

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**Rafael Cesar Gonçalves Pereira**

**Estudo fitoquímico de folhas e galhos de *Cheiloclinium  
cognatum* (Celastraceae) e síntese de derivados  
glicosiltriazólicos de triterpenos pentacíclicos com potencial  
citotóxico**

**Belo Horizonte  
2021**



UFMG-ICEx/DQ. 1433

T. 656

**RAFAEL CESAR GONÇALVES PEREIRA**

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE  
*Cheiloclinium cognatum* (CELASTRACEAE) E SÍNTESE DE  
DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS  
PENTACÍCLICOS COM POTENCIAL CITOTÓXICO**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química

**Belo Horizonte**

**2021**

Ficha Catalográfica

P436e Pereira, Rafael Cesar Gonçalves  
2021 Estudo fitoquímico de folhas e galhos de  
T Cheiloclinium cognatum (Celastraceae) e síntese de  
derivados glicosiltriazólicos de triterpenos  
pentacíclicos com potencial citotóxico [manuscrito] /  
Rafael Cesar Gonçalves Pereira. 2021.  
[xvii], 205 f. : il.

Orientadora: Lucienir Pains Duarte.

Coorientadora: Rossimiriam Pereira de Freitas.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas  
Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses. 2. Celastraceae -  
Teses. 3. Produtos naturais - Teses. 4. Terpenios -  
Teses. 5. Agentes antineoplásicos - Teses. 6. Leucemia  
- Teses. I. Duarte, Lucienir Pains, Orientadora. II.  
Freitas, Rossimiriam Pereira de, Coorientadora. III.  
Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**"Estudo Fitoquímico de Folhas e Galhos de *Cheilocladium cognatum* (Celastraceae) e Síntese de Derivados Glicosiltriazólicos de Triterpenos Pentacíclicos Com Potencial Citotóxico"**

**Rafael Cesar Gonçalves Pereira**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Lucienir Pains Duarte - Orientadora  
UFMG

Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas - Coorientadora  
UFMG

Prof. Claudia Moraes de Rezende  
UFRJ

Prof. Sérgio Scherrer Thomasi  
UFLA

Prof. Diogo Montes Vidal  
UFMG

Profa. Rosemeire Brondi Alves  
UFMG

Belo Horizonte, 26 de fevereiro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Diogo Montes Vidal, Professor do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lucienir Pains Duarte, Professora do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 17:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosemeire Brondi Alves, Professora do Magistério Superior**, em 28/02/2021, às 02:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rossimiriam Pereira de Freitas, Professora do Magistério Superior**, em 28/02/2021, às 09:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sérgio Scherrer Thomasi, Usuário Externo**, em 01/03/2021, às 11:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudia Moraes de Rezende, Usuário Externo**, em 01/03/2021, às 13:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0580241** e o código CRC **C842AFE8**.

Este trabalho foi desenvolvido sob orientação da Professora Doutora Lucienir Pains Duarte e coorientação da Professora Doutora Rossimiriam Pereira de Freitas.

**“But the moment the politicians start saying they are in denial of what the scientists are telling them, of what the consensus of scientific experiments demonstrates, that is the beginning of the end of an informed democracy.”**

— Neil deGrasse Tyson.



## AGRADECIMENTOS

Iniciarei os agradecimentos de maneira diferente. Irei, primeiramente, dedicar esta tese ao meu pai, Paulo, que sempre foi um entusiasta da educação, e que teve um papel muito importante na minha formação desde o ensino fundamental. Já me chamava de doutor antes mesmo de eu ter completado todo o meu percurso nas pós-graduação. Ele foi internado no dia que conclui a escrita do manuscrito deste trabalho, e veio a falecer dois dias antes do meu aniversário. Onde quer que você esteja, pai, saiba que este trabalho é dedicado a você.

Quero agradecer à minha família. Meus irmãos, Igor e Ludmila, e à minha mãe, Vânia, que sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas, sofreram comigo as minhas angústias e compartilharam comigo as alegrias.

Agradeço ao meu marido, Vanderson. Meu porto seguro, meu companheiro, meu amor. Foram anos de muito estresse, com muitos momentos em que me questionei das minhas escolhas profissionais. Ele sempre esteve ao meu lado, me dando força e apoio necessários para suportar esses momentos e seguir em frente.

Minha trajetória na UFMG foi muito gratificante. Foram sete anos, desde o início do mestrado, em que conheci pessoas maravilhosas que fizeram cada momento valer a pena, apesar dos percalços e das dificuldades. Talvez tão importante quanto o título sejam as amizades que fiz durante esse período.

Quero agradecer a todos os meus amigos do “corredor da Orgânica”, pelo companheirismo e pela troca de saberes e de reagentes (claro!). Um abraço especial para os amigos Breno Oliveira e Carlos, companheiros de academia, Breno Barbosa, Yuri e Wellington (Panta) companheiros da bandeira arco-íris, Bruna, Taníris, Ju Kadooca, Natália, Samara, Ruth, Talita, Gabi, Fernanda G., Lucas, Wallace, Larissa, Raposo, Cláudia, José, Lídia, Júnio e Tati Borgatti, queridos companheiros de cafés, bolos e alegrias.

Agradeço aos amigos dos demais “corredores”, em especial para Ana Luísa, Arthur, Michelle, Aline, Nathany, Ana e Alexandre, que dividimos tantos momentos bons dentro e fora da UFMG.

Agradeço à Profa. Rose Brondi, com quem tive o prazer de fazer duas disciplinas. É uma pessoa excepcional, pela qual tenho grande admiração. Ao Prof. Eduardo Alberto, que me fez quebrar diversos paradigmas orbitales em Química

## AGRADECIMENTOS

Orgânica. Aos Profs. Dayse e Gilson, que tive o prazer de aprender um pouco mais sobre escrita acadêmica e docência no ensino superior. Ao Prof. Claudio Donnici, que me mostrou algumas dezenas de rearranjos e outras classes de reações em Química Orgânica até então completamente desconhecida por mim. Ao Prof. Luiz Cláudio, que me mostrou como raciocinar e planejar reações orgânicas. Ao Prof. Cleiton, com quem já dividi muitas caronas interior a fora, e que foi a primeira pessoa a me dar oportunidade em participar de uma banca de TCC como avaliador. À Profa. Lúcia, com quem troquei muitas figurinhas sobre PN, programas de laboratório e festas, claro. À Dra. Ivana, super companheira, que me ensinou muito, mas muito mesmo, sobre RMN.

Também agradeço aos colaboradores que realizaram os testes biológicos e quimiométricos deste trabalho. Prof. Adriano e Dra. Fernanda sempre muito cuidadosos com os testes e muito prestativos com as minhas (muitas) dúvidas. Prof. Vinícius e Valtair (que trabalhou comigo como IC e contribuiu duplamente para este trabalho) pelas colaborações em quimiometria, que permitiram um enriquecimento dos nossos resultados.

Gostaria de agradecer a todos os colaboradores da UFMG, aos profissionais da secretaria da pós, dos serviços gerais, limpeza, portaria e almoxarifado, que trabalham arduamente para manterem o DQ em pleno funcionamento. Um agradecimento em especial à Alessandra, uma pessoa linda, MUITO trabalhadora e extremamente divertida, e à Marcinha, uma das pessoas mais doces e verdadeiras que eu conheci.

Faço também um agradecimento especial à família Neplam. É até difícil descrever o carinho que tenho por todos, e a felicidade de fazer parte desta família. Um beijo mais que especial para Mariana, Karen, Gregório (Greguinho), Acácio, Fernanda, Vanessa, Fernando e Roqueline, diferentes gerações que tive o prazer de conviver e viver durante esse tempo. Aos meus companheiros de bancada Valtair e Victor, que aceitaram trabalhar comigo e contribuíram imensamente para este trabalho. À Leila, minha primeira coorientada de TCC e agora mestranda no Neplam. Ao Prof. Sidney Vieira, mais conhecido como Bibó, que foi meu coorientador no mestrado e acabou virando um amigo. As terças pela manhã eram cheias de cafés, bolos, política e risadas. Ao Prof. Diogo e Dra. Daiane, o casal nota 1000 que veio

## AGRADECIMENTOS

diretamente de Curitiba para trazer muito conhecimento, muita energia e alegria para o grupo.

Separo um parágrafo para agradecer a duas companheiras, amigas do coração, verdadeiros presentes que a UFMG e o Neplam me deram. Grasiely (Grasi), uma pessoa maravilhosa, competente, sensata e que hoje é, com muito orgulho, professora da UFMG. À Josana (Jojo) eu teria que reservar uma tese inteira de agradecimentos. Sou eternamente grato por tê-la como uma amiga tão querida. Jojo, eu te amo.

Aos meus amigos que vieram da UFV para BH em 2014 para ficarmos “perdidos na UFMG”. Fabiano (Fabs) e Paula (Poletchy), enfim (ou mais precisamente, em fim) nos encontramos. Foram muitas cervejas, vinhos, confidências e alegrias que passamos juntos. Até parceria orgânica-inorgânica fizemos. Que continuemos assim.

Agradeço à minha coorientadora Profa. Rossimiriam Freitas, que aceitou o convite de coorientação, com direito a promessa com dedo mindinho. A Rossi é uma pessoa espetacular. Engraçada, assertiva e mega competente. Muito obrigado por toda orientação e carinho durante essa caminhada.

Encerro meus agradecimentos à pessoa que me acolheu na família Neplam e tornou possível a realização deste trabalho. Agradeço imensamente à minha orientadora, Profa. Lucienir. Não consigo explicar o quão feliz sou em tê-la conhecido e ter podido conviver por todos esses anos. Meu crescimento acadêmico e pessoal é, em muito, influenciado pelos ensinamentos por ela passados. Sabemos das inúmeras dificuldades da relação entre orientadores e orientados, e como essa relação afeta diretamente a qualidade do trabalho e mesmo a saúde mental e física de ambas as partes. Eu posso afirmar categoricamente que desse problema eu não vivi, muito pelo contrário. Apesar de todo o estresse que todo percurso de doutorado naturalmente carrega, Lucienir teve (e tem) a maestria de contornar essas dificuldades, evidenciar o que há de melhor em nós e nos incentivar de tal maneira que tudo parece ficar mais fácil. Meus agradecimentos não são suficientes para expressar todo meu carinho por você, Lu.

Prometi a mim mesmo que seria breve nos agradecimentos e, claramente, não consegui. Mas isso só mostra que este trabalho é meu, mas tem contribuição de muitas pessoas maravilhosas. Obrigado a todas e a todos por me ajudarem a tornar esse momento possível.

## SUMÁRIO

## SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS .....	i
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	iv
ÍNDICE DE TABELAS .....	v
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE PRODUTOS NATURAIS ISOLADOS.....	xi
LISTA DE PRODUTOS DE SÍNTESE.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	3
OBJETIVOS DO TRABALHO .....	3
<b>CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE <i>C. cognatum</i>.....</b>	<b>4</b>
1 – INTRODUÇÃO .....	4
2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	9
2.1 – Métodos gerais.....	9
2.2 – Coleta e identificação do material vegetal .....	10
2.3 – Preparação dos extratos dos galhos de <i>Cheiloclinium cognatum</i> .....	10
2.4 – Fracionamento do extrato EHGC .....	12
2.5 – Fracionamento do extrato ECGC .....	15

## SUMÁRIO

2.6 – Fracionamento do extrato EAFC.....	18
2.7 – Fracionamento do extrato EAGC .....	20
2.8 – Fracionamento do extrato EMFC .....	22
2.9 – Fracionamento do extrato EMGC.....	23
3 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL .....	24
3.1 – Compostos graxos.....	24
3.2 – Esteróide.....	27
3.3 – Triterpenos pentacíclicos – ursanos e oleanano .....	29
3.4 – Triterpenos pentacíclicos – friedelanos.....	36
3.5 – Triterpenos pentacíclicos – glutinano.....	50
3.6 – Flavonoide .....	52
3.7 – Ácidos fenólicos.....	54
3.8 – Xantona .....	56
4 – CONSIDERAÇÕES PARA O ESTUDO FITOQUÍMICO .....	58

## CAPÍTULO 2: SÍNTESE DE DERIVADOS

<b>GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS .....</b>	<b>60</b>
1 – INTRODUÇÃO .....	60
2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	67
2.1 – Preparação do ácido populnônico (S1).....	67
2.2 – Preparação do populnonato de propargila (S2) .....	68
2.3 – Preparação da <i>N</i> -propargilpopulnonamida (S3).....	69
2.4 – Preparação da <i>N</i> -isopropil- <i>N</i> -(isopropilcarbamoil)populnonamida (S7) .....	71
2.5 – Preparação das glicosilazidas (S4a,b,d) .....	72
2.6 – Preparação da glicosilazida S4e .....	76
2.7 – Preparação dos derivados glicosiltriazólicos (S5a-e e S6a-e).....	78
3 – OBTENÇÃO DOS DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS.....	88
3.1 – Obtenção dos derivados propargílicos S2 e S3 .....	88
3.2 – Obtenção das glicosilazidas .....	98

## SUMÁRIO

3.3 – Obtenção dos derivados glicotriazólicos de triterpenos.....	103
4 – CONSIDERAÇÕES PARA A SÍNTESE DOS DERIVADOS GLIGOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS.....	109
<b>CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA.....</b>	<b>110</b>
1 – INTRODUÇÃO .....	110
2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....	114
2.1 – Cultura de células tumorais THP-1 e K562 e de células CMSP e WI-26 VA4.....	114
2.2 – Ensaio de viabilidade celular utilizando MTT .....	115
2.3 – Ensaio de marcação por Anexina V e iodeto de propídeo (IP) para apoptose .....	115
2.4 – Análise da expressão de mRNA.....	116
2.5 – Análise estatística .....	116
2.5 – Análise quimiométrica .....	117
3 – RESULTADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA .....	118
3.1 – Atividade citotóxica <i>in vitro</i> .....	118
3.2 – Avaliação do mecanismo de ação para apoptose.....	121
3.3 – Estudos da expressão gênica em células sobreviventes.....	122
3.4 – Análise quimiométrica .....	125
4 – CONSIDERAÇÕES PARA O ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	128
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>129</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>131</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>147</b>
A. Espectros de P7 (triacilglicerol) .....	147
B. Espectros de P10 (ácido graxo).....	148
C. Espectros de P8 ( $\beta$ -sitosterol) .....	150
D. Espectros de P1 ( $3\beta$ -aciloxiurs-12-eno) .....	151

## SUMÁRIO

E. Espectros de P5 ( $\alpha$ -amirina) .....	153
F. Espectros de P5 ( $\alpha$ -amirina) e P6 ( $\beta$ -amirina) .....	154
G. Espectros de P2 (friedelina) .....	156
H. Espectros de P3 (friedelinol).....	157
I. Espectros de P9 (canofilol) .....	159
J. Espectros de P11 (29-hidroxifriedelan-3-ona).....	160
K. Espectros de P12 (friedelano-3 $\beta$ ,29-diol) .....	162
L. Espectros de P13 (acetato de 3-oxofriedelan-29-ila).....	163
M. Espectros de P4 (glutinol) .....	165
N. Espectros de P14 (epigalocatequina).....	166
O. Espectros de P15 (ácido vanílico) e P16 (ácido siríngico) .....	168
P. Espectros de P17 (mangiferina) .....	169
Q. Espectros de S1 (ácido populnônico).....	170
R. Espectros de S2 (populnonato de propargila) .....	172
S. Espectros de S3 (N-propargilpopulnonamida).....	174
T. Espectros das glicosilazidas S4a-e.....	176
<b>T1. 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosose (S4a) .....</b>	<b>176</b>
<b>T2. 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-galactopiranosose (S4b).....</b>	<b>176</b>
<b>T3. 2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-xilopiranosose (S4d) .....</b>	<b>177</b>
<b>T4. 2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-<math>\alpha</math>-D-glicopiranosil)-1-azido-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosose (S4e) .....</b>	<b>178</b>
U. Espectros dos derivados glicosiltriazólicos S5a-e .....	179
<b>U1. Populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5a) .....</b>	<b>179</b>
<b>U2. Populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5b) .....</b>	<b>182</b>

## SUMÁRIO

U3. Populnonato de (1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5c).....	184
U4. Populnonato de (1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5d).....	186
U5. Populnonato de (1-(2,3,6-tri- <i>O</i> -acetil-4- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5e).....	188
V. Espectros dos derivados glicosiltriazólicos S6a-e .....	190
V1. <i>N</i> -((1-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6a).....	190
V2. <i>N</i> -((1-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6b).....	192
V3. <i>N</i> -((1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6c).....	194
V4. <i>N</i> -((1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6d).....	196
V5. <i>N</i> -((1-(2,3,6-tri- <i>O</i> -acetil-4- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6e)....	198
X. Espectros dos intermediários S7 e S8.....	200
X1. <i>N</i> -isopropil- <i>N</i> -(isopropilcarbamoil)populnonamida (S7) .....	200
X2. Populnonato de 1 <i>H</i> -benzo[d][1,2,3]triazol-1-ila (S8) .....	202
<b>ANEXOS .....</b>	<b>204</b>
ANEXO 1. CONSTITUINTES ISOLADOS DOS EXTRATOS HEXÂNICO E CLOROFÓRMICO DE FOLHAS DE <i>C. COGNATUM</i> .....	204



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Triterpenos pentacíclicos comumente encontrados em plantas da família Celastraceae .....	4
Figura 2. Flores, folhas, galhos e frutos de <i>Cheiloclinium cognatum</i> .....	6
Figura 3. Triterpenos quinonametídeos com atividade tripanocida .....	6
Figura 4. Triterpenos inéditos isolados de folhas de <i>C. cognatum</i> .....	7
Figura 5. Triterpenos majoritários isolados de folhas de <i>C. cognatum</i> .....	8
Figura 6. Esquema para obtenção dos extratos dos galhos de <i>C. cognatum</i> .....	11
Figura 7. Esquema de fracionamento do extrato EHGC .....	15
Figura 8. Esquema de fracionamento do extrato ECGC .....	18
Figura 9. Esquema de fracionamento do extrato EAFC .....	20
Figura 10. Esquema de fracionamento do extrato EAGC .....	22
Figura 11. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,80-5,30) para P7.....	25
Figura 12. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 0,80-2,45) para P10.....	26
Figura 13. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,40-5,45) para P8.....	28
Figura 14. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,20-4,55) para P1.....	30
Figura 15. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,18-5,16) para P5.....	32
Figura 16. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,15-5,25) para P5 e P6 .....	35
Figura 17. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,20-2,44) para P2.....	37
Figura 18. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,69-3,78) para P3.....	39
Figura 19. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,20-3,70) para P9.....	41
Figura 20. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,15-3,40) para P11.....	43
Figura 21. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,25-3,85) para P12.....	45
Figura 22. Expansões do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,05-3,80) para P13.....	48
Figura 23. Diacetato de friedelano-3 $\beta$ ,29-di-ila .....	48
Figura 24. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,35-5,75) para P4.....	50
Figura 25. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,70-4,25) para P14.....	53
Figura 26. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,8-7,7) para P15 e P16 .....	54
Figura 27. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,0-7,7) para P17.....	56
Figura 28. Ácido betulínico e dois derivados de semissíntese .....	61
Figura 29. Ácido oleanólico e metil bardoxolona.....	61

## SUMÁRIO

Figura 30. Total de publicações e citações por ano* envolvendo a obtenção de derivados de triterpenos.....	63
Figura 31. Análogos do ácido betulínico com expressiva atividade citotóxica frente a células HL-60 .....	64
Figura 32. Triterpenos 2-desoxiglicosilados com expressiva atividade citotóxica .....	64
Figura 33. Análogos do ácido betulínico conjugados a carboidratos.....	65
Figura 34. Expansões dos espectros de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,0-4,0) para a mistura P11+P12 e para S1 .....	90
Figura 35. Expansões dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}^*$ ( $\delta_{\text{C}}$ 70-215) para a mistura P11+P12 e para S1 .....	90
Figura 36. Expansões do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,43-2,49 e 4,60-4,72) para S2 .....	91
Figura 37. Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ ( $\delta_{\text{C}}$ 50-190) para S2 .....	92
Figura 38. Expansões dos espectros de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,5-8,0) e $^{13}\text{C}^*$ ( $\delta_{\text{C}}$ 70-185) para a mistura S3 e S7.....	93
Figura 39. Expansões do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 2,22-2,26; 4,01-4,08 e 5,80-5,90) para a para S3 .....	97
Figura 40. Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ ( $\delta_{\text{C}}$ 70-180) para S3 .....	97
Figura 41. Espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ de Ac-gli.....	99
Figura 42. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ de Ac-gli .....	99
Figura 43. Interações orbitales associadas ao efeito anomérico.....	100
Figura 44. Espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ de Br-gli .....	100
Figura 45. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ de Br-gli.....	101
Figura 46. Espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ de S4a .....	101
Figura 47. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 3,7-5,3) para S4a.....	102
Figura 48. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ de S4a.....	102
Figura 49. Espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ de S5a .....	106
Figura 50. Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}^*$ ( $\delta_{\text{H}}$ 4,0-8,0) para S5a.....	107
Figura 51. Expansão do mapa de contornos COSY* ( $\delta_{\text{H}}$ 4,0-6,0) para S5a.....	107
Figura 52. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}^*$ de S5a.....	108
Figura 53. Triterpenos pentacíclicos com atividade citotóxica.....	111
Figura 54. Derivados triterpênicos 1,2,3-triazólicos com atividade citotóxica.....	112

## SUMÁRIO

Figura 55. Histogramas representativos de citometria de fluxo da avaliação da apoptose/necrose utilizando Anexina V e PI.....	121
Figura 56. Quantificação relativa dos genes TP53 (A), p21 (B), BAK (C) e BCL-2 (D) em células THP-1 nas concentrações do $CI_{50}$ de P3 e P5.....	123
Figura 57. Quantificação relativa dos genes TP53 (A), p21 (B), BAK (C) e BCL-2 (D) em células K562 nas concentrações do $CI_{50}$ de P3 e P5.....	124
Figura 58. Dendrograma da HCA a partir dos ensaios de atividade citotóxica .....	125
Figura 59. (A) Gráfico de pesos do PCA (1: GATS7s, 2: meanI, 3: AATSC0s); (B) Gráfico de pontuação das amostras definido a partir do PCA.....	126

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Rota proposta para a síntese dos derivados triterpênicos glicosilados .	66
Esquema 2. Rota para obtenção de S1 .....	67
Esquema 3. Rota para obtenção de S2 .....	68
Esquema 4. Rota para obtenção de S8 e S3 .....	69
Esquema 5. Rota para obtenção de S7 .....	71
Esquema 6. Rota geral para a obtenção das glicosilazidas S4a,b e d.....	72
Esquema 7. Rota para obtenção de Ac-gli, Ac-gal e Ac-xil .....	72
Esquema 8. Rota para obtenção de Br-gli, Br-gal e Br-xil.....	73
Esquema 9. Rota para obtenção das glicosilazidas S4a, S4b e S4d .....	74
Esquema 10. Rota geral para obtenção de S4e.....	76
Esquema 11. Rota para obtenção de Br-malt .....	76
Esquema 12. Rota para obtenção de S4e .....	77
Esquema 13. Rota geral para a obtenção dos derivados glicosiltriazólicos .....	78
Esquema 14. Rota utilizada para a síntese dos derivados propargílicos S2 e S3.....	88
Esquema 15. Síntese de S3 com formação do subproduto S7 .....	93
Esquema 16. Proposta de mecanismo para síntese de S3 utilizando DIC como reagente de acoplamento.....	94
Esquema 17. Proposta de mecanismo para formação de S7 .....	94
Esquema 18. Proposta de mecanismo de síntese do intermediário S8 utilizando TBTU como reagente de acoplamento .....	96
Esquema 19. Proposta de mecanismo para a síntese de S3 a partir do intermediário S8.....	96
Esquema 20. Rota de síntese de S4a.....	98
Esquema 21. Síntese dos derivados glicosiltriazólicos S5a-e e S6a-e .....	103
Esquema 22. Ciclos catalíticos das cicloadições 1,2,3-dipolares de Huisgen catalisadas por Cu(I) .....	104

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EHGC.....	12
Tabela 2. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna ECGC.....	16
Tabela 3. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EAFC .....	19
Tabela 4. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EAGC.....	21
Tabela 5. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P7.....	25
Tabela 6. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P10.....	26
Tabela 7. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P8.....	28
Tabela 8. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P1.....	31
Tabela 9. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P5.....	33
Tabela 10. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P5 e P6 .....	35
Tabela 11. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P2.....	38
Tabela 12. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P3.....	40
Tabela 13. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P9.....	42
Tabela 14. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P11.....	44
Tabela 15. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P12.....	46
Tabela 16. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P13.....	49
Tabela 17. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P4.....	51

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 18. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para P14 .....	53
Tabela 19. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) e $^{13}\text{C}$ (150 MHz) para P15 e P16.....	55
Tabela 20. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz) e $^{13}\text{C}$ (150 MHz) para P17.....	57
Tabela 21. Condições de reação e rendimentos da peracetilação dos glicídios .....	73
Tabela 22. Condições de reação e rendimentos da bromação ao carbono anomérico .....	74
Tabela 23. Condições de reação e rendimentos de S4a, S4b e S4d,.....	75
Tabela 24. Massas e rendimentos dos derivados glicosiltriazólicos.....	79
Tabela 25. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz) para os produtos de síntese S1, S2 e S3 .....	85
Tabela 26. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz) para os produtos de síntese S5a-e .....	86
Tabela 27. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 ou 150 MHz) para os produtos de síntese S6a-e .....	87
Tabela 28. Condições das reações realizadas para síntese de S1 a partir da mistura P11 e P12.....	89
Tabela 29. Condições das reações de tentativas de síntese de S3 .....	95
Tabela 30. Valores de $\text{CI}_{50}$ em $\mu\text{M}$ para linhagens THP-1, K562, CMSP e WI-26 VA4 e índice de seletividade (IS) .....	119

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\delta$	Deslocamento químico
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
AcOEt	Acetato de etila
AscNa	Ascorbato de sódio
ATR	Refletância total atenuada, acrônimo em inglês para <i>Attenuated Total Reflection</i>
APCI	Ionização química a pressão atmosférica, acrônimo em inglês para <i>atmospheric-pressure chemical ionization</i>
BAK	Antagonista/assassino homólogo a BCL-2, acrônimo em inglês para <i>BCL-2 homologous antagonist/killer</i>
BCL-2	Gene associado ao linfoma de células B, acrônimo em inglês para <i>B-cell lymphoma 2</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada de sílica
Cl <sub>50</sub>	Concentração de inibição do crescimento de 50% das células
CMSP	Célula mononuclear do sangue periférico
CS	Cromatografia em coluna de Sephadex®
DIC	<i>N,N'</i> -Di-isopropilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DEPT	Intensificação sem distorção por transferência de polarização, acrônimo em inglês para <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAP	4-(Dimetilamino)piridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMAR	Espectrometria de massas de alta resolução
FDA	Acrônimo para <i>Food and Drug Administration</i>
H-ESI	Ionização por eletrospray aquecido, acrônimo em inglês para <i>heated electrospray ionization</i>
HCA	Análise de agrupamento hierárquico, acrônimo em inglês para <i>Hierarchical Cluster Analysis</i>

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Hex	Hexano
INCA	Instituto Nacional do Câncer
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LAREMAR	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crônica
MPLC	Cromatografia líquida de média pressão, acrônimo em inglês para <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, acrônimo em inglês para <i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide</i>
p.	Página(s)
p21	Inibidor de quinase dependente de ciclinas 1, acrônimo em inglês para <i>cyclin-dependent kinase inhibitor 1</i>
PCA	Análise do componente principal, acrônimo em inglês para <i>principal component analysis</i>
R <sub>f</sub>	Fator de retenção, acrônimo em inglês para <i>retardation factor</i> ou <i>ratio to front</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN de <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
SFB	Soro fetal bovino
TBTU	Tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio
THF	Tetra-hidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TP53	Gene associado à proteína de tumor p53, acrônimo em inglês para <i>Tumor protein P53</i>



## RESUMO

### RESUMO

*Cheiloclinium cognatum* é uma espécie pertencente à família Celastraceae, típica do cerrado brasileiro, e rica em triterpenos pentacíclicos. Folhas e galhos desta planta foram estudados e levaram à identificação de 17 constituintes, dentre eles dois compostos graxos (triacilglicerol e ácido graxo), um esteroide ( $\beta$ -sitosterol), um éster graxo de triterpeno ( $3\beta$ -aciloxiurs-12-eno), nove triterpenos pentacíclicos, sendo eles seis friedelanos (friedelina, friedelinol, canofilol, 29-hidroxifriedelan-3-ona, friedelano- $3\beta,29$ -diol e acetato de 3-oxofriedelan-29-ila), um glutinano (glutinol), um ursano ( $\alpha$ -amirina) e um oleanano ( $\beta$ -amirina), um flavonoide (epigalocatequina), dois ácidos fenólicos (ácido vanílico e ácido siríngico) e uma xantona (mangiferina). Também foi realizada a síntese, em três etapas, de dez derivados glicosiltriazólicos inéditos partindo-se de uma mistura dos triterpenos 29-hidroxifriedelan-3-ona e friedelano- $3\beta,29$ -diol. A atividade citotóxica para os produtos naturais obtidos de *C. cognatum* bem como para os produtos de semissíntese foi avaliada frente a duas linhagens de células tumorais de leucemia, THP-1 e K562, sendo a primeira correspondente à leucemia mieloide aguda e a segunda à leucemia mieloide crônica. Foi observado que todos os produtos naturais avaliados apresentaram moderada a elevada atividade citotóxica quando comparados aos controles positivos, com destaque para os triterpenos friedelinol,  $\alpha$ -amirina e acetato de 3-oxofriedelan-29-ila, que apresentaram valores de  $Cl_{50}$  iguais ou inferiores e índices de seletividade iguais ou superiores aos controles positivos. Para os produtos de semissíntese, dois intermediários, ácido populnônico e *N*-propargilpopulnonamida, apresentaram  $Cl_{50}$  similares ao controle positivo para a linhagem K562, e o derivado glicosiltriazólico, o populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila, apresentou uma moderada atividade frente às duas linhagens testadas. Os triterpenos friedelinol e  $\alpha$ -amirina foram estudados quanto aos mecanismos de ação, e os resultados sugeriram que houve a ativação da via mitocondrial intrínseca da apoptose, evidenciada pela regulação positiva da expressão do mRNA da BAK. Estudos quimiométricos indicaram que suas atividades podem estar relacionadas ao tamanho e forma molecular, bem como às interações eletrônicas do grupo hidroxila na posição C-3 dos triterpenos com alvos moleculares específicos.

Palavras-chave: Celastraceae, *Cheiloclinium cognatum*, triterpeno pentacíclico, glicosiltriazol, leucemia

## ABSTRACT

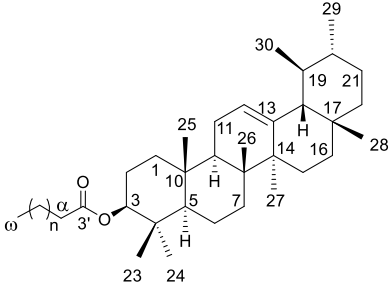
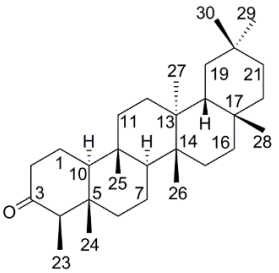
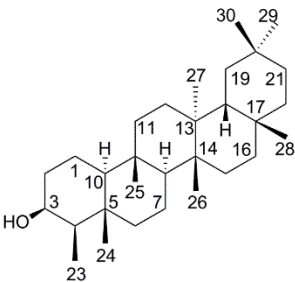
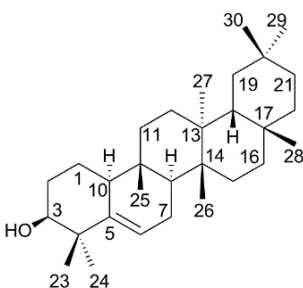
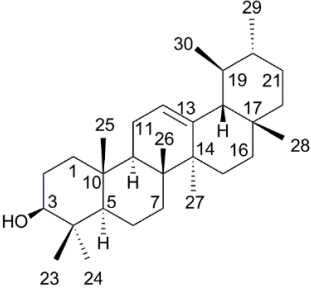
### ABSTRACT

#### **Phytochemical study of leaves and branches of *Cheiloclinium cognatum* (Celastraceae) and synthesis glycosyltriazole derivatives of pentacyclic triterpenes with cytotoxic potential**

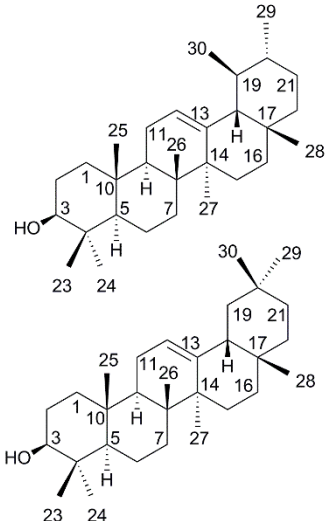
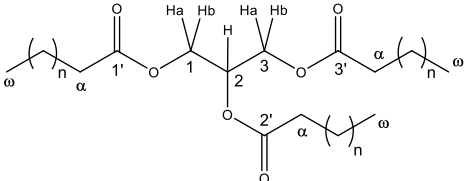
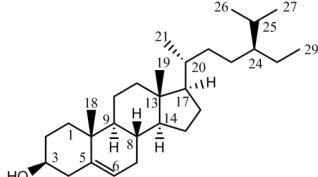
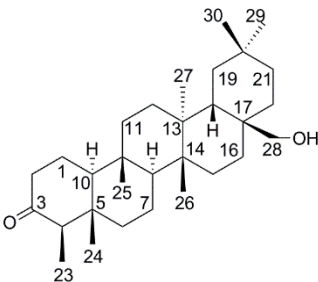
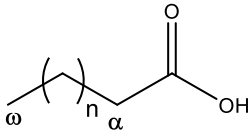
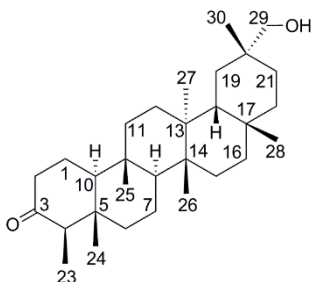
*Cheiloclinium cognatum* is a Celastraceae species, typical of Brazilian Cerrado, and rich in pentacyclic triterpenes. Leaves and branches of this plant were studied and led to the identification of 17 constituents. Among them, two fatty compounds (triacylglycerol and fatty acid), a steroid ( $\beta$ -sitosterol), a triterpene fatty ester (3 $\beta$ -acyloxyurs-12-ene), nine pentacyclic triterpenes, six of which are friedelanes (friedelin, friedelinol, canophyllol, 29-hydroxyfriedelan-3-one, friedelane-3 $\beta$ ,29-diol and 3-oxofriedelan-29-yl acetate), a glutinane (glutinol), an ursane ( $\alpha$ -amyrin) and an oleanane ( $\beta$ -amyrin), a flavonoid (epigallocatechin), two phenolic acids (vanillic and syringic acids) and a xanthone (mangiferin) were obtained. The synthesis, in three stages, of ten new glycosidic triazole triterpenoids was also carried out, starting from a mixture of 29-hydroxyfriedelan-3-one and friedelane-3 $\beta$ ,29-diol. The cytotoxic activity for natural products obtained from *C. cognatum* as well as for synthetic products was evaluated against two leukemia tumor cell lines, THP-1 and K562. The first corresponds to acute myeloid leukemia cells and the second to chronic myeloid leukemia. All assayed natural products exhibited moderate to high cytotoxic activity when compared to positive controls, with emphasis on friedelinol,  $\alpha$ -amyrin and 3-oxofriedelan-29-yl acetate, which presented IC<sub>50</sub> equal or lower and selectivity indexes equal or greater than controls. In regard of the synthetic products, two intermediates, populonic acid and N-propargylpopulnonamide, showed IC<sub>50</sub> similar to the positive control for the K562 strain. A glycosidic triazole derivative, (1(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-deoxy- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)1,2,3-triazole-4-yl)methyl populnonate, showed moderate activity compared to the controls for the two strains tested. The triterpenes friedelinol and  $\alpha$ -amyrin had their mechanisms of action evaluated. The results suggested that the apoptosis was due to the activation of intrinsic mitochondrial pathway, evidenced by the positive regulation of BAK mRNA expression. Chemometric studies indicated that their activities may be related to molecular size and shape, as well as to the electronic interactions of the hydroxyl group at the C-3 position and specific molecular targets.

Keywords: Celastraceae, *Cheiloclinium cognatum*, pentacyclic triterpene, glycosyltriazole, leukemia

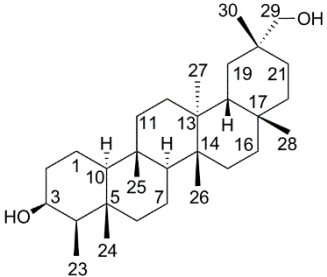
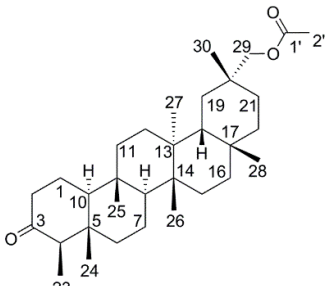
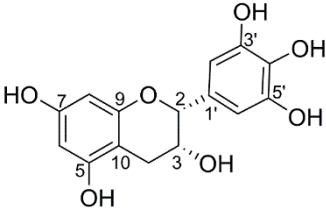
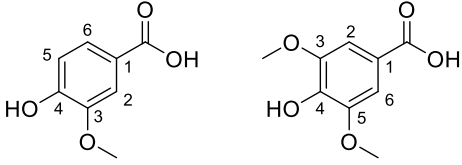
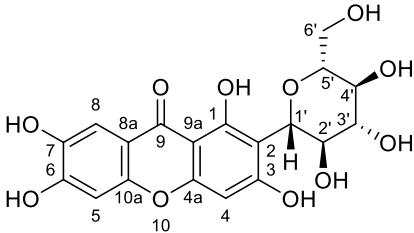
## LISTA DE PRODUTOS NATURAIS ISOLADOS

Código	Nome	Estrutura Química	Página
P1	3 $\beta$ -aciloksiurs-12-eno		29
P2	friedelan-3-ona (friedelina)		37
P3	friedelan-3 $\beta$ -ol (friedelinol)		39
P4	glutin-5-en-3 $\beta$ -ol (glutinol)		50
P5	urs-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\alpha$ -amirina)		32

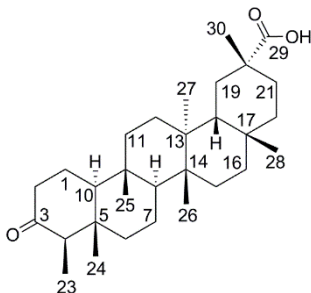
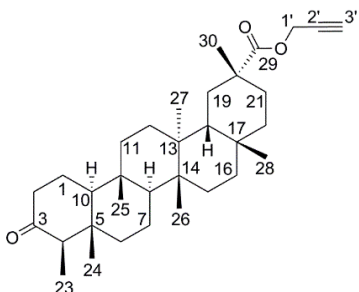
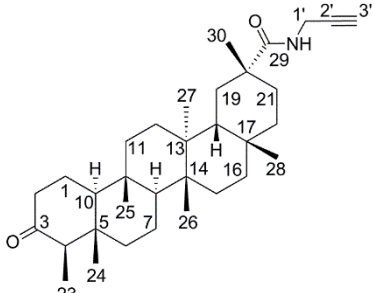
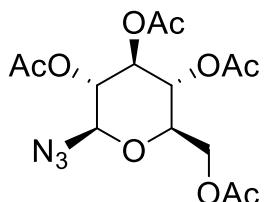
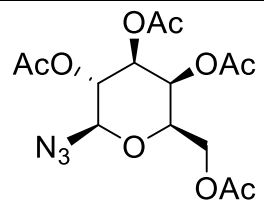
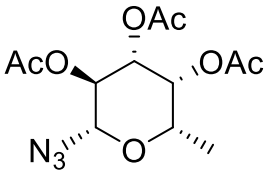
LISTA DE PRODUTOS NATURAIS ISOLADOS

<p><b>P5 + P6</b></p>	<p>urs-12-en-3<math>\beta</math>-ol (<math>\alpha</math>-amirina) e olean-12-en-3<math>\beta</math>-ol (<math>\beta</math>-amirina)</p>		<p>34</p>
<p><b>P7</b></p>	<p>triacilglicerol</p>		<p>24</p>
<p><b>P8</b></p>	<p><math>\beta</math>-sitosterol</p>		<p>27</p>
<p><b>P9</b></p>	<p>28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol)</p>		<p>40</p>
<p><b>P10</b></p>	<p>ácido graxo</p>		<p>25</p>
<p><b>P11</b></p>	<p>29-hidroxifriedelan-3-ona</p>		<p>43</p>

LISTA DE PRODUTOS NATURAIS ISOLADOS

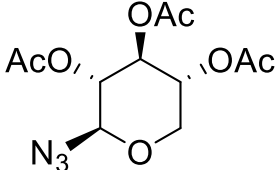
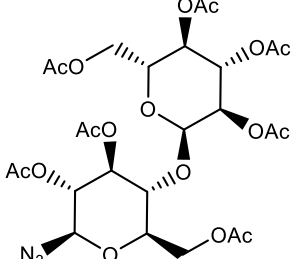
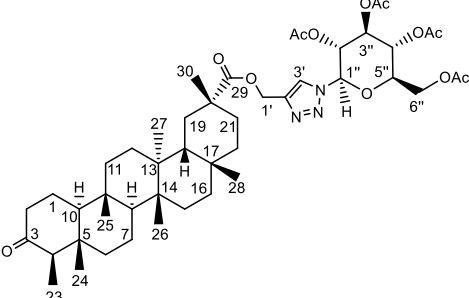
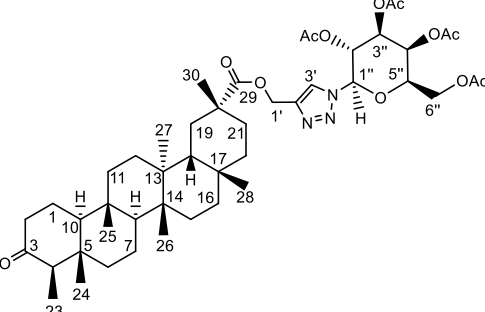
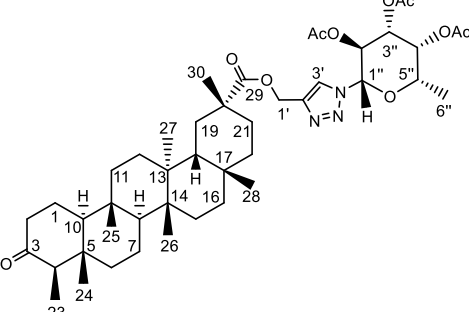
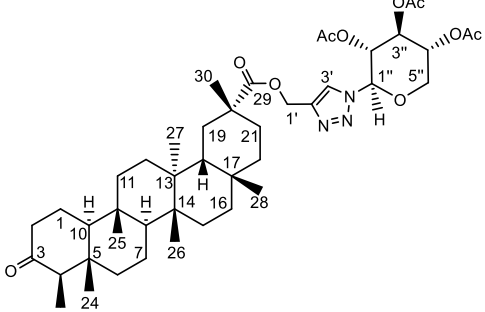
<p><b>P12</b></p>	<p>friedelano-3<math>\beta</math>,29-diol</p>		<p>45</p>
<p><b>P13</b></p>	<p>acetato de 3-oxofriedelan-29-ila</p>		<p>47</p>
<p><b>P14</b></p>	<p>epigalocatequina</p>		<p>52</p>
<p><b>P15+P16</b></p>	<p>ácido vanílico e ácido siríngico</p>	 <p style="text-align: center;"><b>P15</b>                      <b>P16</b></p>	<p>54</p>
<p><b>P17</b></p>	<p>mangiferina</p>		<p>56</p>

## LISTA DE PRODUTOS DE SÍNTESE

Código	Nome	Estrutura Química	Página <sup>a</sup>
S1	ácido populnônico		67
S2	populnonato de propargila		68
S3	N-propargilpopulnonamida		69
S4a	2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-glicopirranose		72
S4b	2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi-β-D-galactopirranose		72
S4c*	2,3,4-tri-O-acetil-1-azido-1-desoxi-α-L-fucopirranose		72

<sup>a</sup>Página onde há a descrição da síntese. \*A azida **S4c** foi gentilmente cedida pelo prof. Jarbas Magalhães do DQ-UFMG.

