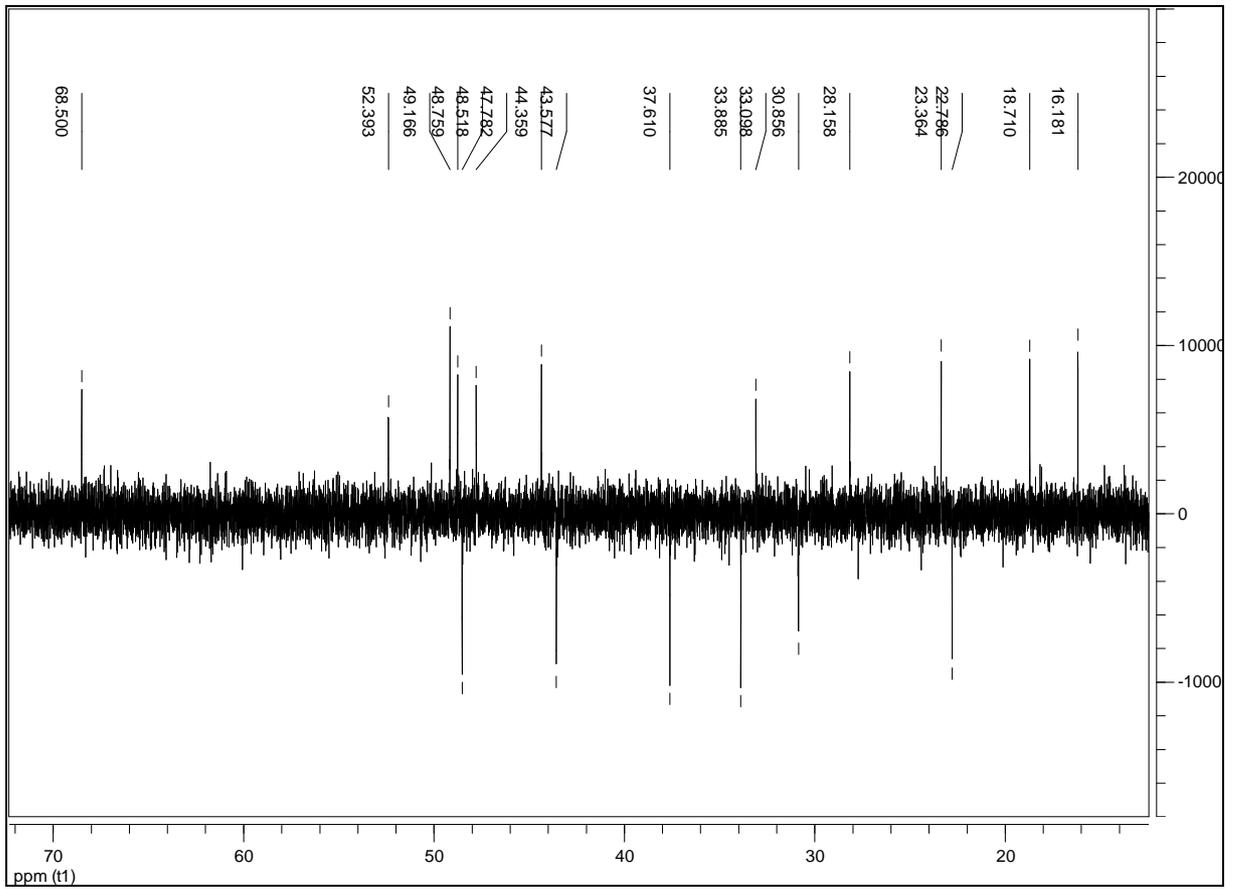
Figura 233 - Espectro de RMN ^{13}C DEPT (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de Sc-18.

