

TERPENOS DE CORAIS DA ORDEM GORGONACEA

LENIZE FERNANDES MAIA

1991

TERPENOS DE CORAIS DA ORDEM GORGONACEA

LENIZE FERNANDES MAIA

APROVADA EM

Prof. Dr. Alphonse G. A. C. Kelecom

Prof^a. Dr^a Valéria L. Teixeira

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Prof^a. Dr^a. Ceres M. R. Gomes (Suplente)



Valéria L. Teixeira

Mário Geraldo de Carvalho

Ceres M. R. Gomes

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

TERPENOS DE CORAIS DA ORDEM GORGONACEA

LENIZE FERNANDES MAIA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR

ALPHONSE G. A. C. KELECOM

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau
Mestre em Química.

Área de concentração em Química
Orgânica.

Itaguaí, Rio de Janeiro,
abril de 1991.

"As pessoas não deveriam refletir
tanto sobre o que têm a fazer.
Deveriam, antes, refletir
atentamente no que poderiam ser".

Mestre Eckhart

A Reinaldo e

à minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Aos amigos pela compreensão, estímulo e apoio constantes.

À UFRRJ, UFF, CAPES, CNPq e FAPERJ por terem me concedido a oportunidade de realizar este trabalho.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xvi
ÍNDICE DE ESPECTROS	xviii
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxiii
I. INTRODUÇÃO	1
1.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS E QUÍMICOS DE GORGÔNIAS	2
1.2 TERPENOS DE GORGÔNIAS	20
1.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS	22
1.4 INTERAÇÕES ECOLÓGICAS	26
1.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE BIOSÍNTESE DA FAMÍLIA GORGONIIDAE	26
1.6 OCTOCORAIS DA COSTA BRASILEIRA	35
1.6.1 LITERATURA QUÍMICA SOBRE GÊNEROS ENCONTRADOS NO BRASIL	38

1.7	OBJETIVOS	40
II.	SESQUITERPENOS DE PHYLLOGORGIA DILATATA (ESPER, 1806)	41
2.1	IDENTIFICAÇÃO DOS SESQUITERPENOS	42
2.1.1	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 11,12-EPOXINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)	43
2.1.1.1	CORRELAÇÃO QUÍMICA	59
2.1.1.2	REARRANJO DO 11,12-EPOXI-NARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)	60
2.1.2	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 12-HIDROXI-NARDOSIN-1(10),11(13)-DIENO (XXI NATURAL)	66
2.1.3	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 4,5-EPOXI-GERMACRA-1(10),7(11)-DIEN-8-ONA (XXII)	72
2.1.4	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO GERMACRA-1(10),4,7(11)-TRIEN-8-ONA (XXIII)	95
2.2	PROPOSTA BIOGENÉTICA PARA OS ESQUELETOS SESQUITERPENOÍDICOS DE <i>Phyllogorgia dilatata</i>	100
III.	QUIMIOTAXONOMIA DE GORGÔNIAS	114
3.1	INTRODUÇÃO	115
3.2	METODOLOGIA	118
3.2.1	ÍNDICE DE SIMILARIDADE DE SØRENSEN	124
3.2.2	TAXONOMIA NUMÉRICA	124
3.2.3	CLADÍSTICA NUMÉRICA	126
3.2.4	ÍNDICE TAXONÔMICO	127

3.2.1.1	SIMILARIDADE ENTRE OS GÊNEROS E	
	FAMÍLIAS DE GORGÔNIAS	131
3.2.2.1	ANÁLISE FENÉTICA	152
3.2.3.1	ANÁLISE CLADÍSTICA	155
3.2.4.1	ANÁLISE DOS ÍNDICES TAXONÔMICOS	157
3.2.4.2	ÍNDICES TAXONÔMICOS X	
	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	166
3.3	CONSIDERAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS	170
IV.	CONCLUSÃO	173
V.	EXPERIMENTAL	176
5.1	MATERIAL E MÉTODOS	177
5.2	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL	180
5.3	EXTRAÇÃO	182
5.3.1	EXTRAÇÃO A	182
5.3.2	EXTRAÇÃO B	182
5.3.3	EXTRAÇÃO C	182
5.4	PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO	183
5.4.1	EXTRATO A	183
5.4.2	EXTRATO B	184
5.4.3	EXTRATO C	184
5.5	ANÁLISES FÍSICAS E ESPECTROSCÓPICAS DOS	
	METABÓLITOS ISOLADOS E SEUS DERIVADOS	185
5.5.1	11,12-EPOXINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)	185
5.5.1.1	TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS	186

5.5.2	12-HIDROXINARDOSIN-1(10),11(13)-DIENO (XXI NATURAL)	188
5.5.3	4-EPOXIGERMACRA-1(10),7(11)-8-DIENONA (XXII)	189
5.5.4	GERMACRA-1(10),4,7(11)-8-TRIENONA (XXIII)	191
VI.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	193

ABREVIATURAS

c.a.c	cromatografia	de	adsorção	em	coluna
c.c.d.	cromatografia	em	camada	delgada	
c.c.d.p.	cromatografia	em	camada	delgada	em
		escala	preparativa			
Rf	fator	de	retenção		
ERPR	Evaporador	Rotatório	a	Pressão	Reduzida
IV	Infravermelho				
UV	Ultravioleta				
EM	Espectroscopia	de	Massas		
RMN	¹ H	Ressonância	Magnética	Nuclear	protônica	
RMN	¹³ C	Ressonância	Magnética	Nuclear	de	carbono-13
s	singlete				
d	dublete				
dd	duplo	dublete			
ddl	duplo	dublete	largo		
t	triplete				
dt	duplo	triplete			

m	mutipleteo
q	quarteto
TMS	tetrametilsilano
THF	tetraidrofurano
PCC	piridina clorocromato
Pi	piridina
DMAPF	dimetilalilpirofosfato
CPF	crisantemilpirofosfato
Fig.	Figura
Tab.	Tabela
Esq.	Esquema
Esp.	Espectro

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.	1.1	Classificação simplificada dos celenterados	3
	1.2	Esqueletos sesquiterpenoídicos da ordem Gorgonacea	8
	1.3	Esqueletos diterpenoídicos da ordem Gorgonacea	12
	1.4	Ocorrência de esqueletos sesquiterpenoídicos em gorgônias	16
	1.5	Ocorrência de esqueletos diterpenoídicos em gorgônias	17
	2.1	Acoplamento a duas dimensões homonuclear (RMN ^1H - ^1H) em CDCl_3 da substância XXII	83
	2.2	Acoplamento a duas dimensões homonuclear (RMN ^1H - ^1H) em C_6D_6 da substância XXII	88
	2.3	Acoplamento a duas dimensões homonuclear (RMN ^1H - ^1H) em CDCl_3 da substância XXIII	96
	3.1	Classificação taxonômica dos gêneros da ordem Gorgonacea que produzem terpenos	117

3.2	Similaridade de Sørensen entre os gêneros de gorgônias que produzem esqueletos de sesquiterpenos	135
3.3	Similaridade de Sørensen entre os gêneros de gorgônias que produzem esqueletos de diterpenos	140
3.4	Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos sesquiterpenoídicos (Paramuriceinae incluída em Plexauridae)	144
3.5	Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos de sesquiterpenoídicos (Paramuriceinae excluída de Plexauridae)	145
3.6	Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos de diterpenoídicos (Paramuriceinae incluída em Plexauridae)	147
3.7	Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos de diterpenoídicos (Paramuriceinae excluída de Plexauridae)	148
3.8	Diagrama de árvore fenética dos gêneros de gorgônias que produzem terpenos	154
3.9	Diagrama de árvore cladística dos gêneros que produzem terpenos	156

3.10	Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos sesquiterpenoídicos (I.E.) das famílias da ordem Gorgonacea	158
3.11	Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos diterpenoídicos (I.E.) das famílias da ordem Gorgonacea	158
3.12	Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos diterpenoídicos (I.E.) dos gêneros da ordem Gorgonacea	160
3.13	Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos sesquiterpenoídicos (I.E.) dos gêneros da ordem Gorgonacea	161
3.14	Árvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Briareidae segundo Kukenthal (1919)	163
3.15	Árvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Gorgoniidae segundo Bayer (1953)	164
3.16	Árvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Plexauridae segundo Kukenthal (1919)	165
3.17	Distribuição geográfica dos esqueletos sesquiterpenoídicos	167
3.18	Distribuição geográfica dos esqueletos diterpenoídicos	168
3.19	Fragmentação progressiva da Pangea	172
5.1	Locais de coleta da <i>gorgônia Phyllogorgia dilatata</i>	181

ÍNDICE DE TABELAS

Tab. 1.1	Número de trabalhos publicados sobre octocorais (1955-1989)	5
1.2	Bioatividade dos terpenos de gorgônias	21
1.3	Principais gorgônias brasileiras	36
1.4	Metabólitos de gêneros de gorgônias encontradas no Brasil	38
2.1	Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C em CDCl_3 das substâncias XIX, XXIV e XXV	53
2.2	Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C em CDCl_3 das substâncias XIX e XXI natural	67
2.3	Acoplamento a duas dimensões heteronuclear de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) da substância XXII	82
2.4	Deslocamentos químicos de RMN ^1H e EM das substâncias XXII e XXIX	95
2.5	Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) das substâncias XXII e XXIII	103

2.6	Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) das substâncias XXIII e XXX	107
3.1	Matriz de presença/ausência dos esqueletos sesquiterpenoídicos encontrados nas espécies da ordem Gorgonacea	129
3.2	Matriz de presença/ausência dos esqueletos diterpenoídicos encontrados nas espécies da ordem Gorgonacea	130
3.3	Matriz de similaridade de Sørensen dos gêneros da ordem Gorgonacea que produzem sesquiterpenos	132
3.4	Matriz de similaridade de Sørensen dos gêneros da ordem Gorgonacea que produzem diterpenos	132
3.5	Matriz de similaridade de Sørensen das famílias da ordem Gorgonacea que produzem sesquiterpenos	133
3.6	Matriz de similaridade de Sørensen das famílias da ordem Gorgonacea que produzem diterpenos	133

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esq. 1.1	Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenoídicos regulares da família Gorgoniidae	28
1.2	Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenoídicos irregulares	30
1.3	Proposta biossintética para o esqueleto sesquiterpenoídico irregular da família Gorgoniidae	31
1.4	Proposta biossintética para esqueletos diterpenoídicos da família Gorgoniidae	33
2.1	Proposta de fragmentação de massas da substância XIX	44
2.2	Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano	62
2.3	Correlação química entre as substâncias XIX e XXIV	60

2.4	Proposta de fragmentação de massas da substância XXI natural	62
2.5	Proposta de fragmentação de massas da substância XXII	92
2.6	Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano de alcionários	111
2.7	Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano de gorgônias	112
2.8	Proposta biossintética para o esqueleto germacrano de <i>Phyllogorgia dilatata</i>	113
3.1	Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenoídicos da ordem Gorgonacea	119
3.2	Proposta biossintética para esqueletos diterpenoídicos da ordem Gorgonacea	122

ÍNDICE DE ESPECTROS

Esp. 1	Espectro de massas (70 eV) da substância XIX.	45
2	Espectro de IV da substância XIX	47
3	Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (25.2 MHz) da substância XIX	48
4	Espectro de RMN ^{13}C (SFORD) em CDCl_3 (25.2MHz) da substância XIX	49
	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (100 MHz) da substância XIX	50
6	Espectro de IV da substância XX	55
7	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (100 MHz) da substância XX	56
8	Espectro de RMN ^1H em C_6D_6 (100 MHz) da substância XX	57
9	Espectro de massas (70 eV) da substância XX	58
10	Espectro de IV da substância XXI	61
11	Espectro de IV da substância XXI	63
12	Espectro de massas da substância XXI	64

13	Espectro de IV da substância XXI natural	68
14	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) da substância XXI natural	69
15	Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXI natural	70
16	Espectro de DEPT (CDCl_3) da substância XXI natural	71
17	Espectro de massas da substância XXII	73
18	Espectro de IV da substância XXII	74
19	Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII	75
20	Espectro de DEPT (CDCl_3) da substância XXII	76
21	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) da substância XXII	78
22	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) com NOE da substância XXII	79
23	Espectro de RMN ^1H em C_6D_6 (250 MHz) da substância XXII	80
24	Espectro a duas dimensões heteronuclear (RMN ^1H e ^{13}C) em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII	84
24'	Espectro a duas dimensões heteronuclear (RMN ^1H e ^{13}C) em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII com ampliação entre 0 a 60 ppm	85
25	Espectro a duas dimensões homonuclear (RMN ^1H - ^1H) em CDCl_3 (250 MHz) da substância XXII	86
26	Espectro de RMN ^1H de alta resolução em CDCl_3 da Me-D (250 MHz) da substância XXII	89

27	Espectro de RMN ^1H de alta resolução em C_6D_6 (250 MHz) com irradiação na Me-D da substância XXII	90
28	Espectro de RMN ^1H de alta resolução em CDCl_3 das Me-B e Me-C (250 MHz) da substância XXII	93
29	Espectro de IV da substância XXIII	97
30	Espectro de UV da substância XXIII	90
31	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (200 MHz) da substância XXIII	99
32	Espectro a duas dimensões homonuclear (RMN ^1H - ^1H) em CDCl_3 (200 MHz) da substância XXIII	100
33	Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (50.3 MHz) da substância XXIII	104
34	Espectro de DEPT (90° e 135°) em CDCl_3 da substância XXIII	105
35	Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) da substância XXIII	108
36	Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXIII	109

RESUMO

A gorgônia *Phyllogorgia dilatata* coletada em Guarapari (ES), Búzios (RJ) e Arraial do Cabo (RJ), forneceu quatro sesquiterpenos inéditos para a ordem Gorgonacea, sendo dois nardosinanos o [11,12-epoxinardosin-1(10)-eno e 12-hidroxinardosin-1(10)-11(13)-dieno] e dois germacranos o [4,5-epoxigermacra-1(10)-7(11)-trien-8-ona e germacra-1(10), 4,7(11)-trien-8-ona]. A identificação estrutural destas substâncias foi feita por análises espectroscópicas, transformações químicas e comparação com dados da literatura.

Para a abordagem quimiotaxonômica foram utilizados quatro diferentes técnicas: índices de similaridade de Sørensen, análise fenética, cladista e índices taxonômicos (I.O. e I.E.). O índice de similaridade de Sørensen e a análise fenética indicaram que alguns gêneros precisam ser quimicamente mais estudados, para que se possa estabelecer melhor as relações taxonômicas entre os gêneros e suas

famílias dentro da ordem Gorgonacea. Os índices taxonômicos agruparam os gêneros de acordo com suas famílias mas não indicaram uma correlação evolutiva com a sistemática clássica. As considerações biogeográficas demonstraram a possibilidade de se utilizar dados químicos para esclarecer melhor a época e rotas de dispersão das gorgônias durante as eras geológicas.

ABSTRACT

The gorgonian *Phyllogorgia dialata*, collected off Guarapari (ES), Búzios (RJ) and Arraial do Cabo (RJ) furnished four sesquiterpenes previously unreported for the order Gorgonacea. Two are nardosinanes [11,12-epoxynardosin-1(10)-ene and 12-hydroxynardosin-1(10), 11(13)-diene]; the other two are germacranes (4,5-epoxygermacra-1(10),7(11)-dien-8-one and germacra-1(10), 4,7(11)-trien-8-one]. Structures were derived mainly from spectroscopic analysis, chemical and literature data.

Chemotaxonomic studies were based on four different methods: the use of similarity indices following Sørensen, phenetic and cladistic analysis and the use of taxonomic indices (O.I. and S.I.). The similarity indices and phenetic analysis both indicated that, some genera need to be chemically better studied in order to establish more accurately the taxonomic relationships between genera and families of the order Gorgonacea. The taxonomic indices

families of order Gorgonacea. The taxonomic indices clustered genera according to their families, but no evolutive correlation could be observed with classical systematics. Biogeographic considerations indicated that chemical data might be used to shed light on dispersion time and routes of gorgonians during geologic areas.

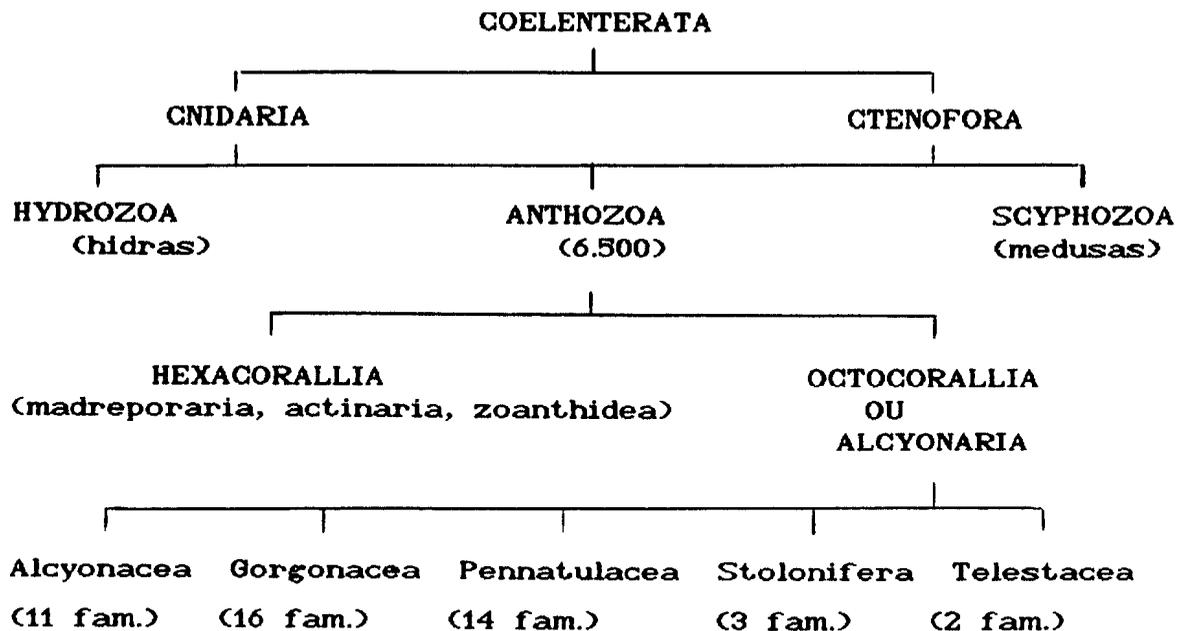
CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS BIOLÓGICOS E QUÍMICOS DE GORGÔNIAS

Os celenterados são invertebrados marinhos pertencentes ao sub-reino Metazoa. Este filo com aproximadamente 10.000 espécies, inclui os hidrários, as medusas, as anemônas-do-mar, os corais verdadeiros (hermatípicos), os leques-do-mar (gorgônias) e os corais macios (alcions). Na figura 1.1, encontra-se uma classificação biológica simplificada dos celenterados¹.

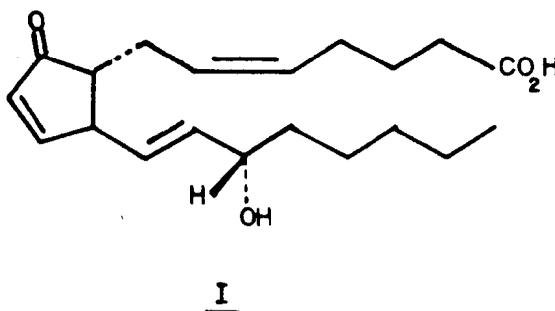
Fig. 1.1 Classificação simplificada dos celenterados



Os octocorais são organismos coloniais, com pólipos bem pequenos, que possuem invariavelmente oito tentáculos pinados. O esqueleto pode ser composto por espículas calcárias fundidas ou separadas e ou de material córneo. Entre os octocorais mais familiares estão as gorgônias (corais córneos) que são membros comuns e conspícuos das faunas de recife dos mares tropicais e subtropicais¹.

Seu estudo químico começou a se desenvolver na década de 60, com o isolamento de metabólitos potencialmente bioativos². O interesse por este grupo cresceu ainda mais

com a descoberta por Weinheimer & Spraggins (1969), de prostaglandinas (15-epi-PGA₂) (I), isoladas em grandes quantidades de *Plexaura homomalla*². Desde então terpenos, esteróis, acetogeninas e prostanóides, entre outros, têm sido encontrados em gorgônias e outros octocorais.



A tabela 1.1 abaixo mostra o número de trabalhos relativos a celenterados, publicados entre 1955 a 1989. Esteróis (18%) e terpenos (58%) são as duas classes de metabólitos mais encontrados.

Tab. 1.1 Número de trabalhos publicados sobre octocorais
(1955-1989)

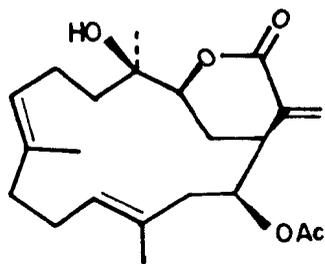
CLASSE DE PRODUTO	ALCIIONS	GORGÔNIAS	STOL/TELES/PENN	TOTAL
ác. graxos	01	03	0	04
alcalóides	0	01	0	01
esteróides	37	37	05	79
prostanóides	0	07	05	12
t e r p e n o s				
sesquiterpenos	43	15	09	67
diterpenos	121	54	12	187
triterpenos	0	0	0	0
TOTAL TERPENOS	164	69	21	254
bioluminescência	0	0	32	32
diversos	<u>17</u>	<u>28</u>	<u>03</u>	<u>48</u>
TOTAL GERAL	219	145	66	430

Observa-se que a maioria das classes de produtos naturais terrestres tem seu equivalente nos organismos marinhos salvo os derivados da via do chiquimato praticamente ausentes no mar. Os esteróis e terpenos parecem bem mais diversificados que os terrestres; os primeiros apresentam frequentemente cadeias laterais polialquiladas ou esqueletos poliidroxilados, e os últimos apresentam esqueletos são exclusivamente marinhos, mostrando a existência de novos caminhos biossintéticos.

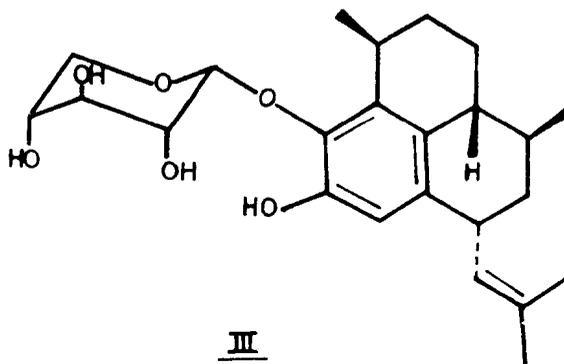
1.2 TERPENOS DE GORGÔNIAS

Foram isolados cerca de 120 sesquiterpenos e 115 diterpenos a partir dos extratos brutos de 62 espécies de gorgônias, distribuídas pelos mares do Caribe, Mediterrâneo, Costa do Japão e Austrália.

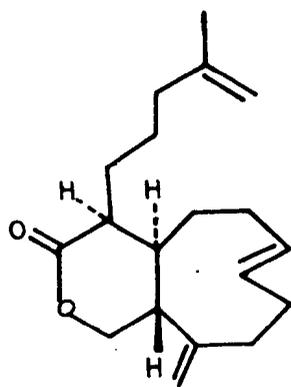
Substâncias como acetato de crassina⁹ (II), pseudopterosina-A²(III), acalixeniolido⁴ (IV), guaiazulenos⁵ (V), (+)- β -gorgoneno⁶ (VI), são alguns exemplos dos diversos tipos de estruturas presentes neste grupo de organismos.



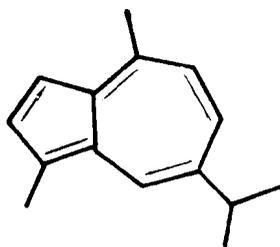
II



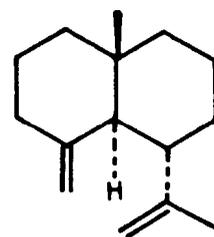
III



IV



V

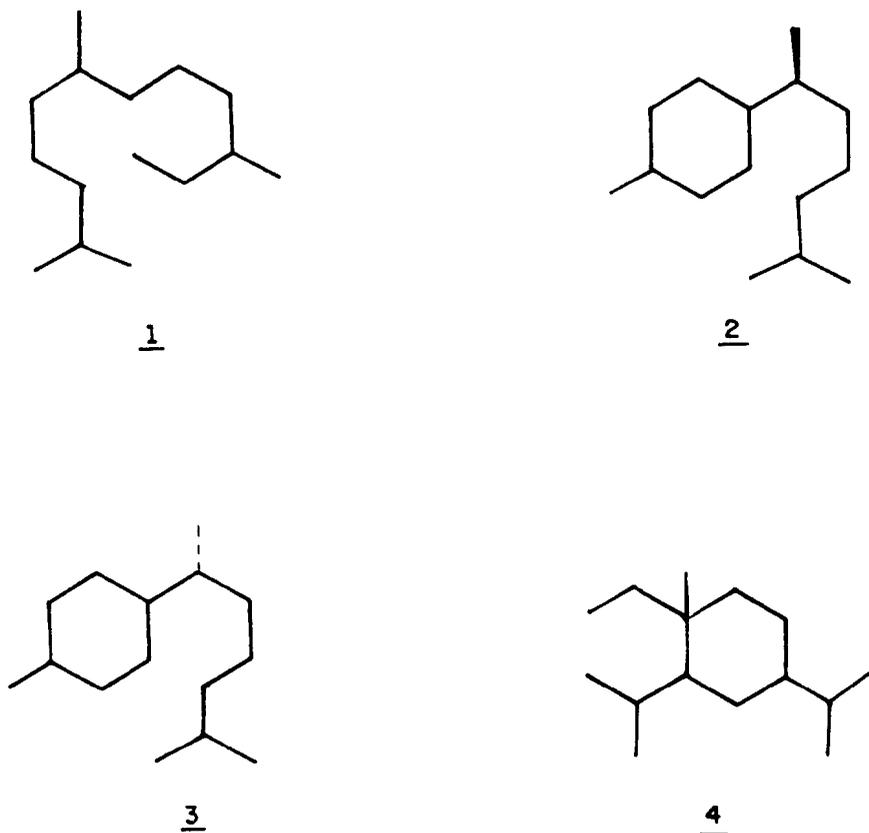


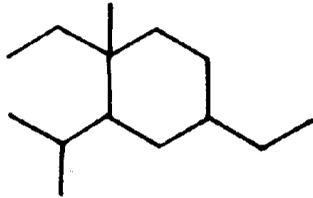
VI

Dos 40 tipos de esqueletos químicos encontrados, 24 são de sesquiterpenos e 16 de diterpenos (FIG. 1.2 e 1.3) observados em 32. e 42 espécies respectivamente. Os sesquiterpenos podem ser divididos em 4 tipos: os lineares (1), os mono, bi e tricíclicos. Os monocíclicos são: bisabolano (2), curcumano (3), elemano (4), nor-elemano (5), germacrano (6), ventalano (7); os bicíclicos cadinano (8), calamenano (9), eudesmano (10), gorgonano (11), guaiano (12), indano (13), muurolano (14), pacifigorgiano (15), seco-santalano (16); e os tricíclicos aristolano (17),

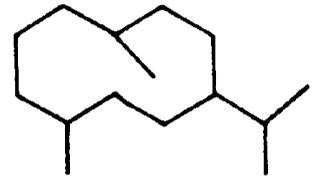
aromadendrano (18), bourbonano (19), copaano (20), cubebano (21), maaliano (22), santalano (23), e subergano (24). Os diterpenos em geral possuem um macrociclo. Os esqueletos monocíclicos são: cembrano (26) frequentemente oxidado a cembranólido (27), cubitano (28), elemano prenilado (29), germacrano prenilado (30), pseudopterano (31), xeniano (32), nor-xeniano (33); os bicíclicos asbestinano (34), briareano (35), dolabellano (36), eunicellano (37), seco-amphilectano (38); os tricíclicos amphilectano (39), erythrano (40) e os diterpenos lineares de origem biossintética mista (41).

Fig. 1.2 Esqueletos sesquiterpenoídicos da ordem Gorgonacea

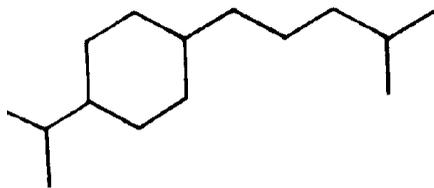




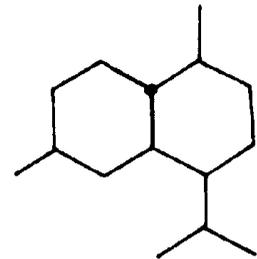
5



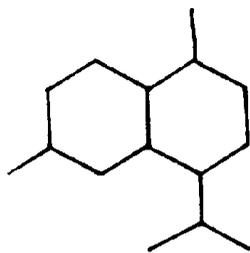
6



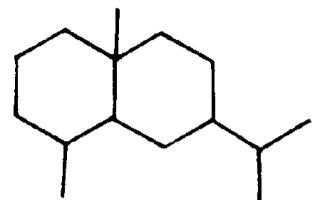
7



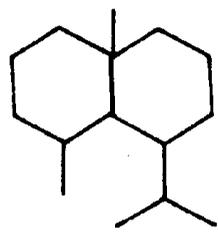
8



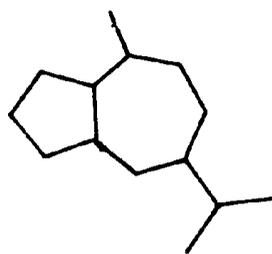
9



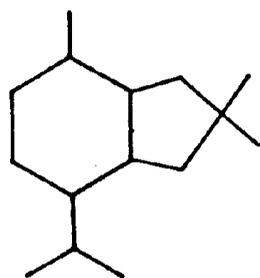
10



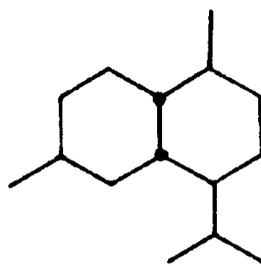
11



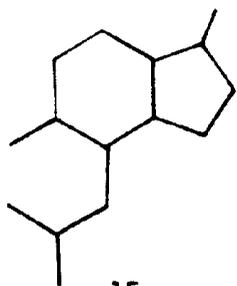
12



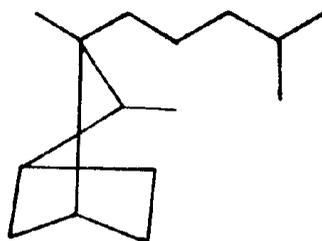
13



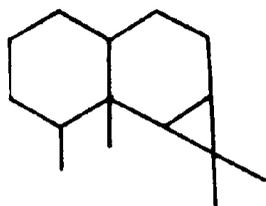
14



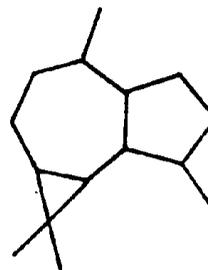
15



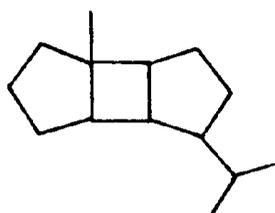
16



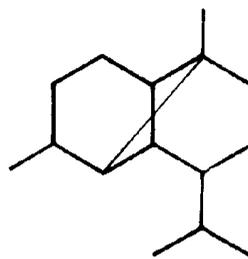
17



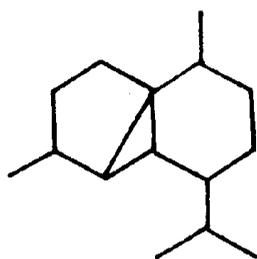
18



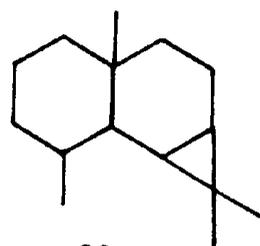
19



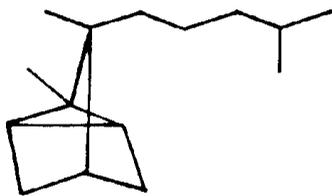
20



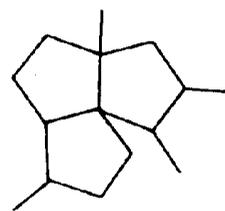
21



22

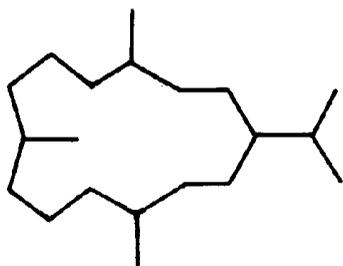


23

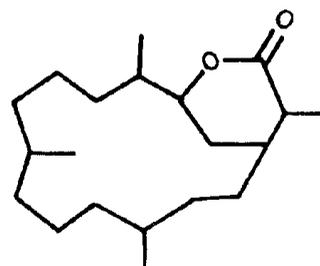


24

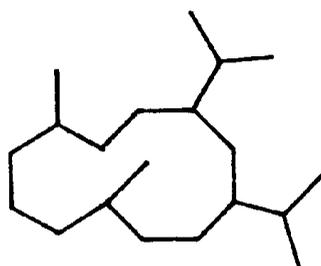
Fig. 1.3 Esqueletos diterpenoidicos da ordem Gorgonacea



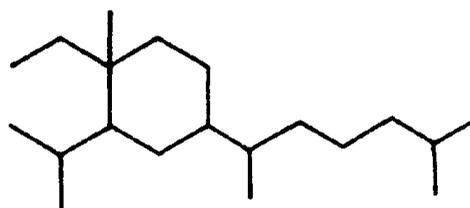
26



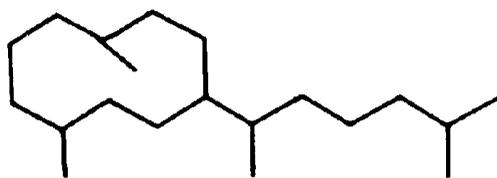
27



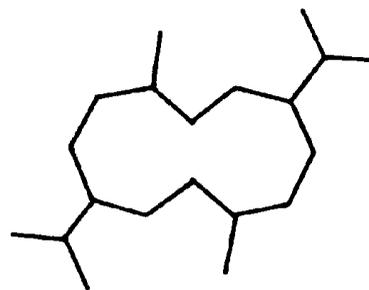
28



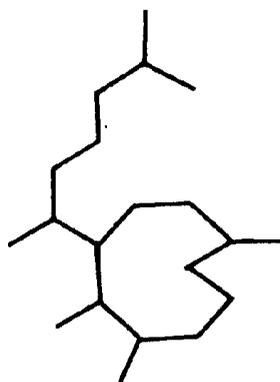
29



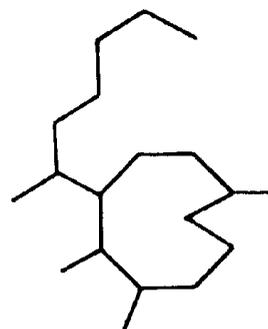
30



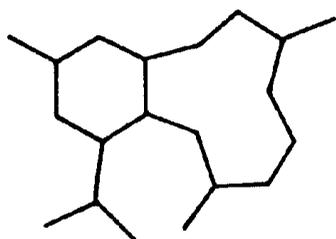
31



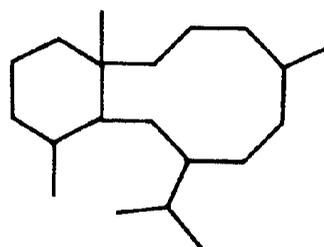
32



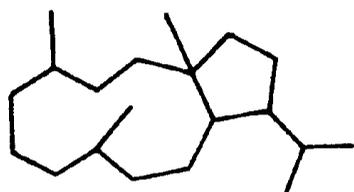
33



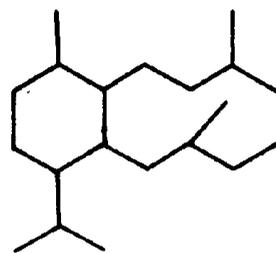
34



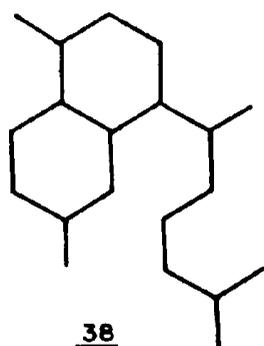
35



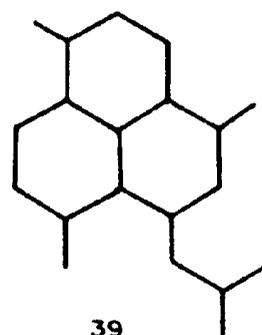
36



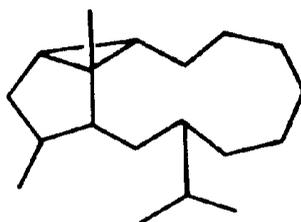
37



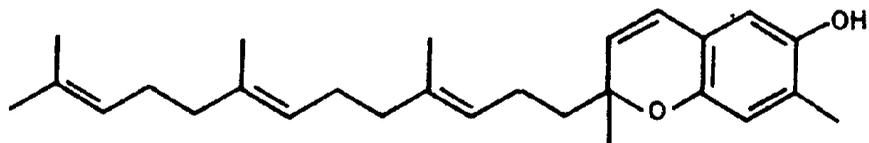
38



39



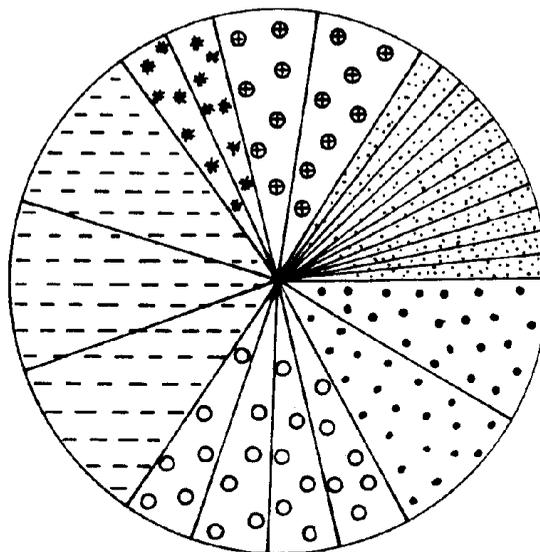
40



41

Os esqueletos sesquiterpenóidicos apresentam uma distribuição uniforme entre as gorgônias tendo como representantes mais significativos o bisabolano, curcumano e muurolano com 10% cada (Fig. 1.4). Já os diterpenos têm os cembranóides (45%) como esqueletos predominantes, isto sem levar em consideração que possam ser os prováveis precursores biogénéticos de alguns dos outros esqueletos como mostra a figura 1.5.

Fig. 1.4 Ocorrência de esqueletos sesquiterpenoidicos em gorgônias

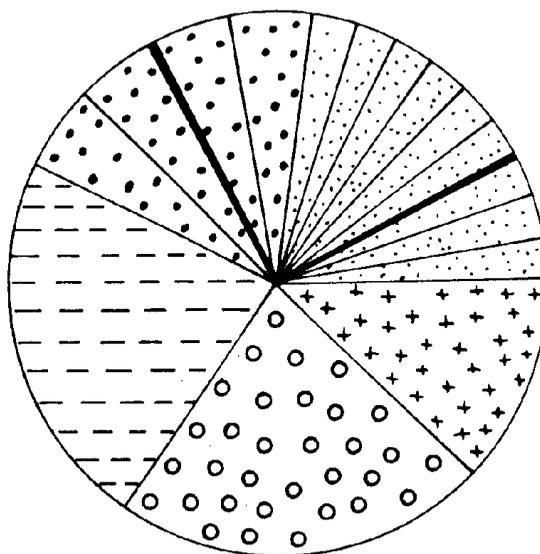


Legenda:

% para cada esqueleto

 1.45%	nor-elemano	(5)	 4.35%	elemano	(4)
	ventalano	(7)		aromadendrano	(18)
	eudesmano	(10)		bourbonano	(19)
	gorgonano	(11)		cubeano	(21)
	indano	(13)	 10.14%	bisabolano	(2)
	pacifigorgiano	(15)		curcumano	(3)
	seco-santalano	(16)		muuroiano	(14)
	aristolano	(17)	 2.90%	cadinano	(8)
	maaliano	(22)		copaano	(20)
	santalano	(23)	 5.80%	linear	(1)
	subergano	(24)		calamenano	(9)
 8.70%	germacrano	(6)			
	guaiano	(12)			

Fig. 1.5 Ocorrência de esqueletos diterpenóidicos em gorgônias

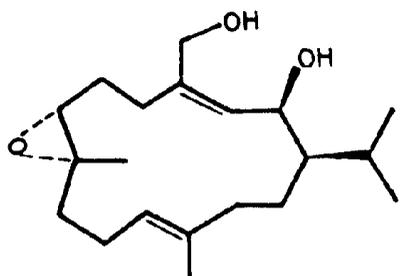


Legenda:

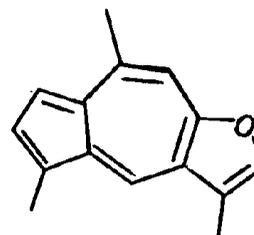
% para cada esqueleto

▬▬	22.5% cembrano	(26)	▨	2.5% cubitano	(28)
⊖⊖	22.5% cembranolido	(27)		germacrano prenilado	(30)
⊕⊕	12.5% briareano	(35)		nor-xeniano	(33)
⊙⊙	5.0% elemano prenilado	(29)		asbestinano	(34)
	pseudopterano	(31)		dolabellano	(36)
	xeniano	(32)		seco-amphilectano	(38)
	eunicellano	(37)		amphilectano	(39)
				erythrano	(40)
				linear	(41)

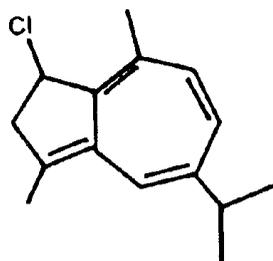
Alguns destes metabólitos têm sido sintetizado visando a realização de estudos estereoquímicos (asperdiol)⁷ (VII), elucidação estrutural [3-cloro-7-isopropil-1,4-dimetilazuleno (VIII), linderazuleno (IX), obscuronatin (X), α -curcumano (XI), ácido subergórico (XII)]^{8,9,10,11,12}, ou produção de novos fármacos [pseudopterosina-A (III), lophotoxina (XIII)]^{13,14}.



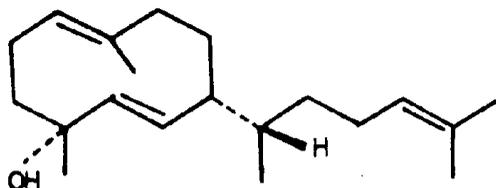
VII



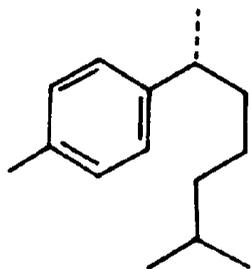
VIII



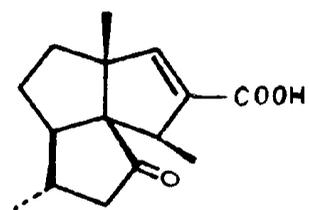
IX



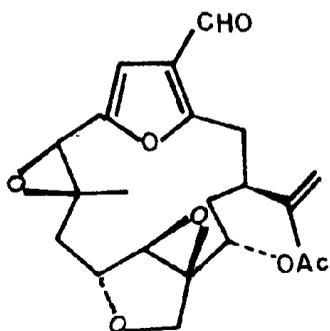
X



XI



XII



XIII

1.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

A busca de novas substâncias naturais bioativas deu origem a estudos farmacológicos com praticamente todos os filos de organismos marinhos. Na ausência quase absoluta de informações etnofarmacológicas, esta busca foi feita de maneira randômica. As gorgônias foram uns dos primeiros alvos de pesquisa em razão da abundância e facilidade de coleta, e até hoje continuam sendo trabalhadas devido à diversidade de metabólitos isolados, principalmente terpenos que têm mostrado bioatividade frente a diversos sistemas biológicos. A seguir são apresentados alguns dados sobre bioatividade de metabólitos obtidos de gorgônias (Tab. 1.2), onde os esqueletos foram representados pelos seus respectivos números.

O fato de algumas atividades serem mais frequentemente encontradas se deve principalmente a simplicidade do teste biológico (antimicrobial, antimetabólico) ou ao financiamento em peso para procura de substâncias anticâncer. De grande interesse são as atividades analgésica e antiinflamatória dos pseudopteranos (31), mais eficientes que a indometacina². Estes diterpenos são agentes antiinflamatórios de um tipo completamente novo (não esteroídico) que podem ter futuro promissor como agente terapêutico.

Tab. 1.2. Bioatividade dos terpenos de gorgônias

ATIVIDADE	PRODUTO	ESQ.	Nº	ORGANISMO	(REF.)
antimitótico	acalixeniolido	32		<i>Acalycigorgia</i>	<i>inermis</i> ⁴
	gimnaleno	32		<i>Acalycigorgia</i>	sp. ¹⁵
citotóxico	briantheína V	35		<i>Briareum</i>	<i>asbestinum</i> ¹⁶
	bipinatinas A-D	26		<i>Pseudopterogorgia</i>	<i>bipinnata</i> ¹⁷
	pseudopterolido	31		<i>P. acerosa</i> ²	
	pseudopterosina A-D	31		<i>P. elisabethae</i> ¹⁸	
antimicrobial	briantheína V	35		<i>Briareum</i>	<i>asbestinum</i> ¹⁶
	eunicina	27		<i>Eunicea</i>	<i>mammosa</i> ¹⁹
	solenolido	35		<i>Solenopodium</i>	sp. ²⁰
	pseudopterosina A	31		<i>Pseudopterogorgia</i>	<i>elisabethae</i> ¹⁸
	curcufenol	3		<i>p. rigida</i> ¹¹	
	curcuhidriquinona	3		<i>p. rigida</i> ¹¹	
	curcuquinona	3		<i>p. rigida</i> ¹¹	
	guaiazuleno	11		<i>Euplexaura</i>	<i>erecta</i> ⁵
	linderazuleno	11		<i>Acalycigorgia</i>	sp. ²¹
antineoplásico	acetato de crassina	26		<i>Pseudoplexaura</i>	<i>porosa</i> ⁹
	asperdiol	26		<i>Eunicea asperula</i> <i>E. tourneforti</i> ²²	

	guaiazuleno	11	<i>Acalycigorgia</i> sp. ²¹
antiinflamatório	kalolido	31	<i>Pseudoptorogorgia kallos</i> ^{2,23}
	pseudopterolido	31	<i>P. acerosa</i> ^{2,24}
	pseudopterosina	31	<i>P. elisabethae</i> ¹⁸
	seco-pseudopterosina	91	<i>P. sp.</i> ²⁵
	solenlido	35	<i>Solenopodium</i> sp. ²⁰
neurotóxico	lophotoxina	27	<i>Lophogorgia chilensis</i> ^{26,27}
cardiotóxico	ác. subergórico	24	<i>Subergorgia suberosa</i> ²⁸
imunoestimulante	linderazuleno	11	
antagonizador da acetilcolina	asbestininas 1,4,5	34	<i>Briareum asbestinum</i> ²⁹

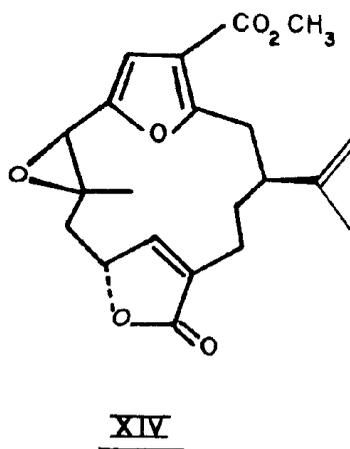
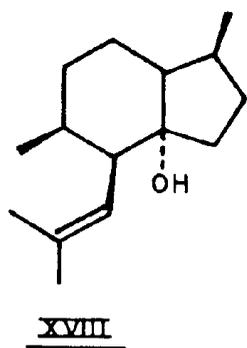
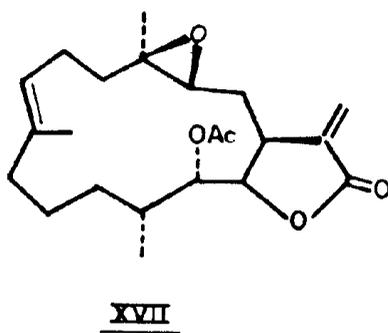
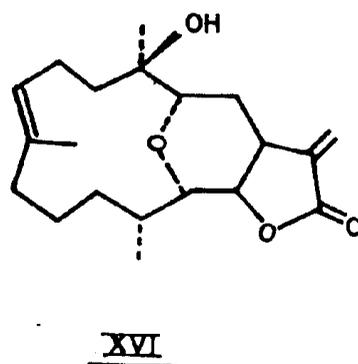
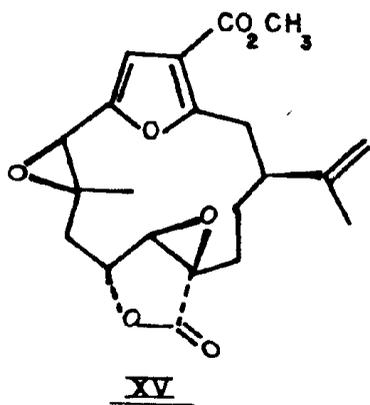
1.4 INTERAÇÕES ECOLÓGICAS

As interações químicas entre organismos de comunidades terrestres são relativamente bem conhecidas³⁰. No ambiente marinho muitos trabalhos sugerem que metabólitos de origem vegetal e animal, como as gorgônias, podem atuar como antiincrustantes, em interações alelopáticas e na defesa contra predadores³⁰.

Antiincrustação pôde ser observvada nos bioensaios em que *Leptogorgia virgulata* apresentou um mecanismo de inibição à fixação de larvas de craca (*Balanus amphitrite*) provavelmente devido à ação dos diterpenos pukalido (XIV) e 11 β -12 α -epoxipukalido (XV). Esta inibição não provocava morte de larva e poderia entretanto servir de fonte alternativa aos produtos antiicrustantes tóxicos (derivados metálicos) amplamente comemcializados³¹.

Organismos zooplanctônicos testados com os cembranolidos eunicina (XVI), acetato de crassina (II) e acetato de eupalmerina (XVII), demonstraram perda de mobilidade e morte no caso de anfípodas e rotíferos e perda ciliar em larvas de nudibrânquios³². Estes efeitos tóxicos poderiam ser um meio de proteção desenvolvido pelas gorgônias para prevenir a fixação de larvas ciliadas que compartilhem do mesmo substrato.

A competição por espaço (substrato para fixação) de *Briareum steckei* nos recifes, ilustra um caso de alelopatia. Foi constatado que seu crescimento próximo ao coral duro *Porites andrewsii* provocava a morte desta colônia³³. *Briareum steckei* também mostrou pequena ictiotoxidade contra *Gambusia affinis*³³. Propriedade ictiotóxica também foi verificada através de bioensaios feitos com extrato bruto de *Lophogorgia*²⁶ e por pacifigorgiol (XVIII) isolado de *Pacifigorgia cf. adamsii*³⁴.



As gorgônias em geral não possuem predadores, com exceção de alguns moluscos gastrópodos que podem ou não ser considerados predadores, já que em alguns casos são citados como exo-simbiontes^{31,32,35}.

Como resultado de sua natureza sedentária, os octocorais possuem diversos tipos de organismos associados que podem beneficiá-los ou não. A endosimbiose com as zooxantelas, que são dinoflagelados fotossintéticos (algas monocelulares), parece contribuir significativamente com a nutrição do hospedeiro e esta troca fornecer elementos essenciais para o metabolismo autotrófico³⁶. O ponto controverso é em relação à origem dos metabólitos isolados destes octocorais. Ao longo de três décadas, ampla literatura foi publicada a respeito. Os trabalhos foram sempre pouco conclusivos. Fenical *et al.* (1984), através de marcação isotópica com uma série de esteróis e terpenos isolados de zooxantelas simbióticas de corais macios e gorgônias, demonstraram que as zooxantelas não produzem terpenos, mas os esteróis poderiam ser obtidos das duas fontes, animal ou vegetal³⁷. Também o fato de algumas gorgônias como *Corallium* sp., *Lophogorgia rigida*, *L. alba*, *Pacifigorgia* sp., não possuírem zooxantelas mas produzirem terpenos, reforça a idéia de que sejam realmente de origem animal. Por outro lado, a biossíntese do acetato de crassina (II) parece se processar somente dentro da zooxantela, mas o controle desta produção seria exercido pela gorgônia³⁸. Tais

contradições demonstram a necessidade de estudos biossintéticos aprofundados para solucionar este problema.