LISTA DE PRODUTOS DE SÍNTESE

<b>S4d</b>	2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranoze		72
<b>S4e</b>	2,3,6-tri- <i>O</i> -acetil-4- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranoze		76
<b>S5a</b>	populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila		78
<b>S5b</b>	populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila		78
<b>S5c</b>	populnonato de (1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila		78
<b>S5d</b>	populnonato de (1-(2,3,4-tri- <i>O</i> -acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila		78

LISTA DE PRODUTOS DE SÍNTESE

<p><b>S5e</b></p>	<p>populnonato de (1-(2,3,6-tri-<i>O</i>-acetil-4-<i>O</i>-(2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-<math>\alpha</math>-D-glicopiranosil)-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila</p>		<p>78</p>
<p><b>S6a</b></p>	<p><i>N</i>-((1-(2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida</p>		<p>78</p>
<p><b>S6b</b></p>	<p><i>N</i>-((1-(2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida</p>		<p>78</p>
<p><b>S6c</b></p>	<p><i>N</i>-((1-(2,3,4-tri-<i>O</i>-acetil-1-desoxi-<math>\alpha</math>-L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida</p>		<p>78</p>
<p><b>S6d</b></p>	<p><i>N</i>-((1-(2,3,4-tri-<i>O</i>-acetil-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida</p>		<p>78</p>



LISTA DE PRODUTOS DE SÍNTESE

<p><b>S6e</b></p>	<p><i>N</i>-((1-(2,3,6-tri-<i>O</i>-acetil-4-<i>O</i>-(2,3,4,6-tetra-<i>O</i>-acetil-<math>\alpha</math>-D-glicopiranosil)-1-desoxi-<math>\beta</math>-D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida</p>		<p>78</p>
<p><b>S7</b></p>	<p><i>N</i>-isopropil-<i>N</i>-(isopropilcarbamoil)-populnonamida</p>		<p>71</p>
<p><b>S8</b></p>	<p>Populnonato de 1<i>H</i>-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ila</p>		<p>69</p>

## INTRODUÇÃO GERAL

Desde o isolamento da morfina em 1806 por Friedrich Wilhelm Sertürner, a investigação e descoberta de novos compostos bioativos de origem vegetal tem sido objeto de grande interesse para diversos pesquisadores, visto que uma boa parte dos fármacos disponíveis no mercado correspondem a compostos baseados em produtos naturais. Um estudo de revisão realizado por Newman e Cragg (2020) relata que, de todas os fármacos aprovados pelo FDA (acrônimo para *Food and Drug Administration*) entre 1981 e 2019, 42% são produtos naturais ou derivados de produtos naturais.

Estima-se que são conhecidas mais de 200 mil estruturas químicas distintas associadas a metabólitos secundários oriundos de plantas (HARTMANN, 2007), categorizados em classes de acordo com propriedades químicas e origens biossintéticas. Os terpenoides compõem a classe de metabólitos secundários mais abundante e diversa na natureza (GHOSH, 2016; OLDFIELD; LIN, 2012) e são formados por unidades sequenciais de pirofosfato de isopentenila (IPP). Esse precursor biossintético é a unidade básica formadora de todos os terpenoides, que são classificados com base no número de unidades de  $(C_5)_n$  átomos de carbono (KIRBY; KEASLING, 2009).

Dentre os diferentes tipos de terpenoides, os triterpenos ( $C_{30}$ ) são os mais numerosos e variados, e são amplamente encontrados em espécies vegetais (THIMMAPPA et al., 2014). Os triterpenos pentacíclicos compreendem um subgrupo de triterpenos que geralmente apresentam trinta átomos de carbono distribuídos em um esqueleto com cinco anéis condensados, apresentando ao menos oito centros assimétricos (LODEIRO et al., 2007). A característica estrutural singular dos triterpenos pentacíclicos associado a presença de diferentes funcionalizações os tornam substâncias bastante promissoras do ponto de vista biológico, considerando o grande espectro de atividades farmacológicas relatadas para esta classe de produtos naturais (HILL; CONNOLLY, 2018).

Um dos grandes desafios na descoberta de novos candidatos a fármacos a partir de triterpenos está associado a algumas de suas limitações, como baixa solubilidade em meio aquoso e baixa biodisponibilidade em meio biológico (ZHOU, M. et al., 2017). A realização de modificações estruturais a partir de substâncias naturais é uma importante estratégia do ponto de vista químico e biológico, pois é possível, a

## INTRODUÇÃO GERAL

partir do produto natural com esqueleto complexo, produzir derivados com propriedades físico-químicas e farmacológicas melhoradas (CHEN et al., 2015).

Dentre as atividades biológicas a serem investigadas, a atividade citotóxica de triterpenos e derivados de semissíntese tem grande destaque devido à grande urgência pela descoberta de novas substâncias com potencial para o tratamento do câncer. O câncer atinge mais de 18 milhões de pessoas todos os anos, sendo a segunda maior causa de morte no mundo (WHO, 2020). Mesmo sendo uma doença extremamente recorrente, os tratamentos encontrados são, em sua maioria, pouco eficazes, apresentam baixa taxa de cura e provocam uma série de efeitos colaterais. A busca por novas substâncias antitumorais continua sendo, portanto, um tópico de grande interesse entre os diversos grupos de pesquisa no mundo, visto que existe uma necessidade urgente para o descobrimento de novos candidatos a fármacos que sejam mais ativos e causem menos efeitos indesejados aos pacientes (WANG et al., 2017).

## OBJETIVOS

## OBJETIVOS

### OBJETIVOS DO TRABALHO

Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico dos extratos das partes aéreas da espécie *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm, buscando o isolamento e identificação de diferentes constituintes. Também teve como objetivo a síntese de derivados glicosiltriazólicos inéditos a partir dos triterpenos 29-hidroxifriedelan-3-ona e friedelano-3 $\beta$ ,29-diol, visando a avaliação da atividade citotóxica para os compostos isolados e sintetizados frente a células de leucemia mieloide aguda e crônica. Deste modo, fizeram parte do escopo deste trabalho:

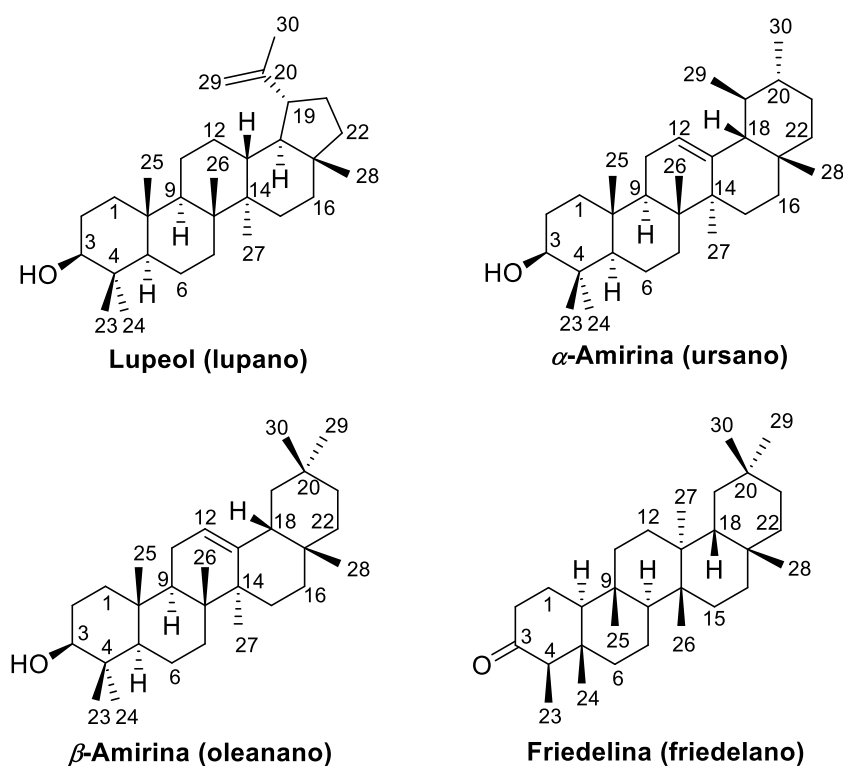
- Preparação dos extratos hexânico, clorofórmico, acetato etílico e metanólico dos galhos de *C. cognatum*;
- Realização do fracionamento dos extratos acetato etílico e metanólico das folhas e de todos os extratos dos galhos;
- Realização da síntese de derivados glicosiltriazólicos inéditos a partir dos triterpenos pentacíclicos 29-hidroxifriedelan-3-ona e friedelano-3 $\beta$ ,29-diol;
- Realização do estudo da atividade citotóxica *in vitro* dos constituintes das folhas e galhos de *C. cognatum*, bem como dos derivados glicosiltriazólicos;
- Investigação do mecanismo de ação da atividade citotóxica para as substâncias mais ativas.

# CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

## 1 – INTRODUÇÃO

As espécies da família Celastraceae se destacam como importantes fontes vegetais de triterpenos, tanto em relação à abundância quanto à diversidade estrutural. Essa família compreende cerca de 97 gêneros e mais de 1200 espécies, que são amplamente encontradas na América do Sul, inclusive no Brasil (MOKOKA et al., 2013; SIMMONS et al., 2008). A espécie *Maytenus ilicifolia* é um exemplar de grande destaque dessa família, pois o extrato padronizado de suas folhas é utilizado como medicamento fitoterápico indicado para o tratamento e prevenção de úlceras gástricas (ZHANG et al., 2020). Dentre os compostos isolados de extratos de folhas, galhos e raízes de espécies de Celastraceae, destacam-se os triterpenos pentacíclicos, principalmente os de esqueletos lupano, ursano, oleanano e friedelano (ALVARENGA; FERRO, 2006) (Figura 1).

**Figura 1. Triterpenos pentacíclicos comumente encontrados em plantas da família Celastraceae**



## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Os triterpenos pentacíclicos são metabólitos secundários biossintetizados a partir da ciclização do (S)-2,3-epoxiesqualeno, formando estruturas com cinco anéis em sistemas *cis* ou *trans* decalínicos, e podem apresentar esqueletos carbônicos bastante diversificados (GHOSH, 2016; LODEIRO et al., 2007; THIMMAPPA et al., 2014). Os triterpenos pentacíclicos podem apresentar variadas atividades biológicas, provavelmente em função de sua alta versatilidade estrutural. Dentre as atividades observadas para triterpenos isolados de espécies de Celastraceae se destacam as atividades antivirais (DAI et al., 2015; SILVA et al., 2017), antimicrobiana (MOKOKA et al., 2013; MOUJIR et al., 2019; RODRIGUES et al., 2015), antinociceptiva (VELOSO et al., 2018), anti-inflamatória (ZHOU, J. et al., 2017) e atividade citotóxica contra diversas linhagens de células tumorais (HERNANDES; PEREIRA; SEVERINO, 2016; RODRIGUES et al., 2019; SANTOS et al., 2020).

A busca por novos triterpenos pentacíclicos, bem como a investigação de novas aplicações para os triterpenos frente a diferentes alvos biológicos objetivando a obtenção de substâncias com potencial farmacológico torna muito promissor o estudo fitoquímico de espécies da família Celastraceae.

*Cheiloclinium cognatum* (**Figura 2, p. 6**), conhecida popularmente como bacupari-da-mata, é uma das mais de 1200 espécies da família Celastraceae, e é comumente encontrada no cerrado brasileiro (GOMES et al., 2005; SIMMONS et al., 2008).

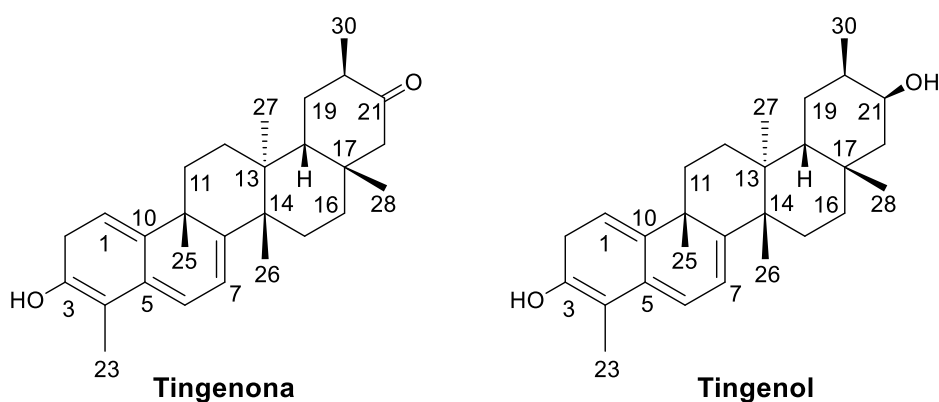
Estudos anteriores com cascas de raiz da *C. cognatum*, realizados por Jeller e colaboradores (2004), levaram ao isolamento de 11 triterpenos quinonametídeos, sendo dois deles inéditos na literatura. Todos os quinonametídeos identificados apresentaram atividade sequestradora de radicais livres frente ao composto 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). Para o extrato em diclorometano foram atribuídas atividades analgésica e anti-inflamatória em ratos e, para os triterpenos quinonametídeos tingenona e tingenol (**Figura 3, p. 6**) foi observada expressiva atividade tripanocida contra o protozoário *Trypanossoma cruzi* (COSTA et al., 2007; LIAO et al., 2008).

Figura 2. Flores, folhas, galhos e frutos de *Cheiloclinium cognatum*



Foto: Prof<sup>a</sup> Maria Olívia Mercadante Simões – Unimontes (colaboradora)

Figura 3. Triterpenos quinonametídeos com atividade tripanocida

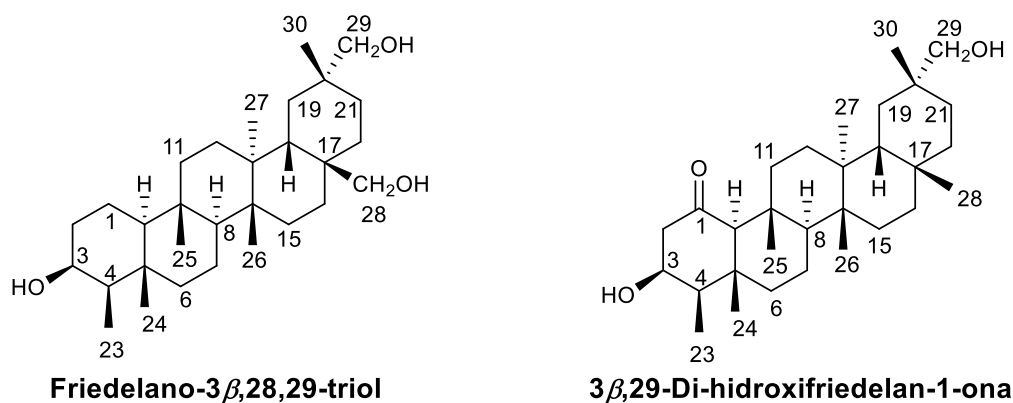


Os extratos menos polares das folhas de *C. cognatum* foram estudados durante a pesquisa de mestrado do autor deste trabalho. Assim, a partir do estudo fitoquímico dos extratos hexânico e clorofórmico das folhas desta planta foram isolados 15 constituintes, sendo eles: o polímero *gutta-percha*, esqualeno,  $\beta$ -sitosterol, uma mistura de três ácidos graxos esterificados da  $\alpha$ -amirina – palmitato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila, estearato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila e eicosanoato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila –, sete triterpenos pentacíclicos conhecidos de esqueleto friedelânico – friedelan-3-ona, friedelan-3 $\beta$ -ol, 28-hidroxifriedelan-3-ona, 21 $\alpha$ -hidroxifriedelan-3-ona, ácido 3,4-seco-friedelan-3-oico, 29-hidroxifriedelan-3-ona, friedelano-3 $\beta$ ,29-diol – (Anexo 1, p. 204) e dois triterpenos,

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

também de esqueleto friedelânico, inéditos na literatura – friedelano-3 $\beta$ ,28,29-triol e 3 $\beta$ ,29-di-hidroxifriedelan-1-ona (**Figura 4**) (PEREIRA, 2015).

**Figura 4. Triterpenos inéditos isolados de folhas de *C. cognatum***

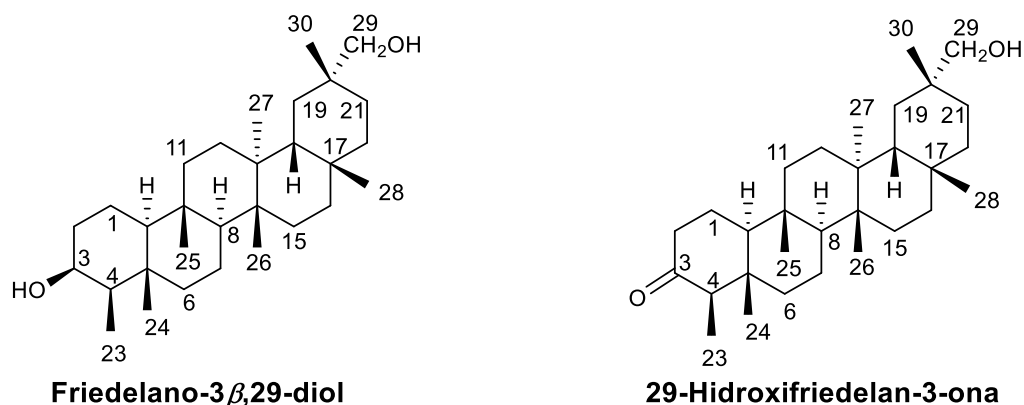


Os nove triterpenos friedelânicos foram testados frente à atividade antiangiogênica *in vivo* em membrana corioalantoica de ovo de galinha. A angiogênese é um processo natural de crescimento de novos vasos sanguíneos, e o descontrole desse processo quando associado à algumas doenças, como o câncer, pode acarretar no aceleração do crescimento de tumores e desenvolvimento de metástases (FOLKMAN, 1995). Para todos os triterpenos testados foi observada uma expressiva atividade antiangiogênica, com uma taxa de inibição entre 50-66% do crescimento de vasos sanguíneos utilizando 4  $\mu$ g de amostra por ovo testado, evidenciando o grande potencial dessas substâncias em relação ao tratamento de doenças relacionadas a processos pró-angiogênicos (PEREIRA et al., 2018).

Além do isolamento de dois compostos inéditos e da promissora atividade antiangiogênica observada, ressalta-se que a partir do fracionamento do extrato clorofórmico das folhas de *C. cognatum* foi possível isolar cerca de 17 g da mistura de dois triterpenos pentacíclicos – 29-hidroxifriedelan-3-ona, friedelano-3 $\beta$ ,29-diol (**Figura 5, p. 8**) – correspondendo a 21% desse extrato.



Figura 5. Triterpenos majoritários isolados de folhas de *C. cognatum*



Motivados pelos bons resultados obtidos anteriormente para o estudo dos extratos hexânico e clorofórmico de folhas de *C. cognatum*, a realização do estudo dos extratos acetato etílico e metanólico das folhas, bem como a investigação fitoquímica dos extratos de galhos, parte vegetal ainda não trabalhada para esta planta, se tornam extremamente promissores no âmbito da busca por novas substâncias bioativas.

### 2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

#### 2.1 – Métodos gerais

Neste trabalho, para a análise, separação e purificação das amostras foram utilizadas as seguintes técnicas: cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD), cromatografia em coluna (CC) de sílica gel ou de Florisil® e cromatografia em coluna de Sephadex (CS). O critério preliminar adotado para a verificação de pureza da amostra foi feito a partir da observação de uma única mancha em placas de CCD, com eluente adequado para que a mancha apresentasse  $R_f$  próximo a 0,5.

Na preparação das placas cromatográficas foram utilizados aproximadamente 7g de sílica gel 60G para cada 15 mL de água, e a suspensão homogeneizada foi espalhada em suporte de vidro, formando um filme 0,25 mm de espessura. Após a secagem parcial à temperatura ambiente, as placas foram ativadas em estufa a 100 °C por, pelo menos, 30 minutos. A revelação das placas de CCD foi realizada com o uso de solução na proporção de 1:1 v/v de vanilina (1% m/v em etanol) e ácido perclórico (3% v/v em água), seguido de aquecimento em estufa a 100 °C.

As colunas cromatográficas abertas (CC) foram preparadas utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh ou 230-400 mesh). Os solventes empregados nas análises foram hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, todos grau PA. Quando necessária a reutilização de misturas de solventes, a aferição das proporções das misturas foi realizada a partir da comparação dos índices de refração, utilizando refratômetro ABBE, Biobrix. As colunas de Sephadex (CS) foram preparadas utilizando Sephadex LH-20 previamente hidratada em metanol por um período mínimo de 24 h.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer Frontier Single Range - MIR do laboratório LEAQUA do Departamento de Química da UFMG.

Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) foram adquiridos por infusão direta das soluções, utilizando-se um espectrômetro de massas Q-Exactive (ThermoScientific), com fonte H-ESI ou APCI, operado em modo positivo (+) e *fullscan*.

Os espectros de RMN foram obtidos utilizando espectrômetros Bruker *Avance-III* 400 NanoBay ou OneBay (400 MHz) e *Avance* NEO Ascend (600 MHz) do

## **CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum***

laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química da UFMG. Os solventes deuterados utilizados estão indicados em cada análise. Os deslocamentos químicos foram registrados em  $\delta$  e as constantes de acoplamento escalar ( $J$ ) foram calculadas em Hertz (Hz). Tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão de referência interna ( $\delta_H = \delta_C = 0$ ) e, na ausência de TMS utilizou-se o sinal residual do solvente como referência.

### **2.2 – Coleta e identificação do material vegetal**

A coleta das folhas e dos galhos de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm. ocorreu no município de Montes Claros, em Minas Gerais, na propriedade particular do Sr. Ildeci Fonseca, às margens do Km 18 da rodovia BR 365, coordenadas 16°51'19.7" 43°59'40.9", pela professora Dra. Maria Olívia Mercadante Simões, do departamento de Biologia Geral da Unimontes.

A identificação do material vegetal foi realizada pela própria professora Maria Olívia, e uma exsicata do espécime (BHCB 169874) foi depositada no Herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. A licença para o acesso ao patrimônio genético foi concedida pelo CNPq sob o processo número 010119/2014-0 e o cadastro junto ao CGEN/SisGen foi registrado sob número A643CC1.

### **2.3 – Preparação dos extratos dos galhos de *Cheiloclinium cognatum***

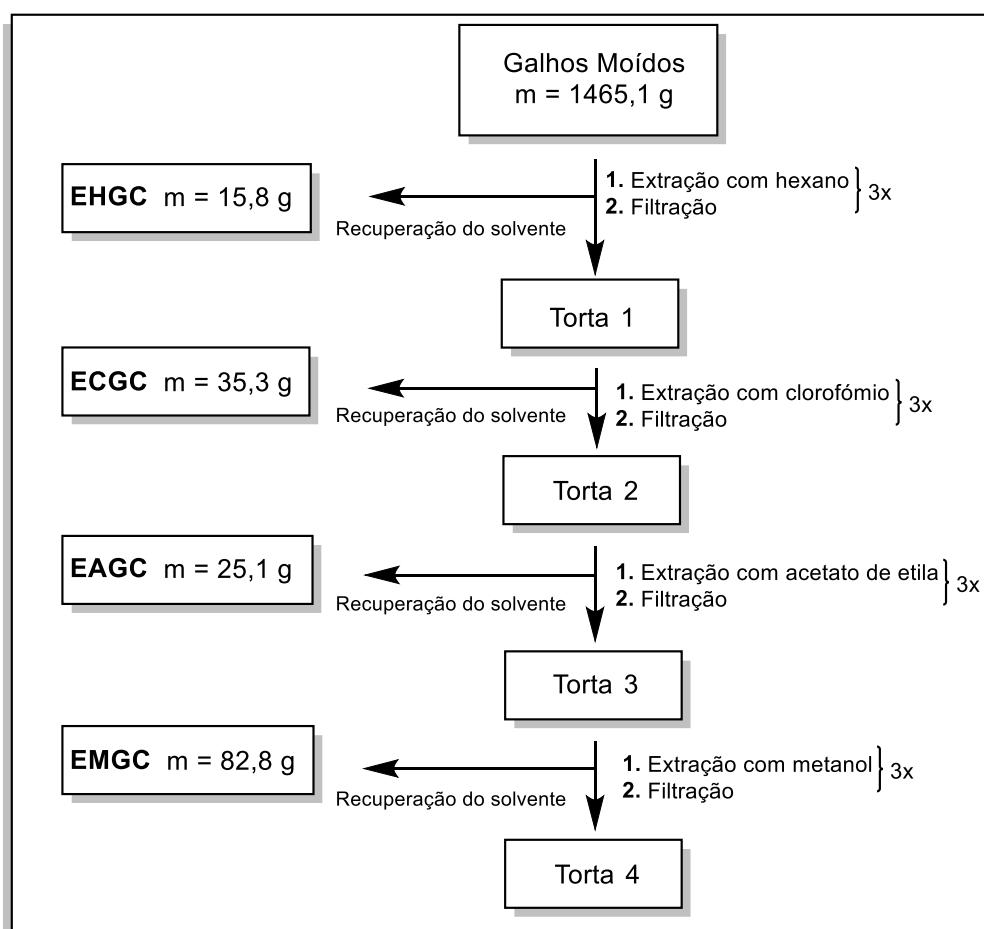
Após a coleta, os galhos de *C. cognatum* foram submetidos à secagem à temperatura ambiente e, após secos, foram pulverizados em moinho de martelo, obtendo-se 1465,1 g de material vegetal moído. Este material foi submetido à extração exaustiva por maceração à temperatura ambiente com o uso sequencial de hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, respectivamente, até não ser obtido quantidade significativa dos extratos. Cada extrato foi submetido à filtração simples e o solvente extrator recuperado utilizando evaporador rotativo sob pressão reduzida. Este procedimento foi realizado por três vezes e os extratos agrupados. Os extratos das folhas de *C. cognatum* foram preparados durante o período de realização do

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

mestrado de maneira semelhante ao descrito para os extratos dos galhos (PEREIRA, 2015).

Os extratos foram identificados com siglas de quatro letras da seguinte forma: primeira letra **E** para extrato; segunda letra de acordo com o solvente extrator: **H** para hexano, **C** para clorofórmio, **A** para acetato de etila, e **M** para metanol; terceira letra de acordo com a parte da planta: **F** para folhas e **G** para galhos; quarta letra **C** para o nome da espécie. Portanto, o extrato hexânico dos galhos foi identificado como EHGC e o acetato etílico das folhas como EAFC. A esquematização da extração está apresentada na **Figura 6**. A notação para identificação de metabólitos e/ou misturas isolados foi estabelecida como a letra **P**, seguida da ordem de isolamento dos compostos. A descrição do fracionamento dos extratos se dará por ordem de polaridade dos solventes extratores, partindo dos menos polares aos mais polares. Havendo extratos de partes vegetais distintas para o mesmo solvente, descrever-se-á o fracionamento do extrato de folhas seguido do de galhos.

**Figura 6. Esquema para obtenção dos extratos dos galhos de *C. cognatum***



## 2.4 – Fracionamento do extrato EHGC

EHGC foi obtido como um material pastoso (15,8 g) de cor verde clara. Todo extrato foi submetido à CC. Foram utilizados 375 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluentes, hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 260 frações de aproximadamente 200 mL (**Tabela 1**).

As 260 frações foram reunidas em 8 grupos (EHGC1 a EHGC8) de acordo com a similaridade dos perfis cromatográficos observados em placas de CCD. O esquema empregado para o fracionamento da coluna EHGC está apresentado na **Figura 7, p.15**.

**Tabela 1. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EHGC**

Frações	Eluente	Nº de frações
01-21	Hexano	21
22-31	Hex:CHCl <sub>3</sub> 9:1	10
32-134	Hex:CHCl <sub>3</sub> 4:1	103
135-151	Hex:CHCl <sub>3</sub> 7:3	17
152-163	Hex:CHCl <sub>3</sub> 1:1	12
164-185	Hex:CHCl <sub>3</sub> 1:3	22
186-216	Clorofórmio	31
217-235	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 9:1	19
236-242	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 4:1	7
243-248	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 7:3	6
249-254	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 1:1	6
255-256	Acetato de Etila	2
257-260	Metanol	4

**Grupo EHGC-1 (frações 1-42):** Neste grupo foram obtidos 878 mg de um sólido amarelado com aspecto viscoso que foi submetido à CC utilizando hexano e clorofórmio, puros ou em misturas de crescente polaridade, como eluentes. Foram obtidas 77 frações de 20 mL. A partir das análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

$^{13}\text{C}$  para o subgrupo EHGC-1b (frações 18-22, Hex: $\text{CHCl}_3$  8:2, 277 mg), foi possível identificar uma mistura de ésteres graxos da  $\alpha$ -amirina. Este subgrupo foi caracterizado como sendo  $3\beta$ -aciloxiurs-12-eno (**P1**).

**Grupo EHGC-2 (frações 43-51):** Neste grupo foram obtidos 184 mg de um sólido amarelo que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 65 frações de 20 mL. A partir do subgrupo EHGC-2b (frações 9-12, Hex: $\text{CHCl}_3$  1:1, 84 mg) foi obtido um sólido branco que, após análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  foi identificado como sendo friedelan-3-ona (**P2**). O subgrupo seguinte EHGC-2c (frações 13-23, Hex: $\text{CHCl}_3$  1:1, 22 mg) foi submetido às análises de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e foi possível a identificação da mistura de **P2** e friedelan- $3\beta$ -ol (**P3**).

**Grupo EHGC-3 (frações 52-69):** Neste grupo foram obtidos 236 mg de um sólido amarelo que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 47 frações de 20 mL. O subgrupo EHGC-3b (frações 11-15, Hex: $\text{CHCl}_3$  1:1, 59 mg) foi lavado em acetona e filtrado, de forma a se obter um sólido branco (39 mg) que foi identificado, via comparação com amostra autêntica em CCD, como sendo **P2**. O subgrupo EHGC-3c (frações 16-45, Hex: $\text{CHCl}_3$  1:1, 139 mg) foi submetido a uma segunda CC, com os mesmos eluentes anteriores, de forma a se obter 37 frações de 20 mL. Dois agrupamentos, EHGC-3c-1 (43 mg) e EHGC-3c-2 (4 mg) foram submetidos a análises de RMN 1D e foi possível identificar EHGC-3c-1 como sendo a mistura de **P3** e glutin-5-en- $3\beta$ -ol (**P4**) e EHGC-3c-2 como sendo o triterpeno urs-12-en- $3\beta$ -ol (**P5**). Visando a separação de **P3** e **P4**, foi realizada uma CC do subgrupo EHGC-3c-1 utilizando sílica impregnada com nitrato de prata (ANDREÃO et al., 2010) e hexano, clorofórmio e metanol como eluentes. Foram obtidas 112 frações de 10 mL. A partir desta CC foi possível obter 3 mg (fração 111, MeOH) de **P4** puro, que foi confirmado pelos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .

**Grupo EHGC-4 (frações 70-121):** Neste grupo foram obtidos 426 mg de um sólido amarelo que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio e metanol, puro ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 47 frações de 20 mL. O subgrupo EHGC-4a (frações 8 -19, Hex: $\text{CHCl}_3$  1:1, 15 mg) foi lavado em acetona e filtrado, sendo possível obter 4 mg de um sólido branco que foi identificado como sendo **P3**. O subgrupo EHGC-4c (frações 24-45, Hex: $\text{CHCl}_3$  9:1, 108 mg) foi submetido às análises

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e foi possível a identificação de uma mistura de **P5** e olean-12-en-3 $\beta$ -ol (**P6**).

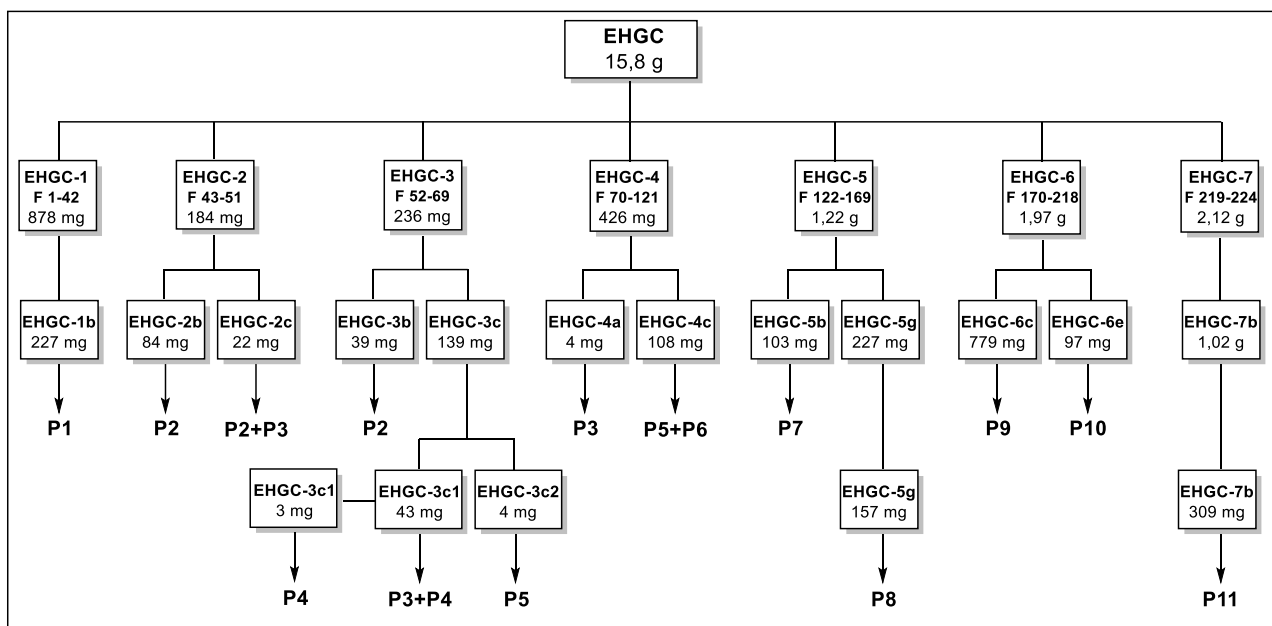
**Grupo EHGC-5 (frações 122-169):** Neste grupo foram obtidos 1,22 g de um sólido amarelo que foi submetido a CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 102 frações de 20 mL. A partir das análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para o subgrupo EHGC-5b (frações 21-24,  $\text{CHCl}_3$ , 103 mg), foi possível a identificação de triacilglicerol (**P7**). O subgrupo EHGC-5g (45-54,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 95:5, 227 mg) foi submetido a uma outra CC com os eluentes utilizados anteriormente. Foram obtidas 65 frações de 20 mL. A partir das frações 12-21 ( $\text{CHCl}_3$  100%) foram obtidos 157 mg de um sólido branco identificado como sendo  $\beta$ -sitosterol (**P8**), após análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .

**Grupo EHGC-6 (frações 170-218):** Neste grupo foram obtidos 1,97 g de um sólido branco que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes, sendo obtidas 161 frações de 20 mL. Um sólido branco foi obtido a partir do agrupamento EHGC-6c (frações 55-75,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 9:1, 779 mg) que foi analisado via experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , sendo possível a identificação do triterpeno 28-hidroxifriedelan-3-ona (**P9**). O subgrupo EHGC-6e (88-96,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 9:1, 97 mg), também foi submetido a análises de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e foi possível a identificação de ácido graxo (**P10**).

**Grupo EHGC-7 (frações 219-224):** Neste grupo foram obtidos 2,12 g de um sólido verde de aspecto viscoso, que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 380 frações de 20 mL. O subgrupo EHGC-7b (frações 234-280,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 9:1, 1,02 g) foi submetido a uma segunda CC com os mesmos eluentes utilizados anteriormente e foram obtidas 59 frações de 15 mL. Foi possível a obtenção de 309 mg de um sólido branco (frações 22-43,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 9:1). Após análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , foi possível a identificação do triterpeno 29-hidroxifredelan-3-ona (**P11**).

Os grupos **EHGC 8** (frações 225-259) e **EHGC 9** (fração 260) foram submetidos a várias CC, porém não foi possível o isolamento e identificação de nenhum constituinte.

Figura 7. Esquema de fracionamento do extrato EHGC



## 2.5 – Fracionamento do extrato ECGC

ECGC foi obtido como um material sólido (35,3 g) de cor verde clara. Este material foi submetido à CC e foram utilizados 750 g de sílica gel 60 (70-230 mesh), hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas em ordem crescente de polaridade como eluentes. Foram coletadas 223 frações de aproximadamente 200 mL (**Tabela 2, p. 16**).

As 223 frações foram reunidas em 10 grupos (ECGC1 a ECGC10) de acordo com a similaridade dos perfis cromatográficos observados em placas de CCD. O esquema empregado para o fracionamento da coluna ECGC está apresentado na **Figura 8, p. 18**.



Tabela 2. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna ECGC

Frações	Eluente	Nº de frações
01-07	hexano	7
08-15	Hex:CHCl <sub>3</sub> 3:1	8
16-36	Hex:CHCl <sub>3</sub> 1:1	21
37-86	Hex:CHCl <sub>3</sub> 1:3	50
87-105	Clorofórmio	19
106-116	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 9:1	11
117-149	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 4:1	33
150-175	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 7:3	26
176-194	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 1:1	19
195-212	Acetato de Etila	18
213-223	Metanol	11

**Grupo ECGC-3 (frações 27-40):** Neste grupo foram obtidos 417 mg de um sólido amarelado que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 121 frações de 20 mL. O subgrupo ECGC-3b (frações 60-70, Hex:CHCl<sub>3</sub> 1:1, 107 mg) foi isolado como um sólido branco, identificado como sendo **P2** via comparação com amostra autêntica em CCD, e o subgrupo ECGC-3c (frações 71-120, Hex:CHCl<sub>3</sub> 1:1, 167 mg) como sendo uma mistura de **P2** e **P3**, também identificada a partir de análise por CCD.

**Grupo ECGC-4 (frações 41-53):** Neste grupo foram obtidos 914 mg de um sólido amarelo que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 92 frações de 20 mL. O subgrupo ECGC-4b (frações 18-22, CHCl<sub>3</sub> 100%, 115 mg) foi identificado como sendo **P3** a partir da análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. O subgrupo ECGC-4e (frações 42-65, CHCl<sub>3</sub> 100%, 316 mg) foi isolado como um sólido branco e identificado como sendo **P9** a partir das análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

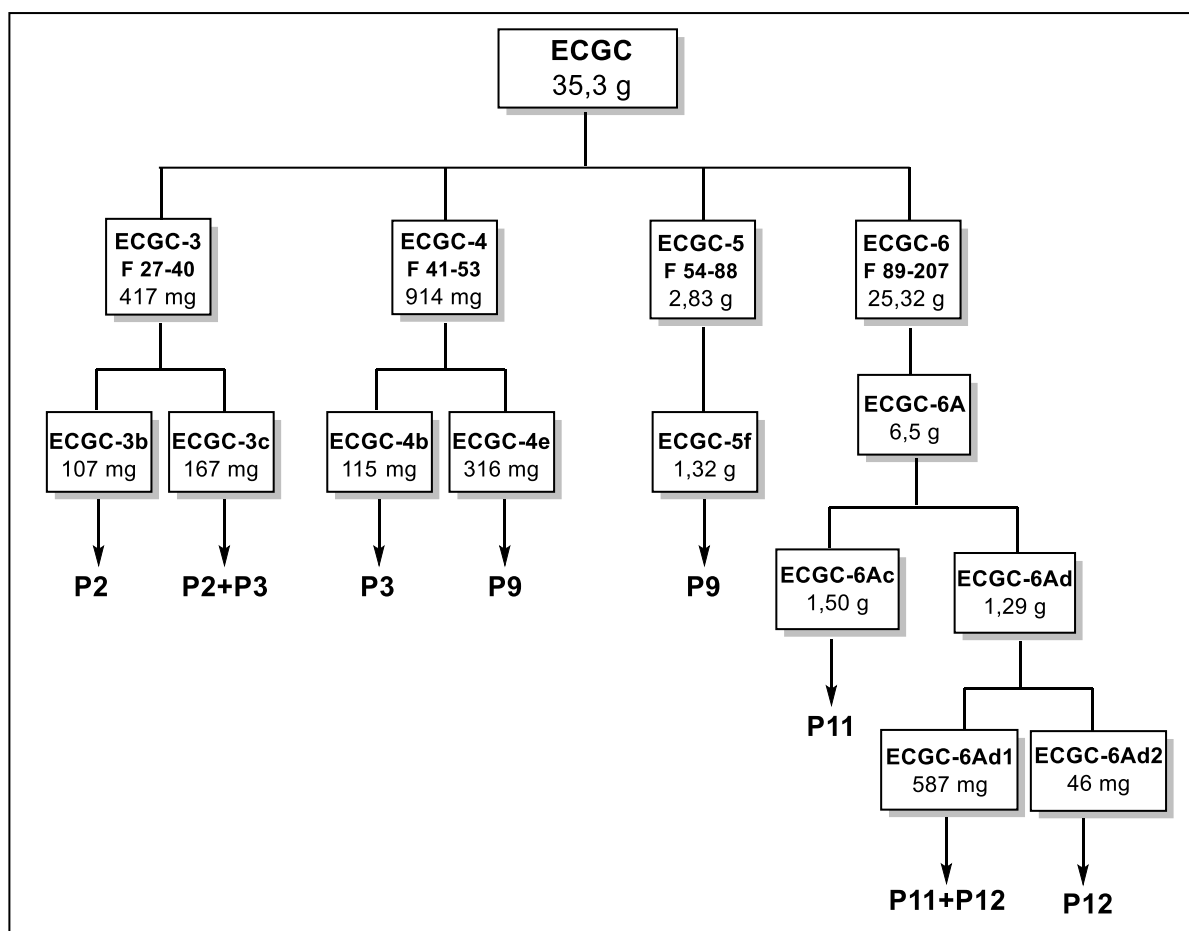
**Grupo ECGC-5 (frações 54-88):** Neste grupo foram obtidos 2,83 g de um sólido amarelado que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 248 frações de 20 mL. O subgrupo ECGC-5f (frações 128-136, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 9:1, 1,32 g) foi isolado como um sólido branco, identificado como **P9** a partir das análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

**Grupo ECGC-6 (frações 89-207):** Neste grupo foram obtidos 25,32 g de um material verde escuro e ceroso que foi submetido a uma CC de Florisil® utilizando, respectivamente, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt puros, para a retirada de clorofila da amostra. Foram obtidas duas frações, uma para cada eluente utilizado. A fração ECGC 6A (CHCl<sub>3</sub> 100%, 6,5 g) foi obtida como um sólido amarelado, que foi submetido à CC com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 136 frações de 20 mL. Foi possível obter os constituintes **P11** e **P12**. O subgrupo ECGC-6Ac foi isolado como um sólido branco (fração 57-74, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 8:2, 1,50 g) e foi identificado como sendo **P11** a partir das análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. O subgrupo ECGC-6Ad (fração 75-86, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 8:2, 1,29 g) foi obtido como uma mistura dos constituintes **P11** e **P12**, a partir de comparação do perfil em CCD com amostras autênticas. Esse subgrupo foi submetido a uma CC utilizando como eluente CHCl<sub>3</sub>:AcOEt na proporção 9:1 e foram obtidas 58 frações de 10 mL. Foi possível a obtenção de 587 mg da mistura de **P11** e **P12** (frações 3-17) e 46 mg de **P12** puro (frações 17-36), identificado a partir dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

Os grupos **ECGC 1-2** (frações 1-12; 13-26 respectivamente) e **EHGC 7-10** (fração 208-217; 218-219; 220; 221-223, respectivamente) foram submetidos a várias CC, porém não foi possível o isolamento e identificação de nenhum constituinte.

Figura 8. Esquema de fracionamento do extrato ECGC



## 2.6 – Fracionamento do extrato EAFC

EAFC foi obtido como um material sólido (13,2 g) de cor marrom. Foram utilizados 425 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluente, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 82 frações de aproximadamente 200 mL (**Tabela 3, p. 19**).

As 82 frações foram reunidas em 9 grupos (EAFC1 a EAFC9) de acordo com a similaridade dos perfis cromatográficos observados em placas de CCD. O esquema empregado para o fracionamento da coluna EAFC está apresentado na **Figura 9, p. 20**.

Tabela 3. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EAFC

Frações	Eluente	Nº de frações
01-22	Clorofórmio	22
23-32	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 19:1	10
33-35	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 9:1	3
36-40	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 4:1	5
41-45	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 7:3	5
46-50	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 3:2	5
51-53	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 1:1	3
54-57	Acetato de Etila	4
58-67	AcOEt: MeOH 4:1	10
68-71	AcOEt:MeOH 1:1	4
72-82	Metanol	11

**Grupo EAFC-3 (frações 14-23):** Neste grupo foram obtidos 111 mg de um sólido bege que foi submetido à CC utilizando clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 86 frações de 10 mL. O subgrupo EAFC-3b (frações 14-41, CHCl<sub>3</sub>, 82 mg) foi submetido a outra CC com os mesmos eluentes utilizados anteriormente e foram obtidas 23 frações de 10 mL. Foram obtidos 10 mg (frações 26-27, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 50:1) de um sólido branco identificado como acetato de 3-oxofriedelan-29-ila (**P13**) a partir da análise dos espectros 1D e 2D de RMN.