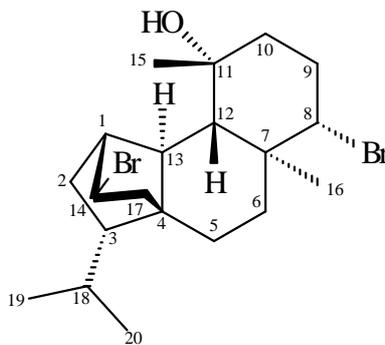
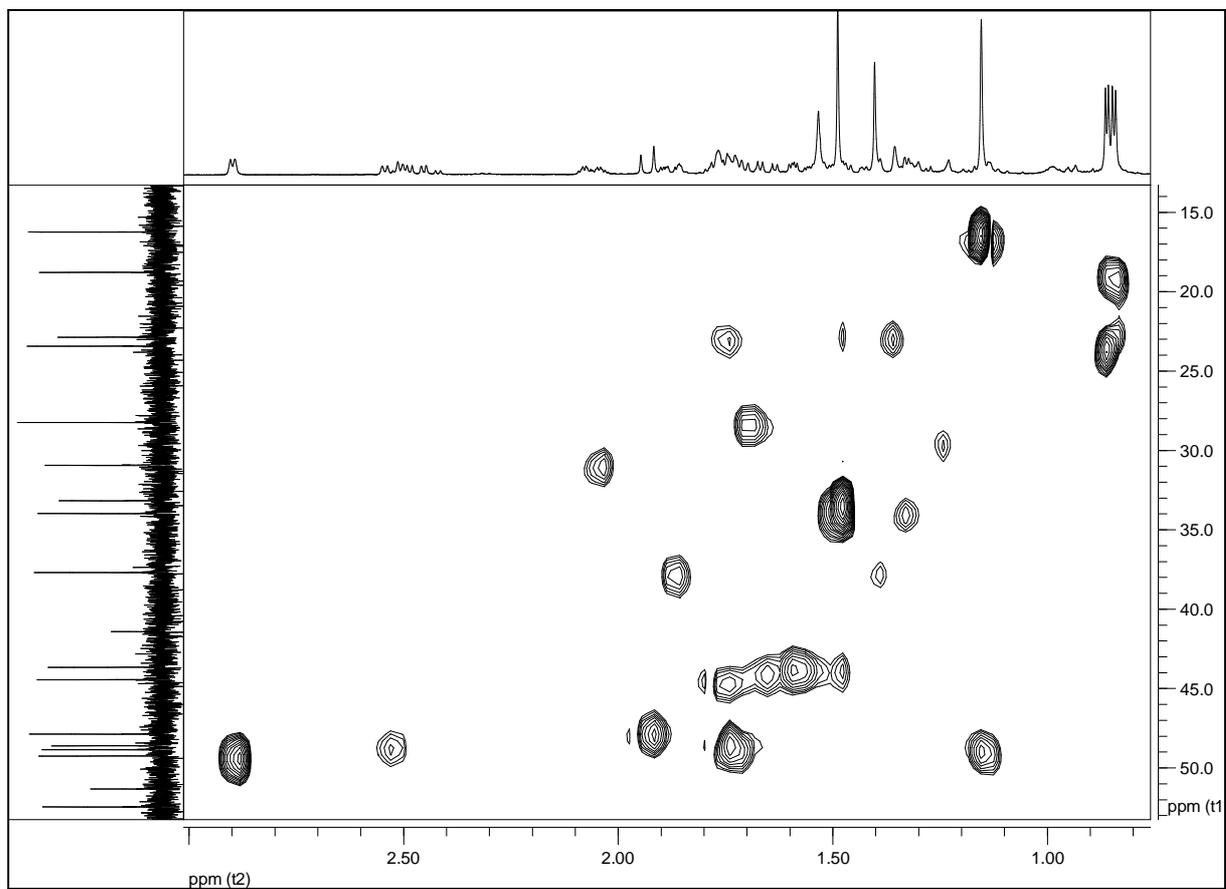
Figura 234 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