1.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE BIOSÍNTESE DA FAMÍLIA GORGONIIDAE

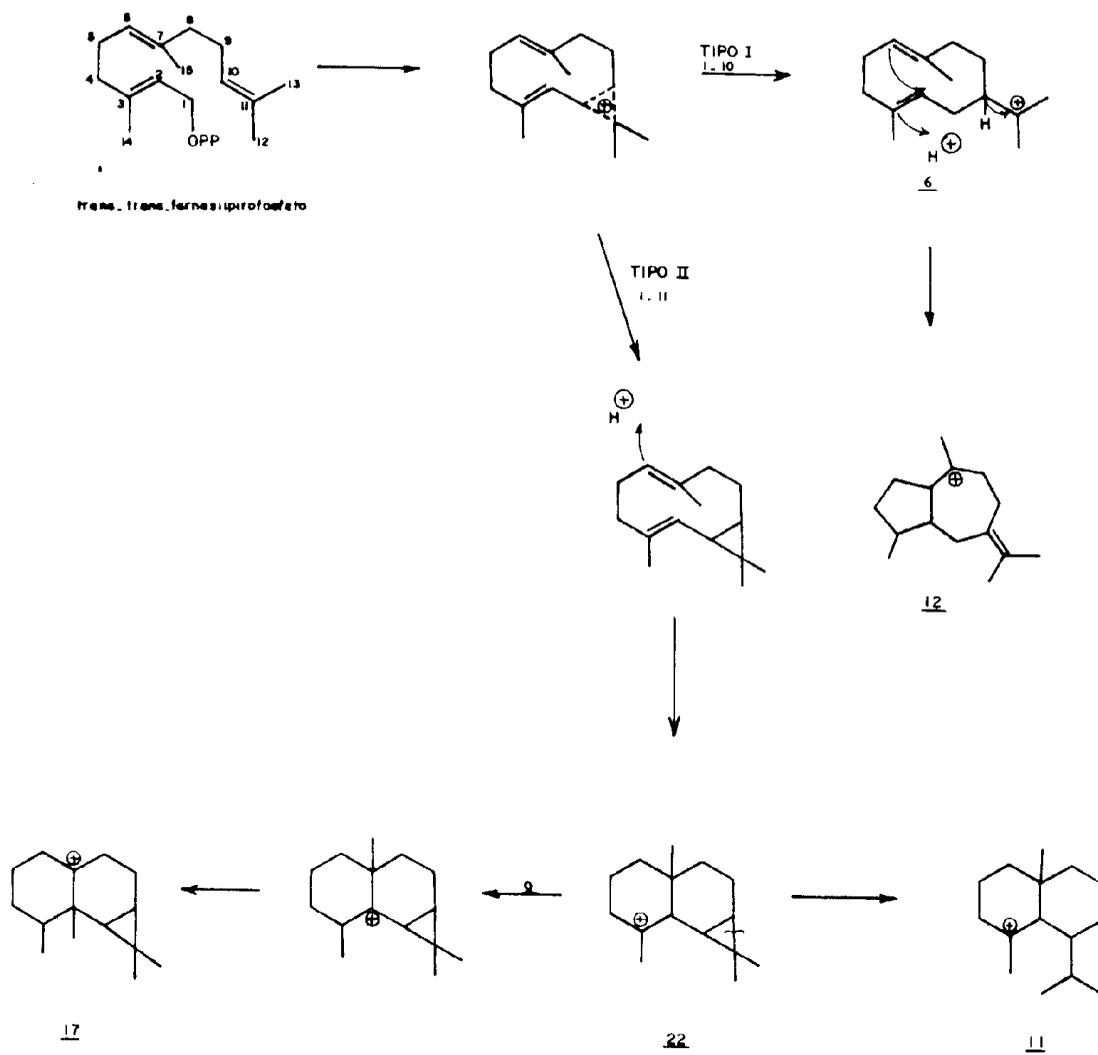
A ordem Gorgonacea é constituída de duas subordens (Scleroxonia e Holoxonia) e 16 famílias. Entre estas, as famílias Plexauridae e Gorgoniidae foram as mais profundamente estudadas. A variedade estrutural que a família Gorgoniidae apresenta e o fato de que o estudo químico deste trabalho tenha sido realizado com uma de suas espécies (*Phyllogorgia dilatata*), foram os principais motivos que nos levaram a escolhê-la para este estudo biossintético teórico. Gorgoniidae é uma família composta por 14 gêneros sendo que 9 destes já foram quimicamente estudados. Foram isolados 9 esqueletos de sesquiterpeno e 5 esqueletos de diterpeno.

Os sesquiterpenos da família Gorgoniidae apresentam dois prováveis precursores biogênicos: os regulares derivados do farnesilpirofosfato e um irregular derivado de um monoterpeneo irregular, o santolinil.

Os regulares podem ser divididos em quatro tipos de acordo com a primeira ciclização dos precursores, trans-trans-farnesilpirofosfato (tipos I e II) e cis-trans-farnesilpirofosfato (tipos III e IV).

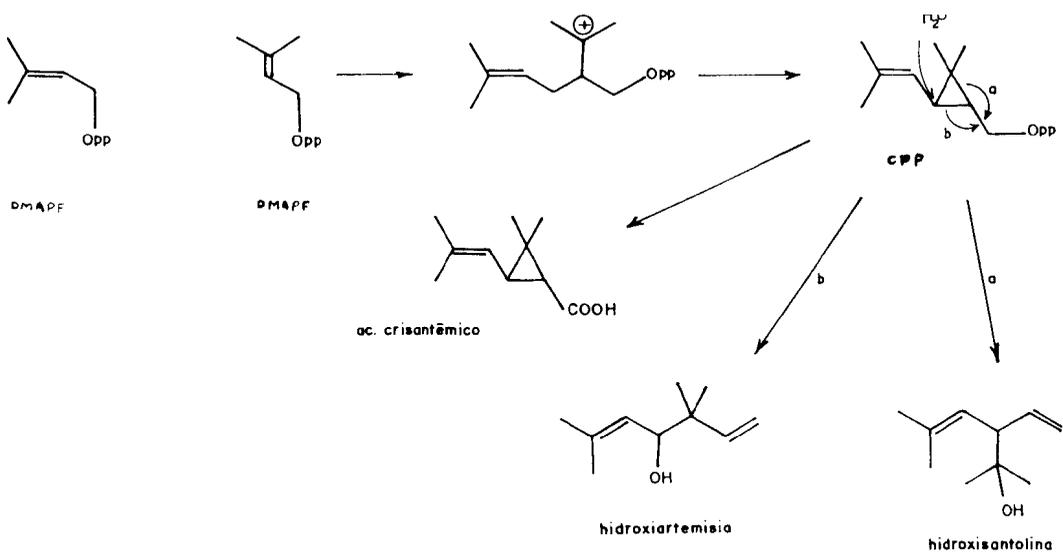
O tipo I resulta da ciclização 1-10 dando origem ao germacrano (6) (*Pseudopterogorgia americana*, *Pacifigorgia media*, *Pacifigorgia pulchra exilis*) e guaiano (12) (*Pacifigorgia eximia*); o tipo II cicliza 1-11 formando maaliano (22), gorgonano (11) e aristolano (17) (*Pseudopterogorgia americana*); o tipo III cicliza 1-6 dando bisabolano (2) (*Pseudopterogorgia rigida*) e curcumano (3) (*Pseudopterogorgia rigida* e *P. sp.*) e o tipo IV cicliza 1-11 originando o pacifigorgiano (15) (*Pacifigorgia cf. adamsii*) (Esq. 1.1).

Esq. 1.1 Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenóidicos regulares da família Gorgoniidae

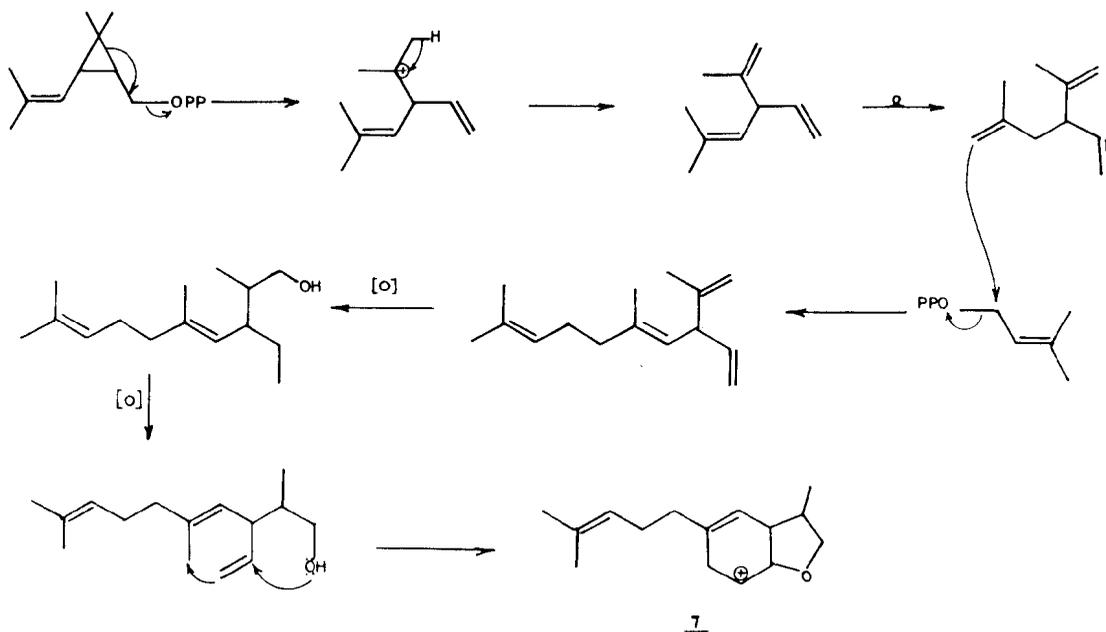


O esqueleto irregular apresenta apenas um tipo que deriva do santolinil, encontrado em plantas superiores, mais uma unidade isoprênica, formando o ventalano (7). O santolinil é um monoterpreno que se forma partir da condensação de moléculas de dimetilalilpirofosfato (DMAPF) e que por substituição nucleofílica alifática da origem ao crisantemilpirofosfato (CPF). A clivagem do anel ciclopropânico do CPF gera além do santolinil o crisantemil e o artemisil³⁹ (Esq. 1.2 e 1.3).

Esq. 1.2 Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenoídicos irregulares



Esq. 1.3 Proposta biossintética para o esqueleto sesquiterpenoídico irregular da família Gorgoniidae



A rota biossintética destas substâncias ainda se encontra duvidosa, embora experiências empregando extratos de células cultivadas artificialmente de *Artemisia annua* e *Santolina chamaecyparissus*, demonstraram o envolvimento de uma enzima sulfidril (íon sulfônico como intermediário) em que isoprenilpirofosfato e DMAPF foram incorporados ao passo que geranil e nerilpirofosfato não foram utilizados no processo biossintético³⁹.

A possibilidade de que o ventalano seja formado de

um precursor irregular também se apoia no fato de que outros sesquiterpenos da série dos indanos (13) isolados da gorgônia *Primnoeides* sp. (Família Primnoeidae) tenha como seu provável precursor biogenético o amtemisil⁴⁰.

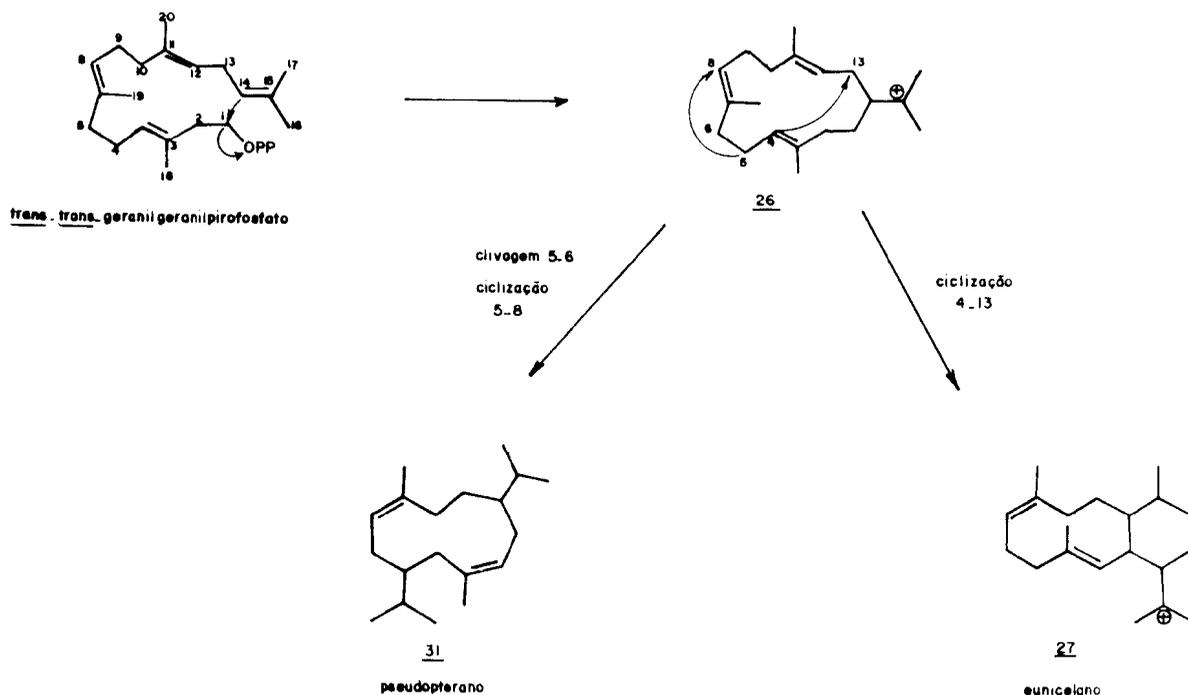
Os diterpenos da Família Gorgoniidae também podem ser divididos quanto ao tipo de ciclização dos precursores trans-trans-trans-geranilgeranilpirofosfato ou do cis-cis-trans-geranil-geranilpirofosfato.

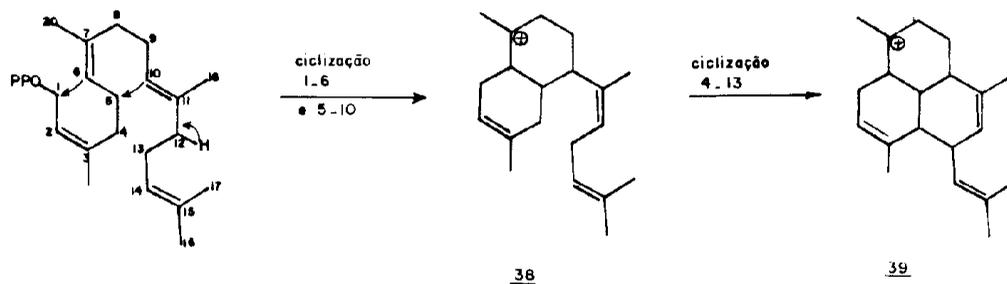
O trans-trans-trans-geranilgeranilpirofosfato dá origem ao cembrano (26) que é um macrociclo de 14 membros que cicliza entre os carbonos 1-14. É encontrado em *Lophogorgia* spp., *Leptogorgia setacea* e *Pseudopterogorgia bipinnata*. Para sua representação foi adotada a convenção de Weinheimer et al⁴¹. O cembrano também pode ser considerado como provável precursor de outros esqueletos de gorgônias. Na Família Gorgoniidae propõe-se que ele seja um intermediário na formação de pseudopterano (31) (*Pseudopterogorgia acerosa*, *P. kallos*) através de contração de anel² e do eunicellano (37) (*Eunicella stricta*) por ciclização interna^{42,43} (Esq. 1.4).

O cis-cis-trans-geranilgeranilpirofosfato dá origem ao seco-amphilectano (38) (*Pseudopterogorgia*) através de duas ciclizações: 1-6 e 5-10 formando um diterpeno bíclico. Para obtenção do amphilectano ocorre apenas mais uma ciclização

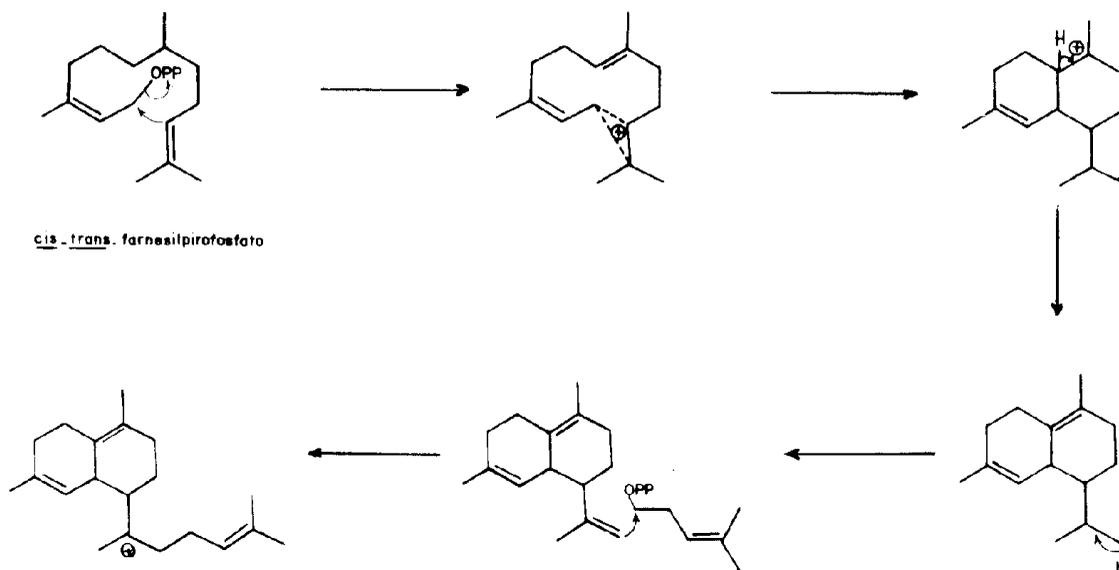
entre os carbonos 4-13 (Esq. 1.4). Na ausência de dados experimentais outra proposta pode ser feita para estes dois esqueletos; iniciando com um precursor sesquiterpenoídico (intermediário biossintético do cadinano) mais uma unidade isoprênica. Esta proposta se baseia no fato de que elemanos, germacranos, eudesmanos prenilados e outros, possam ter se originado dos esqueletos sesquiterpenoídicos correspondentes no meio marinho^{44,45} (Esq. 1.4).

Esq. 1.4 Proposta biossintética para esqueletos diterpenoídicos da família Gorgoniidae



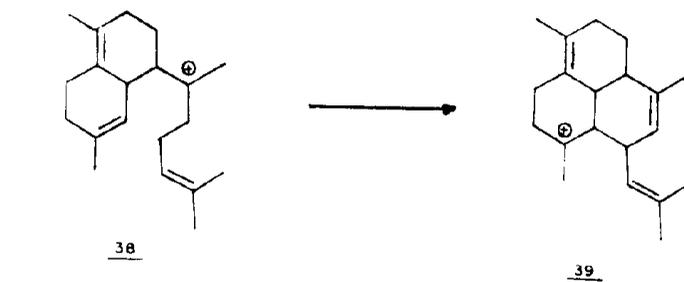


cis-cis-trans-geranylgeranylgeranyl pirofosfato



cis-trans-farnesyl pirofosfato

|||



1.6 OCTOCORAIS DA COSTA BRASILEIRA

Os octocorais da costa brasileira se restringem basicamente aos representantes da Ordem Gorgonacea. Apenas uma espécie da Ordem Pennatulacea (*Renilla muelleri*) e uma da Ordem Telestacea (*Telesto riisei*) foram descritas e nenhum organismo das Ordens Alcionacea e Stolonifera foi observado⁴⁶.

A distribuição das gorgônias ao longo do litoral brasileiro vai do sul do estado de São Paulo até as Guianas, sendo que a região mais estudada, ainda que bem pouco, se estende de São Sebastião (SP) até Recife (PE).

São descritas 27 espécies pertencentes a 12 gêneros de 6 famílias. As famílias Gorgoniidae com 5 gêneros e Plexauridae com 4 gêneros, totalizam 21 das 27 espécies brasileiras. Segue abaixo uma lista das gorgônias confirmadas para costa brasileira com indicações da distribuição geográfica (Tab. 1.3).

Tab. 1.3 Principais gorgônias brasileiras

FAMÍLIA	ESPÉCIE	DISTRIBUIÇÃO
Elisellidae	<i>Ellisella barbadensis</i> (Duchassaing et Michellotti), 1984	Costa leste da Flórida, plataforma norte do golfo do México, estendendo-se até as Antilhas e o Brasil.
	<i>Ellisella elongata</i> (Pallas), 1825	mesma distribuição que <i>E. barbadensis</i> .
Plexauridae	<i>Muriceopsis sulfurea</i> (Donovan), 1825	Porto Rico, Sta Lucia, Brasil (Abrolhos à Guarapari).
	<i>Plexaurella dichotoma</i> (Esper), 1791	sul da Flórida, Bermudas à Antilhas e recifes do Brasil.
	<i>Plexaurella grandiflora</i> (Verrill), 1912	recifes do Brasil, endêmica.
	<i>Plexaurella pumilla</i> (Verrill), 1912	Pequenas Antilhas, Costa do México e recifes do Brasil (BA).
Gorgoniidae	<i>Lophogorgia violacea</i> (Pallas), 1766	Ilha de Paquetá, (RJ) endêmica.
	<i>Lophogorgia punicea</i> (Milne et Haime), 1857	sul da Flórida até Brasil (RJ).
	<i>Lophogorgia hebes</i> (Verrill), 1869	Carolina do Norte até Brasil (RJ).

<i>Lophogorgia</i>	<i>sp.</i>	Ilha de Paquetá (RJ), endêmica.
<i>Pacifigorgia</i>		de Trindad até Maranhão.
<i>elegans</i>	(Milne et Haime),	1857
<i>Leptogorgia</i>		Georgia, costa oeste da Flórida até Brasil (BA).
<i>virgulata</i>	(Lamarck),	1766
<i>Leptogorgia</i>		Chesapeake Bay até Brasil
<i>setacea</i>	(Pallas),	1766 Abrolhos (BA).
<i>Pseudopterogorgia</i>		João Pessoa (PA), endêmica
<i>maregravii</i>	(Bayer),	1961
<i>Phyllogorgia</i>		Pernambuco até Cabo Frio, endêmica
<i>dilatata</i>	(Esper),	1806

Esta lista se baseia principalmente na monografia de F. M. Bayer⁴⁶, e não deve ser considerada como definitiva já que este mesmo autor afirmou o seguinte em relação à fauna de octocorais do Brasil: "A fauna de octocorais brasileiros é mal conhecida, a literatura é pouca e incompleta. São poucos os trabalhos de sistemática exclusivamente consagrados a organismos encontrados na costa brasileira. A maior parte da fauna deve ser descrita e é previsível que um grande número será constituído por espécies novas. É preciso um levantamento faunístico tanto em águas rasas quanto em águas profundas. Isto permitirá esclarecer a distribuição das espécies do sul do Caribe e

conhecer as que penetram até as águas da costa brasileira e permitindo enfim afirmar quais são as endêmicas do Brasil"⁴⁷.

1.6.1 LITERATURA QUÍMICA SOBRE GÊNEROS ENCONTRADOS NO BRASIL

Pouquíssimos trabalhos têm sido publicados sobre o estudo de metabólitos secundários lipofílicos de octocorais, cuja distribuição geográfica se estende até o Brasil. Foram descritos na literatura sesqui e diterpenos, esteróis e um éster de ácido graxo, além de duas substâncias nitrogenadas. A tabela abaixo apresenta a lista dos trabalhos mais relevantes sobre octocorais encontrados no Brasil.

Tab. 1.4 Metabólitos de gêneros de gorgônias encontradas no Brasil

CLASSE	ASSUNTO	GORGONIA
ác. graxos	palmitato de palmitoila	<i>Plexaurella dichotoma</i> ⁴⁸
esteróis	colesterol	<i>P. dichotoma</i> ⁴⁸
	biossíntese	várias (Caribe) ³⁶
	4-metilesterol	várias (Caribe) ⁴⁹
	dimetilesterol	<i>Plyllogorgia dilatata</i> ⁵⁰

nitrogenados	taurobetaína	<i>Plexaurella</i> sp.
	creatina	<i>Plexaurella</i> sp. ⁵¹
sesquiterpenos	furoventalano	<i>Gorgonia ventalina</i> ⁵²
	germacranos e	diversas
	outros esqueletos	espécies ^{6, 11, 53-59}
diterpenos	lophotoxina	<i>Lophogorgia</i> ²⁶
	epoxipukalido	<i>Leptogorgia</i> ⁶⁰
	pseudopterosina	<i>Pseudopterogorgia</i>
	seco-pseudopte- rosina e	spp. ^{18, 23, 25}
	kallolido	

O pequeno número de trabalhos realizados no Brasil sobre a química destas gorgônias, aumenta a possibilidade de se obter metabólitos originais principalmente das espécies endêmicas.^{48,50,61,62}

1.7 OBJETIVOS

A fauna marinha brasileira principalmente no que se refere a octocorais, tem sido pouco explorada tanto na área biológica como na química. Seu estudo químico conta com pequenas contribuições literárias quando comparadas com outros países. Com este trabalho, nos propomos a ampliar os conhecimentos sobre estes organismos através de extração, isolamento e identificação de metabólitos como terpenos existentes em *Phyllogorgia dilatata*; e através destes dados estabelecer relações taxonômicas desta espécie com as demais gorgônias da família e/ou da ordem. Para tal estudo foram utilizadas técnicas quimiotaxonômicas a partir de dados existentes na literatura sobre química e morfologia.

CAPÍTULO II.

SESQUITERPENOS DE *PHYLLOGORGIA DILATATA* (ESPER, 1806).

II. SESQUITERPENOS DE *Phyllogorgia dilatata* (Esper, 1806)

A gorgônia *Phyllogorgia dilatata* é um organismo bentônico em forma de leque, podendo atingir 40 cm de altura e é raramente incrustado por algas ou invertebrados. Observou-se que quando esta gorgônia sofre incrustações, seu cheiro ao tirá-la da água é bem menos ativo, daí a hipótese de que substâncias voláteis possam estar associadas proteção contra epifitismo. O grande interesse da indústria naval por substâncias anti-incrustantes, estimulou ainda mais o estudo das substâncias odoríferas de *Phyllogorgia dilatata*.

2.1 IDENTIFICAÇÃO DOS SESQUITERPENOS

O fracionamento dos extratos da gorgônia *Phyllogorgia dilatata* forneceu uma série de sesquiterpenos. Destes, quatro foram purificados por cromatografias em colunas e placas preparativas em gel de sílica. Duas

substâncias apresentam e o esqueleto nardosinano, as duas outras possuem esqueleto germacrano.

Substâncias com o esqueleto nardosinano foi primeiramente isolado da Valerianaceae *Nardostachys chinensis*^{63,64} e depois de alcionários dos gêneros *Lemnalia* e *Paralemnalia*^{65,66}. Os nardosinanos encontrados em *Phyllogorgia* são os primeiros isolados da ordem Gogonacea e os primeiros desprovidos de função oxigenada no carbono de número 7. Sesquiterpenos com esqueleto germacrano, já eram conhecidos para gorgônias^{55,57}.

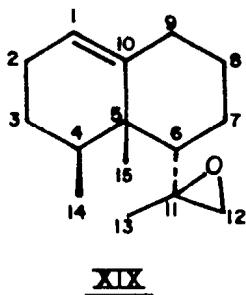
A caracterização dos metabólitos de *Phyllogorgia dilatata* foi feita por análise minuciosa dos seus dados espectrais, como descrito a seguir.

2.1.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 11,12-EPOXINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)

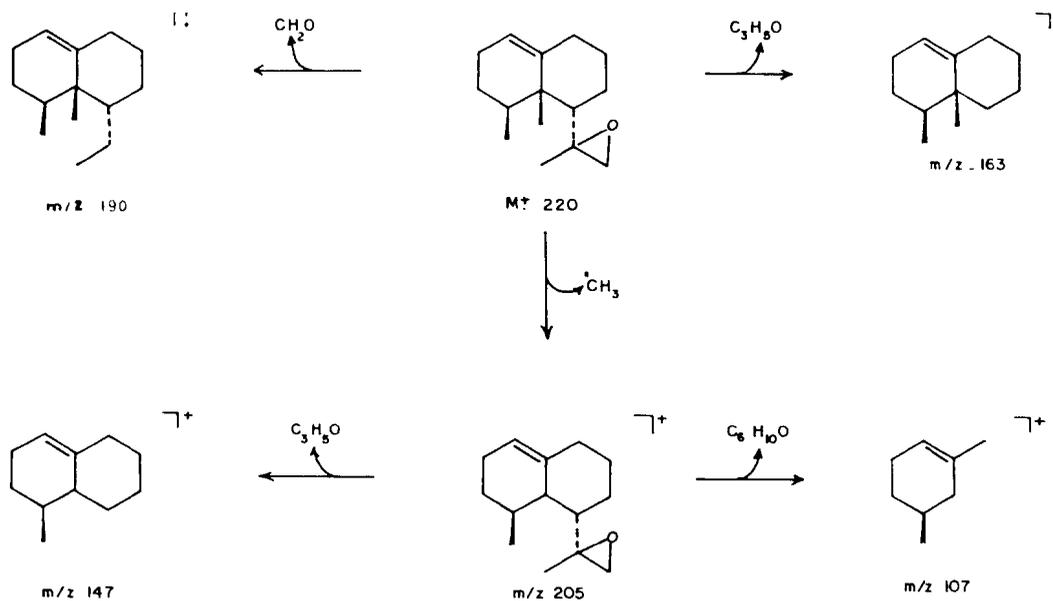
Os extratos A, B e C (ver experimental) após complexo trabalho de purificação, forneceram uma substância oleosa e incolor (XIX). Os dados espectrais relacionados abaixo foram obtidos da purificação do extrato A.

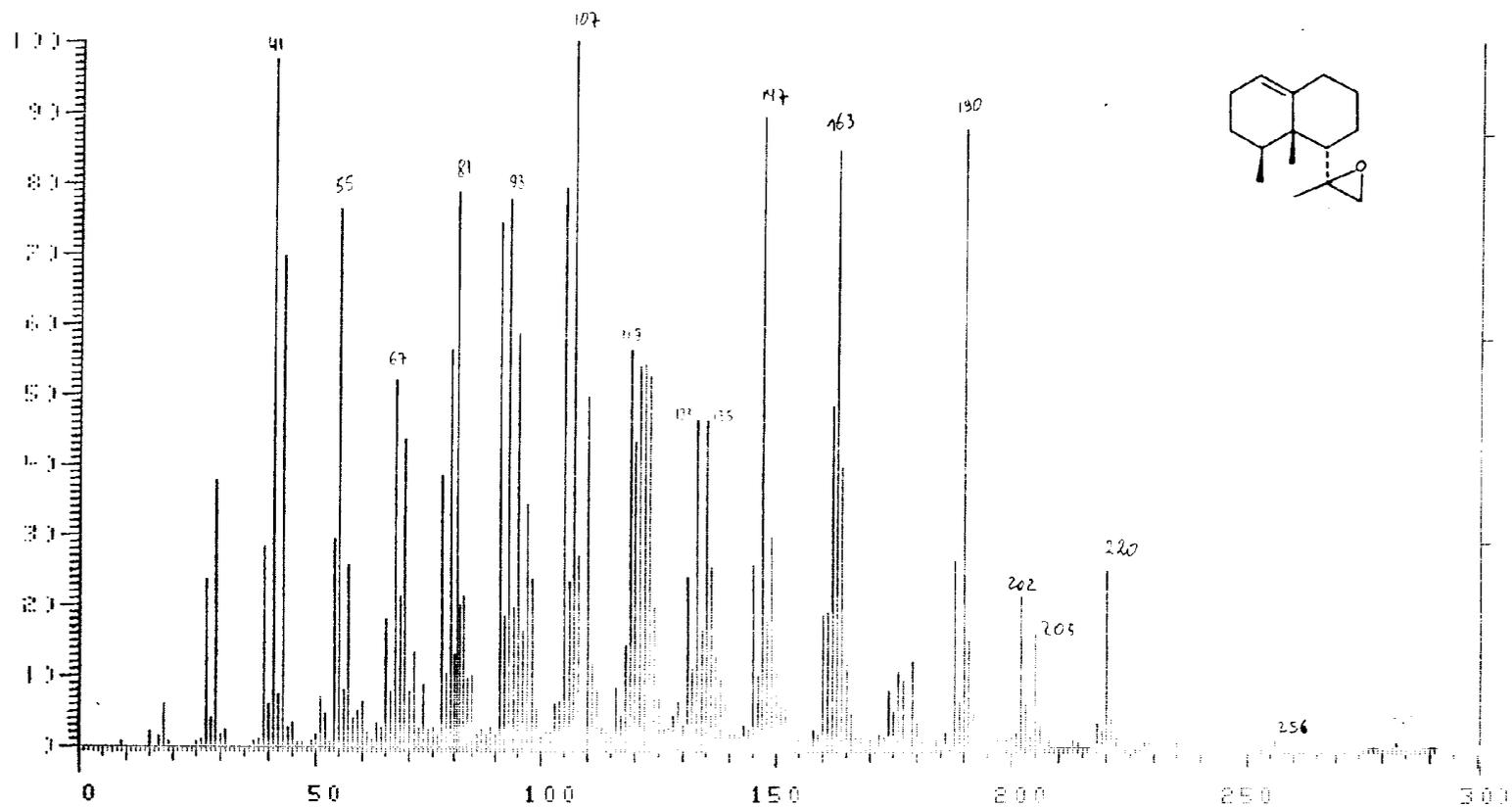
A substância XIX apresenta rotação específica $[\alpha]_D -62.0$ (c=1.00, CHCl₃). Seu espectro de massas (EM) a baixa resolução indicou o íon molecular m/z 220 que

corresponde à fórmula $C_{15}H_{24}O$ compatível com quatro graus de insaturação (Esp. 1). Dois fragmentos muito intensos em m/z 190 (86) $[M-CH_2O]^+$ e 163 (83) $[M-C_3H_5O]^+$ sugerem que o oxigênio esteja ligado a um grupo isopropila frequente em sesquiterpenos. A proposta desta fragmentação encontra-se no esquema 2.1.



Esq. 2.1 Proposta de fragmentação de massas da substância XIX

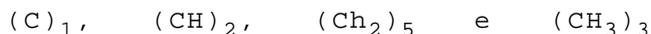




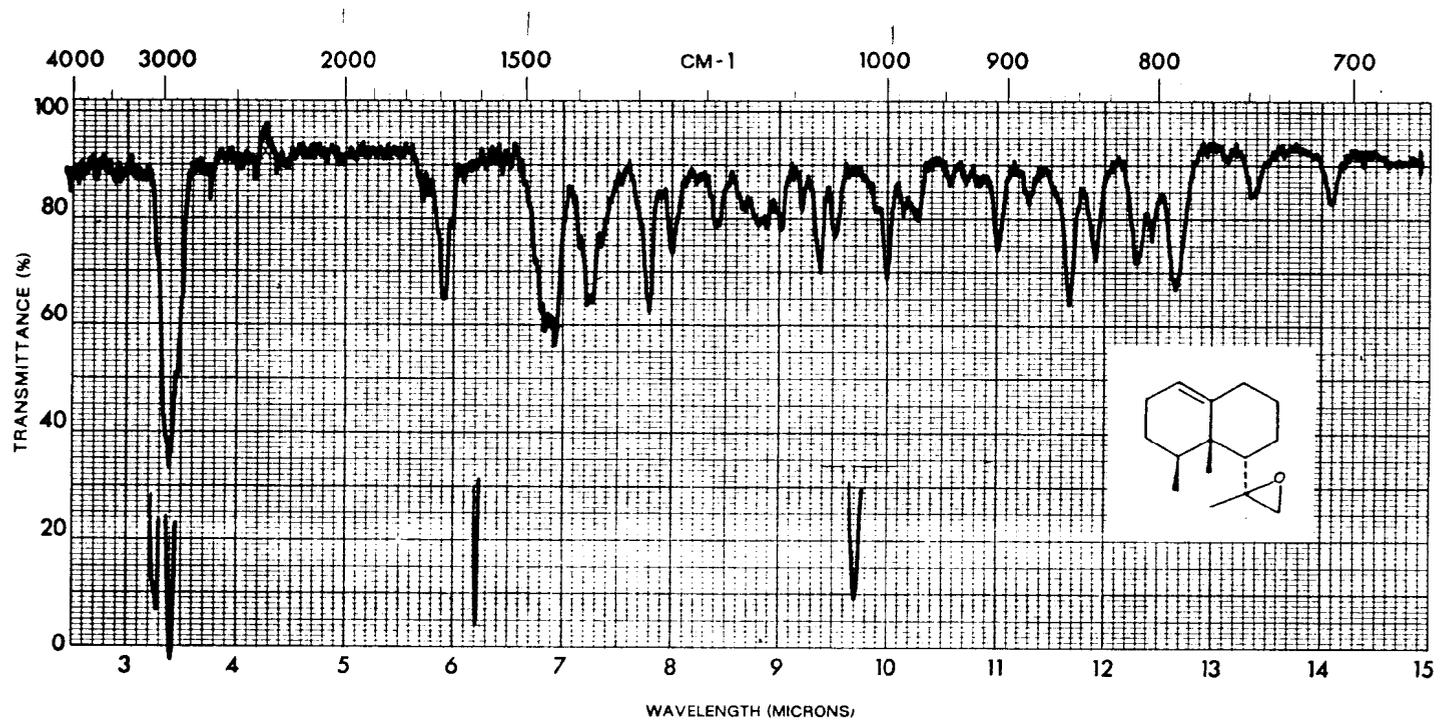
Esp. 1 Espectro de massas (70 eV) da substância XIX

O espectro de IV não apresenta bandas de carbonila, nem hidroxila indicando que o átomo de oxigênio presente na fórmula molecular faça parte de uma função éter (Esp. 2).

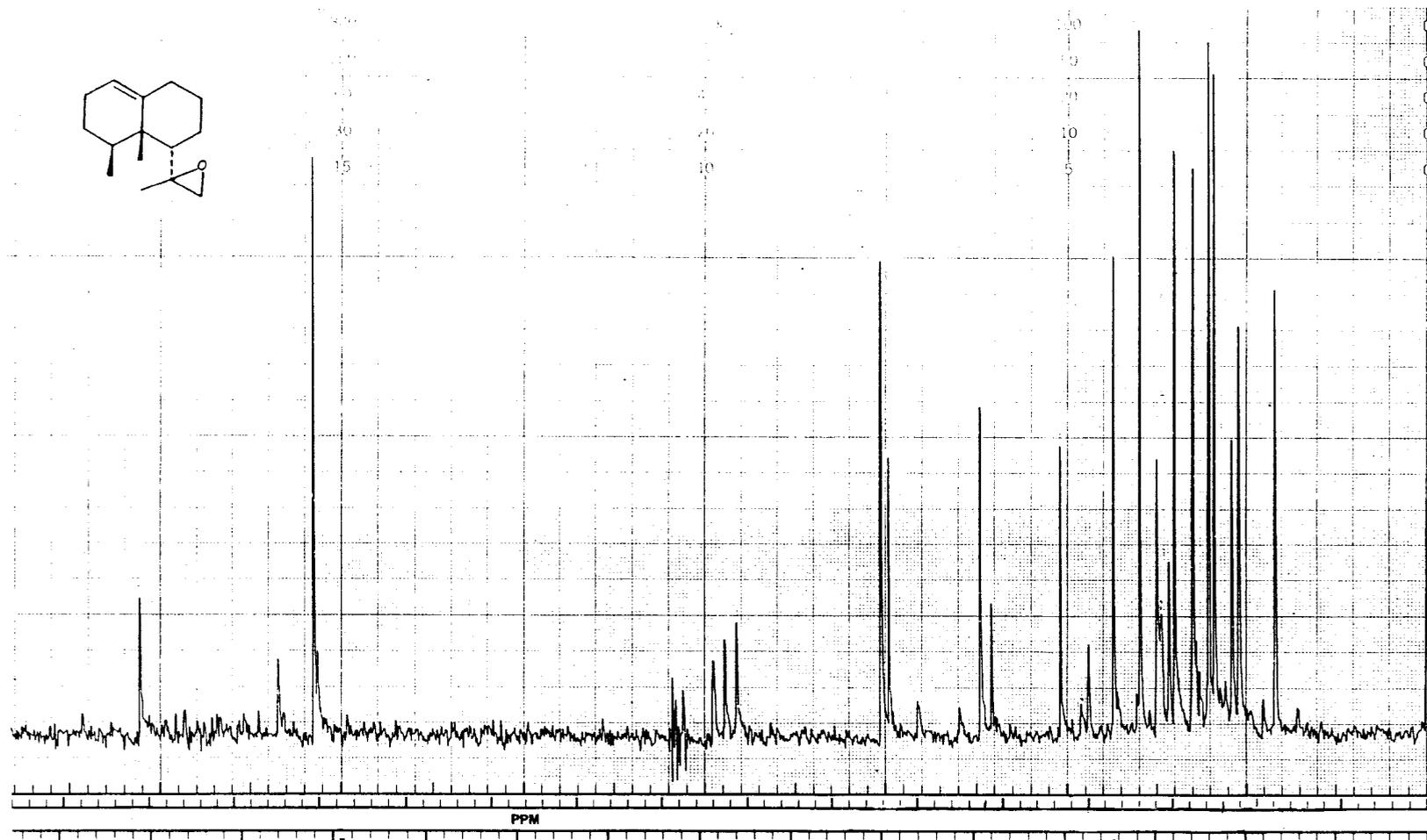
Os espectros de RMN ^{13}C revelam a presença de três grupos metila, seis metilenos, três metinos e três carbonos quaternários. Os sinais a δ 141.05 (s) e 121.86 (d) apontam para uma ligação dupla trissubstituída e os sinais a δ 58.99 (s) e 59.87 (t) sugerem um epóxido terminal (Esp. 3 e 4). Estas considerações preliminares indicam os elementos estruturais a seguir:



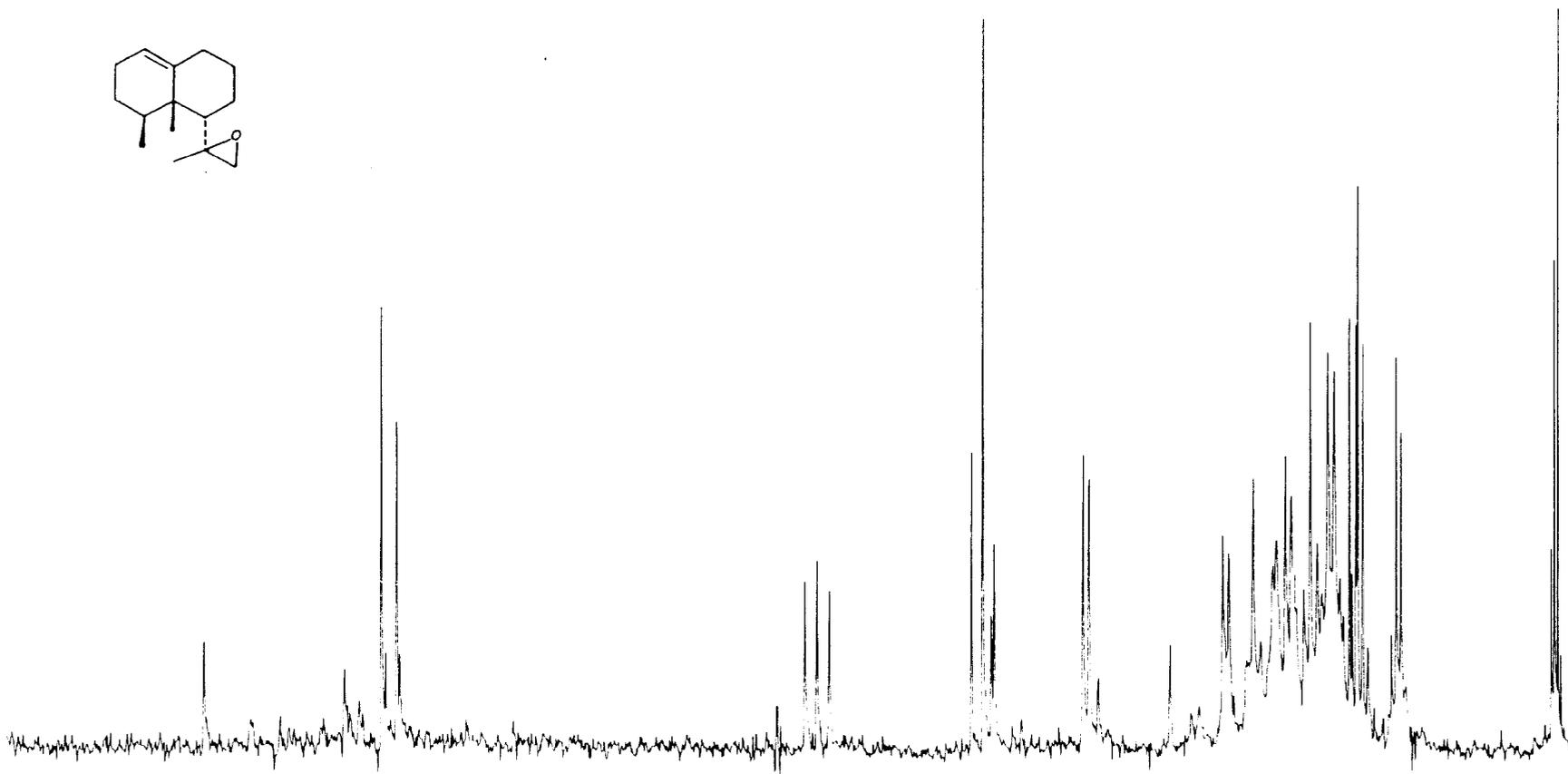
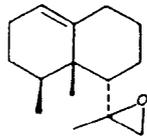
No espectro de RMN ^1H observa-se um sistema de acoplamento AB a δ 2.57 e 2.75 (dubletos com $J=6.5$ Hz), que junto ao deslocamento químico em RMN ^{13}C δ 58.99 (s) e 59.87 (t) confirmam o epóxido terminal. A posição desprotegida do grupo metila em δ 1.39 (s) e o íon m/z 163 ($\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}]^+$, sugerem a presença de um grupo isopropilóxico (Esp. 5, 4 e 1). Esta função é bastante rara nos terpenos de origem marinha.



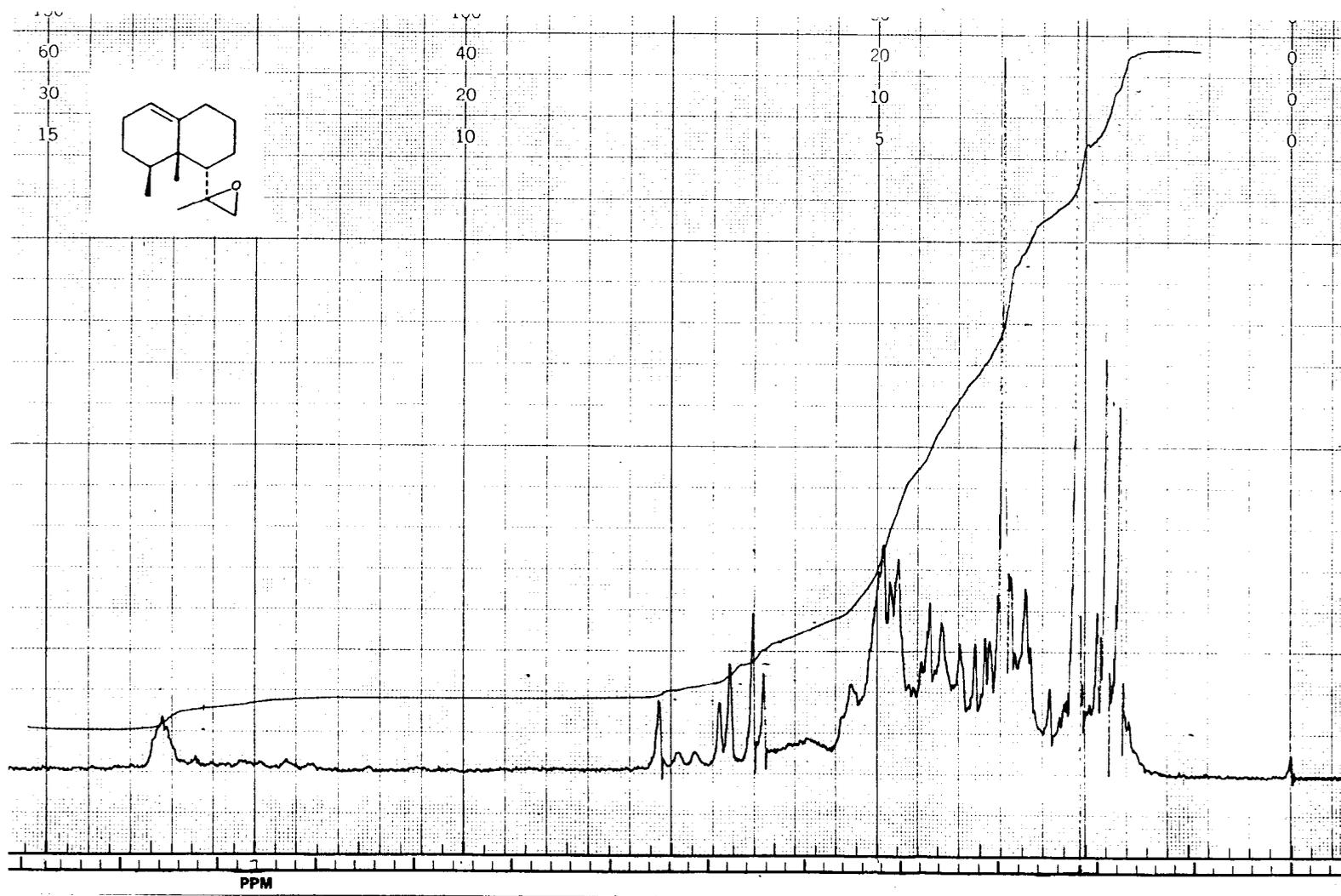
Esp. 2 Espectro de IV da substância XIX



Esp. 3 Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (25.2 MHz) da substância XIX



Esp. 4 Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (25.2MHz) da substância XIX



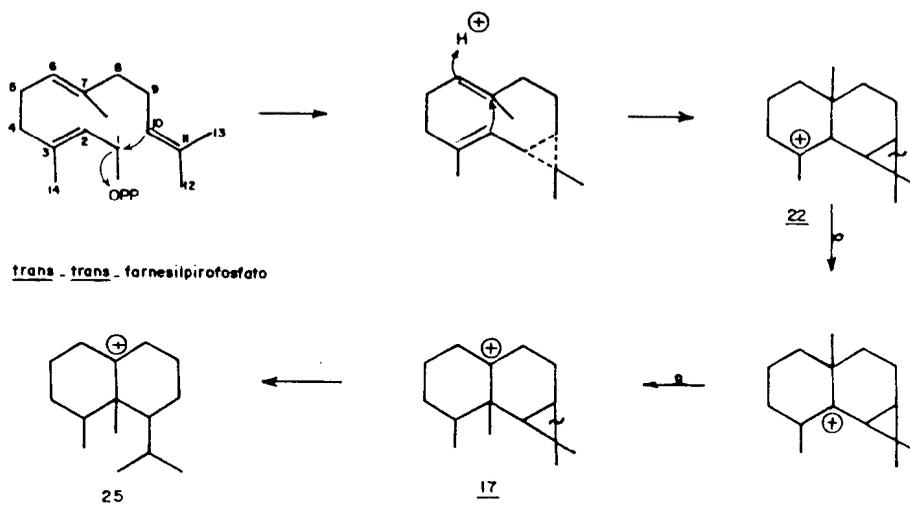
Esp. 5 Espectro de RMN ¹H em CDCl₃ (100 MHz) da substância XIX

Para confirmação da existência do grupo isopropilóxico em XIX procedeu-se à redução de XIX com H_4LiAl que forneceu o álcool terciário correspondente (XX). O álcool XX é uma substância cristalina com p.f. 86-88°, que apresenta banda de hidroxila a 3400 cm^{-1} (Esp. 6). O espectro de RMN 1H em $CDCl_3$ perdeu o sistema AB de acoplamento a δ 2.57 e 2.75, mas ganhou dois sinais simples de três hidrogênios, um a δ 1.32 e outro a 1.36 (ou δ 1.18 e 1.36 em C_6D_6) o que indica a redução do isopropilóxico de XIX a um grupo isopropilol em XX (Esp. 5, 7 e 8). O íon em m/z 59 (100%) $[M-COH(Me)_2]^+$ no espectro de massas confirma essa dedução (Esp. 9). Dos três grupos metila de XIX, um está associado ao grupo isopropilóxico, outro está em carbono quaternário e o terceiro em carbono secundário.

Das quatro insaturações de XIX, duas (uma ligação dupla trissubstituída e um grupo epóxido) foram identificadas. O sesquiterpeno XIX possui então um esqueleto bicíclico. Cinco esqueletos sesquiterpenoídicos bicíclicos são conhecidos para gorgônias (Fig. 1.2). Destes, apenas os esqueletos eudesmano (10) e gorgonano (11) apresentariam um grupo metila em carbono quaternário. Nesses dois esqueletos, e isto independentemente da posição da ligação dupla trissubstituída, existiriam dois metilenos adjacentes a um carbono neopentílico. Estes metilenos apareceram em RMN ^{13}C abaixo de 32 ppm. A ausência de metilenos abaixo deste deslocamento químico em RMN ^{13}C de XIX mostra que este possui um esqueleto diferente e então um

esqueleto original para gorgônias. Os dados de RMN ^1H e ^{13}C foram comparados com dados da literatura sobre octocorais⁶⁷. A grande semelhança entre os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de XIX e XX com os nardosinanos XXIV e XXV (Tab. 2.1), indicam o esqueleto nardosinano de XIX. Neste existem apenas quatro posições possíveis para uma ligação dupla trissubstituída: $\Delta^{1(10)}$, Δ^3 , Δ^6 e Δ^9 . A proposta biogenética de obtenção do esqueleto nardosinano a partir do aristolano e maaliano (esq. 2.2), favorece as posições $\Delta^{1(10)}$ e Δ^9 . A posição $\Delta^{1(10)}$ resulta da comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de XIX e XXV (Tab. 2.1).