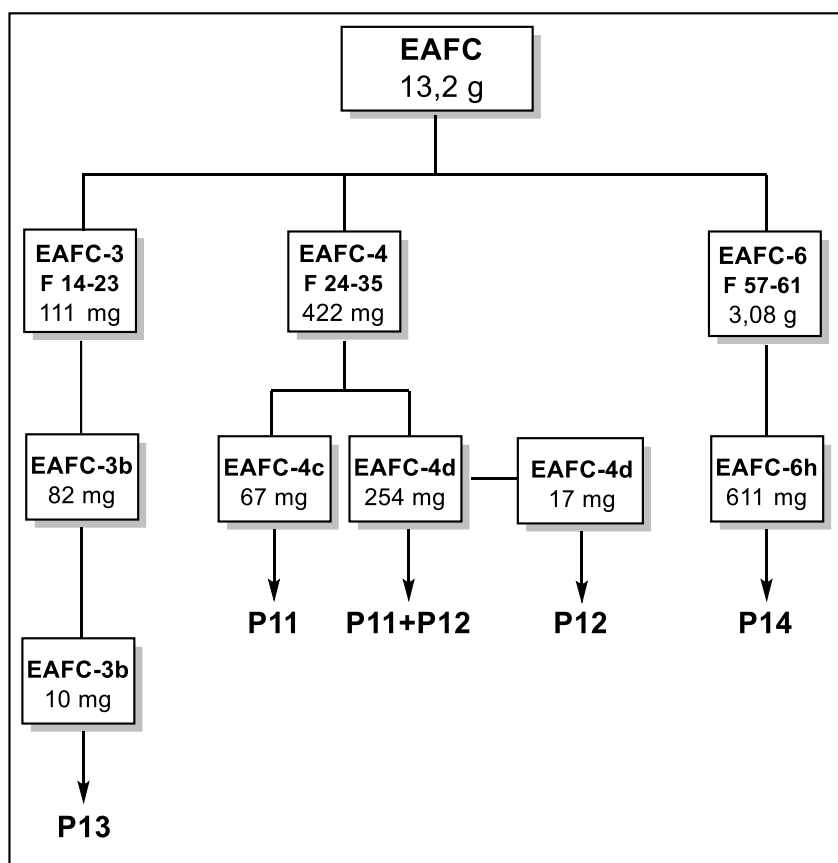
**Grupo EAFC-4 (frações 24-35):** Neste grupo foram obtidos 422 mg de um sólido bege que foi submetido à CC utilizando clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas, como eluentes. Foram obtidas 120 frações de 20 mL. O subgrupo EAFC-4c (frações 51-54, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 19:1, 67 mg) foi identificado pela análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C como sendo **P11**. A partir da análise de CCD do subgrupo EAFC-4d (frações 55-69, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 19:1, 254 mg), foi possível observar a presença do triterpeno **P11** e de outro constituinte. Dessa forma, foi realizada uma CC desse subgrupo utilizando hexano, clorofórmio e acetato de etila como eluentes obtendo-se 26 frações de 20 mL. Foram obtidos 17 mg (frações 24-26, CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 9:1) de um sólido branco, que após análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C, foi possível a identificação do triterpeno friedelano-3 $\beta$ ,29-diol (**P12**).

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

**Grupo EAFC-6 (frações 57-61):** Neste grupo foram obtidos 3,08 g de um sólido marrom que foi submetido a uma CC com clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas. Foram obtidas 33 frações de 100 mL. Um sólido bege foi obtido no subgrupo EAFC-6h (fração 9-13, AcOEt:MeOH 9:1, 611 mg) e, após análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , foi possível identificar o composto epigalocatequina (**P14**).

Os outros grupos, **EAFC-1** (frações 1-7), **EAFC-2** (frações 8-13), **EAFC-5** (frações 36-56), **EAFC-7** (fração 62), **EAFC-8** (frações 63-70), **EAFC-9** (frações 71-82), foram cromatografados, porém não foi possível o isolamento e identificação de nenhum constituinte.

**Figura 9. Esquema de fracionamento do extrato EAFC**



### 2.7 – Fracionamento do extrato EAGC

EAGC foi obtido como um material sólido (25,1 g) de cor marrom. Esse material foi submetido à CC utilizando 500 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluente,

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 116 frações de aproximadamente 200 mL (**Tabela 4**). As 116 frações foram reunidas em 17 grupos (EAGC1 a EAGC17) de acordo com a similaridade dos perfis cromatográficos observados em placas de CCD. O esquema empregado para o fracionamento da coluna EAGC está apresentado na **Figura 10, p. 22**.

**Tabela 4. Frações obtidas e eluentes utilizados para coluna EAGC**

Frações	Eluente	Nº de frações
01-13	Clorofórmio	13
14-26	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 9:1	13
27-36	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 4:1	10
37-45	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 7:3	9
46-57	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 3:2	12
58-66	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 1:1	9
67-79	CHCl <sub>3</sub> :AcOEt 1:3	13
80-90	Acetato de Etila	11
91-100	AcOEt: MeOH 4:1	10
101-103	AcOEt:MeOH 1:1	3
104-110	AcOEt:MeOH 1:3	7
111-116	Metanol	6

**Grupo EAGC-1 (frações 01-13):** Neste grupo foram obtidos 140 mg de um sólido bege que foi lavado com metanol e filtrado. Foram obtidos 13 mg de **P2**, identificado a partir da análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C.

**Grupo EAGC-10 (frações 44-55):** Neste grupo foram obtidos 358 mg de um sólido marrom que foi submetido à CS utilizando metanol como eluente. Foram obtidas 29 frações de 20 mL. O subgrupo EAGC-10d (frações 19-21, CHCl<sub>3</sub>: AcOEt 3:2, 45 mg) foi obtido como um sólido levemente amarelado e foi identificado por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C como sendo uma mistura de dois ácidos fenólicos (**P15** e **P16**).

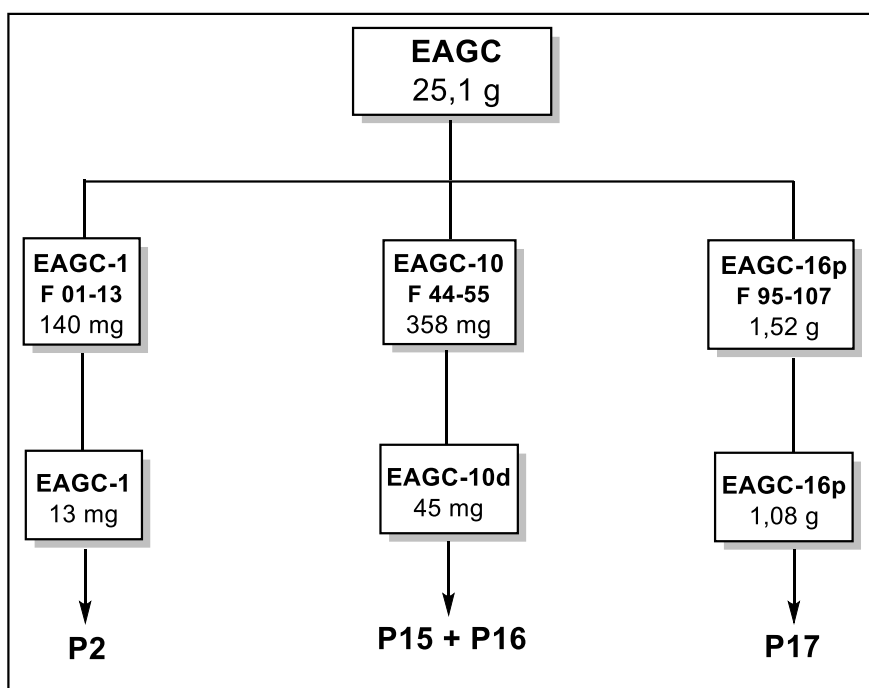
**Grupo EAGC-16 (frações 95-107):** Durante o processo de concentração das frações em evaporador rotativo, foi observada a formação de uma grande quantidade de sólido como precipitado. Como consequência, este grupo foi subdividido nas frações EAGC-16p (1,52 g), que correspondeu à parte sólida que foi filtrada após a

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

concentração, e EAGC-16s (7,26 g), que correspondeu à parte que permaneceu solúvel no solvente residual. À fração EAGC-16p foi adicionado metanol e, após filtrado, obteve-se um sólido bege. Foram obtidos 1,08 g deste sólido que foi identificado por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como sendo **P17**. A fração EAGC-16s não foi trabalhada.

Os demais grupos, **EAGC 2-9** (frações 12-14; 15-18; 19-21; 22-23; 24-27; 28-32; 33-38; 39-43, respectivamente), **EAGC 11-15** (frações 56-59; 60-67; 58-75; 76-90; 91-94, respectivamente) e **EAGC 17** (frações 108-116) foram submetidas a sucessivas CC, ou CS quando aplicável, e não foi possível a identificação de nenhum constituinte purificado.

**Figura 10. Esquema de fracionamento do extrato EAGC**



### 2.8 – Fracionamento do extrato EMFC

EMFC foi obtido como um material sólido (126,2 g) de cor marrom. Foram separados 60 g desse extrato e ressuspensos em 1,2 L de água destilada. O extrato permaneceu sob agitação por 48h. Após esse período, o material sólido insolúvel no meio aquoso foi separado por centrifugação, a 4000 rpm, utilizando uma centrífuga Eppendorf modelo 5430. Foram obtidos 12,5 g de um sólido marrom claro. Esse sólido

## **CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum***

foi lavado em metanol e filtrado, e foram obtidos 3,1 g de um material sólido bege, que foi identificado por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como sendo **P17**. A parte aquosa de EMFC foi armazenada em freezer e não foi trabalhada.

### **2.9 – Fracionamento do extrato EMGC**

EMGC foi obtido como um material sólido (82,8 g) de cor marrom. Foram separados 60 g desse extrato e ressuspensos em 1,2 L de água destilada. O extrato permaneceu sob agitação por 48h. Após esse período, o material sólido insolúvel no meio aquoso foi separado por centrifugação, a 4000 rpm, utilizando uma centrífuga Eppendorf modelo 5430. Foram obtidos 30,2 g de um sólido marrom claro. Esse sólido foi lavado em metanol e filtrado, e foram obtidos 7,8 g de um material sólido bege, que foi identificado por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como sendo **P17**. A parte aquosa de EMGC foi armazenada em freezer e não foi trabalhada.

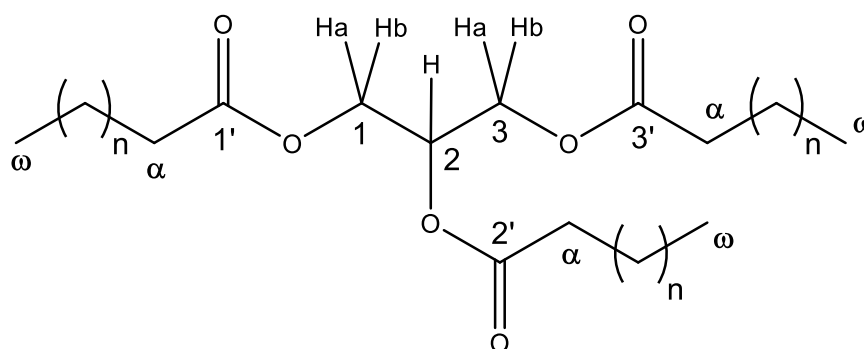


### 3 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

Os 17 compostos isolados foram classificados de acordo com características estruturais em: compostos graxos, esteroide, triterpenos pentacíclicos dos tipos glutinano, ursano, oleanano e friedelano, flavonoide, ácido fenólico e xantona. A determinação estrutural será apresentada por classe e não por ordem de isolamento dos compostos.

#### 3.1 – Compostos graxos

##### 3.1.1 – **P7**: triacilglicerol

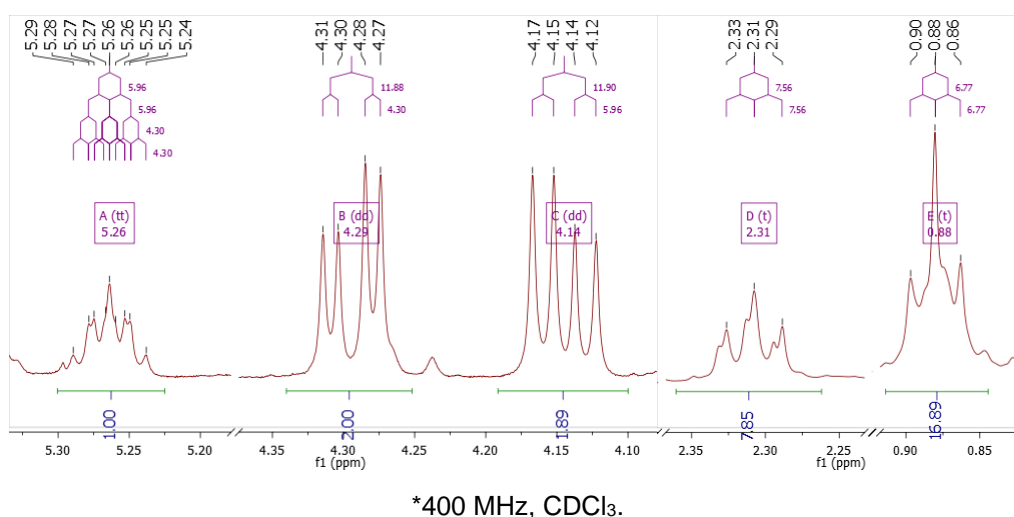


No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P7** (Apêndice **A**, p. 147, e **Figura 11**, p. 25) foi observado um tripleto triplo em  $\delta_{\text{H}}$  5,26 (tt, 6,0; 4,3 Hz, 1H) e dois dupletos duplos em  $\delta_{\text{H}}$  4,29 (dd, 11,9; 4,3 Hz, 2H) e  $\delta_{\text{H}}$  4,14 (dd, 11,9; 6,0 Hz, 2H). A partir da análise das constantes de acoplamento e das integrais para estes sinais, pôde-se concluir que o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,26 corresponde a um átomo de hidrogênio de um carbono metínico ligado a um heteroátomo e vizinho a dois grupos metilênicos quimicamente semelhantes e que apresentam hidrogênios diastereotópicos. Também foi observado um sinal muito intenso e largo em  $\delta_{\text{H}}$  1,26, que, adicionalmente há dois tripletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,31 (t, 7,6 Hz) relativos a grupos metilênicos vizinhos à carbonila (H- $\alpha$ ), e em  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (t, 6,8 Hz) associado a grupos metila terminal de cadeia alifática longa (H- $\omega$ ), indicam a presença de resíduos de ácido graxo na estrutura. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice **A**, p. 147) observaram-se dois sinais em  $\delta_{\text{C}}$  172,9 e 173,3, confirmando a presença de carbonos carbonílicos de éster em **P7**. A partir do espectro DEPT-135 (Apêndice **A**, p. 147) os sinais compreendidos entre  $\delta_{\text{C}}$  22,7-34,3 foram atribuídos a carbonos metilênicos, característicos de compostos que apresentam cadeia carbônica longa. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  68,9 (CH) e  $\delta_{\text{C}}$  62,1 (CH<sub>2</sub>) foram, portanto, associados aos

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

sinais em  $\delta_H$  5,26 (H-2) e em  $\delta_H$  4,29 e 4,14 (H-1 e H-3), o que torna possível concluir que **P7** consiste em um triéster de cadeia longa, ou seja, triacilglicerol de ácidos graxos saturados. Como não foram realizados experimentos posteriores de espectrometria de massas ou de HPLC-MS, não é possível determinar o tamanho das cadeias graxas ou se a amostra se trata de uma mistura ou um único tipo de triacilglicerol. Na **Tabela 5** são apresentados os dados para **P7** comparados ao encontrado na literatura para o triestearato de glicerila ( $C_{57}H_{110}O_6$ ), um triacilglicerol de cadeia longa.

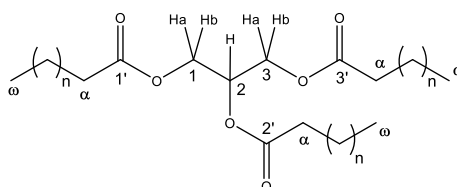
**Figura 11. Expansão do espectro de RMN de  $^1H^*$  ( $\delta_H$  0,80-5,30) para P7**



**Tabela 5. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}C$  (100 MHz) para P7**

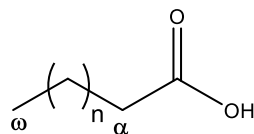
Átomo	Tipo	$\delta_C$ P7 <sup>a</sup>	$\delta_C$ Triestearato de glicerila <sup>a*</sup>
1 e 3	CH <sub>2</sub>	62,1	62,1
2	CH	68,9	68,9
1' e 3'	C	173,3	173,3
2'	C	172,9	172,9
$\alpha_{1,3}$	CH <sub>2</sub>	34,1	34,1
$\alpha_2$	CH <sub>2</sub>	34,3	34,3
n	CH <sub>2</sub>	22,7-31,9	22,7-32,0
$\omega$	CH <sub>3</sub>	14,1	14,1

<sup>a</sup> $CDCl_3$ ; \* (MANNINA et al., 2000).



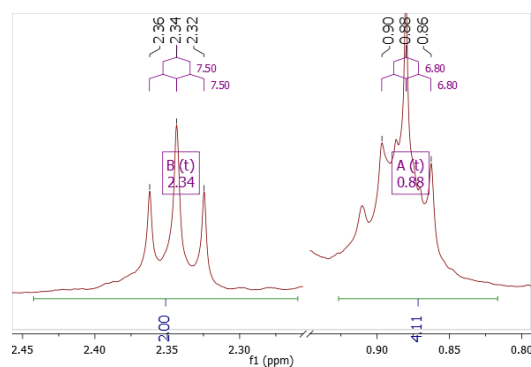
# CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

## 3.1.2 – P10: ácido graxo



Ao se observar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Apêndice B, p. 148 e **Figura 12**) de **P10** é possível perceber certa similaridade em relação ao de **P7**. Os dois tripletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,34 (t, 7,5 Hz) (H- $\alpha$ ) e  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (t, 6,8 Hz) (H- $\omega$ ), e um sinal muito intenso e largo em  $\delta_{\text{H}}$  1,26 indicam que **P10** é um composto graxo. Ao se analisar os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice B, p. 148), observa-se a presença de muitos sinais de grupos metilênicos entre  $\delta_{\text{C}}$  22,7-34,0, e um sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  179,4, mais distante do TMS que o observado em **P7**, evidenciando um provável átomo de carbono carbonílico de ácido carboxílico, e não de éster. A partir dessas informações, foi possível a identificação de **P10** como sendo ácido graxo. Não foram realizados experimentos de espectrometria massas para verificar o tamanho exato da cadeia ou se a amostra se trata de uma mistura de ácidos graxos. Na **Tabela 6** são comparados os valores de deslocamento encontrados para **P10** com valores encontrados na literatura para o ácido palmítico ( $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ ).

**Figura 12. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  0,80-2,45) para P10**



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

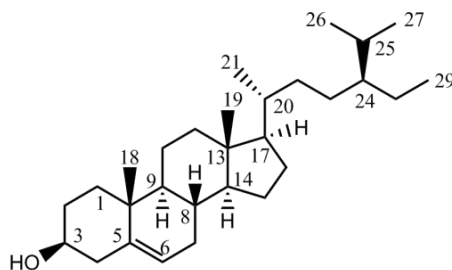
**Tabela 6. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P10**

Átomo	Tipo	$\delta_{\text{C}}$ P7 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ Ácido palmítico <sup>a*</sup>
COOH	C	179,4	180,4
$\alpha$	CH <sub>2</sub>	34,0	34,1
n	CH <sub>2</sub>	22,7-32,0	22,72-32,0
$\omega$	CH <sub>3</sub>	14,1	14,1

<sup>a</sup> $\text{CDCl}_3$ ; <sup>\*</sup>(COUPERUS; CLAGUE; VAN DONGEN, 1978).

## 3.2 – Esteróide

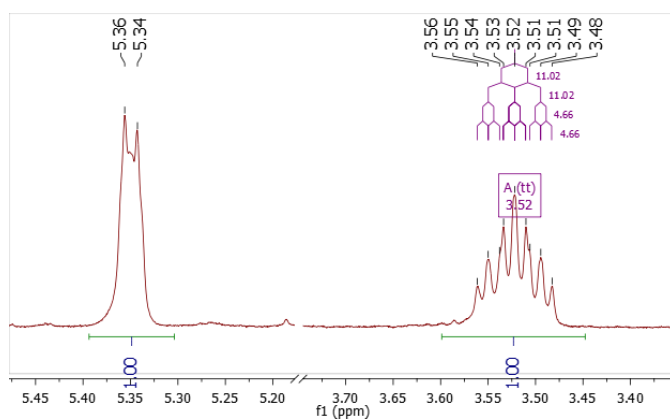
### 3.2.1 – **P8**: $\beta$ -sitosterol



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Apêndice **C**, p. 150) de **P8**, na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,7-2,5, apresenta alguns sinais com maior intensidade e muitos sinais sobrepostos, bastante característico de triterpenoides e esteróides. O tripleto triplo em  $\delta_{\text{H}}$  3,52 (tt, 11,0; 4,7 Hz, 1H) (**Figura 13**, p. 28) pertence a um átomo de hidrogênio carbinólico vizinho a dois grupos metilênicos. Este sinal é característico de esteróides  $3\beta$  hidroxilados, pois ambos C-2 e C-4 correspondem a grupos  $\text{CH}_2$ . Em triterpenos, C-4 geralmente se apresenta como carbono quaternário ou metínico, sendo improvável observar um tripleto triplo para H-3 nestes compostos. O multipletto centrado em  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (m, 1H) está associado a um átomo de hidrogênio olefínico, indicando a presença de uma ligação dupla trissubstituída. Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice **C**, p. 150) é possível observar os sinais dos átomos de carbono da ligação dupla em  $\delta_{\text{C}}$  140,8 (C) e  $\delta_{\text{C}}$  121,7 (CH) e do sinal do átomo de carbono carbinólico em  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (CH). Ao comparar estes valores de deslocamentos e os demais observados para **P8** (DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003) com dados da literatura para os fitosteróis mais comumente encontrados em plantas, foi possível a identificação deste composto como sendo o  $\beta$ -sitosterol. Na **Tabela 7** (p. 28) se encontram as atribuições de todos os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P8**.

# CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

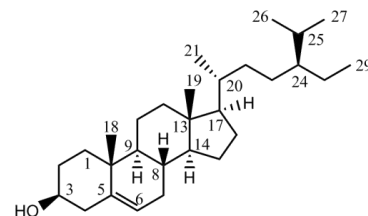
Figura 13. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,40-5,45) para P8



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

Tabela 7. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P8

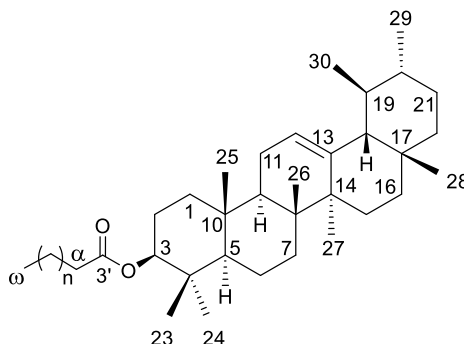
Átomo	Tipo	$\delta_{\text{C}}$ P8 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ $\beta$ -sitosterol <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	37,3	37,2
2	CH <sub>2</sub>	31,7	31,6
3	CH	71,8	71,8
4	CH <sub>2</sub>	42,3	42,2
5	C	140,8	140,7
6	CH	121,7	121,7
7	CH <sub>2</sub>	31,9	31,9
8	CH	31,9	31,9
9	CH	50,2	50,1
10	C	36,5	36,5
11	CH <sub>2</sub>	21,1	21,1
12	CH <sub>2</sub>	39,8	39,7
13	C	42,4	42,3
14	CH	56,8	56,7
15	CH <sub>2</sub>	24,3	24,3
16	CH <sub>2</sub>	28,3	28,2
17	CH	56,1	56,0
18	CH <sub>3</sub>	11,9	11,8
19	CH <sub>3</sub>	19,4	19,4
20	CH	36,2	36,1
21	CH <sub>3</sub>	18,8	18,8
22	CH <sub>2</sub>	34,0	33,9
23	CH <sub>2</sub>	26,1	26,0
24	CH	45,9	45,8
25	CH	29,2	29,1
26	CH <sub>3</sub>	19,8	19,8
27	CH <sub>3</sub>	19,0	19,0
28	CH <sub>2</sub>	23,1	23,0
29	CH <sub>3</sub>	12,0	12,0



<sup>a</sup> $\text{CDCl}_3$ ; <sup>\*</sup>(DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003).

## 3.3 – Triterpenos pentacíclicos – ursanos e oleanano

### 3.3.1 – **P1**: 3 $\beta$ -aciloxiurs-12-eno

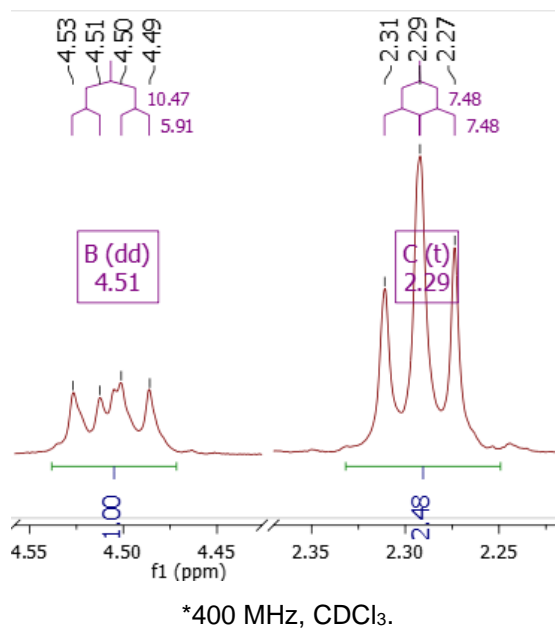


Observando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P1** (Apêndice **D**, p. 151), é possível perceber simpletos de maior intensidade na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,7-1,2, indicando a presença de átomos hidrogênios de metila associados a triterpenos. Também é possível observar um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,29 (t, 7,5 Hz, 2H) (**Figura 14**, p. 30) e um sinal largo e muito intenso em  $\delta_{\text{H}}$  1,25 indicando a presença de uma cadeia alifática longa. A partir dessas observações é possível sugerir duas possibilidades: a amostra corresponde a um triterpeno esterificado com um resíduo de ácido graxo, ou se trata de uma mistura de ácido graxo e triterpeno. Para determinar qual das possibilidades é a correta para **P1**, duas observações são determinantes. A primeira se relaciona ao valor do deslocamento do átomo de hidrogênio carbinólico (H-3). Em triterpenos com função álcool em C-3, o deslocamento observado para H-3 geralmente se encontra na faixa entre  $\delta_{\text{H}}$  3,0-4,0. Para **P1**, o deslocamento em  $\delta_{\text{H}}$  4,51 (dd, 10,5; 5,9 Hz, 1H) foi associado a H-3, valor superior ao normalmente observado. Além disso, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice **D**, p. 151), o sinal referente ao carbono carbonílico em **P1** apresentou deslocamento químico em  $\delta_{\text{C}}$  173,7, valor inferior ao observado para ácidos graxos livres (~180 ppm). O aumento no valor de deslocamento químico para H-3 e a diminuição no deslocamento associado à carbonila corroboram a identificação de **P1** como sendo um éster graxo de triterpeno. A identificação do esqueleto triterpênico foi feita com base nos deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos. No espectro de DEPT-135 (Apêndice **D**, p. 151) observou-se que os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  139,8 (C) e  $\delta_{\text{C}}$  124,5 (CH) são similares aos sinais dos carbonos olefínicos de triterpenos ursânicos. Desta forma, todos os sinais de carbono foram comparados com dados da literatura para o estearato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila (**Tabela 8**, p. 31) e **P1** foi identificado como sendo 3 $\beta$ -aciloxiurs-12-eno. Como não foi realizado nenhum

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

experimento por espectrometria de massas, não foi possível determinar o tamanho da cadeia graxa ou se **P1** trata-se de uma mistura de acilatos triterpênicos.

Figura 14. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,20-4,55) para P1

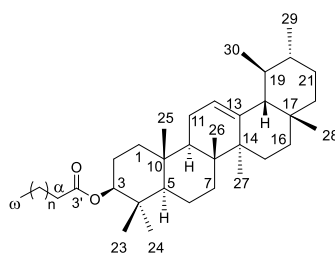


CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Tabela 8. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P1

Átomo	Tipo	$\delta_c$ P1 <sup>a</sup>	$\delta_c$ Estearato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	38,5	38,5
2	CH <sub>2</sub>	23,6	23,7
3	CH	80,6	80,6
4	C	37,8	37,8
5	CH	55,3	55,3
6	CH <sub>2</sub>	18,2	18,3
7	CH <sub>2</sub>	32,9	32,9
8	C	40,0	40,1
9	CH	47,6	47,7
10	C	36,8	36,9
11	CH <sub>2</sub>	23,4	23,4
12	CH	124,3	124,4
13	C	139,6	139,7
14	C	42,1	42,1
15	CH <sub>2</sub>	26,6	26,7
16	CH <sub>2</sub>	28,1	28,1
17	C	33,8	33,8
18	CH	59,1	59,1
19	CH	39,6 <sup>b</sup>	39,7
20	CH	39,7 <sup>b</sup>	39,7
21	CH <sub>2</sub>	31,3	31,3
22	CH <sub>2</sub>	41,5	41,6
23	CH <sub>3</sub>	28,1	28,1
24	CH <sub>3</sub>	16,8 <sup>c</sup>	16,9
25	CH <sub>3</sub>	15,7	15,8
26	CH <sub>3</sub>	16,9 <sup>c</sup>	16,9
27	CH <sub>3</sub>	23,2	23,3
28	CH <sub>3</sub>	28,8	28,8
29	CH <sub>3</sub>	17,5	17,5
30	CH <sub>3</sub>	21,4	21,4
3'	C	173,7	173,7
$\alpha$	CH <sub>2</sub>	34,9	34,9
n	CH <sub>2</sub>	29,2 - 29,7	29,2 - 29,7
$\chi$	CH <sub>2</sub>	31,9	32,0
$\psi$	CH <sub>2</sub>	22,7	22,7
$\omega$	CH <sub>3</sub>	14,1	14,1

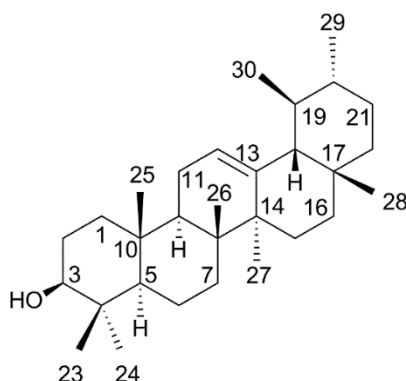
<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b,c</sup> podem estar trocados; \*(MIRANDA et al., 2006).





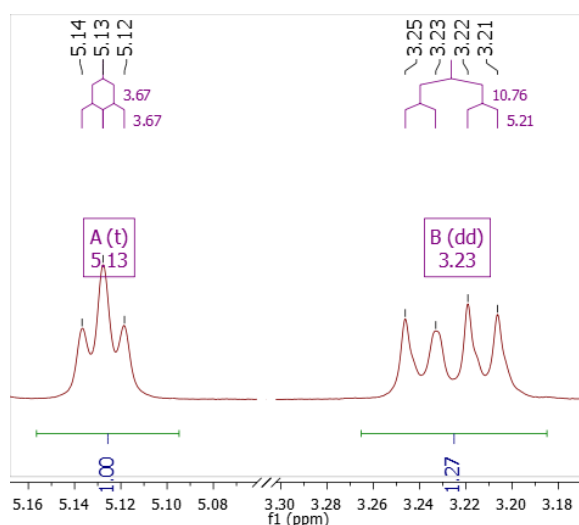
# CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

## 3.3.2 – **P5**: urs-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\alpha$ -amirina)



Os sinais entre  $\delta_H$  0,8-1,1 no espectro de RMN de  $^1H$  (Apêndice E, p. 153) foram atribuídos aos átomos de hidrogênio metílicos característicos de triterpenos. Os sinais de hidrogênio observados em  $\delta_H$  3,23 (dd, 10,8; 5,2 Hz, 1H) e  $\delta_H$  5,13 (t, 3,7 Hz, 1H) (**Figura 15**) indicam a presença de uma hidroxila em carbono metínico e uma ligação dupla trissubstituída, respectivamente. Após a análise dos espectros de RMN de  $^{13}C$  e DEPT-135 (Apêndice E, p. 153) é possível confirmar a presença de um átomo de carbono carbinólico em  $\delta_C$  79,1 (CH) e de ligação dupla a partir dos sinais em  $\delta_C$  139,6 (C) e  $\delta_C$  124,4 (CH). Os valores dos deslocamentos associados aos átomos de carbono olefínicos foram bastante próximos aos observados para **P1**, indicando que **P5** é um triterpeno de esqueleto ursânico. Após a comparação com dados da literatura (**Tabela 9, p. 33**) foi possível identificar **P5** como sendo urs-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\alpha$ -amirina).

**Figura 15. Expansão do espectro de RMN de  $^1H^*$  ( $\delta_H$  3,18-5,16) para **P5****



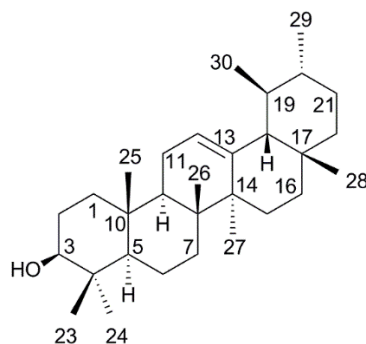
\*400 MHz, CDCl<sub>3</sub>.

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Tabela 9. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P5

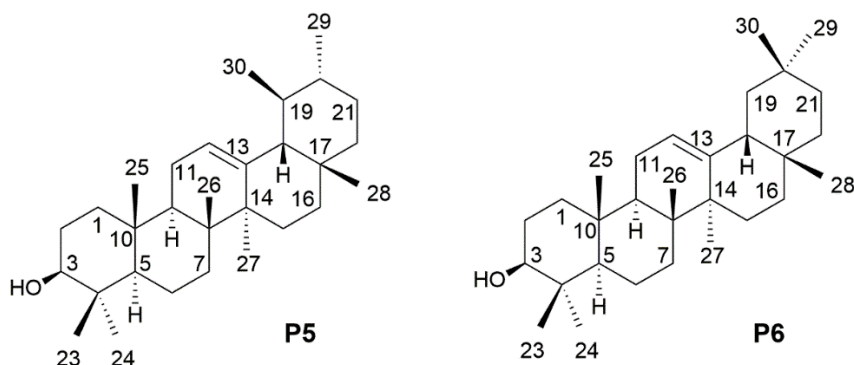
Átomo	Tipo	$\delta_c$ P5 <sup>a</sup>	$\delta_c$ urs-12-en-3 $\beta$ -ol <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	38,8	38,8
2	CH <sub>2</sub>	27,3	27,2
3	CH	79,1	79,3
4	C	38,8	38,7
5	CH	55,2	55,2
6	CH <sub>2</sub>	18,4	18,3
7	CH <sub>2</sub>	33,0	32,9
8	C	40,0	40,0
9	CH	47,7	47,7
10	C	36,9	36,9
11	CH <sub>2</sub>	23,4	23,3
12	CH	124,4	124,4
13	C	139,6	139,6
14	C	42,1	42,1
15	CH <sub>2</sub>	28,8	28,7
16	CH <sub>2</sub>	26,6	26,6
17	C	33,8	33,7
18	CH	59,1	59,1
19	CH	39,6 <sup>b</sup>	39,6
20	CH	39,7 <sup>b</sup>	39,7
21	CH <sub>2</sub>	31,3	31,2
22	CH <sub>2</sub>	41,5	41,5
23	CH <sub>3</sub>	28,1	28,1
24	CH <sub>3</sub>	15,7 <sup>c</sup>	15,7
25	CH <sub>3</sub>	15,6 <sup>c</sup>	15,6
26	CH <sub>3</sub>	16,9	16,8
27	CH <sub>3</sub>	23,3	23,3
28	CH <sub>3</sub>	28,1	28,1
29	CH <sub>3</sub>	17,5	17,5
30	CH <sub>3</sub>	21,4	21,4

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b,c</sup> podem estar trocados; \*(RAGA et al., 2014)



## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

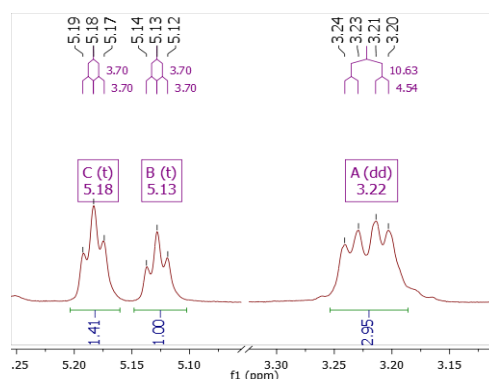
### 3.3.3 – **P5** e **P6**: mistura de urs-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\alpha$ -amirina) e olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -amirina)



A mistura de **P5** e **P6** se apresentou como um único ponto no centro da placa de CCD quando eluída em clorofórmio e acetato de etila na proporção 9:1. Ao analisar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Apêndice **F**, p. 154) foi possível observar muitos sinais de átomos de hidrogênio metílicos sobrepostos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,8-1,1, sugerindo que esta amostra se tratava de uma mistura. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice **F**, p. 154) foram observados 57 sinais, confirmando que se tratava, de fato, de uma mistura de dois triterpenos. Como exibiam exatamente o mesmo  $R_f$  na placa de CCD, ambos os triterpenos deveriam apresentar estruturas químicas similares. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,22 (dd, 10,7; 4,5 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  5,13 (t, 3,7 Hz) no espectro de  $^1\text{H}$  (**Figura 16**, p. 35), relativos ao átomo de hidrogênio carbinólico e ao átomo de hidrogênio olefínico, já evidenciam que um dos triterpenos da mistura é a  $\alpha$ -amirina (**P5**). Outro tripleto pode ser observado em  $\delta_{\text{H}}$  5,18 (t, 3,7 Hz), indicando que o outro triterpeno também apresenta uma ligação dupla. Analisando detalhadamente os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice **F3**, p. 154), os sinais relativos a um átomo de carbono carbinólico em  $\delta_{\text{C}}$  79,1 (CH) e aos olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  139,6 (C) e  $\delta_{\text{C}}$  124,5 (CH) foram compatíveis aos observados para **P5**, e os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  79,0 (CH),  $\delta_{\text{C}}$  121,8 (CH) e  $\delta_{\text{C}}$  145,2 (C) foram comparados com dados da literatura e foram similares aos valores de deslocamento dos átomos de carbono carbinólico e olefínicos do triterpeno olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -amirina) (**P6**). A partir dos valores observados para as integrais dos sinais de H-12 de ambos os triterpenos, é possível estimar que a mistura corresponde a 59% de **P6** e 41% de **P5**. Todos os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **P5** e **P6** foram atribuídos de acordo com dados da literatura e se encontram na **Tabela 10**, p. 35.

# CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Figura 16. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,15-5,25) para P5 e P6



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

Tabela 10. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P5 e P6

Átomo	Tipo	$\delta_{\text{C}}$ P5 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ urs-12-en-3 $\beta$ -ol <sup>a*</sup>	Tipo	$\delta_{\text{C}}$ P6 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ olean-12-en-3 $\beta$ -ol <sup>a**</sup>
1	CH <sub>2</sub>	38,8	38,8	CH <sub>2</sub>	38,6	38,6
2	CH <sub>2</sub>	27,3	27,2	CH <sub>2</sub>	27,3	27,3
3	CH	79,1	79,3	CH	79,1	79,0
4	C	38,8	38,7	C	38,8	38,8
5	CH	55,2	55,2	CH	55,2	55,3
6	CH <sub>2</sub>	18,4	18,3	CH <sub>2</sub>	18,4	18,5
7	CH <sub>2</sub>	33,0	32,9	CH <sub>2</sub>	32,7	32,8
8	C	40,1	40,0	C	38,8	38,8
9	CH	47,8	47,7	CH	47,7	47,7
10	C	36,9	36,9	C	37,2	37,6
11	CH <sub>2</sub>	23,4	23,3	CH <sub>2</sub>	23,6	23,6
12	CH	124,5	124,4	CH	121,8	121,8
13	C	139,6	139,6	C	145,2	145,1
14	C	42,1	42,1	C	41,8	41,8
15	CH <sub>2</sub>	28,8	28,7	CH <sub>2</sub>	26,2	26,2
16	CH <sub>2</sub>	26,7	26,6	CH <sub>2</sub>	27,0	27,0
17	C	33,8	33,7	C	32,5	32,5
18	CH	59,1	59,1	CH	47,3	47,4
19	CH	39,6 <sup>a</sup>	39,6	CH <sub>2</sub>	46,9	46,9
20	CH	39,7 <sup>a</sup>	39,7	C	31,1	31,1
21	CH <sub>2</sub>	31,3	31,2	CH <sub>2</sub>	34,8	34,8
22	CH <sub>2</sub>	41,6	41,5	CH <sub>2</sub>	37,0	37,2
23	CH <sub>3</sub>	28,2	28,1	CH <sub>3</sub>	28,1	28,2
24	CH <sub>3</sub>	15,7 <sup>b</sup>	15,7	CH <sub>3</sub>	15,6 <sup>c</sup>	15,5
25	CH <sub>3</sub>	15,6 <sup>b</sup>	15,6	CH <sub>3</sub>	15,5 <sup>c</sup>	15,5
26	CH <sub>3</sub>	16,9	16,8	CH <sub>3</sub>	16,8	16,9
27	CH <sub>3</sub>	23,3	23,3	CH <sub>3</sub>	26,0	26,0
28	CH <sub>3</sub>	28,1	28,1	CH <sub>3</sub>	28,4	28,4
29	CH <sub>3</sub>	17,5	17,5	CH <sub>3</sub>	33,3	33,3
30	CH <sub>3</sub>	21,4	21,4	CH <sub>3</sub>	23,7	23,7

<sup>a</sup> $\text{CDCl}_3$ ; <sup>b,c</sup> podem estar trocados; \* (RAGA et al., 2014); \*\* (MAHATO; KUNDU, 1994)

### 3.4 – Triterpenos pentacíclicos – friedelanos

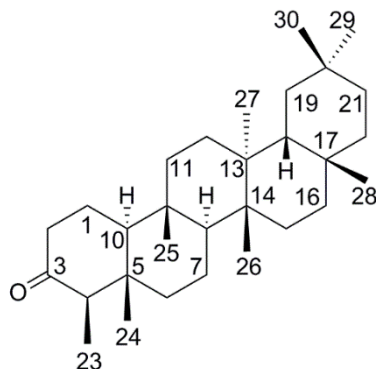
Os diferentes esqueletos pentacíclicos são originados a partir da ação de enzimas da família das oxidoesqualeno ciclases (OSC). Cada OSC dará origem a um triterpeno monofuncionalizado característico para cada tipo de esqueleto, que servirá como arcabouço para posteriores modificações pós-biossintéticas, principalmente devido à ação das enzimas citocromo P-450 (THIMMAPPA et al., 2014).

A friedelina é o triterpeno de esqueleto friedelânico básico originado a partir da ação de uma OSC. Diferentemente dos triterpenos básicos de outros esqueletos, como o lupeol (lupano),  $\alpha$ -amirina (ursano) e  $\beta$ -amirina (oleanano) (**Figura 14, p. 4**), a friedelina é o único dentre esses que não apresenta ligação dupla entre átomos de carbono. Considerando os principais tipos de triterpenos isolados de espécies da família Celastraceae, aqueles que não apresentam insaturações na cadeia carbônica são geralmente triterpenos de esqueleto friedelânico.

Dessa forma, é possível apontar algumas semelhanças nos perfis dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para a uma boa parte dos compostos friedelânicos relatados na literatura, como por exemplo a presença de sinais característicos de metila entre  $\delta_{\text{H}}$  0,7-1,2, podendo estar evidente um duplete com  $J = 7$  Hz associado à metila 23, além da ausência de sinais na região de hidrogênios olefínicos.

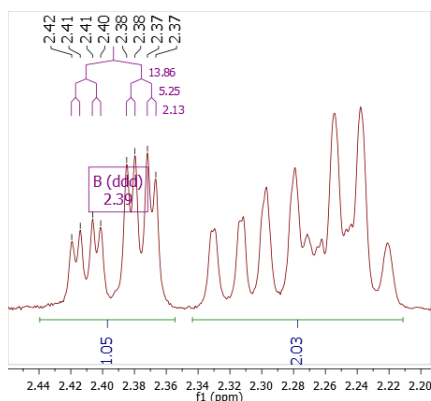
Uma observação empírica importante na elucidação estrutural de triterpenos friedelânicos é a diferenciação entre aqueles que apresentam carbonila em C-3 (3-oxofriedelanos) e hidroxila na posição  $\beta$  em C-3 (3 $\beta$ -hidroxifriedelanos). Em triterpenos 3-oxofriedelânicos, o carbono da metila C-23 se encontra na região do cone de proteção gerado pelo grupo carbonila e, como consequência, observa-se um valor do deslocamento químico bastante característico em torno de  $\delta_{\text{C}}$  7,0 no seu espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Já em triterpenos 3 $\beta$ -hidroxifriedelânicos, o sinal de C-23 aparece em torno de  $\delta_{\text{C}}$  12,0.

3.4.1 – **P2**: friedelan-3-ona (friedelina)



O perfil do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Apêndice **G**, p. 156) sugere que **P2** é um triterpeno friedelânico. O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,39 (ddd, 13,9; 5,3; 2,1 Hz, 1H) e os sinais sobrepostos entre  $\delta_{\text{H}}$  2,20-2,35 (2H) (**Figura 17, p. 37**) indicam a presença de três átomos de hidrogênio vizinhos a uma carbonila. Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice **G**, p. 156) pode-se observar a presença de um sinal relacionado a uma carbonila de cetona em  $\delta_{\text{C}}$  213,2 (C) e um sinal com deslocamento em  $\delta_{\text{C}}$  6,8 referente a um grupo  $\text{CH}_3$ . Estes sinais são característicos para triterpenos 3-oxofriedelânicos, e correspondem aos valores de deslocamento químico observados para os átomos de carbono C-3 e da metila 23, respectivamente. Devido ao efeito de anisotropia magnética gerado pela ligação  $\pi$  existente na carbonila em C-3, cria-se um cone de proteção, de tal forma que o valor de deslocamento de C-23 fica próximo à  $\delta_{\text{C}}$  7,0. De posse dessas informações, os sinais observados para **P2** foram comparados aos da friedelan-3-ona (friedelina) (KLASS et al., 1992), permitindo confirmar **P12** como sendo esta substância. Os valores e atribuições para os átomos de carbono se encontram na **Tabela 11, p. 38**.