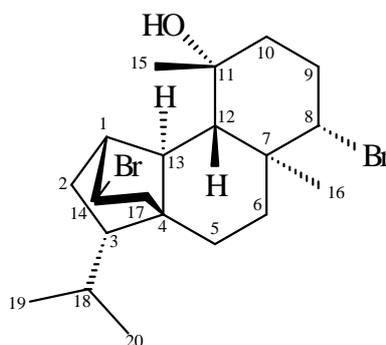
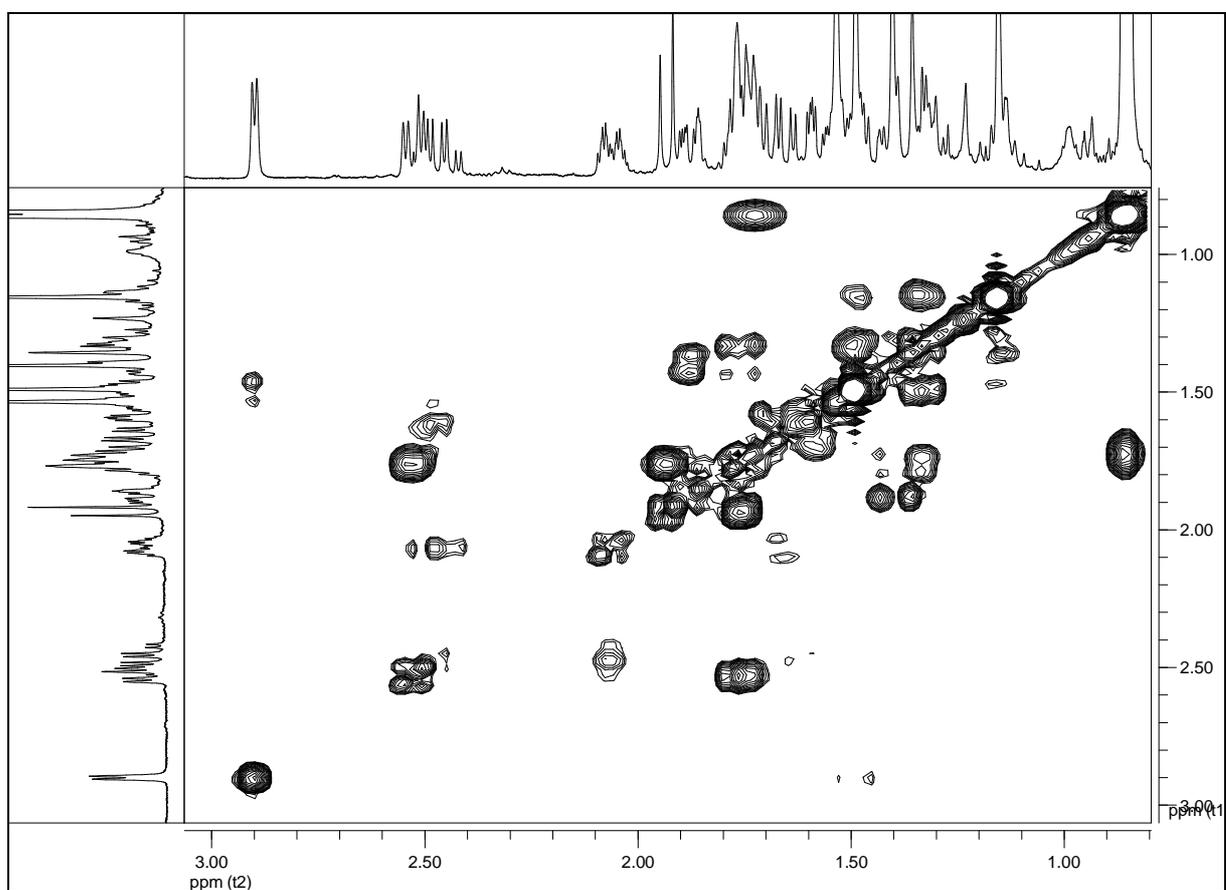
Figura 235 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