Esq. 2.2 Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano

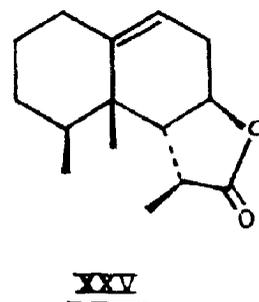
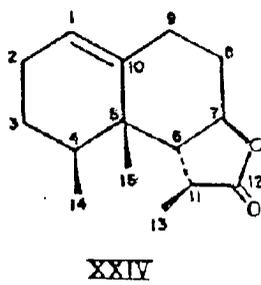
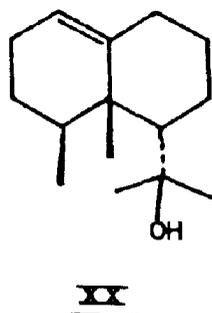
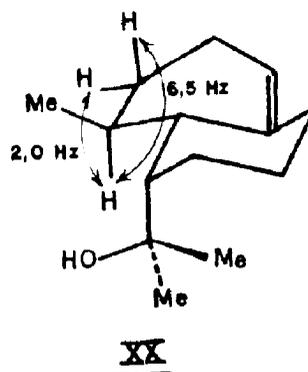
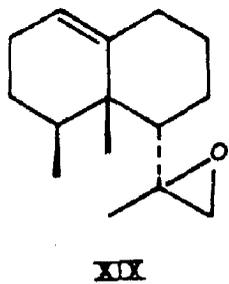


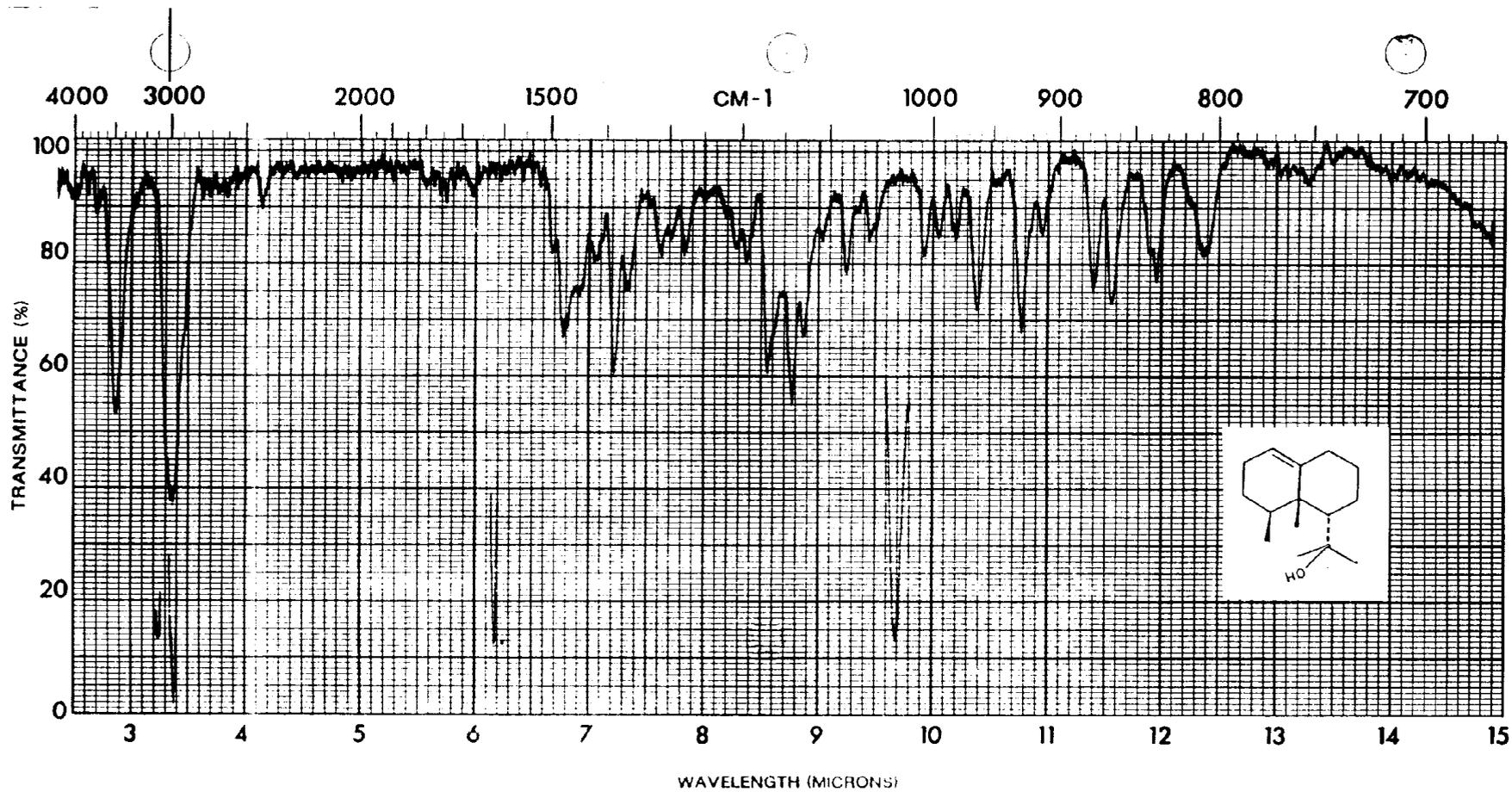
Tab. 2.1 Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) das substâncias XIX, XXIV e XXV

R.M.N. ^1H (δ ppm)				R.M.N. ^{13}C (δ ppm)		
H#	XIX	XXIV	XXV	C#	XIX	XXIV
1	5.45 (m)	5.46 (m)	5.29 (d)	1	121.86 (s)	123.42 (d)
12	2.57 (d)	2.55 (dq)	2.77 (dq)	3*	25.69 (t)	25.17 (t)
13	1.39 (s)	1.40 (s)	1.40 (d)	4	34.47 (d)	38.73 (d)
14	0.86 (d)	0.88 (d)	0.95 (d)	5	40.28 (s)	40.13 (s)
15	1.04 (s)	1.08 (s)	1.11 (s)	9	31.62 (t)	31.44 (d)
				10	141.05 (s)	141.33 (s)
				13*	20.59 (q)	20.82 (q)
				14	16.52 (q)	16.27 (q)

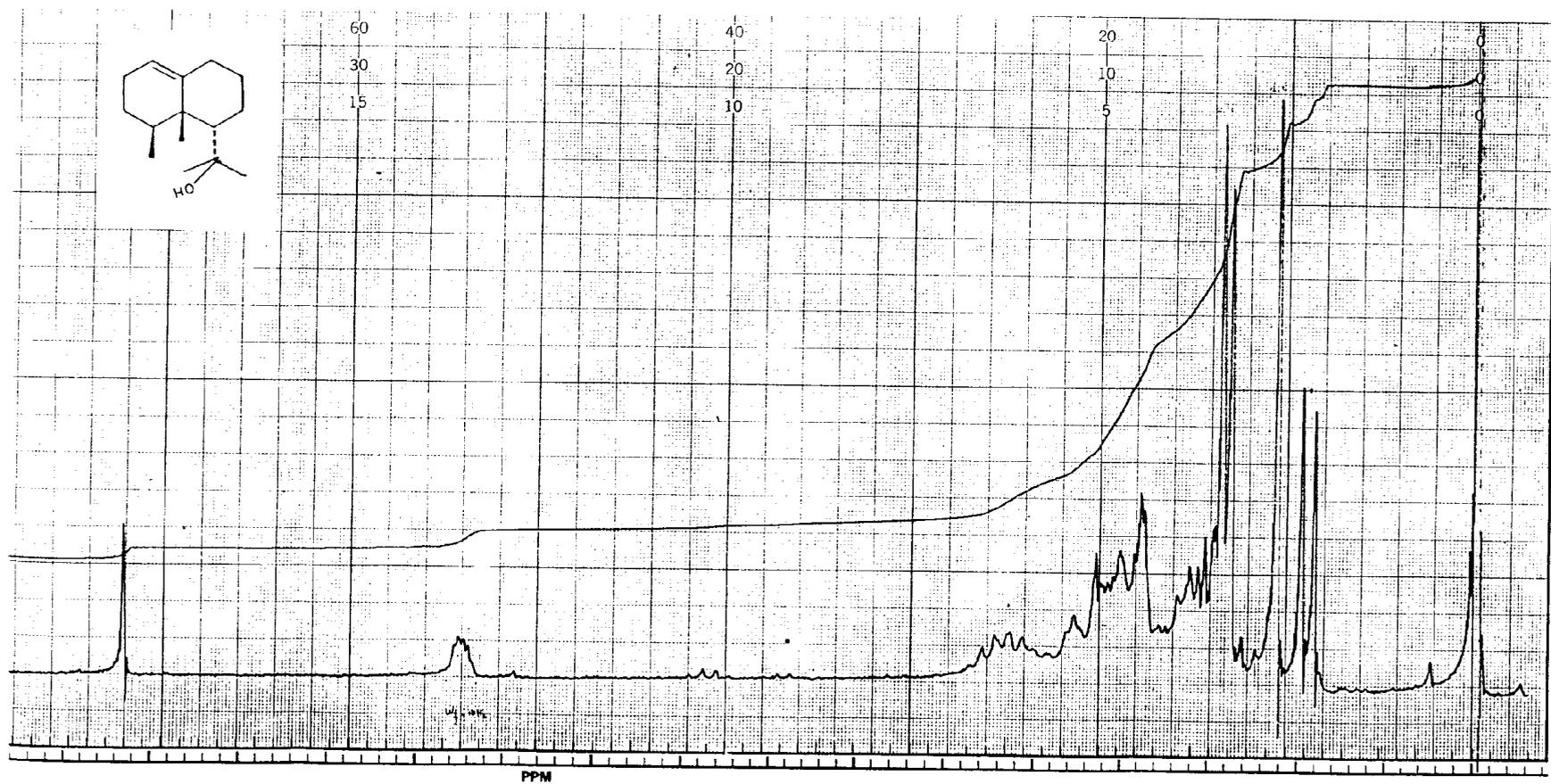
*sinais intertrocáveis

A orientação axial da metila angular foi deduzida a partir do seu deslocamento químico (δ 21.36). As constantes de acoplamento do hidrogênio metínico do carbono 4 em XX (δ 2.51, $J=6.5$, 6.5 e 2 Hz) indicam um $J_{ax/ax}$ entre $H_{(3)}$ e $H_{(4)}$ e provam a orientação equatorial da metila terciária. A posição desprotegida de $H_{(4)}$ em XX e a ausência de interação entre Me-4 e a hidroxila em RMN 1H de XX indicaram a orientação axial do isopropilol.

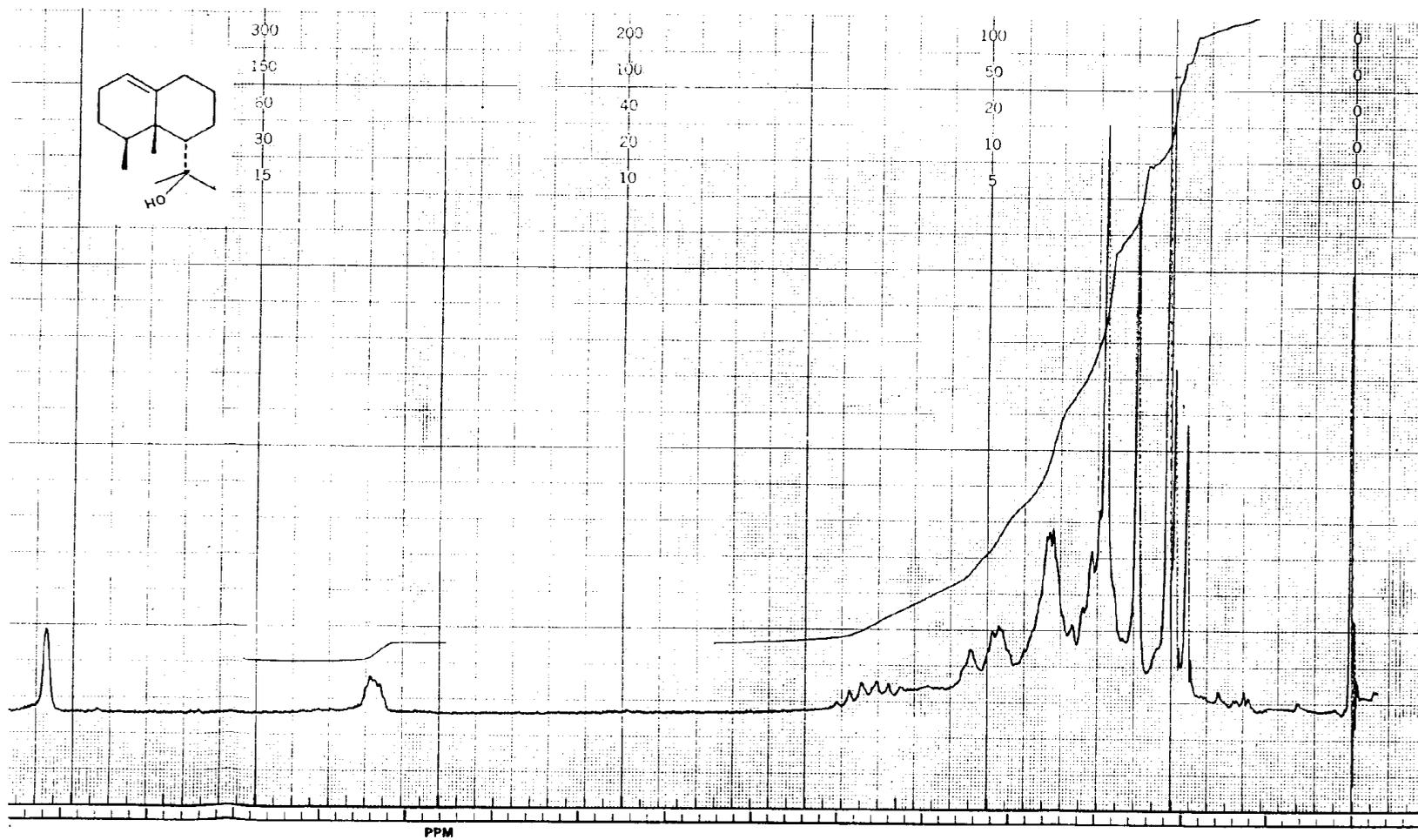




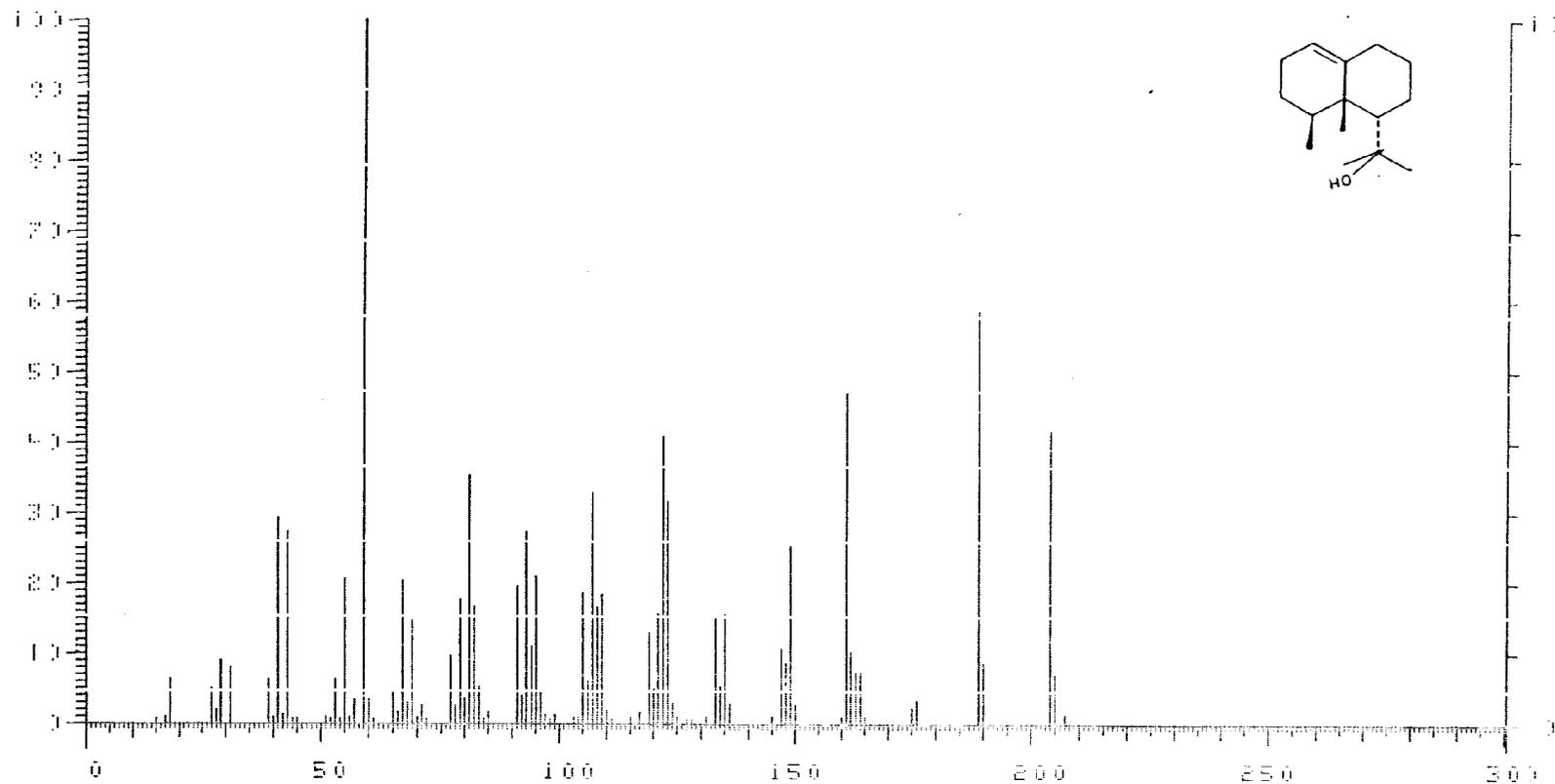
Esp. 6 Espectro de IV da substância XX



Esp. 7 Espectro de RMN ¹H em CDCl₃ (100 MHz) da substância XX



Esp. 8 Espectro de RMN ¹H em C₆D₆ (100 MHz) da substância XX



Esp. 9 Espectro de massas (70 eV) da substância XX

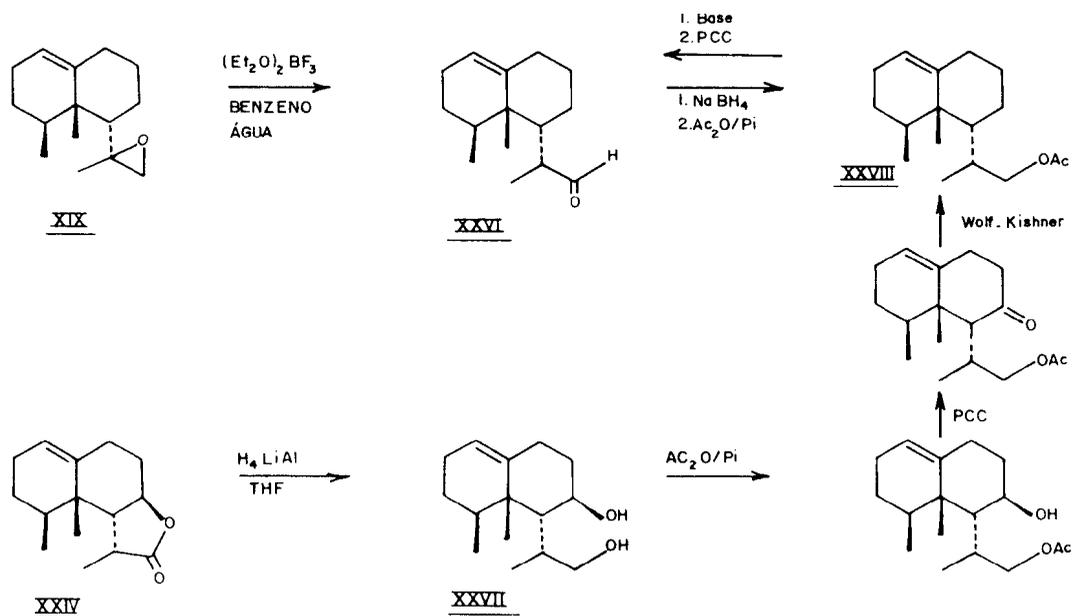
2.1.1.1 CORRELAÇÃO QUÍMICA

A estrutura XIX resulta apenas de dados espectrais e não apresenta a configuração absoluta. Afim de demonstrar a proposta estrutural definitiva, tentou-se uma correlação química convergente com um nardosinano conhecido XXIV (lemnalactona) isolado do alcionário *Paralemnalia*. O ponto principal desta correlação é a eliminação da função oxigenada no carbono 7 de XIX sem modificar a estereoquímica dos centros quirais.

A redução da lemnalactona com H_4LiAl é descrita na literatura⁶⁸. Oxidação direta do diol obtido (XXVII) gera de novo lemnalactona. Por outro lado, acetilação controlada do diol fornece o monoacetato na posição primária. Oxidação com P.C.C. e redução de Wolf Kishner deve produzir o intermediário XXVIII desprovido de oxigenação no carbono 7. Neste nível a correlação com XIX pode seguir vários caminhos (Esq. 2.3): 1. hidrólise alcalina do acetato XXVIII seguida de oxidação moderada a aldeído ou de oxidação drástica a ácido; 2. obtenção de XXVIII por redução do aldeído XXVI e subsequente acetilação. O intermediário XXVIII poderia ser obtido por rearranjo do epóxido de XIX com ácido de Lewis. Três reações são críticas neste esquema: 1. a acetilação controlada; 2. a redução de Wolf Kishner e 3. o rearranjo do epóxido. Para não gastar o estoque de lemnalactona (recebida do Prof. John Coll, Univ. de Townsville, Austrália),

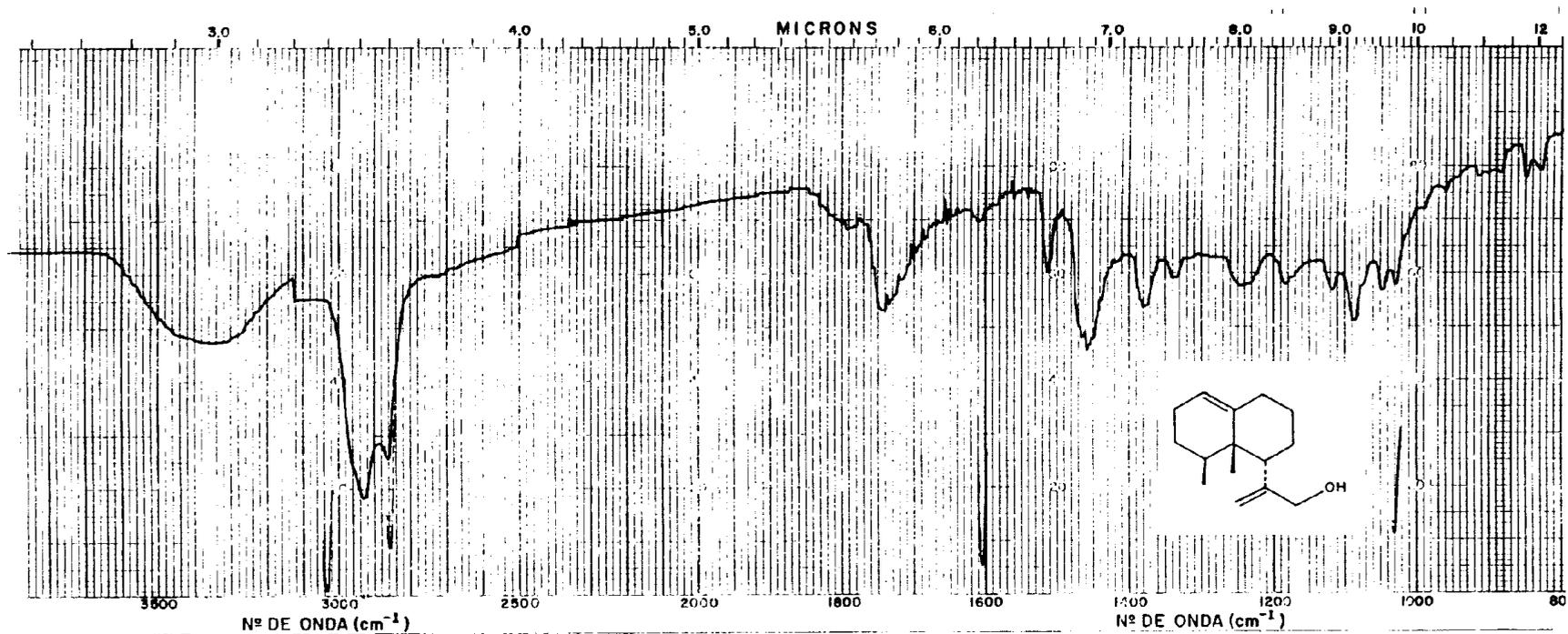
iniciamos o esquema de correlação pela abertura do epóxido de XIX.

Esq. 2.3 Correlação química entre as substâncias XIX e XXIV



2.1.1.2 REARRANJO DO 11,12-EPOXINADORSIN-1(10)-ENO (XIX)

Uma alíquota de XIX (extrato A) foi reagida com $(Et_2O)_2BF_3$ em benzeno anidro (ver experimental), na tentativa de se obter o produto XXVI. O espectro de IV do produto majoritário desta reação indicou uma banda a 3350 cm^{-1} correspondente a uma hidroxila e não ao grupo aldeídico esperado (Esp. 10).

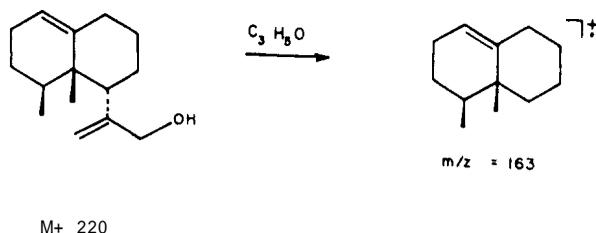


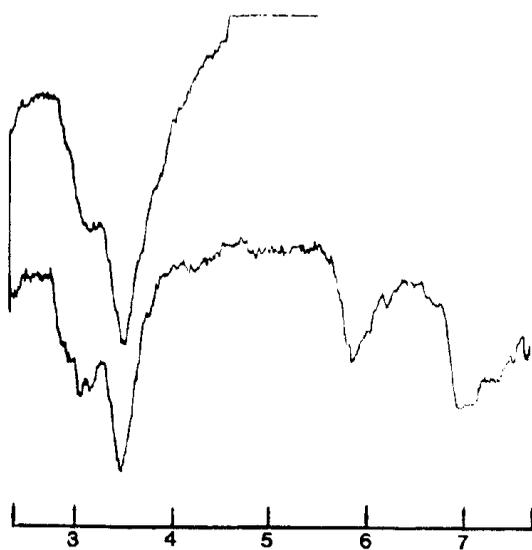
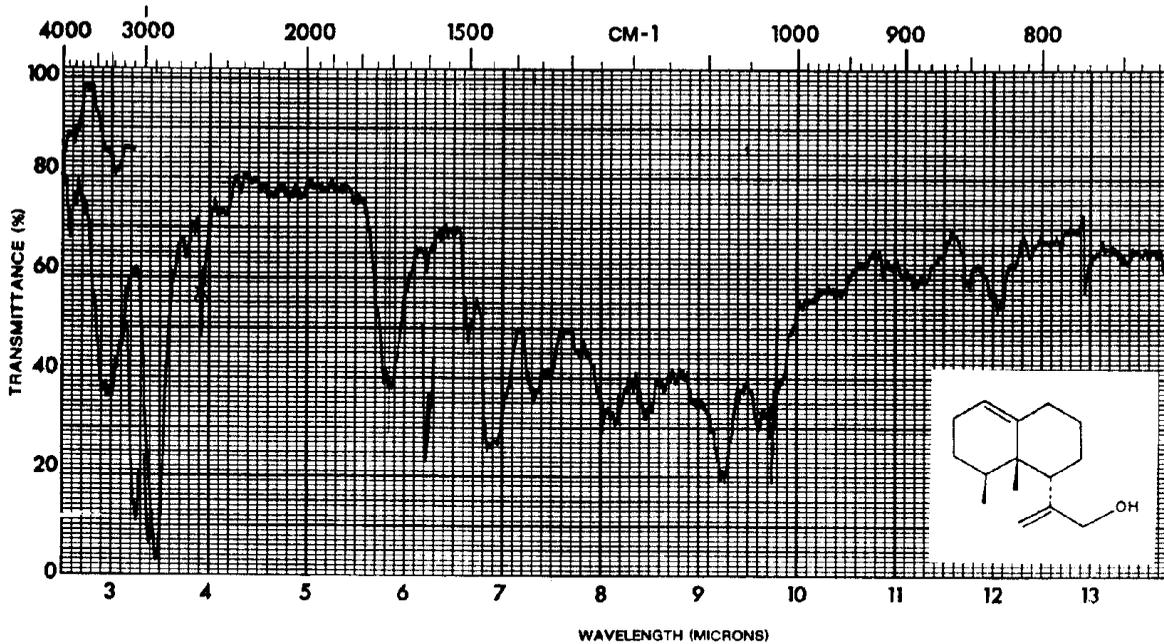
Esp. 10 Espectro de IV da substância XXI

Uma segunda extração foi feita (extração B) para se obter maiores quantidades da substância XIX e permitir o acerto das condições operatórias do rearranjo. Embora XIX ainda estivesse impuro devido às dificuldades encontradas para sua purificação, foi novamente reagido com $(Et_2O)_2BF_3$ segundo o procedimento descrito na parte experimental.

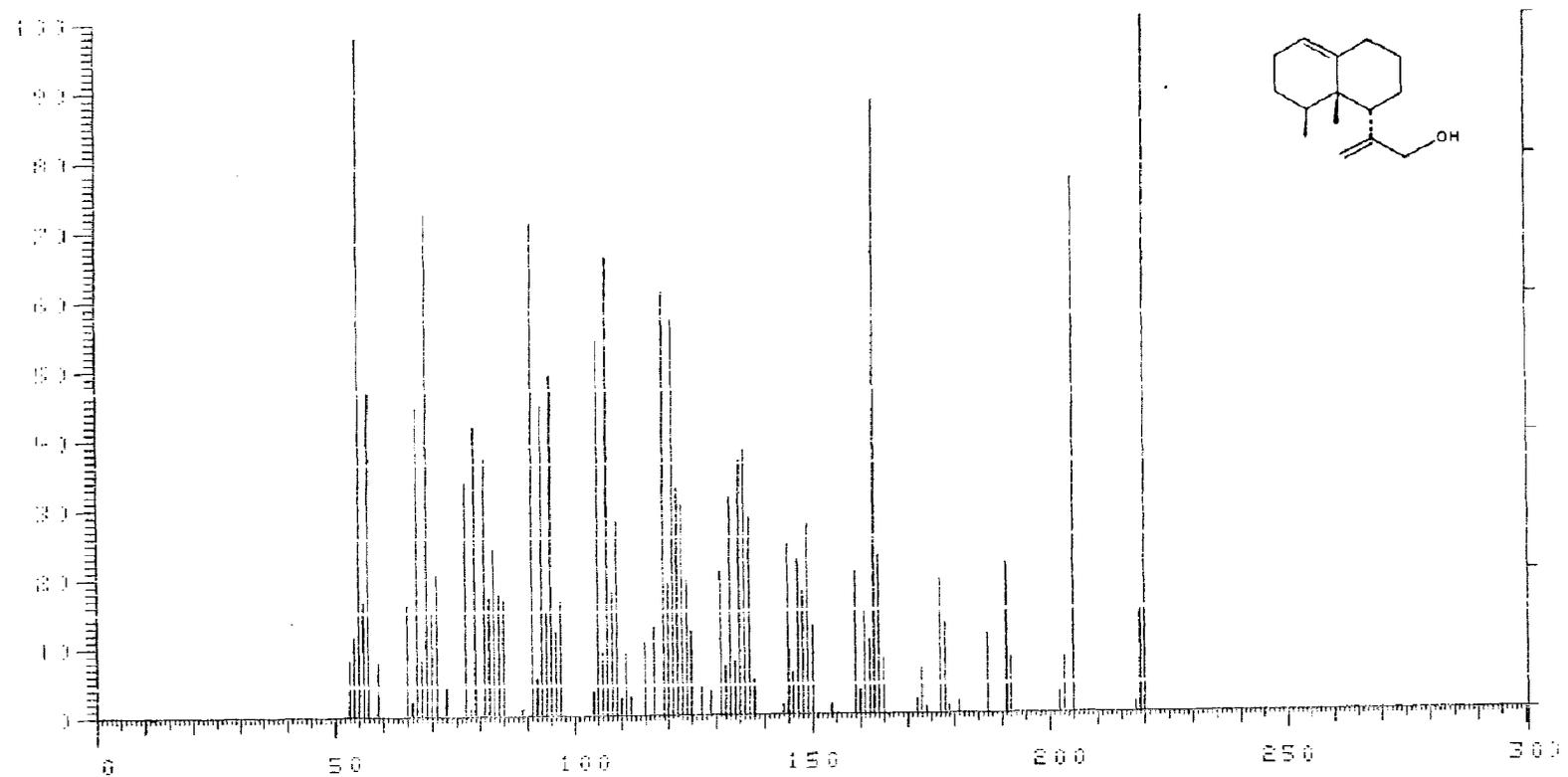
O espectro de IV apresentou como na primeira reação, uma banda de hidroxila a 3350 cm^{-1} . A espectroscopia de massas indicou a presença do íon molecular m/z 220, correspondendo à fórmula bruta $C_{15}H_{24}O$, compatível com quatro graus de insaturação no produto reacional. Os picos m/z 205 (77) $[M-CH_3]^+$, 187 (11) $[M-H_2O]^+$ e principalmente 163 (87) $[M-C_3H_5O]^+$ apontaram para a estrutura XXI (Esp. 11 e 12, Esq. 2.4).

Esq. 2.4 Proposta de fragmentação da substância XXI





Esp. 11 Espectro de IV da substância XXI



Esp. 12 Espectro de massas da substância XXI

O rendimento desta reação não foi suficiente para se repetir o experimento, portanto uma outra extração da gorgônia (extrato C) se fez necessário para que se pudesse concluir a análise espectroscópica de XXI, e a correlação química planejada. Escolheu-se a extração por arraste com vapor de água por ser uma técnica eficiente na obtenção de substâncias voláteis. Este processo extrativo forneceu além de XIX, as substâncias XXI, XXII e XXIII. Constatou-se por c.c.d.e espectroscopia que XXII decompunha facilmente e este fato fez com que estes metabólitos fossem analisados antes mesmo de se fazer a correlação com a lemnalactona. Por outro lado, a obtenção do álcool alílico XXI por rearranjo do epóxido de XIX, leva a perda da configuração relativa no carbono 11. Assim a correlação com a lemnalactona deixaria de definir o carbono 11 e seria então apenas parcialmente conclusiva.

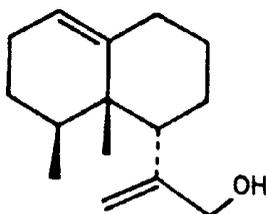
Este conjunto de razões nos levou a mudar o enfoque do trabalho, determinando primeiro as estruturas dos três sesquiterpenos isolados dos óleos obtidos por arraste com vapor de água.

2.1.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 12-HIDROXINARDOSIN-1(10),
11(13-DIENO (XXI - NATURAL)

É uma substância incolor com rotação ótica de $[\alpha]_D -27.5$, ($c=1.00$, CHCl_3). Seu espectro de IV apresentou absorções a 3364 cm^{-1} (hidoxila) e bandas características do grupo exometilênico a 1650 e 910 cm^{-1} (Esp. 13).

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C mostraram sinais com feições parecidas à substância XIX (Tab. 2.2). A diferença fundamental entre XIX e XXI por RMN ^1H é a ausência de um grupo metila (3H, s, δ 1.39) observado em XIX, sendo substituído por dois singletos largos de ^1H cada em δ 5.10 e 5.23, além disto, o sistema AB a δ 2.57 e 2.75 em XIX é substituído por um singlete de 2H a δ 4.01 em XXI (Esp. 5 e 14). Os espectros de RMN ^{13}C de XXI mostraram em relação ao de XIX, as perdas de um grupo metila (q) a δ 21.36 e dos sinais a δ 59.87 (t) e 58.99 (s), correspondentes à função isopropilóxido, sinais estes substituídos por uma ligação dupla adicional do tipo 1,1-dissubstituída (δ 149.82, s e 112.04, t), e um álcool primário (δ 67.31, t) (esp. 15 e 16).

Os dados espectrais de RMN ^{13}C permitiram determinar também a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$. Estes dados indicam que este sesquiterpeno natural é idêntico ao produto de reação de XIX com $(\text{Et}_2\text{O})_2\text{BF}_3$.

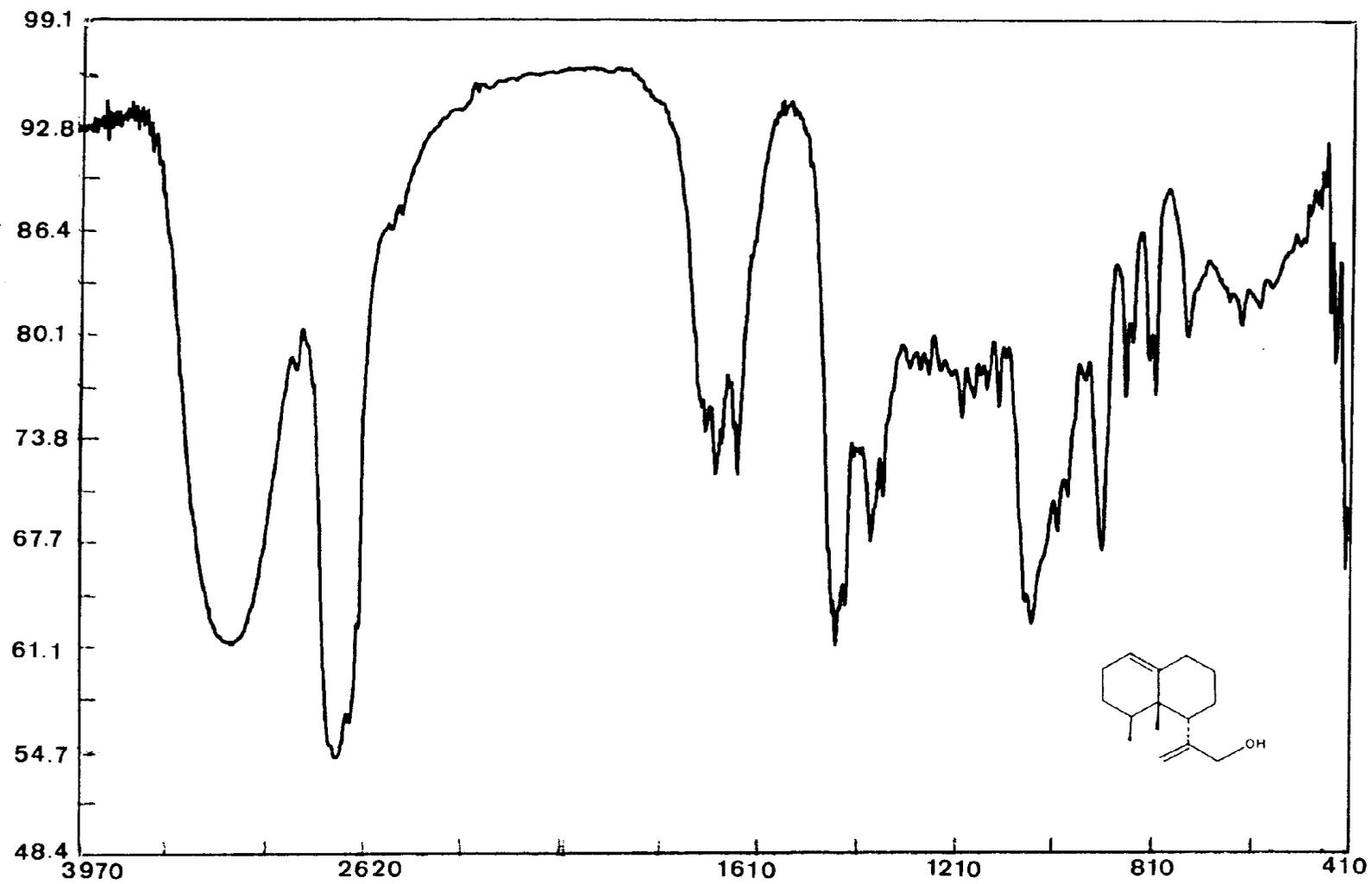


XXI

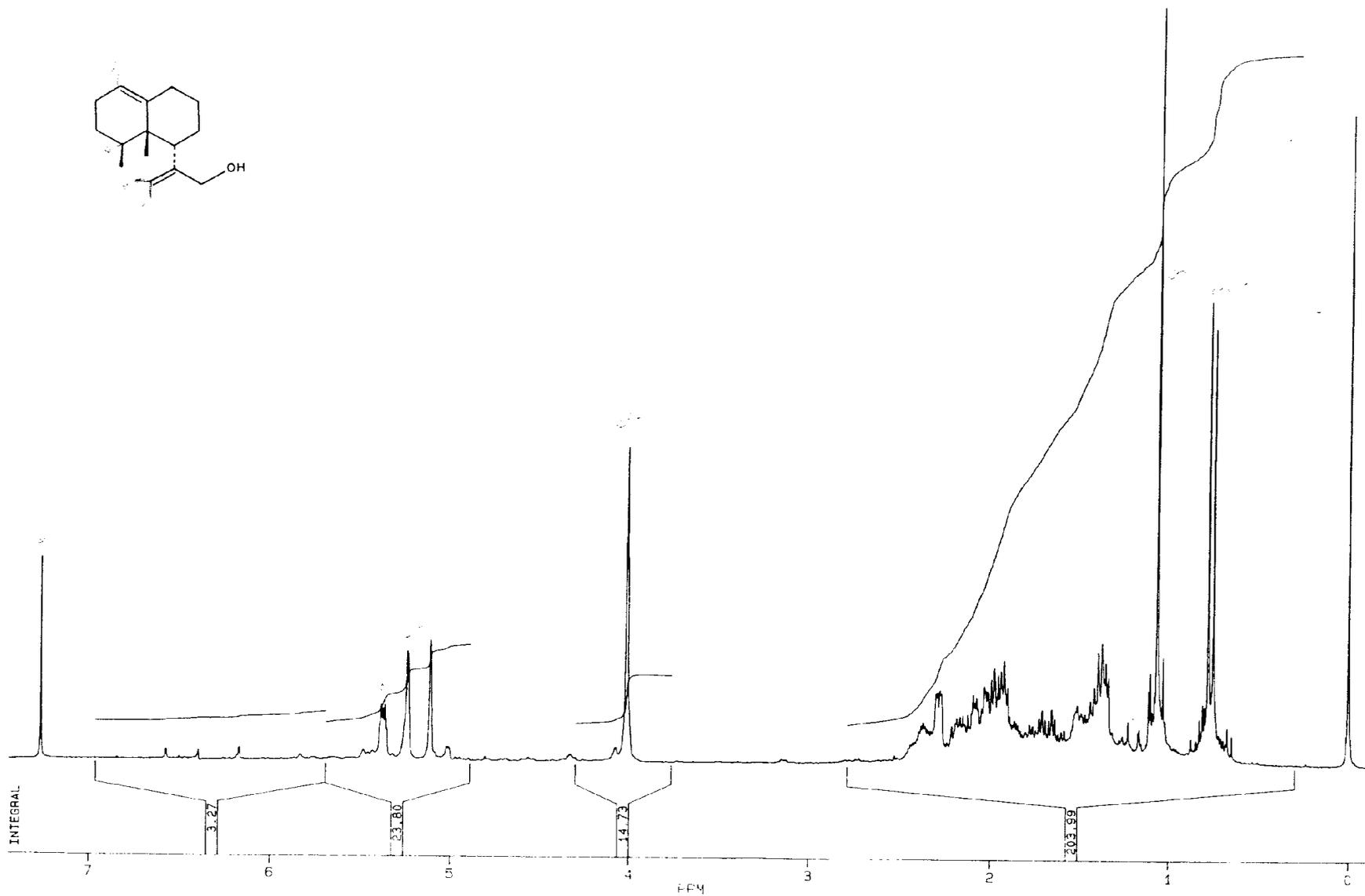
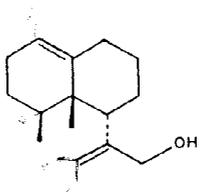
Tab. 2.2- Deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C (CDCl₃) das substâncias XIX e XXI

C#	RMN ¹³ C (δ ppm)		RMN ¹ H (δ ppm)		
	XIX	XXI	H#	XIX	XXI
1	121.86 (d)	121.73 (d)	1	5.45 (m)	5.35 (t)
2	27.75 (t)*	27.53 (t)*	2	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
3	25.69 (t)*	25.88 (t)*	3	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
4	34.47 (d)	33.95 (d)	4	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
5	40.28 (s)	40.34 (s)			
6	49.03 (d)	45.40 (d)	6	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
7	23.29 (t)*	21.07 (t)*	7	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
8	23.88 (t)*	25.96 (t)*	8	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
9	31.62 (t)	31.77 (t)	9	1.40 a 2.00 (m)	1.34 a 2.38 (m)
10	141.05 (s)	142.08 (s)			
11	58.99 (s)	149.82 (s)			
12	59.87 (t)	67.33 (t)	12	2.57 e 2.75 (2d)	4.01 (t)
13	20.59 (q)*	112.04 (t)	Me-13	1.39 (s)	5.01, 5.23 (s,d)
14	16.52 (q)	15.56 (q)	Me-14	0.86 (d)	0.76 (d)
15	21.36 (q)*	20.55 (q)	Me-15	1.04 (s)	1.06 (s)

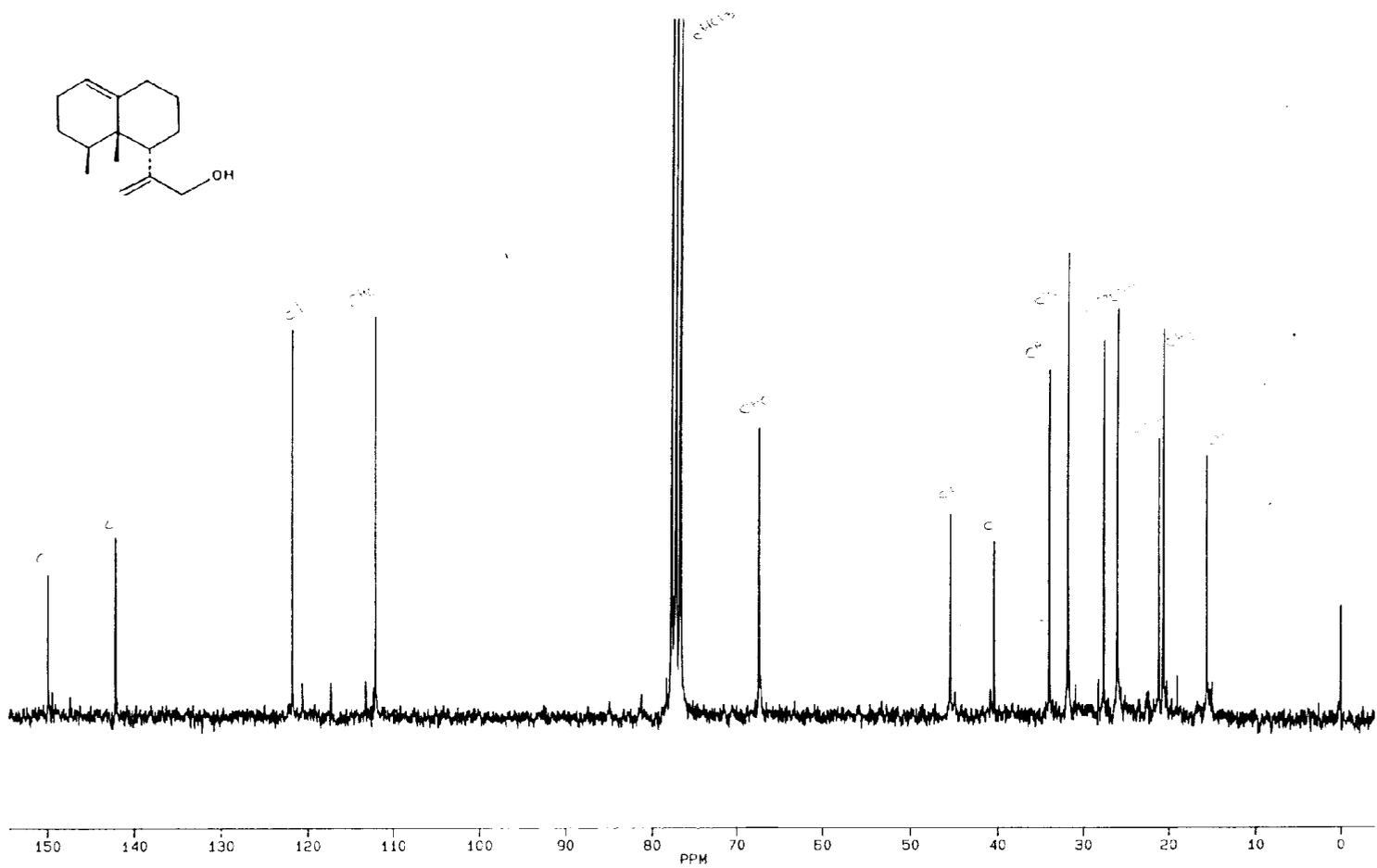
* sinais intertrocáveis



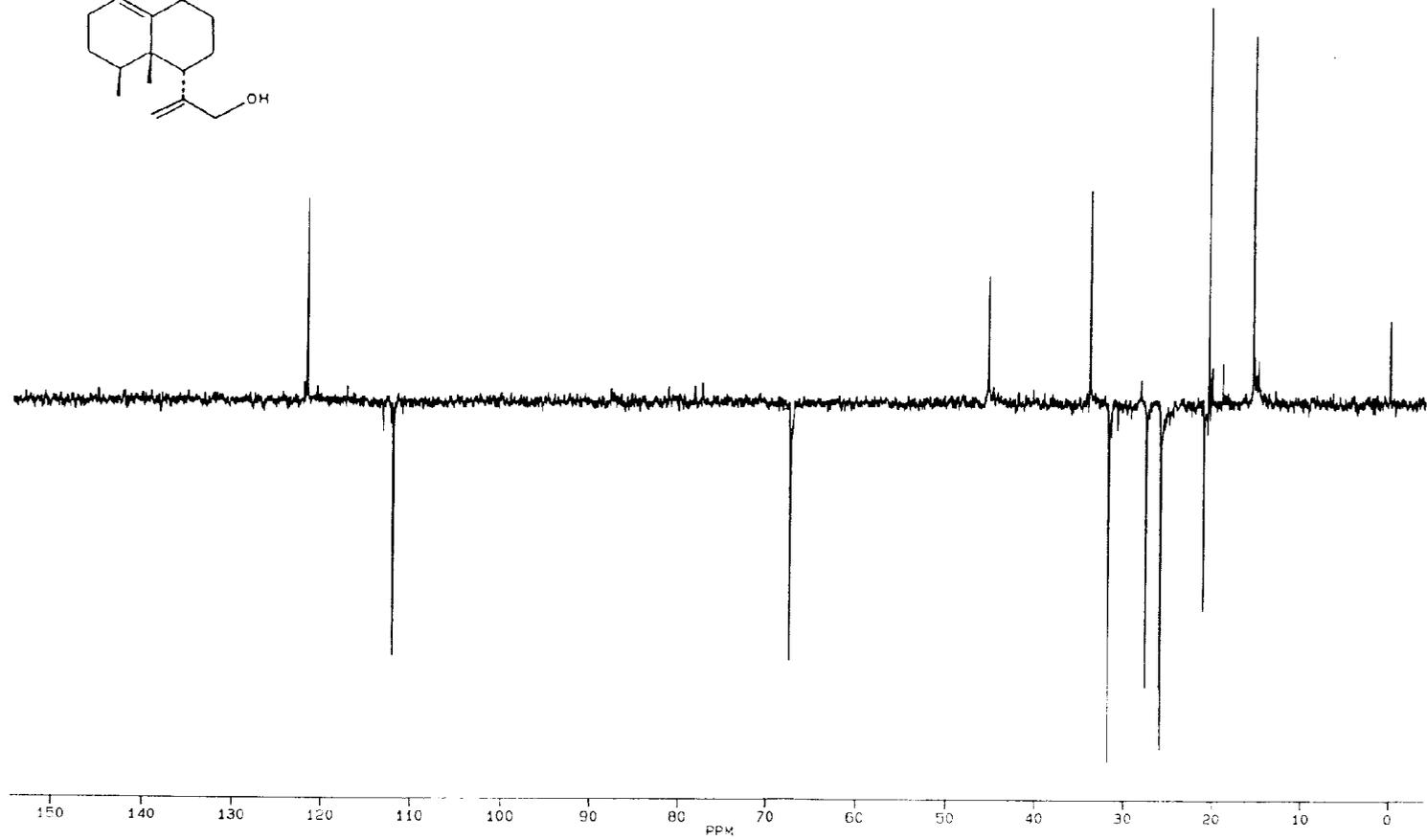
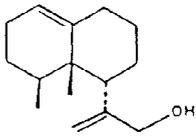
Esp. 13 Espectro de IV da substância XXI natural



Esp. 14 Espectro de RMN ¹H em CDCl₃ (250 MHz) da substância XXI natural



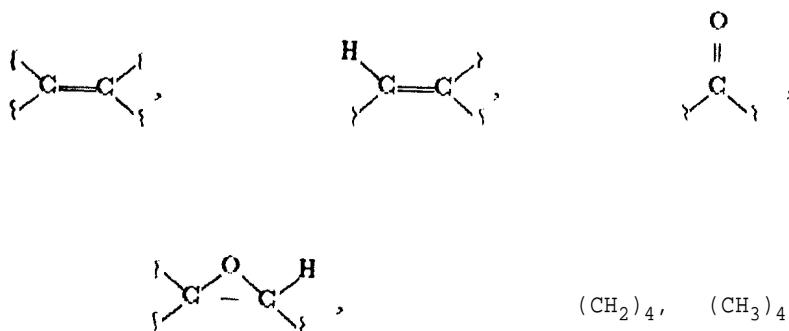
Esp. 15 Espectro de RMN ¹³C em CDCl₃ (62.8 MHz) da substância XXI natural