**Figura 17. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,20-2,44) para P2**



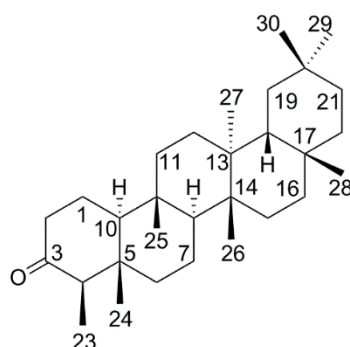
\* 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

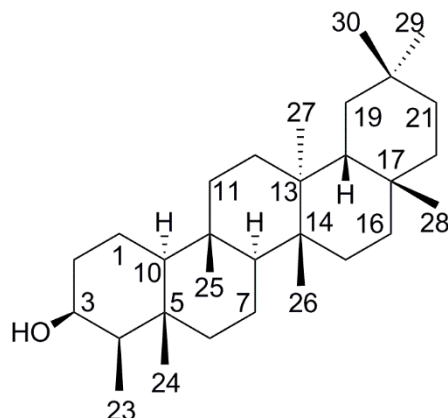
Tabela 11. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz) para P2

Átomo	Tipo	δ <sub>c</sub> P2 <sup>a</sup>	δ <sub>c</sub> friedelan-3-ona <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	22,3	22,3
2	CH <sub>2</sub>	41,5	41,5
3	C	213,2	213,2
4	CH	58,3	58,2
5	C	42,2	42,1
6	CH <sub>2</sub>	41,3	41,3
7	CH <sub>2</sub>	18,3	18,2
8	CH	53,1	53,1
9	C	37,5	37,4
10	CH	59,5	59,5
11	CH <sub>2</sub>	35,6	35,6
12	CH <sub>2</sub>	30,5	30,5
13	C	39,7	39,7
14	C	38,3	38,3
15	CH <sub>2</sub>	32,8	32,8
16	CH <sub>2</sub>	36,0	36,0
17	C	30,0	30,0
18	CH	42,8	42,8
19	CH <sub>2</sub>	35,4	35,3
20	C	28,2	28,2
21	CH <sub>2</sub>	32,4	32,4
22	CH <sub>2</sub>	39,3	39,2
23	CH <sub>3</sub>	6,8	6,8
24	CH <sub>3</sub>	14,7	14,7
25	CH <sub>3</sub>	18,0	17,9
26	CH <sub>3</sub>	20,3	20,3
27	CH <sub>3</sub>	18,7	18,7
28	CH <sub>3</sub>	32,1	32,1
29	CH <sub>3</sub>	31,8	31,8
30	CH <sub>3</sub>	35,0	35,0

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>\*</sup>(KLASS et al., 1992)

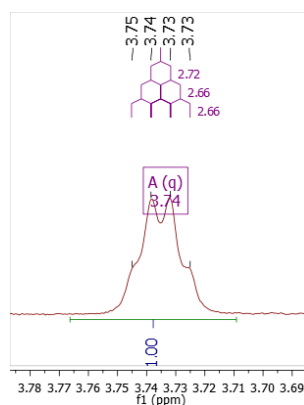


3.4.2 – **P3**: friedelan-3 $\beta$ -ol (friedelinol)



O perfil observado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P3** (Apêndice H, p. 157) sugere se tratar de um triterpeno friedelânico. Um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  3,74 (q, 2,7 Hz, 1H) (**Figura 18, p. 39**) está relacionado a um sinal de hidrogênio carbinólico na posição equatorial do anel, apontando que existe uma hidroxila axial ligada em carbono secundário. Nenhum sinal foi observado próximo à região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,0-2,5, indicando a inexistência de carbonila na estrutura. A partir da análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice H, p. 157) o sinal de menor valor de deslocamento químico para **P3** foi observado em  $\delta_{\text{C}}$  11,6 ( $\text{CH}_3$ ) associado à metila 23. Esse maior deslocamento, em relação ao C-23 obtido em **P2**, é explicado devido à ausência do efeito anisotrópico observado para triterpenos friedelânicos com carbonila na posição 3. Dessa forma, o sinal do carbono carbinólico em  $\delta_{\text{C}}$  72,8 (CH) está associado ao deslocamento químico para C-3. Comparando os dados de  $^{13}\text{C}$  encontrados na literatura com os observados para **P3** (**Tabela 12, p. 40**), foi possível identificar a amostra como sendo friedelan-3 $\beta$ -ol (friedelinol).

**Figura 18. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,69-3,78) para P3**



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

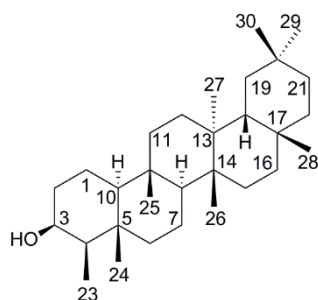


CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

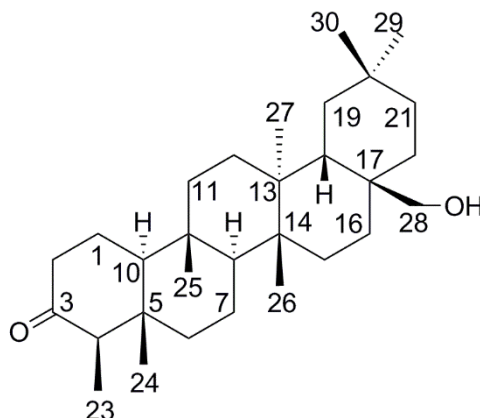
Tabela 12. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz) para P3

Átomo	Tipo	δ <sub>c</sub> P3 <sup>a</sup>	δ <sub>c</sub> friedelan-3β-ol <sup>b*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	15,8	16,2
2	CH <sub>2</sub>	36,1	36,1
3	CH	72,8	71,6
4	CH	49,2	49,6
5	C	37,8	38,1
6	CH <sub>2</sub>	41,7	42,0
7	CH <sub>2</sub>	17,6	17,7
8	CH	53,2	53,3
9	C	37,1	37,2
10	CH	61,4	61,7
11	CH <sub>2</sub>	35,3	35,7
12	CH <sub>2</sub>	30,6	30,7
13	C	38,3	38,3
14	C	39,7	39,7
15	CH <sub>2</sub>	32,3	32,3
16	CH <sub>2</sub>	35,6	35,9
17	C	30,0	30,0
18	CH	42,8	42,9
19	CH <sub>2</sub>	35,2	35,4
20	C	28,2	28,2
21	CH <sub>2</sub>	32,8	32,9
22	CH <sub>2</sub>	39,3	39,3
23	CH <sub>3</sub>	11,6	12,1
24	CH <sub>3</sub>	16,4	16,6
25	CH <sub>3</sub>	18,2	18,4
26	CH <sub>3</sub>	20,1	20,1
27	CH <sub>3</sub>	18,7	18,7
28	CH <sub>3</sub>	32,1	32,1
29	CH <sub>3</sub>	35,0	35,0
30	CH <sub>3</sub>	31,8	31,9

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub> + gotas de C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N; \*(SALAZAR et al., 2000)

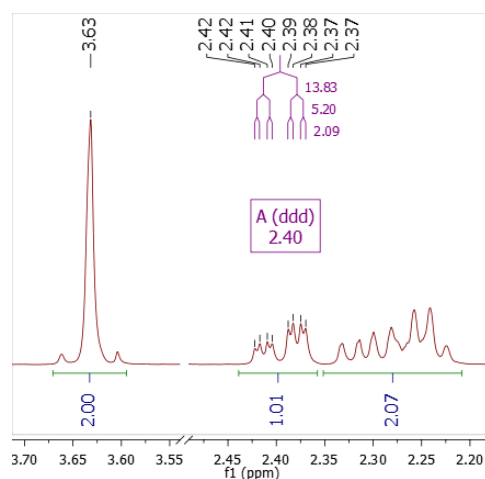


3.4.3 – **P9**: 28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol)



A partir da análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P9** (Apêndice I, p. 159), foi possível observar um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,40 (ddd, 13,8; 5,2; 2,1 Hz, 1H) e sinais sobrepostos entre  $\delta_{\text{H}}$  2,20-2,35 (2H) (**Figura 19**) que apresentam grande similaridade aos sinais observados nas mesmas regiões do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P2**. Pode-se concluir, portanto, que a amostra se trata de um triterpeno 3-oxofriedelânico. Além da carbonila em C-3, um simpleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  3,63 (sl, 2H) aponta a existência de um grupo hidroximetilênico. A partir das análises dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice I, p. 159), a carbonila em C-3 foi associada ao sinal em  $\delta_{\text{C}}$  213,2 (C), e o sinal do carbono hidroximetilênico foi atribuído ao sinal em  $\delta_{\text{C}}$  68,0 ( $\text{CH}_2$ ). Os 30 sinais observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram comparados aos relatados na literatura e **P9** foi identificado como sendo 28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol) (**Tabela 13, p. 42**).

**Figura 19.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,20-3,70) para **P9**



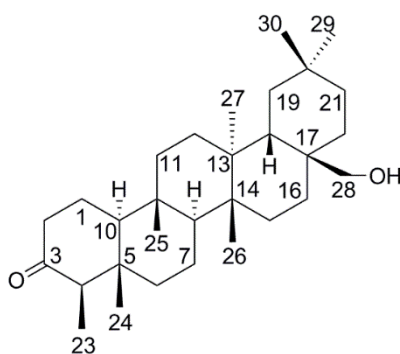
\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

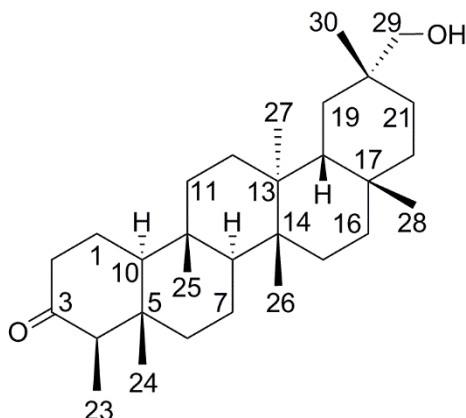
Tabela 13. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz) para P9

Átomo	Tipo	δ <sub>c</sub> P9 <sup>a</sup>	δ <sub>c</sub> 28-hidroxifriedelan-3-ona <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	22,3	22,3
2	CH <sub>2</sub>	41,5	41,5
3	C	213,2	213,2
4	CH	58,2	58,2
5	C	42,1	42,1
6	CH <sub>2</sub>	41,2	41,2
7	CH <sub>2</sub>	18,2	18,2
8	CH	52,5	52,5
9	C	37,5	37,5
10	CH	59,5	59,5
11	CH <sub>2</sub>	35,4	35,4
12	CH <sub>2</sub>	30,1	30,1
13	C	39,4	39,4
14	C	38,2	38,1
15	CH <sub>2</sub>	31,2	31,2
16	CH <sub>2</sub>	29,1	29,1
17	C	35,2	35,2
18	CH	39,5	39,4
19	CH <sub>2</sub>	34,5	34,5
20	C	28,2	28,2
21	CH <sub>2</sub>	31,4	31,4
22	CH <sub>2</sub>	33,4	33,4
23	CH <sub>3</sub>	6,8	6,8
24	CH <sub>3</sub>	14,7	14,7
25	CH <sub>3</sub>	18,1	18,1
26	CH <sub>3</sub>	19,1 <sup>b</sup>	19,1
27	CH <sub>3</sub>	19,2 <sup>b</sup>	19,2
28	CH <sub>2</sub>	68,0	68,1
29	CH <sub>3</sub>	32,9	32,9
30	CH <sub>3</sub>	34,3	34,3

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup> podem estar trocados; \*(PEREIRA et al., 2018).

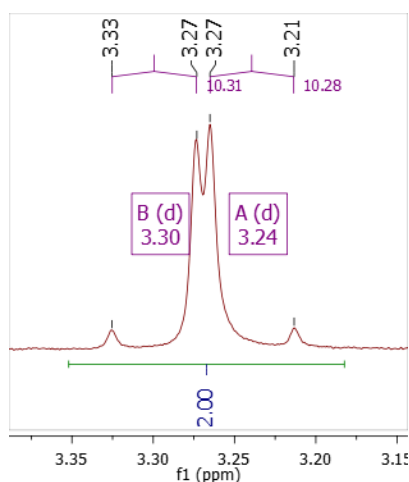


3.4.4 – **P11**: 29-hidroxifriedelan-3-ona



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P11** (Apêndice **J1**, p. 160) é possível observar sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,15-2,50 (3H), similares aos observados em **P2**. Pode-se inferir, portanto, que a substância é um triterpeno 3-oxofriedelânico. Dois sinais parcialmente sobrepostos em  $\delta_{\text{H}}$  3,24 (d, 10,3 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  3,30 (d, 10,3 Hz) integrados para 2H (**Figura 20**), que correspondem a dois átomos de hidrogênio diastereotópicos apresentando acoplamento geminal ( $^2J_{\text{HH}}$ ) indicam a presença de um grupo hidroximetilênico ligado diretamente a um centro estereogênico. Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice **J**, p. 160) é possível observar um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  74,8 que foi associado ao grupo hidroximetilênico, e quando comparado com dados da literatura junto aos demais sinais observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Tabela 14**, p. 44), foi possível identificar **P11** como sendo a 29-hidroxifriedelan-3-ona.

**Figura 20.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,15-3,40) para **P11**



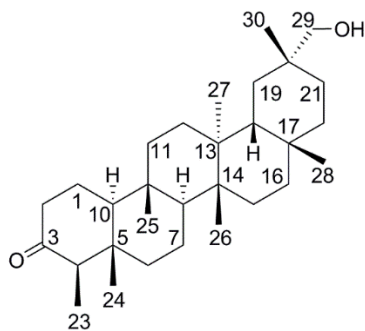
\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

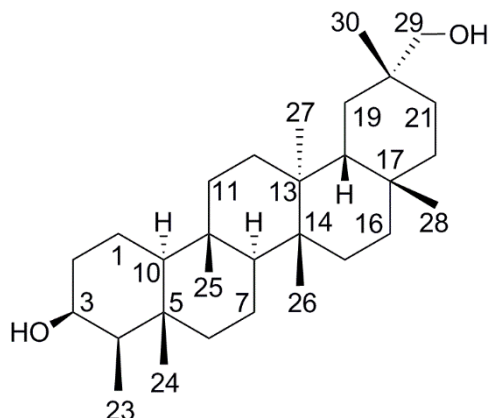
Tabela 14. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P11

Átomo	Tipo	$\delta_c$ P11 <sup>a</sup>	$\delta_c$ 29-hidroxifriedelan-3-ona <sup>a</sup>
1	CH <sub>2</sub>	22,3	22,3
2	CH <sub>2</sub>	41,5 <sup>b</sup>	41,5
3	C	213,2	213,3
4	CH	58,2	58,2
5	C	42,2	42,2
6	CH <sub>2</sub>	41,3 <sup>b</sup>	41,3
7	CH <sub>2</sub>	18,2	18,2
8	CH	53,4	53,4
9	C	37,4	37,4
10	CH	59,5	59,4
11	CH <sub>2</sub>	35,6	35,6
12	CH <sub>2</sub>	29,8	29,7
13	C	40,0	39,9
14	C	38,2	38,2
15	CH <sub>2</sub>	32,7	32,7
16	CH <sub>2</sub>	35,9	35,9
17	C	30,5	30,5
18	CH	41,9	41,8
19	CH <sub>2</sub>	30,6	30,6
20	C	33,1	33,1
21	CH <sub>2</sub>	27,8	27,8
22	CH <sub>2</sub>	39,5	39,5
23	CH <sub>3</sub>	6,8	6,8
24	CH <sub>3</sub>	14,7	14,7
25	CH <sub>3</sub>	17,9	17,9
26	CH <sub>3</sub>	18,5	18,5
27	CH <sub>3</sub>	20,8	20,8
28	CH <sub>3</sub>	32,1	32,1
29	CH <sub>2</sub>	74,8	74,7
30	CH <sub>3</sub>	25,8	25,8

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup> podem estar trocados; \*(PEREIRA et al., 2018).

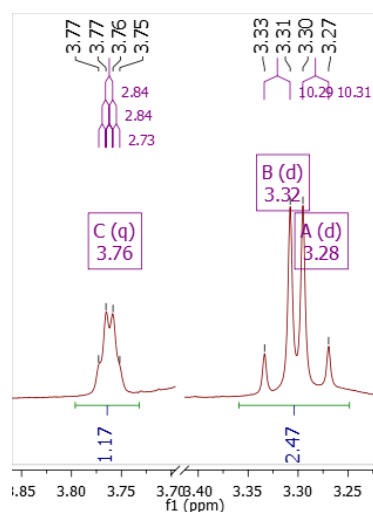


3.4.5 – **P12**: *friedelano-3 $\beta$ ,29-diol*



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P12** (Apêndice K, p. 162) foi observado um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,76 (q, 2,8 Hz, 1H) e outros dois sinais muito próximos em  $\delta_{\text{H}}$  3,28 (d, 10,3 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  3,32 (d, 10,3 Hz) integrados juntos para 2H (**Figura 21**), que apresentaram similaridade em relação ao átomo de hidrogênio carbinólico de **P3** e hidrogênios hidroximetilênicos de **P11**. Estas informações indicam que **P12** trata-se de um triterpeno friedelânico com hidroxilas em C-3 (posição beta) e C-29. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice K, p. 162) evidenciam a presença dos carbonos hidroxilados em  $\delta_{\text{C}}$  73,9 ( $\text{CH}_2$ ) e  $\delta_{\text{C}}$  71,5 ( $\text{CH}$ ), corroborando com a informação obtida pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . Após comparação com dados da literatura (**Tabela 15, p. 46**), foi possível identificar **P12** como sendo o triterpeno friedelano-3 $\beta$ ,29-diol.

**Figura 21.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,25-3,85) para **P12**



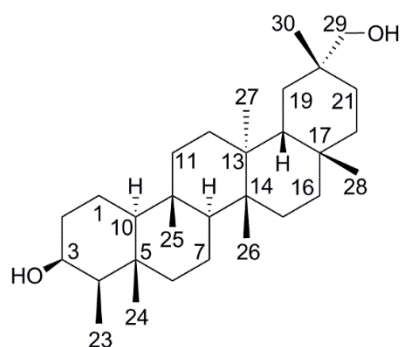
\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  + gotas de  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ .

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Tabela 15. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P12

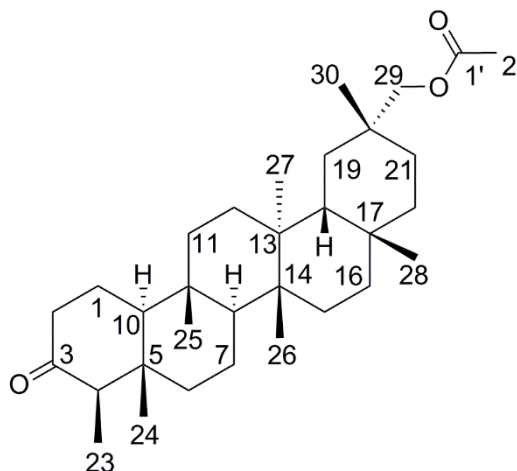
Átomo	Tipo	$\delta_c$ P12 <sup>a</sup>	$\delta_c$ friedelano-3 $\beta$ ,29-diol <sup>b*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	15,6	16,0
2	CH <sub>2</sub>	35,2	35,4
3	CH	71,5	73,0
4	CH	49,1	49,4
5	C	37,6	38,1
6	CH <sub>2</sub>	41,5	41,9
7	CH <sub>2</sub>	17,2	17,8
8	CH	53,2	53,7
9	C	36,7	37,3
10	CH	61,1	61,5
11	CH <sub>2</sub>	35,2	35,8
12	CH <sub>2</sub>	30,3	30,9
13	C	39,6	40,1
14	C	37,9	38,5
15	CH <sub>2</sub>	32,3	32,8
16	CH <sub>2</sub>	35,6	36,1
17	C	30,2	30,8
18	CH	41,6	42,1
19	CH <sub>2</sub>	29,7	30,0
20	C	32,9	33,3
21	CH <sub>2</sub>	27,6	28,0
22	CH <sub>2</sub>	39,4	39,7
23	CH <sub>3</sub>	11,5	11,8
24	CH <sub>3</sub>	16,1	16,6
25	CH <sub>3</sub>	17,8	18,4
26	CH <sub>3</sub>	20,3	20,8
27	CH <sub>3</sub>	18,0	18,7
28	CH <sub>3</sub>	31,7	32,3
29	CH <sub>2</sub>	73,9	75,0
30	CH <sub>3</sub>	25,7	26,0

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub> + gotas de C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N; <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub>; \*(PEREIRA et al., 2018).



## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

### 3.4.6 – **P13**: acetato de 3-oxofriedelan-29-ila



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P13** (Apêndice L, p. 163) foram observados um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,39 (ddd, 14,0; 5,4; 2,1 Hz, 1H) e dois sinais sobrepostos em  $\delta_{\text{H}}$  2,20-2,35 (2H) (**Figura 22**, p. 48), similares aos observados em **P2**, indicando que **P13** é um friedelano. O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (s, 2H) sugere a presença de um grupo hidroximetilênico. Além disso, um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,08 (s, 3H) evidencia a presença de uma metila ligada a um grupo carbonílico. A partir das análises dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice L, p. 163) foi possível observar 32 sinais, dois a mais do que habitualmente encontrado para triterpenos. As informações de que existe um grupo metila vizinho a um grupo carbonílico e que o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresenta dois sinais a mais que o esperado, sugerem que o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  171,6 (C) corresponde a um carbono carbonílico de um grupo acetila esterificado ao triterpeno. Considerando que **P13** foi isolado do extrato acetato etílico de folhas de *C. cognatum*, e **P11** foi um dos triterpenos majoritários isolados desta parte da planta (PEREIRA et al., 2018), foi feita uma busca na literatura de forma a identificar essa substância a partir de dados de RMN para o derivado do triterpeno **P11** acetilado na posição 29. Dados de deslocamento químico para os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  (BETANCOR et al., 1980) corroboraram a hipótese de **P13** ser, de fato, um derivado acetilado de **P11**. Dessa forma, **P13** foi identificado como sendo acetato de 3-oxofriedelan-29-ila. Como não existem dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  para **P13** publicados na literatura, na **Tabela 16**, p. 49, estão expressos os valores dos deslocamentos de  $^{13}\text{C}$  do triterpeno **P11** e do diacetato de friedelano-3 $\beta$ ,29-di-ila (**Figura 23**, p.48), um derivado diacetilado nas posições 3 $\beta$  e 29 de **P12**. Pode-se observar que os valores de deslocamento para o

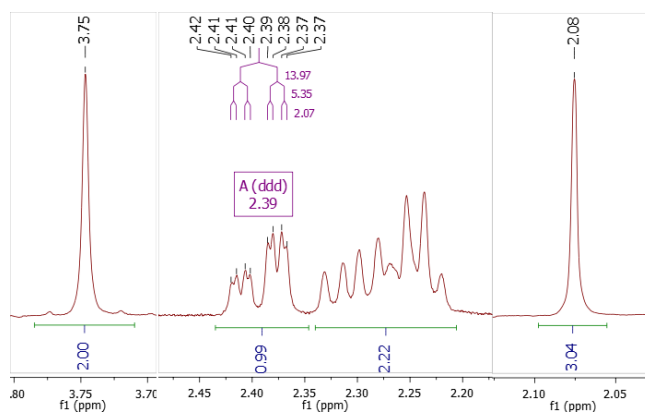


## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

grupo acetila e para o C-29 de **P13** são coincidentes aos observados para o derivado diacetilado.

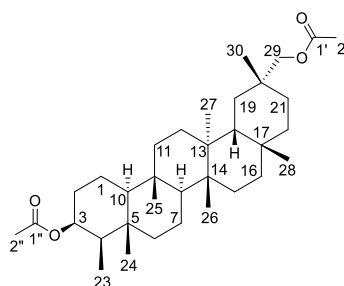
Inicialmente foi avaliada a possibilidade de **P13** ser um artefato produzido durante o processo de maceração das folhas em AcOEt. Para que essa suposição fosse descartada foram colocados 50 mg de **P11** em 200 mL de AcOEt e a mistura foi deixada em repouso por 10 dias, simulando o processo de extração por maceração. Em seguida, essa mistura foi submetida a remoção do solvente por 6 vezes em evaporador rotativo com banho a 60 °C de forma a simular o processo de obtenção do extrato acetato etílico. Foi realizada uma CCD de forma a comparar os fatores de retenção do sólido resultante com os padrões de **P11** e **P13**. Não foi verificada a formação de **P13**. Logo após foi realizado um experimento de RMN de  $^1\text{H}$  para avaliar se de fato não houve a formação de artefato, mesmo que em pequena proporção, e não foi detectada a formação de **P13**. Dessa forma, concluiu-se que **P13** não é um artefato do processo de maceração, e o isolamento desta substância como produto natural foi descrito pela primeira vez neste trabalho.

Figura 22. Expansões do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ \* ( $\delta_{\text{H}}$  2,05-3,80) para **P13**



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

Figura 23. Diacetato de friedelano-3 $\beta$ ,29-di-ila

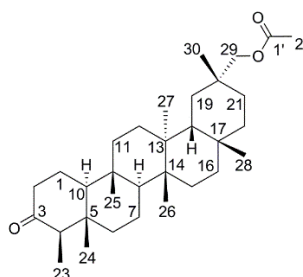


**CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum***

**Tabela 16. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz) para P13**

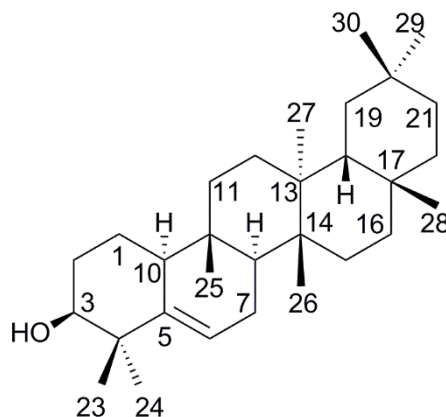
Átomo	Tipo	$\delta_c$ P13 <sup>a</sup>	$\delta_c$ 29-hidroxi- <i>fridelano-3-ona</i> <sup>a*</sup>	$\delta_c$ diacetato de <i>fridelano-3<math>\beta</math>,29-di-ila</i> <sup>a**</sup>
1	CH <sub>2</sub>	22,3	22,3	16,4
2	CH <sub>2</sub>	41,5	41,5	32,2
3	C	213,1	213,3	74,6
4	CH	58,3	58,2	48,1
5	C	42,2	42,2	37,9
6	CH <sub>2</sub>	41,3	41,3	41,7
7	CH <sub>2</sub>	18,3	18,2	17,7
8	CH	53,4	53,4	53,4
9	C	37,5	37,4	37,1
10	CH	59,5	59,4	61,0
11	CH <sub>2</sub>	35,7	35,6	35,6
12	CH <sub>2</sub>	30,4	29,7	30,7
13	C	39,9	39,9	39,9
14	C	38,3	38,2	38,3
15	CH <sub>2</sub>	32,1	32,7	32,5
16	CH <sub>2</sub>	35,9	35,9	35,9
17	C	30,1	30,5	30,4
18	CH	41,9	41,8	41,9
19	CH <sub>2</sub>	30,6	30,6	30,0
20	C	32,6	33,1	31,7
21	CH <sub>2</sub>	28,1	27,8	28,1
22	CH <sub>2</sub>	39,2	39,5	39,2
23	CH <sub>3</sub>	6,8	6,8	11,3
24	CH <sub>3</sub>	14,7	14,7	15,8
25	CH <sub>3</sub>	17,9	17,9	18,2
26	CH <sub>3</sub>	18,4	18,5	20,5
27	CH <sub>3</sub>	20,6	20,8	18,4
28	CH <sub>3</sub>	31,7	32,1	32,1
29	CH <sub>2</sub>	75,2	74,7	75,2
30	CH <sub>3</sub>	26,3	25,8	26,3
1'	C	171,6	-	171,5
2'	CH <sub>3</sub>	21,0	-	21,0
1''	C	-	-	170,8
2''	CH <sub>3</sub>	-	-	21,4

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; \*(PEREIRA et al., 2018); \*\*(DUARTE, 2000).



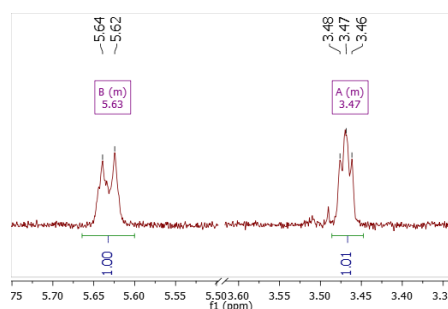
### 3.5 – Triterpenos pentacíclicos – glutinano

#### 3.5.1 – P4: glutin-5-en-3 $\beta$ -ol (glutinol)



Foram observados dois multipletos centrados em  $\delta_H$  5,63 (m, 1H) e  $\delta_H$  3,47 (m, 1H) no espectro de RMN de  $^1H$  de **P4** (Figura 24 e Apêndice M, p. 165), sendo o primeiro relacionado a um átomo de hidrogênio olefínico e o segundo a de um hidrogênio carbinólico. Não foram observados outros sinais que pudessem indicar a presença de outro grupo funcional. O valor de deslocamento do hidrogênio olefínico de **P4** indicou que esta amostra não pertence a nenhum dos outros tipos de triterpenos já descritos anteriormente neste trabalho. Nos espectros de RMN de  $^{13}C$  e DEPT-135 (Apêndice M, p. 165) foi possível visualizar os sinais dos carbonos olefínicos em  $\delta_C$  141,6 (C) e  $\delta_C$  122,1 (CH) e, a partir destes valores, foi realizada uma busca na literatura de forma a encontrar qual esqueleto triterpênico apresentaria uma ligação dupla que corresponderia aos valores obtidos. Após esta busca, descobriu-se que o composto é um glutinano (FRAGA et al., 2003). A comparação com os demais sinais de RMN de  $^{13}C$  de **P4** (Tabela 17, p. 51) possibilitou a identificação da amostra como sendo o glutin-5-en-3 $\beta$ -ol.

Figura 24. Expansão do espectro de RMN de  $^1H^*$  ( $\delta_H$  3,35-5,75) para P4



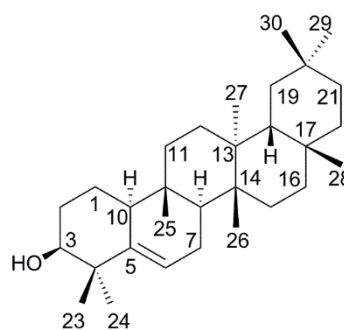
\*400 MHz,  $CDCl_3$ .

CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Tabela 17. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz) para P4

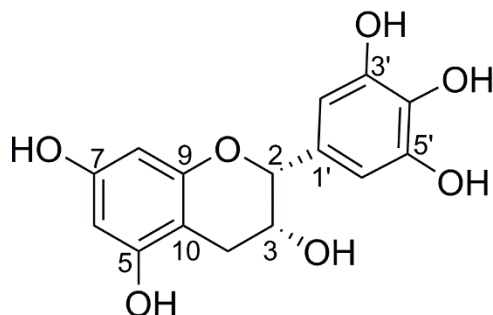
Átomo	Tipo	δ <sub>c</sub> P4 <sup>a</sup>	δ <sub>c</sub> glutin-5-en-3β-ol <sup>a*</sup>
1	CH <sub>2</sub>	18,2	18,2
2	CH <sub>2</sub>	27,8	27,8
3	CH	76,4	76,3
4	C	40,8	40,8
5	C	141,6	141,6
6	CH	122,1	122,0
7	CH <sub>2</sub>	23,7	23,6
8	CH	47,5	47,4
9	C	34,9	34,8
10	CH	49,7	49,6
11	CH <sub>2</sub>	34,6	34,6
12	CH <sub>2</sub>	30,4	30,3
13	C	39,3	39,3
14	C	37,9	37,8
15	CH <sub>2</sub>	32,1	32,1
16	CH <sub>2</sub>	36,1	36,0
17	C	30,1	30,1
18	CH	43,1	43,0
19	CH <sub>2</sub>	34,9	34,8
20	C	28,3	28,2
21	CH <sub>2</sub>	33,2	33,1
22	CH <sub>2</sub>	39,0	38,9
23	CH <sub>3</sub>	29,0	28,9
24	CH <sub>3</sub>	25,5	25,5
25	CH <sub>3</sub>	16,2	16,2
26	CH <sub>3</sub>	19,7	19,6
27	CH <sub>3</sub>	18,4	18,4
28	CH <sub>3</sub>	32,1	32,1
29	CH <sub>3</sub>	34,5	34,5
30	CH <sub>3</sub>	32,1	32,1

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; \*(FRAGA et al., 2003).



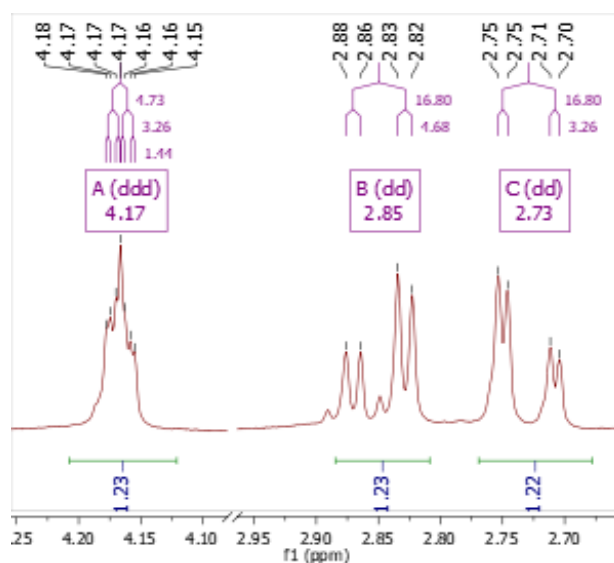
## 3.6 – Flavonoide

### 3.6.1 – **P14**: epigalocatequina



Durante o teste de solubilidade de **P14** foi possível perceber que a amostra apresentava polaridade bastante superior a qualquer outro constituinte isolado anteriormente, e se apresentou insolúvel em clorofórmio e solúvel em metanol. Dessa forma, todos os experimentos de RMN foram realizados em metanol-*d*<sub>4</sub>, e o espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Apêndice **N**, p. 166) foi realizado com supressão parcial do sinal de água em  $\delta_H$  4,90 para melhor visualização dos sinais da amostra e suas respectivas multiplicidades. Foram observados cinco sinais, excluindo alguns sinais de impurezas, integrados para sete átomos de hidrogênio ao todo, com deslocamentos entre  $\delta_H$  2,5-7,0, sendo alguns deles sinais relativos a hidrogênios aromáticos. No espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Apêndice **N**, p. 166) foram observados 13 sinais entre  $\delta_C$  29,0-158,0, sendo que, a partir da análise do espectro de DEPT-135 (Apêndice **N**, p. 166), foram classificados em sete sinais de carbono não hidrogenado, cinco de carbono metínico e um de carbono metilênico. Essas informações sugerem que **P14** pertence à classe dos flavonoides. O sinal em  $\delta_C$  29,1 (CH<sub>2</sub>) e a ausência de sinais de carbonila indicam que, dentre os tipos de flavonoides conhecidos, o esqueleto de **P14** corresponde a um flavanol. Sugere-se, portanto, que dois dos treze sinais de <sup>13</sup>C observados correspondam a dois átomos de carbono, cada, considerando que flavanóis geralmente apresentam 15 átomos de carbono em sua estrutura. Os sinais dos átomos de hidrogênio metilênicos,  $\delta_H$  2,73 (dd, 16,8; 3,3 Hz, 1H) e  $\delta_H$  2,85 (dd, 16,8; 4,7 Hz, 1H), e o sinal do hidrogênio carbinólico em  $\delta_H$  4,17 (ddd, 4,7; 3,3; 1,4 Hz, 1H) (**Figura 25**, p. 53) apontam que **P14** é um flavan-3-ol. A comparação com dados da literatura levou a identificação de **P14** como sendo a epigalocatequina (**Tabela 18**, p. 53), um produto natural já isolado de espécies da família Celastraceae (DE OLIVEIRA et al., 2006).

Figura 25. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,70-4,25) para P14

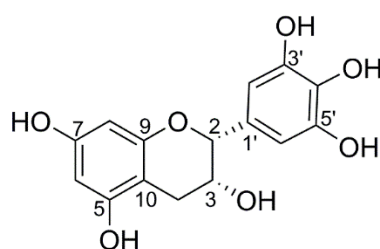


\*400 MHz, Metanol- $d_4$ .

Tabela 18. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para P14

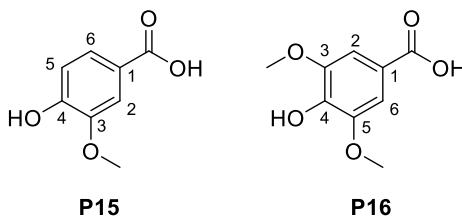
Átomo	Tipo	$\delta_{\text{H}}$ P14 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ P14 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ epigalocatequina <sup>b*</sup>
1	O	-	-	-
2	CH	4,75 (sl)	79,9	79,4
3	CH	4,17 (ddd, 4,7; 3,3; 1,4 Hz)	67,5	67,0
4	CH <sub>2</sub>	2,73 (dd, 16,8; 3,3 Hz) 2,85 (dd, 16,8; 4,7 Hz)	29,1	28,8
5	C	-	157,3	157,1
6	CH	5,94 (d, 2,3 Hz)	96,3	96,3
7	C	-	157,6	157,5
8	CH	5,91 (d, 2,3 Hz)	95,9	95,7
9	C	-	158,0	157,5
10	C	-	100,1	99,9
1'	C	-	131,5	131,5
2'	CH	6,52 (s)	107,0	107,0
3'	C	-	146,7	146,1
4'	C	-	133,6	132,9
5'	C	-	146,7	146,1
6'	CH	6,52 (s)	107,0	107,0

<sup>a</sup>Metanol- $d_4$ ; <sup>b</sup>acetona- $d_6$ ; \* (CZOCHANSKA et al., 1980).



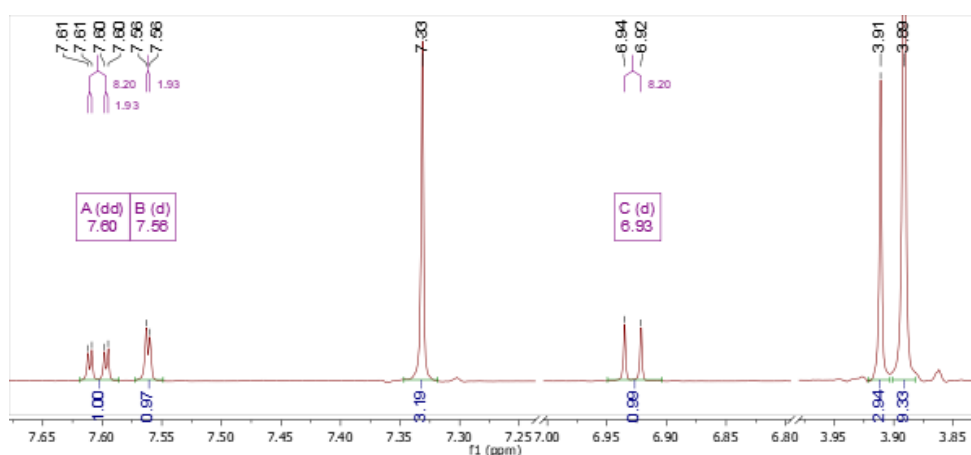
### 3.7 – Ácidos fenólicos

#### 3.7.1 – P15 e P16: Ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico (ácido vanílico) e ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico (ácido siríngico)



Inicialmente foram realizados testes de solubilidade para se verificar qual o melhor solvente para ser utilizado nas análises de RMN. Observou-se que a amostra apresentava alta solubilidade em acetona, sendo então acetona- $d_6$  o solvente escolhido para a realização dos experimentos. A partir da análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 26** e Apêndice **O**, p. 168) foi possível verificar a presença de sinais entre  $\delta_{\text{H}}$  6,9-7,6, indicando que a amostra apresenta substâncias que possuem átomos de hidrogênio aromáticos. Além disso, foi possível observar sinais associados a grupos metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,89 (s) e 3,91 (s). Ao se analisar o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice **O**, p. 168), sinais na região entre  $\delta_{\text{C}}$  100-150 confirmam a presença de sinais de átomos de carbono aromáticos. Dois sinais muito próximos em  $\delta_{\text{C}}$  167,6 sugerem que a amostra apresenta carboxila ligada ao anel aromático. A partir da análise das integrações para os hidrogênios aromáticos foi possível observar que a amostra se trata de uma mistura de duas substâncias, pois o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,33 (s) está integrado para 3H, e em um sistema aromático é improvável que haja três átomos de hidrogênio quimicamente equivalentes.

**Figura 26.** Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,8-7,7) para P15 e P16



\*600 MHz, acetona- $d_6$ .

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Para a primeira substância, **P15**, foram observados três sinais atribuídos a átomos hidrogênio aromáticos em  $\delta_H$  6,93 (d, 8,20 Hz, 1H), 7,60 (dd, 8,20; 1,93 Hz, 1H) e 7,56 (d, 1,93 Hz, 1H). As constantes de acoplamento  $^3J = 8,20$  Hz e  $^4J = 1,93$  Hz evidenciam que se trata de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Como um dos substituintes é uma carboxila e o segundo substituinte é uma metoxila com sinais de hidrogênio em  $\delta_H$  3,91 (s, 3H), concluiu-se que o terceiro substituinte seria um grupo hidroxila. Após comparação dos dados de RMN de  $^{13}C$  (**Tabela 19, p. 55**) com dados da literatura (HARRISON et al., 1995) identificou-se **P15** como sendo o ácido vanílico.

A segunda substância, **P16**, apresentou somente um sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  7,33 (s) integrado para 3H, e o sinal da metoxila em  $\delta_H$  3,89 (s) foi integrado para 9H. Foi observada, portanto, uma relação 1:3 entre o sinal do hidrogênio aromático de **P16** e os hidrogênios da metoxila, evidenciando que se trata de uma amostra simétrica, com dois hidrogênios aromáticos e duas metoxilas. Concluiu-se, portanto, que **P16** se trata de uma substância que apresenta um anel aromático tetrassubstituído, apresentando dois grupos metoxila, uma carboxila, e uma hidroxila. Após comparação dos dados de RMN de  $^{13}C$  (**Tabela 19**) com os da literatura (WISHART et al., 2009), **P16** foi identificado como sendo o ácido siríngico.

**Tabela 19. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^1H$  (600 MHz) e  $^{13}C$  (150 MHz) para P15 e P16**

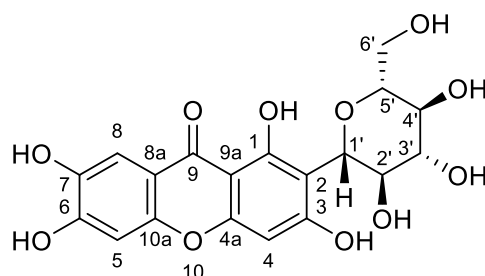
Átomo	Tipo	$\delta_H$ ácido vanílico <sup>a</sup>	$\delta_H$ ácido vanílico <sup>a</sup>	$\delta_C$ ácido vanílico <sup>a,*</sup>	$\delta_H$ ácido siríngico <sup>a</sup>	$\delta_C$ ácido siríngico <sup>a</sup>	$\delta_C$ ácido siríngico <sup>b,**</sup>
1	C	-	122,8	123,0	-	121,3	120,4
2	CH	7,56 (d, 1,9 Hz)	113,2	113,5	7,33 (s)	107,8	106,9
3	C	-	148,0	148,0	-	148,2	147,5
4	C	-	152,0	152,0	-	141,3	140,2
5	CH ou C	6,93 (d, 8,2 Hz)	115,5	115,5	-	148,2	147,5
6	CH	7,60 (dd, 8,2; 1,9 Hz)	124,8	124,8	7,33 (s)	107,8	106,9
-COOH	C	-	167,6	167,6	-	167,6	167,3
-OMe	CH <sub>3</sub>	3,91 (s)	56,2	56,3	3,89 (s)	56,5	56,0

<sup>a</sup>acetona-*d*<sub>6</sub>; <sup>b</sup>DMSO-*d*<sub>6</sub>; \*(HARRISON et al., 1995); \*\*(WISHART et al., 2009)



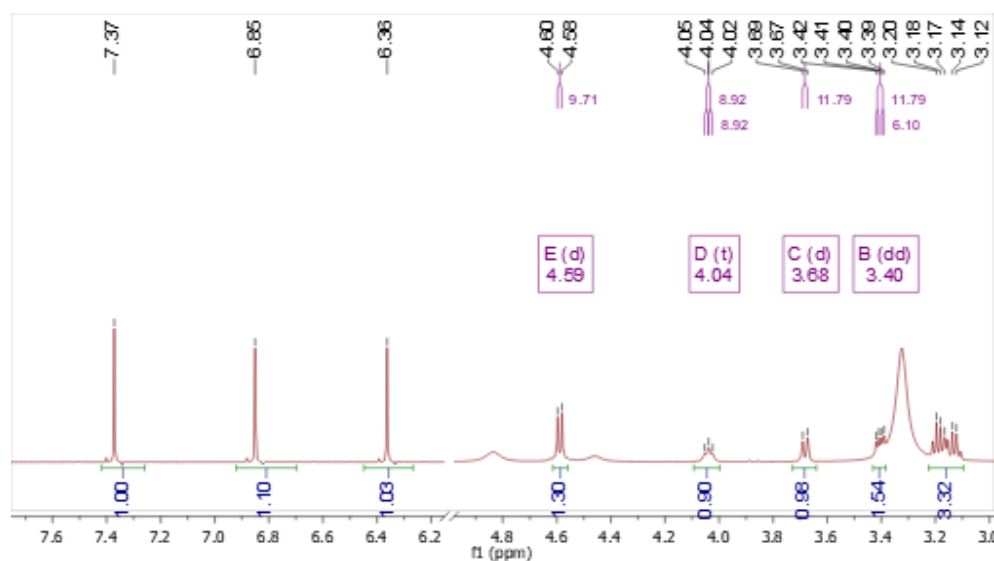
### 3.8 – Xantona

#### 3.8.1 – **P17**: *mangiferina*



**P17** foi obtido como um sólido bege solúvel em DMSO após testes de solubilidade. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **P17** (Figura 27 e Apêndice P, p. 169) foi possível observar três sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,36 (s, 1H), 6,85 (s, 1H) e 7,37 (s, 1H), indicando se tratar de sinais de hidrogênios aromáticos. Sinais de hidrogênio entre  $\delta_{\text{H}}$  3,0 a 4,6 evidenciaram a presença de um glicídio na estrutura de **P17**, que foi confirmada por seis sinais entre  $\delta_{\text{C}}$  61,5 a 81,6 nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice P, p. 169). A fim de se descobrir o esqueleto da aglicona, os outros 13 sinais de carbono de **P17** foram comparados aos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  de diversos flavonoides (AGRAWAL, 2013), mas nenhum apresentou similaridade. Esta observação deixou claro que **P17** não se tratava de um flavonoide. Uma outra classe de compostos comum de serem encontradas em espécies da família Celastraceae são as xantonas, portanto, foram-se investigadas as principais xantonas isoladas nesta família.