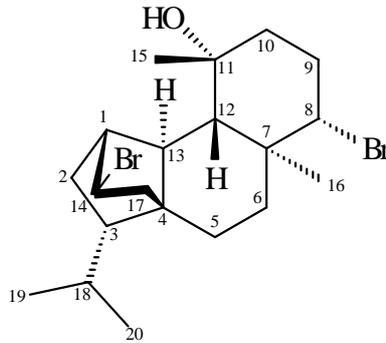
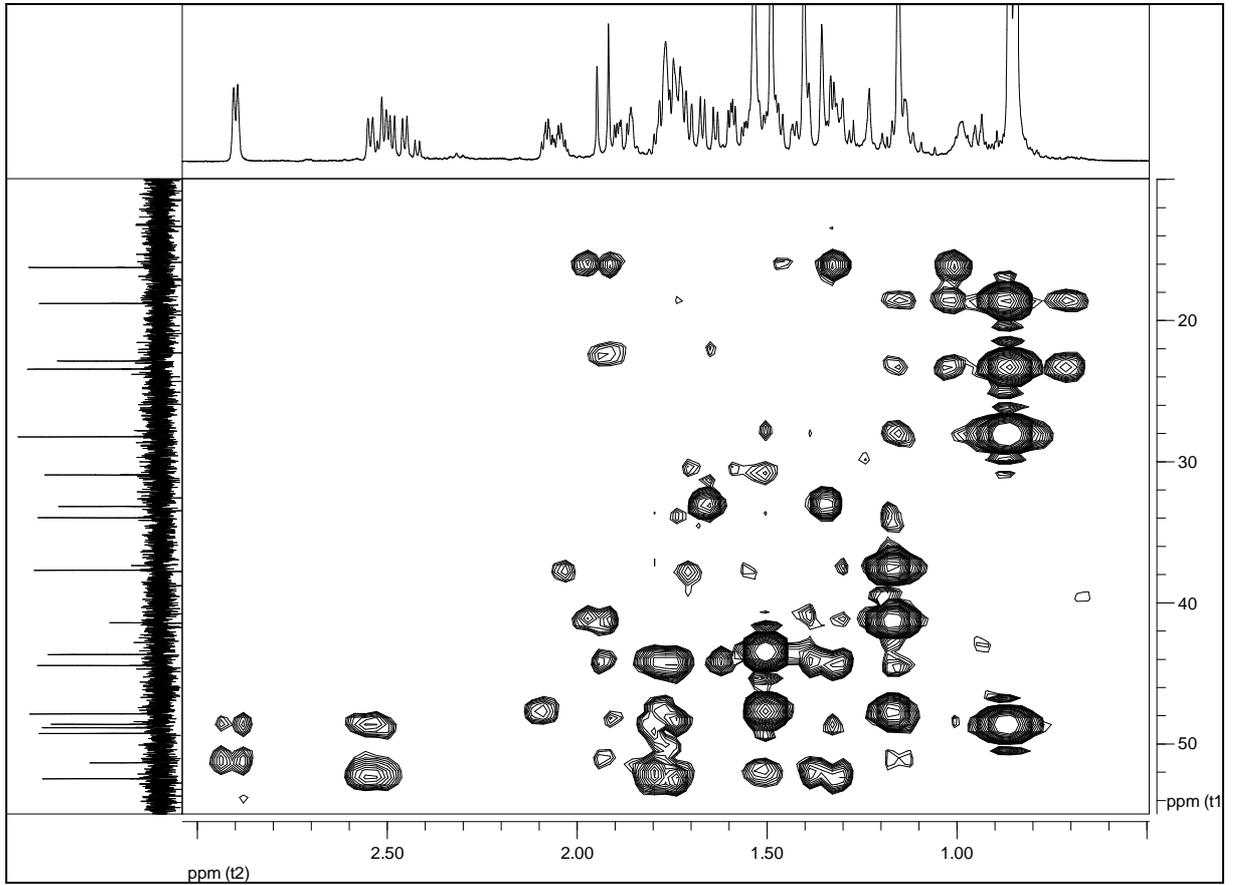
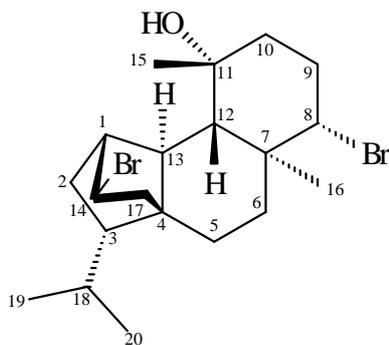
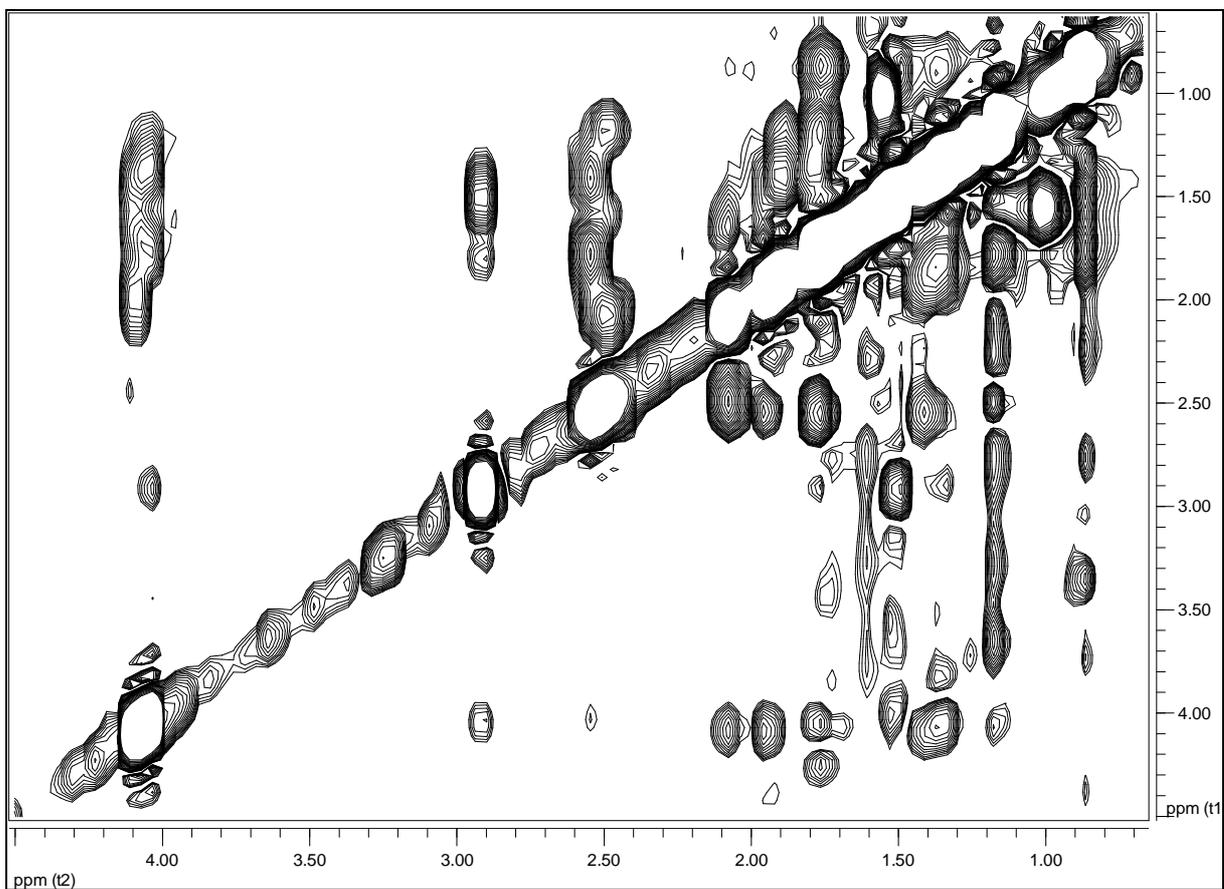
Figura 236 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