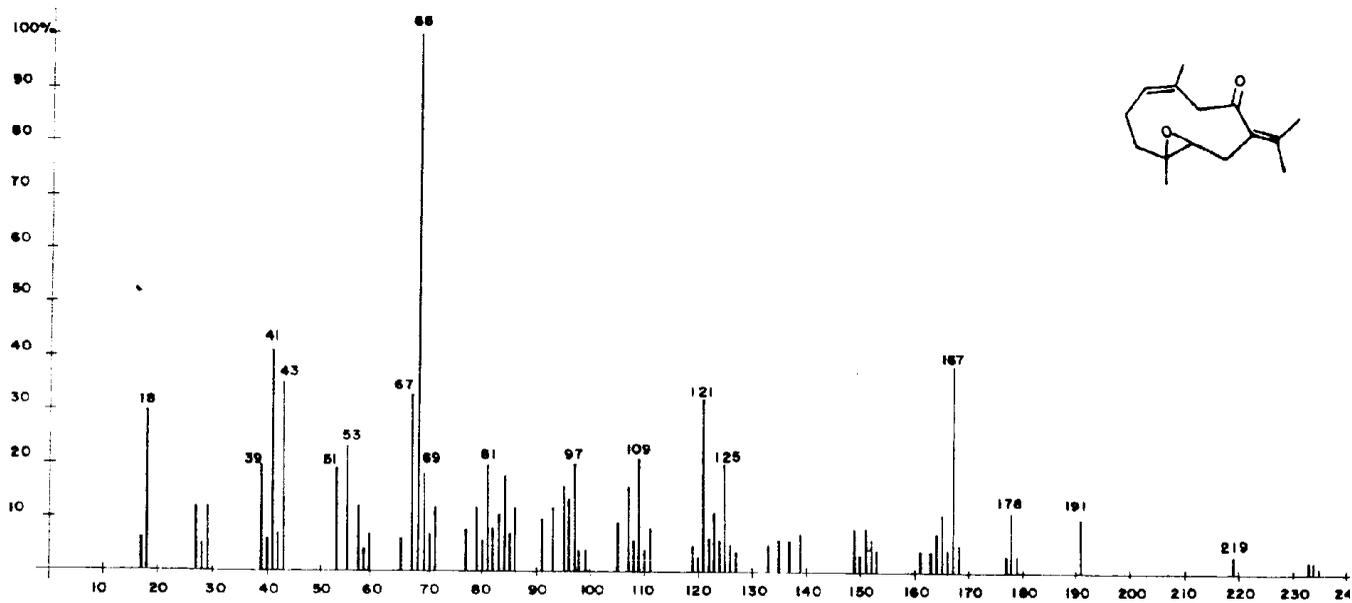
Esp. 16 Espectro de DEPT (CDCl₃) da substância XXI natural

2.1.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 4,5-EPOXIGERMACRA-1(10),
7(11)-DIEN-8-ONA (XXII)

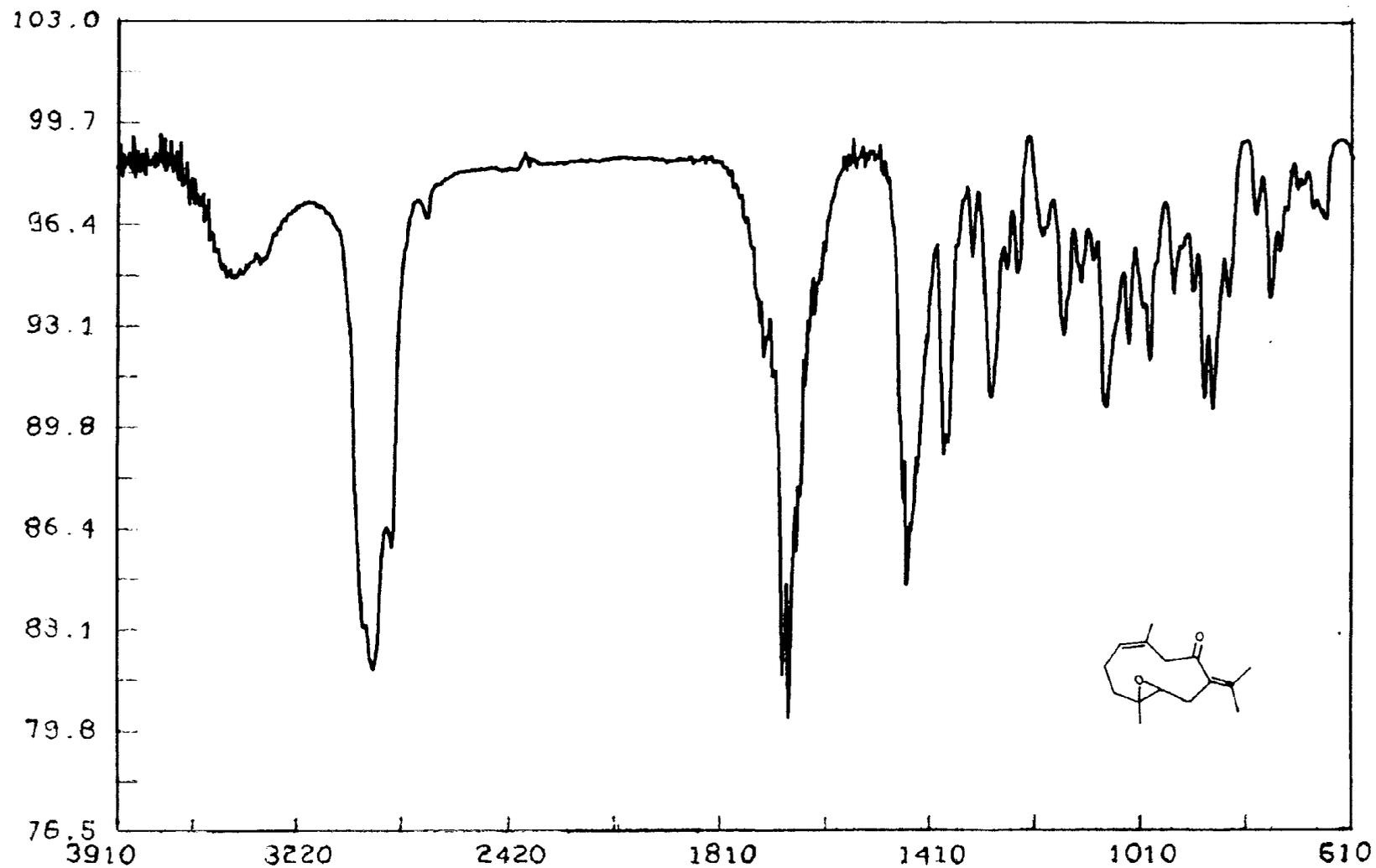
É um óleo incolor de rotação específica $[\alpha]_D -1.9$ ($c=1.00$, CHCl_3). Seu espectro de massa a baixa resolução apresenta um íon molecular a m/z 234 correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$, compatível com cinco graus de insaturação (Esp. 17). O espectro de IV é desprovido de absorção de hidroxila, mas apresenta uma banda de carbonila a 1682 cm^{-1} , indicando que o segundo oxigênio provavelmente participe de uma função éter (Esp. 18). A espectroscopia de RMN ^{13}C confirma a presença de uma carbonila a δ 208.44 (s) e apresenta quatro carbonos sp_2 , δ 134.36 (s), 132.28 (s), 130.36 (s) e 128.07 (d); dois carbonos ligados a heteroátomo δ 60.96 (s), 60.31 (d); quatro tripletos e quatro metilas (Esp. 19 e 20). Estes dados indicam os seguintes elementos estruturais:



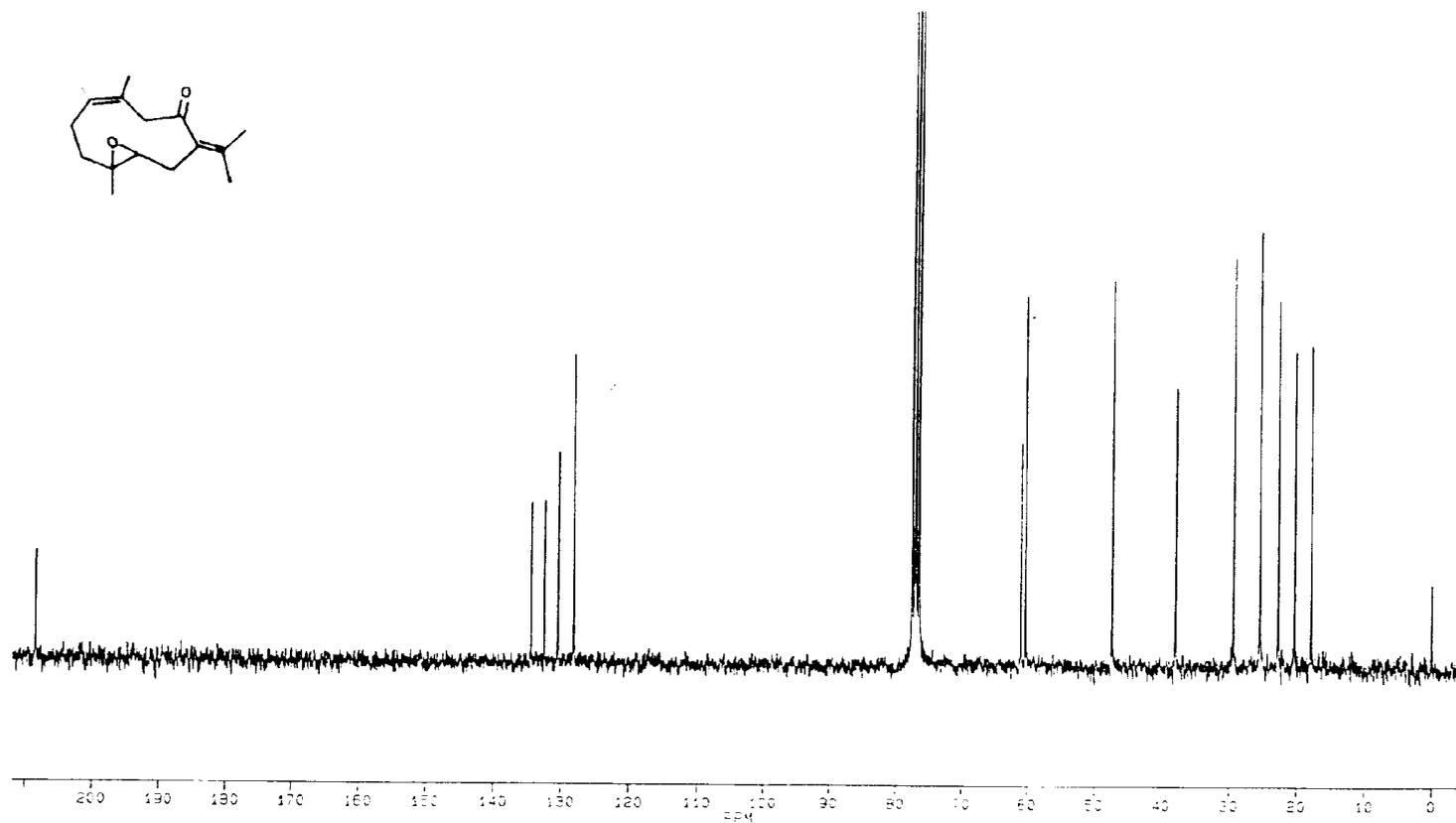
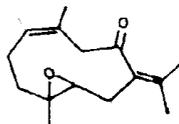
Esses fragmentos justificam quatro das cinco insaturações de XXI, a quinta insaturação corresponde a um ciclo.



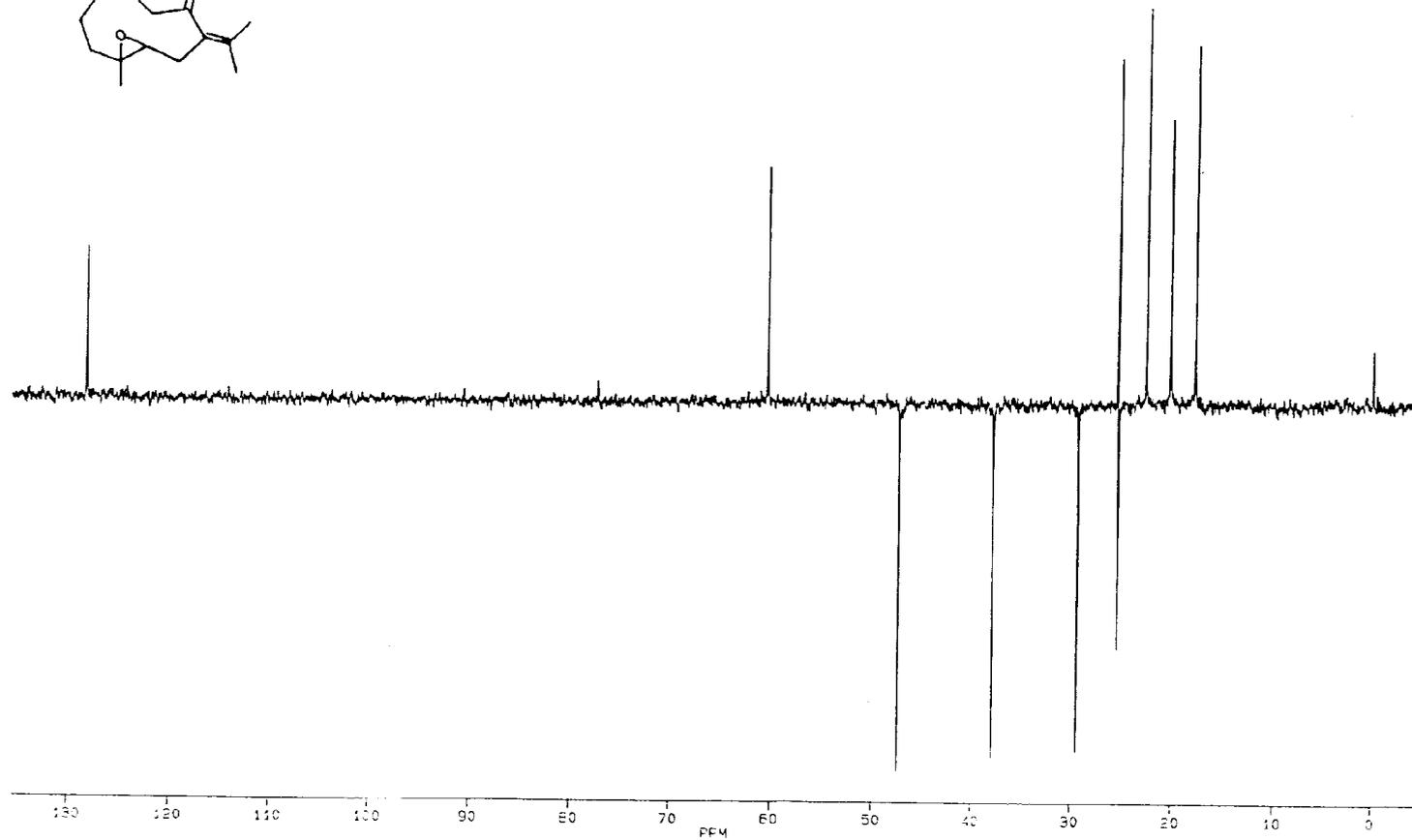
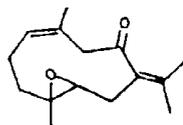
Esp. 17 Espectro de massas da substância XXII



Esp. 18 Espectro de IV da substância XXII



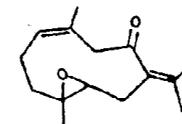
Esp. 19 Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII



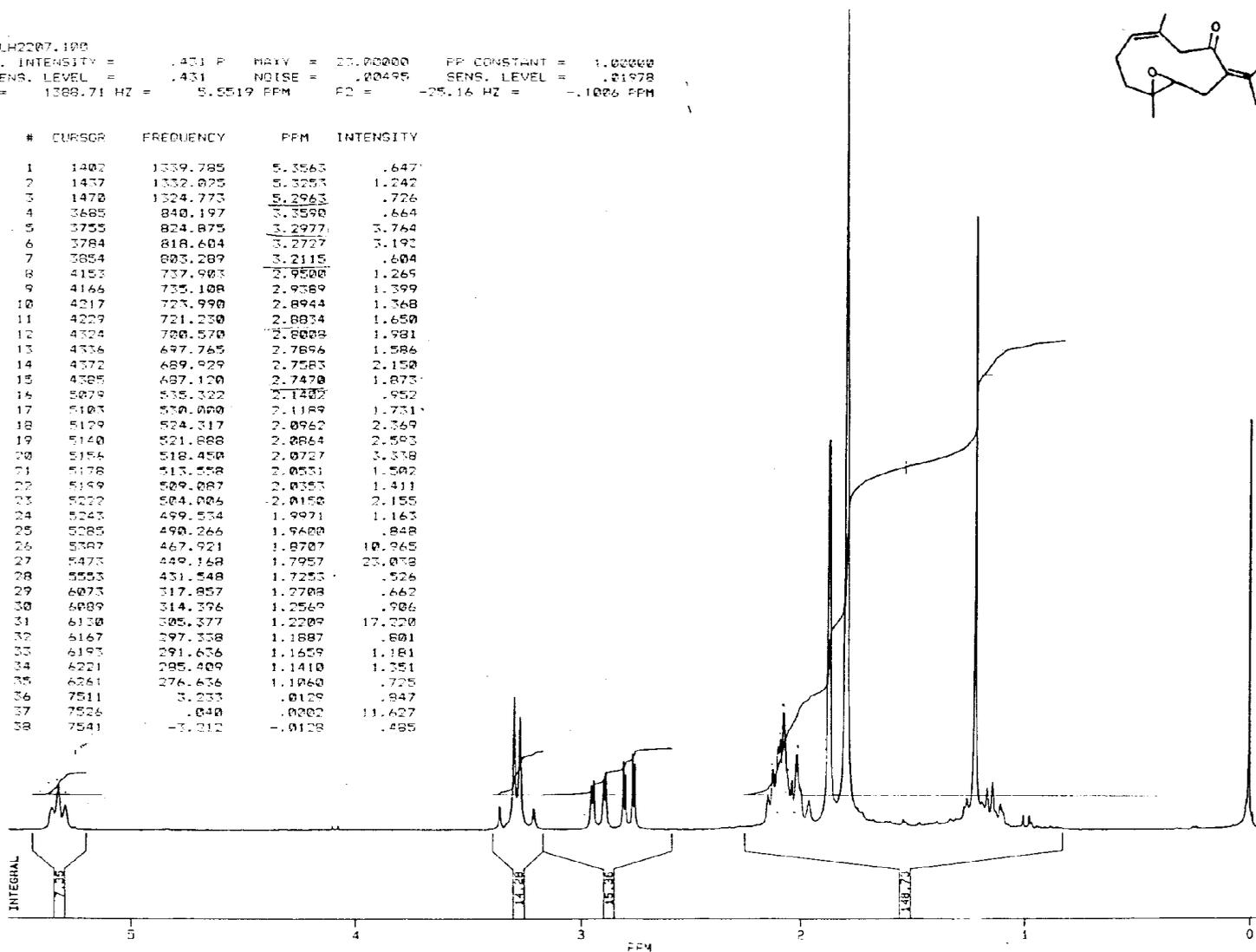
Esp. 20 Espectro de DEPT (CDCl₃) da substância XXII

O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 apresentou sinais de três metilas em carbono sp^2 (δ 1.79, 2s e 1.87, s) e metila em carbono sp^3 (δ 1.22, s); um multipletto complexo de quatro hidrogênios (Hf-i) entre δ 1.95 e 2.14; dois duplos dubletos correspondente a dois hidrogênios (He a δ 2.7Z e Hd a δ 2.94); dois dubletos correspondendo a dois hidrogênios a δ 3.25 e um hidrogênio vinílico (Ha δ 5.32, t, $J= 7.75$ Hz) da ligação dupla trissubstituída (Esp. 21). O cálculo das constantes de acoplamento demonstrou um acoplamento vicinal ($J_{ae} 2.83$ Hz) entre He (1H, dd, $J= 2.83$ e 10.64 Hz) e Hd (1H, dd, $J= 2.83$ e 13.85 Hz), e um acoplamento geminal entre Hc (1H, d, $J= 15.31$ Hz) e Hb (1H, d, $J= 15.31$ Hz). A geometria cis (Z) da ligação dupla trissubstituída pode ser comprovada através do efeito NOE diferencial em RMN ^1H que provocou um aumento de 85% na interação do sinal de Ha ao se irradiar a Me-A (Esp. 22). O espectro de RMN ^1H em C_6D_6 mostrou o desdobramento de um sinal correspondente a duas metilas (δ 1.79) em CDCl_3 para dois singletos largos: um a δ 1.60 (3H) e outro 1.50 (3H). Também houve deslocamento na posição de Hi que participava de multipletto (δ 1.95 a 2.15) e que passou a ser triplete de multipletos a δ 2.25 em C_6D_6 (Esp. 23).

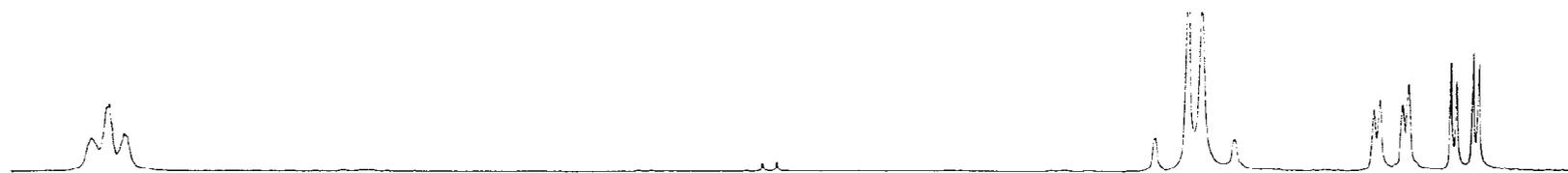
KELH2007.100
 MIN. INTENSITY = .431 P PARY = 20.00000 PP CONSTANT = 1.00000
 INTENS. LEVEL = .431 NOISE = .00495 SENS. LEVEL = .21978
 F1 = 1388.71 HZ = 5.5519 PPM F2 = -25.16 HZ = -1.006 PPM



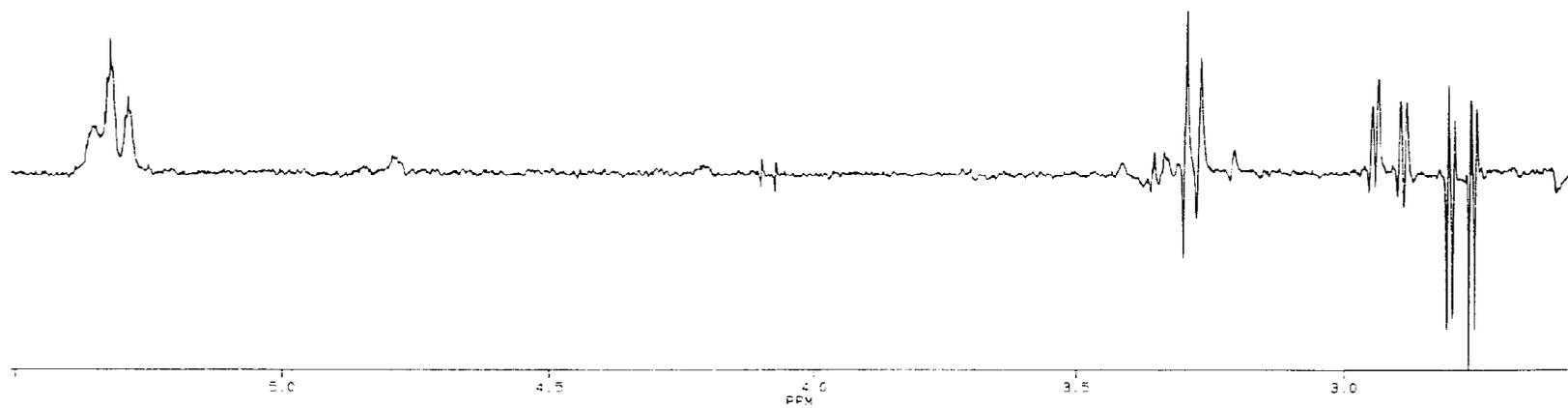
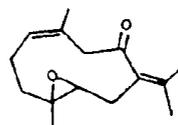
#	CURSOR	FREQUENCY	PPM	INTENSITY
1	1402	1339.785	5.3563	.647
2	1437	1332.825	5.3253	1.242
3	1470	1324.773	5.2963	.726
4	3685	840.197	3.3590	.664
5	3755	824.875	3.2977	3.764
6	3784	818.604	3.2727	3.192
7	3854	803.289	3.2115	.604
8	4153	737.903	2.9500	1.265
9	4166	735.108	2.9389	1.399
10	4217	723.990	2.8944	1.368
11	4229	721.230	2.8834	1.650
12	4324	700.570	2.8009	1.981
13	4336	697.765	2.7856	1.586
14	4372	689.929	2.7583	2.150
15	4385	687.120	2.7470	1.873
16	5079	535.322	2.1402	.952
17	5103	530.000	2.1189	1.731
18	5129	524.317	2.0962	2.369
19	5140	521.888	2.0864	2.593
20	5156	518.450	2.0727	3.338
21	5178	513.558	2.0531	1.502
22	5199	509.087	2.0353	1.411
23	5222	504.006	2.0150	2.155
24	5243	499.534	1.9971	1.163
25	5285	490.266	1.9400	.848
26	5307	487.921	1.8707	10.965
27	5473	449.168	1.7957	23.038
28	5533	431.548	1.7253	.526
29	6073	317.857	1.2708	.662
30	6089	314.396	1.2569	.906
31	6130	305.377	1.2209	17.320
32	6167	297.358	1.1887	.601
33	6193	291.636	1.1659	1.181
34	6221	285.409	1.1410	1.351
35	6261	276.636	1.1060	.725
36	7511	3.233	.0129	.947
37	7526	.840	.0202	11.627
38	7541	-3.212	-1.0128	.485



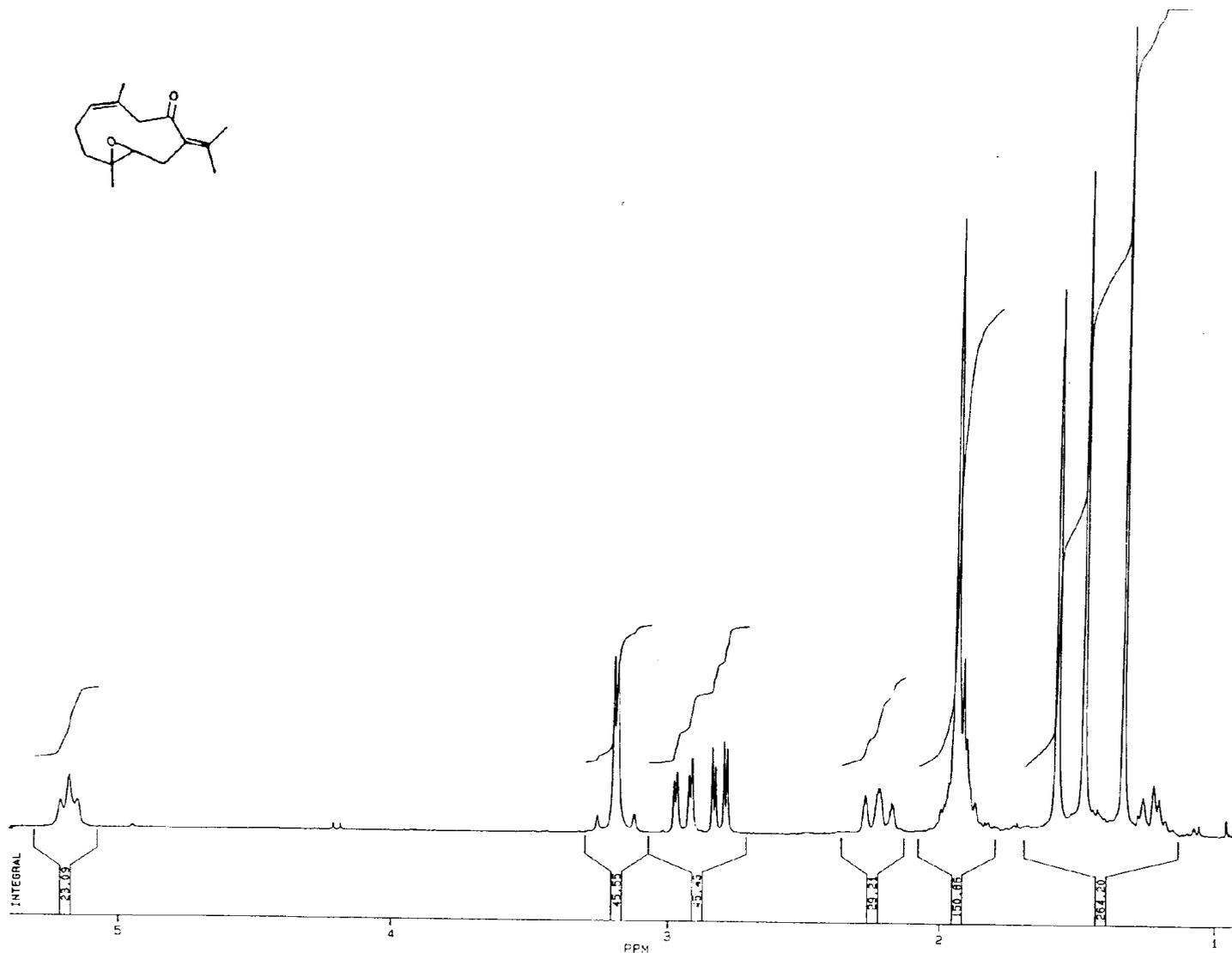
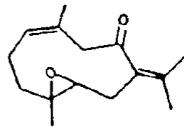
Esp. 21 Espectro de RMN ¹H em CDCl₃ (250 MHz) da substância XXII



NOE (CH3)1 CDCl3

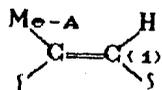


Esp. 22 Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) com NOE da substância XXII



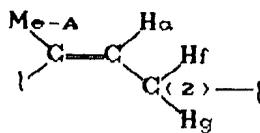
Esp. 23 Espectro de RMN ^1H em C_6D_6 (250 MHz) da substância XXII

O espectro de RMN 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ (Esp. 24 e 24') representado na tabela 2.3, indica que a ligação dupla trissubstituída cis é formada por C(1)-Ha ligado a carbono que sustenta C(15)= Me-A:



O hidrogênio Ha é um tripleto largo ($J = 7.5$ Hz), logo está acoplado com um grupo metileno vizinho do C(1). Existem a priori quatro carbonos possíveis: C(2)-H₂, C(3)H₂, C(6)H₂ e C(9)H₂ (Tab. 2.3).

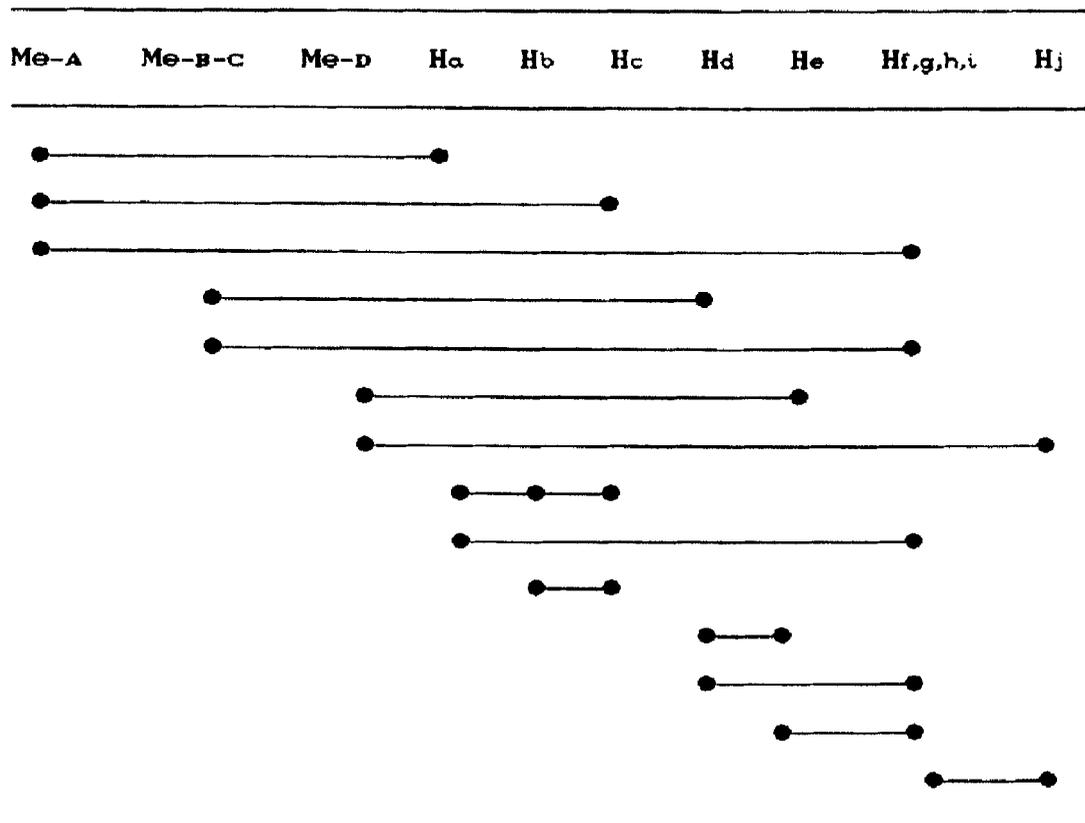
O espectro de RMN $^1\text{H}-^1\text{H}$ a 2D em CDCl₃ (Esp. 25) revela um acoplamento de Ha com dois dos hidrogênios Hf,g,h (fig. 2.1). Mas o espectro de RMN $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ 2D (tab. 2.3) indica que este acoplamento só ocorre com Hf-g, ligados a C(2) o que sugere o fragmento 1:

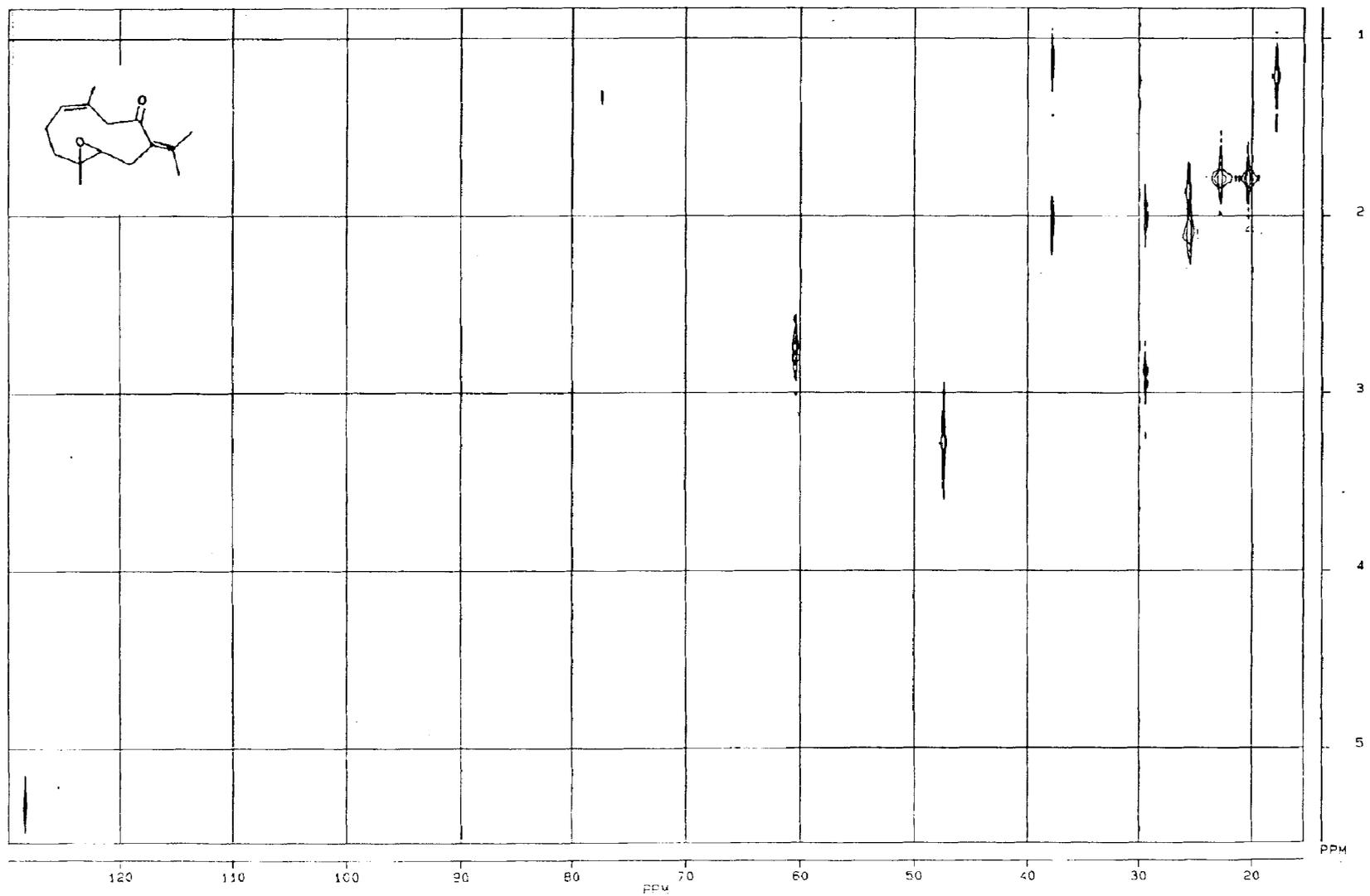


Tab. 2.3 Correlação heteronuclear a duas dimensões (RMN ^{13}C e ^1H) em CDCl_3 a 62.8 E 250 MHz da substância XXII

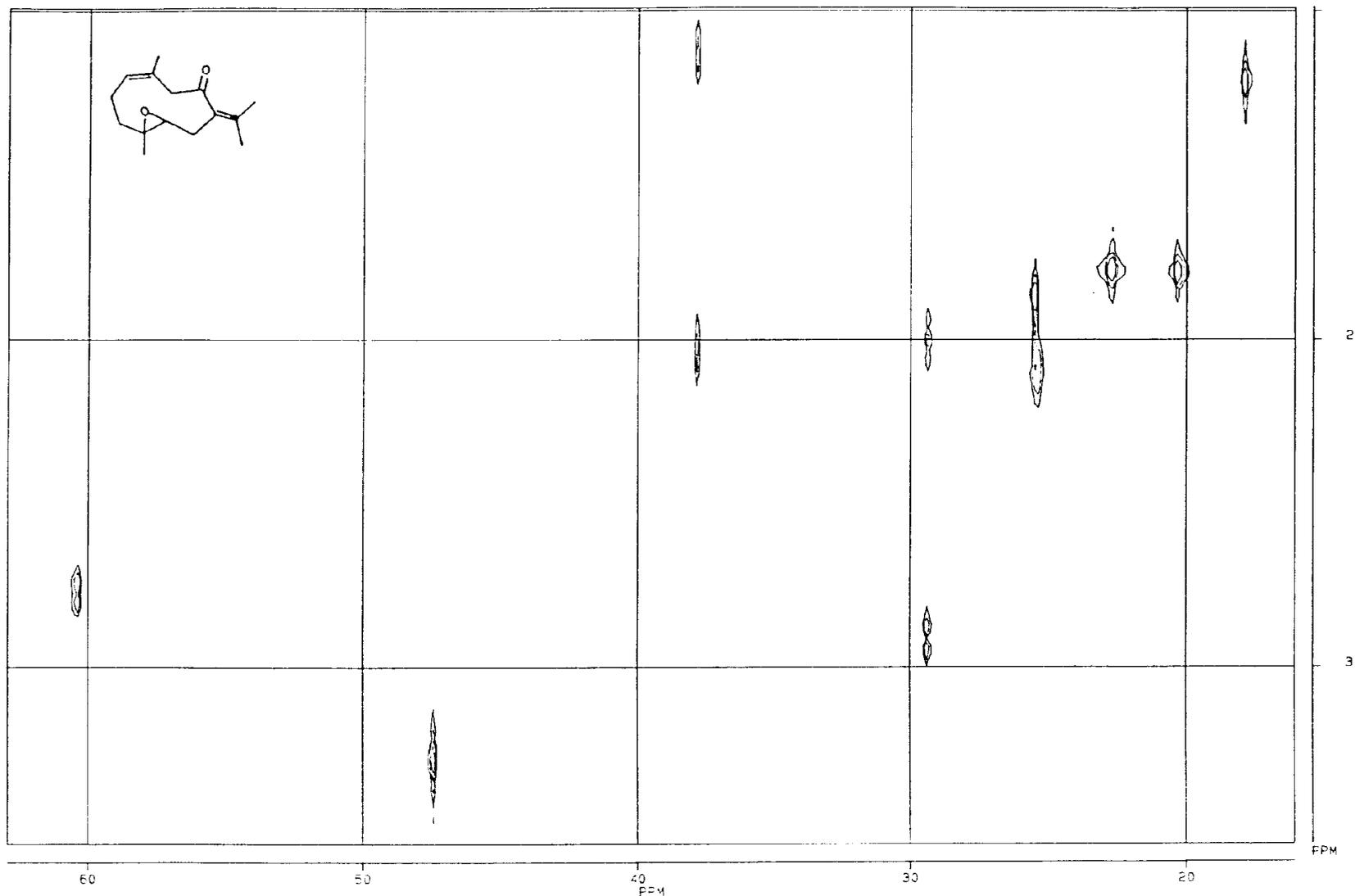
C#	δ ppm	H#	δ ppm
1	128.07 (d)	H _a	5.32 (t, J= 7.75 e 7.25 Hz)
2	25.45 (t)	H _{f,g}	1.94 a 2.14 (m)
3	37.80 (t)	H _h	1.94 a 2.14 (m)
3	37.80 (t)	H _j	1.14 (m)
4	60.46 (s)		
5	60.31 (d)	H _e	2.77 (dd, J= 2.83 e 10.64 Hz)
6	29.35 (t)	H _d	2.94 (dd, J= 2.83 e 13.85 Hz)
6	29.35 (t)	H _i	1.94 a 2.14 (m)
7	130.36 (s)		
8	208.44 (s)		
9	47.37 (t)	H _b	3.32 (d, J= 15.31 Hz)
9	47.37 (t)	H _c	3.26 (d, J= 15.31 Hz)
10	132.39 (s)		
11	134.36 (s)		
12	22.67 (q)	Me-c	1.79 (s)
13	20.26 (q)	Me-b	1.79 (s)
14	17.85 (q)	Me-d	1.22 (s)
15	25.53 (q)	Me-a	1.86 (s)

Fig. 2.1 Correlação homonuclear a duas dimensões (RMN ^1H - ^1H) em CDCl_3 da substância XXII

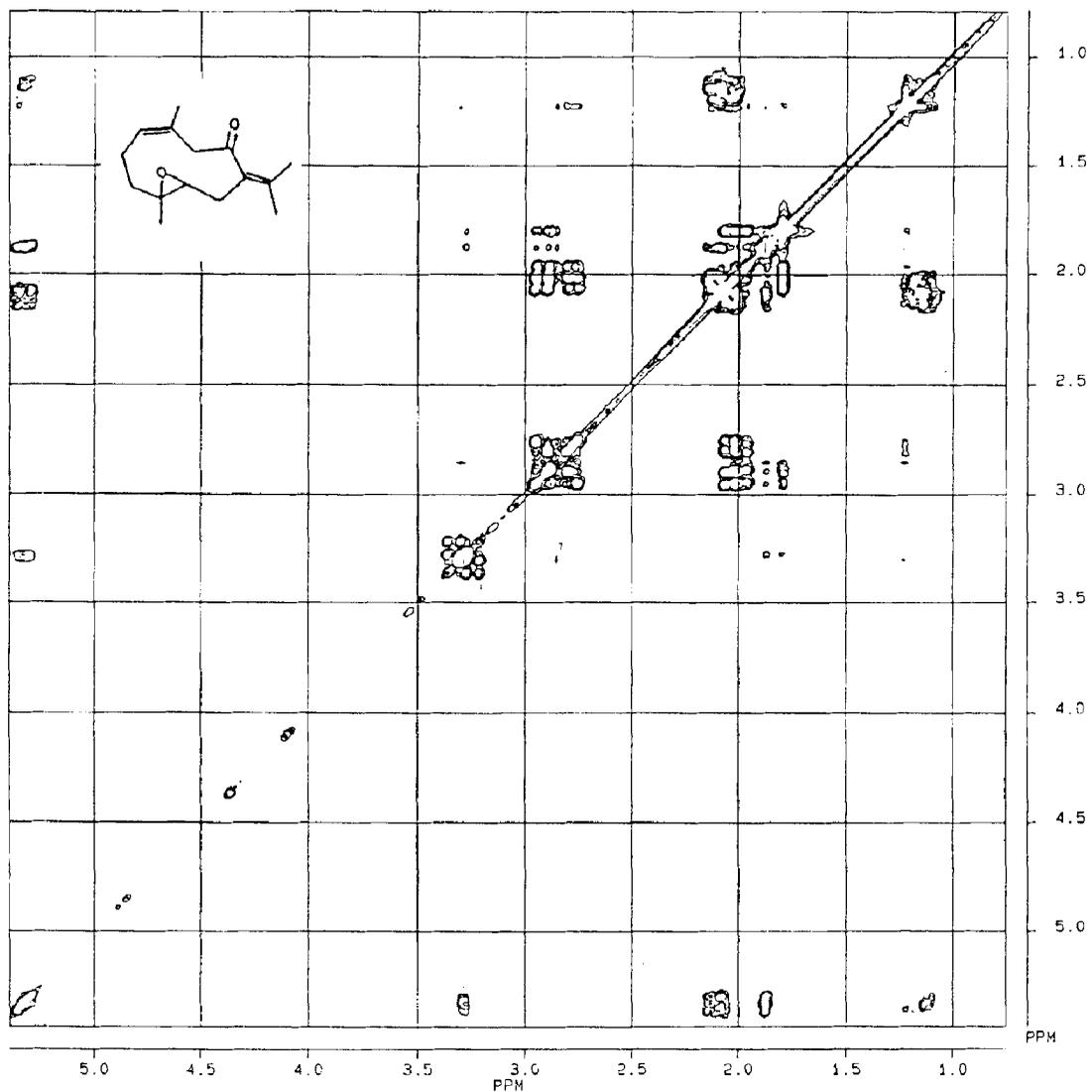




Esp. 24 Espectro a duas dimensões heteronuclear (RMN ^1H ^{13}C) em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII

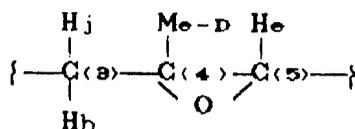


Esp. 24' Espectro a duas dimensões heteronuclear (RMN ^1H e ^{13}C) em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXII com ampliação entre 0 a 60 ppm



Esp. 25 Espectro a duas dimensões homonuclear (RMN ¹H-¹H) em CDCl₃ (250 MHz) da substância XXII

No espectro de RMN ^1H (CDCl_3) de alta resolução observa-se que Me-D na verdade é um dubleto (Esp. 26). Foi então realizado experimentos com irradiação dupla que mostrou um acoplamento de 0.78 Hz do tipo W (dábliu) entre Me-D e Hj (Esp. 27). A posição bem protegida de Hj (δ 1.14) indica sua posição pseudo-axial. Por outro lado, os deslocamentos químicos em RMN ^1H da Me-D (δ 1.22, s), sugerem estar ligado a carbono sp^3 quaternário, substituído pelo oxigênio da função éter. Os deslocamentos dos carbonos envolvidos nesta função demonstram tratar-se de um epóxido (Esp. 19 e 20).
 Fragmento 2:



Os espectros de RMN ^1H - ^1H 2D (CDCl_3 e C_6D_6) (Figs. 2.1 e 2.2, Esp. 25 e 27), mostram acoplamentos entre He e Hd (Jr 2.83 Hz), Hd e Hi (J= 13.85 Hz) e Hi e He (J= 10.64 Hz) e a RMN ^1H - ^{13}C 2D define que He esteja ligado a C(5) e Hd e Hi ao C(6) (Tab. 2.3), como indica o fragmento 3:

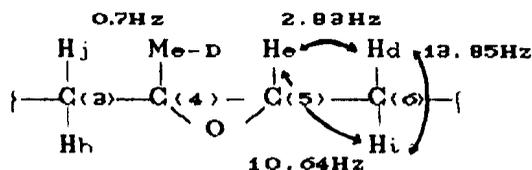
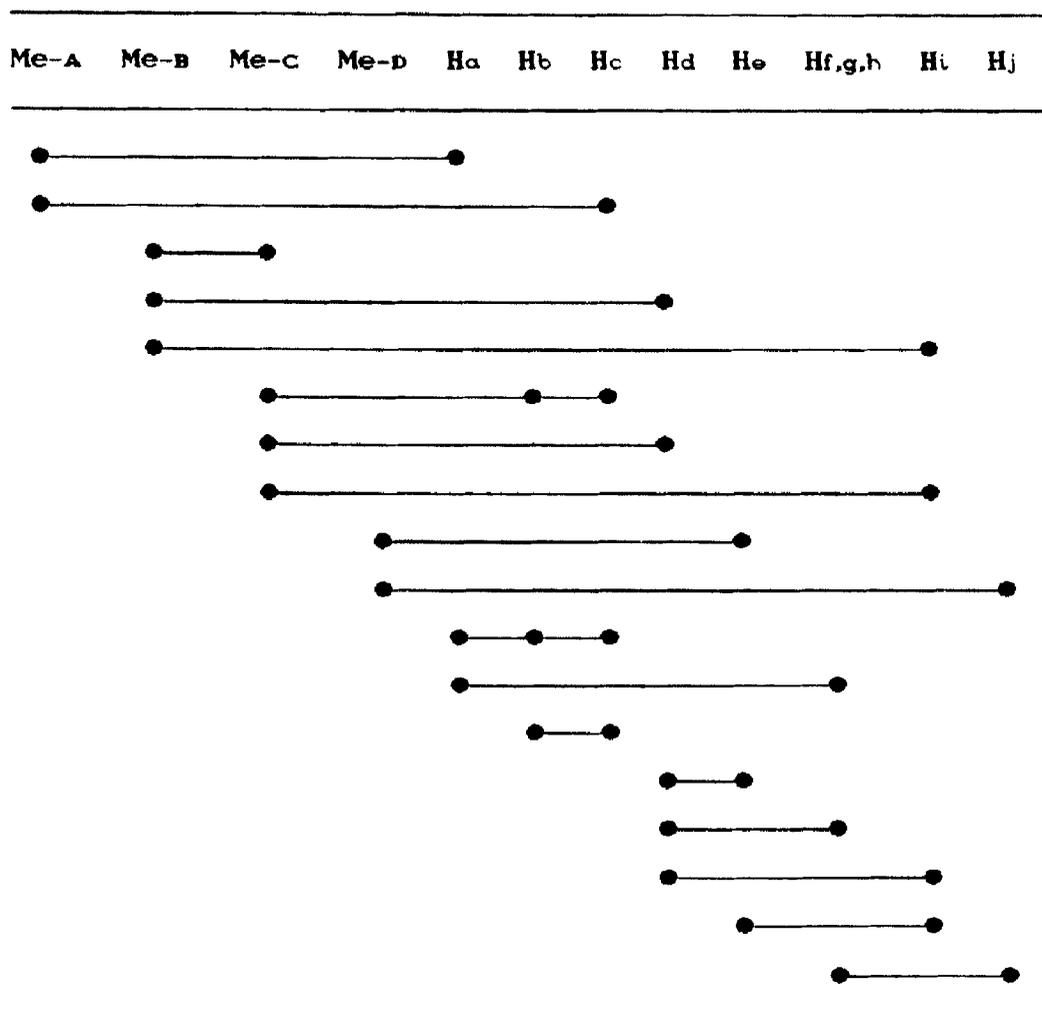
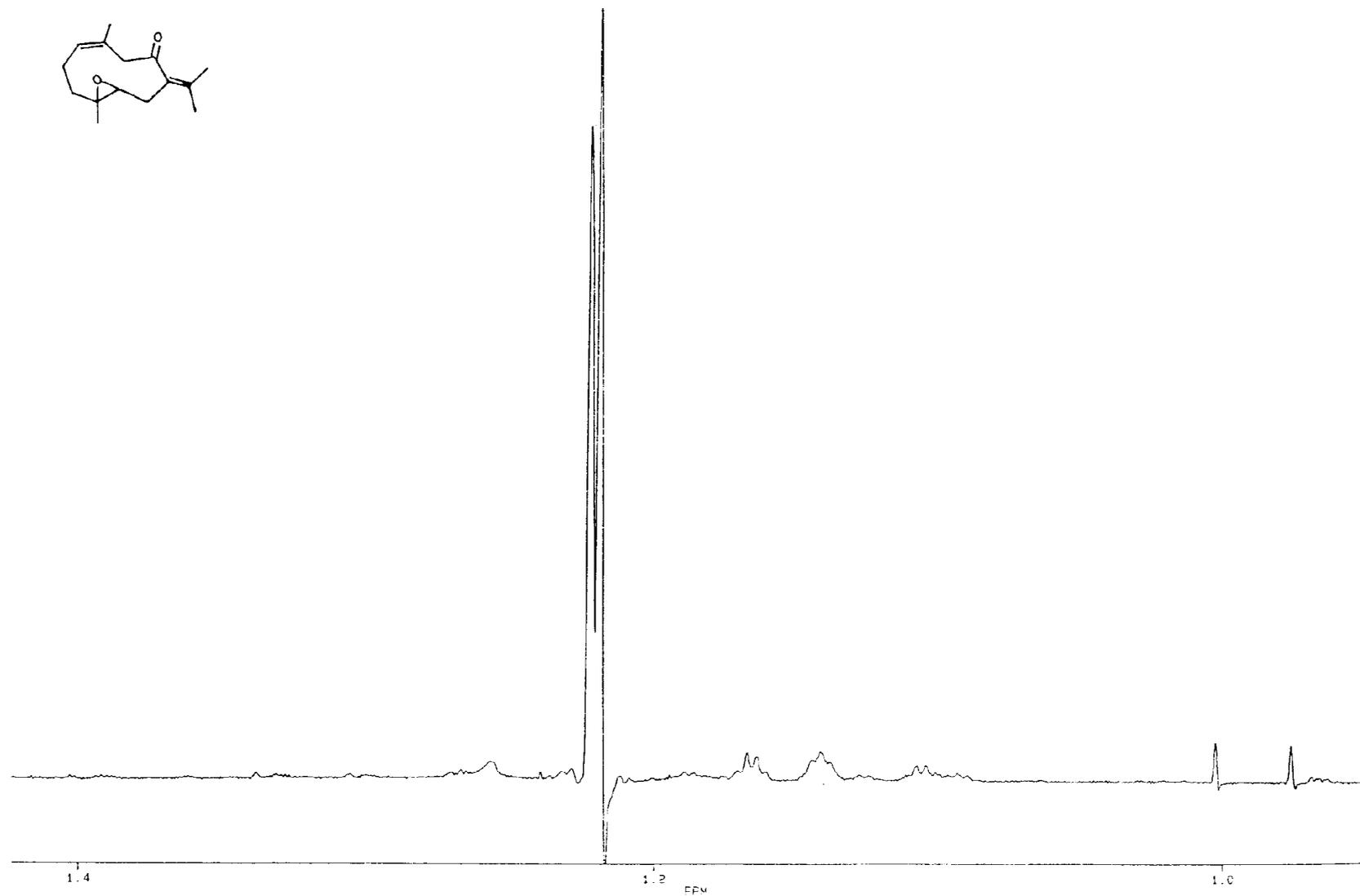
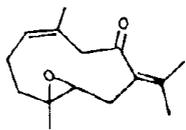
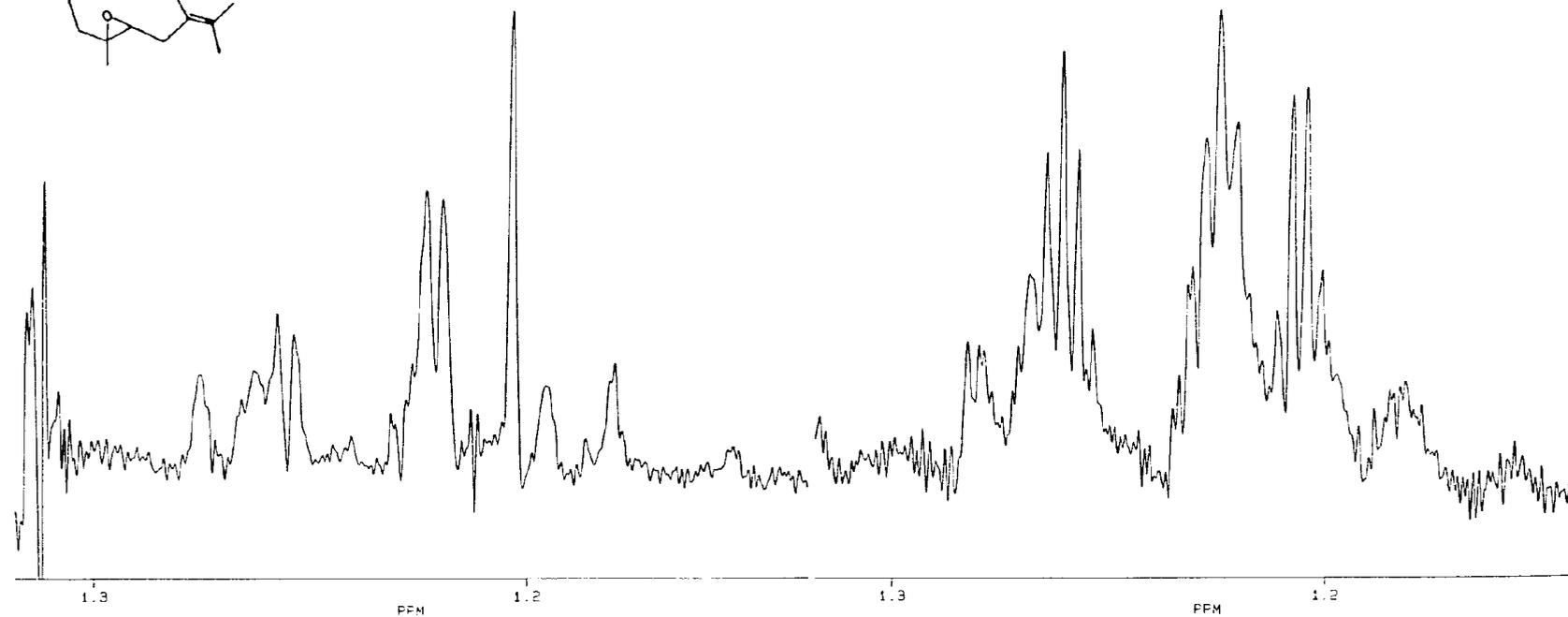
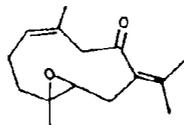


Fig 2.2. Correlação homonuclear a duas dimensões (RMN ^1H - ^1H)
em C_6D_6 da substância XXII





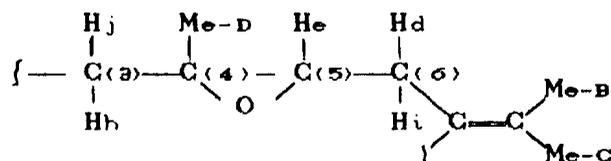
Esp. 26 Espectro de RMN ^1H de alta resolução em CDCl_3 da Me-D (250 MHz) da substância XXII



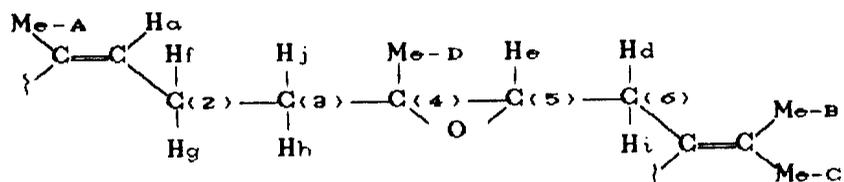
Esp. 27 Espectro de RMN ^1H de alta resolução em C_6D_6 (250 MHz) com irradiação na Me-D da substância XXII

A posição desprotegida de Ha e Hi (δ 2.95 e 1.95 a 2.18), indicam a natureza alílica dos mesmos. O $C(\delta)H_2$ não se encontra ao lado da ligação dupla trissubstituída pois a Me-A não mostra acoplamento com Hd e Hi, portanto $C(\delta)H_2$ está ligado a carbono em ligação dupla tetrassubstituída.