Figura 27. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ \* ( $\delta_{\text{H}}$  3,0-7,7) para **P17**



\*600 MHz, DMSO- $d_6$ .

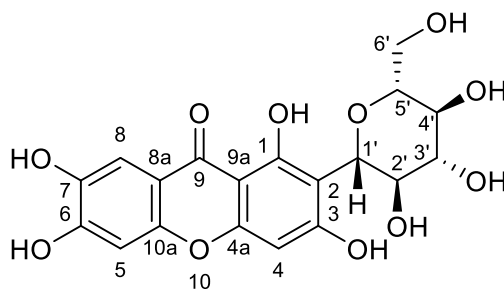
## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

Após a realização de uma busca na literatura sobre as principais xantonas isoladas a partir de espécies de plantas da família Celastraceae, descobriu-se que a mangiferina é amplamente encontrada em espécies do gênero *Salacia* (DUARTE et al., 2010). De posse dessas informações, foi realizada a comparação dos deslocamentos químicos para  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  dessa xantona com os de **P17**. A partir da comparação dos dados de RMN (**Tabela 20**) foi possível confirmar **P17** como sendo a mangiferina.

**Tabela 20. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) para P17**

Átomo	Tipo	$\delta_{\text{H}}$ P17 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ P17 <sup>a</sup>	$\delta_{\text{C}}$ mangiferina <sup>a*</sup>
1	C	-	161,8	161,8
2	C	-	107,6	107,6
3	C	-	163,8	163,8
4	CH	6,36 (s)	93,3	93,3
4a	C	-	156,2	156,2
5	CH	6,85 (s)	102,6	102,6
6	C	-	154,1	154,2
7	C	-	143,7	143,8
8	CH	7,37 (s)	108,0	108,0
8a	C	-	111,6	111,6
9	C	-	179,1	179,1
9a	C	-	101,3	101,3
10	O	-	-	-
10a	C	-	150,8	150,8
1'	CH	4,59 (d, 9,7 Hz)	73,1	73,1
2'	CH	4,03 (t, 8,9 Hz)	70,2	70,6
3'	CH	3,19 (m)	79,0	79,1
4'	CH	3,12 (m)	70,6	70,3
5'	CH	3,17 (m)	81,6	81,5
6'	CH <sub>2</sub>	3,41 (dd, 11,8; 6,1 Hz) 3,68 (dl, 11,8 Hz)	61,5	62,8

<sup>a</sup>DMSO-*d*<sub>6</sub>; \*(SHAHAT et al., 2003).



## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

### 4 – CONSIDERAÇÕES PARA O ESTUDO FITOQUÍMICO

Foi realizado, ao todo, o estudo fitoquímico inédito de seis extratos de folhas e galhos de *C. cognatum*, sendo possível a obtenção e identificação de 17 constituintes das partes aéreas dessa espécie, incluindo alguns metabólitos em quantidade expressiva.

Dos extratos hexânico e clorofórmico de galhos foram obtidos 12 constituintes, sendo eles dois compostos graxos (**P7** e **P10**), um esteroide (**P8**), um éster graxo de triterpeno (**P1**), oito triterpenos pentacíclicos, entre eles cinco friedelanos (**P2**, **P3**, **P9**, **P11**, **P12**), um glutinano (**P4**), um ursano (**P5**) e um oleanano (**P6**). Dos triterpenos isolados, todos os friedelanos já haviam sido identificados a partir de estudos anteriores dos extratos hexânico e clorofórmico de folhas de *C. cognatum* (PEREIRA et al., 2018). A identificação dos triterpenos **P4**, **P5** e **P6** em plantas do gênero *Cheiloclinium* foi relatada pela primeira vez neste trabalho, mas já foram identificadas em outras espécies da família Celastraceae (MOO-PUC et al., 2014; NÚÑEZ et al., 2013).

Os triterpenos **P9**, **P11** e **P12** foram obtidos em quantidade expressiva a partir do extrato clorofórmico dos galhos. Foram isolados 1,64 g de **P9**, o correspondente a 12,4% do extrato, 1,50 g de **P11**, correspondendo a 11,4% do extrato, e uma mistura de 1,29 g de **P11+P12**, correspondendo a 9,8% do extrato. Juntando as massas obtidas de **P9** nos extratos hexânico e clorofórmico dos galhos, somam-se pouco mais de 2,4 g. Uma pequena quantidade havia sido obtida dos mesmos extratos de folhas de *C. cognatum*, em torno de 7 mg, indicando que os galhos são a melhor fonte desse triterpeno. A mistura de **P11+P12** também foi obtida do extrato clorofórmico de folhas de *C. cognatum*, sendo sua quantidade correspondente a aproximadamente 21% em massa desse extrato (PEREIRA et al., 2018). Dessa forma, tanto folhas quanto galhos de *C. cognatum* podem ser consideradas importantes fontes de **P11** e **P12**.

O fracionamento do extrato acetato etílico das folhas de *C. cognatum* levou ao isolamento de quatro constituintes, sendo dois deles os triterpenos **P11** e **P12**, um derivado acetilado do triterpeno **P11** (**P13**), e um flavonoide (**P14**). Este é o primeiro relato de isolamento do constituinte **P13** como produto natural. **P14** já havia sido isolado de espécies de Celastraceae (DE OLIVEIRA et al., 2006), porém este é o primeiro relato do isolamento deste constituinte em espécies do gênero *Cheiloclinium*.

## CAPÍTULO 1: ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E GALHOS DE *C. cognatum*

O fracionamento do extrato acetato etílico dos galhos de *C. cognatum* levou ao isolamento de quatro constituintes, sendo um triterpeno (**P2**), dois ácidos fenólicos (**P15** e **P16**) e uma xantona (**P17**). Os ácidos fenólicos **P15** e **P16**, bem como a xantona **P17** já foram isolados de espécies da família Celastraceae (DUARTE et al., 2010; LI et al., 2012), no entanto, esse é o primeiro relato de isolamento desses constituintes a partir de uma espécie do gênero *Cheiloclinium*. A mangiferina (**P17**) foi isolada em uma quantidade expressiva, correspondendo a 4,3% desse extrato.

O constituinte **P17** também foi isolado de ambos os extratos metanólicos de folhas e galhos de *C. cognatum* em quantidades expressivas. Foram obtidos 3,1 g de **P17** a partir dos extratos das folhas e 7,8 g a partir do extrato dos galhos, correspondendo, respectivamente, a 5,2% e 13% de cada extrato.

A mangiferina (**P17**) é uma xantona comumente encontrada em espécies do gênero *Salacia* (Celastraceae). Estudos anteriores descrevem o isolamento dessa xantona tanto a partir de folhas quanto de raízes, porém em quantidades muito inferiores às obtidas neste estudo. Duarte e colaboradores (2010) descreveram o isolamento de mangiferina a partir de folhas de *Salacia elliptica*, e sua massa correspondeu a pouco mais de 0,1% do extrato etanólico. Um estudo com raízes de *Salacia oblonga* relatou o isolamento de mangiferina em quantidades superiores, correspondendo a 1,4% do extrato aquoso (LI et al., 2004), ao passo que um estudo com raízes de *Salacia chinensis* estimou que a quantidade de mangiferina das raízes corresponderia a 1,6% (SHASTRY; HALDANKAR; KADAM, 2009). Dessa maneira, os resultados obtidos neste trabalho apontam que a massa de mangiferina isolada a partir de ambos os extratos metanólicos é bastante significativa, sendo as partes aéreas de *C. cognatum* importantes fontes desse metabólito.

Os resultados obtidos para o fracionamento dos extratos de folhas e galhos de *C. cognatum* evidenciaram que esta espécie é uma importante fonte de metabólitos secundários, como **P9**, **P11**, **P12** e **P17**, além disso, este estudo contribuiu para um maior entendimento do perfil fitoquímico das partes aéreas dessa espécie e, portanto, agregou maior conhecimento sobre a quimiotaxonomia de espécies da família Celastraceae.

## CAPÍTULO 2: SÍNTESE DE DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

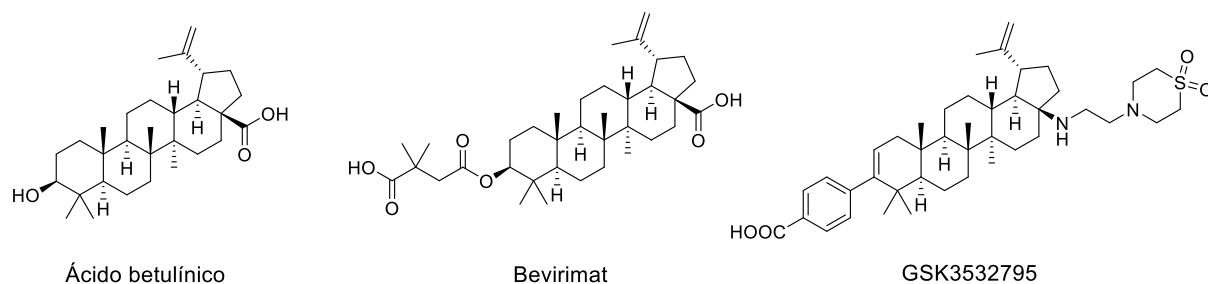
### 1 – INTRODUÇÃO

Um dos primeiros relatos da obtenção de um produto de modificação estrutural de um triterpeno pentacíclico com grande potencial farmacológico foi o bevirimat, um derivado de semissíntese do ácido betulínico (**Figura 28, p. 61**). Fujioka e colaboradores (1994) avaliaram o potencial inibitório *in vitro* da replicação do HIV para o ácido betulínico, e relataram um valor de 1,4  $\mu\text{M}$  relativo à concentração que inibe a replicação viral em 50% ( $\text{CE}_{50}$ ). O ácido betulínico foi cerca de trinta vezes menos ativo que o controle positivo, azidotimidina (AZT). No entanto, esses resultados foram muito promissores do ponto de vista da busca por novas substâncias com atividade anti-HIV, devido à resistência de algumas cepas do vírus aos fármacos comerciais, como o AZT.

Visando a potencialização da atividade anti-HIV para o ácido betulínico, Kashiwada e colaboradores (1996) realizaram a semissíntese de diversos derivados desse triterpeno, dentre eles o bevirimat (**Figura 28, p. 61**), que apresentou  $\text{CE}_{50}$  na ordem de 0,3 nM, sendo 5000 vezes mais ativo, *in vitro*, que o controle positivo AZT. Estudos do mecanismo de ação do bevirimat demonstraram que essa substância atua no estágio final da replicação viral, inibindo a maturação do vírus HIV (KANAMOTO et al., 2001). Esses resultados foram muito animadores, pois o bevirimat apresentava mecanismo de ação diferente do AZT, que é um fármaco antirretroviral, ou seja, atua na inibição da enzima transcriptase reversa, e muitas cepas do vírus HIV já apresentavam resistência a ele. Ensaios clínicos para o bevirimat foram conduzidos até a fase II, e foram observados que 55% dos pacientes não apresentaram redução da carga viral devido ao polimorfismo de um gene do vírus HIV que resultou na resistência à substância (SMITH et al., 2007). Apesar disso, diversos inibidores de maturação do HIV derivados do ácido betulínico continuam sendo alvos de estudos, como o GSK3532795 (**Figura 28, p. 61**) que chegou a ensaios clínicos em fase II, mas teve os estudos interrompidos devido alta intolerabilidade gastrointestinal e resistência emergente ao tratamento entre os participantes (DICKER et al., 2019).

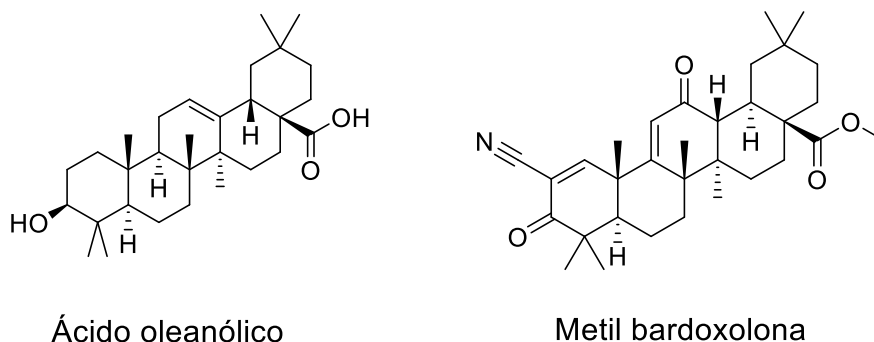
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Figura 28. Ácido betulínico e dois derivados de semissíntese**



Desde a síntese do bevirimat, estudos envolvendo a síntese de novas substâncias derivadas de triterpenos pentacíclicos naturais tornaram-se uma área de estudo bastante promissora (DZUBAK et al., 2006; SALVADOR et al., 2017; SAREK et al., 2011). Um outro exemplo de produto de semissíntese de um triterpeno pentacíclico natural que se encontra atualmente em ensaios clínicos avançados é a metil bardoxolona, um derivado nitrílico do ácido oleanólico que se encontra em ensaios clínicos em fase III para doença renal crônica (**Figura 29**).

**Figura 29. Ácido oleanólico e metil bardoxolona**



A metil bardoxolona foi inicialmente sintetizada por Honda e colaboradores em um trabalho que envolveu a síntese de mais de 60 análogos dos triterpenos ácido ursólico e ácido oleanólico com o intuito de investigar o potencial anti-inflamatório dessas substâncias (HONDA; GRIBBLE et al., 2000; HONDA; ROUNDS et al., 2000). Testes *in vitro* demonstraram que a metil bardoxolona inibiu 50% a produção de óxido nítrico ( $CI_{50}$ ) em macrófagos CD-1 isolados de ratos na concentração de 0,1 nM, sendo 100 vezes mais ativo que o fármaco controle, a hidrocortisona. Além de sua potente ação anti-inflamatória, estudos investigaram o potencial antiproliferativo da metil bardoxolona frente a células de leucemia mieloide aguda e crônica

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

(KONOPLEVA et al., 2002), que apresentou concentração mínima inibitória média (CI<sub>50</sub>) próxima de 0,1 µM para seis linhagens distintas de células tumorais leucêmicas.

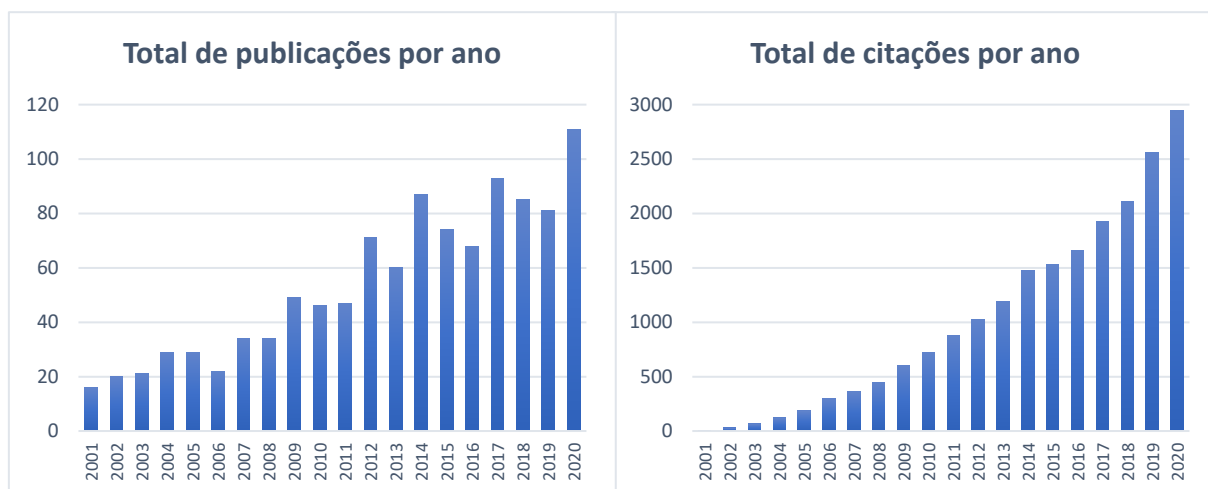
Ensaio clínico em fase I foram conduzidos em pacientes com tumores sólidos e linfomas em estágios avançados objetivando a determinação da toxicidade dose-limitante e a dose máxima tolerada que seriam apropriadas para a segunda fase dos estudos (HONG et al., 2012). Ao analisarem os dados experimentais, os pesquisadores observaram o potencial antitumoral da metil bardoxolona, no entanto, também observaram um aumento expressivo na taxa de filtração glomerular, levando-os mudarem o foco dos estudos e realizarem os ensaios clínicos em fase II em pacientes diabéticos com doença renal crônica.

Os resultados para os ensaios clínicos em fase II para a metil bardoxolona foram muito promissores, e demonstraram um aumento significativo da taxa de filtração glomerular em todos os pacientes tratados com dose única dessa substância por 52 dias (PERGOLA et al., 2011). Os ensaios clínicos em fase III foram realizados em mais de dois mil pacientes diabéticos em estágios avançados de doença renal crônica, porém o estudo teve que ser interrompido, pois, apesar de terem observado um aumento na taxa de filtração glomerular, também houve um aumento no número de pacientes que desenvolveram problemas cardíacos (DE ZEEUW et al., 2013) associados ao acúmulo de sódio no corpo (CHIN et al., 2018). Novos ensaios clínicos em fase III estão sendo atualmente desenvolvidos com o intuito de verificar a eficácia da metil bardoxolona em pacientes com doença renal crônica que não apresentam altos riscos de doenças cardiovasculares (KANDA; YAMAWAKI, 2020).

Os exemplos dos análogos de triterpenos supracitados corroboram o aumento nas últimas décadas do número de publicações e de citações de trabalhos envolvendo a obtenção de derivados bioativos dessa classe de produtos naturais (**Figura 30, p. 63**).

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Figura 30. Total de publicações e citações por ano\* envolvendo a obtenção de derivados de triterpenos**



\* Pesquisa realizada dia 21/01/2021 na plataforma *Web of Science* a partir dos termos “*triterpenoid derivatives*”.

Dentre as várias estratégias utilizadas para a modificação estrutural de triterpenos, destacam-se a obtenção de derivados 1,2,3-triazólicos-1,4 dissustituídos. A síntese de análogos triazólicos de triterpenos pentacíclicos apresenta diversas vantagens do ponto de vista farmacológico, como a possibilidade de acoplamento de um outro farmacóforo à estrutura triterpênica, a inserção de grupos mais polares a fim de se obterem análogos com maior solubilidade em água, e o próprio anel triazólico, que pode ser responsável pelo aumento da atividade biológica e da solubilidade (POKORNY; URBAN, 2018). Do ponto de vista sintético, a obtenção de derivados triterpênicos triazólicos é ainda mais vantajosa, pois geralmente os produtos são obtidos em pouco tempo de reação e com altos rendimentos, além de a elaboração ser geralmente simples, podendo, inclusive, não haver a necessidade de purificação por cromatografia (CSUK; DEIGNER, 2019).

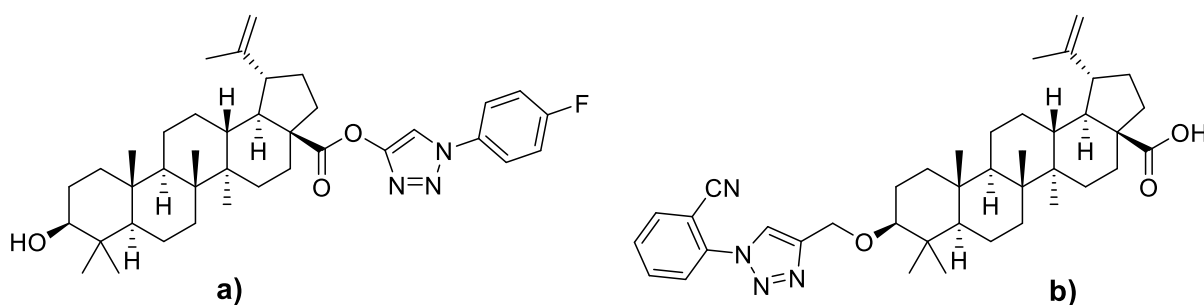
Dentre os exemplos de derivados triazólicos triterpênicos, um estudo realizado por Bori e colaboradores (2012) avaliou o potencial anti-HIV para análogos da betulina e do ácido betulínico conjugados com o fármaco anti-HIV AZT. Os resultados obtidos em experimentos *in vitro* desses derivados evidenciaram valores de  $CE_{50}$  inferior ou igual aos observados para o controle AZT, com altos valores de seletividade. Khan e colaboradores (2016) avaliaram o potencial citotóxico de derivados triazólicos do ácido betulínico frente a células HL-60 de leucemia mieloide aguda, e um análogo fluorobenzílico (Figura 31a, p. 64) se destacou por exibir  $CI_{50}$  de 7  $\mu$ M. Em outro



## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

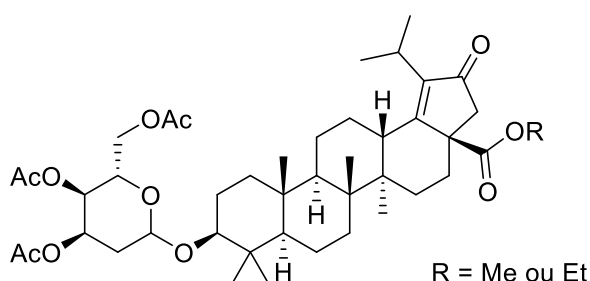
estudo, conduzido por Majeed e colaboradores (2013), foi relatada  $CI_{50}$  de 2,5  $\mu\text{M}$  para um derivado do ácido betulínico conjugado a um grupo orto-cianobenzílico (**Figura 31b**) frente a células HL-60.

**Figura 31. Análogos do ácido betulínico com expressiva atividade citotóxica frente a células HL-60**



Alguns derivados glicosilados semissintéticos de triterpenos pentacíclicos já foram obtidos e investigados quanto aos potenciais citotóxicos frente a outras linhagens de células leucêmicas. Por exemplo, Perlikova e colaboradores (2019) realizaram a síntese de mais de quarenta derivados 2-desoxiglicosilados de triterpenos com esqueleto lupânico, a fim de se obter substâncias com alto potencial antitumoral e que apresentassem melhor solubilidade em água para um posterior estudo *in vivo*. Dentre os derivados, dois (**Figura 32**) se destacaram por exibirem expressiva atividade citotóxica frente a linhagens de células K562, apresentando  $CI_{50}$  inferior a 1  $\mu\text{M}$  e alto índice de seletividade.

**Figura 32. Triterpenos 2-desoxiglicosilados com expressiva atividade citotóxica**



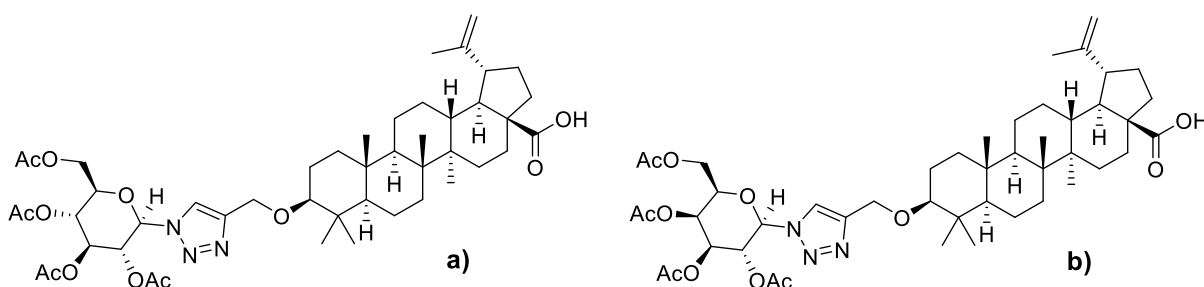
A estratégia de se adicionar grupos glicosídicos a triterpenos pode apresentar duas vantagens do ponto de vista químico e biológico. A primeira vantagem está

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

associada ao aumento da solubilidade em água para esses derivados, considerando que triterpenos, em geral, são pouco hidrossolúveis. A segunda vantagem está associada à possibilidade de aumento da atividade citotóxica em relação ao triterpeno natural (ZHOU, M. et al., 2017).

Uma das metodologias que podem ser utilizadas na conjugação de carboidratos a triterpenos consiste nas reações de cicloadição de Huisgen catalisadas por Cu(I). Um estudo conduzido por Majeed e colaboradores (2013) relatou a síntese de dois derivados do ácido betulínico conjugados à glicose (**Figura 33a**) e à galactose peracetiladas (**Figura 33b**). Nesse estudo foi avaliado o potencial citotóxico dos triterpenos glicosiltriazólicos frente a células HL-60 de LMA, e foram relatados  $CI_{50}$  de 8  $\mu$ M para o derivado conjugado à glicose peracetilada e  $CI_{50}$  de 5,5  $\mu$ M para o derivado conjugado à galactose peracetilada.

**Figura 33. Análogos do ácido betulínico conjugados a carboidratos**

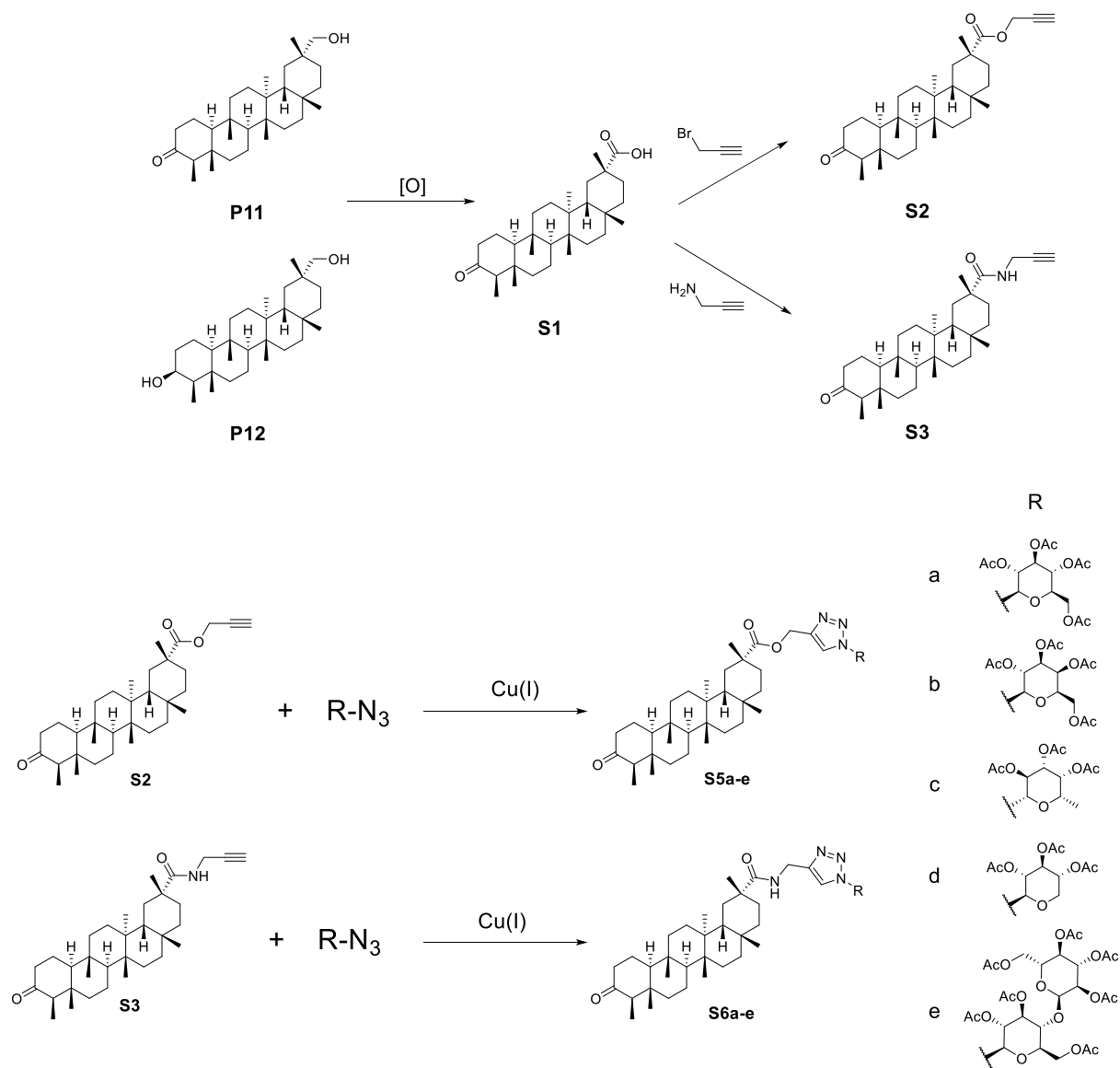


Os estudos apresentados relatam atividades citotóxicas expressivas para derivados semissintéticos glicosilados, evidenciando um alto potencial dessas substâncias para a descoberta de novos fármacos para o tratamento da leucemia. Visto o potencial citotóxico de derivados triterpênicos 1,2,3-triazólicos, este trabalho visou, partindo da mistura 29-hidroxifriedelan-3-ona (**P11**) e friedelano-3 $\beta$ ,29-diol (**P12**), a obtenção de análogos triterpênicos inéditos conjugados a diferentes carboidratos peracetilados de forma a avaliar o potencial citotóxico frente a linhagens de células tumorais de leucemia mieloide crônica e aguda.

A proposta de síntese inicia-se com a oxidação da mistura de triterpenos para a obtenção do ácido populhônico (**S1**), que, em seguida, seria convertido em dois intermediários propargílicos, **S2** e **S3**, que reagiriam com as azidas derivadas de carboidratos, por uma reação do tipo “click”, para a obtenção dos derivados triazólicos **S5a-e** e **S6a-e** conforme apresentado no (**Esquema 1**).

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Esquema 1. Rota proposta para a síntese dos derivados triterpênicos glicosilados

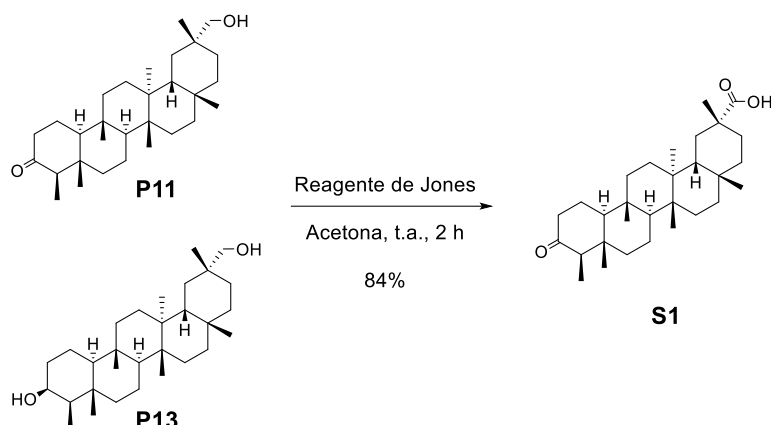


## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

### 2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

#### 2.1 – Preparação do ácido populnônico (S1)

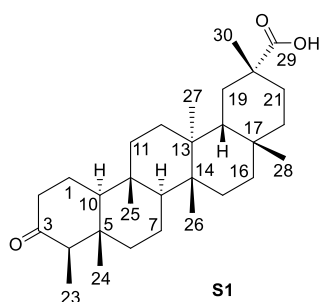
Esquema 2. Rota para obtenção de S1



O ácido populnônico (**S1**) foi obtido conforme descrito por Anjaneyulu e Ravi (1989) a partir da oxidação da mistura de **P11** e **P13** com reagente de Jones em acetona. Para a preparação de aproximadamente 60 mL do reagente de Jones foram utilizados 15 g de óxido crômico ( $\text{CrO}_3$ ), 15 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e 45 mL de água. Em um Erlenmeyer de 250 mL, mantido em capela de exaustão, foram misturados o óxido crômico e água. Em seguida, o Erlenmeyer foi mantido em banho de gelo e o ácido sulfúrico foi adicionado aos poucos, agitando continuamente a solução. Após a completa adição do ácido, a solução resultante adquiriu uma cor vermelha-alaranjada bem intensa. O reagente de Jones foi transferido para um frasco âmbar e armazenado em geladeira.

Para a realização da oxidação foram adicionados em um balão de fundo redondo de 1 L, 1,43 g (~ 3,23 mmol) da mistura aproximadamente equimolar de **P11** e **P13** e 200 mL de acetona. O balão foi colocado em banho de gelo e, sob agitação, foram adicionados lentamente 5 mL do reagente de Jones (~ 12 mmol de Cr (VI)). Após a adição, o balão foi mantido à temperatura ambiente por 2 h. Após este período, o excesso do reagente foi destruído pela adição de bissulfito de sódio sólido. Cerca de metade do volume do solvente foi retirado utilizando evaporador rotativo sob pressão reduzida e, à solução restante, adicionou-se água destilada até a precipitação do produto. A solução foi filtrada em funil de Büchner e o produto **S1** lavado com água gelada em abundância (1,24 g, 84%).

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS



**Nome:** Ácido Populnônico (**S1**)

**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:** C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>

**Massa molar:** 456,71 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 249 °C (degradou)

**IV ( $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$ ):** 3162 (O-H), 2932-2872 (C-H alifático), 1708

(C=O).

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 457,36762, exp. 457,36745, erro: 0,37 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1,26 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,88 (sl, 9H), 0,71 (s, 3H).

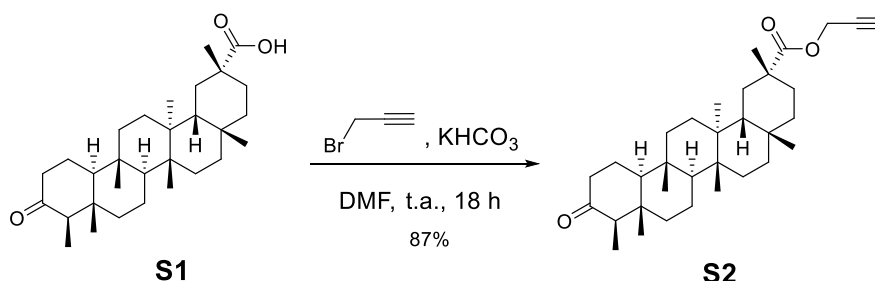
\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Tabela 25, p. 85.

**Espectros:** Apêndice Q, p. 170.

### 2.2 – Preparação do populonato de propargila (**S2**)

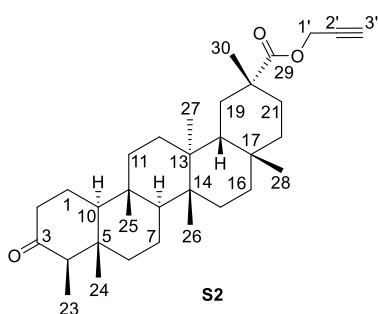
#### Esquema 3. Rota para obtenção de **S2**



A metodologia foi adaptada de acordo com a descrita por Bebenek e colaboradores (2016). Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 400 mg de **S1** (0,88 mmol), 484 mg de carbonato de potássio (KHCO<sub>3</sub>) (4,84 mmol) e 40 mL de DMF. À solução, foram adicionados 250  $\mu$ L de brometo de propargila (2,24 mmol) e a reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente. Após 18 h, observou-se por CCD que todo material de partida havia sido consumido. Para elaboração foram adicionados 60 mL de AcOEt à solução da reação e a mistura foi transferida para um funil de separação e lavada por duas vezes com 80 mL de uma solução de HCl 5% e, posteriormente, com 80 mL de solução saturada de NaCl e, em seguida, a fase orgânica secada com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

em evaporador rotativo e o sólido obtido foi submetido à CC utilizando  $\text{CHCl}_3$  como eluente para a obtenção de **S2** puro (378 mg, 87%).



**Nome:** Populnonato de propargila (**S2**)

**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_3$

**Massa molar:**  $494,76 \text{ g mol}^{-1}$

**Faixa de fusão:**  $160\text{-}162 \text{ }^\circ\text{C}$

**IV ( $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$ ):** 3272 (C-H alcino terminal), 2950-2871 (C-H

alifático), 1742 (C=O éster), 1711 (C=O cetona).

**EMAR APCI (m/z):**  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calc. 495,38327, exp. 495,38305, erro: 0,44 ppm

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  4,68 (dd, 15,8; 2,4 Hz, 1H), 4,63 (dd, 15,8; 2,4 Hz, 1H), 2,46 (t, 2,5 Hz, 1H), 1,21 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,88 (sl, 9H), 0,87 (s, 3H), 0,71 (s, 3H).

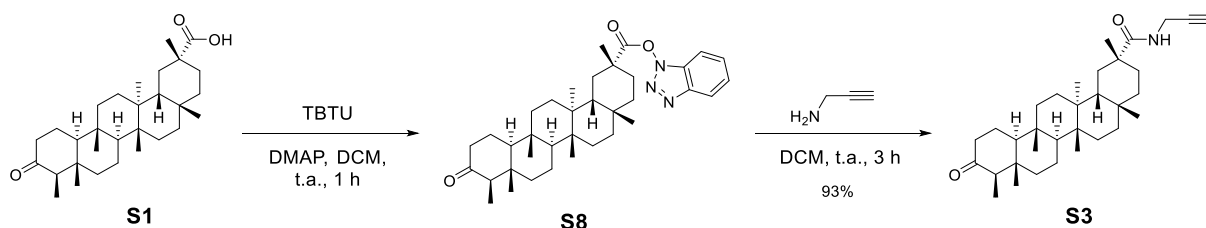
\*principais sinais.

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** Tabela 25, p. 85.

**Espectros:** Apêndice R, p. 172.

### 2.3 – Preparação da *N*-propargilpopulnonamida (**S3**)

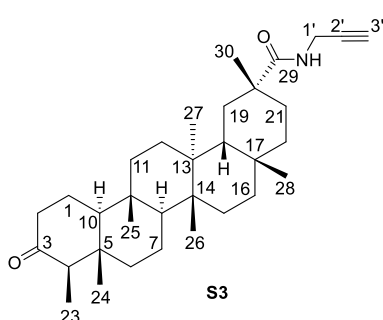
#### Esquema 4. Rota para obtenção de **S8** e **S3**



A metodologia foi adaptada de acordo com a descrita por Rodríguez-Hernández e colaboradores (2015). Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 400 mg de **S1** (0,88 mmol), 283 mg de TBTU (0,88 mmol), 108 mg de DMAP (0,88 mmol) e 20 mL de DCM. Após uma hora, sob agitação e à temperatura ambiente, adicionaram-se 115  $\mu\text{L}$  de propargilamina (1,80 mmol) à mistura da reação. Ao fim de 3 h observou-se todo o consumo do material de partida e a formação de uma única mancha roxa em CCD, indicando o fim da reação. O solvente foi retirado com evaporador rotativo e o sólido resultante foi submetido à CC utilizando  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt 9:1 como eluente para a obtenção de **S3** puro (404 mg, 93%).

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Com a finalidade de se obter o intermediário **S8** puro, essa mesma reação, partindo de 100 mg **S1** (0,22 mmol) e 71 mg de TBTU (0,22 mmol), foi realizada, porém sem adição de propargilamina. **S8** foi obtido com 40% de rendimento (51 mg).



**Nome:** *N*-propargilpopulnonamida (**S3**)

**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:** C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>2</sub>

**Massa molar:** 493,78

**Faixa de fusão:** 218-220 °C

**IV ( $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$ ):** 3394 (NH), 3311 (C-H alcino terminal), 2950-

2868 (C-H alifático), 1703 (C=O cetona), 1668 (C=O amida).

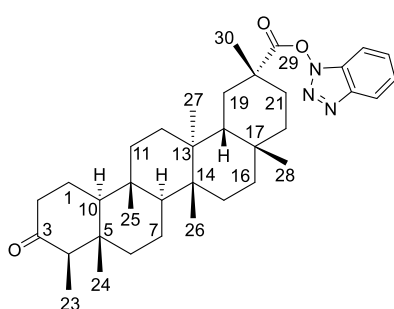
**EMAR APCI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 494,39926, exp. 494,39895, erro: 0,63 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  5,83 (t, 5,0 Hz, 1H), 4,04 (dd, 5,0; 2,6 Hz, 2H), 2,55 (t, 2,6 Hz, 1H), 1,19 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,87 (d, 6,3 Hz 3H), 0,87 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Tabela 25, p. 85.

**Espectros:** Apêndice S, p. 174.



**Nome:** Populnonato de 1*H*-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ila (**S8**)

**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:** C<sub>36</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**Massa molar:** 573,82

**Faixa de fusão:** 245-248 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 574,40032, exp. 574,39987, erro: 0,78 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  8,07 (dt, 8,4; 1,0 Hz, 1H), 7,54 (ddd, 8,3; 7,0; 1,0 Hz, 1H), 7,42 (ddd, 8,4; 7,0; 1,1 Hz, 1H), 7,35 (dt, 8,3; 1,1; 1,0 Hz, 1H), 1,21 (s, 3H), 1,16 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,88 (d, 6,7 Hz 3H), 0,72 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  213,2 (C), 174,6 (C), 143,5 (C), 128,7 (C), 128,5 (CH), 124,71 (CH), 120,6 (CH), 108,2 (CH), 59,3 (CH), 58,2 (CH), 50,4 (CH), 44,4 (CH), 42,0 (C), 41,4 (CH<sub>2</sub>), 41,2 (CH<sub>2</sub>), 41,0 (C), 39,4 (C), 39,4 (C), 37,5 (C), 36,2 (CH<sub>2</sub>), 36,1 (CH<sub>2</sub>), 35,1 (CH<sub>2</sub>), 32,1 (CH<sub>3</sub>), 31,8 (CH<sub>3</sub>), 30,2 (CH<sub>2</sub>), 30,1 (CH<sub>2</sub>),

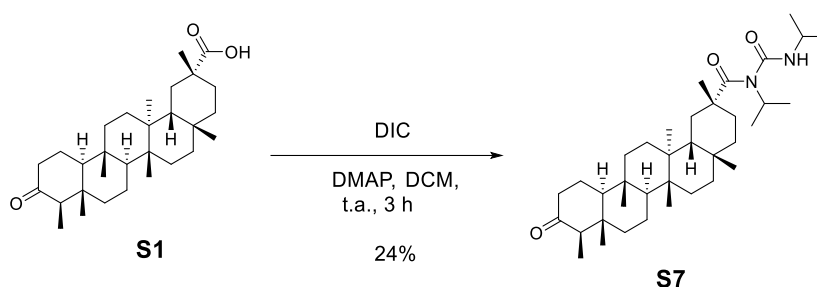
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

30,1 (C), 29,70 (CH<sub>2</sub>), 29,1 (CH<sub>2</sub>), 22,3 (CH<sub>2</sub>), 18,8 (CH<sub>3</sub>), 18,5 (CH<sub>3</sub>), 18,2 (CH<sub>2</sub>), 16,2 (CH<sub>3</sub>), 14,7 (CH<sub>3</sub>), 6,8 (CH<sub>3</sub>).

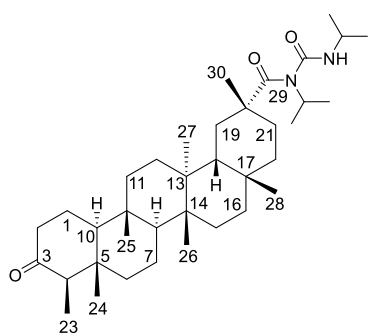
**Espectros:** Apêndice X2, p. 202.

### 2.4 – Preparação da *N*-isopropil-*N*-(isopropilcarbamoil)populnonamida (**S7**)

#### Esquema 5. Rota para obtenção de **S7**



Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 100 mg de **S1** (0,22 mmol), 40  $\mu$ L de DIC (0,26 mmol), 26 mg de DMAP (0,22 mmol) e 10 mL de DCM. A evolução da reação foi acompanhada de hora em hora por CCD. Ao fim de 3 h observou-se o consumo de todo material de partida. O solvente foi retirado com evaporador rotativo e o sólido resultante foi submetido à CC utilizando CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 9:1 como eluente para a obtenção de **S7** puro (30,3 mg, 24%).