Figura 237 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de Sc-18.

Considerações

Finais

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A equipe da Prof^a. Dr^a. Marianna Vieira Sobral Castello Branco realizou bioensaio com *Artemia salina* Leach o qual tinha como objetivo uma avaliação inicial das atividades biológicas de produtos originados de plantas utilizando-se o extrato da alga *G. cerviconis*. O extrato testado mostrou significativa letalidade frente aos náuplios de *Artemia salina*, indicando a presença de importantes substâncias bioativas no mesmo.
- A atividade imunomoduladora *in vivo* do extrato hidroalcoólico de *G. cerviconis* foi avaliada pela equipe da Prof^a. Dr^a. Sandra Rodrigues Mascarenhas, concluindo-se que o mesmo apresentou potencial atividade anti-inflamatória.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- Foi realizada a análise e caracterização dos ésteres metílicos dos ácidos graxos utilizando-se os extratos CH₂Cl₂/MeOH das algas *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria caudata*, *Gracilaria cervicornis* e *Gracilaria domingensis*.
- O fracionamento do extrato CH₂Cl₂/MeOH de *G. caudata* permitiu a identificação de uma fração rica em hidrocarbonetos, cujo componente majoritário foi o heptadecano, e o isolamento e identificação de um ácido graxo (ácido hexadecanoico) e um esterol (colest-5-en-3β-ol).
- O fracionamento da alga *Sphaerococcus coronopifolius* culminou no isolamento e purificação de vinte terpenos, sendo três deles inéditos na literatura (lodo coronopifoliol, 14R-metoxi-13,14-diidro-Sphaerococcenol A e Bromo coronopifoliol), um isolado pela primeira vez na espécie (Geranil-linalool), um isolado pela primeira vez desta espécie quando coletada no mar Jônico (Grécia) (Bromocorodienol), e os demais re-isolados desta espécie, tendo em vista que foram isolados originalmente em estudos anteriores realizados pela equipe do professor colaborador Dr. Vassilios Roussis.
- As substâncias isoladas e identificadas da espécie *S. coronopifolius* foram disponibilizadas para realização de estudos biológicos por equipes que mantêm parcerias com o Prof. Dr. Vassilios Roussis, e seus resultados serão publicados posteriormente com nossa colaboração.

Referências

7 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. 2001. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, U.S.A., 2001.
- ALGAEBASE. **Listing the World's Algae**, 2011. Disponível em: <<http://www.algaebase.org/browse/taxonomy/?id=5216>>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- ALMEIDA, C. L. F.; FALCÃO, H. S.; LIMA, G. R. M.; MONTENEGRO, C. A.; LIRA, N. S.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; RODRIGUES, L. C.; SOUZA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BATISTA, L. M. Bioactivities from marine algae of the genus *Gracilaria*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 4550-4573, 2011.
- BELLORIN, A. M., OLIVEIRA, M. C., OLIVEIRA, E. C. Phylogeny and systematics of the marine algal family Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) based on small subunit rDNA and its sequences on Atlantic and Pacific species. **Journal of Phycology**, v. 38, p. 551-563, 2002.
- BEZERRA, A. F., MARINHO-SORIANO, E. Cultivation of the red seaweed *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) in tropical waters of northeast Brazil. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 1813-1817, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Caracterização do Estado da Arte em Biotecnologia Marinha no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 134 p.: il. (Série B. Textos Básicos de Saúde).
- CAFIERI, F.; CIMINIELLO, P.; FATTORUSSO, E.; SANTACROCE, C. 12S-Hydroxybromosphaerol, a new bromoditerpene from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Experientia**, v. 38, p. 298-299, 1982
- CAFIERI, F.; DE NAPOLI, L.; FATTORUSSO, E.; IMPELLIZZERI, G.; PIATTELLI, M.; SCIUTO, S.. Bromosphaerodiol, a minor bromo compound from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Experientia**, v. 33, n. 12, p. 1549-1550, 1977.
- CAFIERI, F.; DE NAPOLI, L.; FATTORUSSO, E.; PIATTELLI, M.; SCIUTO, S. Presphaerol, a new rearranged diterpene from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Tetrahedron Letters**, n. 11, p. 963 – 966, 1979.
- CAFIERI, F.; FATTORUSSO, E.; DI BLASIO, B.; PEDONE, C. Diterpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. Structure of sphaerodiene and reassignment of structure for presphaerol. **Tetrahedron Letters**, v.22, n. 41, p. 4123 - 4126, 1981.