O espectro de massas apresentou o íon molecular m/z 68 $(M-C_5H_3)^+$ que corresponde a um fragmento do tipo isopentílico (Esp. 17, Esq. 2.5). Na irradiação dupla das metilas B,C observou-se modificações nos sinais de Hi que se transformou em um duplo dubleto ($J= 10.64$ e 13.86 Hz), de Hd em duplo dubleto de dubletos ($J= 2.83$ e 13.85 Hz) e de He em duplo dubleto ($j= 2.83$ e 10.64 Hz), (Esp. 28) propondo o fragmento 4:

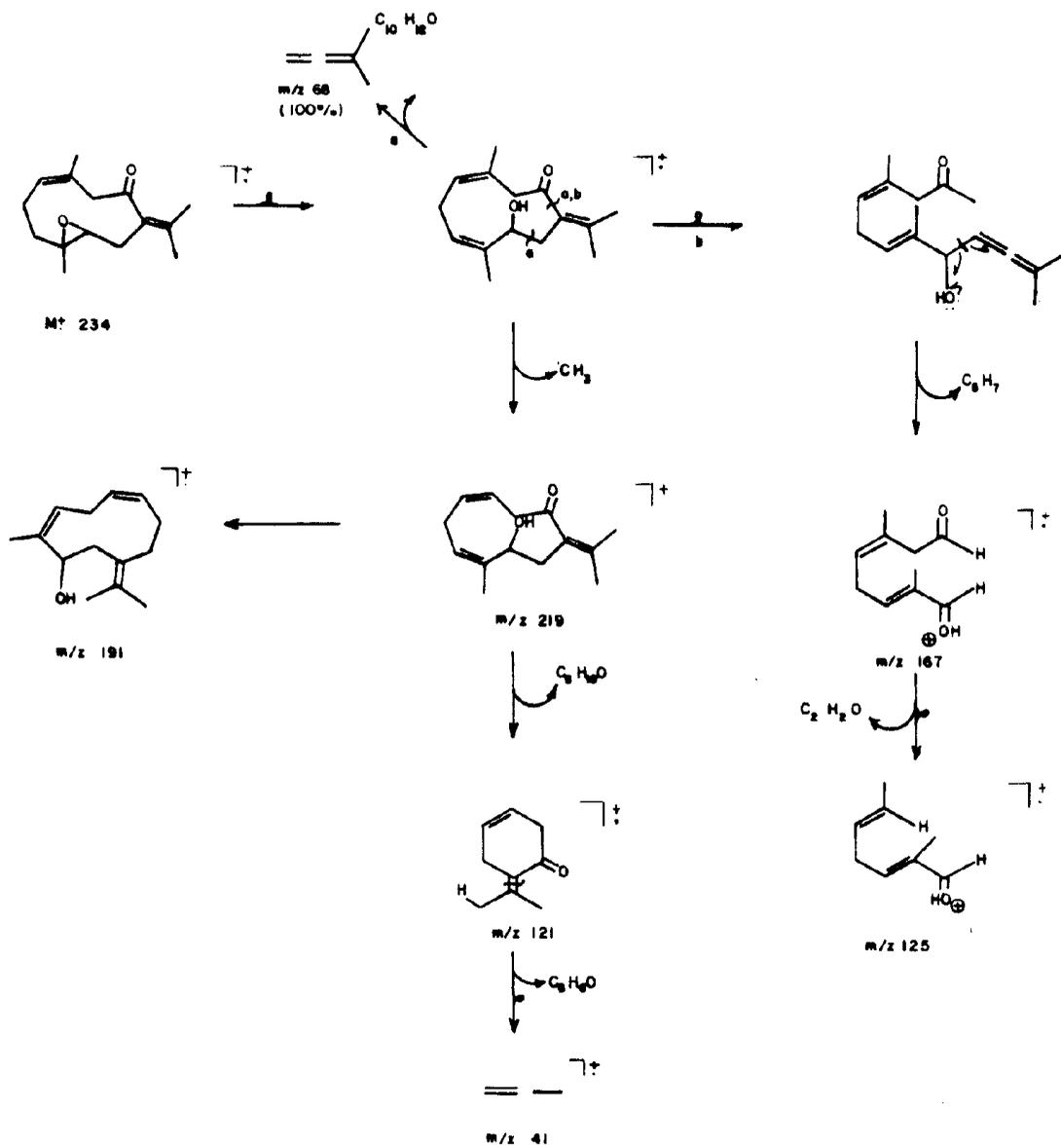


O espectro de RMN $^1H-^1H$ 2D (C_6D_6) mostra o acoplamento entre Hj e Hf,g,h (Fig. 2.2). Isto permite unir os fragmentos 1 e 4 da seguinte forma:

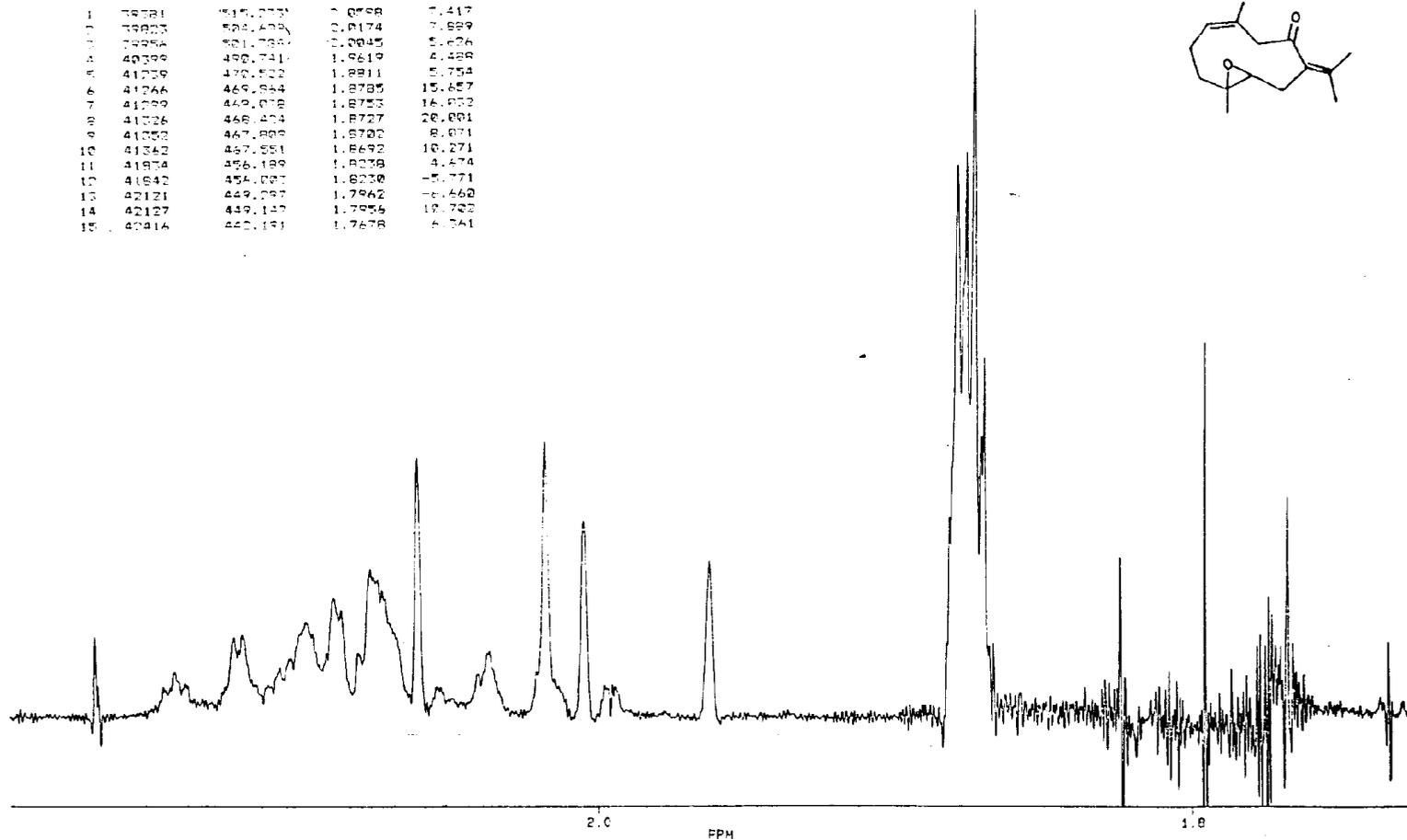
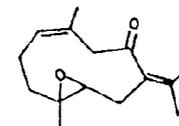


Esq. 2.5 Proposta de fragmentação de massa da substância

XXII



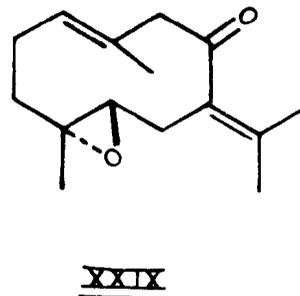
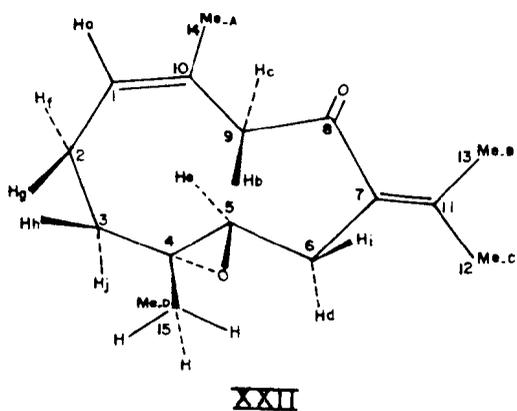
#	CHARGE	FREQUENCY	PPM	INTENSITY
1	78281	5315.073	7.0798	7.417
2	78283	5314.479	7.0174	7.889
3	78284	5313.884	6.9549	5.626
4	40389	460.741	1.9619	4.488
5	41039	470.522	1.8911	5.754
6	41044	469.844	1.8785	15.657
7	41039	469.078	1.8753	16.952
8	41026	468.404	1.8727	20.891
9	41032	467.809	1.8702	8.871
10	41342	457.551	1.8692	10.271
11	41974	456.189	1.8338	4.474
12	41842	454.027	1.8230	-5.771
13	42121	449.297	1.7962	-6.462
14	42127	449.147	1.7955	10.732
15	42316	448.191	1.7678	5.741



Esp. 28 Espectro de RMN ¹H de alta resolução em CDCl₃ das Me-b e Me-c (250 MHz) da substância XXII

Este fragmento contém 13 dos 15 carbonos da molécula, faltando apenas a carbonila e o C(5)H_{b,c}. As RMN ¹H-¹H 2D (CDCl₃ e C₆D₆), mostram acoplamento a longa distância de Ha com H_{b,c} e de H_{b,c} com Me-A (Fig 2.1 e 2.2). Isto posiciona o C(9)H_{b,c} entre a ligação dupla trissubstituída e a carbonila, de acordo com o deslocamento químico de H_{b,c} em RMN ¹H (Esp. 21). Esta interpretação espectral propõe que a estrutura deste sesquiterpeno seja, então, um germacrano (XXII).

A definição da estereoquímica pseudo-eq/eq do grupo epóxido, baseou-se nas seguintes observações: acoplamento entre He e Hi (J= 10.64 Hz), que indica a orientação pseudo-axial de He, e o acoplamento em W entre Me-D e Hj que fixa a posição pseudo-axial de Me-D (Esp. 21 e 27). A substância XXII possui um isômero geométrico de ligação dupla (a substância XXIX) isolada de frutos de *Smyrnum creticum*, juntamente com outras epoxigermacronas⁶⁹. Os dados espectrais de XXII e XXIX estão relacionados na tabela 2.4 para comparação.



Tab. 2.4 Deslocamentos químicos de RMN ¹H e EM das substâncias XXII e XXIX

H#	R.M.N. ¹ H				E.M.	
	XXII		XXIX		XXII	XXIX
	δ ppm	feição	δ ppm	feição	m/z (%)	m/z (%)
H _a	5.32	t	5.34	dd	234 [M] ⁺	234 [M] ⁺
H _b	3.32	d	2.86	d	219 (03)	219 (05)
H _c	3.26	d	2.02	d	—	216 (04)
H _d	2.94	dd	2.42	dd	167 (38)	167 (50)
H _e	2.77	dd	2.15	dl	121 (32)	121 (38)
H _i	2.00 ≅	m	2.07	ddl	68 (100)	68 (100)
H _j	1.14	m	—	—		
Me-A	1.87	s	1.70	s		
Me-B	1.79	s	1.81*	s		
Me-c	1.79	s	1.79*	s		
Me-D	1.22	s	1.22	s		

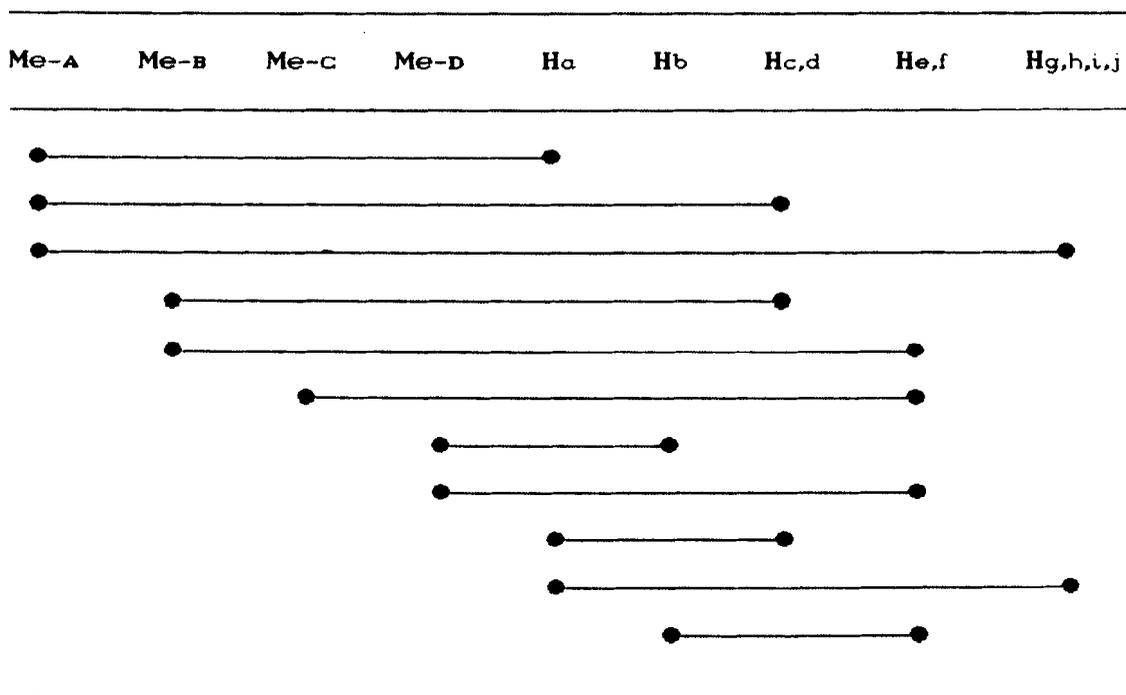
* sinais intertrocáveis

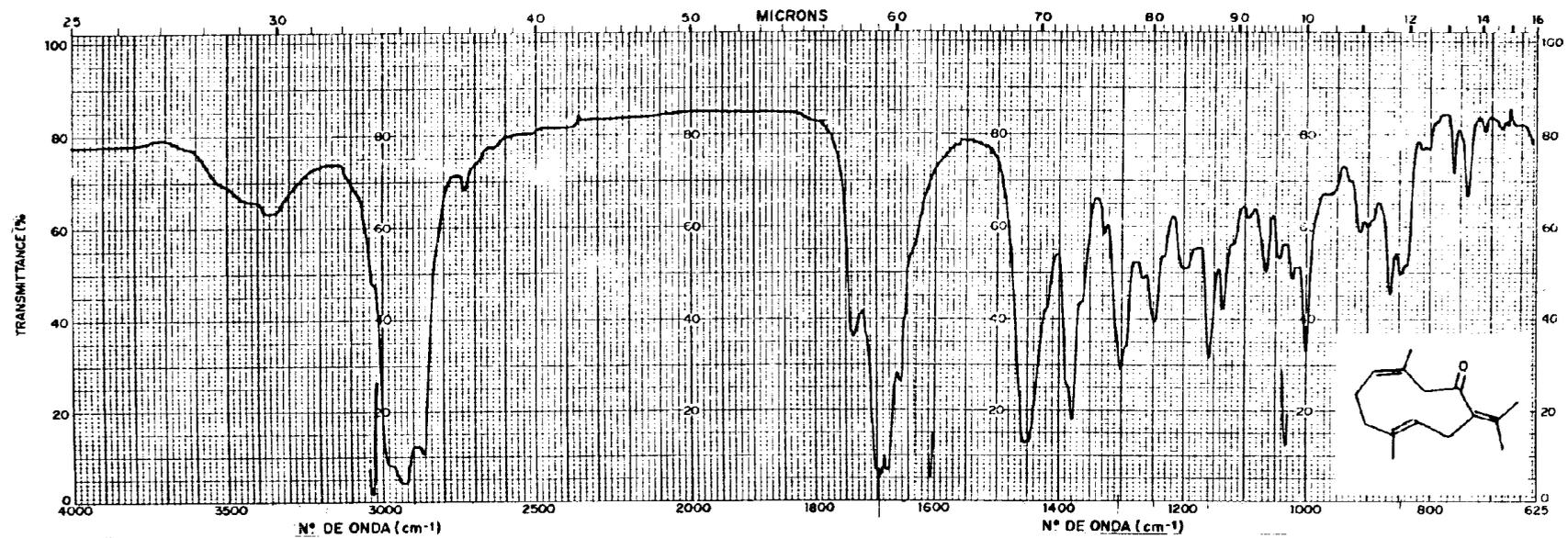
2.1.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO GERMACRA-1(10),4,7(11)-TRIEN-8-ONA (XXIII)

É um óleo ligeiramente amarelado, odorífero e desagradável. Seu espectro de IV apresenta uma banda a 1598 cm⁻¹, correspondente à carbonila e o UV mostra absorção fraca a 240 nm (ε 1300) (Esp. 29 e 30). O espectro de RMN ¹H apresentou sinais de três metilas singletos (δ 1.68 Me-c,

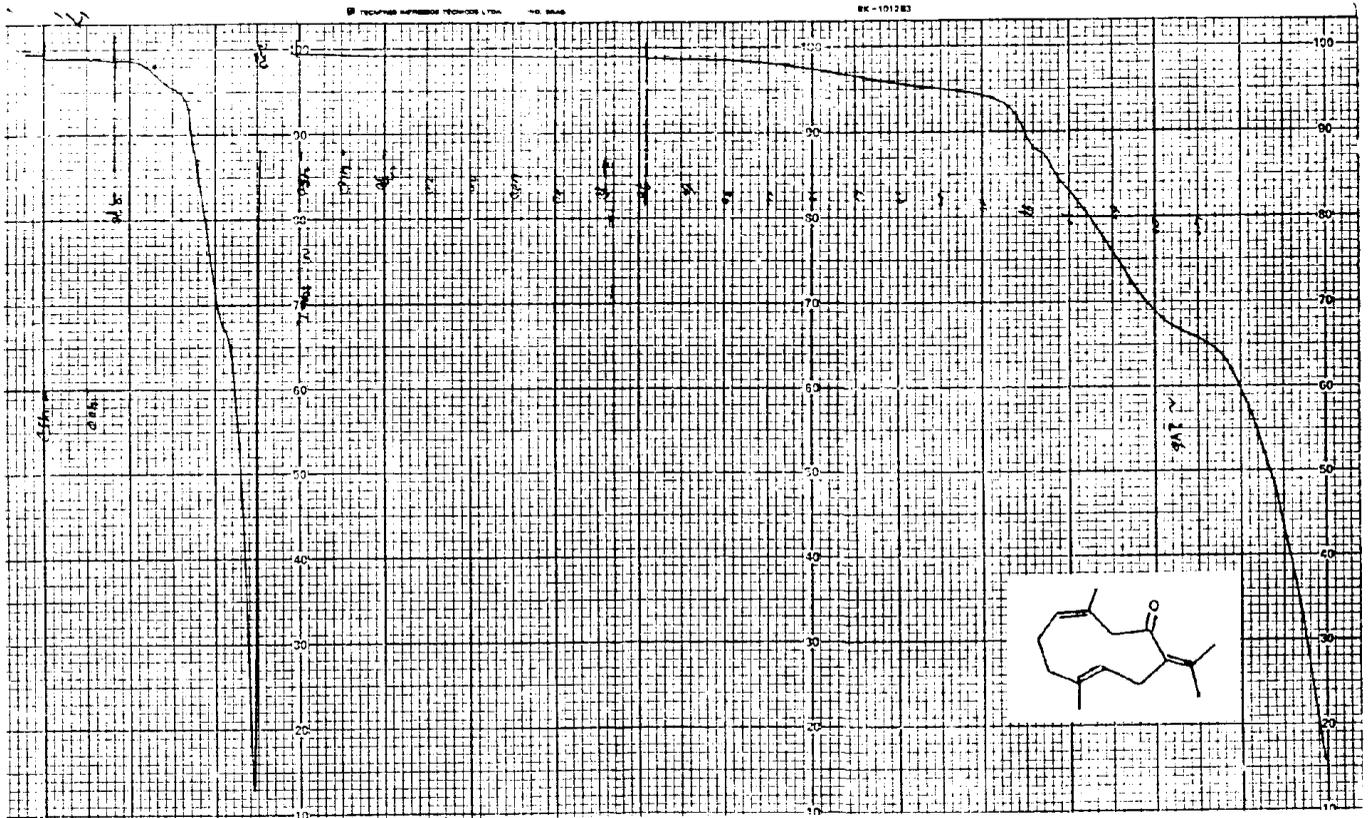
1.72 Me-B e 1.87 Me-A) e um dubleto (δ 1.57 Me-D), todas ligadas a carbono sp^2 ; um multipletto complexo de 4 H entre δ 1.92 a 2.05 (Hg-j); um dubleto a δ 2.91 (2H, Hf-e, $j=8.0$ Hz); um singletto a δ 3.05 (2H, Hc-d) e dois tripletos a δ 5.05 (Hb, $j=8.0$ Hz) e 5.28 (Ha, $j=7.5$ Hz) correspondentes a dois hidrogênios vinílicos (Esp. 31). Os acoplamentos entre os hidrogênios estão apresentados na figura 2.3 (Esp. 32).

Fig. 2.3. Correlação homonuclear a duas dimensões (RMN $^1H-^1H$) em $CDCl_3$ da substância XXIII

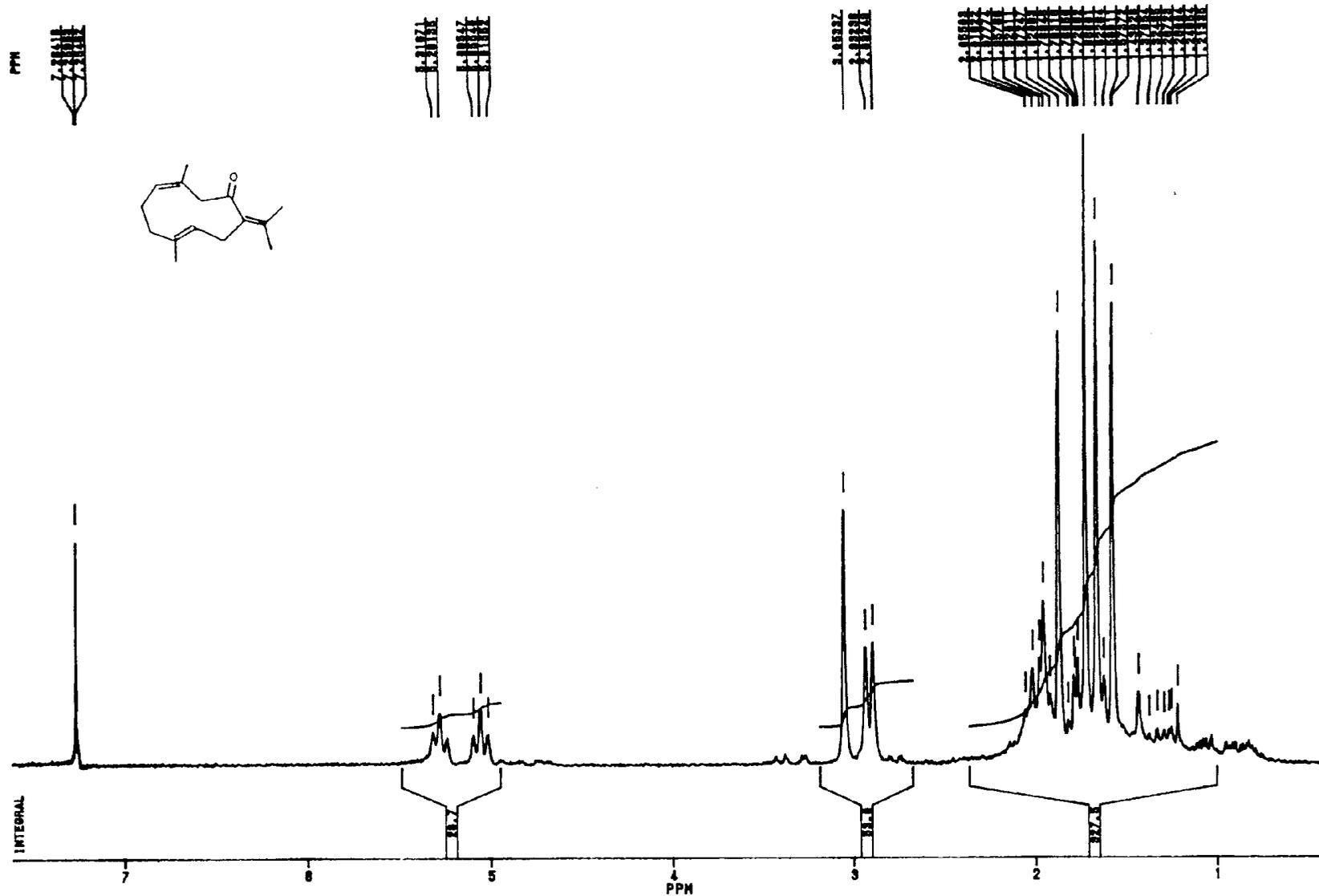




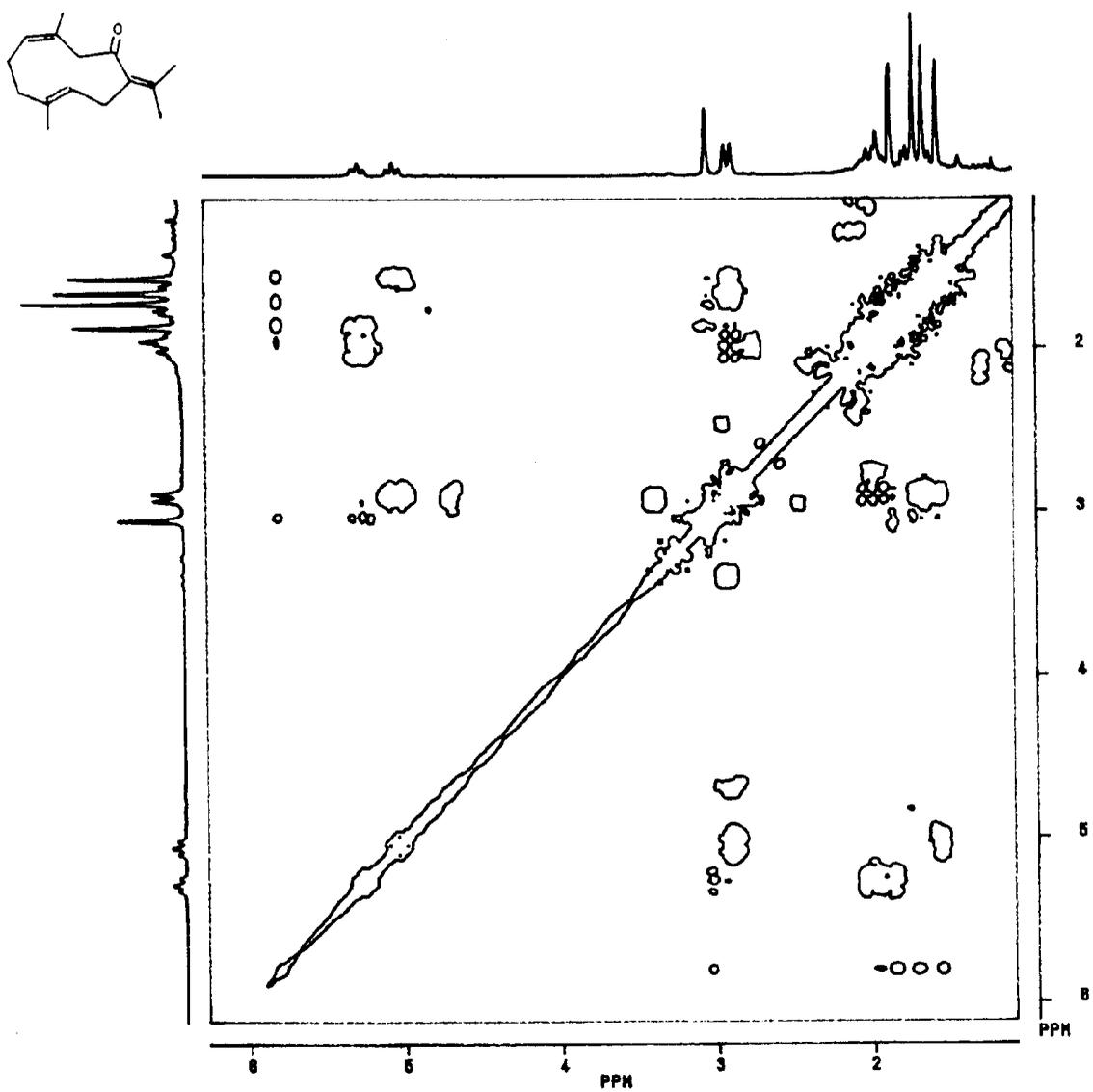
Esp. 29 Espectro de IV da substância XXIII



Esp. 30 Espectro de UV da substância XXIII



Esp. 31 Espectro de RMN ¹H em CDCl₃ (200 MHz) da substância XXIII

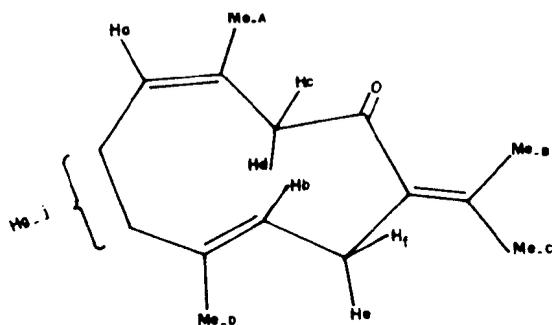


Esp. 32 Espectro a duas dimensões homonuclear (RMN ¹H) em CDCl₃ (200 MHz) da substância XXIII.

Embora estivesse contaminado com um produto minoritário, os espectros de RMN ^{13}C mostraram quinze carbonos: uma carbonila, quatro carbonos quaternários, dois metínicos, quatro metilênicos e quatro metilas, o que determina a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$, compatível com cinco graus de insaturação. Pela análise do espectro de RMN ^{13}C três destas insaturações estão associadas à ligações duplas (δ 136.28, 2s; 132.21, s; 126.59, s; 125.87, d; 121.45, d) e uma à carbonila, determinadas diretamente pelos espectros de RMN ^{13}C (Esp. 33 e 34). A quinta corresponde então a um ciclo. O espectro de RMN ^{13}C indicou a presença de duas ligações duplas trissubstituídas, a terceira é necessariamente tetrassubstituída por dois grupos metila e dois resíduos de anel. O espectro de RMN ^1H - ^1H 2D (CDCl_3) (Esp. 32) também mostrou acoplamento de Hb com He,f e este a longa distância com Me-B e Me-C. Enfim He,d possuem acoplamentos a longa distância com He-A, He-B e Ha (Fig. 2.3 e Esp. 32). A posição bem desprotegida deste metileno sugere que esteja adjacente a uma das ligações duplas trissubstituídas e ao grupo carbonila. O outro metileno desprotegido (He,f), está em posição bis-alílica vicinal a Hb com o qual ele acopla ($J = 8.0$ Hz) (Esp. 31 e Fig. 2.3).

Todas estas conclusões parciais e as semelhanças deste sesquiterpeno com XXII, sugerem que XXIII seja uma trienona de esqueleto germacrano, aonde a geometria cis (Z) da ligação dupla $\Delta^{1(10)}$ vem da analogia com XXII e da

semelhança com dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de XXII e XXIII (Tab. 2.5). A geometria trans (E) da ligação dupla $\Delta^{5(6)}$ vem da posição da Me-D em RMN ^{13}C (Esp. 33).

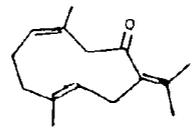


XXIII

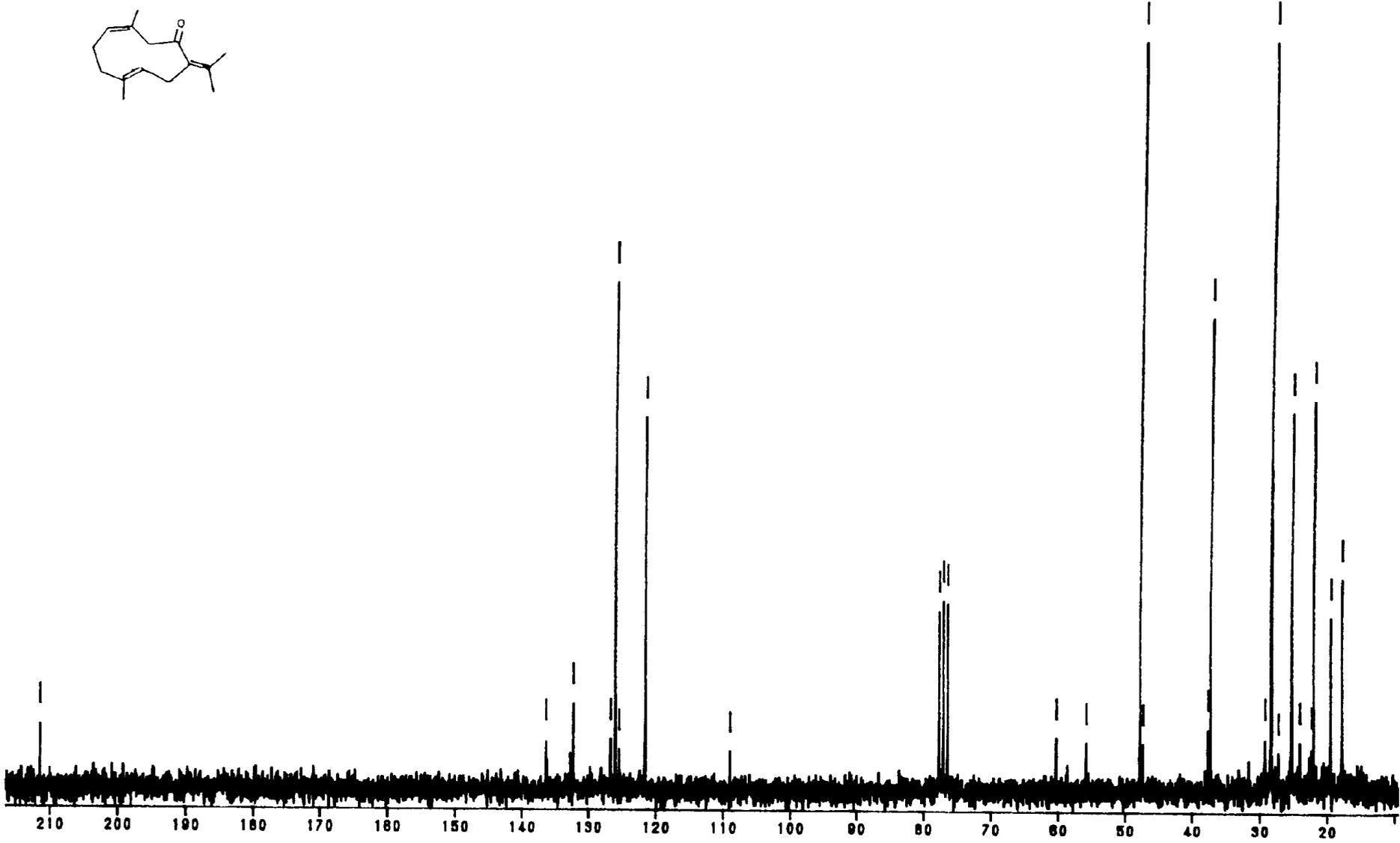
Tab. 2.5 Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H (CDCl_3) das substâncias XXII e XXIII

C#	RMN ^{13}C (δ ppm)		RMN ^1H (δ ppm)		
	XXII	XXIII	H#	XXII	XXIII
1	128.07 (d)	125.87 (d)	H _a	5.32 (t)	5.28 (t)
2	25.45 (t)	28.20 (t)	H _{f,g}	2.00 \cong (m)	2.00 \cong (m)
3	37.80 (t)	37.21 (t)	H _{h,j}	2.00 \cong , 1.14 (m)	2.00 \cong (m)
4	60.46 (s)	126.59 (s)			
5	60.31 (d)	121.45 (d)	H _e	2.77 (dd)	5.05 (t)
6	29.35 (t)	28.20 (t)	H _d	2.94 (dd), 2.00 \cong	2.91 (d)
7	130.36 (s)	132.28 (s)			
8	208.44 (s)	211.36 (s)			
9	47.37 (t)	47.71 (t)	H _{b,c}	3.26 e 3.32 (2d)	3.05 (d)
10	132.39 (s)	136.28 (s)			
11	134.36 (s)	136.28 (s)			
12	22.67 (q)	22.02 (q)	Me-c	1.79 (s)	1.68 (s)
13	20.26 (q)	19.45 (q)	Me-b	1.79 (s)	1.72 (s)
14	17.85 (q)	17.61 (q)	Me-d	1.22 (s)	1.57 (d)
15	25.53 (q)	25.27 (q)	Me-a	1.86 (s)	1.87 (s)

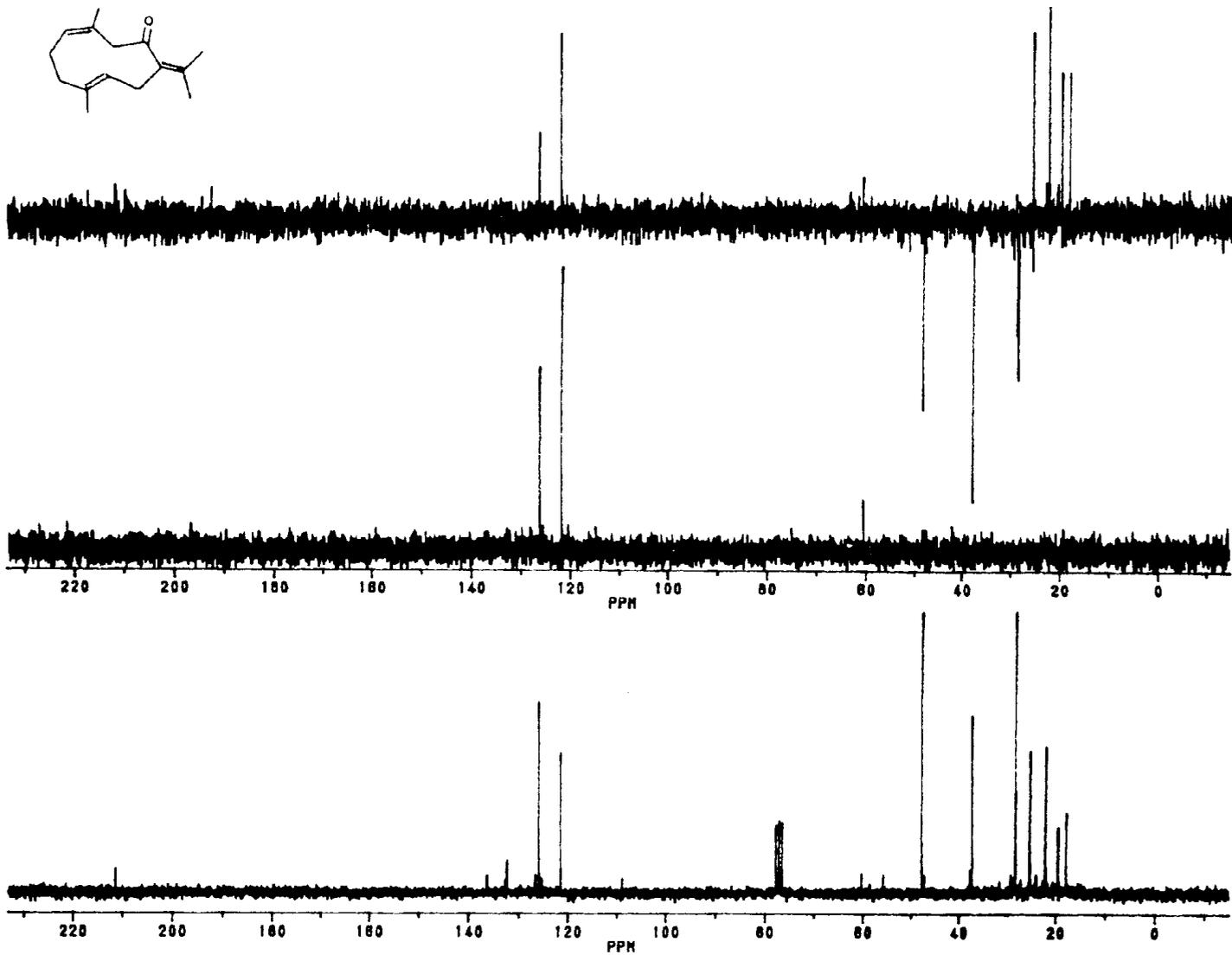
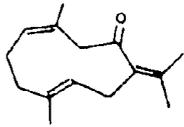
PPM
211.807



138.208
132.218
129.872
128.377
127.481
121.481
109.898
77.000
76.502
75.504
59.204
55.807
47.218
46.218
37.811
36.811
35.811
34.811
33.811
32.811
31.811
30.811
29.811
28.811
27.811
26.811
25.811
24.811
23.811
22.811
21.811
20.811
19.811
18.811
17.811
16.811
15.811
14.811
13.811
12.811
11.811
10.811
9.811
8.811
7.811
6.811
5.811
4.811
3.811
2.811
1.811
0.811

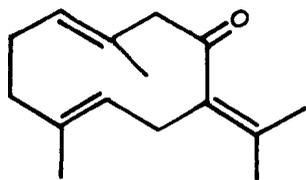


Esp. 33 Espectro de RMN ¹³C em CDCl₃ (50.3 MHz) da substância XXIII

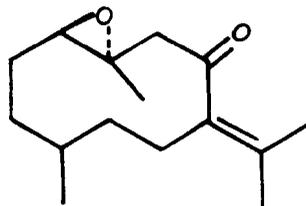


Esp. 34 Espectro de DEPT (90° e 135°) em CDCl_3 da substância XXIII

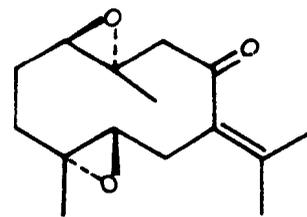
A substância XXIII isolada de *Phyllogorgia dilatata*, é um isômero de geometria da ligação dupla $\Delta^{1(10)}$ da germacrona, XXX (Tab. 2.6), comumente encontrada em óleos essenciais de vegetais terrestres como *Ledum groenlandicum*⁷⁰, *Curcuma aromatica*⁷¹, *Geranium macrorrhizum*⁷², *Smyrniun creticum*⁶⁹ e *S. olusatum*.⁷³ Foi observado que XXX, isolada de *Smyrniun creticum*, degradava em produtos mais oxidados (epoxigermacronas XXIX, XXXI e XXXII), durante o trabalho de purificação e isolamento de XXX. Este fenômeno foi também constatado na substância XXIII que apresenta nos espectros de RMN ¹H e ¹³C sinais de um contaminante em pequenas proporções (Esp. 31 e 33). Através de c.c.d. (CH₂Cl₂), foi observado que com o tempo aparecia uma outra mancha mais polar mostrando que XXIII degradava lentamente. A oxidação espontânea à temperatura ambiente de XXIII em XXII é também confirmada pela aparição em RMN ¹H e C¹³ (Esp. 35 e 36), dos sinais característicos de XXII, i.e., a metila e o hidrogênio ligados ao grupo epóxido. Isto sugere que XXII seja um artefato de isolamento, mas não existem argumentos seguros para dizer que XXII não ocorra naturalmente na gorgônia.