**Nome:** *N*-isopropil-*N*-(isopropilcarbamoil)populnonamida (**S7**)

**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:** C<sub>37</sub>H<sub>62</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Massa molar:** 582,91

**Faixa de fusão:** 150-154 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 583,48332, exp. 583,48341, erro: 0,15 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,52 (d, 6,8 Hz, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 1,45 (m, 9H), 1,23 (m, 9H), 1,10 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,90 (m, 6H), 0,75 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  213,2 (C), 182,4 (C), 155,0 (C), 59,4 (CH), 58,2 (CH), 53,0 (CH), 48,3 (CH), 42,7 (C), 42,6 (CH), 42,1 (C), 41,8 (CH), 41,5 (CH<sub>2</sub>), 41,3 (CH<sub>2</sub>), 39,9 (C), 39,3 (CH<sub>2</sub>), 38,3 (C), 37,4 (C), 35,8 (CH<sub>2</sub>), 35,5 (CH<sub>2</sub>), 32,2 (CH<sub>2</sub>), 31,7 (CH<sub>3</sub>), 31,6 (CH<sub>2</sub>), 30,4 (CH<sub>2</sub>), 30,3 (CH<sub>2</sub>), 29,7 (C), 27,2 (CH<sub>3</sub>), 23,5 (CH<sub>3</sub>),



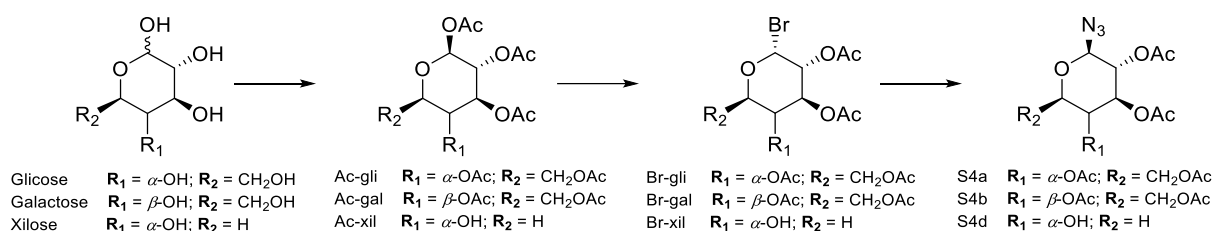
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

22,6 (CH<sub>3</sub>), 22,3 (CH<sub>2</sub>), 21,5 (CH<sub>3</sub>), 21,2 (CH<sub>3</sub>), 20,3 (CH<sub>3</sub>), 18,4 (CH<sub>3</sub>), 18,2 (CH<sub>2</sub>), 17,9 (CH<sub>3</sub>), 14,7 (CH<sub>3</sub>), 6,8 (CH<sub>3</sub>).

**Espectros:** Apêndice X1, p.200.

### 2.5 – Preparação das glicosilazidas (S4a,b,d)

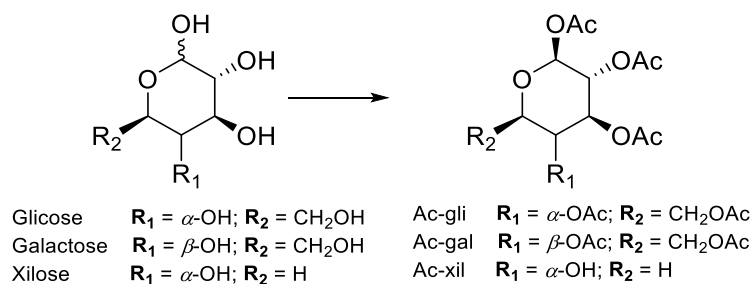
**Esquema 6. Rota geral para a obtenção das glicosilazidas S4a,b e d**



A preparação das azidas **S4a**, **S4b** e **S4d** foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Franco e colaboradores (2015) em três etapas. A azida **S4c** foi gentilmente cedida pelo grupo de pesquisa coordenado pelo professor Jarbas Magalhães Resende do DQ/UFMG.

#### 2.5.1 – Preparação dos glicosídeos peracetilados

**Esquema 7. Rota para obtenção de Ac-gli, Ac-gal e Ac-xil**



Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram colocados 3 g de glicídio junto a 1,75 equivalentes em mol de AcONa e 15 mL de anidrido acético. A reação foi mantida entre 90-98 °C, conforme descrito na **Tabela 21**, p. 73, em agitação constante. Ao fim de 3 h, a mistura de reação foi vertida em um béquer de 100 mL contendo 20 g de gelo picado, e mantida sob agitação por 1 h até ser observada a formação de um precipitado branco. O precipitado foi filtrado e lavado em água gelada. A massa de cada produto e seus respectivos rendimentos estão descritos na **Tabela 21**, p. 73.

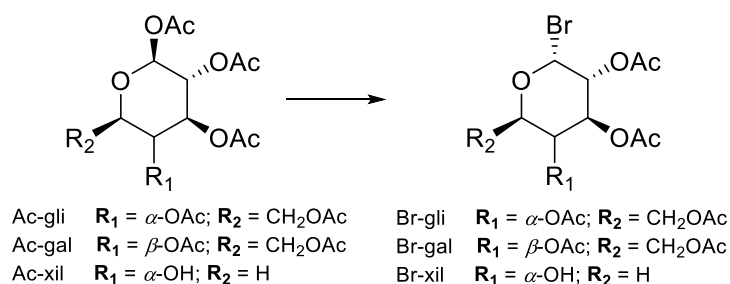
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Tabela 21. Condições de reação e rendimentos da peracetilação dos glicídios

Glicídio	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Qtdade. de matéria (mmol)	AcONa (mmol)	Temp. (°C)	Massa produto (g)	Rend. (%)
Glicose.H <sub>2</sub> O	198	15,2	26,8	95	4,67	79
Galactose	180	16,7	29,3	98	4,23	65
Xilose	150	20,0	35,4	90	4,01	63

### 2.5.2 – Preparação dos bromoglicosídeos

#### Esquema 8. Rota para obtenção de Br-gli, Br-gal e Br-xil



Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram solubilizados 1,0 g do glicídio peracetilado em 10 mL de DCM. A mistura de reação foi resfriada a 0 °C e foi adicionada, gota a gota, uma solução de HBr/AcOH (25% v/v) previamente preparada. A reação foi mantida sob agitação até atingir a temperatura ambiente, e continuou-se a agitação por mais 4 h. Após análise por CCD foi observado o consumo de todo material de partida, então a mistura de reação foi vertida em um béquer contendo 20 g de gelo picado e foram realizadas três extrações (3 x 20 mL) com DCM. A fase orgânica foi recolhida e lavada duas vezes com 20 mL de solução aquosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> e, em seguida, com 20 mL de solução aquosa de NaCl saturada. Posteriormente a fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os produtos foram obtidos como um xarope denso e incolor. A massa de cada produto e seus respectivos rendimentos estão descritos na **Tabela 22**, p. 74.

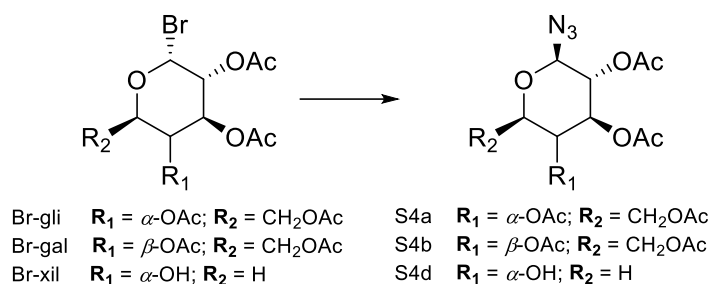
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Tabela 22. Condições de reação e rendimentos da bromação ao carbono anomérico**

Glicídio	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Qtidade. de matéria (mmol)	HBr/AcOH 25% v/v (mL)	Massa produto (g)	Rend. (%)	Código do produto
Ac-gli	390	2,6	2,2	1,07	100	Br-gli
Ac-gal	390	2,6	2,4	1,04	97	Br-gal
Ac-xil	318	3,1	2,9	0,95	90	Br-xil

### 2.5.2 – Preparação das glicosilazidas

**Esquema 9. Rota para obtenção das glicosilazidas S4a, S4b e S4d**

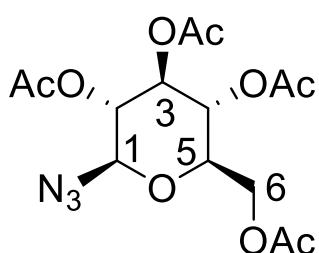


Os derivados bromoglicosídicos obtidos na etapa anterior foram solubilizados em 10 mL de acetona e, à mistura, foram adicionados 5 mL de uma solução aquosa contendo 2,5 equivalentes em mol de NaN<sub>3</sub>. Nos casos em que a solução apresentou turbidez após a adição da solução aquosa, acetona foi adicionada até que a solução se tornasse límpida novamente. A reação se procedeu por um período de 18 h à temperatura ambiente e, após esse tempo, foi observado o consumo do material de partida. A acetona foi removida utilizando evaporador rotativo. Os produtos **S4a** e **S4b** solidificaram após a remoção da acetona, e foram filtrados e lavados com água fria. O produto **S4d** formou um xarope no fundo do balão e foi extraído (3 x 20 mL) com DCM. A fase orgânica foi lavada (2 x 20 mL) com água e uma vez com 20 mL de solução saturada de NaCl. Posteriormente a solução orgânica foi secada em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotativo, fornecendo um sólido branco. As massas e rendimentos dos produtos obtidos estão descritos na **Tabela 23**, p. 75.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Tabela 23. Condições de reação e rendimentos de S4a, S4b e S4d,

Glicídio	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Qtdade. de matéria (mmol)	NaN <sub>3</sub> (mmol)	Massa produto (mg)	Rend. (%)	Código do produto
Br-gli	411	2,6	5,2	514	53	S4a
Br-gal	411	2,5	6,0	644	69	S4b
Br-xil	339	2,6	5,2	658	84	S4d



**Nome:** 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosose (**S4a**)

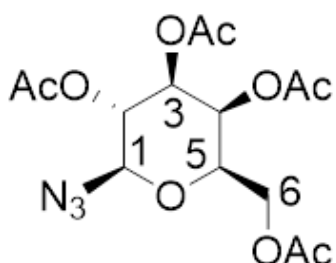
**Aspecto:** Sólido branco

**Fórmula molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>

**Massa molar:** 373,32 g mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  170,6 (C=O), 170,1 (C=O), 169,3 (C=O), 169,2 (C=O), 87,9 (C1), 74,0 (C5), 72,6 (C3), 70,7 (C2), 67,9 (C4), 61,7 (C6), 20,7 (CH<sub>3</sub>), 20,5 (CH<sub>3</sub>), 20,5 (CH<sub>3</sub>). (RAJPUT; HOTHHA; VANGALA, 2018).

**Espectros:** Apêndice T1, p. 176.



**Nome:** 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosose (**S4b**)

**Aspecto:** Sólido branco

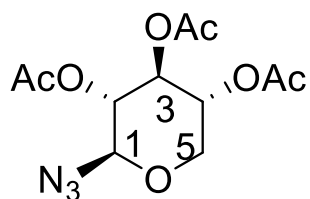
**Fórmula molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>

**Massa molar:** 373,32 g mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  170,5 (C=O), 170,3 (C=O), 170,1 (C=O), 169,5 (C=O), 88,5 (C1), 73,0 (C5), 70,9 (C3), 68,2 (C2), 67,0 (C4), 61,4 (C1), 20,8 (CH<sub>3</sub>), 20,8 (CH<sub>3</sub>), 20,7 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>3</sub>). (RAJPUT; HOTHHA; VANGALA, 2018).

**Espectros:** Apêndice T2, p. 176.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS



**Nome:** 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosose

**Aspecto:** Sólido branco (**S4d**)

**Fórmula molecular:** C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

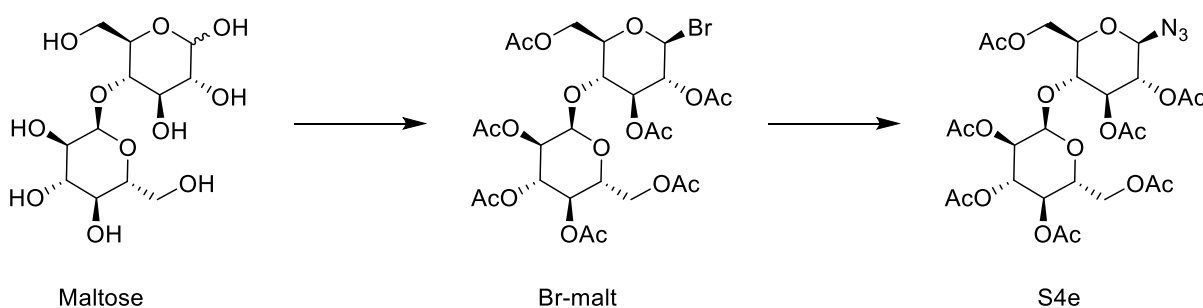
**Massa molar:** 301,26 g mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  170,0 (C=O), 169,7 (C=O), 169,3 (C=O), 88,3 (C1), 71,5 (C3), 70,4 (C2), 68,4 (C4), 64,3 (C5), 20,6 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>3</sub>). (RAJPUT; HOTHATHA; VANGALA, 2018).

**Espectros:** Apêndice T3, p. 177.

### 2.6 – Preparação da glicosilazida S4e

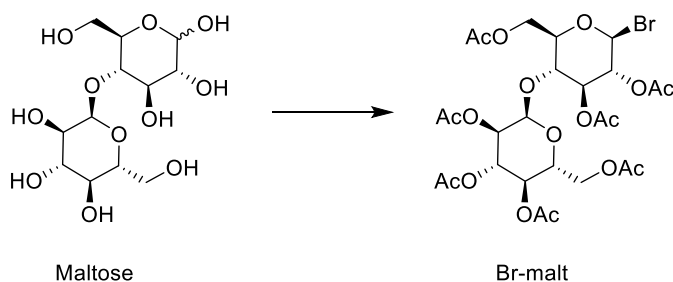
#### Esquema 10. Rota geral para obtenção de S4e



A preparação de **S4e** foi realizada em duas etapas. Inicialmente foi obtido o bromoglicosídeo **Br-malt** a partir da maltose monoidratada (KUMAR et al., 2006) e, em seguida, a glicosilazida **S4e** foi obtida a partir do derivado bromado (KUMAR; MAULIK; MISRA, 2008).

#### 2.6.1 – Preparação do bromoglicosídeo

#### Esquema 11. Rota para obtenção de Br-malt



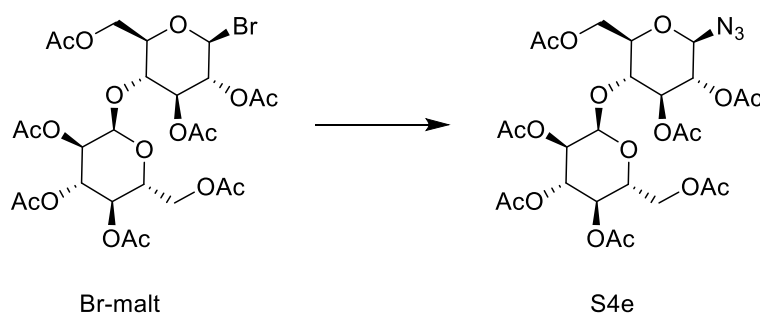
Em um balão de 100 mL foram adicionados 500 mg de maltose monoidratada (1,4 mmol) em 1,4 mL de Ac<sub>2</sub>O (14 mmol, 1,2 equivalentes por grupo hidroxila). A

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

suspensão foi mantida em agitação a 0 °C e foi adicionado, gota a gota, 1,6 mL de solução HBr/AcOH 25% v/v. A reação foi mantida, posteriormente, à temperatura ambiente por alguns minutos até a solução se tornar límpida. Em seguida, a mesma solução foi novamente resfriada a 0 °C, e foram adicionados, gota a gota, 3,2 mL da solução HBr/AcOH 25% v/v. Após a adição da solução de HBr/AcOH, a mistura de reação foi mantida à temperatura ambiente por aproximadamente 3 h. Ao fim da reação, o material foi vertido em um béquer contendo 10 g de gelo picado e foram realizadas três extrações (3 x 20 mL) com DCM. A fase orgânica foi recolhida e lavada duas vezes (2 x 20 mL) com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> e, em seguida, com 20 mL de solução de NaCl saturada. Posteriormente a fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em evaporador rotativo. Foram obtidos 602 mg de **Br-malt** (89%, considerando o bruto obtido) na forma de um xarope incolor, que foi imediatamente utilizado na próxima etapa.

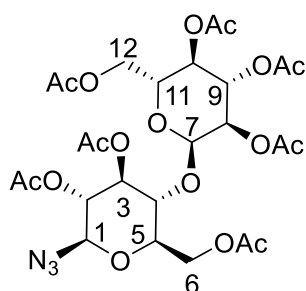
### 2.6.2 – Preparação da glicosilazida

#### Esquema 12. Rota para obtenção de S4e



Em um balão de 100 mL contendo 602 mg de **Br-malt** (0,89 mmol) foram adicionados 5 mL de uma solução de DMSO contendo 117 mg de NaN<sub>3</sub> (1,8 mmol) previamente solubilizados. A reação foi mantida por 30 minutos em agitação. Ao fim da reação foram adicionados 20 mL de água e foram realizadas três extrações (3 x 20 mL) com DCM. A fase orgânica foi recolhida e lavada duas vezes (2 x 20 mL) com água e, em seguida, com 20 mL de solução de NaCl saturada. Posteriormente a fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em evaporador rotativo. O material bruto foi submetido a uma CC utilizando como eluente Hex:AcOEt na proporção 6:4. Foram obtidos 382 mg de **S4e** (65%) como um xarope incolor.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS



**Nome:** 2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosose (**S4e**)

**Aspecto:** Xarope incolor

**Fórmula molecular:** C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>17</sub>

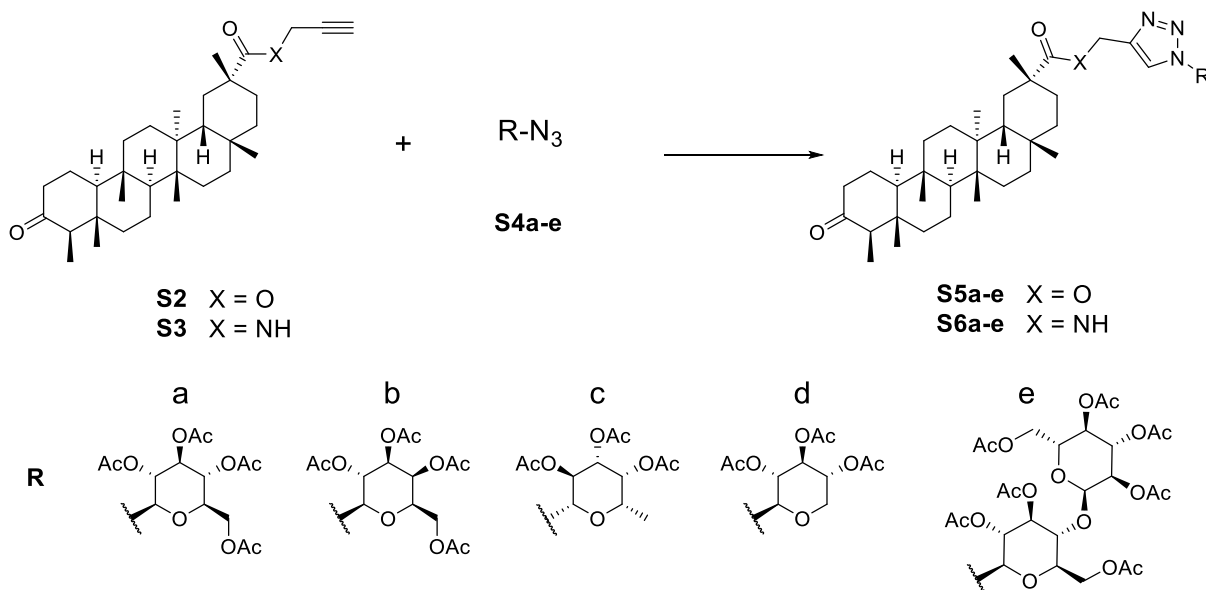
**Massa molar:** 661,57 g mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  170,6 (C=O), 170,5 (C=O), 170,1 (C=O), 170,0 (C=O), 169,5 (C=O), 169,5 (C=O), 95,8 (C7), 87,5 (C1), 75,1 (C3), 74,3 (C5), 72,4 (C4), 71,5 (C2), 70,0 (C8), 69,3 (C9), 68,7 (C11), 68,0 (C10), 62,6 (C6), 61,5 (C12), 20,9 (CH<sub>3</sub>), 20,8 (CH<sub>3</sub>), 20,7 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>3</sub>), 20,6 (CH<sub>3</sub>). (TROPPEL et al., 1992).

**Espectros:** Apêndice T4, p. 178.

### 2.7 – Preparação dos derivados glicosiltriaizólicos (S5a-e e S6a-e)

#### Esquema 13. Rota geral para a obtenção dos derivados glicosiltriaizólicos



Em um balão de 10 mL foram adicionados 100 mg de **S2** ou **S3** (0,20 mmol), 0,24 mmol de glicosilazida (**S4a-e**) e 2 mL de DCM. A essa mistura foram adicionados 2 mL de uma solução aquosa contendo 15 mg de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,06 mmol) e 12 mg de AscNa (0,06 mmol). A mistura bifásica foi mantida em forte agitação por 18 h sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Ao fim das 18 h, foram adicionados 20 mL de água e foram realizadas três extrações (3 x 20 mL) com DCM. A fase orgânica foi recolhida e lavada com 10 mL de uma solução EDTA/NH<sub>4</sub>OH 50% m/v, em seguida com 20 mL de água e, por fim,

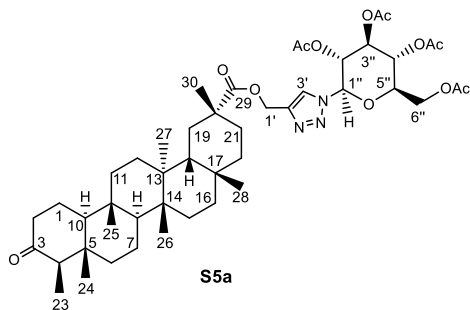
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

com 20 mL de solução de NaCl saturada. Posteriormente a fase orgânica foi secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os produtos **S5a** e **S6a** foram obtidos a partir de recristalização em EtOH. Os demais produtos foram purificados em CC, utilizando como eluentes as misturas: CHCl<sub>3</sub>:AcOEt 9:1 e CHCl<sub>3</sub>:AcOet 1:1. As massas e rendimentos dos produtos estão descritos na **Tabela 24**.

**Tabela 24. Massas e rendimentos dos derivados glicosiltriazólicos**

Produto	Massa (mg)	Rendimento	Produto	Massa (mg)	Rendimento
<b>S5a</b>	138	78%	<b>S6a</b>	154	88%
<b>S5b</b>	93	53%	<b>S6b</b>	142	81%
<b>S5c</b>	102	62%	<b>S6c</b>	90	55%
<b>S5d</b>	72	44%	<b>S6d</b>	75	45%
<b>S5e</b>	127	54%	<b>S6e</b>	198	85%

**Nome:** populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi-β-D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (**S5a**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>47</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>

**Massa molar:** 868,08 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 126-127 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 868,49540, exp. 868,49626, erro: 0,99 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)\*:** δ 7,81 (s, 1H), 5,88 (m, 1H), 5,42 (m, 2H), 5,27 (d, 12,9 Hz, 1H), 5,23 (m, 1H), 5,10 (d, 12,9 Hz, 1H), 4,31 (dd, 12,6; 4,9 Hz, 1H), 4,16 (dd, 12,6; 2,2 Hz, 1H), 4,01 (ddd, 10,2; 4,9; 2,2 Hz, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,86 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (m, 6H), 0,86 (s, 3H), 0,72 (s, 3H).

\*principais sinais.

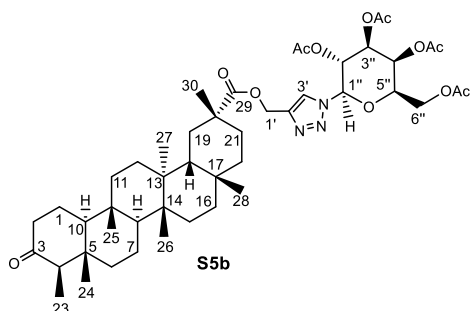
**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 26, p. 86.

**Espectros:** Apêndice **U1**, p. 179



## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Nome:** populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (**S5b**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>47</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>

**Massa molar:** 868,08 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 110-111 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 868,49540, exp. 868,49603, erro: 0,73 ppm

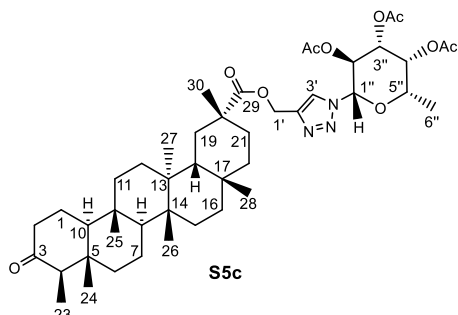
**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,88 (s, 1H), 5,84 (d, 9,4 Hz, 1H), 5,55 (m, 2H), 5,26 (m, 2H), 5,12 (d, 12,8 Hz, 1H), 4,17 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,86 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,87 (m, 9H), 0,72 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 26, p. 86.

**Espectros:** Apêndice U2, p. 182

**Nome:** populnonato de (1-(2,3,4-tri-*O*-acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (**S5c**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>45</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>

**Massa molar:** 810,04 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 148-150 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 810,48992, exp. 810,49030, erro: 0,47 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,88 (s, 1H), 5,80 (d, 9,4 Hz, 1H), 5,51 (dd, 10,3; 9,3 1H), 5,40 (dd, 3,4; 1,1 Hz, 1H), 5,24 (m, 2H), 5,14 (d, 12,9 Hz, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,16 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (m, 9H), 0,71 (s, 3H).

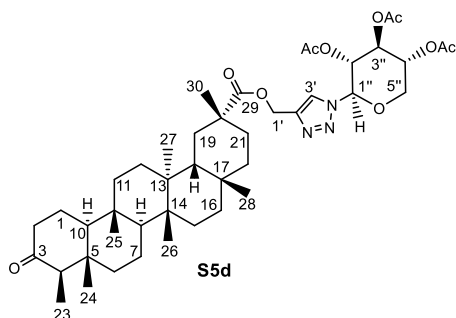
\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 26, p. 86.

**Espectros:** Apêndice U3, p. 184

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Nome:** populnonato de (1-(2,3,4-tri-O-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (**S5d**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>44</sub>H<sub>65</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>

**Massa molar:** 796,02 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 190 °C (degradou)

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 796,47427, exp. 796,47543, erro: 1,46 ppm

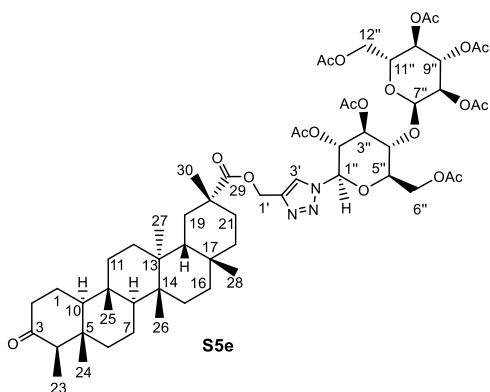
**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,78 (s, 1H), 5,79 (d, 9,1 Hz, 1H), 5,38 (m, 2H), 5,23 (d, 12,7 Hz, 1H), 5,12 (d, 12,7 Hz, 1H), 4,9 (m, 1H), 4,31 (dd, 11,6; 5,7 Hz, 1H), 3,60 (t, 11,0; 11,0 Hz, 1H), 2,08 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,87 (m, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,72 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 26, p. 86.

**Espectros:** Apêndice U4, p. 186

**Nome:** populnonato de (1-(2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (**S5e**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>59</sub>H<sub>85</sub>N<sub>3</sub>O<sub>20</sub>

**Massa molar:** 1156,33 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 101-104 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 1156,57992, exp. 1156,58221, erro: 1,98 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,75 (s, 1H), 5,89 (d, 9,3 Hz, 1H), 5,38 (t, 9,4; 9,4 Hz 2H), 5,32 (t, 9,4; 9,4 Hz, 1H), 5,27 (d, 12,9 Hz 1H), 4,89 (dd, 10,5; 4,0 Hz, 1H), 4,50 (dd, 12,4; 2,4 Hz, 1H), 2,14 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,84 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,08 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,87 (m, 9H), 0,72 (s, 3H).

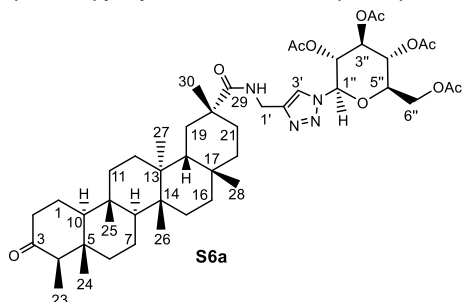
\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 26, p. 86.

**Espectros:** Apêndice U5, p. 188

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Nome:** *N*-((1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6a**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>47</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>

**Massa molar:** 867,09 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 236 °C (degradou)

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 867,51139, exp. 867,51284, erro: 1,67 ppm

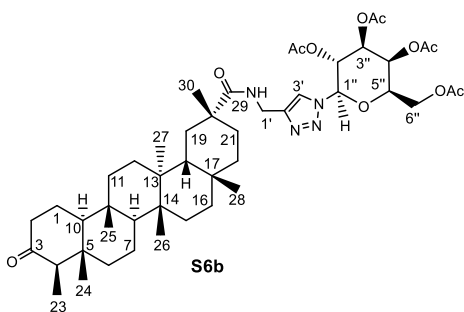
**RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,78 (s, 1H), 6,34 (sl, 1H), 5,85 (m, 1H), 5,42 (m, 2H), 5,24 (t, 9,8; 9,8 Hz, 1H) 4,49 (m, 2H), 4,31 (dd, 12,8; 4,8 Hz, 1H), 4,16 (dd, 12,8; 2,1 Hz, 1H), 4,00 (ddd, 10,1; 4,9; 2,1 Hz, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,17 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,87 (m, 6H), 0,71 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 27, p. 87.

**Espectros:** Apêndice V1, p. 190

**Nome:** *N*-((1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6b**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>47</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>

**Massa molar:** 867,09 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 128-130 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 867,51139, exp. 867,51190, erro: 0,59 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,86 (s, 1H), 6,38 (t, 5,4; 5,4 Hz, 1H), 5,82 (d, 8,2 Hz 1H), 5,55 (m, 2H), 5,26 (dd, 10,3; 3,4 Hz, 1H), 4,57 (dd, 15,1; 5,5 Hz, 1H), 4,45 (dd, 15,1; 5,2 Hz, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,14 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,88 (m, 6H), 0,73 (s, 3H).

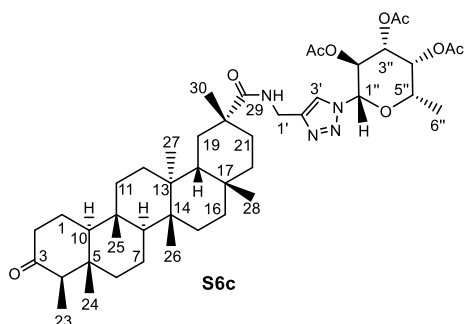
\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 27, p. 87.

**Espectros:** Apêndice V2, p. 192

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Nome:** *N*-((1-(2,3,4-tri-*O*-acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6c**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>45</sub>H<sub>68</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>

**Massa molar:** 809,06 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 138-140 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 809,50591, exp. 809,50647, erro: 0,69 ppm

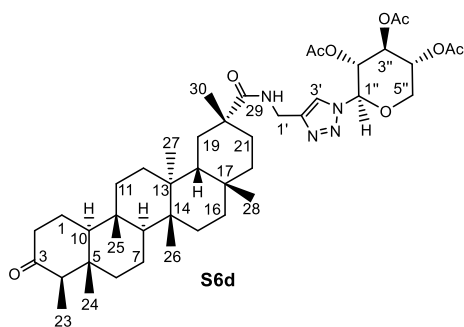
**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,85 (s, 1H), 6,34 (t, 5,3; 5,3 Hz 1H), 5,79 (d, 9,2 Hz, 1H), 5,48 (dd, 10,3; 9,2 Hz, 1H), 5,39 (dd, 3,4; 1,1 Hz, 1H), 5,25 (dd, 10,3; 3,4 Hz, 1H), 4,50 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,88 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,87 (m, 6H), 0,72 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 27, p. 87.

**Espectros:** Apêndice V3, p. 194

**Nome:** *N*-((1-(2,3,4-tri-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6d**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>44</sub>H<sub>66</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>

**Massa molar:** 795,03 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 141-145 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 795,49026, exp. 795,49086, erro: 0,75 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,73 (s, 1H), 6,31 (t, 5,3; 5,3 Hz 1H), 5,75 (d, 8,9 Hz, 1H), 5,41 (t, 9,4; 9,4 Hz, 1H), 5,36 (t, 9,2; 9,2 Hz, 1H), 5,14 (dt, 9,4; 9,3; 5,6 Hz, 1H), 4,53 (dd, 15,2; 5,4 Hz, 1H), 4,43 (dd, 15,2; 5,0 Hz, 1H), 4,30 (dd, 12,0; 5,6 Hz, 1H), 3,59 (t, 11,0; 11,0 Hz, 1H), 2,07 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,88 (s, 3H), 1,16 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,88 (m, 9H), 0,71 (s, 3H).

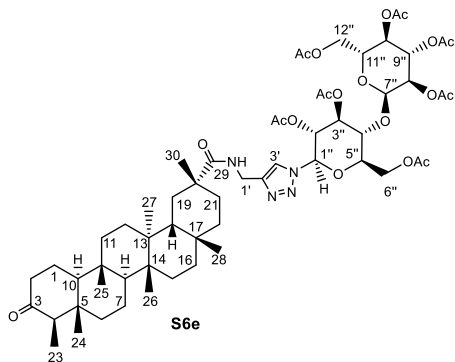
\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 27, p. 87.

**Espectros:** Apêndice V4, p. 196

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Nome:** *N*-((1-(2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6e**)



**Aspecto:** Sólido Branco

**Fórmula molecular:** C<sub>59</sub>H<sub>86</sub>N<sub>4</sub>O<sub>19</sub>

**Massa molar:** 1155,35 g mol<sup>-1</sup>

**Faixa de fusão:** 131-135 °C

**EMAR H-ESI (m/z):** [M+H]<sup>+</sup> calc. 1155,59590, exp. 1155,59744, erro: 1,33 ppm

**RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  7,73 (s, 1H), 6,38

(m, 1H), 5,87 (d, 9,3 Hz, 1H), 5,41 (m, 4H), 5,09 (t, 9,7; 9,7 Hz, 1H), 4,90 (dd, 10,5; 4,1 Hz, 1H), 4,49 (m, 3H), 4,27 (dd, 12,5; 4,2 Hz, 1H) 4,16 (t, 9,3; 9,3 Hz, 1H), 1,86 (s, 3H), 1,16 (s, 3H), 1,14 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,89 (m, 9H), 0,73 (s, 3H).

\*principais sinais.

**RMN de <sup>13</sup>C:** Tabela 27, p. 87.

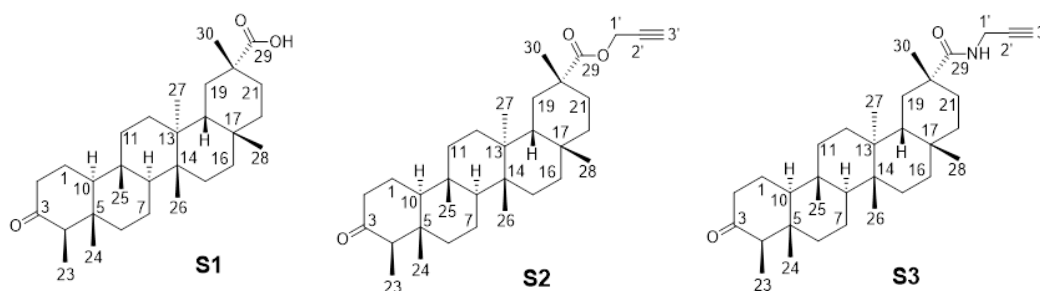
**Espectros:** Apêndice V5, p. 198

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Tabela 25. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para os produtos de síntese S1, S2 e S3

Átomo	Ácido populnônico <sup>a*</sup>	S1 <sup>a</sup>	S2 <sup>a</sup>	S3 <sup>a</sup>
1	22,3	22,3	22,3	22,3
2	41,5	41,5	41,5	41,5
3	213,3	213,2	213,0	213,1
4	58,3	58,3	58,2	58,2
5	42,0	42,1	42,0	42,1
6	41,3	41,4	41,2	41,3
7	18,2	18,3	18,2	18,2
8	50,7	50,8	50,4	50,8
9	37,4	37,5	37,5	37,5
10	59,8	59,9	59,5	59,5
11	36,1	36,2	36,1	36,1
12	29,5	29,5	29,9	29,7
13	39,2 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>
14	39,1 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>
15	29,4	29,5	29,5	29,6
16	36,6	36,7	36,5	37,0
17	30,1	30,1	30,1	30,4
18	44,2	44,3	44,4	44,2
19	29,3	29,5	29,2	29,5
20	40,4	40,5	40,6	40,4
21	30,2	30,3	30,2	30,8
22	35,3	35,4	35,2	35,3
23	6,9	6,8	6,8	6,8
24	14,6	14,7	14,7	14,7
25	18,4	18,4	18,4	18,3
26	16,3	16,4	16,1	16,8
27	18,0	18,1	17,9	17,6
28	31,8	31,9	31,8	31,9
29	184,8	184,8	177,8	178,4
30	31,5	31,5	31,8	31,8
1'	-	-	51,9	29,9
2'	-	-	77,9	79,8
3'	-	-	74,7	71,7

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>podem estar trocados; \*(LU et al., 2002)



## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Tabela 26. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (150 MHz) para os produtos de síntese S5a-e**

Átomo	S5a <sup>a</sup>	S5b <sup>a</sup>	S5c <sup>a</sup>	S5d <sup>a</sup>	S5e <sup>a</sup>
1	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3
2	41,5	41,5	41,5	41,5	41,5
3	213,2	213,2	213,2	213,2	213,2
4	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2
5	42,1	42,0	42,1	42,1	42,1
6	41,3	41,2	41,2	41,3	41,2
7	18,2	18,2	18,2	18,2	18,2
8	50,5	50,5	50,5	50,4	50,5
9	37,5	37,5	37,5	37,5	37,5
10	59,5	59,5	59,5	59,5	59,5
11	36,2	36,2	36,2	36,1	36,1
12	29,9	29,9	29,8	29,8	29,8
13	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>
14	39,2 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>	39,2 <sup>b</sup>
15	29,6	29,6	29,6	29,5	29,6
16	36,5	36,5	36,6	36,5	36,5
17	30,2	30,1	30,2	30,1	30,1
18	44,4	44,4	44,4	44,4	44,4
19	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2
20	40,6	40,5	40,6	40,6	40,5
21	30,3	30,3	30,3	30,2	30,2
22	35,2	35,2	35,2	35,2	35,2
23	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8
24	14,7	14,7	14,7	14,7	14,7
25	18,5	18,5	18,5	18,5	18,5
26	16,2	16,2	16,2	16,1	16,2
27	17,8	17,8	17,8	17,7	17,8
28	31,8	31,8	31,8	31,8	31,8
29	178,5	178,5	178,6	178,4	178,5
30	31,6	31,5	31,6	31,7	31,5
1'	57,4	57,4	57,5	57,5	57,4
2'	143,9	143,7	143,5	143,7	143,7
3'	121,9	122,2	122,0	121,8	122,0
1''	85,8	86,4	86,5	86,5	85,4
2''	70,3	67,8	69,9	70,4	70,9
3''	72,6	70,8	71,2	72,0	75,1
4''	67,7	66,8	68,0	68,4	72,4
5''	75,3	74,2	72,9	65,7	75,5
6''	61,5	61,1	16,1	-	62,5
7''	-	-	-	-	95,9
8''	-	-	-	-	70,1
9''	-	-	-	-	69,2
10''	-	-	-	-	68,0
11''	-	-	-	-	68,8
12''	-	-	-	-	61,5
<u>CO</u> CH <sub>3</sub>	168,8; 169,4; 169,9; 170,5	168,9; 169,8; 170,0; 170,3	169,1; 169,9; 170,4	168,9; 169,8; 169,8	169,0; 169,4; 169,9; 169,9; 169,9; 170,5; 171,2
CO <u>CH</u> <sub>3</sub>	20,1; 20,5; 20,5; 20,7	20,2; 20,5; 20,6; 20,7	20,3; 20,5; 20,7	20,1; 20,6; 20,6	20,1; 20,6; 20,6; 20,6; 20,7; 20,8; 20,8;

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>podem estar trocados.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Tabela 27. Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C (100 ou 150 MHz) para os produtos de síntese S6a-e**

Átomo	S6a <sup>a*</sup>	S6b <sup>a**</sup>	S6c <sup>a**</sup>	S6d <sup>a**</sup>	S6e <sup>a**</sup>
1	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3
2	41,5	41,5	41,5	41,5	41,5
3	213,3	213,3	213,2	213,2	213,2
4	58,2	58,2	58,2	58,2	58,2
5	42,1	42,1	42,1	42,1	42,1
6	41,2	41,3	41,2	41,3	41,3
7	18,2	18,2	18,2	18,2	18,2
8	51,0	51,1	51,0	51,0	51,1
9	37,4	37,4	37,5	37,4	37,5
10	59,5	59,5	59,5	59,5	59,5
11	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1
12	30,0	30,0	29,9	29,9	30,0
13	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>	39,3 <sup>b</sup>
14	39,1 <sup>b</sup>	39,1 <sup>b</sup>	39,1 <sup>b</sup>	39,1 <sup>b</sup>	39,1 <sup>b</sup>
15	29,9	29,9	29,9	29,9	29,8
16	37,2	37,2	37,2	37,2	37,2
17	30,4	30,4	30,4	30,4	30,4
18	44,0	44,0	44,0	44,1	44,0
19	29,7	29,7	29,6	29,6	29,7
20	40,4	40,4	40,4	40,4	40,4
21	30,7	30,7	30,6	30,8	30,7
22	35,3	35,3	35,3	35,3	35,3
23	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8
24	14,7	14,7	14,7	14,7	14,7
25	18,3	18,3	18,3	18,3	18,3
26	17,2	17,2	17,1	17,1	17,2
27	17,6	17,6	17,5	17,5	17,6
28	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9
29	179,1	179,1	179,1	179,0	179,2
30	31,4	31,3	31,4	31,6	31,3
1'	35,2	35,1	35,2	35,2	35,2
2'	145,4	145,3	145,2	145,3	145,3
3'	120,7	120,9	120,9	120,7	120,8
1''	85,9	86,4	86,4	86,4	85,4
2''	70,4	68,0	69,8	70,5	71,0
3''	72,6	70,8	71,1	72,0	75,1
4''	67,6	66,8	68,2	68,4	72,4
5''	75,2	74,1	72,8	65,6	75,5
6''	61,5	61,1	16,1	-	62,5
7''	-	-	-	-	95,9
8''	-	-	-	-	70,1
9''	-	-	-	-	69,2
10''	-	-	-	-	68,0
11''	-	-	-	-	68,8
12''	-	-	-	-	61,5
<u>COCH<sub>3</sub></u>	168,8; 169,3; 169,9; 170,5	169,0; 169,8; 170,0; 170,3	169,0; 169,9; 170,4	168,9; 169,7; 169,9	169,1; 169,4; 170,0; 170,0; 170,3; 170,5; 170,6
<u>COCH<sub>3</sub></u>	20,2; 20,5; 20,5; 20,7	20,3; 20,5; 20,6; 20,7	20,3; 20,5; 20,7	20,2; 20,6; 20,6	20,2; 20,6; 20,6; 20,6; 20,7; 20,8; 20,8

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>podem estar trocados; \*100 MHz; \*\*150 MHz



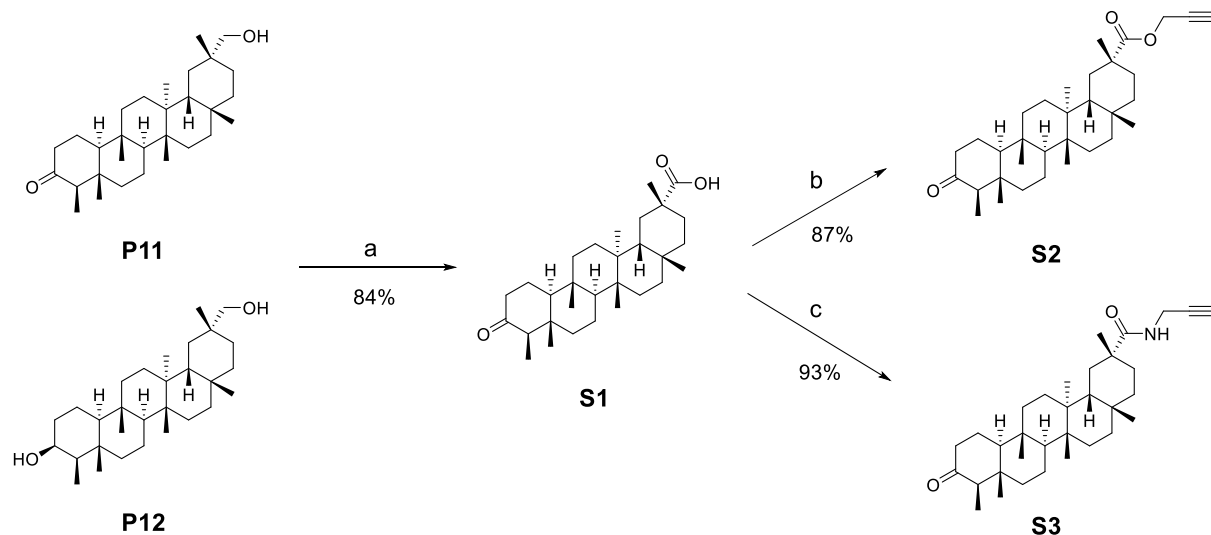
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

### 3 – OBTENÇÃO DOS DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

#### 3.1 – Obtenção dos derivados propargílicos S2 e S3

Para a realização da reação *click* e posterior formação dos novos derivados 1,2,3-triazólicos triterpênicos, foi necessária a obtenção de análogos propargílicos a partir dos triterpenos **P11** e **P12**. A rota desenvolvida (**Esquema 14**) consistiu na oxidação da mistura dos triterpenos majoritários de *C. cognatum*, utilizando reagente de Jones como agente oxidante, para a obtenção do ácido populnônico (**S1**). O composto **S1**, apesar de ter sido obtido sinteticamente, é um produto natural que pode ser obtido de diversas fontes vegetais, como a *Plenckia populnea* (Celastraceae) (MIRANDA et al., 2009), e apresenta expressiva atividade anti-inflamatória (HENNEH et al., 2020; VELOSO et al., 2017).