- CAFIERI, F.; FATTORUSSO, E.; MAYOL, L. Coronopifoliol, a diterpene based on an unprecedented tetracyclic skeleton from the red algae *Sphaerococcus coronopifolius*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 50, p. 3982-3984, 1985.
- CAFIERI, F.; FATTORUSSO, E.; MAYOL, L.; SANTACROCE, C. Structure of bromotetrasphaerol, a further irregular diterpene from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Tetrahedron**, v. 42, n. 15, p. 4273-4276, 1986.
- CAFIERI, F.; FATTORUSSO, E.; SANTACROCE, C. Bromocorodienol, a diterpenoid based on a novel bicyclic skeleton from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Tetrahedron Letters**, v. 25, n. 29, p. 3141-3144, 1984.
- CARDOZO, K. H. M., MARQUES, L. G., CARVALHO, V. M., CARIGNAN, M. O., PINTO, E., MARINHO-SORIANO, E., COLEPICOLA, P. Analyses of photoprotective compounds in red algae from the Brazilian coast. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 202-208, 2011.
- CARNEIRO, M. A. A., FREIRE, F. A. M., MARINHO-SORIANO, E. Study on biofiltration capacity and kinetics of nutrient uptake by *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 329-333, 2011.
- CHOW, F.; CAPOCIAMA, F. V.; FARIA, R.; OLIVEIRA, M. C. Characterization of nitrate reductase activity *in vitro* in *Gracilaria caudata* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n.1, p.123-129, jan.-mar. 2007.
- COSTA L. S.; FIDELIS, G. P.; CORDEIRO, S. L.; OLIVEIRA, R. M.; SABRY, D. A.; CAMARA, R. B. G.; NOBRE, L.; T.; D.; B.; COSTA, M. S. S. P.; ALMEIDA-LIMA, J.; FARIAS, E. H. C.; LEITE, E. L.; ROCHA, H. A. O. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64, p. 21-28, 2010.
- CRIA. **Centro de Referência em Informação Ambiental**, 2011. Disponível em: <<http://www.cria.org.br/>>. Acesso em: 31 mai. 2011.
- DAS, B.; SRINIVAS, K. V. N. S. Minor C₂₉-steroids from the marine red alga, *Gracilaria edulis*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2427-2429, 1992a.
- DAS, B.; SRINIVAS, K. V. N. S. Dihydroxysterols from the marine red alga, *Gracilaria edulis*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 12, p. 4371-4373, 1992b.
- DE ROSA, S.; DE STEFANO, S.; SCARPELLI, P.; ZAVODNIK, N. Terpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius* of the North Adriatic Sea. **Phytochemistry**, v. 27, n. 6, p. 1875- 1878, 1988.
- ETAHIRI, S.; BULTEL-PONCÉ, V.; CAUX, C.; GUYOT, M. New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1024-1027, 2001.

- FATTORUSSO, E.; MAGNO, S.; SANTACROCE, C.; SICA, D.; IMPELLIZZERI, G.; MANGIAFICO, S.; ORIENE, G.; PIATTELLI, M.; SCIUTO, S. Sterols of some red algae. **Phytochemistry**, v. 14, p. 1579-1582, 1975.
- FAURE, R.; RAMANOELINA, A. R. P.; RAKOTONIRAINY, O.; BIANCHINIS, J. P.; GAYDOU, E. M. Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance of Sesquiterpenes. 4*-Application to Complete Assignment of ¹H and ¹³C NMR Spectra of Some Aromadendrane Derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 29, p. 969-971, 1991.
- FENICAL, W.; FINER, J.; CLARDY, J. Sphaerococcenol A, a new rearranged bromoditerpene from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Tetrahedron Letters**, n. 10, p. 731 - 734, 1976.
- FREILE-PELEGRIN, Y., MURANO, E. Agars from three species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Yucatan Peninsula. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 295–302, 2005.
- GAMAL, A. A. E. Biological importance of marine algae. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 18, p. 1-25, 2010.
- GIBBONS, G. F.; GOAD, L. J.; GOODWIN, T. W. The sterols of some marine red algae. **Phytochemistry**, v. 6, p. 677-683, 1967.
- GOVINDAN, M.; HODGE, J. D.; BROWN, K. A.; NUFIEZ-SMITH, M. Distribution of cholesterol in Caribbean marine algae. **Steroids**, v. 58, April 1993.
- GRESSLER, V., YOKOYA, N. S., FUJII, M. T., COLEPICOLO, P., MANCINI-FILHO, J., TORRES, R. P., PINTO, E. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. **Food Chemistry**, v. 120, p. 585–590, 2010.
- GUELLA, G.; PIETRA, F. A new-skeleton diterpenoid, new prenylbisabolanes, and their putative biogenetic precursor, from the red seaweed *Laurencia microcladia* from Il Rogiolo: Assigning the absolute configuration when two chiral halves are connected by single bonds. **Helvetica Chimica Acta**, v. 83, p. 2946-2952, 2000.
- GUIRY, M. D. Gracilariaceae. In: GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M., 2011a. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Acessado através de: World Register of Marine Species, disponível em: <<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=143748> on 2011-07-03>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D. In GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M., 2011b. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <<http://www.algaebase.org>>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D. Sphaerococcaceae. In: GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M., 2011c. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Acessado através de: World Register of Marine Species, disponível em:

- <<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=143784> on 2011-07-03>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D. *Sphaerococcus* Stackhouse, 1797. In: GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M., 2011d. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Acessado através de: World Register of Marine Species, disponível em: <<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=144276> on 2011-07-03>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D., GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2011a. Disponível em: <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=62160>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D., GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2011b. Disponível em: <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=11081>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D., GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2011c. Disponível em: <<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=145694>>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D., GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway, 2011d. Disponível em: <http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=11088>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M., 2011e. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <<http://www.algaebase.org>>. Acesso em: 03 jul. 2011.
- HARADA H, YAMASHITA U, KURIHARA H, FUKUSHI E, KAWABATA J, KAMEI Y. Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga. **Anticancer Research**, v. 22, p. 2587-90, 2002.
- HATTAB, N. E.; DAGHBOUCHE, Y.; HATTAB, M. E.; PIOVETTI, L.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. FTIR-determination of sterols from the red alga *Asparagopsis armata*: Comparative studies with HPLC. **Talanta**, v. 68, p. 1230-1235, 2006.
- HENRIQUEZ, P.; TRUCCO, R.; SILVA, M.; SAMME, P. G. Cholesterol in *Iridaea laminarioides* and *Gracilaria verrucosa*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1171, 1972.
- IOANNOU, E. ROUSSIS, V. Natural products from seaweeds. In: Anne E. Osbourn, A. E.; Lanzotti, V. **Plant-derived Natural Products - Synthesis, Function, and Application**. New York: Springer, 2009. p. 51-81.
- KHOTIMCHENKO, S. V. Lipids from the marine alga *Gracilaria verrucosa*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 41, n. 3, 2005.

- LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 158-163, 2006.
- MACIEL, J. S., CHAVES, L. S., SOUZA, B. W. S., TEIXEIRA, D. I. A., FREITAS, A. L. P., FEITOSA, J. P. A., DE PAULA, R. C. M. Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 559–565, 2008.
- MARINHO-SORIANO, E., AZEVEDO, C. A. A., TRIGUEIRO, T. G., PEREIRA, D. C., CARNEIRO, M. A. A., CAMARA, M. R. Bioremediation of aquaculture wastewater using macroalgae and *Artemia*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 253-257, 2011.
- MARINHO-SORIANO, E., CAMARA, M. R., CABRAL, T. M., CARNEIRO, M. A. A. Preliminary evaluation of the seaweed *Gracilaria cervicornis* (Rhodophyta) as a partial substitute for the industrial feeds used in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 182-187, 2007.
- MARINHO-SORIANO, E., NUNES, S. O., CARNEIRO, M. A. A., PEREIRA, D. C. Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, p. 327-331, 2009.
- MOO-PUC, R.; ROBLEDO, D.; FREILE-PELEGRIN, Y. Evaluation of selected tropical seaweeds for *in vitro* anti-trichomonal activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 92–97, 2008.
- MOSES BABU, J.; SRIDHARAN, R.; MATHUR, H. H.; TRIVEDI, G. Dihydroxyketosteroid from the marine red alga *Hypnea musciformis*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 12, p. 3965-3967, 1990.
- NEVES, S. A., DIAS-BARUFFI, M., FREITAS, A. L. P., ROQUE-BARREIRA, M. C. Neutrophil migration induced in vivo and in vitro by marine algal lectins. **Inflammation Research**, v. 50, p. 486–490, 2001.
- NORZIAH, M. H.; CHING, C. Y. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. **Food Chemistry**, v. 68, p. 69-76, 2000.
- NUNES, J.M.C. **Rodofíceas marinhas bentônicas do Estado da Bahia, Brasil**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005, 410 pp.
- OLIVEIRA, E. C.; ALVEAL, K.; ANDERSON, R. J. Mariculture of the agar-producing gracilaroid red algae. **Reviews in Fisheries Sciences**, v. 8, p. 345-377, 2000.
- OLIVEIRA, E. C.; PLASTINO, E. M. Gracilariaceae. In: AKATSUKA. I ed. **Biology of economic algae**. SPB Academic Publishing. The Hauge, p. 185-226, 1994.
- OLIVEIRA, M. N., FREITAS, A. L. P., CARVALHO, A. F. U., SAMPAIO, T. M. T., FARIAS, D. F., TEIXEIRA, D. I. A., GOUVEIA, S. T., PEREIRA, J. G., SENA, M. M.