XXX



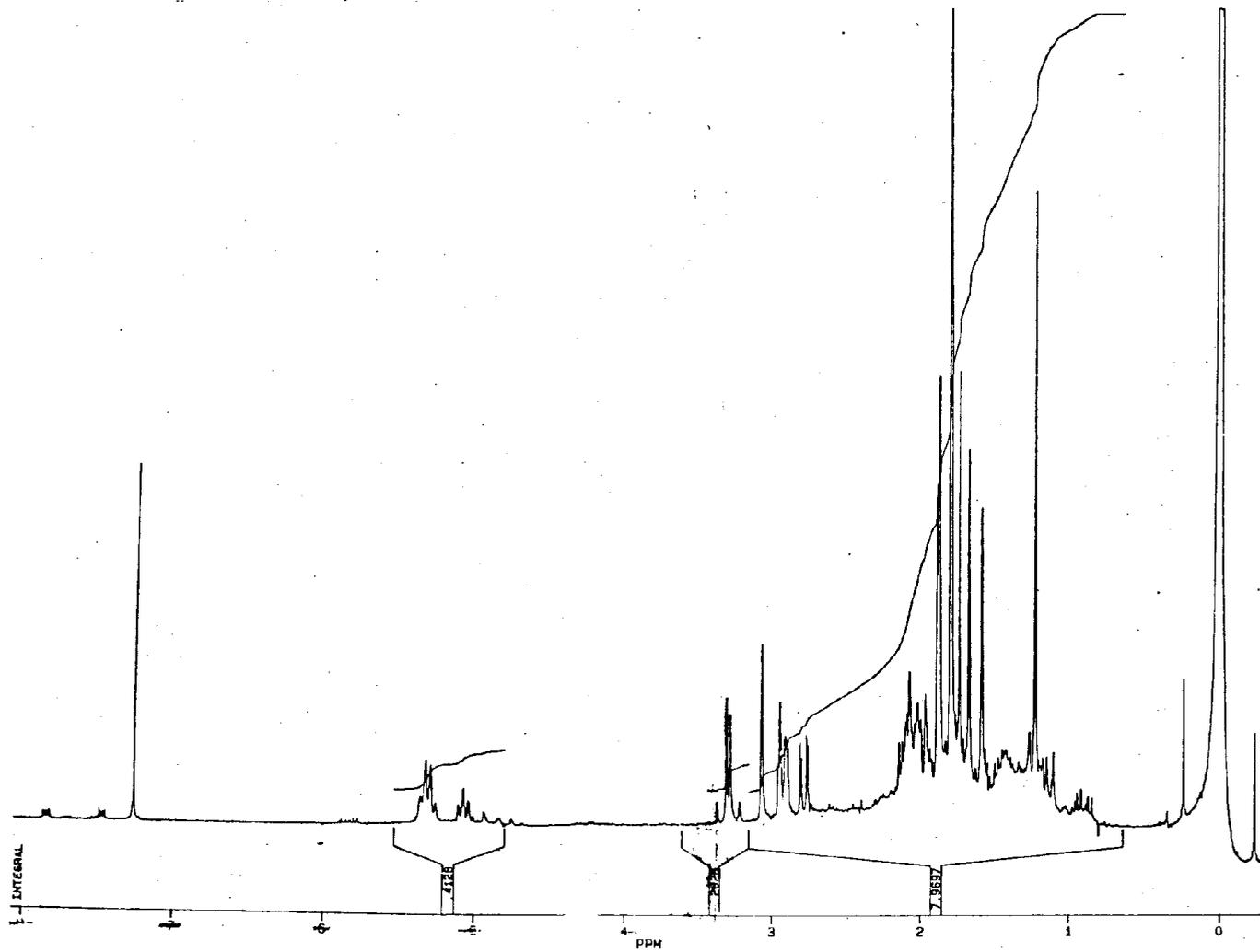
XXXI



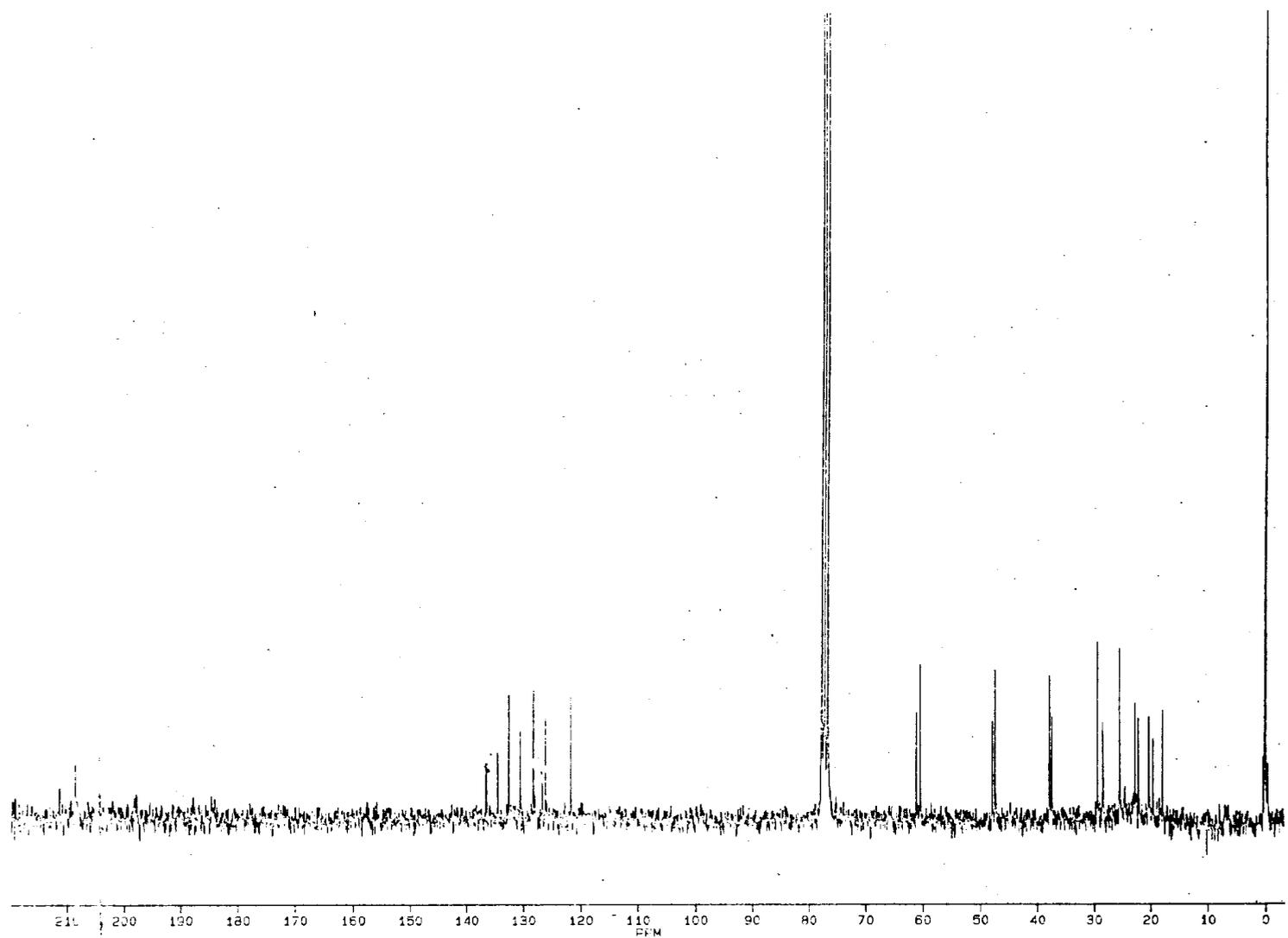
XXXII

Tab. 2.6 Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) das substâncias XXIII e XXX

R.M.N. ^1H			R.M.N. ^{13}C	
XXIII		XXX	XXIII	XXX
^1H	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm
H _a	5.28	4.99	211.4	207.9
H _b	5.05	4.71	136.3	137.5
H _{c,d}	3.05	3.41	136.3	135.1
H _{e,f}	2.91	2.95	132.2	129.5
H _{g-j}	2.00 \cong	—	126.6	126.9
Me-A	1.87	1.63	125.9	132.8
Me-B	1.72	1.78	121.5	125.6
Me-C	1.68	1.73	47.7	56.0
Me-D	1.57	1.44	37.2	38.2
			28.2	24.2
			28.3	29.3
			25.3	22.3
			22.0	19.9
			19.5	16.8
			17.6	15.6



Esp. 35 Espectro de RMN ^1H em CDCl_3 (250 MHz) da substância XXIII

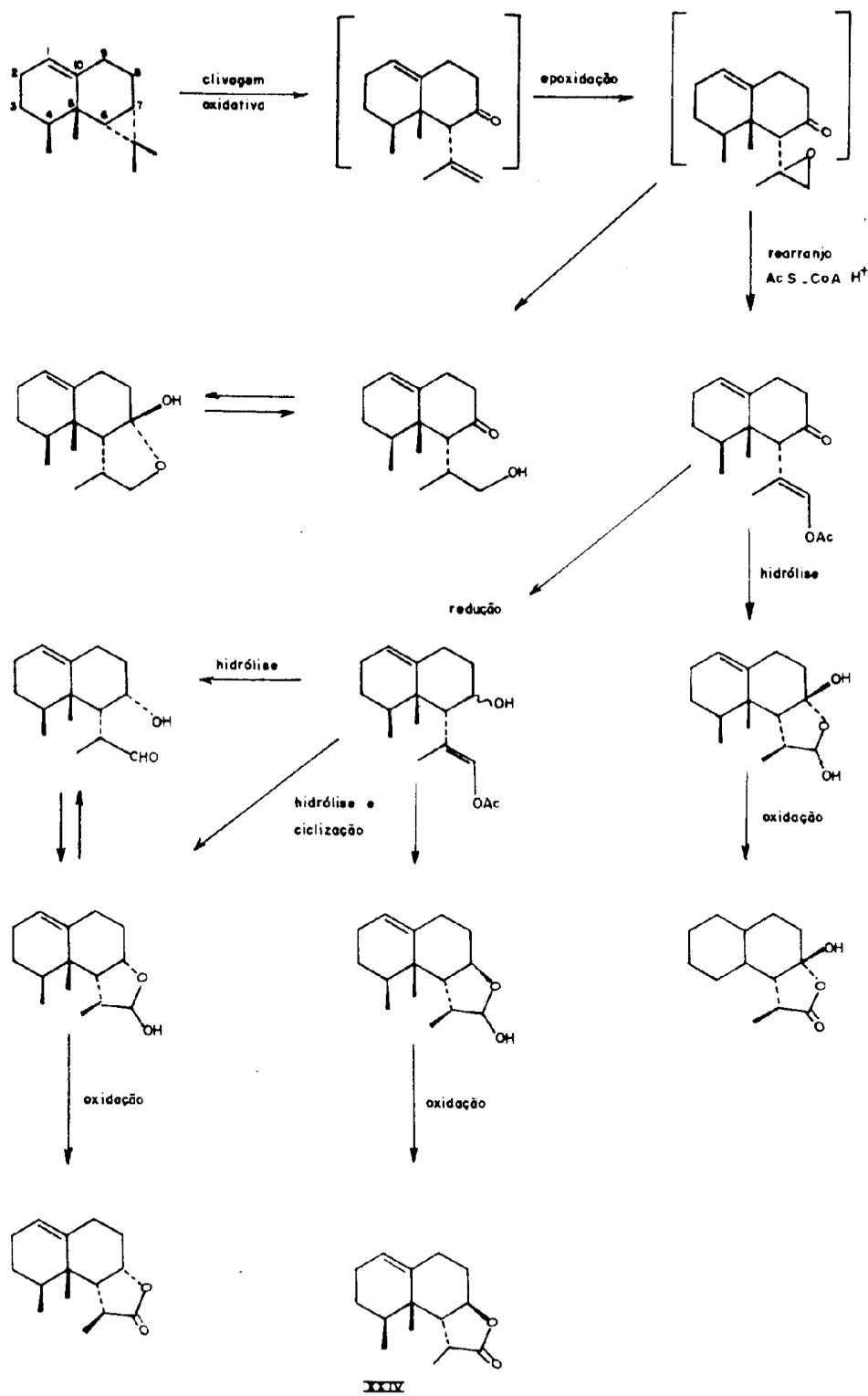


Esp. 36 Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 (62.8 MHz) da substância XXIII

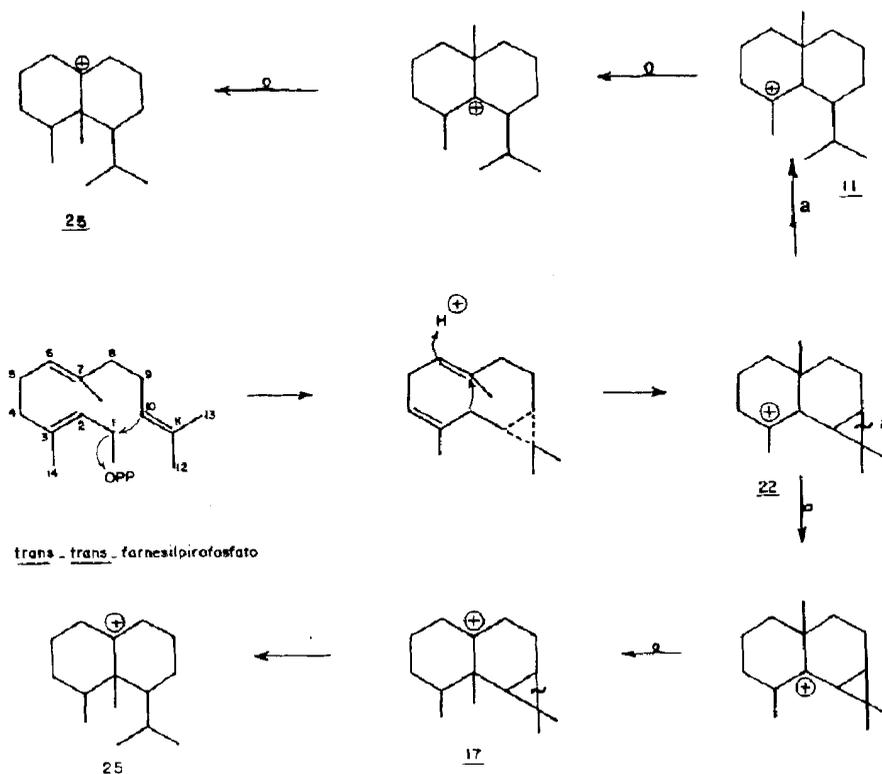
2.2 PROPOSTA BIOGENÉTICA PARA OS ESQUELETOS
SESQUITERPENÓIDICOS DE *Phyllogorgia dilatata*

Os nardosinanos pertencem a uma classe de esqueletos sesquiterpenoídicos bicíclicos, primeiramente isolados de vegetais superiores. A ocorrência deste esqueleto em celenterados marinhos se restringia apenas à espécie da ordem Alcionacea. Foi proposto por John Coll *et al.* que o esqueleto nardosinano tenha o aristolano como seu provável precursor biogenético. Esta hipótese se baseia nos metabólitos isolados do gênero *Paralemnalia*, que foram considerados como os possíveis intermediários na formação da *lemnalactona* (XXIV)⁶⁶ (Esq. 2.6). A ordem Gorgonacea apresenta, além do esqueleto aristolano, o gorgonano que poderia ser um outro provável precursor dos nardosinanos em gorgônias. A diferença entre as propostas estruturais para metabólitos de alcionários e gorgônias vem do tipo de cisão da ligação entre os carbonos 7 e 11, oxidativa para alcionários e redutiva em gorgônias, o que resulta na presença de uma função oxigenada nos nardosinanos de alcionários e na ausência de tal função nos nardosinanos de gorgônias. A formação de nardosinano a partir de aristolano ocorre através da quebra na ligação entre os carbonos de número 7 e 11 do anel ciclopropânico e a partir do gorgonano através de migração da metila 15 do carbono 10 para o carbono 5 (Esq. 2.7).

Esq. 2.6 Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano de alcionários⁶⁶

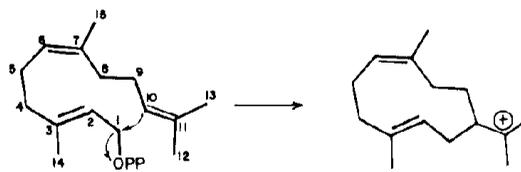


Esq. 2.7 Proposta biossintética para o esqueleto nardosinano de gorgônias



A proposta biogenética para germacranos citada no capítulo I, se refere ao esqueleto com geometria trans na ligação dupla $\Delta^{1(10)}$. A substância isolada de *Phyllogorgia dilatata*, provavelmente não derive do trans-trans, mas do trans-cis-farnesilpirofosfato (Esq. 2.8). Este tipo de modificação estrutural em germacranos é inédito para gorgônias.

Esq. 2.8 Proposta biossintética para o esqueleto germacrano de *Phyllogorgia dilatata*



trans,cis-farnesilpirofosfato

CAPÍTULO III
QUIMIOTAXONOMIA DE GORGÔNIAS

III. QUIMIOTAXONOMIA DE GORGÔNIAS

3.1 INTRODUÇÃO

Os caracteres morfológicos sempre foram os principais critérios de classificação vegetal e animal. Embora esta metodologia seja clássica, existem táxons que ainda não se encontram bem definidos, e para solucionar estes casos duvidosos, tem se utilizado informações citológicas, ecológicas, genéticas e mais recentemente, químicas.

Os marcadores químicos relacionados são, em geral, metabólitos secundários que ao mesmo nível dos caracteres morfológicos expressam as manifestações genotípicas do organismo, ou seja, o material genético tanto determina os caracteres morfológicos quanto os químicos, demonstrando que ambos podem possuir valor taxonômico próprio.

A quimiosistemática de vegetais superiores e inferiores é uma ciência nova que tem contribuído em muitos casos para o esclarecimento de limites taxonômicos como separação entre espécies,⁷⁴ caracterização de ordens e famílias através de marcadores como terpenos, alcalóides, flavonóides e outros⁷⁵.

Muitas das classes de metabólitos secundários encontrados nos vegetais superiores estão também presentes em invertebrados marinhos. Em gorgônias os terpenos são os metabólitos predominantes e estão relativamente bem representados em 62 espécies, distribuídos em 25 gêneros de 9 famílias⁷⁶ (Fig. 3.1), o que *a priori* torna possível seu estudo quimiotaxonômico.

A ordem Gorgonacea apresenta algumas dificuldades na classificação de determinadas famílias, que serão analisadas através de índices químicos e matemáticos. É preciso enfatizar que a quimiotaxonomia não pretende substituir a taxonomia tradicional, mas apenas complementá-la.

Fig. 3.1 Classificação taxonômica dos gêneros da ordem Gorgonacea que produzem terpenos

SUBCLASSE:
OCTOCORALLIA

ORDEM:
GORGONACEA

SUBORDEM:
SCLERAXONIA

FAMÍLIA:
ANTHOTHELIDAE
BRIAREIDAE
CORALLIDAE
PARAGORGIIDAE
SUBERGORGIIIDAE

GÊNERO:
Erythropodium
Briareum
Corallium
Paragorgia
Subergorgia

ACANTHOGORGIIDAE

Acalycigorgia
Muricella

SUBFAMÍLIA:
GORGONIINAE

Eunicella
Gorgonia
Phyllogorgia
Pseudopterogorgia

GORGONIIDAE

LOPHOGORGIINAE

Leptogorgia
Lophogorgia
Pacifigorgia

HOLAXONIA

PLEXAURINAE

Eunicea
Euplexaura
Plexaura
Plexaurella
Pseudoplexaura

PLEXAURIDAE

PARAMURICEINAE

Paramuricea
Placogorgia
Plexauroides
Pseudothesia

PRIMNOEIDAE

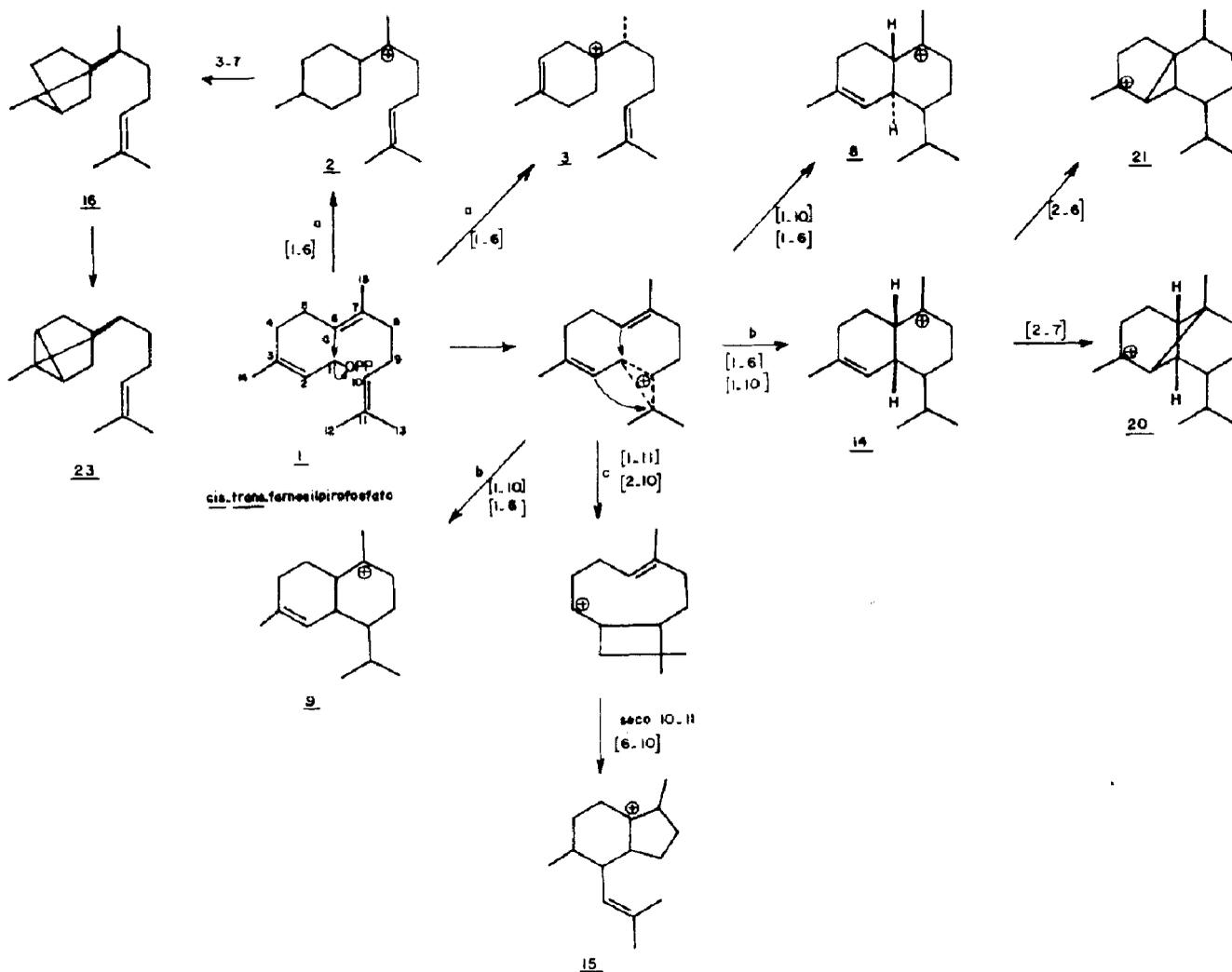
Primnoeides

3.2 METODOLOGIA

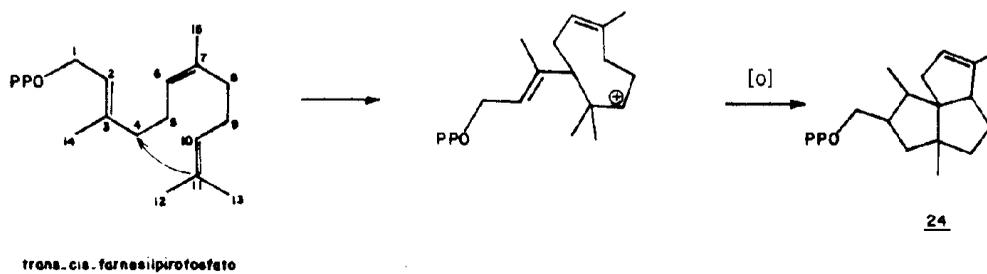
Para elaboração deste trabalho foi feito um levantamento bibliográfico no "Chemical Abstracts" entre os anos de 1960 e 1990, no "Biological Abstracts" de 1980 a 1989 e "Zoological Records" de 1970 a 1989. Dados anteriores a 1960 estão compilados no livro do P.J. Scheuer (1973)⁷⁷. As referências obtidas são relativas a macro e micromoléculas isoladas de octocorais e foram catalogadas em bancos de dados. Os dados químicos referentes a terpenos foram utilizados como fonte para o estudo quimissistemático. Foram propostos 5 mapas biogenéticos que relacionam os tipos de esqueletos terpenoídicos encontrados na ordem Gorgonacea, para auxiliar, as análises (Esq. 3.1.A, B e C e Esq. 3.2.A e B).

A abordagem quimiosistemática utilizou quatro tipos de técnicas diferentes: índice de similaridade de Sørensen, taxonomia numérica, cladística numérica e índices taxonômicos.

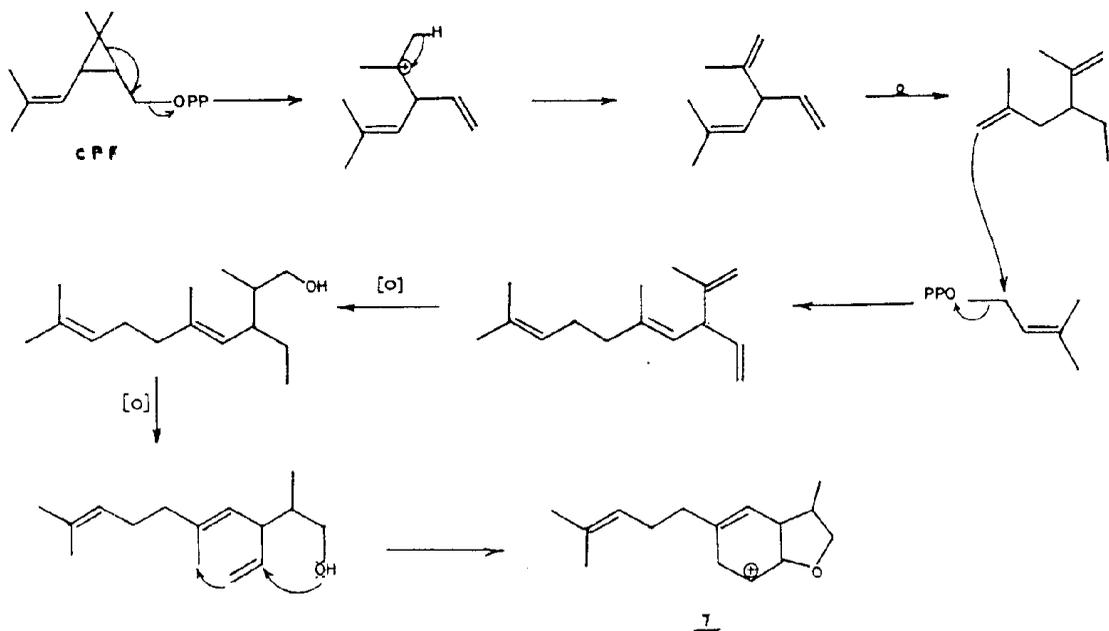
Esq. 3.1.B Proposta biossintética para esqueletos sesquiterpenoidicos da ordem Gorgonacea



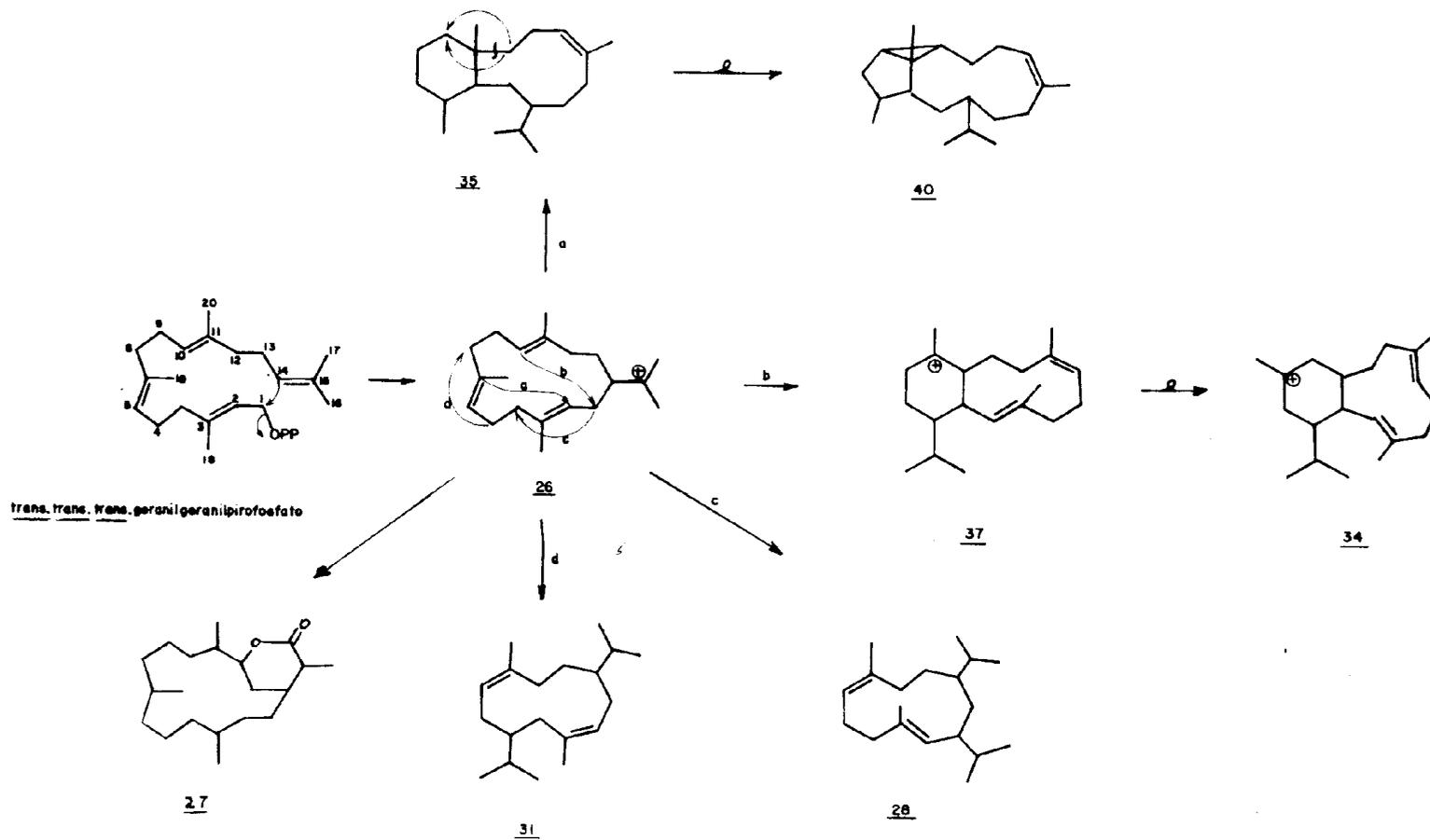
Esq. 3.1.C Proposta biossintética para esqueletos
sesquiterpenoidicos da ordem Gorgonacea



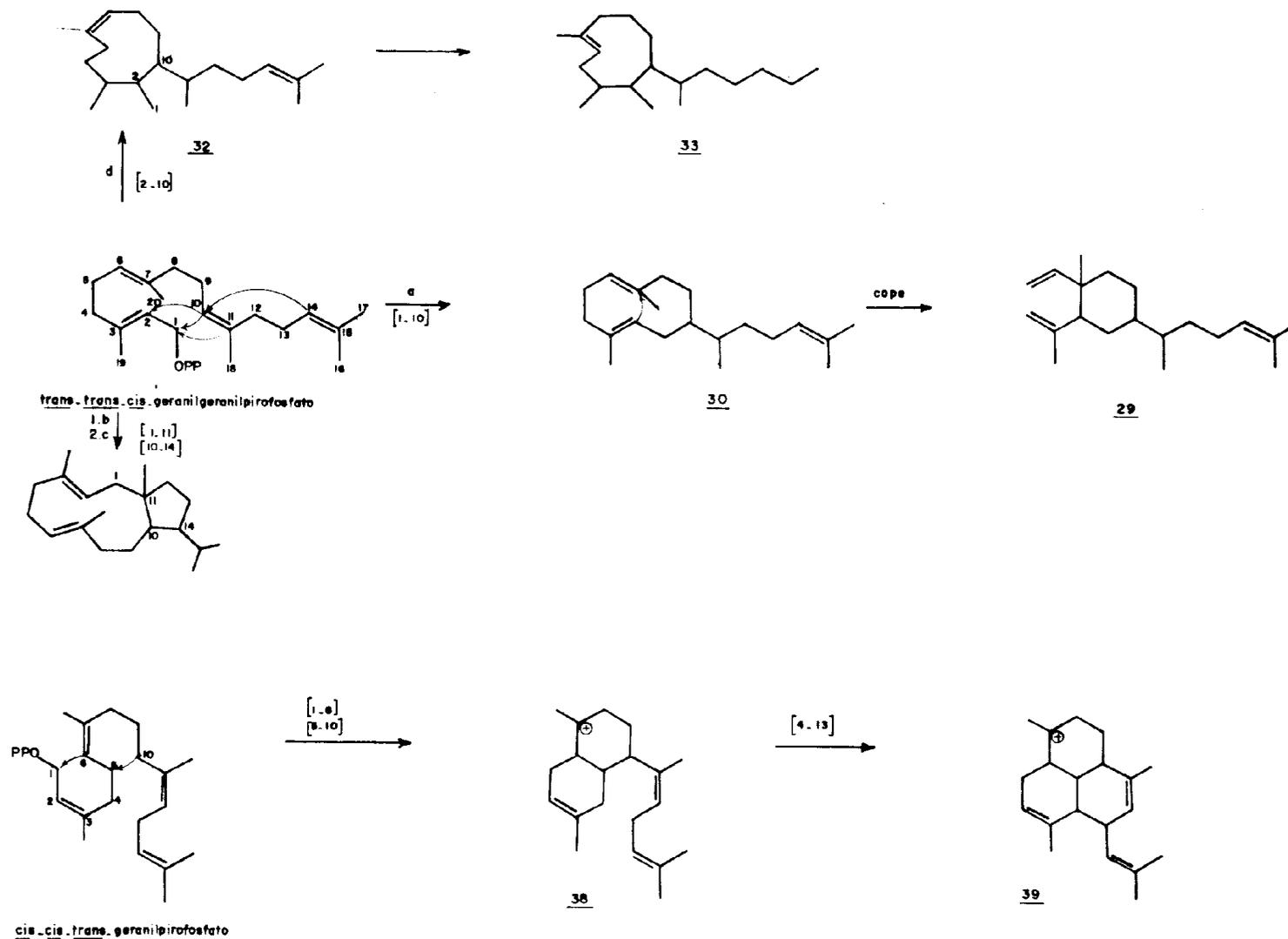
Proposta biossintética para o esqueleto
sesquiterpenoidico irregular da ordem
Gorgonacea



Esq. 3.2.A Proposta biossintética para esqueletos diterpenóidicos da ordem Gorgonacea



Esq. 3.2.B Proposta biossintética para esqueletos diterpenóidicos da ordem Gorgonacea



3.2.1 ÍNDICE DE SIMILARIDADE DE SØRENSEN

Para o cálculo do índice de similaridade de Sørensen (S) os gêneros de gorgônias foram comparados a de acordo com a representatividade dos esqueletos comuns entre gêneros, com intuito de se observar suas afinidades:

$$S = \frac{2 \times C}{A + B}$$

onde A = número de esqueletos isolados do gênero A

B = número de esqueletos isolados do gênero B

C = esqueletos comuns entre os gêneros de A e B.

Este índice foi escolhido por dar peso duplo a caracteres (esqueleto) presentes em relação aos ausentes⁷⁸.

3.2.2 TAXONOMIA NUMÉRICA

A técnica utilizada pela taxonomia numérica permite que se calcule a similaridade entre as unidades taxonômicas com base nos estados de seus caracteres, que podem ser duplo-estado (binários) ou multi-estado. As unidades taxonômicas operacionais (UTOs) são representadas pelos gêneros de gorgônias, e o estado binário de seus caracteres pela presença ou ausência dos esqueletos de sesqui e diterpenos.

As relações taxonômicas são fenéticas, isto é, baseadas nas semelhanças apresentadas por caracteres observados e registrados dos organismos a classificar, sem considerar o processo filogenético⁷⁹. A princípio todos os caracteres deveriam ter o mesmo peso e importância na formação dos grupos taxonômicos, embora neste trabalho foram introduzidos algumas informações biogenéticas (precursores biogenéticos hipotéticos), para se evitar excessos de dissimilaridades quando se utiliza dados químicos, resultante do grande número de ausências na matriz de dados.

A similaridade total entre os organismos é igual a soma da similaridade em cada um dos caracteres utilizados na sua classificação. A análise fenética utilizou os índices de Jacquard para os cálculos de similaridade e o UPGMA (método não ponderado de agrupamento aos pares, usando médias aritméticas), como técnica de agrupamento. A estrutura taxonômica obtida da matriz de similaridade com as técnicas de agrupamento, foi representada graficamente por um fenograma¹ (Fig. 3.8), onde os valores de similaridade são expressos em uma escala que se encontra nos extremos superior

¹Fenograma é um diagrama em forma de árvore que mostra a relação em grau de similaridade entre UTOs chamado fênons arranjados hierarquicamente.

e inferior da figura. As UTOs se posicionam no extremo direito e dão origem, cada uma a um eixo horizontal. Os eixos horizontais ligam-se mediante eixos verticais que expressam em relação à escala o valor de similaridade existente entre as UTOs ou conjunto de UTOs.

3.2.3 CLADÍSTICA NUMÉRICA

Ao contrário da análise de agrupamentos, o método de cladística numérica procura reconstituir a história evolutiva de um grupo ou táxon, i.e., as relações taxonômicas que se estabelecem por tais métodos, são relações filogenéticas baseadas em ancestralidade comum. Os passos iniciais para a construção de uma árvore filogenética ou cladograma (Fig. 3.9), são parecidos com as técnicas de taxonomia numérica. A diferença básica é que no cladismo considera-se que as UTOs sejam necessariamente monofiléticas, e que seus caracteres possam ser analisados de acordo com os conceitos de plesiomorfia (características primitivas) e apomorfias (características derivadas). Os caracteres plesiomórficos são aqueles que se encontram presentes no ancestral, e os apomórficos são aqueles que se modificam a partir do ancestral. Para distinção de plesiomórfico e apomórfico, são usados grupos-de-fora (out-group) que têm a finalidade de determinar a sequência evolutiva dos caracteres homólogos que se apresentem independentes. Os caracteres compartilhados entre o grupo-de-fora e o grupo a ser estudado

"in-group" são considerados primitivos, e os presentes apenas no grupo-de-dentro são os derivados. Usa árvore filogenética é uma hipótese de relações genealógicas entre os táxons⁸⁰. A técnica de filogenia numérica utilizada é o algoritmo de Wagner, com numeração implícita (programa Hennig 86).

3.2.4 ÍNDICES TAXONÔMICOS

Enfim, a metodologia dos índices taxonômicos, caracteriza o metabólito por dois índices, um relativo à complexidade do esqueleto (I.E.) e outro relativo ao grau de oxidação do metabólito em questão (I.O.). O I.E. se baseia no número teórico de passos reacionais necessários para sua formação a partir do farnesil-farnesilpirofosfato e do geranyl-geranylpirofosfato. O índice de avanço evolutivo do esqueleto (I.E.) é calculado a partir da média aritmética dos valores de I.E., que ocorrem num determinado táxon⁷⁵. O valor do índice de especialização do esqueleto (I.E.) foi calculado do seguinte modo:

$$\text{I.E.} = \frac{\text{número de ligações rompidas ou formadas}}{\text{número de carbonos do esqueleto}}$$

Todas estas contagens de pontos para o cálculo de I.E. foram feitas comparando-se o esqueleto em questão com o precursor, segundo as propostas biossintéticas apresentadas no Esq. 3.2 e 3.3. Assim sendo, não são contadas

transformações que ocorram para átomos de carbonos adicionais ao esqueleto.

O índice de oxidação (I.O.) de cada substância encontrada em cada táxon foi calculado segundo a relação:

$$\text{I.O.} = \frac{\text{número de ligações com valores atribuídos}}{\text{número de carbonos da substância}}$$

onde os valores atribuídos para as ligações são :

C-H	= -1
C-C	= 0
C-O	= +1

Através do banco de dados foram criadas tabelas que relacionam os produtos e esqueletos isolados por espécie de gorgônia. As tabelas contendo os esqueletos (Tab. 3.1 e 3.2) foram organizadas de acordo com o número de esqueletos encontrados em cada espécie, dentro de suas famílias. Estas tabelas foram utilizadas como fonte para todas as análises.

Tab. 3.1 Matriz de presença/ausência dos esqueletos sesquiterpenóidicos encontrados nas espécies da ordem Gorgonacea

ESPÉCIES / ESQUELETOS	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
<i>Acalyngorgia sp.</i>												03														
<i>Gorgonia ventalina</i>							01																			
<i>Pacifigorgia adamsii</i>															01											
<i>Pacifigorgia eximia</i>												01														
<i>Pacifigorgia media</i>						02																				
<i>Pacifigorgia pulchra exilis</i>						01																				
<i>Pseudopterogorgia americana</i>				01		05					01						02					01				
<i>Pseudopterogorgia rigida</i>		01	05																							
<i>Pseudopterogorgia sp.</i>			01	01		03																				
<i>Phyllogorgia dilatata</i>						02																			02	
<i>Eunicea fusca</i>					01																					
<i>Eunicea mammosa</i>				01		01			01					01												
<i>Eunicea palmeri</i>														01						01						
<i>Euplexaura erecta</i>												01														
<i>Euplexaura sp.</i>	01																									
<i>Muricea austera</i>				01		02																				
<i>Muricea elongata</i>		01	02																							
<i>Muricea fungifera</i>				01		02																				
<i>Paramuricea chamaleon</i>												02														
<i>Placogorgia sp.</i>												01														
<i>Plexaura crassa</i>							01																			
<i>Plexaurella dichotoma</i>		02	02											01												
<i>Plexaurella fusifera</i>		02	02											01												
<i>Plexaurella grisea</i>	01	02	02											01		01									06	
<i>Plexaurella nutans</i>		01	02																							
<i>Pseudoplexaura flagellosa</i>							01												01	01	02	01				
<i>Pseudoplexaura parosa</i>							01	01						01					01	01	02	01				
<i>Pseudoplexaura rigida</i>		01																								
<i>Pseudoplexaura wagensari</i>							01							01					01	01	02	01				
<i>Pseudothesia sp.</i>												07														
<i>Subergorgia hicksoni</i>								02																		
<i>Subergorgia suberosa</i>																										01
<i>Prunoeides sp.</i>													05													

Tab. 3.2 Matriz de presença/ausência dos esqueletos diterpenoidicos encontrados nas espécies da ordem Gorgonacea

ESPECIES / ESQUELETOS	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
<i>Acalycigorgia inermis</i>	—	—	—	—	—	—	—	02	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Acalycigorgia sp.</i>	—	—	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Muricella sp.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—
<i>Erythropodium caribaeorum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—	01	—
<i>Briareum asbestinum</i>	—	—	—	—	—	—	—	07	03	—	—	—	—	—	—	—
<i>Briareum polyanthes</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	04	—	—	—	—	—	—	—
<i>Briareum steckeri</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	04	—	—	—	—	—	—	—
<i>Corallium sp.</i>	—	—	—	—	—	—	05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicella stricta</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—
<i>Leptogorgia setacea</i>	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lophogorgia alba</i>	05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lophogorgia chilensis</i>	02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lophogorgia cuspidata</i>	02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lophogorgia rigida</i>	03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudopterogorgia acerosa</i>	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudopterogorgia bipinnata</i>	06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudopterogorgia elisabethae</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	04	—	—
<i>Pseudopterogorgia kallos</i>	—	—	—	—	—	04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudopterogorgia cf. kallos</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	04	—	—	—
<i>Pseudopterogorgia sp.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	01	03	—	—
<i>Eunicea asperula</i>	01	—	—	01	06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicea calyculata</i>	—	—	03	—	—	—	—	—	—	—	03	—	—	—	—	—
<i>Eunicea fusca</i>	—	—	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicea mammosa</i>	—	08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicea palmeri</i>	—	02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicea succinea</i>	—	02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>E. succinea var. plantaginea</i>	—	02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Eunicea tourneforti</i>	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Plexaura flava</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	02
<i>Plexaura sp.</i>	04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Plexauroides praelonga</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	01	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudoplexaura crassa</i>	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudoplexaura crucis</i>	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudoplexaura flagellosa</i>	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudoplexaura porosa</i>	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudoplexaura wagnaari</i>	—	01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Paragorgia arborea</i>	—	—	—	—	—	—	03	—	—	—	—	—	—	—	—	—

3.2.1.1 SIMILARIDADE ENTRE OS GÊNEROS E FAMÍLIAS DE GORGÔNIAS

A similaridade entre os gêneros e famílias foi calculada utilizando-se os índices de Sørensen. Foram obtidas quatro matrizes de similaridade: duas para sesquiterpenos (Tab. 3.3 e 3.5) e duas para diterpenos (Tab. 3.4 e 3.5). As matrizes de similaridade foram representadas em gráficos de torta. O raio representa a similaridade, valendo zero no centro e 1 (um) na borda da circunferência, e são considerados significativos apenas os valores de índice superior a 0.50, formando polígonos de similaridade (área coberta). Cada raio corresponde a um gênero de gorgônia representado por letras como mostram as tabelas 3.3 a 3.6 e cada torta representa similaridade de um gênero com os demais.

Tab. 3.5 Matriz de similaridade de Sørensen das famílias da ordem Gorgonacea que produzem sesquiterpenos

ACANTHOGORGIIDAE	A'	1									
ANTHOTHELIDAE	B'	-	1								
BRIAREIDAE	C'	-	-	1							
CORALLIIDAE	D'	-	-	-	1						
GORGONIIDAE	E'	0,16	-	-	-	1					
PARAGORGIIDAE	F'	-	-	-	-	-	1				
PARAMURICEIDAE	G'	1	-	-	-	0,16	-	1			
PLEXAURIDAE	H'	0,41	-	-	-	0,36	-	0,41	1		
PRIMNOEIDAE	I'	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
SUBERGORGIIDAE	J'	-	-	-	-	-	-	-	0,41	-	1
	A'	B'	C'	D'	E'	F'	G'	H'	I'	J'	

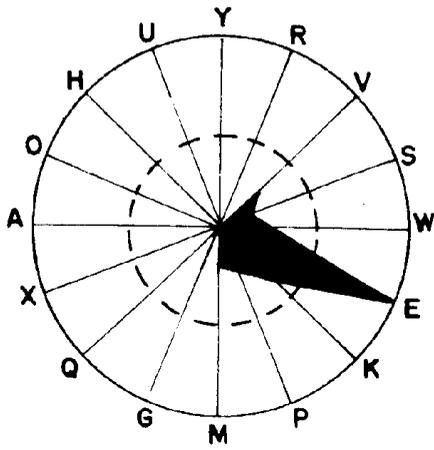
Tab. 3.6 Matriz de similaridade de Sørensen das famílias da ordem Gorgonacea que produzem diterpenos

ACANTHOGORGIIDAE	A'	1									
ANTHOTHELIDAE	B'	-	1								
BRIAREIDAE	C'	-	0,50	1							
CORALLIIDAE	D'	-	-	-	1						
GORGONIIDAE	E'	0,29	-	-	-	1					
PARAGORGIIDAE	F'	-	-	-	1	-	1				
PARAMURICEIDAE	G'	-	0,66	0,66	-	-	-	1			
PLEXAURIDAE	H'	-	0,20	0,22	-	0,15	-	0,22	1		
PRIMNOEIDAE	I'	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
SUBERGORGIIDAE	J'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	A'	B'	C'	D'	E'	F'	G'	H'	I'	J'	

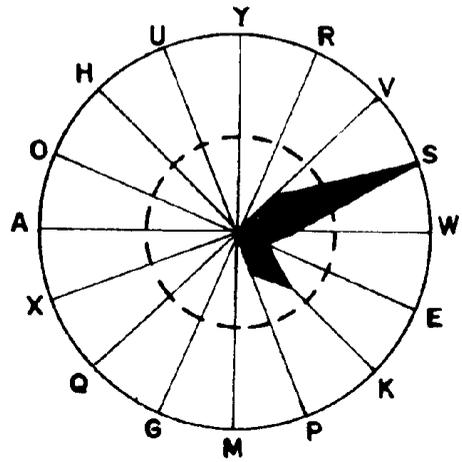
Considerando-se os índices de sesquiterpenos, o gênero *Muricea* (K) apresentou semelhança superior a 0.50 apenas com o gênero *Pseudopterogorgia* (W), devido à presença dos esqueletos bisabolano (2), curcumano (3), germacrano (6) e elemano (6). Por sua vez *Pseudopterogorgia* também apresentou similaridade significativa apenas com *Muricea* (Fig. 3.2 a e b).

Eunicea (E), *Plexaurella* (S), *Phyllogorgia* (P) e *Pseudoplexaura* (V), apresentaram similaridades com os gêneros afins sempre inferiores a 0.40 para os três primeiros gêneros, e inferior a 0.28 no caso de *Pseudoplexaura*. Os esqueletos que caracterizaram a dissemelhança destes gêneros foram: eudesmano (10) e nor-elemano (5) em *Eunicea*, santalano (23) e seco-santalano (16) em *Plexaurella*, nardosinano (25) em *Phyllogorgia* e aromadendrano (18), bourbonano (19) e cubebano (21) para *Pseudoplexaura* (Fig. 3.2 c, d, e e f).

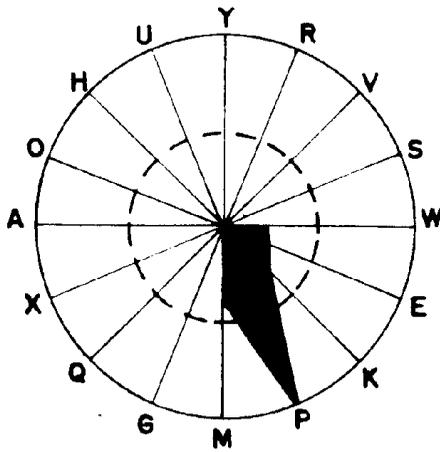
Os gêneros *Acalycigorgia* (A), *Paramuricea* (O), *Placogorgia* (Q), e *Pseudothesia* (X), mostraram total similaridade entre si, já que todos possuem apenas guaianos (12) a nível de sesquiterpenos. Estes quatro gêneros apresentaram afinidade ainda com *Pacifigorgia* (M) 0.50 e *Euplexaura* (G) com 0.66 (Fig. 3.2 g). Além da similaridade com os quatro gêneros citados acima, *Pacifigorgia* não apresentou semelhança com nenhum dos outros gêneros afins. A ocorrência de pacifigorgiano (15) a



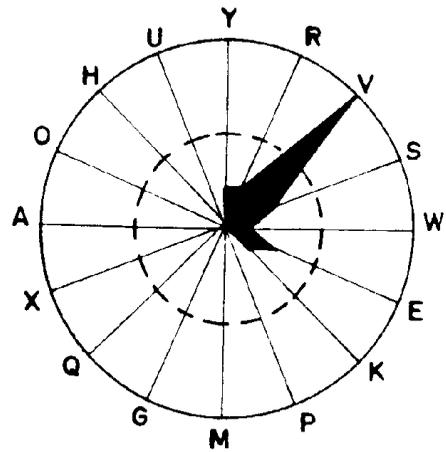
c



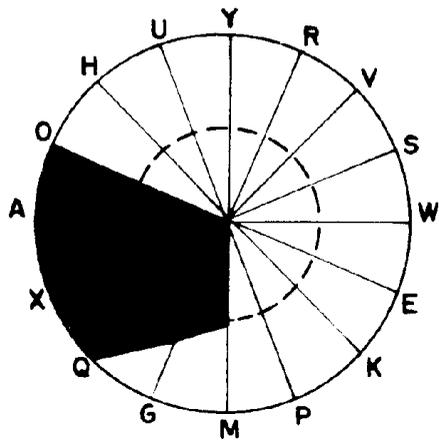
d



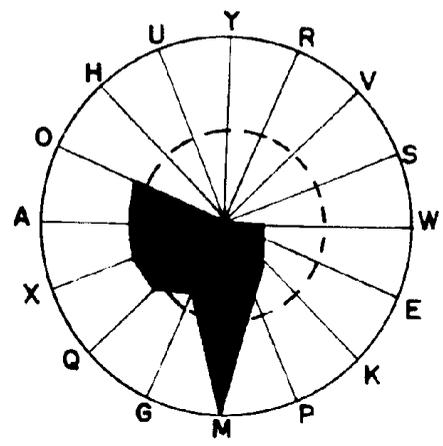
e



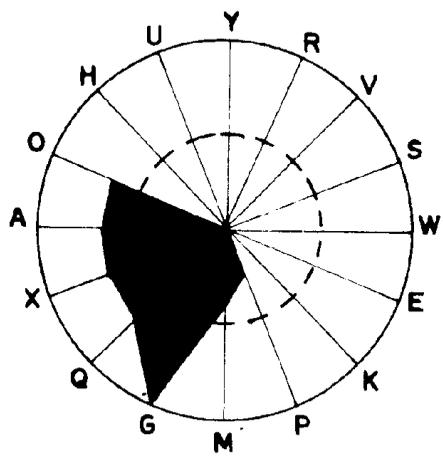
f



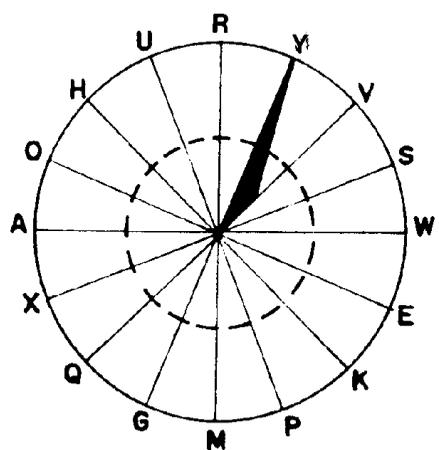
g



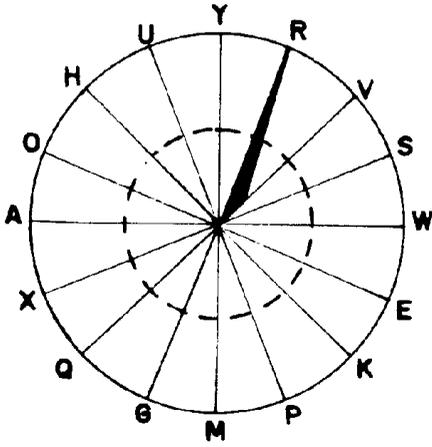
h



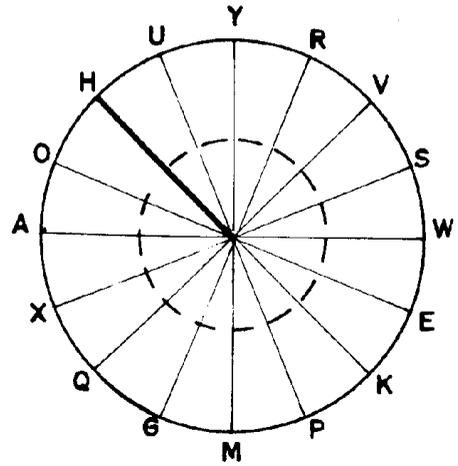
i



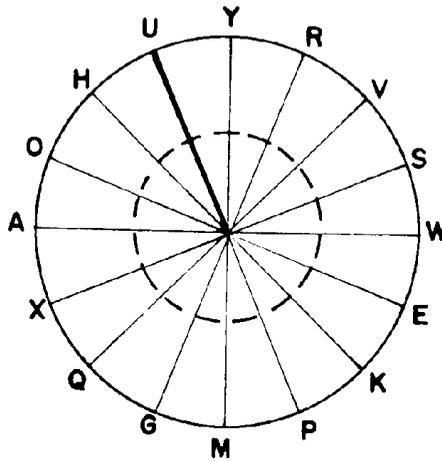
j



k



l



m

Os índices de similaridade de Sørensen calculados para diterpenos, mostraram que *Pseudoplexaura* (V) apresentou afinidade apenas com *Eunicea* (E), mas inferior a 0.30, e *Eunicea* demonstrou semelhanças com outros gêneros também inferior a 0.30 (Fig. 3.3 a e b).