#### Esquema 14. Rota utilizada para a síntese dos derivados propargílicos S2 e S3



a) Reagente de Jones, acetona, t.a.; b) brometo de propargila, KHCO<sub>3</sub>, DMF, t.a. c) propargilamina, TBTU, DMAP, DCM, t.a.

A utilização do reagente de Jones, que apresenta como agente oxidante o ácido crômico (H<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>), não foi a metodologia escolhida em um primeiro momento, devido à alta toxicidade das espécies de cromo, em especial as de Cr(VI). Na primeira tentativa foi utilizado permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) em meio aquoso e básico,

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

conforme descrito por Kenyon e Platt (1939) para oxidação de álcoois alifáticos. Observou-se por CCD que, após 72 h sob agitação intensa em temperatura ambiente, o material de partida não havia sido consumido. Diversas tentativas foram realizadas modificando solvente e temperatura, porém não houve a formação de **S1** ou de qualquer outro produto a partir da utilização de  $\text{KMnO}_4$  como oxidante (**Tabela 28**). Isto indica que  $\text{KMnO}_4$  não é o reagente apropriado para oxidação de triterpenos e, de fato, não foi encontrado nenhum trabalho na literatura envolvendo oxidação de triterpenos utilizando  $\text{KMnO}_4$ .

Dessa forma, escolheu-se seguir a metodologia utilizada por Anjaneyulu e Ravi (1989) para a oxidação do triterpeno friedelano-3 $\beta$ ,29-diol (**P12**), em que os autores obtiveram **S1** com rendimento de 68%. Assim, uma mistura de **P11** e **P12** com aproximadamente 50% de cada constituinte foi submetida à oxidação e, após 2 h de reação, **S1** foi obtido com rendimento de 84%, após purificação.

**Tabela 28. Condições das reações realizadas para síntese de S1 a partir da mistura P11 e P12**

Reação	Agente oxidante	Solvente	pH do meio	Temp.	Tempo	Resultado*
1	$\text{KMnO}_4$	água	básico	t.a.	72 h	NF
2	$\text{KMnO}_4$	água	básico	refluxo	24 h	NF
3	$\text{KMnO}_4$	acetona	neutro	refluxo	24 h	NF
4	$\text{H}_2\text{CrO}_4$	acetona	ácido	t.a.	2 h	84%

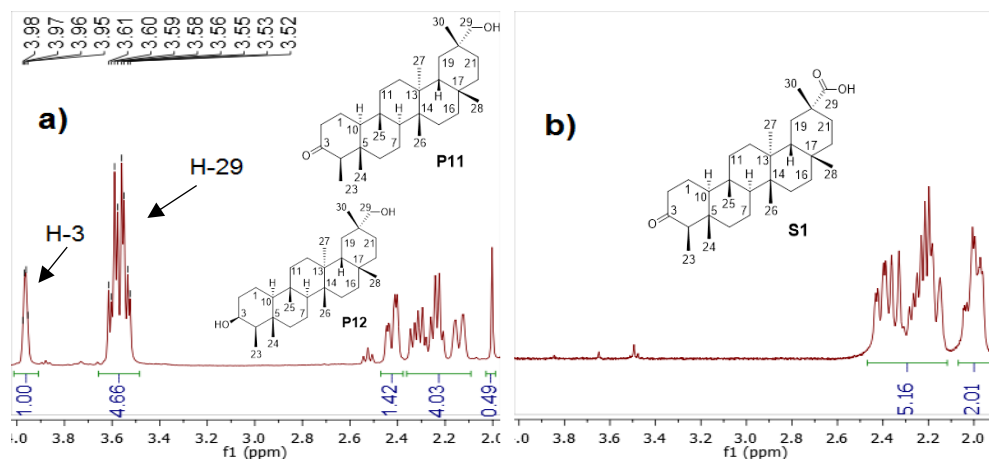
\*NF: produto não formado

A formação de **S1** foi evidenciada pelo aparecimento de uma banda de média intensidade e bastante alargada de  $3300\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$  e outra intensa em  $1708\text{ cm}^{-1}$  no espectro na região do infravermelho (Apêndice **Q1**, p. 170), que foram atribuídas ao estiramento do grupo hidroxila e carbonila de ácido carboxílico, respectivamente. A partir da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 (Apêndice **Q**, p. 170), a obtenção de **S1** foi confirmada. Os sinais dos átomos H-29 ( $\delta_{\text{H}}$  3,52-3,61) e H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  3,96) não estão presentes no espectro de **S1** quando comparados aos espectros da mistura de **P11** e **P12** (**Figura 34**, p. 90). Além das mudanças observadas anteriormente, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi identificado um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  184,8 atribuído à carbonila em C-29, e não se observam os sinais dos carbonos hidroxilados

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

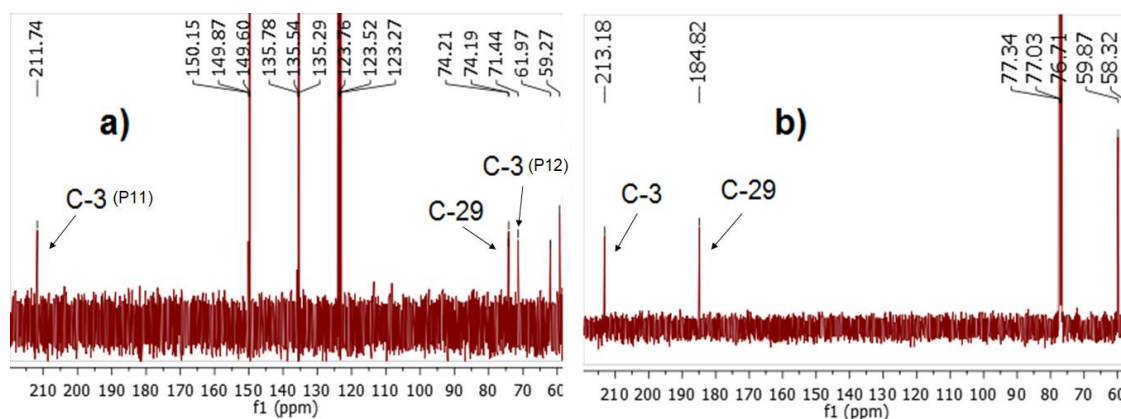
entre  $\delta_c$  70-75 (Figura 35, p. 90), presentes nos espectros de **P11** e **P13**. Como **S1** é um produto natural conhecido, os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtidos foram comparados com dados reportados na literatura (LU et al., 2002), sendo similares (Tabela 25, p. 85).

Figura 34. Expansões dos espectros de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_H$  2,0-4,0) para a mistura **P11+P12** e para **S1**



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ . a) Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura de **P11** + **P12** (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ); b) Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **S1**.

Figura 35. Expansões dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}^*$  ( $\delta_c$  70-215) para a mistura **P11+P12** e para **S1**



\*100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ . a) Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura de **P11** + **P12** (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ); b) Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **S1**.

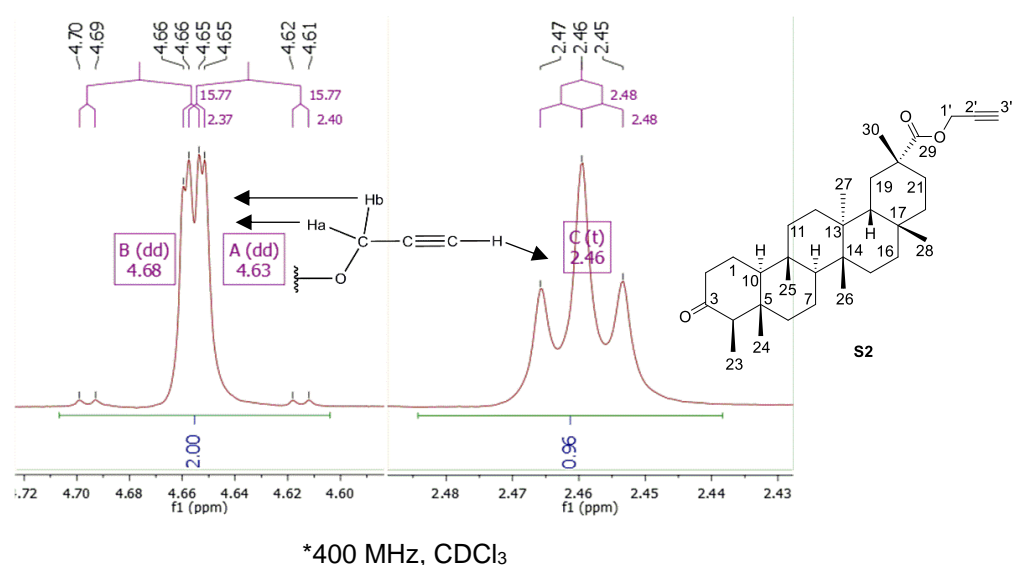
Em seguida, **S1** foi submetido a duas rotas distintas, a fim de se obter os análogos propargílicos **S2** e **S3**. A reação para obtenção do populnonato de propargila (**S2**) consistiu numa substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) entre o carboxilato de

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**S1** e brometo de propargila (**Esquema 14, p. 88**). Uma reação análoga foi descrita para o ácido betulínico (BEBENEK et al., 2016) e, nas mesmas condições de reação, o rendimento obtido foi de 81%. Para o éster **S2** o rendimento, após elaboração e purificação, foi de 87%.

No espectro na região do infravermelho de **S2** (Apêndice R, p. 172) foi possível observar uma banda relativa ao estiramento da carbonila de éster em  $1742\text{ cm}^{-1}$  e uma outra banda em  $3303\text{ cm}^{-1}$  associada ao estiramento da ligação C-H de alcino terminal. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **S2** (Apêndice R, p. 172) observa-se, em relação ao material de partida, o aparecimento de dois sinais em  $\delta_{\text{H}}$  4,63 (dd, 15,8; 2,4 Hz, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  4,68 (dd, 15,8; 2,4 Hz, 1H) correspondendo aos átomos de hidrogênio metilênicos diastereotópicos da cadeia propargílica, e um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,46 (t, 2,4 Hz, 1H), que foi associado ao átomo de hidrogênio terminal do alcino (**Figura 36**).

**Figura 36. Expansões do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,43-2,49 e 4,60-4,72) para **S2****

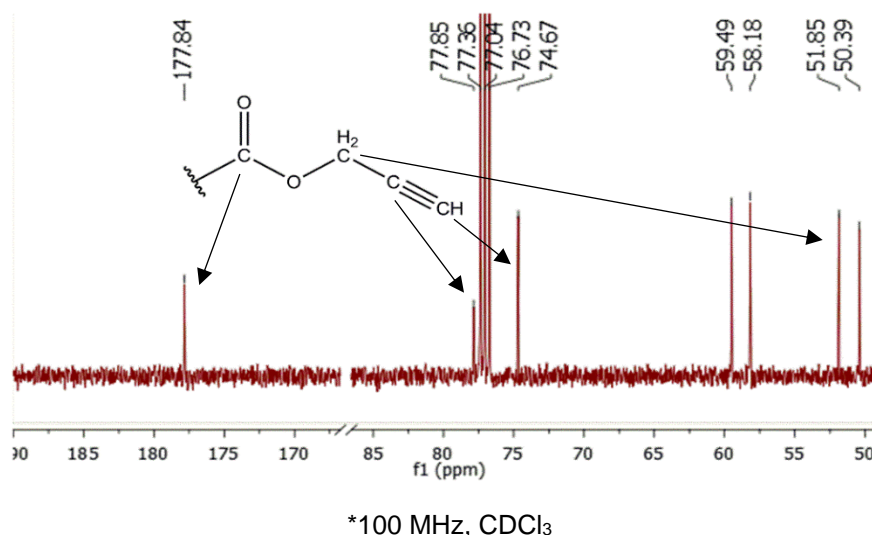


Como esperado, foram observados 33 sinais no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice R, p. 172). O sinal em  $\delta_{\text{C}}$  177,8 (C), associado ao C-29, apresentou menor valor de deslocamento químico que o observado para o mesmo átomo em **S1** (C-29,  $\delta_{\text{C}}$  184,8), indicando que houve a formação do éster nessa posição. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  77,9 (C) e 74,7 (CH) foram atribuídos aos átomos de carbono *sp* da cadeia propargílica, e o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  51,9 (CH<sub>2</sub>) foi associado ao carbono metilênico dessa

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

mesma cadeia (**Figura 37**). As atribuições completas para os deslocamentos dos sinais de  $^{13}\text{C}$  de **S2** estão descritas na **Tabela 25** (p. 85).

**Figura 37.** Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ \* ( $\delta\text{c}$  50-190) para **S2**



A *N*-propargilpopulnonamida (**S3**) foi obtida a partir de uma reação de acoplamento entre **S1** e propargilamina. Foi utilizado como reagente de acoplamento tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurônio (TBTU) na presença de 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) em DCM (**Esquema 14**, p. 88).

A utilização de carbodi-imidas como reagentes de acoplamento para obtenção de amidas a partir de ácidos carboxílicos e aminas foi relatada pela primeira vez em 1955, por Sheehan e Hess, com a utilização da dicicloexilcarbodi-imida (DCC) para formação de ligações peptídicas. Dentre as vantagens da utilização de reagentes de acoplamento, destacam-se os bons rendimentos obtidos e a facilidade de purificação do produto, pois o derivado de ureia formado durante a reação é geralmente insolúvel no meio de reação. Desde então, diversos outros reagentes de acoplamento foram descobertos (VALEUR; BRADLEY, 2009) de forma a minimizar problemas das reações de acoplamento, como por exemplo a formação de *N*-acilureias como subprodutos.

Para a síntese de **S3**, inicialmente foi utilizado como reagente de acoplamento a *N,N'*-di-isopropilcarbodi-imida (DIC) (**Esquema 15**, p. 93), e esperava-se a obtenção de **S3** como único produto, conforme o mecanismo proposto (**Esquema 16**, p. 94) (VALEUR; BRADLEY, 2009). Entretanto, após a elaboração foram observados dois

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

pontos bem próximos na placa de CCD. Supôs-se, assim, que a outra substância seria um derivado *N*-acilureia (**S7**) (**Esquema 15**), um produto de rearranjo esperado para esse tipo de reação (NAKAJIMA; IKADA, 1995). Foi realizada a purificação em CC, porém estes dois compostos não puderam ser separados. Após análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da mistura (**Figura 38**), comprovou-se que a mistura era constituída pela amida **S3** e pelo subproduto *N*-isopropil-*N*-(isopropilcarbamoil)populnonamida (**S7**) na proporção de 47% e 53%, respectivamente, e conversão total de 82%, conforme apresentado no **Esquema 15**. A proposta do mecanismo de formação de **S7** consiste num rearranjo da estrutura do intermediário **A**, uma *O*-acilureia, formando um intermediário com um anel heterocíclico de 4 membros (**E**), seguido da abertura do anel e formação de **S7**, uma *N*-acilureia (**Esquema 17, p. 94**) (VALEUR; BRADLEY, 2009).

### Esquema 15. Síntese de S3 com formação do subproduto S7

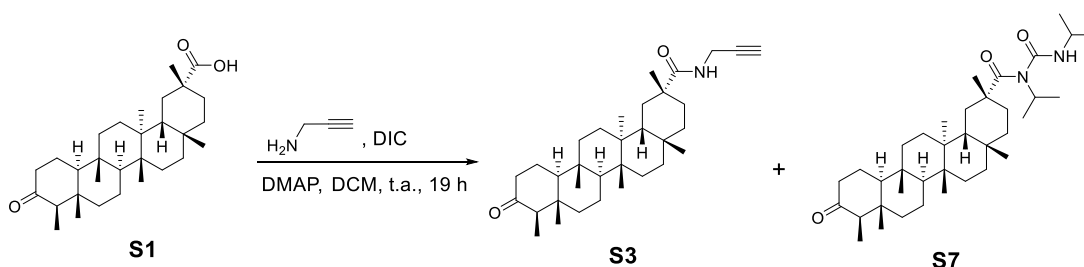
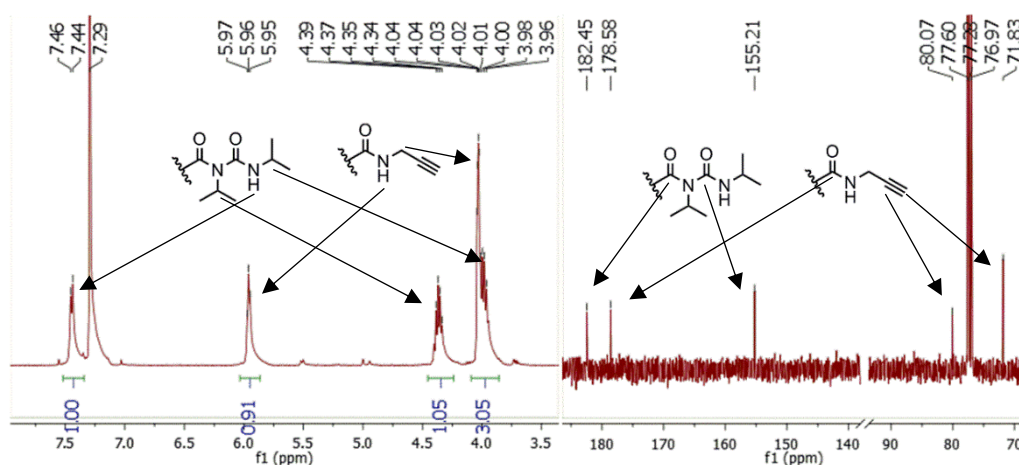


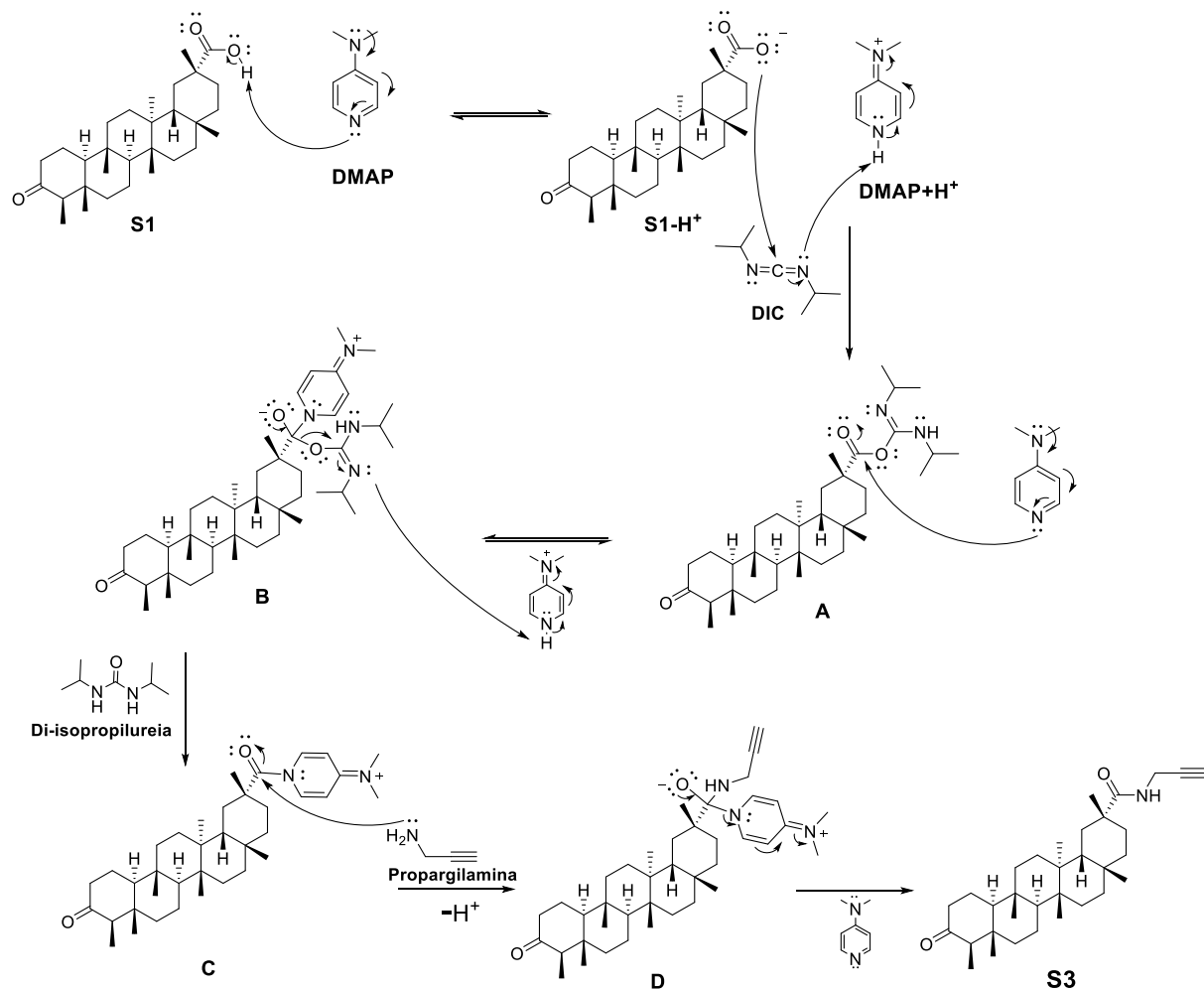
Figura 38. Expansões dos espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  3,5-8,0) e  $^{13}\text{C}^*$  ( $\delta_{\text{C}}$  70-185) para a mistura S3 e S7



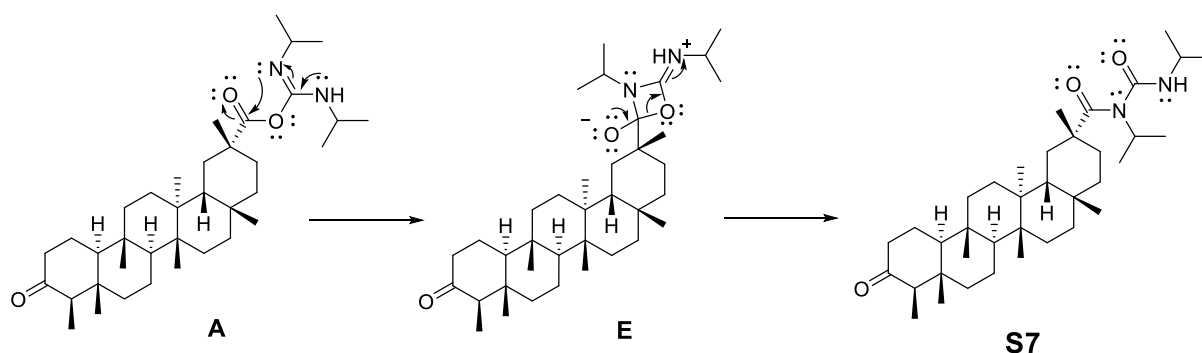
\*Expansões dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de S3 e S7

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Esquema 16. Proposta de mecanismo para síntese de **S3** utilizando DIC como reagente de acoplamento



Esquema 17. Proposta de mecanismo para formação de **S7**

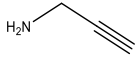
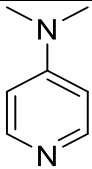


Diversas tentativas foram realizadas para otimizar a reação (**Tabela 29, p. 95**). As reações foram acompanhadas por CCD e em todos os casos foi observada a formação, por CCD, de **S3** e **S7** e, portanto, os produtos não foram purificados e, por

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

esse motivo, realizou-se a síntese de **S7** a fim de se obtê-lo puro e realizar sua caracterização inequívoca (Apêndice **X1**, p. 200). Devido ao insucesso de se obter somente o produto de interesse propôs-se a mudança do reagente de acoplamento.

**Tabela 29. Condições das reações de tentativas de síntese de S3**

Tentativa*	 (equiv.)	 (equiv.)	Micro-ondas	Temp. (°C)	Tempo	Resultado**
1	1,2	0,1	não	t.a.	19 h	S3 + S7
2	2,0	0,1	sim	30	6 min	S3 + S7
3	2,0	0,1	sim	30	2 min	S3 + S7
4	2,0	1,0	sim	30	30 s	S3 + S7
5	2,0	1,0	não	0	4 h	S3 + S7

\*Todas as reações foram realizadas em 5 mL de DCM; \*\* Os resultados de porcentagem de conversão não foram determinados.

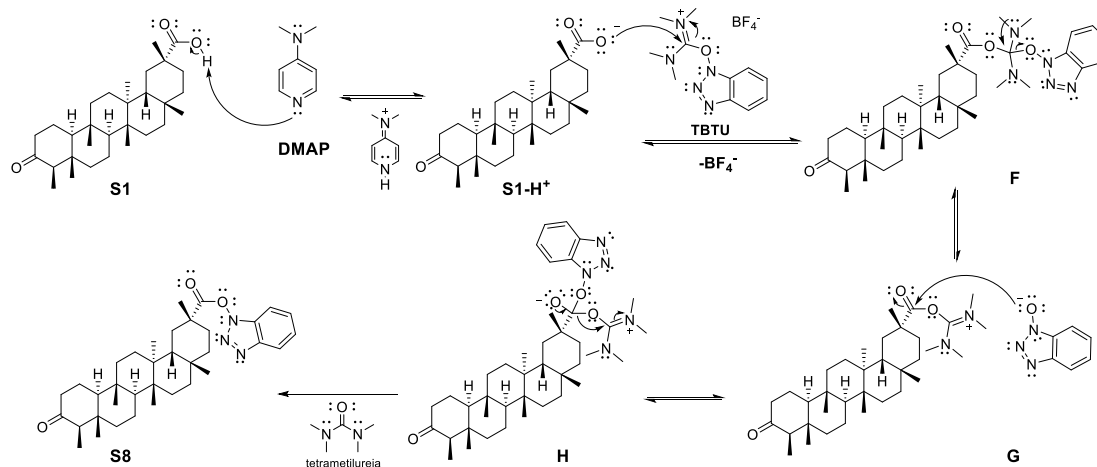
Rodríguez-Hernández e colaboradores (2015) relataram a síntese de amidas derivadas da hederagenina, um triterpeno pentacíclico de esqueleto oleanano, utilizando como reagente de acoplamento o TBTU. Os autores obtiveram um rendimento de 93% para uma amida triterpênica similar a **S3**. De posse dessas informações, a reação foi realizada com TBTU, como alternativa a se obter **S3** sem produtos de rearranjo.

O mecanismo da reação de acoplamento com TBTU (**Esquema 18, p. 96**) apresenta etapas de reação bastante similares às observadas para a reação de acoplamento com DIC, porém não foram observados produtos de rearranjo. Dessa forma, a reação seguiu com a adição de um derivado benzotriazólico à carbonila de **G** (**Esquema 18, p. 96**) seguida da eliminação de uma molécula de tetrametilureia, gerando o intermediário **S8**.



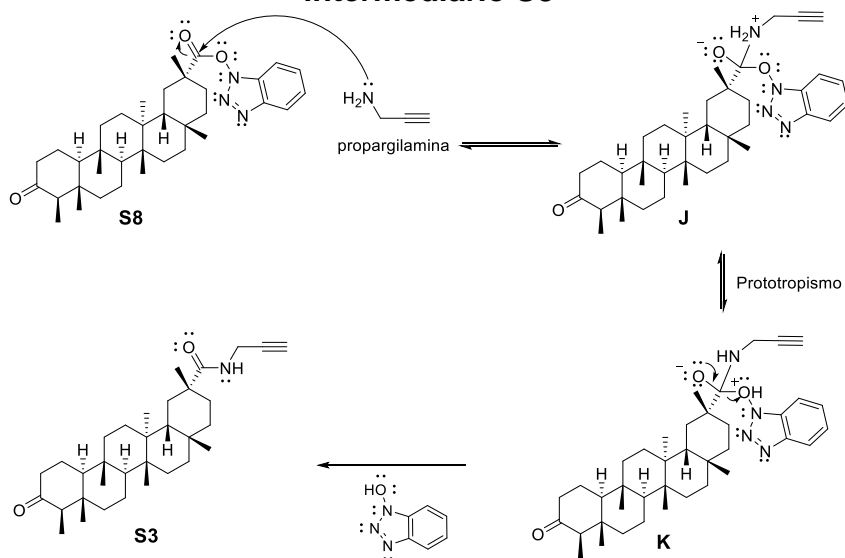
## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

**Esquema 18. Proposta de mecanismo de síntese do intermediário S8 utilizando TBTU como reagente de acoplamento**



Após uma hora de reação verificou-se por CCD que todo material de partida havia sido consumido, então a propargilamina foi adicionada à mistura da reação. O mecanismo para a formação de **S3** consiste em uma etapa de adição da propargilamina à carbonila do intermediário **S8**, seguida da eliminação do derivado benzotriazólico (**Esquema 19, p. 96**). A reação realizada com TBTU foi bem-sucedida e **S3** foi obtido com 93% de rendimento após purificação. A fim de se obter **S8** puro e realizar sua caracterização, este foi preparado a partir de uma reação sem adição de propargilamina e seus espectros de RMN encontram-se no Apêndice **X2**, p. 202.

**Esquema 19. Proposta de mecanismo para a síntese de S3 a partir do intermediário S8**

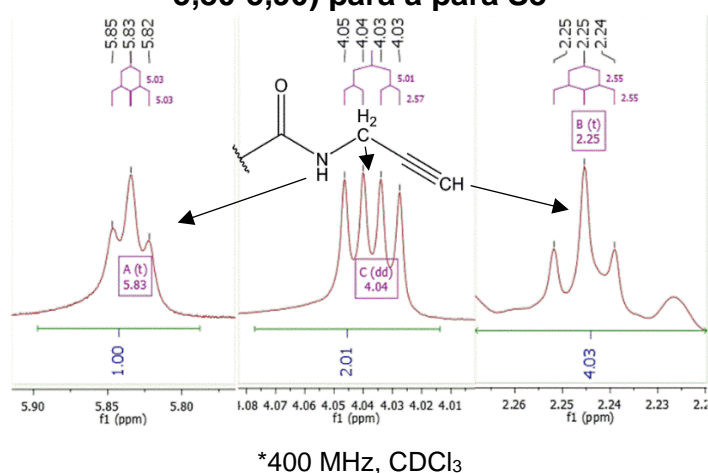


A banda relativa ao estiramento de carbonila de amida foi observada no espectro na região do infravermelho de **S3** (Apêndice **S**, p. 174) em 1668 cm<sup>-1</sup> e a

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

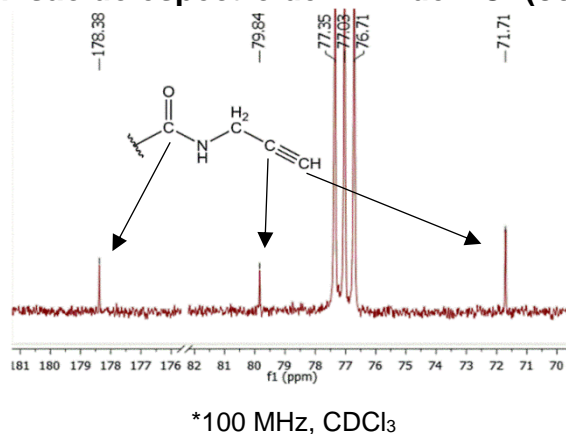
banda associada ao estiramento da ligação CH de alcino terminal foi observada em  $3394\text{ cm}^{-1}$ . No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **S3** (Figura 39, p. 97 e Apêndice S, p. 174) observou-se o aparecimento de um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  4,04 (dd, 5,0; 2,6 Hz, 2H) atribuído aos átomos de hidrogênio metilênicos da cadeia propargílica, e um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,25 (t, 2,6 Hz), que foi associado ao átomo de hidrogênio metínico do alcino. O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,83 (t, 5,0 Hz, 1H) foi atribuído ao átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo carbamoíla (Figura 39, p. 97).

Figura 39. Expansões do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta_{\text{H}}$  2,22-2,26; 4,01-4,08 e 5,80-5,90) para a para S3



Foram observados 33 sinais no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice S, p. 174). O sinal em  $\delta_{\text{C}}$  178,4 (C) foi associado ao carbono da carbamoíla em C-29, e os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  79,8 (C) e 71,7 (CH) foram atribuídos aos átomos de carbono *sp* da cadeia propargílica (Figura 40). As atribuições completas para os deslocamentos dos sinais de  $^{13}\text{C}$  de **S3** estão apresentadas na Tabela 25 (p. 85).

Figura 40. Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}^*$  ( $\delta_{\text{C}}$  70-180) para S3

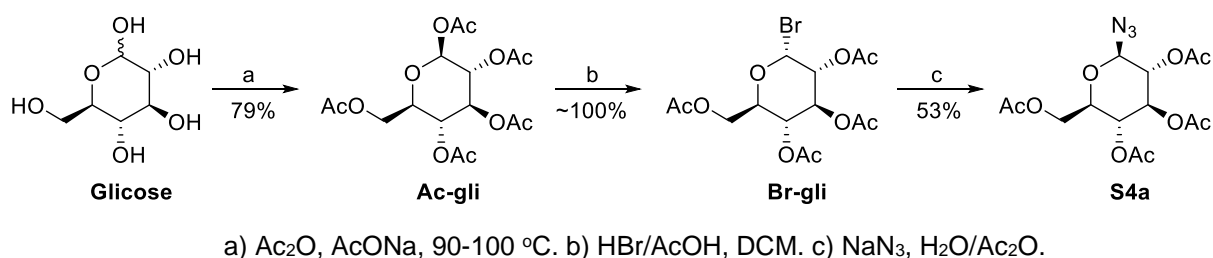


## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

### 3.2 – Obtenção das glicosilazidas

Para a obtenção dos derivados glicosiltriazólicos de triterpenos, foram preparadas cinco azidas derivadas da glicose (**S4a**), galactose (**S4b**), fucose (**S4c**), xilose (**S4d**) e maltose (**S4e**) para a posterior conjugação com os triterpenos propargílicos. A síntese das glicosilazidas foi realizada em três etapas, sendo a primeira a peracetilação dos glicídios, seguida de uma bromação seletiva no carbono anomérico e por fim uma substituição nucleofílica ao carbono anomérico para a obtenção dos intermediários de interesse. As sínteses são descritas na literatura (FRANCO et al., 2015; KUMAR et al., 2006; KUMAR; MAULIK; MISRA, 2008) e será apresentada a discussão da preparação da 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosose (**S4a**) como exemplo da obtenção e caracterização dessa série de compostos (**Esquema 20**).

**Esquema 20. Rota de síntese de S4a**



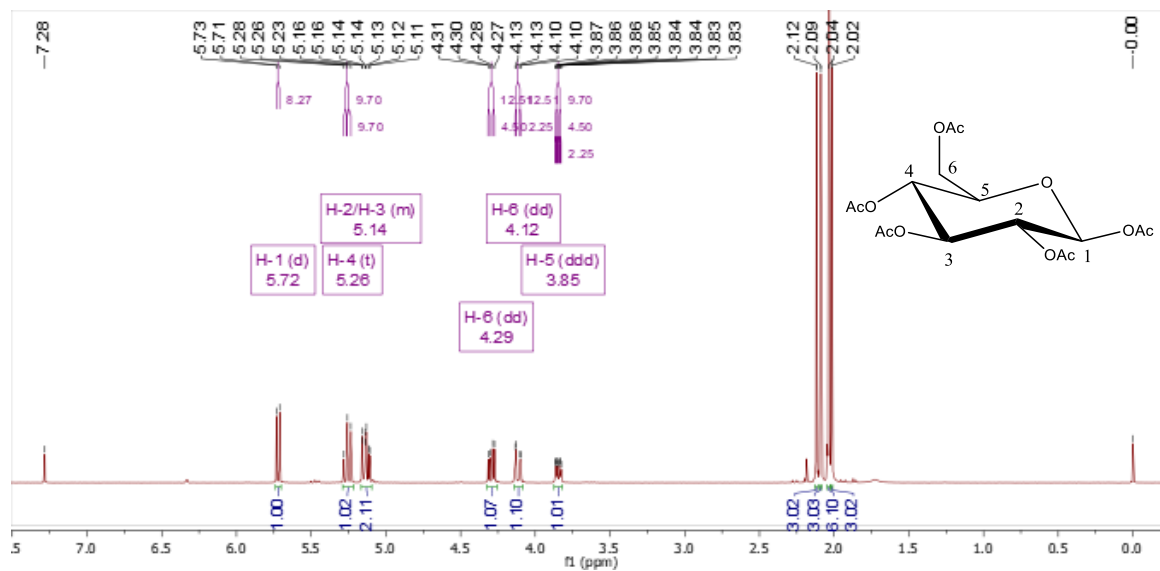
Para a obtenção de **S4a**, primeiramente a glicose foi submetida a uma reação de peracetilação com anidrido acético e acetato de sódio sob aquecimento, produzindo o intermediário 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- $\beta$ -D-glicopiranosose (**Ac-gli**). A formação de **Ac-gli** foi comprovada após análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ac-gli** (**Figura 41**, p.99) é possível observar a presença de sinais entre  $\delta_{\text{H}}$  2,02-2,12 integrados para 15H atribuídos às metilas dos grupos acetila, confirmando a peracetilação. A formação unicamente do anômero  $\beta$  pode ser confirmada pela constante de acoplamento de H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  5,72) que apresentou  $^3J = 8,3$  Hz, coerente com o esperado para um acoplamento axial-axial entre H-1 e H-2. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 42**, p. 99) foram observados cinco sinais entre  $\delta_{\text{C}}$  168,9-170,6 atribuídos às carbonilas dos grupos acetila, e também os sinais das metilas na região de  $\delta_{\text{C}}$  20,0-21,0. A presença de um único sinal entre  $\delta_{\text{C}}$  90-100 ppm

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

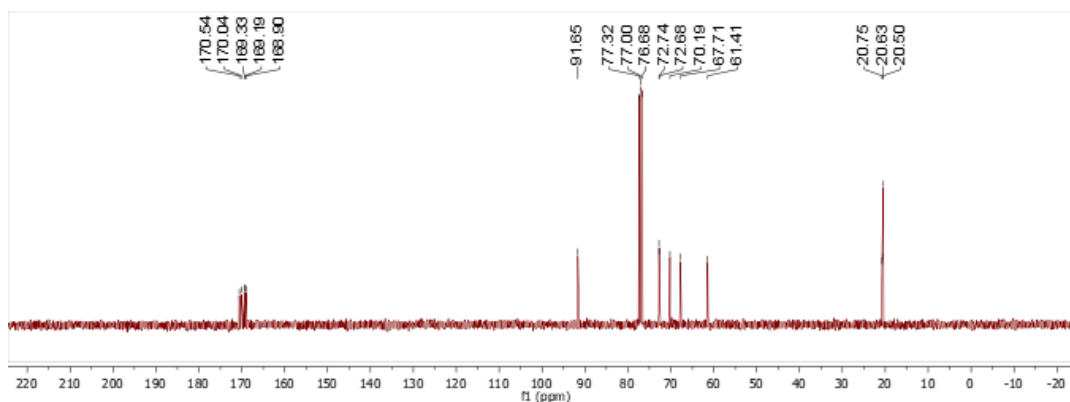
corroborar o fato de ter havido a formação somente de um anômero peracetilado da glicose.

Figura 41. Espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  de Ac-gli



\*400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

Figura 42. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}^*$  de Ac-gli



\*100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

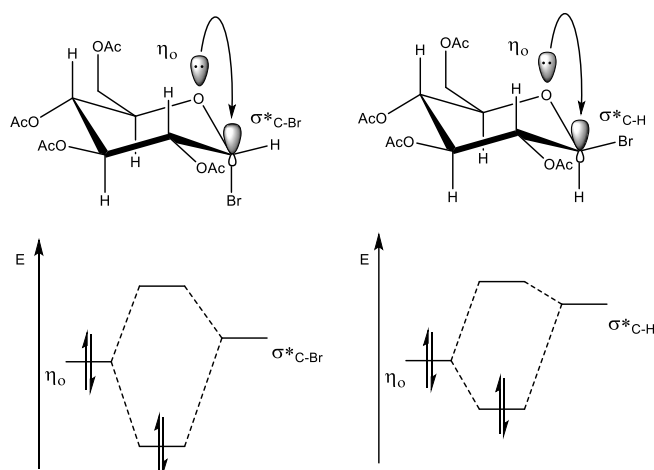
A etapa seguinte consistiu na bromação seletiva da **Ac-gli** com  $\text{HBr}/\text{AcOH}$  em DCM a fim de se obter o intermediário bromado **Br-gli**. Apesar de essa reação passar por um intermediário oxônio, sendo estericamente possível o ataque do íon brometo por ambos os lados do carbono anomérico, é observada somente a formação do produto  $\alpha$ -bromado, com o substituinte halogenado na posição axial.

Essa preferência pela posição axial pode ser explicada devido ao efeito anomérico, no produto formado, promovido pelo átomo de oxigênio do heterociclo, em que um dos pares de elétrons não ligantes do heteroátomo interage com os orbitais

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

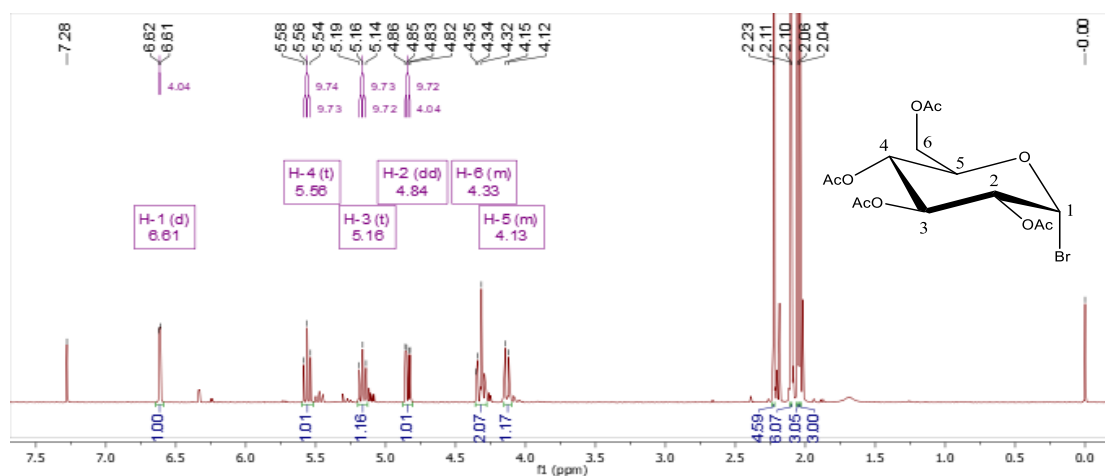
antiligantes  $\sigma^*_{C-X}$  que estão paralelos a ele. Essa interação será mais eficiente quanto menor a diferença de energia entre orbitais não ligante e orbital antiligante (JUARISTI; CUEVAS, 1992). Como  $\sigma^*_{C-Br}$  apresenta menor energia que  $\sigma^*_{C-H}$ , a interação mais eficiente será  $\eta_o \rightarrow \sigma^*_{C-Br}$ , explicando a formação de um único produto  $\alpha$ -bromado (Figura 43).

Figura 43. Interações orbitales associadas ao efeito anomérico



No espectro de RMN de  $^1H$  de **Br-gli** (Figura 44) é possível observar que a constante de acoplamento escalar  $^3J$  para H-1 ( $\delta_H$  6,61) é de 4,0 Hz, compatível ao esperado para um acoplamento equatorial-axial entre H-1 e H-2.

Figura 44. Espectro de RMN de  $^1H^*$  de Br-gli



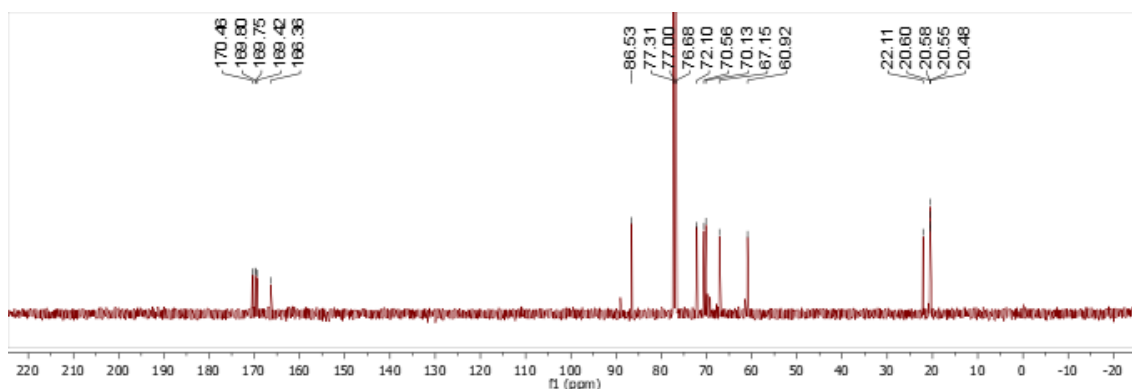
\*400 MHz,  $CDCl_3$ .