- C. C. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brazil. **Food Chemistry**, v. 115, p. 254–259, 2009.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy**. 3. ed. United States of America: Brooks/Cole – Thomson Learning, 2001.
- PETKOV, G., GARCIA, G. Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 281-285, 2007.
- SCHMIDT, I. C., SANTOS, R., HORTA, P. A., MARASCHIN, M., BOUZON, Z. L. Effects of UVB radiation on the agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales): Changes in cell organization, growth and photosynthetic performance. **Micron**, v. 41, p. 919–930, 2010.
- SIMS, J. J.; PETTUS, JR., J. A. Isolation of free *cis* and *trans*-phytol from the red alga *Gracilaria andersoniana*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1076-1077, 1976.
- SMYRNIOTOPOULOS, V.; QUESADA, A.; VAGIAS, C.; MOREAU, D., ROUSSAKIS, C.; ROUSSIS, V. Cytotoxic bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Tetrahedron**, v. 64, p. 5184–5190, 2008a.
- SMYRNIOTOPOULOS, V.; VAGIAS, C.; RAHMAN, M. M.; GIBBONS, S.; ROUSSIS, V. Brominated diterpenes with antibacterial activity from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 1386–1392, 2008b.
- SMYRNIOTOPOULOS, V., VAGIAS, C.; BRUYÈRE, C.; LAMORAL-THEYS, D.; KISS, R.; ROUSSIS, V. Structure and in vitro antitumor activity evaluation of brominated diterpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 1321–1330, 2010a.
- SMYRNIOTOPOULOS, V.; VAGIAS, C.; RAHMAN, M. M.; GIBBONS, S.; ROUSSIS, V. Structure and antibacterial activity of brominated diterpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Chemistry & Biodiversity**, 7, p. 186-195, 2010b.
- SMYRNIOTOPOULOS, V.; VAGIAS, C.; RAHMAN, M. M.; GIBBONS, S.; ROUSSIS, V. Ioniols I and II, Tetracyclic diterpenes with antibacterial activity, from *Sphaerococcus coronopifolius*. **Chemistry & Biodiversity**, 7, p. 666-676, 2010c.
- SMYRNIOTOPOULOS, V.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Sphaeroane and Neodolabellane Diterpenes from the Red Alga *Sphaerococcus coronopifolius*. **Marine Drugs**, v. 7, p. 184-195, 2009.
- SOUSA, M. B.; PIRES, K. M. S.; ALENCAR, D. B.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. α -, β -caroteno e α -tocoferol em algas marinhas in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n.4, p. 953-958, out.-dez. 2008.
- SOUZA, B. W. S., CERQUEIRA, M. A., MARTINS, J. T., QUINTAS, M. A. C., FERREIRA, A. C. S., TEIXEIRA, J. A., VICENTE, A. A. Antioxidant potential of two red seaweeds from the Brazilian coasts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v, 59, n.10, p. 5589–5594, 2011.

TEIXEIRA, V. L.; KELECOM, A.; GOTTLIEB, O. R. Produtos naturais de algas marinhas. **Química Nova**, v. 14, n. 2, p. 83-90, 1991.

TONON, A., OLIVEIRA, M. C., SORIANO, E. M., COLEPICOLO, P. Absorption of metals and characterization of chemical elements present in three species of *Gracilaria* (Gracilariaceae) Greville: a genus of economical importance. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 355-360, 2011.

VASKOVSKY, V. E.; KHOTIMCHENKO, S. V.; XIA, B.; HEFANG, L. Polar lipids and fatty acids of some marine macrophytes from the Yellow Sea. **Phytochemistry**, v. 42, n. 5, p. 1347-1356, 1996.

WEN, X.; PENG, C.; ZHOU, H.; LIN, Z.; LIN, G.; CHEN, S.; LI, P. Nutritional composition and assessment of *Gracilaria lemaneiformis* Bory. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 48, n. 9, p. 1047–1053, 2006.