A similaridade de *Pseudopterogorgia* (W) com os gêneros afins é inferior a 0.40; este gênero possui esqueletos peculiares como amphilectano (39), seco-amphilectano (38) e pseudopterano (31), que o torna bem distinto (Fig. 3.3 c).

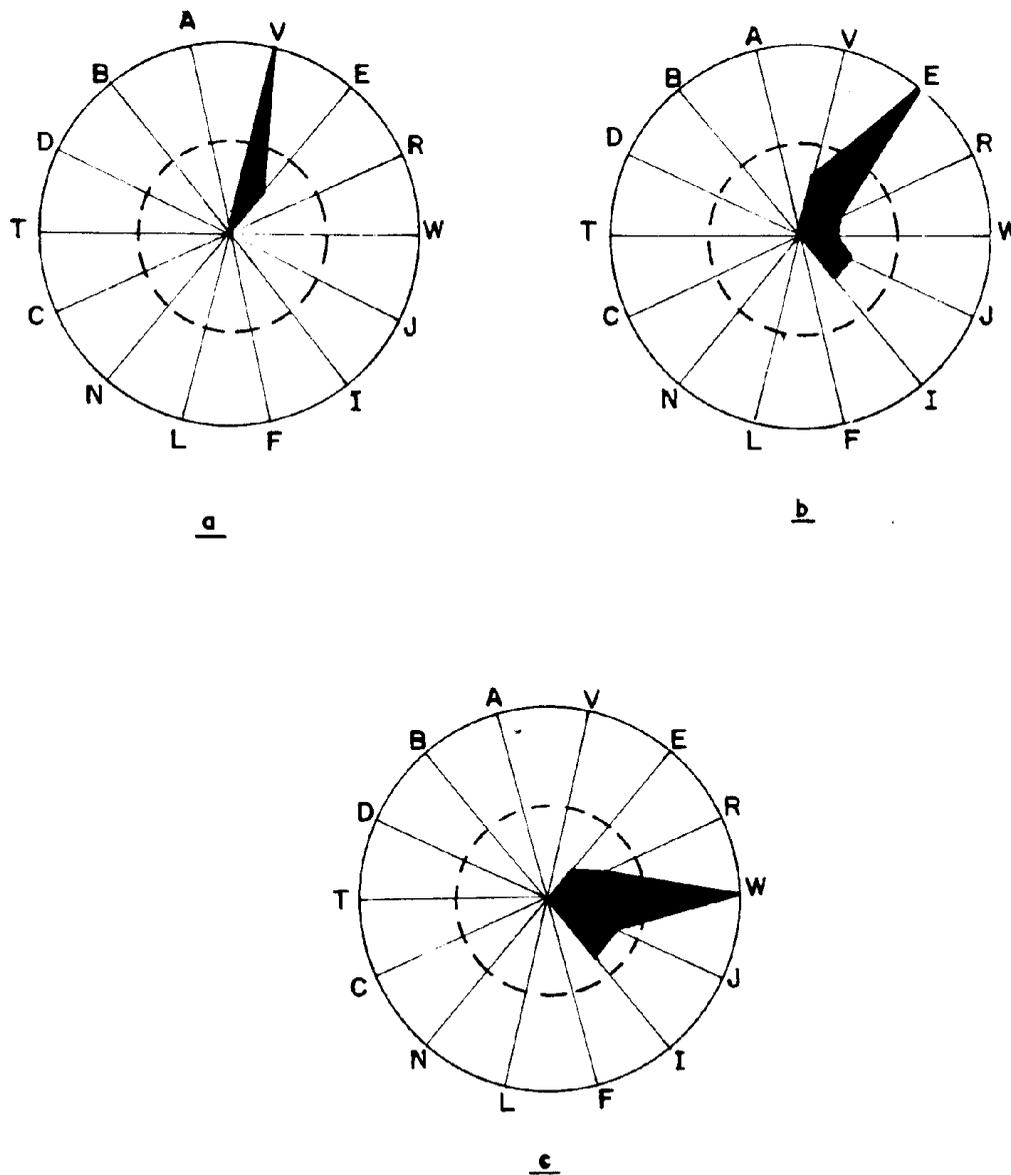
O esqueleto briareano (35) reuniu gêneros de famílias distintas como *Briareum* (B), *Erythropodium* (D) e *Plexauroides* (T) com grau de similaridade acima de 0.50 (Fig. 3.3 d, e e f).

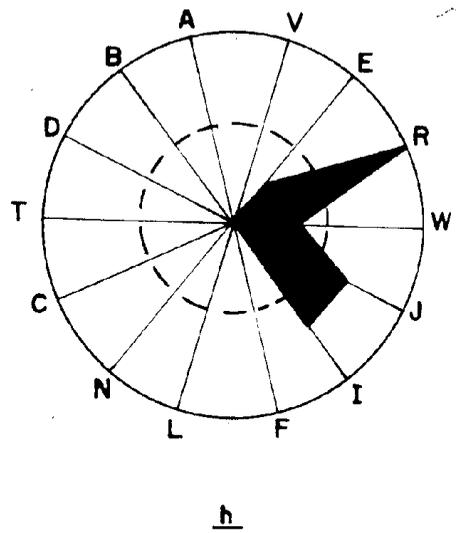
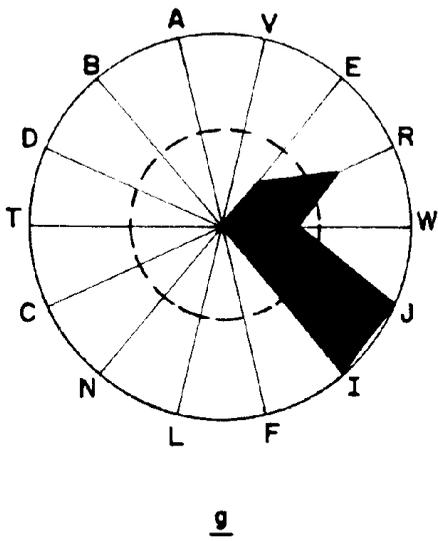
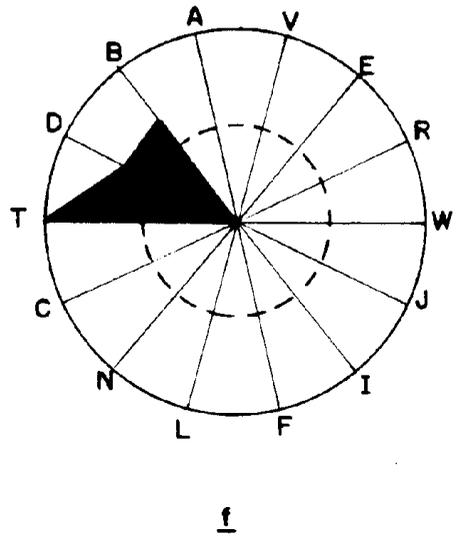
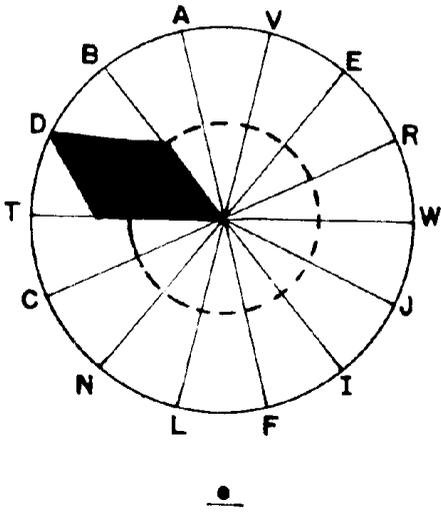
Leptogorgia (I) e *Lophogorgia* (J) se mostraram idênticas devido à ocorrência de cembranos (26), e apresentaram similaridade significativa apenas com *Plexaura* (R). similarmente *Plexaura* apresentou afinidade com grau de significância maior que 0.50 apenas com estes dois gêneros (Fig. 3.3 g e h).

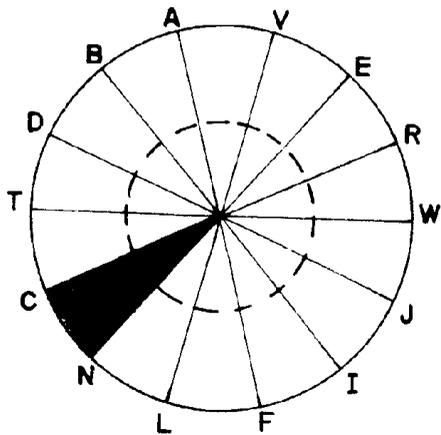
Corallium (C) e *Paragorgia* (D) são idênticos devido à presença de xenianos (32), *Muricella* (L) e *Eunicella* (F) devido aos eunicellanos (37) e *Acalycigorgia* (A) não

apresentou similaridade com nenhum outro gênero (Fig. 3.3 i, j e k).

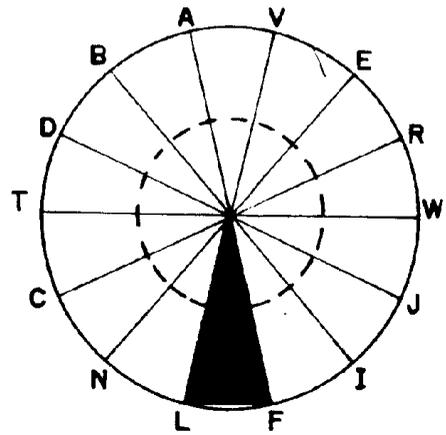
Fig. 3.3 Similaridade de Sørensen entre os gêneros de gorgônias que produzem esqueletos diterpenóidicos



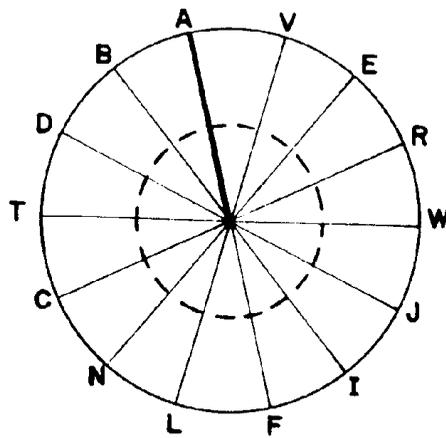




i



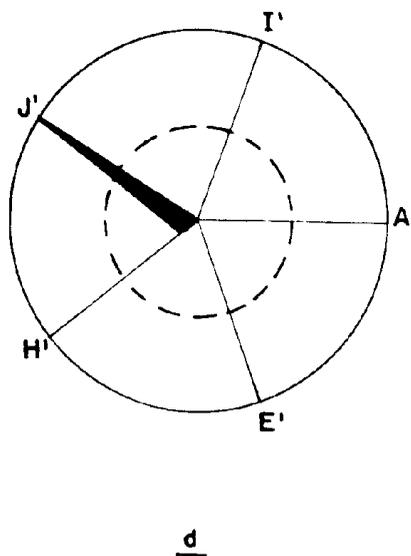
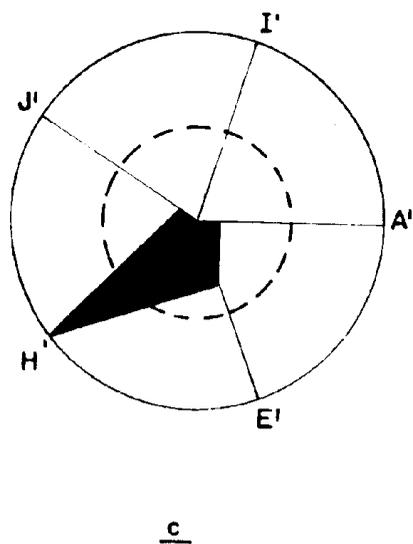
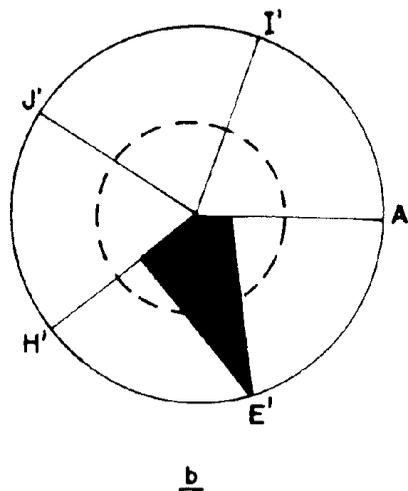
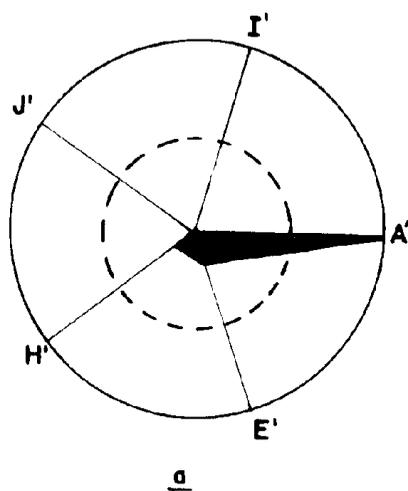
j



k

A análise de Sørensen aplicada às famílias dos gêneros considerados, utilizaram quatro tipos de representação gráfica, duas para os índices de sesquiterpenos (Fig. 3.4 e 3.5) e duas para os de diterpenos (Fig. 3.6 e 3.7). As figuras 3.5 e 3.7 representam a subfamília Paramuriceinae como se fosse uma família independente [Paramuricidae (G')], excluída de Plexauridae (H'). Nas figuras 3.4 a, b, c, d e e não foram observados nenhuma similaridade significativa entre as famílias, mas ao considerar Paramuriceinae como família, observou-se similaridade total desta com Acanthogorgiidae (A') devido à presença de apenas guaianos (12) (Fig. 3.5 a). Nas figuras 3.5 f e 3.7 d foram observadas similaridades totais (igual a I) entre Coralliidae (D') e Paragorgiidae (F'), devido à presença exclusiva de xenianos; ainda a figura 3.7 mostrou similaridades significativas de Paramuriceidae (G') com Briareidae (C') e Anthothelidae (B')(Fig. 3.7 a, b e c).

Fig. 3.4 Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos sesquiterpenóidicos (Paramuriceinae incluída em Plexauridae)



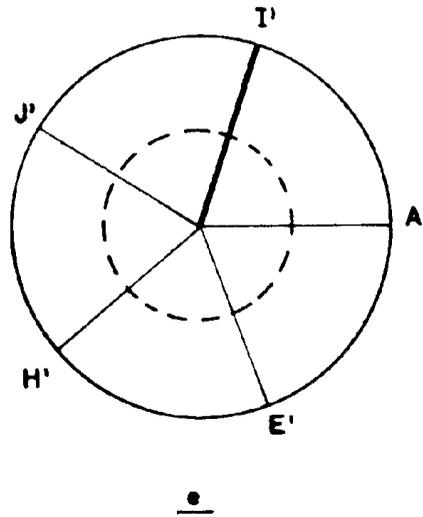
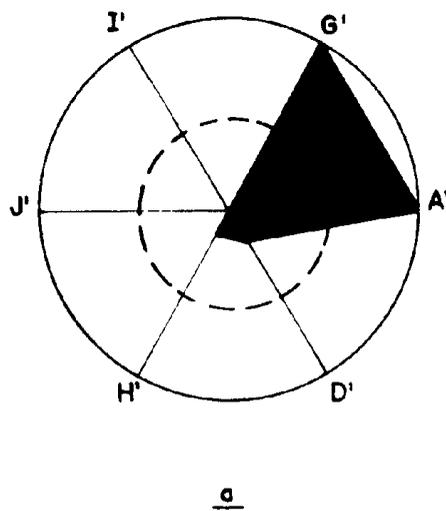
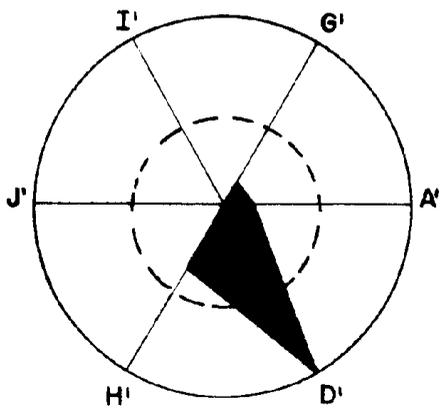
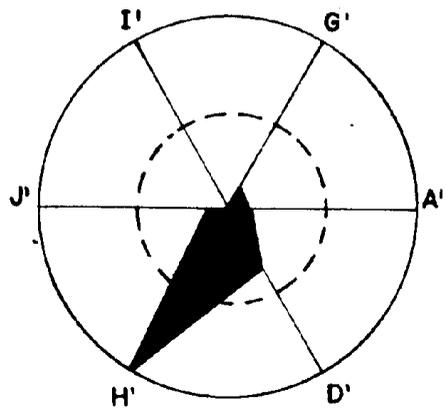


Fig. 3.5 Similaridade de Serensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos sesquiterpenoídicos (Paramuriceinae excluída de Plexauridae)

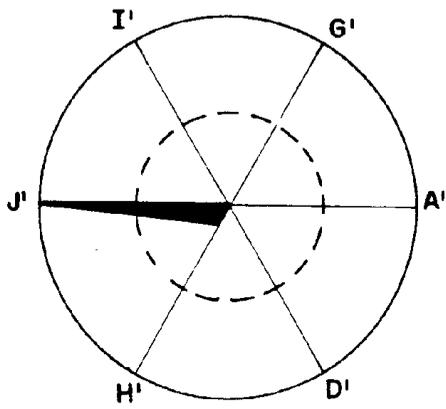




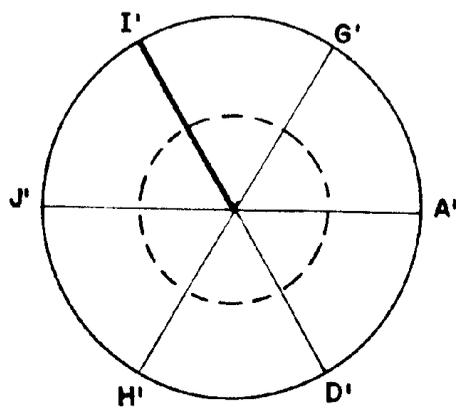
b



c

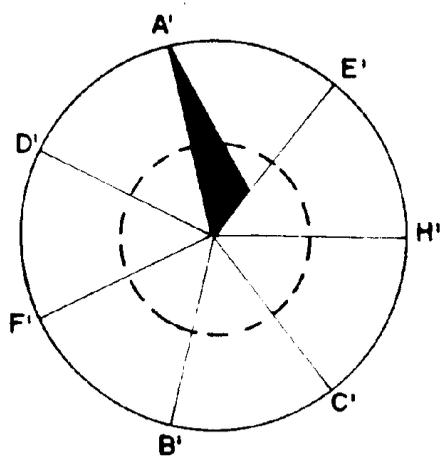


d

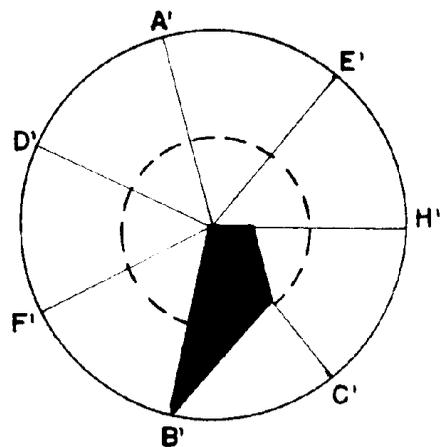


e

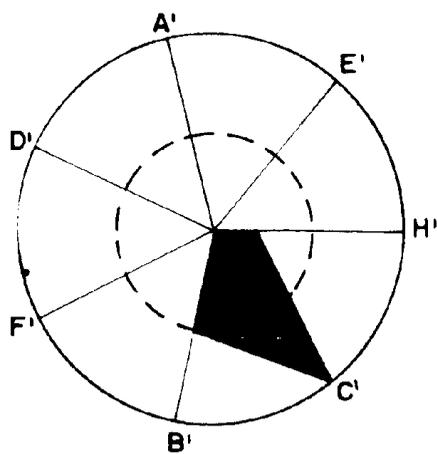
Fig. 3.6 Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos sesquiterpenoidicos (Paramuriceinae incluída em Plexauridae)



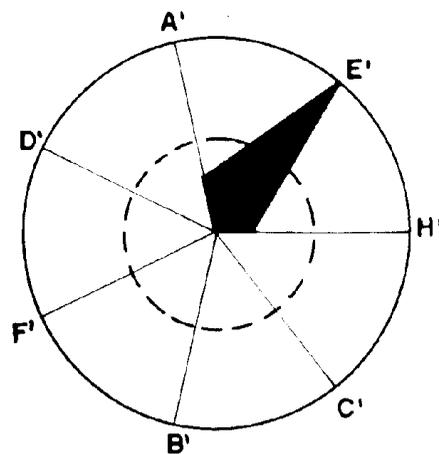
a



b



c



d

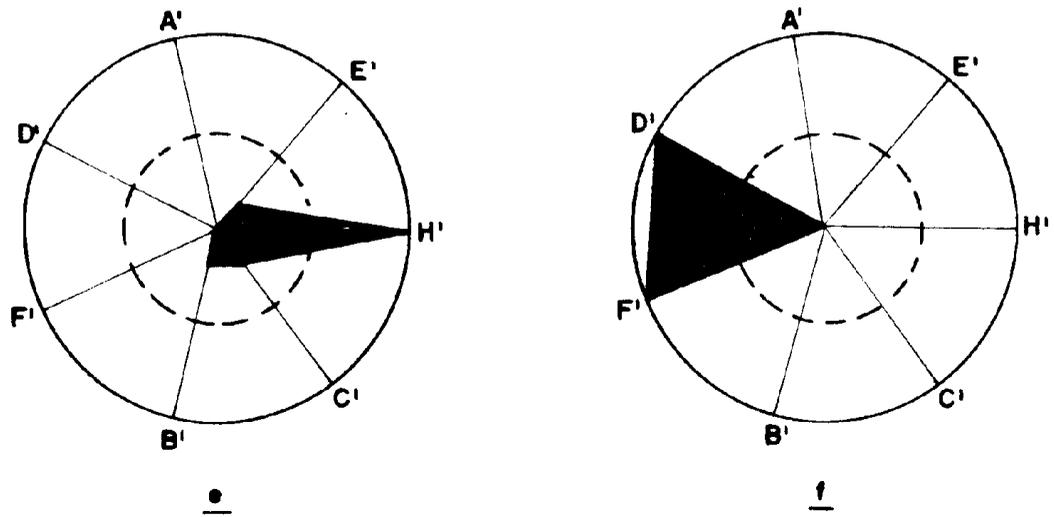
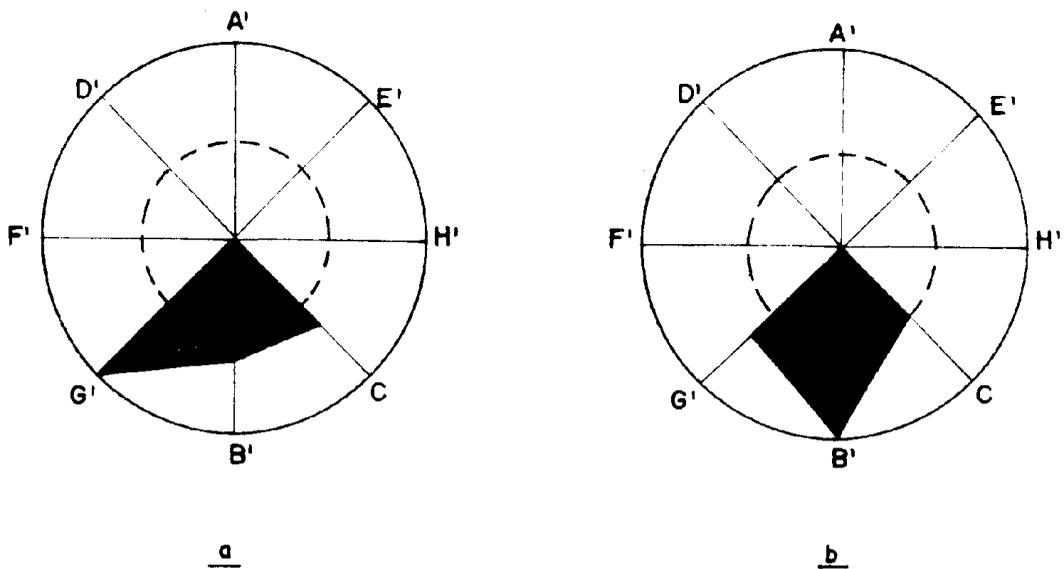
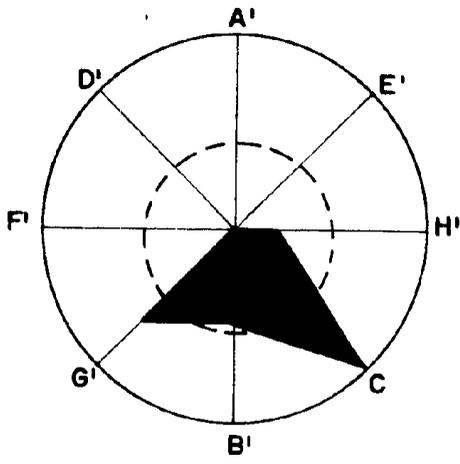
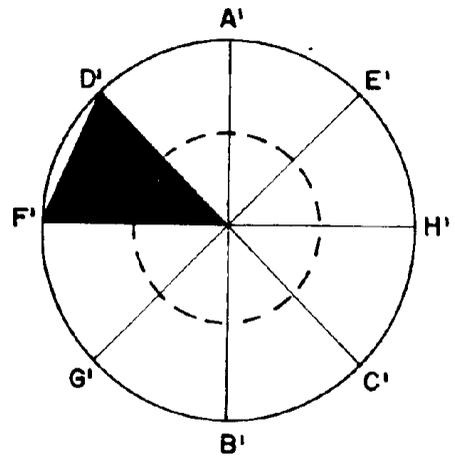


Fig. 3.7 Similaridade de Sørensen entre as famílias de gorgônias que produzem esqueletos diterpenóidicos (Paramuriceinae excluída de Plexauridae)

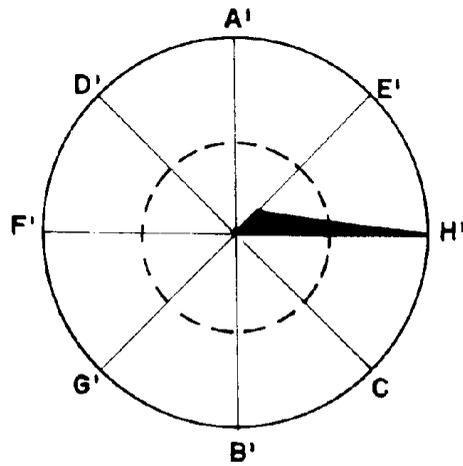




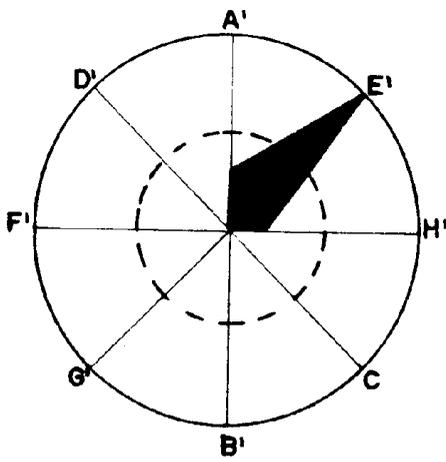
c



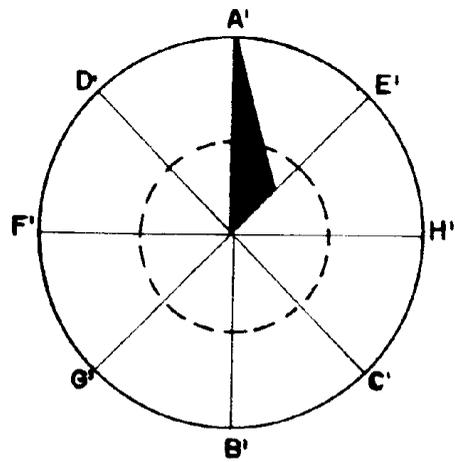
d



e



f



g

A taxonomia clássica de gorgônias ainda apresenta dificuldades em posicionar alguns gêneros dentro das famílias. Os gêneros *Paramuricea* (O), *Placogorgia* (Q) e *Pseudothesia* (X), foram por muito tempo considerados membros da família Paramuriceidae (G'). Posteriormente foram incluídos na família Plexauridae (H') como representantes da subfamília Pamamuriceinae. A distinção taxonômica feita a priori, foi também observada através da análise com esqueletos sesquiterpenoídicos utilizados para o cálculo de similaridade. Os dados químicos agruparam estes gêneros separadamente dos gêneros da família Plexauridae (H') (Fig. 3.2 g). Esta diferenciação foi ainda mais evidente na análise a nível de famílias, que aproximou Paramuriceidae (O') de Acanthogorgiidae (A') e não de Plexauridae (H') (Fig. 3.5 a). Fato semelhante ocorre com *Muricea* (K) que pertencia à família Muriceidae que foi incorporada à família Plexauridae (H'). Mas em recente trabalho de revisão de literatura sobre sistemática de octocorais⁷⁶, este gênero não consta em nenhuma das famílias propostas acima. Na análise baseada em sesquiterpenos, *Muricea* demonstrou maior similaridade com gêneros da família Gorgonniidae (E') (Fig. 3.2 a), o que não apóia sua colocação dentro de Plexauridae.

Quatro gêneros (*Acalycigorgia* (A), *Paramuricea* (O), *Placogorgia* (Q) e *Pseudothesia* (X) se apresentaram idênticos (Fig. 3.2 g), mas *Acalycigorgia* é o único que não pertence à família Plexauridae (H'). Esta total similaridade pode ser

devido ao pequeno número de substâncias isoladas destes gêneros, fazendo-se necessário um estudo químico mais aprofundado.

Na análise baseada em diterpenos os gêneros *Briareum* (B), *Erythropodium* (D) e *Plexauroides* (T) mostraram similaridade significativa acima de 0.50 (Fig.3.3 d-f) As semelhanças entre os dois primeiros gêneros foi primeiramente observada através de seus caracteres morfológicos. *Erythropodium* foi considerado um briareídeo por algum tempo, mas dados recentes o colocaram na família Anthothelidae (B'), concordando com os resultados químicos. Já *Plexauroides* que pertence à subfamília Paramuriceinae (família Plexauridae), se mostrou quimicamente bastante diferente dos demais gêneros desta família. Isto sugere que Paramuriceinae por apresentam características tão peculiares dentro de Plexauridae (H'), seja de fato uma família a parte, ou então que constituam um grupo com grande endemismo químico.

O gênero *Acalycigorgia* (A) pertence à família Acantogorgiidae (A') junto com *Muricella* (L). No entanto o isolamento de nor-xenianos (33) e não de eunicellanos (37) [característicos de *Eunicella* (F)], o colocou mais próximos dos gêneros *Corallium* (C) e *Paragorgia* (N), os quais pertencem às famílias Coralliidae (D') e Paragorgiidae (F'). Isto pode indicar que o esqueleto xeniano (32) deva ser bem mais amplamente distribuído nas gorgônias do Pacífico do

parece; e com base nos dados químicos atuais este esqueleto perderia em grande parte seu valor taxonômico por ser encontrado em duas sub-ordens de gorgônias.

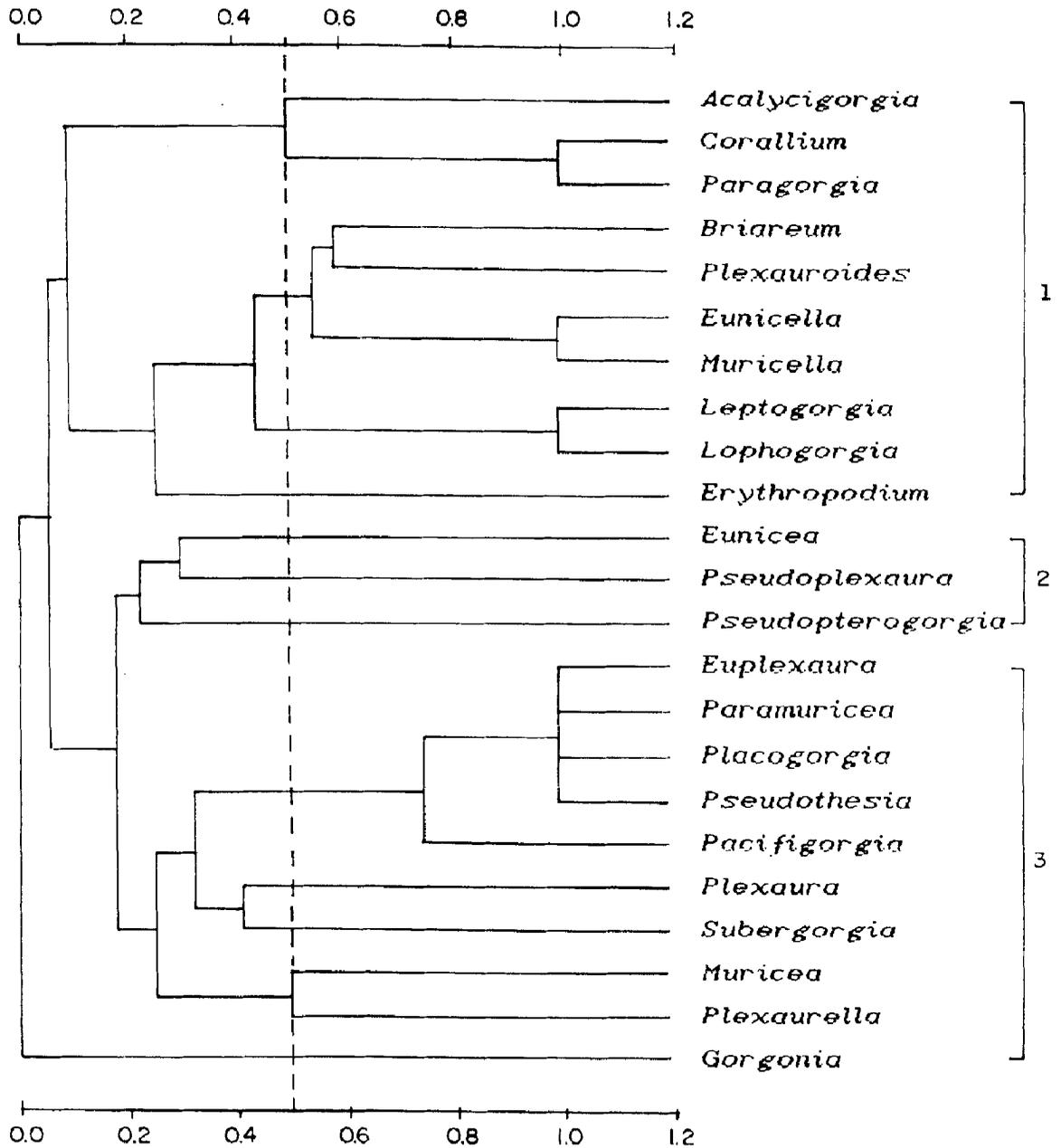
Os gêneros que produzem sesqui e diterpenos apresentaram basicamente o mesmo padrão de semelhança com os demais gêneros, quando se analisa uma ou outra classe terpenoídica. Tanto para sesqui quanto para diterpenos, os gêneros *Eunicea* (E), *Plexaura* (R), *Pseudoplexaura* (V) e *Pseudopterogorgia* (W), apresentaram similaridades não significativas (< 0.50) com os gêneros afins (Fig. 3.2 b, c, f e j, e 3.3 a, b, c e h).

3.2.2.1 ANÁLISE FENÉTICA

Pela análise fenética os gêneros foram agrupados em três blocos: o bloco 1 corresponde aos produtores de diterpenos, o 2 de sesqui e diterpenos e o 3 de sesquiterpenos (Fig. 3.8). O bloco 1 se subdividiu em três grupos principais: A, B e C. de acordo com o tipo de ciclização dos precursores. Em A a ciclização 2-10 do geranil-geranilpirofosfato (xeniano, 32), agrupou *Acalycigorgia* (A) com *Paragorgia* (N) e *Corallium* (C), em B a ciclizações 1-14 seguida de 2-7 (briareano, 35), 1-14 e 1-11 (eunicellano, 37), reuniu *Briareum* (B) e *Plexauroides* (T) de um lado, *Muricella* (L) e *Eunicella* (F) do outro. O grupo C cicliza 1-14 (cembrano, 26), e é representado por *Leptogorgia*

(I) e *Lophogorgia* (J). O bloco 2 parece ser bem distinto não apresentando similaridade significativa com nenhum gênero, e no bloco 3 o grupo D mostrou similaridade igual a 1 entre os gêneros *Paramuricea* (O), *Placogorgia*, (O) *Pseudothesia* (X) e *Euplexaura* (G) e estes com *Pacifigorgia* (M) com índice de similaridade de 0.7. O grupo E reuniu apenas *Muricea* (K) e *Plexaurella* (S) com 0.5 de similaridade. Os gêneros pela análise fenética tiveram basicamente o mesmo padrão de agrupamento observado pela análise dos índices de Sørensen (polígonos de similaridade).

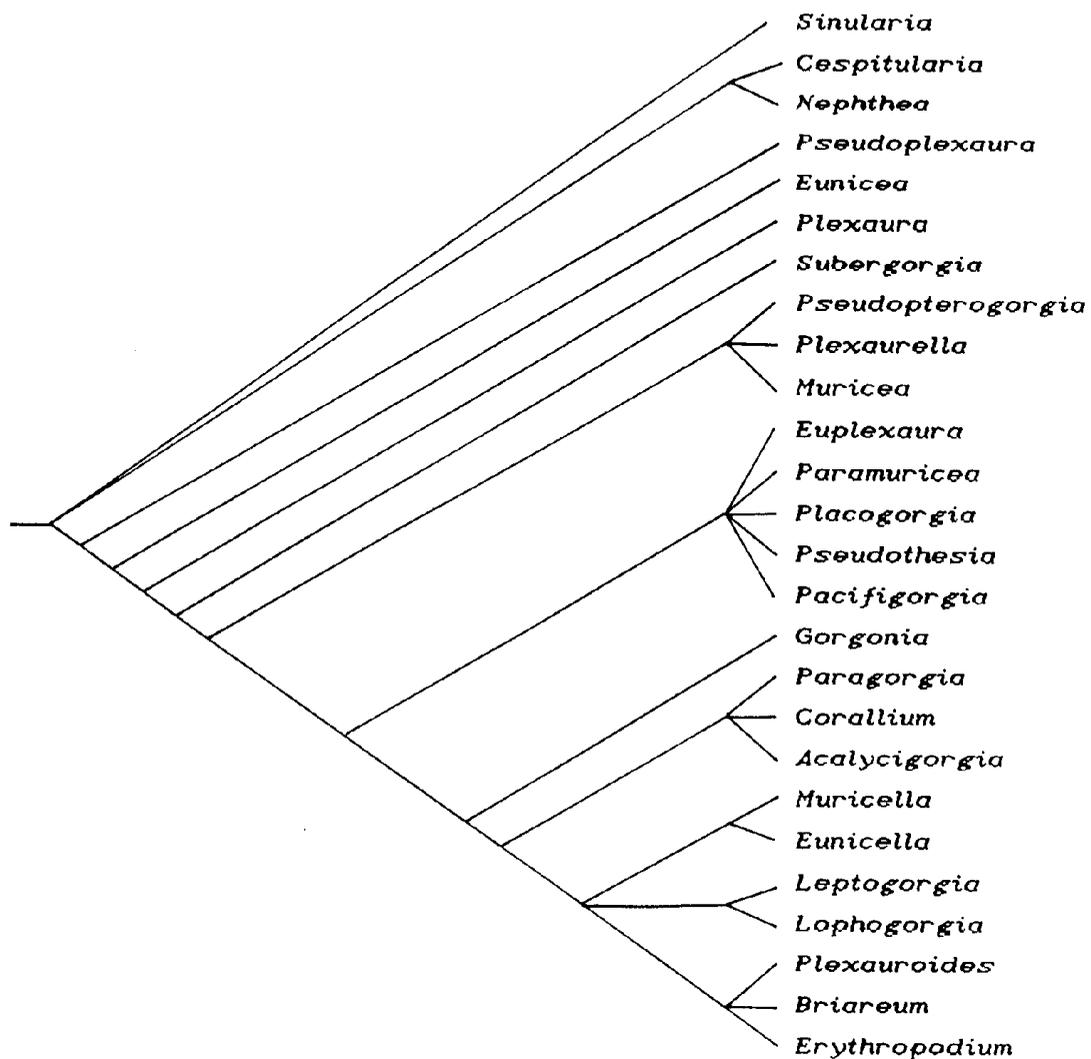
Fig. 3.8 Diagrama de árvore fenética do gênero de gorgônias que produzem terpenos



3.2.3.1 ANÁLISE CLADÍSTICA

No tratamento cladístico os gêneros também se agruparam por blocos (Fig. 3.9). A árvore filogenética obtida indicou que os gêneros possuem uma origem polifilética, ou seja, os gêneros agrupados pelos nós não pertencem às mesmas famílias e isto contraria o princípio da cladística. Este resultado não concorda com a sistemática clássica e portanto sugere-se que este tipo de análise não seja adequada quando se utiliza caracteres químicos. É provável que o número de substâncias isoladas e as "falsas" ausências tenham contribuído para ineficiência do método.

Fig. 3.9 Diagrama de árvore cladística dos gêneros de gorgônias que produzem terpenos



3.2.4.1 ANÁLISE DOS ÍNDICES TAXONÔMICOS

Os índices taxonômicos (I.E. e I.O.) foram calculados para esqueletos e substâncias isoladas de cada gênero (Tab. 3.1 e 3.2). As figuras 3.10 e 3.11 mostraram que os índices de sesqui e diterpenos separam nitidamente as famílias dos gêneros considerados, de acordo com a subordem a que pertencem. A subordem Scleraxonia foi dividida em dois grupos pelos índices de diterpenos: o grupo A constituído das famílias Coralliidae (D') e Paragorgiidae (F') e o grupo B de Anthothelidae (B') e Briareidae (C'). Esta separação química das famílias, está coerente com a taxonomia morfológica que classifica as gorgônias também de acordo com o tipo morfológico dos pólipos. Nos representantes do grupo A os pólipos são dimórficos e no B são monomórficos. A subordem Holaxonia apresentou suas famílias distribuídas em uma só área tanto para os índices de sesqui quanto para diterpenos (Fig. 3.10 e 3.11).

Fig. 3.10 Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos (I.E.) sesquiterpenoidicos da ordem Gorgonacea

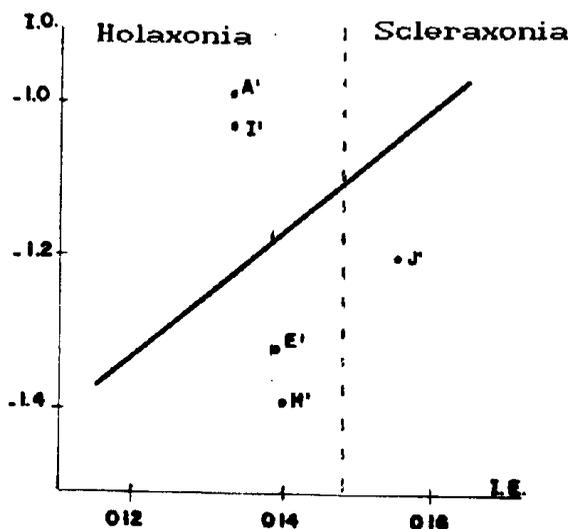
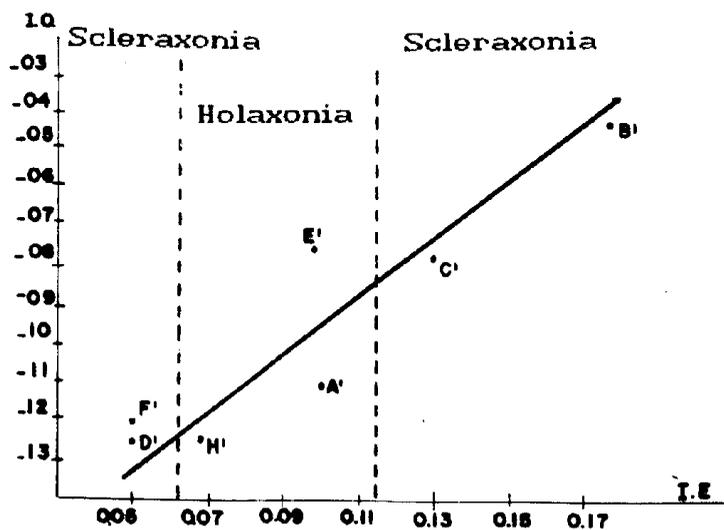


Fig. 3.11 Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos (I.E.) diterpenoidicos da ordem Gorgonacea



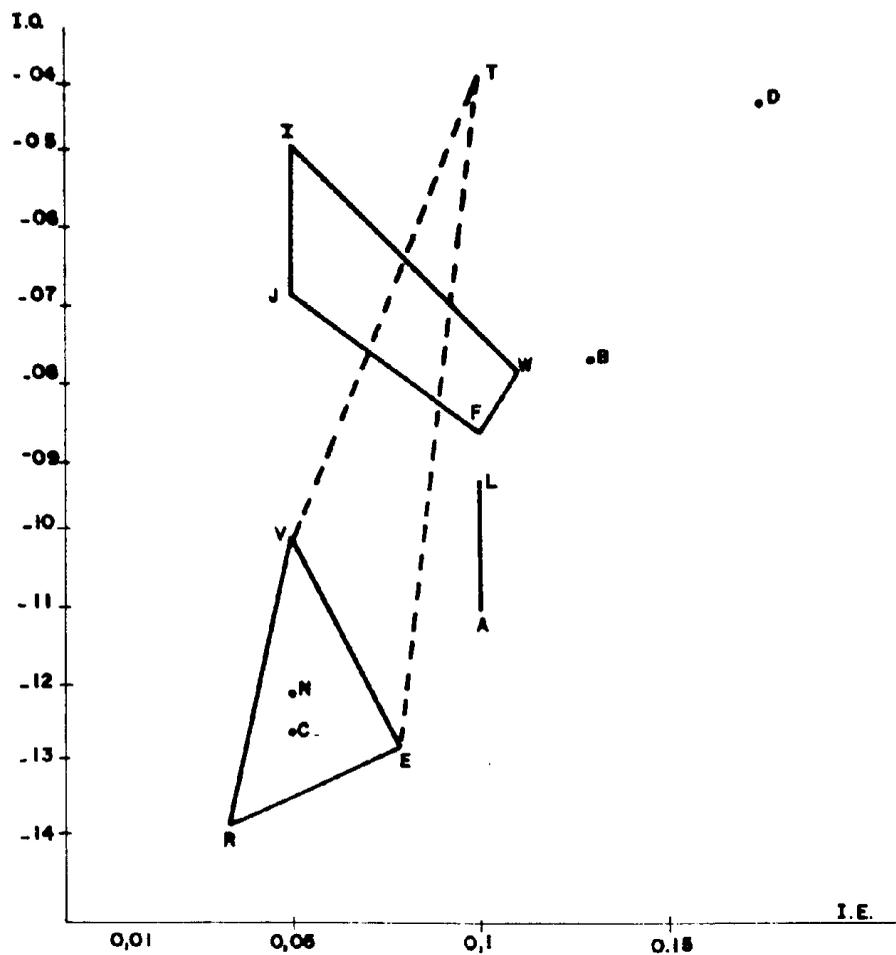
Legenda:

- A' - ACANTHOGORGIIDAE
- B' - ANTHOTHELIDAE
- C' - BRIAREIDAE
- D' - CORALLIIDAE
- E' - GORGONIIDAE
- F' - PARAGORGIIDAE
- G' - PARAMURICEIDAE
- H' - PLEXAURIDAE
- I' - PRIMNOEIDAE
- J' - SUBERGORGIIDAE

Os gêneros que produzem sesqui e diterpenos da família Plexauridae, formaram dois grupos distintos representados pelas subfamílias Paramuriceinae e Plexaurinae. Os índices de diterpenos parecem ser os mais indicados para separar a família Plexauridae do Gorgoniidae, já que suas áreas não se sobrepuseram no gráfico como observado para os índices de sesquiterpenos (Fig. 3.12 e 3.13). As demais famílias são quimicamente representada por apenas um gênero e portanto não formaram grupos.

A análise dos índices taxonômicos se baseia na proposta de Gottlieb (1982) que diz: tanto a diversificação quanto a simplificação biossintética das estruturas químicas ocorrem paralelamente à evolução, e a diferenciação se faria de acordo com a hierarquia sistemática. A evolução em níveis sistemáticos superiores é acompanhada por contração de passos reacionais e oxidação, enquanto que em níveis inferiores por expansão de reações e redução⁷⁵.

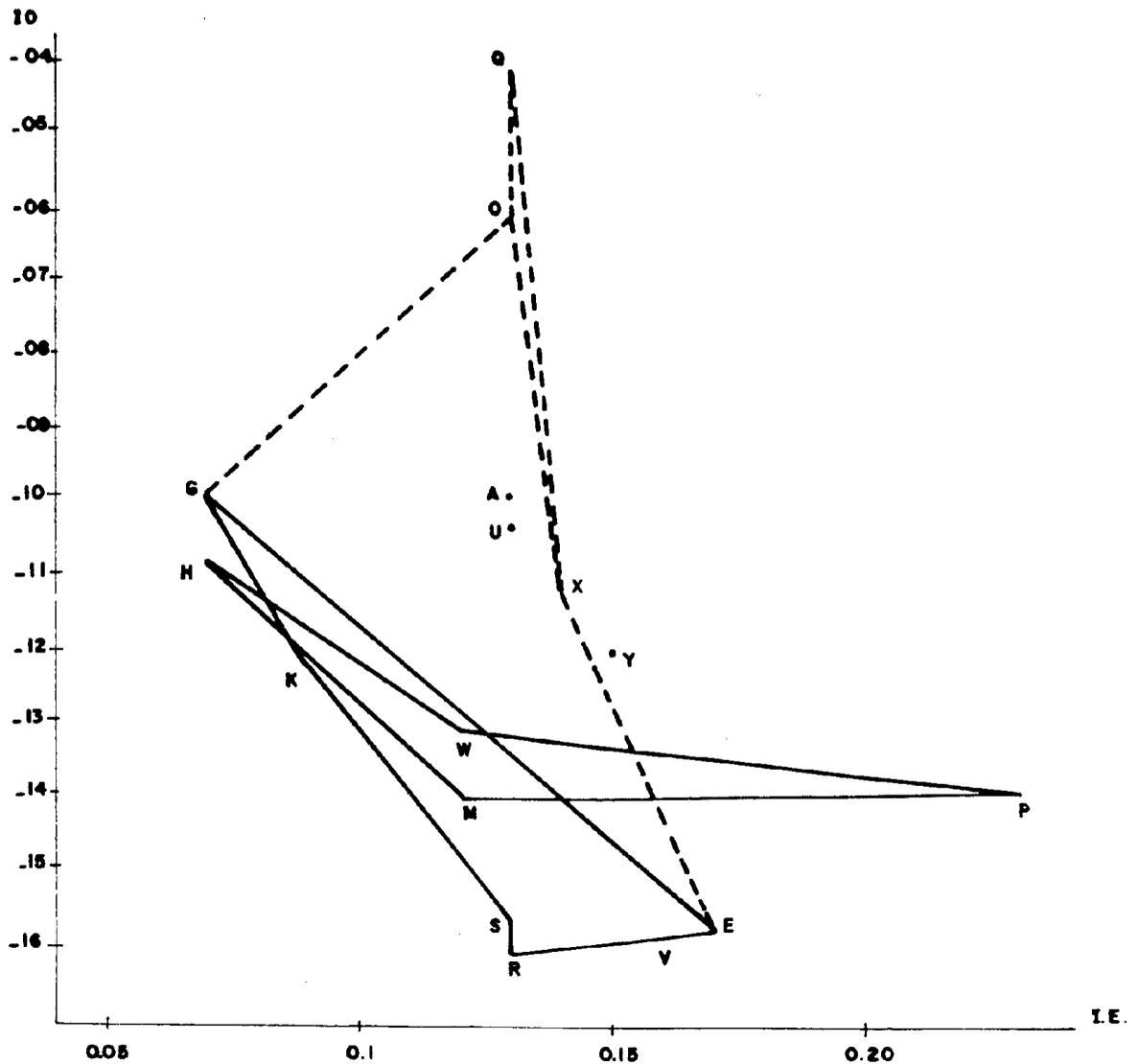
Fig. 3.12 Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos (I.E.) diterpenoidicos dos gêneros da ordem Gorgonacea



Legenda:

- | | |
|--------------------------|------------------------------|
| A - <i>Acalycigorgia</i> | J - <i>Lophogorgia</i> |
| B - <i>Briareum</i> | L - <i>Muricella</i> |
| C - <i>Corallium</i> | N - <i>Paragorgia</i> |
| D - <i>Erythropodium</i> | R - <i>Plexaura</i> |
| E - <i>Eunicea</i> | T - <i>Plexauroides</i> |
| F - <i>Eunicella</i> | V - <i>Pseudoplexaura</i> |
| I - <i>Leptogorgia</i> | W - <i>Pseudopterogorgia</i> |

Fig. 3.13 Grau de oxidação (I.O.) versus avanço evolutivo de esqueletos (I.E.) sesquiterpenoidicos dos gêneros da ordem Gorgonacea



Legenda:

- | | |
|--------------------------|------------------------------|
| A - <i>Acalycigorgia</i> | Q - <i>Placogorgia</i> |
| E - <i>Eunicea</i> | R - <i>Plexaura</i> |
| G - <i>Euplexaura</i> | S - <i>Plexaurella</i> |
| H - <i>Gorgonia</i> | U - <i>Primnoeides</i> |
| K - <i>Muricea</i> | V - <i>Pseudoplexaura</i> |
| M - <i>Pacifigorgia</i> | W - <i>Pseudopterogorgia</i> |
| O - <i>Paramuricea</i> | X - <i>Pseudothesia</i> |
| P - <i>Phyllogorgia</i> | Y - <i>Suberogorgia</i> |

Comparando-se a árvore filogenética morfológica com os resultados obtidos pelos índices taxonômicos observa-se que os gêneros constituídos de esqueletos mais elaborados ou que apresentam substâncias mais oxidadas, são considerados pela taxonomia morfológica mais primitivos⁸¹.

As famílias Briareidae (C') e Anthothelidae (B') são as mais primitivas da ordem Gorgonacea segundo os caracteres morfológicos, com origem nos alcionários (Fig. 3.14). Apresentam diterpenos com esqueletos rearranjados e altamente oxidados; algumas substâncias contém halogênios e em geral são bioativas. Paragorgiidae (F') e Coralliidae (D') também são consideradas primitivas pela taxonomia clássica e a presença do esqueleto xeniano (32), pode ser mais um indicativo de primitividade. Foi proposto que este esqueleto é o mais primitivo quando comparado com dolastanos edollabelanos isolados de algas pardas⁸². Dentro de Gorgoniidae *Leptogorgia* (I) e *Lophogorgia* (J) são os gêneros mais primitivos⁸³ (fig. 3.15), apresentam esqueletos diterpenoídicos simples, mas substâncias altamente oxidadas e bioativas. Por outro lado, os gêneros que produzem sesquiterpenos possuem os esqueletos mais complexos da ordem Gorgonacea, substâncias pouco oxidadas, e são considerados os gêneros mais evoluídos dentro da família Gorgoniidae. A família Plexauridae (H') apresenta o gênero *Euplexaura* (G) como o mais primitivo⁸¹ (fig. 3.16), e seus sesquiterpenos são os mais oxidados da subfamília Plexaurinae. Ao contrário

do observado para sesquiterpenos, os gêneros que produzem diterpenos são pouco oxidados e se encontram em nível médio de evolução morfológica (fig. 3.15). A árvore filogenética da família Plexauridae (H') não inclui os gêneros da subfamília Paramuriceinae.

Fig. 3.14 Árvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Briareidae segundo Kukenthal (1919)

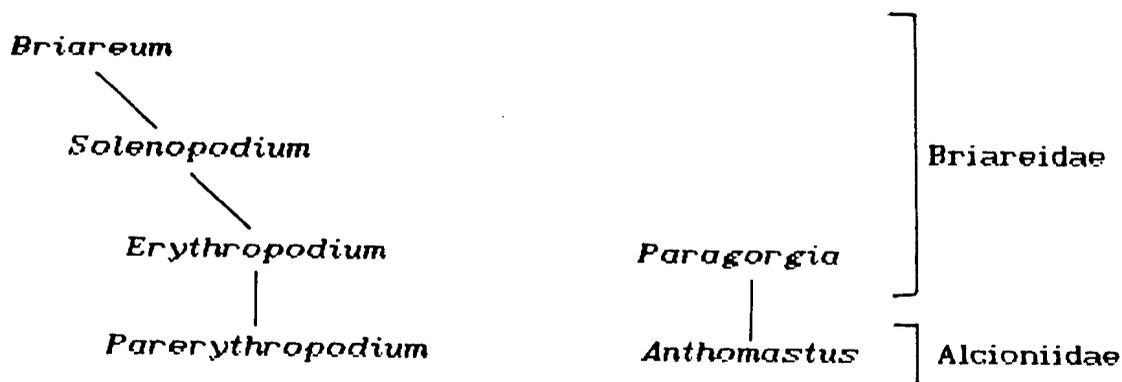


Fig. 3.15 Arvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Gorgoniidae segundo Bayer (1953)

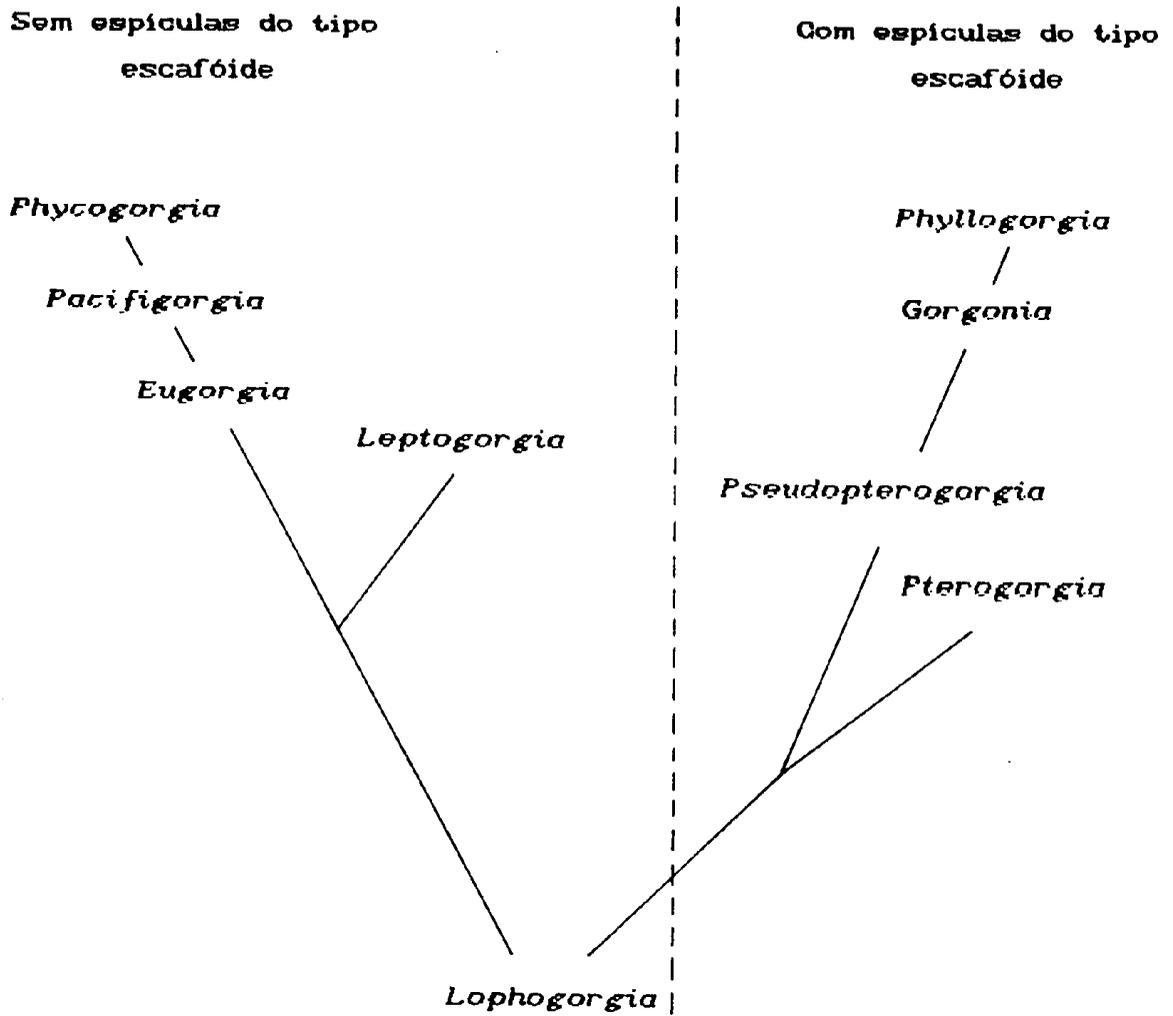
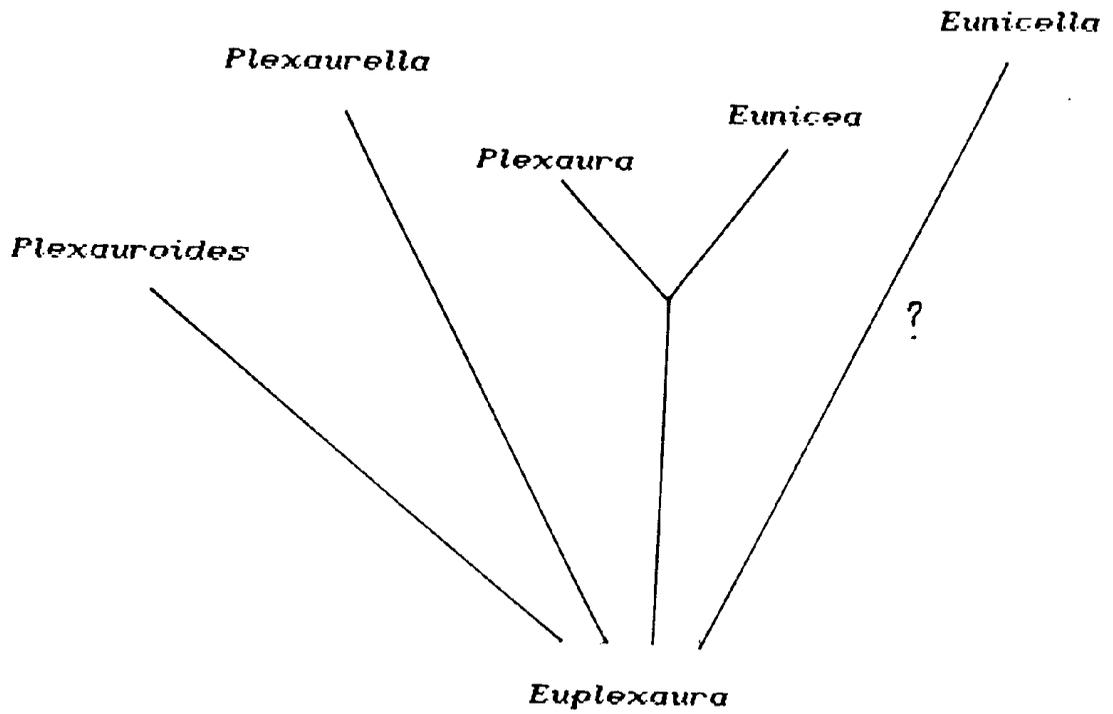


Fig. 3.16 Árvore de filogenia morfológica dos gêneros da família Plexauridae segundo Kukenthal (1919)



3.2.4.2 ÍNDICES TAXONÔMICOS X DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

As gorgônias possuem ampla distribuição geográfica, mas ocorrem principalmente na região do Caribe. Existe uma grande variedade estrutural para sesqui e diterpenos nesta região como pode ser observado nas figuras 3.17 e 3.18.

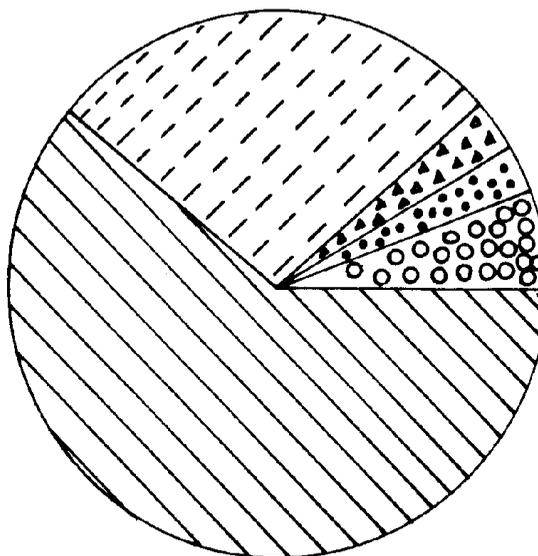
Foi feita uma correlação entre os índices taxonômicos e o local de ocorrência dos gêneros. As áreas que correspondem a gêneros produtores de sesquiterpenos das famílias Plexauridae (H') e Gorgoniidae (E'), típicas do Caribe, se sobrepõem no gráfico (Fig. 3.12). Esta sobreposição não foi observada para os índices de diterpenos, porque alguns gêneros da família Gorgoniidae ocorrem predominantemente no Pacífico⁴⁶.

Os plexaurídeos representados pelos gêneros da subfamília Paramuriceinae e as famílias Acanthogorgiidae (A') e Primnoeidae (I') que ocorrem no Pacífico, formam um grupo destacado tanto para índices de sesqui quanto para diterpenos (Fig. 3.12 e 3.13).

Além das diferenciações morfológicas a separação dos gêneros da subordem Scleraxonia, (*Briareum* (B) e *Erythropodium* (D) de *Corallium* (C) e *Paragorgia* (N), pode ser devido à distribuição geográfica. Os gêneros mais oxidados e com esqueletos diterpenoídicos mais elaborados pertencem ao

Caribe (com exceção de algumas espécies de *Briareum* na Austrália), e os diterpenos menos oxidados com esqueletos mais simples [xenianos (32)] pertencem ao Pacífico. De um modo geral os gêneros que produzem cembranos (26) ou seus derivados não produzem xenianos (32) e vice-versa.

Fig. 3.17 Distribuição geográfica dos esqueletos sesquiterpenoidicos

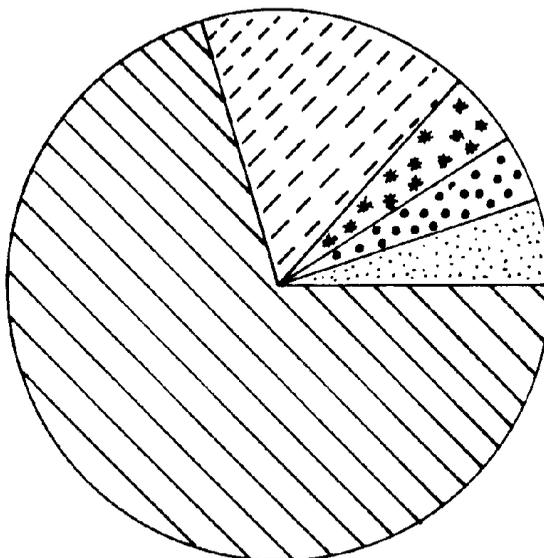


Legenda:

% de esqueletos da ordem Gorgonacea

	<p>60.6% Caribe:</p>	<p>germacrano nor-elemano elemano selinano bourbonano bisabolano curcumano muurolano copaano ventalano</p>	<p>cubebano calamenano cadinano aromadendrano aristolano maaliano gorgonano santalano seco-santalano acíclico</p>
	<p>27.3% Pacífico</p>	<p>germacrano curcumano indano acíclico</p>	<p>bisabolano pacifigorgiano subergano</p>
	<p>6.06% Atlântico: Sul</p>	<p>germacrano nardosinano</p>	
	<p>3.03% Mediterrâneo:</p>	<p>guaiano</p>	
	<p>3.03% Mar Vermelho:</p>	<p>calamenano</p>	

Fig. 3.18 Distribuição geográfica dos esqueletos diterpenóidicos



Legenda:

% de esqueletos da ordem Gorgonacea

<p> 66.7%</p> <p> 16.7%</p> <p> 5.5%</p> <p> 5.5%</p> <p> 5.5%</p>	<p>Caribe:</p> <p>Pacífico:</p> <p>Índico:</p> <p>Mar Vermelho:</p> <p>Costa leste do Atlântico Norte:</p>	<p>cembrano cembranolido asbestinano elemano prenilado germacrano prenilado seco-amphilectano</p> <p>cembrano briareano nor-xeniano</p> <p>xeniano</p> <p>eunicellano</p> <p>eunicellano</p>	<p>dolabelano pseudopterano briareano erythrano amphilectano acíclico</p>
---	--	--	---

3.3 CONSIDERAÇÕES BIOGEOGRÁFICAS

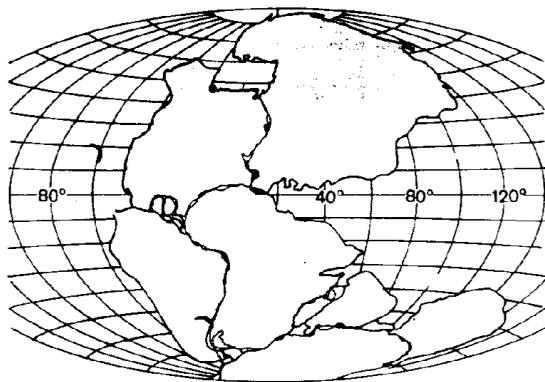
A hipótese da deriva dos continentes devido aos movimentos tectônicos pode ter provocado transformações dos mais diversos tipos, afetando a dispersão e evolução dos diferentes grupos de organismos nos ambientes terrestres e marinhos. Em gorgônias a ocorrência anfi-americana (Atlântico Ocidental - Caribe e Costa Oriental das América do Norte e Central) dos gêneros *Lophogorgia* (J), *Muricea* (K) e *Pacifigorgia* (M), parece indicar que provavelmente elas não tenham sofrido grandes diferenciações morfológicas com a fragmentação da Pangea^{46,84} (Fig. 3.19). A gorgônia *Lophogorgia* (J) que se apresenta em nível de desenvolvimento inferior em relação aos outros gêneros de sua ordem (Fig. 3.15), até hoje continua indiferenciada nos dois lados da América Central e o gênero *Pacifigorgia* (M) que se mostra em um grau mais avançado de especialização morfológica, possui apenas uma espécie no Atlântico ao passo que no Pacífico são quatorze. A partir disto Bayer (1953) concluiu que um grupo recentemente evoluído (mais especializado) tenha sido deslocado para o Atlântico devido às condições geológicas resultantes após o fechamento do Portal de Tehuantepec (América Central)⁸³. A comprovação através de dados químicos de que estes gêneros não sofreram maiores modificações, ainda não é possível porque somente os gêneros que ocorrem no Pacífico foram quimicamente estudados.

Foi observado por Eckman (1953) que a fauna de águas quentes do Atlântico Ocidental está de certa forma mais intimamente ligada à região Indo-pacífica do que à costa oeste das Américas, e os diterpenos isolados da gorgônia *Briareum* (B) poderiam apoiar tal hipótese. Este gênero apresenta espécies que ocorrem no Caribe e na Austrália e produzem substâncias bem parecidas.

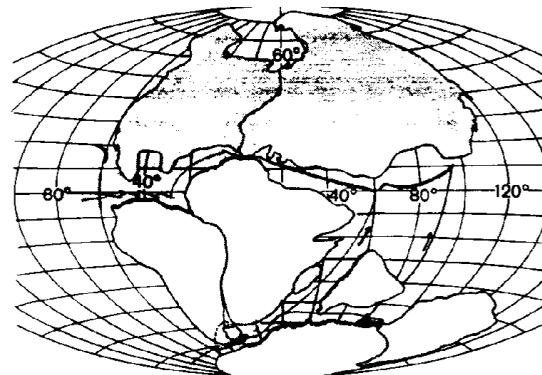
Algumas gorgônias possuem distribuição descontínua e não apresentam rotas migratórias de um oceano para o outro. Esta distribuição é corroborada pelos diterpenos do tipo eunicellano (37) que foram encontrados em *Muricella* (L) no Mar Vermelho e *Eunicella* (F) no Mediterrâneo. Antepassados desta gorgônias presentes no Mar de Tethys (Fig. 3.19) podem explicar, a descontinuidade atual dos grupos. De fato, a manifestação mais evidente da distribuição tetiana ocorre com alcionários que têm grupos de espécies tanto no Atlântico como no Indo-Pacífico e que devem ter sido separados no meio ou no final da Era Terciária.

Estas observações demonstram a possibilidade de que estudos químicos comparativos das gorgônias distribuídas pelos oceanos, possam contribuir sobremaneira para um melhor esclarecimento da época e das rotas de dispersão destes organismos durante as eras geológicas.

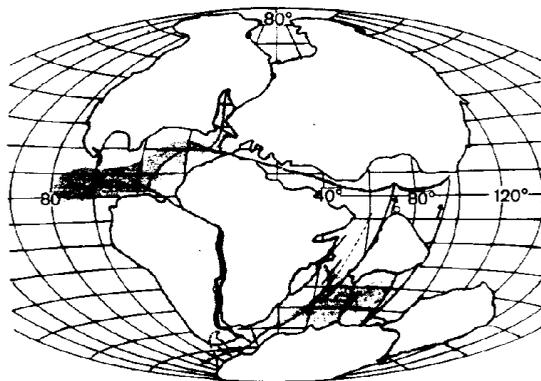
Fig. 3.19 Fragmentação progressiva da Pangea



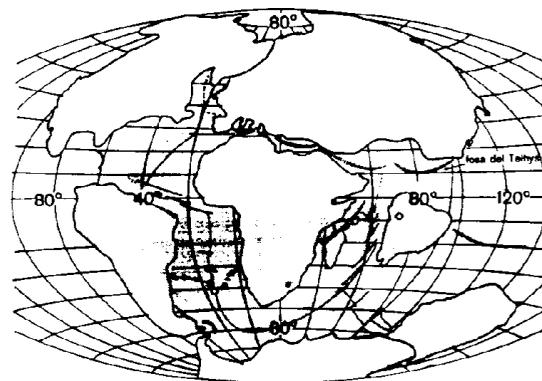
Final do Permiano (230 milhões de anos)



Final do Triássico (200 milhões de anos)



Final do Jurássico (135 milhões de anos)



Final do Cretáceo (65 milhões de anos)

CAPÍTULO IV
CONCLUSÃO

IV. CONCLUSÃO

A gorgônia *Phyllogorgia dilatata* é a primeira espécie endêmica da costa brasileira a ser quimicamente estudada. As quatro substâncias isoladas desta gorgônia apresentam estruturas inéditas para ordem Gorgonacea. Os nardosinanos encontrados aqui pela primeira vez em gorgônias não são oxidados no carbono 7 como os isolados de outros octocorais e os germacranos não apresentam conformação trans (E) na ligação dupla $\Delta^{1(10)}$ que é freqüente em gorgônias e outros organismos. Para abordagem quimiosistemática da ordem gorgonacea a aplicação de técnicas que utilizam índices matemáticos, indicou que alguns gêneros necessitam de um estudo químico mais detalhado para que se possa estabelecer relações taxonômicas mais precisas. Os índices taxonômicos (I.E. e I.O.) quando comparados com a taxonomia morfológica filogenética não mostraram uma correlação evolutiva. Os resultados obtidos parecem contrariar o segundo princípio da sistemática micromolecular que considera mais evoluído o

táxon que apresenta um grau de oxidação mais elevado para metabólitos secundários. Isto pode ser um indicativo de que a evolução química dos terpenos em gorgônias tenha ocorrido no sentido inverso da morfológica.

CAPÍTULO V
EXPERIMENTAL

V. EXPERIMENTAL

5.1 MATERIAL E MÉTODOS

As separações por cromatografia de adsorção em coluna (c.c.), foram feitas com gel de sílica Kieselgel 50, com tamanho de partícula de 0.063 - 0.200 mm.

Para as análises cromatográficas em camada delgada (c.c.d.), utillizou-se placas prontas de sílica (Kieselgel 50, F254, 0.2 mm e para cromatografia em camada delgada em escala preparativa (c.c.d.p.), Kieselgel 50, 20 x 20 cm com 0.2 mm de espessura.

A revelação dos cromatogramas foi feita por inspeção à luz ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm, mediante borrifamento com solução de vanilina/H₂SO₄ (10%) ou sulfato cérico/H₂SO₄ (2%), aquecido por cinco minutos. Vapores de iodo foram utilizados na revelação dos

cromatogramas em camada delgada em escala preparativa (c.c.d.p.).

O critério de pureza adotado foi obtenção de mancha única em c.c.d, variando-se os sistemas de solventes. Os extratos obtidos das frações eluidas em colunas cromatográficas e das soluções dos produtos reacionais foram concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotatório (ERPR) Büchi RE-120, aquecendo o banho de água à temperatura nunca superior a 60° C.

O ponto de fusão foi determinado em placa aquecedora de Köfler e o valor não foi corrigido.

As medidas de rotação ótica foram efetuadas em polarímetros Perkin Elmer modelos 141 e 241, em clorofórmio (CHCl₃) à temperatura ambiente.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos dos aparelhos: Perkin Elmer 137, Infracord 257 e Brücker IFS 25. As amostras foram depositadas como filme em janela de cloreto de sódio. Os comprimentos de onda das absorções obtidas estão expressas em cm⁻¹ e os espectros calibrados com filme de poliestireno, utilizando-se como referência as bandas de absorção: 2851, 1601 e 1028 cm⁻¹.

Os espectros de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ^1H) foram determinados em espectrômetros Varian XL 100 e Brücker WM 200 e WM 250 MHz de onde foram obtidos espectros a duas dimensões (COSY), irradiação dupla em alta resolução e efeito nuclear Overhauser diferencial (NOE).

As amostras foram dissolvidas em CDCl_3 ou C_6D_6 , tendo o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos são expressos em unidade δ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em hertz (Hz).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN ^{13}C) foram registrados em equipamentos Varian XL 100 (25.2 MHz) e Brücker WM 200 (50.3 MHz) e WM 250 (62.8 MHz), obtendo-se espectros em condições de desacoplamento em faixa larva (DFL), em DEPT e a duas dimensões heteronuclear (COSY). Os solventes usados foram CDCl_3 ou C_6D_6 . Os deslocamentos químicos são expressos em δ (ppm), tendo o TMS como referência interna.

Os espectros de massa (EM) de baixa resolução (70 eV) foram determinados nos aparelhos Micromass MM12 F e de baixa resolução em um VG Micromass 7070 F, sendo os fragmentos descritos em m/z, cujas as intensidades são expressas em percentuais do pico base (100%).

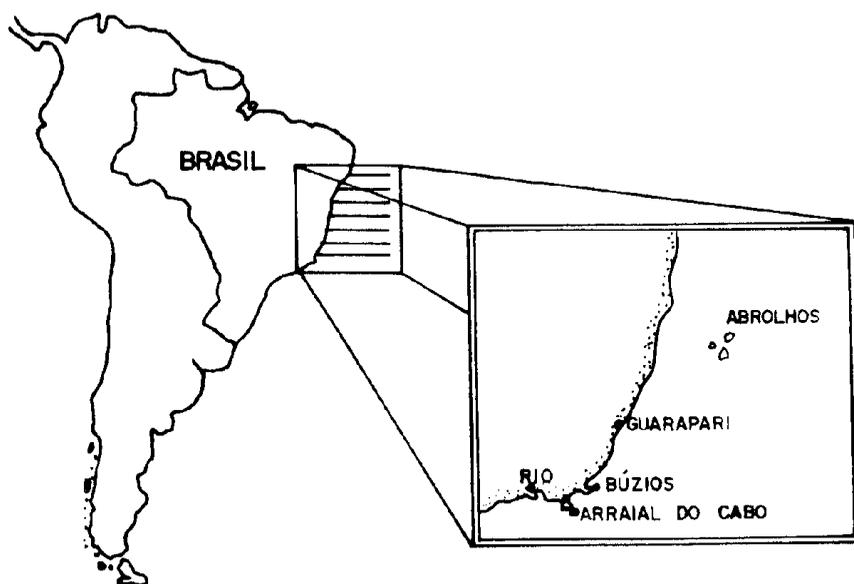
5.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL

A gorgônia *Phyllogorgia dilatata* (Esper, 1806) foi coletada em quatro locais diferentes da costa brasileira: Praia do Forno, Arraial do Cabo-RJ, Praia da Tartaruga, Búzios-RJ, Três Ilhas, Guarapari-ES e Ilha de Santa Bárbara, Abrolhos-BA (Fig. 5.1)⁸⁵ As coletas foram realizadas através de mergulho autônomo e mergulho livre entre 4 a 12 m de profundidade.

A gorgônia *Phyllogorgia* possui características bem distintas, é monoespecífica e muito abundante nas regiões de coleta. Foi identificada pelo Dr. Antônio Mateo Solé-Cava de acordo com a metodologia proposta por F. M. Bayer⁴⁶, que consiste no isolamento e análise de suas espículas calcárias.

Espécimes de *Phyllogorgia dilatata* foram fixadas em formol e guardadas junto à coleção de invertebrados marinhos do laboratório de Produtos Naturais Marinhos da U.F.F..

Fig. 5.1 Locais de coleta da gorgônia *Phyllogorgia dilatata*



5.3 EXTRAÇÃO

Foram utilizados três diferentes métodos A, B, e C, para a extração desta gorgônia.

5.3.1 EXTRAÇÃO A

O material proveniente de Arraial do Cabo foi seco ao ar livre (0.5 kg) e extraído exaustivamente em Soxhlet com hexano (3 litros). O extrato foi concentrado em ERPR fornecendo 17.1 g de um resíduo oleoso.

5.3.1 EXTRAÇÃO B

O material coletado em Guarapari foi seco ao ar livre (6.5 kg) e extraído por três vezes com 8 litros de hexano durante 45 dias à temperatura ambiente. A concentração do extrato foi feita em ERPR de onde se obteve 120 g de resíduo oleoso viscoso.

5.3.3 EXTRAÇÃO C

O material úmido proveniente de Búzios (637 g), que corresponde aproximadamente a 259.2 g em peso seco, foi

picado e extraído por arraste com vapor de água (1.5 litros). obtendo-se 2.4 g de óleo. Esta técnica foi escolhida por ser mais rápida e mais eficiente quando se pretende obter substâncias voláteis.

5.4 PURIFICAÇÃO E ISOLAMENTO

5.4.1 EXTRATO A

Uma alíquota do extrato hexânico A (5g) foi submetida a uma partição entre solventes não miscíveis (hexano/metanol aquoso 5%). A fase hexânica (1.1 g) foi fracionada em coluna de gel de sílica (c.c.) eluída com CH_2Cl_2 puro. As frações obtidas foram concentradas em ERPR, analisadas em c.c.d, eluídas com CHCl_3 puro e reveladas com sulfato cérico/ H_2SO_4 . As frações que continham uma mancha roxa com R_f de 0.75 (CHCl_3), pouco polar em c.c.d., foram reunidas (694 mg) e purificadas por c.c. eluída com hexano/acetato de etila de 0 a 5%. As frações eluídas em hexano/acetato de etila (98:2) (185 mg) foram reunidas e finalmente purificadas em c.c.d.p, em sílica com hexano/acetato de etila (95:5), fornecendo 125 mg de um óleo, a substância XIX.

5.4.2 EXTRATO B

O extrato hexânico B (68.85 g) foi fracionado entre hexano/metanol aquoso 10%. A fase hexânica foi filtrada em gel de sílica eluída com hexano puro. As frações foram reunidas de acordo com o padrão das manchas, observadas em c.c.d., reveladas com sulfato cérico/H₂SO₄. A fração contendo o produto desejado impuro (2.0 g) (Rf 0.75 em c.c.d.), foi cromatografada por sucessivas colunas em gel de sílica, eluídas com hexano. A purificação final foi feita em c.c.d.p, de sílica (clorofórmio/acetato de etila 5%) forneceu a substância XIX (34 mg).

5.4.3 EXTRATO C

O óleo obtido (2.4 E) do arraste com vapor de água foi reunido com frações idênticas de fracionamentos anteriores. Foi cromatografado em coluna de gel de sílica, eluído com CH₂Cl₂ puro. Uma das frações obtidas com 1.4 g foi reunida com frações semelhantes de purificações anteriores (total de 2.17 g). Este material purificado em c.c. em gel de sílica eluída com CH₂Cl₂ forneceu a substância XXIII (235 g). Sucessivas c.c. das frações mais polares forneceram ainda XIX (contaminada), XXI (17 mg) e XXII (28 mg).

5.5 ANÁLISES FÍSICAS E ESPECTROSCÓPICAS DOS METABÓLITOS
ISOLADOS E SEUS DERIVADOS

5.5.1 11,12-EPOXINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)

É um óleo incolor (125 mg) obtido do fracionamento do extrato A. A análise espectroscópica apresentou os seguintes resultados:

$[\alpha]_D -62.0$, (c=1.00, CHCl_3)

IV v máx. (filme): 2915, 1450, 1370, 127'5, 1240, 1180, 1060, 1045, 995, 903, 895, 835, 810 e 788 cm^{-1} .

UV (metanol): não apresentou absorção acima de 200 nm.

EM m/z (int. rel.): 220 (26), 205 (17), 202 (22), 190 (86),
[H]⁺220, C₁₅H₂₄O 188 (28), 163 (03), 147 (89), 135
(45), 133 (45) e 107 (100%).

RMN ¹H: δ 0.86 (3H, d, J= 6.5 Hz), 1.04 (3H, s), 1.39 (3H, s), de 1.40 a 2.0 (m), 2.57 (1H, d, J= 6.5 Hz), 2.75 (1H, d, J= 6.5 Hz) e 5.45 (1H, m, W^{1/2} J= 11 Hz)

RMN ^{13}C : δ 141.05 (s), 121.86 (d), 59.87 (t),
(CDCl_3 , 25.5 MHz) 58.99 (s), 49.03 (d), 40.28 (s),
34.47 (d), 31.62 (t), 27.75 (t), 25.69
(t), 23.88 (t), 23.29 (t), 21.36 (q),
20.59 (q) e 16.52 ppm (q).

5.5.1.1 TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS

A - REDUÇÃO DO 11,12-EPOSINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)

O epóxido (XIX, 46 mg) dissolvido em tetrahydrofurano seco (THF) 5 ml, foi refluxado durante três horas em presença de excesso de hidreto de lítio e alumínio (H_4LiAl). O meio reacional foi resfriado e tratado por adição sucessiva de AcOEt, EtOH, H_2O e H_2SO_4 1N (2 ml cada). Da extração com CHCl_3 e posterior evaporação do extrato orgânico (seco em MgSO_4) obteve-se XX impuro. Purificação por c.c.d, eluída duas vezes com hexano/acetato de etila (88:12), forneceu XX puro (38mg) com rendimento de 81%. Foi cristalizado em CHCl_3 .

11-HIDROXINARDOSIN-1(10)-ENO (XX)

Ponto de fusão: 86 - 88 °C

IV v máx. (filme): 3400, 2915, 1460, 1370, 1560, 1130,
1120, 957, 922, 872, 860, 833 e 802 cm^{-1} .

EM m/z (int. rel.): $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 204 (4t), 189 (57), 161 (46),
149 (26), 122 (42), 107 (34) e 59 (100%)

RMN ^1H : δ 0.95 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.07 (3H,s),
(CDCl_3 , 100 MHz) 1.32 (3H, s), 1.36 (3H, s), 2.51 (1H,
ddq, J= 2, 6.5, 6.5 Hz) e 5.42 ppm (1H,
m, w $\frac{1}{2}$ = 10Hz)

RMN ^1H : 45 0.94 (3H, d, J= 6.5 Hz), 5.02
(C_6D_6 , 100 MHz) (3H, s), 5.18 (3H, s), 5.36 (3H, s),
2.65 (1H, ddq, J= 2, 6.5, 6.5 Hz) e
5.35 ppm (1H, m, w $\frac{1}{2}$ = 10 Hz)

B - REARRANJO DO 11,12-EPOXINARDOSIN-1(10)-ENO (XIX)

Numa primeira tentativa o $(\text{Et}_2\text{O})_2\text{BF}_3$ destilado na hora foi adicionado a uma solução de XIX impuro (10 mg) em benzeno anidro (2 ml) mantida a 0°C . Deixou-se o meio reacional atingir a temperatura ambiente e após 30 min. a reação foi interrompida com adição de água destilada. O meio reacional foi extraído 3 vezes com CHCl_3 e a fase orgânica seca com MgSO_4 .

Purificação pr eliminar com gradiente de diclorometano: hexano (1:1 a 1:0), seguida de c.c.d.p. eluída com CH₂Cl₂ puro por duas vezes, forneceu um álcool (XXI) em pequena quantidade ao contrário do aldeído esperado (8 mg).

12-HIDROXINARDOSIN-1(10),11(13)-DIENO (XXI)

IV v max. (filme): 3350, 2930, 2860, 1500, 1460, 1375, 900 e 830 cm⁻¹

Esta reação foi repetida com a substância XIX obtida da extração B. Os dados espectrais de IV EM confirmam o resultado anterior.

IV v máx. (filme 3350, 2930, 1500, 1460, 1375, 1250, 1080, 890, 850 e 830 cm⁻¹

EM m/z (int. rel.): 220 (100), 205 (77), 191 (22), 187(11), [M]⁺ 220, C₁₅H₂₄O 177 (19), 163 (87) e 54 (97%)

5.5.2 12-HIDROXINARDOSIN-1(10),11(13)-DIENO (XXI NATURAL)

Substância constituída de uma goma incolor (17 mg) obtida do fracionamento em c.c. em gel de sílica do extrato C.

[α]_D -27.5, (c= 1.00, CHCl₃)

IV v máx. (filme): 3364, 2936, 2876, 1650, 1434, 1382,
1052, 980, 910 e 860 cm^{-1}

RMN ^1H : δ 0.76 (3H, d, $J= 6.8$ Hz), 1.06 (3H, s),
(CDCl_3 , 250 MHz) 1.34 a 2.38 (12H, m), 4.01 (2H, t,
 $J= 1.3$ Hz), 5.10 (1H, s), 5.23 (1H, d,
 $J= 1.4$ Hz), 5.37 ppm (1H, t, $J= 2.6$ Hz)

RMN ^{13}C : δ 149.82 (s), 142.08 (s), 121.73 (d),
(CDCl_3 , 62.8 MHz) 112.04 (t), 67.33 (t), 45.40 (d), 40.34
(s), 33.95 (d), 31.77 (t), 27.53 (t),
25.96 (t), 25.88 (t), 21.07 (t), 20.55
(q), 15.56 ppm (q)

A fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ foi determinada a
partir dos dados espectrais de RMN ^{13}C .

5.5.3 4,5-EPOXIGERMACRA-1(10),7(11)-DIEN-8-ONA (XXII)

É um óleo incolor (28 mg), obtido do extrato C.

$[\alpha]_D -1.9$, ($c= 1.00$, CHCl_3)

IV v máx. (filme): 2936, 2862, 1682, 1634, 1454, 1384,
1160, 1078, 996, 950, 892, 876, 846
 cm^{-1}

EM m/z (int. rel.): 234 (2), 219 (3), 191 (4), 178 (11),
167 (38), 125 (20), 121 (32), 109 (21),
97 (20), 81 (19), 69 (18), 68 (100), 67
(33), 53 (23), 51 (19), 43 (35), 41
(41), 39 (20), 18 (30%)

RMN ¹H : δ 1.14 (1H, m, [Hj]), 1.22 (3H, s,
(CDCl₃, 250 MHz) [Me-D]), 1.79 (6H, s, [Me-B e c]),
1.87 (3H, s, [Me-A]), 1.96 a 2.14 (4H,
m complexo, [Hf-i]), 2.77 (1H, dd, J=
2.83 e 10.64 Hz, [He]), 2.94 (1H, dd,
J= 2.83 e 13.85 Hz, [Hd]), 3.26 (1H, d,
J= 15.31 Hz, [Hc]), 3.32 (1H, d, J=
15.31Hz, [Hb]), 5.32 ppm (1H, t, J=
7.75 e 7.25 Hz, [Ha])

RMN ¹H : 1.22 (1H ,m, [Hj]), 1.33 (3H, S,
(C₆D₆, 250 MHz) [Me-D]), 1.47 (3H, s, [Me-c]). 1.57
(3H,s, [Me-B]), 1.94 (3H, s, [Me-A]),
1.85 a 2.00 (3H, s, [Hf-h]), 2.22 (1H,
t, [Hi]), 2.81 (1H, dd, J= 2.83 e
10.64 Hz [He]), 2.95 (1H, dd, J= 2.83 e
13.85 Hz, [Hd]), 3.16 (1H, d, J= 15.32
Hz, [Hc]), 3.22 (1H, dd, J= 15.32 Hz,
[Hb]), 5.35 ppm (1H, t, J= 8.17 Hz,
[Ha])

RMN ^{13}C : δ 208.44 (s), 134.36 (s), 132.39
(CDCl_3 , 62.8 MHz) (s), 130.36 (s), 128.07 (d), 60.96
(s), 60.31 (d), 47.37 (t), 37.80 (t),
29.35 (t), 25.53 (q), 25.45 (t), 22.67
(q), 20.26 (q), 17.85 ppm (q)

5.5.4 GERMACRA-1(10),4,7(11)-TRIEN-8-ONA (XXIII)

É um óleo ligeiramente amarelado (235 mg), de odor intenso, relativamente abundante no extrato C.

IV v máx. (filme): 3360, 2930, 2875, 1698, 1660, 1455,
1378, 1302, 1159, 1000, 911, 868 e 849
 cm^{-1} .

UV (metanol): 240nm ($\epsilon = 1300$)

RMN ^1H : δ 1.57 (3H, d, [Me-D]), 1.68 (3H, s,
(CDCl_3 , 200 MHz) [Me-c]), 1.72 (3H, s, [Me-s]), 1.87
(3H, s, [Me-A]), 1.92 a 2.05 (4H, m,
[Hg-j]), 2.91 (2H, d, $J = 8.0$ Hz,
[He-f]). 3.05 (2H, s, [Hc-d]), 5.05
(1H, t, $J = 8.0$ Hz, [Hb]), 5.28 ppm (1H,
t, $J = 7.5$ Hz, [Ha])

RMN ^{13}C : δ 211.35 (s), 135.28 (s), 135.28 (s),
(CDCl_3 , 50.3 MHz) 132.21 (s), 125.59 (s), 125.87 (d),
121.45 (d), 47.71 (t), 37.21 (t), 28.30
(t.), 28.20 (t), 25.27 (q), 22.02 (q),
19.45 (q), 17.51 ppm (q)

Este espectro (RMN ^{13}C) determina a fórmula
molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$, compatível com cinco graus de
insaturação.

CAPÍTULO VI
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARNES, R.D., "Zoologia de Los Invertebrados", Ed. 3^a ed. Ed., Interamericana, 826 pp. (1977).
2. FENICAL, W., *J. Nat. Prod.*, **50** (6): 1101 (1987).
3. WEINHEIMER, A.J. e MATSON, J.A., *Lloydia*, **38** (5): 378 (1975).
4. FUSETANI, N.; ASANO, M.; MASTSUNAGA, S. e HASHIMOTO, K., *Tetr. Letters*, **28** (47): 5837 (1987).
5. FUSETANI, N.; MATSUNAGA, S. KONOSU, S., *Experientia*, **37** (7): 680 (1981).
6. WEINHEIMER, A.J.; WASHECHCK, H.P.; van der HELM, D. e HOSSAIN, B., *Chem. Comm.*, **18**: 1070 (1968).
7. STILL, C.W. e MOBILIO, D., *J. Org. Chem.*, **48**: 4785 (1983).
8. Li, M.K.W.; SCHEUER, P.J., *Tetr. Letters*, **25** (16): 587 (1984).
9. TAKEDA, K.; MINATO e H. ISHIKAWA, M., *J. Chem. Soc.*, 2591 (1964).

10. KODAMA, M.; OKUMURA, K.; KOBAYASHI, T.T. e ITA, S., *Tetr. Letters*, **25 (50)**: 5781 (1984).
11. McENROE, F.J.; FENICAL, W., *Tetrahedron*, **34**: 1661 (1978).
12. IWATA, C.; TAKEMOTO, Y.; DOI, M. e IMANISHI, T., *J. Org. Chem.*, **53**: 1623 (1988).
13. BROCA, C.A.; CHAN, S. e PETERSON, B., *J. Org. Chem.*, **53 (7)**: 1584 (1989).
14. PATERSON, I. e GARDNER, M., *Tetrahedron*, **45 (16)**: 5283 (1989).
15. HOKAMA, S.; TANAKA, J.; HUGA, T.; FUSEYANI, N.; ASANO, M.; MATSUNAGA, S. e HASHIMOTO, K., *Chem. Lett.*, **5**: 855 (1988).
16. COVAL, S. J. e CROSS, S., *J. Nat. Prods*, **51 (5)**: 981 (1988).
17. WRIGHT, A.E.; BURREN, N.S. e SCHULTE, G.K., *Tetr. Letters*, **30 (27)**: 3491 (1989).
18. LOOK, S.A.; FENICAL, W.; JACOBS, R.S. e CLARDY, I., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **83 (7)**: 6238 (1986).
19. WEINHEIMER, A.J.; MIDDLEBROOK, R.E.; BLEDSOE, J.O.; MARSICO, W.E. e KARNS, T.K.B., *Chem. Comm.*, 384 (1968).
20. GROWEISS, A.; LOOK, S.A. e FENICAL, W., *J. Org. Chem.*, **53 (11)**: 2401 (1988).
21. SAKEMI, S. e HIGA, T., *Experientia*, **43 (6)**: 624 (1987).
22. WEINHEIMER, A.J. e MATSON, J.A., *Tetr. Letters*, **15**: 1295 (1985).
23. LOOK, S.A.; BURCH, M.T. e FENICAL, W., *J. Org. Chem.*, **50 (26)**: 5741 (1985).

24. BANDURRAGA, M.M.; FENICAL, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**: 6463 (1982).
25. LOOK, S.A. e FENICAL, W., *Tetrahedron*, **43** (15): 3363 (1987).
26. FENICAL, W; OKUDA, R.K.; BANDURRAGA, M.M.; CULVER, P. e JACOBS, R.S. *Science*, **212**: 1512 (1981).
27. CULVER, P.; FENICAL, W. e TAYLOR, P. *J. Biol. Chem.*, **259** (6): 3763 (1984).
28. GROWEISS A.; FENICAL, W; CUN-HENG, H. e CLARDY, J. *Tetr. letters*, **26** (20): 2379 (1985).
29. SELOVER, S; CREWS, P.; TAGLE, B e CLARDY, J. *J. Org. Chem.*, **46** (5): 964 (1981).
30. STANDING, J.D.; HOOPER, I.R. e COSTLOW, J.D. *J. Chem. Ecol.*, **10** (6): 823 (1984).
31. GERHART, D. J.; RITTSCHOF, D. e MAYO, S. W. *J. Chem. Ecol.*, **14** (10): 1905 (1988).
32. LEE, W.Y.; MACKO, S.A. e CIERESZKO, L.S. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **54** (1): 91 (1981).
33. BOWDEN, B.; COLL, J.C.; PATALENGHUG, W.; SKELTON, B.W.; VASILESCU, I e WHITE, A.H. *Aust. J. Chem.*, **40**: 2085 (1987).
34. IZAC, R.R.; POET, S.E. e FENICAL, W. *Tetr. Letters*, **23** (7): 3743 (1982).
35. PATTON, W.K. *Bull. Mar. Sci.*, **122** (2): 431 (1972).
36. KOKKE, W.C.M.C. e FENICAL, W., *Comp. Biochem. Physiol.*, **68B** (2): 281 (1981).

37. KOKKE, W.C.M.G.; EPSTEIN, S.; LOOK, S.; RAU, H.G.;
FENICAL, W., DJERASSI, C., *J. Biol. Chem.*, **259** (13):
8168 (1984).
38. PAPASTEFANOU, C. e ANDERSON, D.G. *Comp. Biochem. Physiol.*,
73B (3): 617 (1982).
39. MANN, J. "Secondary Metabolism", 2^a ed., Clarendon Press,
Oxford, 112 pp. (1987).
40. CAMBRE, R.G.; CRAW, P.A.; BUCKHTON, J.S.; CLARK, G.R. e
RICKARD, E.F. *Aust. J. Chem.*, **41**: 365 (1988).
41. WEINHEIMER, A.J.; CHANG, C.W.J.; MATSON, J.A.A.
Fortschritte Chem. Org. Naturstoffe, **36**: 285 (1978).
42. STIERLE, D.B.; CARTE, B.; FAULKNER, J.D.; TAGLE, B. e
CLARDY, J. *Am. Chem. Soc.*, **102**: 5088 (1980).
43. KSEBATI, M.B.; SCHMITZ, F.J. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **95**
(9-10): 835 (1986).
44. SHIN, J. e FENICAL, W. *J. Org. Chem.* **53** (14): 3271
(1988).
45. BOWDEN, B.F.; COLL, J.C.; LIYANAGE, N.; MITCHELL, S.S.;
STOCKIE, G.J. e van ALTENA, I.A. *Aust. J. Chem.* **31**:
163 (1978).
46. BAYER, F.M. "The Shallow-water Octocorallia of the West
Indian Region. A Manual for Marine Biologist".
Studies of the fauna of Curaçao and other Caribbean
Island, Martinus Nijhoff, Den Haag, 12. 373 pp
(1961).
47. BAYER, F. M. "Seminários de Biologia Marinha, São Paulo
1980". Acad. Brasil. Ciênc.; RJ, 383 pp. (1981).

48. SHARAPIN, N. *Rev. Bras. Farm.*, **49**: 331 (1968).
49. KOKKE, W.C.M.C.; BOHLIN, L.; FENICAL, W e DJERASSI, C.
Phytochemistry, **21**: 881 (1982).
50. KELECOM, A.; SOLÉ-CAVA, A.M. e KANNENGIESSER, G.J. *Bull. Soc. Chim. Belges*, **89**: 1013 (1980).
51. CIERESZKO, L.S.; ODENSE, P.H. e SCHIMIDT, R.W. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **90**: 920 (1960).
52. WEINHEIMER, A.J.; WASHECKECK, P.H. *Tetr. letters*, **39**: 3315 (1969).
53. GOPICHAND, Y; SCHMITZ, F.J.; SCHMIDT, P.G. *J. Org. Chem.*, **45 (12)**: 2523 (1980).
54. LOOK, S.A.; BUCHHOLG, K.; FENICAL, W. *Experientia*, **40 (9)**: 931 (1984).
55. IZAC, R.R.; BANDURRAGA, M.M.; WASYLYK, J.M.; DUNN, F.N. e FENICAL, W. *Tetrahedron*, **38 (2)**: 301 (1982).
56. JEFFS, P.W. e LYTLE, J. *Lloydia*, **37 (2)**: 315 (1974).
57. WEINHEIMER, A.J.; YOUNGBLOOD, W.W.; WASHECKECK, P.H.; KARNs, T.K.B. e CIERESZKO, L.S. *Tetr. letters*, **(7)**: 497 (1970).
58. PRUNA, L.B; HENRIQUES, R.D. e HUNECK, S. *Die Pharmazie*, **37 (4)**: 302 (1982).
59. IZAC, R.R.; POET, S.E. e FENICAL, W. *Tetr. Letters*, **23 (37)**: 3743 (1982).
60. KSEBATI, H.B.; CIERSZKO, L.S.; SCHMITZ, F. J. J. *Nat. Prod.*, **47 (6)**: 1009 (1984).
61. KELECOM, A. *Ciênc. e Cult. (supl.)* **33**: 466 (1981).

62. KELECOM, A. e BRICK-PÉRES, M. *Ciênc. e Cult. (Supl.)* 35: 465 (1983).
63. RUCKER, G. *Chem. Ber.*, 102: 2707 (1969).
64. RUCKER, G. *Liebigs Ann. Chem.*, 733: 152 (1970).
65. BOWDEN, B.F.; COLL, J.C.; MITCHELL, S.J.; SKELTON, B. e WHITE, A.H. *Aust. J. Chem.*, 33: 2737 (1980).
66. BOWDEN, B.F.; COLL, J.C.; MITCHELL, S.J. *Aust. J. chem.*, 33 (4): 885 (1980).
67. AHOND, A.; CHIARONI, A.; COLL, J.C.; FOURNERON, J.D.; RICHE, C.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D. e TURSCH, B. *Bull. Soc. Chem. Belg.*, 88 (5): 313 (1979).
68. DALOZE, D.; BRAEKMAN, J.C.; GEORGET, P.; TURSCH, B. *Bull. Soc. Chem. Belg.*, 86 (1-2): 47 (1977).
69. ULUBELEN, A.; GÖREN, N. e JAKUPOVIC, J. *Phytochemistry*, 26 (1): 312 (1987).
70. REICHARDT, P.B.; ANDERSON, B.J.; CLAUSEN, T.P e HOSKINS, C.L. *Can. J. Chem.*, 67 (7): 1174 (1989).
71. CATALAN, C.A.N.; BARDON, A.; RETAMAR, J.A.; GROS, E.G.; VERGHESE, J. e JOY, H.T. *Flavour Fragrance J.*, 4 (1): 25 (1989).
72. OGNYANOV, I.e IVANOV, D. *Recent Develop. Chem. Nat. Carbon compounds*, 2: 47 (1967).
73. BOHLMANN, F.; ZDERO, C. *Chem. Ber.*, 106: 3614 (1973).
74. TEIXEIRA, V.L. "Os diterpenos da alga marinha *Dictyota cervicornis* kützing (Phaeophyta, Dictyotales) e sua avaliação como marcadores taxonômicos". Tese de Mestrado, UFRJ (1985).

75. GOTTLIEB, O.R. "Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology, an Essay into a Novel Botanical Discipline", Berlin, Springer-Verlag, 170 pp. (1982).
76. BAYER, F.M. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, **94** (3): 902 (1981).
77. SCHEUER, P.J. "Chemistry of Marine Natural Products", Acad. Press, New York, 201 pp. (1973).
78. SØRENSEN, T.K. *Danske. Vidensk. Selsk.*, **5**: 1934 (1948).
79. CRISCI, J.V. e ARMENGOL, M.F.L. "Introduction a la Teoria y Practica de la Taxonomia Numerica" Monografia n° 26, série de Biologia, Programa de Monografias científicas, OEA, Washington D.C. 131 pp. (1983).
80. BROOKS, D.R. "Manual de Metodologia Cladística", apoio SBZ e SB ictiologia 110pp. (1989).
81. KUKENTHAL, W. "Gorgonaria: Wissenschaft Ergebn deutsh Tiefsee - Expedition auf dem Dampfer "Valdivia"" 1898/99, Band 13 part 2, 646 pp. (1919).
82. TEIXEIRA, V.L. e KELECOM, A. *Neritica*, **2** (supl): 179 (1987).
83. BAYER, F.M. *Bull. Mar. Sci. Gulf. Carib.*, **3** (2): 101 (1953).
84. MARGALEF, R. "Ecología", Omega, S.A., Barcelona, 951 pp. (1982).
85. DIRETORIA DE HIDROGRAFIA E NAVEGAÇÃO (Marinha do Brasil), Atlântico Sul, Atlas Oceanográfico Costa Leste do Brasil. Projeto Atlas Oceanográfico 4 (1975).