Pela análise do espectro de RMN de  $^{13}C$  (Figura 45, p.101) para a **Br-gli** foi possível observar que o valor de deslocamento químico do carbono anomérico

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

diminuiu em quase 5 ppm em relação ao observado para **Ac-gli** (de  $\delta_c$  91,7 para 86,5). A maior blindagem do átomo de carbono anomérico do composto  $\alpha$ -bromado corrobora com a afirmativa de que as interações  $\eta_O \rightarrow \sigma^*_{C-Br}$  são mais eficientes que as interações  $\eta_O \rightarrow \sigma^*_{C-H}$  presentes em **Ac-gli**.

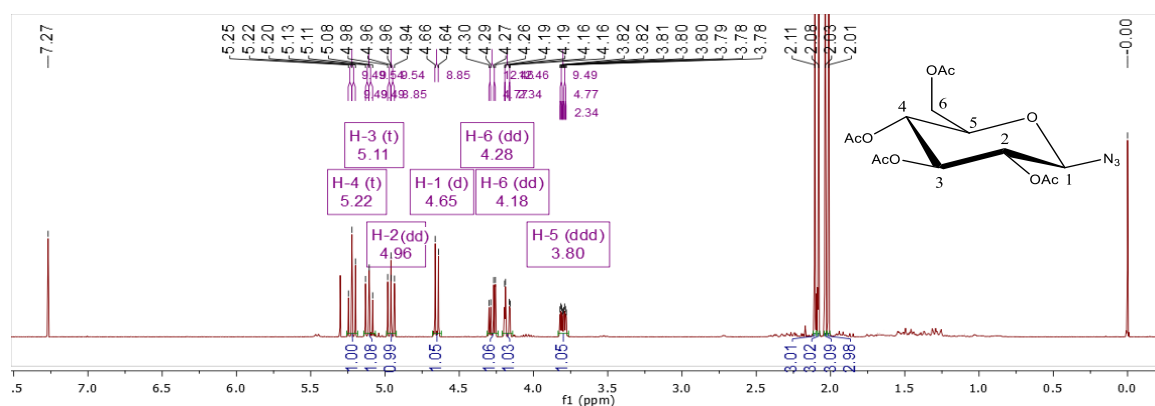
Figura 45. Espectro de RMN de  $^{13}C^*$  de Br-gli



\*100 MHz,  $CDCl_3$ .

A última etapa para a obtenção de **S4a** consistiu na realização de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular entre **Br-gli** e  $NaN_3$  em uma mistura de água e acetona. A azida **S4a** foi obtida com rendimento global de 42%. A formação da  $\beta$ -glicosilazida pode ser confirmada pela análise de RMN de  $^1H$  de **S4a** (Figura 46), em que H-1 ( $\delta_H$  4,65) apresentou  $^3J = 8,9$  Hz, compatível com o acoplamento axial-axial entre H-1 e H2.

Figura 46. Espectro de RMN de  $^1H^*$  de S4a



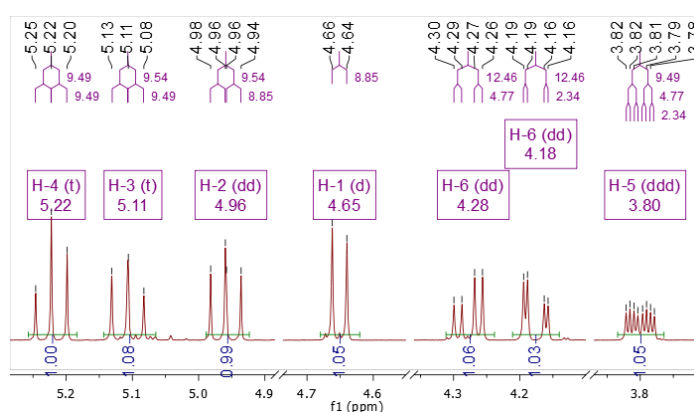
\*400 MHz,  $CDCl_3$ .

O sinal atribuído para o átomo H-2 apresentou deslocamento em  $\delta_H$  4,96 (dd, 9,5; 8,9 Hz). Tanto H-3 ( $\delta_H$  5,11), quanto H-4 ( $\delta_H$  5,22) apresentaram-se como tripletos com valores de constante de acoplamento  $J = 9,5$  Hz associados aos acoplamentos

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

axial-axial com os átomos de hidrogênio vizinhos. O sinal em  $\delta_H$  3,80 (ddd, 9,5; 4,8; 2,3 Hz) foi atribuído ao átomo H-5, e os átomos de hidrogênio diastereotópicos em H-6 apresentaram deslocamentos em  $\delta_H$  4,18 (dd, 12,5; 2,3 Hz) e  $\delta_H$  4,28 (dd, 12,5; 4,8 Hz), conforme é possível observar na expansão do espectro de RMN de  $^1H$  de **S4a** (Figura 47).

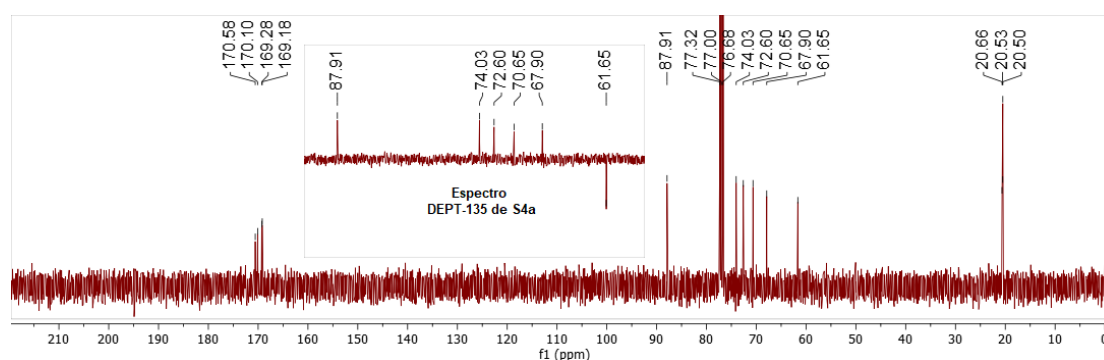
Figura 47. Expansão do espectro de RMN de  $^1H^*$  ( $\delta_H$  3,7-5,3) para **S4a**



\*400 MHz,  $CDCl_3$ .

As atribuições para os átomos de carbono de **S4a** foram realizadas a partir da comparação dos sinais obtidos no espectro de  $^{13}C$  (Figura 48) com dados da literatura para a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranoose (FRANCO et al., 2015).

Figura 48. Espectro de RMN de  $^{13}C^*$  de **S4a**



\*100 MHz,  $CDCl_3$ .

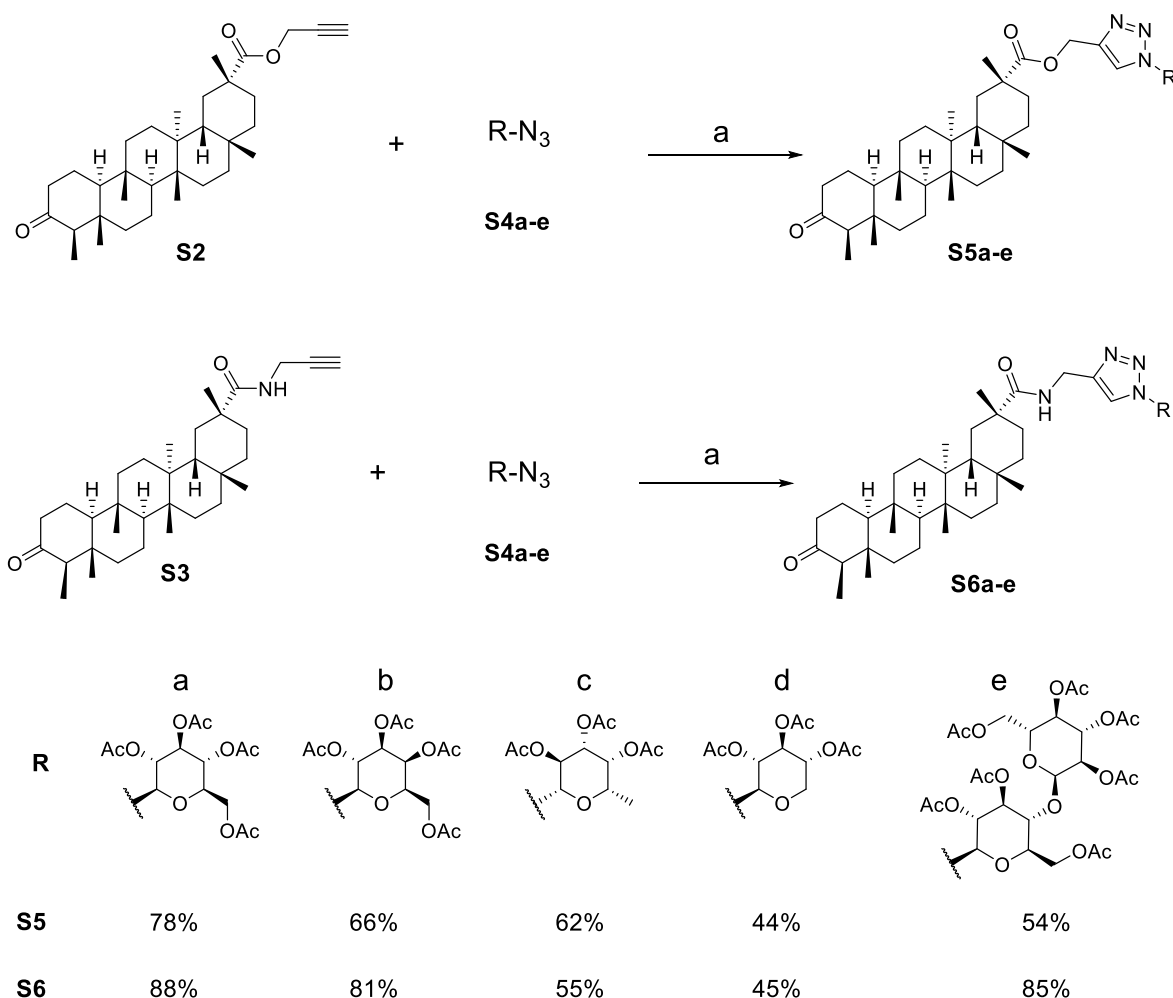
A descrição da obtenção das demais glicosilazidas (**S4b-e**) e seus respectivos dados de RMN de  $^{13}C$  se encontram na parte experimental, a partir da página 72, e seus respectivos espectros podem ser visualizados no Apêndice T, p. 176.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

### 3.3 – Obtenção dos derivados glicotriazólicos de triterpenos

A etapa final da síntese dos derivados glicosiltriaazólicos consistiu na reação entre as diferentes azidas glicosídicas com os triterpenos propargílicos a partir da reação de cicloadição catalisada por cobre, conforme ilustrado no **Esquema 21**. Realizou-se a síntese de cinco derivados triazólicos inéditos do populnonato de propargila (**S2**), e cinco novos derivados da *N*-propargilpopulnonamida (**S3**), a fim de se avaliar as diferenças na atividade citotóxica dos derivados quando há mudança no heteroátomo da subunidade triterpênica, e quando há mudanças na subunidade glicosídica. Foram utilizadas como glicosilazidas três derivados de hexoses, glicose (**S4a**), galactose (**S4b**) e fucose (**S4c**), uma de pentose, xilose (**S4d**) e uma de um dissacarídeo, maltose (**S4e**).

**Esquema 21. Síntese dos derivados glicosiltriaazólicos S5a-e e S6a-e**



a) CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, AscNa, DCM/H<sub>2</sub>O, t.a.



## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

A reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen entre azidas orgânicas e alcinos para a obtenção de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos ganhou grande destaque após trabalhos dos grupos de pesquisa de Meldal e Sharpless (ROSTOVTSEV et al., 2002; TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002) que introduziram íons de Cu(I) como catalisadores, levando a heterociclos com alta regioseletividade e altos rendimentos. A presença de íons Cu (I) influencia fortemente a velocidade e a regioseletividade da cicloadição e, embora diversos mecanismos tenham sido propostos para a reação, uma versão mais recente propõe o envolvimento de dois ciclos (lento e rápido) com participação de espécies dinucleares de cobre (**Esquema 22**). Essas cicloadições catalisadas por cobre apresentam outras vantagens, como a alta tolerância a grupos funcionais, condições brandas de reação e, em alguns casos, as reações podem ocorrer em menos de uma hora, sendo uma das mais emblemáticas reações da chamada “Química *click*” (JIN et al., 2015; MELDAL; TORNØE, 2008).

### Esquema 22. Ciclos catalíticos das cicloadições 1,2,3-dipolares de Huisgen catalisadas por Cu(I)

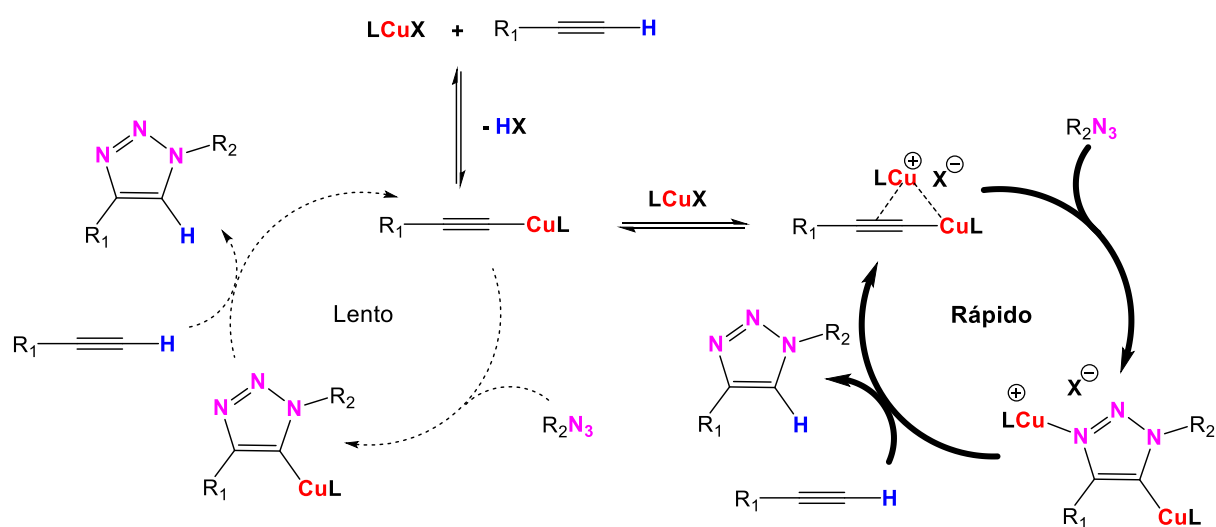


Figura adaptada de (JIN et al., 2015).

Para a realização das reações de cicloadição, foram solubilizadas as glicosilazidas e os triterpenos propargílicos em DCM e, à essa solução, foi adicionada uma solução aquosa de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e ascorbato de sódio (AscNa), que age como agente redutor dos íons de Cu(II).

É interessante observar que a ordem de adição do agente redutor interferiu consideravelmente no rendimento das reações *click*. Numa primeira tentativa de

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

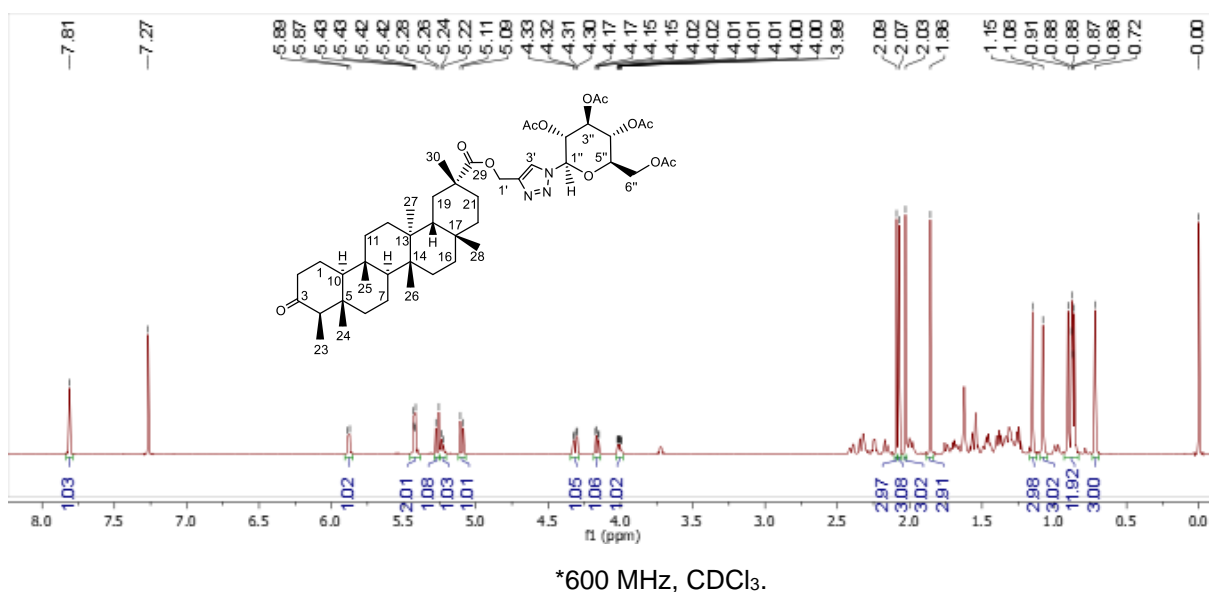
obtenção de **S5a**, foram adicionados à fase orgânica contendo **S2** e **S4a** (Esquema 21, p. 103) uma solução aquosa de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e, posteriormente, foi adicionado o  $\text{AscNa}$  à mistura de reação. Após iniciar a agitação, a mistura de reação adquiriu tonalidade amarela característica e, em uma hora, se tornou verde. Foi observado, a partir da análise de CDD, que nem todo material de partida havia sido consumido, e a reação permaneceu sob agitação por 18 h. Após elaboração, o produto bruto da reação foi purificado em CC e parte do triterpeno propargílico **S2** foi recuperado e **S5a** foi obtido com 47% de rendimento.

Devido ao baixo rendimento observado, foram realizadas outras duas reações entre **S2** e **S4b** e entre **S3** e **S4a** para se verificar o efeito da mudança do carboidrato e do derivado propargílico no rendimento da reação, no entanto, os produtos **S6a** e **S5b** não chegaram a ser obtidos. A estratégia seguinte foi a mudança na metodologia. Foram realizadas algumas tentativas para obtenção dos derivados glicotriazólicos **S5a** e **S6a** em um sistema de solventes THF:H<sub>2</sub>O, e não foi observada a formação dos produtos. Em todas as tentativas malsucedidas o meio de reação se tornava verde e, após a elaboração, as glicosilazidas não eram recuperadas.

Considerando que a cor verde é característica para alguns complexos de Cu(II) em meio aquoso, sugeriu-se, portanto, que as glicosilazidas poderiam estar se complexando aos íons Cu(II) antes de serem completamente reduzidos a Cu(I), inibindo sua atividade catalítica. Dessa forma, foi realizada uma outra reação entre **S2** e **S4a**, mas dessa vez foi adicionada à fase orgânica uma solução aquosa contendo a mistura de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{AscNa}$ . A reação se procedeu por 18h e **S5a** foi obtido com 78% de rendimento.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **S5a** (Figura 49, p. 106) foi possível observar a presença de sete simpletos e um duplete na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,70-1,2 atribuídos às metilas da cadeia triterpênica, e quatro simpletos entre  $\delta_{\text{H}}$  1,8-2,1 atribuídos às metilas dos grupos acetila da subunidade glicosídica, confirmando a conexão entre as duas subunidades. Além disso, o simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,81 é característico do átomo de hidrogênio H-3' do anel triazólico, confirmando sua formação.

Figura 49. Espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  de S5a



A partir da expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  entre  $\delta_{\text{H}}$  4,0-8,0 (Figura 50, p. 107) foi possível observar que os átomos de hidrogênio metilênicos diastereotópicos H-1' apresentaram deslocamento em  $\delta_{\text{H}}$  5,10 (d, 12,9 Hz) e 5,27 (d, 12,9 Hz). Os sinais associados aos hidrogênios glicosídicos foram atribuídos a partir da análise do mapa de contornos COSY (Figura 51, p. 107). Após análise desse espectro, pode-se observar que o sinal do átomo de hidrogênio ligado ao carbono anomérico, H-1'', apresentou deslocamento em  $\delta_{\text{H}}$  5,88 (m), os sinais H-2'' e H-3'' apareceram sobrepostos em um multiplete centrado em  $\delta_{\text{H}}$  5,42, o sinal do átomo de H-4'' apresentou-se como um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,23 (m), o sinal do hidrogênio H-5'' apresentou deslocamento em  $\delta_{\text{H}}$  4,01 (ddd, 10,2; 4,9; 2,2 Hz) e os sinais referentes aos átomos de hidrogênio hidroximetilênicos H-6'' apresentaram deslocamento em  $\delta_{\text{H}}$  4,16 (dd, 12,6; 2,2 Hz) e 4,31 (dd, 12,6; 4,9 Hz).

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Figura 50. Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}^*$  ( $\delta\text{H}$  4,0-8,0) para S5a

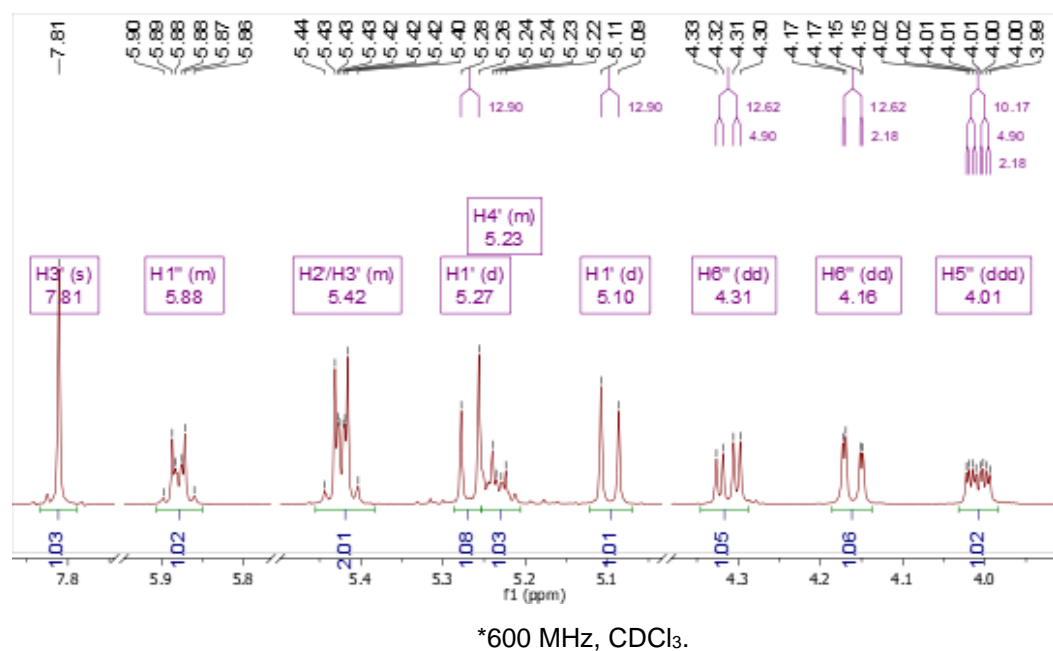
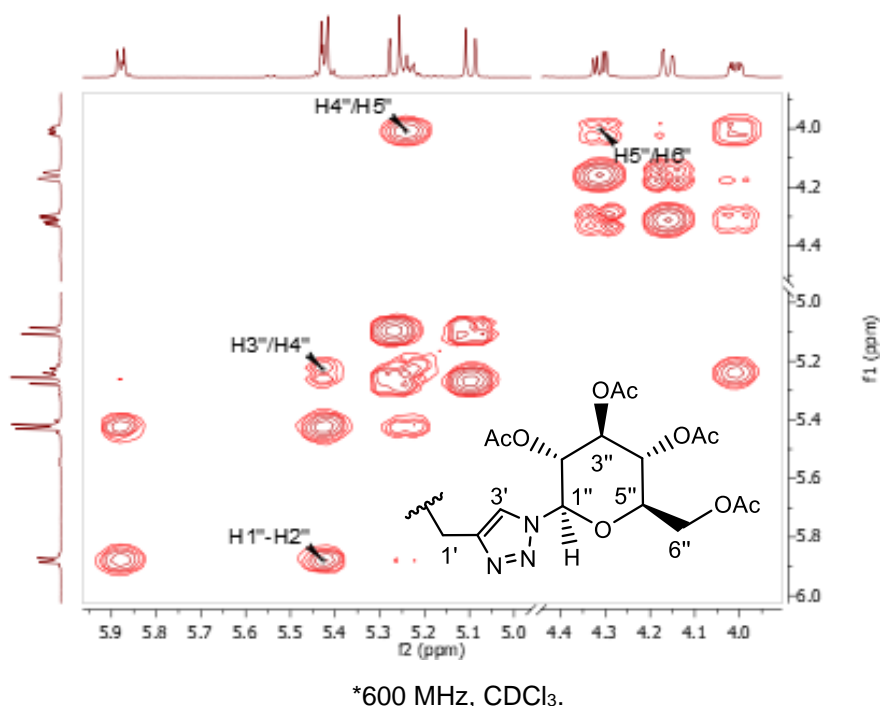


Figura 51. Expansão do mapa de contornos COSY\* ( $\delta\text{H}$  4,0-6,0) para S5a

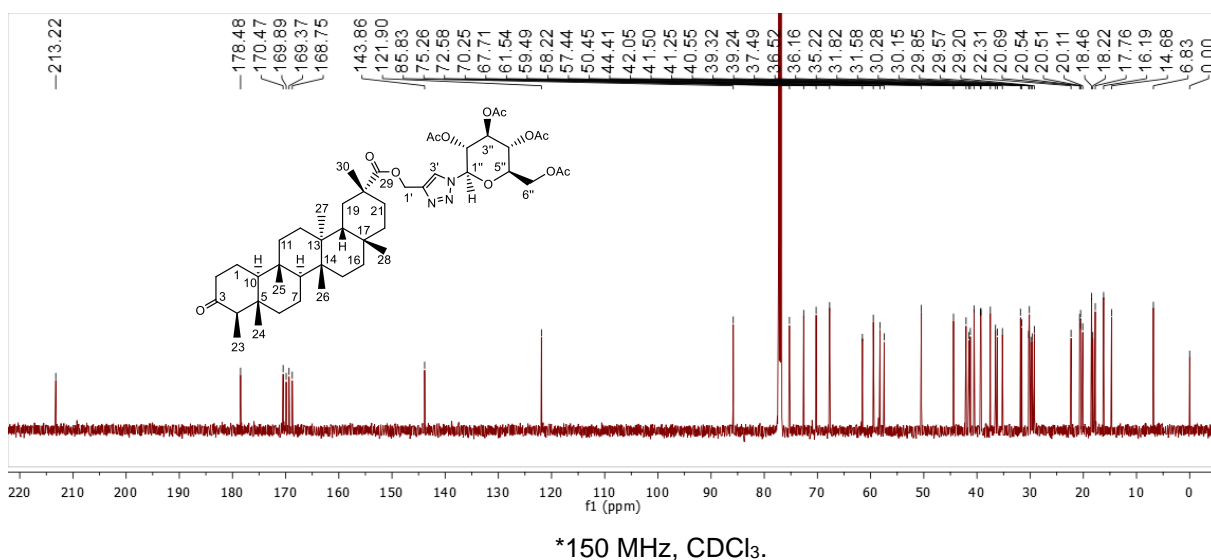


No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **S5a** (Figura 52, p. 108) foram observados sinais em  $\delta\text{c}$  143,9 e 121,9 relativos aos átomos de carbono C-2' e C-3' do anel triazólico, respectivamente. O sinal do carbono anomérico C-1'' da subunidade glicosídica apresentou deslocamento em  $\delta\text{c}$  85,8. A carbonila em C-3 da subunidade triterpênica

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

foi atribuída ao sinal com deslocamento em  $\delta_c$  213,2. Após análises detalhadas dos espectros 2D de RMN de **S5a** foi possível atribuir os deslocamentos para C-29 em  $\delta_c$  178,5 e as carbonilas dos grupos acetilas da subunidade glicosídica apresentaram deslocamentos entre  $\delta_c$  168,8-170,5. Os demais sinais referentes aos átomos de carbono da cadeia glicosídica apresentaram deslocamento em  $\delta_c$  75,3 (C-5''),  $\delta_c$  72,6 (C-3''),  $\delta_c$  70,3 (C-4''),  $\delta_c$  67,7 (C-2'') e  $\delta_c$  61,5 (C-6''). Os dados completos de RMN estão relatados na parte experimental (**Tabela 26, p. 86**) e os espectros e mapas de contornos encontram-se no Apêndice **U1**, p. 179

Figura 52. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}^*$  de **S5a**



As sínteses dos demais derivados glicosiltriazólicos foram realizadas a partir da mesma metodologia utilizada para a preparação de **S5a**. Foram obtidos, ao todo, dez derivados triterpênicos (**S5a-e** e **S6a-e**) e os dados e atribuições para os deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  de cada um deles se encontram descritos na **Tabela 26, p. 86** e **Tabela 27, p. 87**, e os espectros de RMN estão apresentados nos Apêndices **U**, p. 179, e **V**, p. 190.

## CAPÍTULO 2: DERIVADOS GLICOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

### 4 – CONSIDERAÇÕES PARA A SÍNTESE DOS DERIVADOS GLIGOSILTRIAZÓLICOS DE TRITERPENOS

Os derivados glicosiltriazólicos foram obtidos em três etapas partindo dos triterpenos naturais **P11** e **P12**. Inicialmente propôs-se a oxidação da mistura para a formação de **S1**, seguida da formação de dois derivados propargílicos, **S2** e **S3** e, por fim, a conjugação dos derivados propargílicos às azidas glicosídicas por meio de uma reação de cicloadição catalisada por Cu(I).

A etapa inicial consistiu na obtenção do derivado oxidado **S1**. Essa estratégia foi escolhida pois eliminou-se a necessidade de purificação da mistura de **P11** e **P12** e o grupo carboxila de **S1** permitiu a formação dos derivados propargílicos em condições mais brandas. Foi observado que o processo de oxidação de **P11** e **P12** não ocorreu quando utilizado  $\text{KMnO}_4$  como agente oxidante, o que já havia sido observado em outros estudos envolvendo essa classe de compostos, porém o produto **S1** foi obtido com 84% de rendimento ao trocar o agente oxidante por  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ .

Para a obtenção do derivado propargílico **S2** foi realizada uma substituição nucleofílica entre **S1** e brometo de propargila, sendo o produto obtido com 87% de rendimento. O derivado propargílico **S3** foi obtido a partir de uma reação de acoplamento entre **S1** e propargilamina. O reagente TBTU se mostrou como o reagente de acoplamento mais adequado para essa reação, pois levou à formação de **S3** com 93% de rendimento, ao passo que a reação utilizando DIC como reagente de acoplamento levou à formação de um subproduto indesejável, a *N*-acilureia **S7**, em uma proporção de aproximadamente 1:1 com **S3**.

A etapa final para a obtenção dos derivados glicosiltriazólicos consistiu na reação de cicloadição de Huisgen catalisada por Cu(I) entre os derivados propargílicos **S2** e **S3** e as glicosilazidas **S4a-5**. Foram obtidos, ao todo, dez derivados triterpênicos inéditos com rendimentos entre 44% e 88%.

Considerando as três etapas, os rendimentos globais para os derivados **S5a-e** variaram entre 32-57% e para os derivados **S6a-e** os rendimentos globais foram de 33-64%. Foram sintetizados, ao todo, quatorze derivados triterpênicos inéditos (**S2**, **S3**, **S5a-e**, **S6a-e**, **S7** e **S8**) sendo este o primeiro relato da obtenção de derivados de semissíntese para o triterpeno **S1** e o primeiro relato de síntese de derivados 1,2,3-triazólicos para triterpenos que apresentam esqueleto friedelânico.

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

### 1 – INTRODUÇÃO

Como citado anteriormente, o câncer é a segunda maior causa de óbitos no mundo, tendo sido responsável pela morte de 9,6 milhões de pessoas em 2018 de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). Ainda de acordo com a OMS, em 2018 foram diagnosticados mais de 18 milhões de novos casos pelo mundo. Somente no Brasil foram quase 560 mil novos casos e 244 mil mortes devido ao câncer (WHO, 2020). Dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimam que mais de 449 mil novos casos de câncer são esperados para o ano de 2020 no Brasil, sendo 2,4% desse total associados somente a novos casos de leucemia (INCA, 2020).

Neste contexto, a investigação do potencial citotóxico de produtos naturais tem grande destaque na descoberta de novos fármacos antitumorais. De acordo com o já citado levantamento realizado por Newman e Cragg (2020), de todos os fármacos utilizados no tratamento de câncer aprovados pelo FDA, cerca de 50% advém de fontes naturais.

As propriedades antitumorais de triterpenos pentacíclicos são possivelmente uma das atividades biológicas mais investigadas para essa classe de substâncias (POKORNY; URBAN, 2018). Como resultado da diversidade estrutural de triterpenos, eles podem agir em diversos alvos, como por exemplo induzir a apoptose a partir de vias intrínsecas e extrínsecas, promover necrose, inibir a angiogênese e a inflamação (GILL; KUMAR, 2016; PATLOLLA; RAO, 2012; ZHANG; MEN; LEI, 2014).

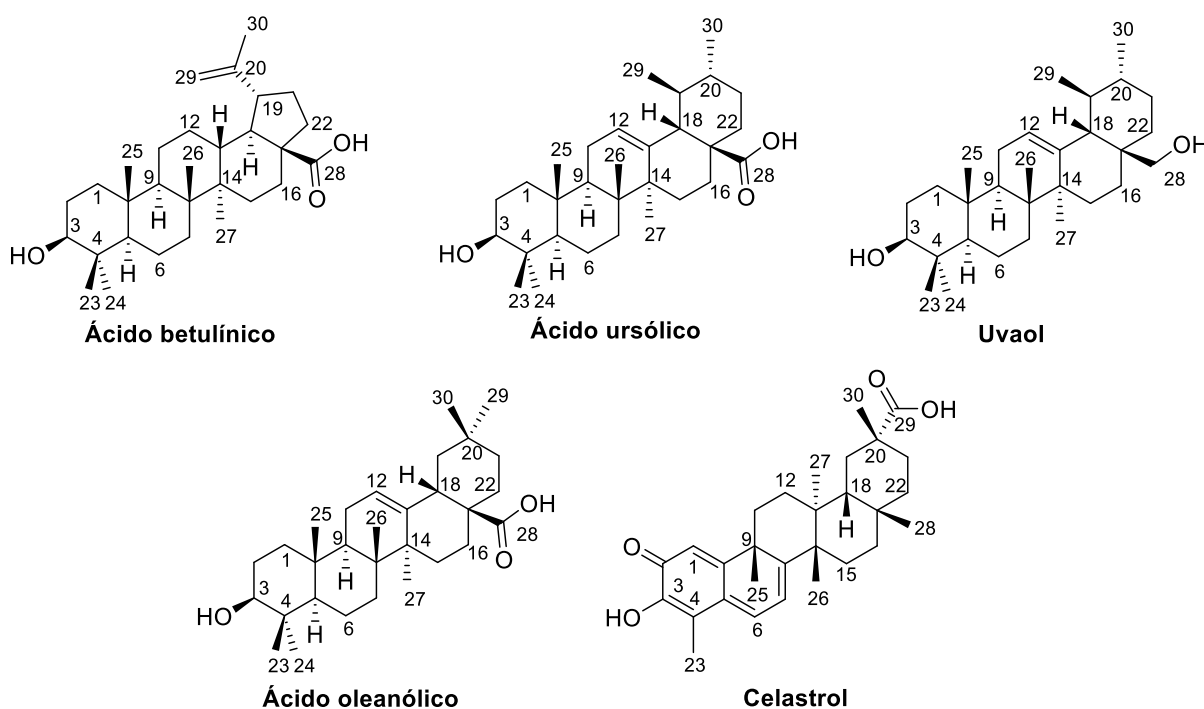
Um dos primeiros trabalhos envolvendo a investigação da atividade antitumoral de triterpenos pentacíclicos foi realizado por Trumbull e colaboradores (1976), que observaram uma maior taxa de sobrevivência em ratos com leucemia linfocítica P-388 quando realizaram diferentes tratamentos com os triterpenos ácido betulínico, ácido ursólico e uvaol (**Figura 53, p. 111**). Desde então, diversos estudos envolvendo o potencial citotóxico e antitumoral de triterpenos pentacíclicos vem sendo relatados (SALVADOR et al., 2017).

Dentre os triterpenos pentacíclicos naturais mais estudados quanto aos potenciais citotóxicos, se destacam o ácido betulínico (lupano), ácido ursólico (ursano), o ácido oleanólico (oleanano) e o celastrol (triterpeno quinonametideo de

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

esqueleto friedelânico) (**Figura 53**). Foram relatadas atividades citotóxicas em linhagens de células de câncer de próstata e mama para o ácido betulínico e ursólico (CHAO et al., 2018; SHANKAR et al., 2017; YIN et al., 2018; ZENG et al., 2018), em linhagens de células de câncer colorretal para o ácido oleanólico e celastrol (BUFU et al., 2018; NIU et al., 2017).

**Figura 53. Triterpenos pentacíclicos com atividade citotóxica**



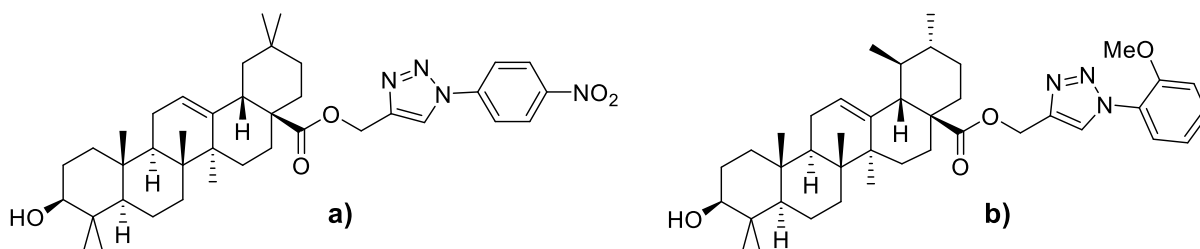
Derivados de semissíntese obtidos a partir de triterpenos pentacíclicos naturais ganharam grande destaque na investigação por novas substâncias citotóxicas devido às possibilidades de potencialização da atividade biológica e, como citado anteriormente, otimização de propriedades farmacocinéticas, como a solubilidade em água (PERON; MARZARO; DALL'ACQUA, 2019; ZHOU, M. et al., 2017). Como apresentado, um dos exemplos de grande destaque é a metil bardoxolona (**Figura 29, p. 61**), que chegou a ser avaliada em ensaios clínicos fase I em pacientes com tumores sólidos e linfoma em estágios avançados, e estudos recentes avaliaram o potencial citotóxico *in vitro* e *in vivo* desta substância frente a diferentes linhagens de células tumorais de leucemia, osteossarcoma e adenocarcinoma pulmonar (BORELLA et al., 2019).



### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Como destacado anteriormente, a ligação de outros grupos farmacofóricos a alguns dos triterpenos naturais mais ativos via reações *click* tem sido alvo de estudos de alguns grupos de pesquisa. Um derivado 1,2,3-triazólico do ácido oleanólico (**Figura 54a**) apresentou atividade citotóxica pelo menos 40 vezes superior em relação ao triterpeno natural frente a linhagens de células de melanoma e fibrosarcoma (WEI et al., 2015). Outro estudo relatou a síntese de derivados 1,2,3-triazólicos do ácido ursólico e um deles (**Figura 54b**) apresentou  $CI_{50}$  na ordem de 0,1  $\mu M$  para linhagens de células tumorais de pulmão, mama, cólon e leucemia com alto índice de seletividade (RASHID et al., 2013).

**Figura 54. Derivados triterpênicos 1,2,3-triazólicos com atividade citotóxica**



A leucemia é um tipo de câncer que ocorre em células imaturas da medula óssea e provoca um crescimento descontrolado de glóbulos brancos anormais. Dentre os diversos tipos de leucemia, os mais comuns são a leucemia linfóide crônica (LLC), leucemia mieloide crônica (LMC) e leucemia mieloide aguda (LMA), sendo este o segundo tipo de câncer mais incidente em crianças e adolescentes de 0-14 anos (WHO, 2020).

De acordo com a *Leukemia and Lymphoma Society*, uma organização não governamental e sem fins lucrativos dos Estados Unidos, o índice de sobrevivência de pacientes diagnosticados com LMC entre 2009-2015 naquele país foi de 69,7%, ao passo que pacientes com LMA apresentaram índice de sobrevivência de apenas 29,4% (LLS, 2019). Em virtude do sucesso nos tratamentos com o fármaco imatinibe, a LMC é uma doença muito menos letal que a LMA. No entanto, o surgimento de resistência ao imatinibe no tratamento de LMC (GUPTA et al., 2020) e a alta mortalidade observada para LMA têm servido de incentivo para a busca de novos candidatos a fármacos para o tratamento dessas doenças. Neste contexto os

### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

triterpenos pentacíclicos e derivados de semissíntese têm surgido como promissores candidatos.

Dentre os diversos estudos que avaliam a potencial antitumoral de triterpenos, muitos são relacionados às atividades citotóxicas frente a linhagens de células tumorais de leucemia. No trabalho de Waechter e colaboradores (2017), por exemplo, foi relatado um  $CI_{50}$  de 8,2  $\mu M$  para o ácido betulínico (**Figura 53, p. 111**) frente à linhagem de células K562 de LMC. Panucci e colaboradores (2016) relataram a atividade citotóxica para o ácido ursólico (**Figura 53, p. 111**) frente a células Jukart, uma linhagem de células de LMA, que apresentou  $CI_{50}$  de 10  $\mu M$ .

Os estudos apresentados relatam expressivas atividades citotóxicas tanto para triterpenos naturais, como para derivados semissintéticos, evidenciando um grande potencial dessas substâncias para a descoberta de novos fármacos para o tratamento da leucemia e outros tipos de câncer. Motivados pelos dados apresentados, foi proposta a investigação da atividade citotóxica *in vitro* para os triterpenos isolados de galhos e folhas de *C. cognatum*, bem como para os derivados glicosiltriazólicos e todos os demais intermediários triterpênicos obtidos neste trabalho, frente a linhagens de células de LMC (K562) e LMA (THP-1). Os triterpenos que apresentaram atividades mais expressivas foram avaliados quanto ao mecanismo de ação a partir de estudos de expressão gênica e mecanismos para indução da apoptose, por citometria de fluxo.

## **CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

### **2 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS**

Os testes para a investigação da citotoxicidade das amostras foram realizados no Laboratório de Hematologia Clínica coordenado pelo professor Adriano de Paula Sabino e as análises quimiométricas foram realizadas em colaboração com o professor Vinícius Gonçalves Maltarollo, coordenador do Laboratório de Modelagem Molecular, ambos da Faculdade de Farmácia da UFMG.

#### **2.1 – Cultura de células tumorais THP-1 e K562 e de células CMSP e WI-26 VA4**

As células mononucleares do sangue periférico (CMSP) foram obtidas a partir das amostras de sangue de três pacientes saudáveis por centrifugação em gradiente de densidade utilizando Ficoll-Paque (Sigma Diagnostics, Inc., Missouri, EUA). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>. As linhagens THP-1 (células de LMA, ATCC TIB-202), K562 (células de LMC, ATCC CRL-3343) e WI-26 VA4 (fibroblastos de pulmão humano, ATCC CCL-95.1) foram mantidas congeladas em criotubos com 5% de DMSO e meio de cultura RPMI-1640 com 10% de soro fetal bovino (SFB).

Para começar o cultivo, os conteúdos dos criotubos foram descongelados e transferidos para um tubo de centrífuga de 15 mL contendo 2 mL de meio RPMI-1640 com 10% SFB, e então submetidos à centrifugação de 800 rpm durante 5 minutos (CS- 6R, Beckman, EUA). Em seguida descartou-se o sobrenadante. A massa celular no fundo do tubo foi ressuspensa em 5 mL de meio de cultura. A suspensão celular foi transferida para uma garrafa plástica de cultivo celular T75 (75 cm<sup>2</sup>, volume de 250 mL) (Corning Costar Inc., EUA) e mantida em estufa (Thermo elétron, EUA) a 37 °C com atmosfera úmida de 5% de CO<sub>2</sub>. Após uma confluência de 80-90% realizou-se a manutenção da linhagem, no qual o meio foi trocado a cada 48 horas para garantir a renovação dos nutrientes.

Com o auxílio de um microscópio invertido (Olympus, CKX 41) foram observadas, a morfologia celular e a confluência. Quando as culturas apresentavam aproximadamente 80% de confluência fez-se um repique. As culturas foram transferidas para tubo de centrífuga de 15 mL e foram ressuspensas em 5 mL de meio RPMI-1640 com 10% SFB. Esse tubo foi centrifugado por 4 minutos a 800 rpm

## **CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

e seu sobrenadante descartado. A massa celular foi ressuspensa em 5 mL de meio de cultura novo. Desta suspensão de células foram retirados 50 µL para misturar com 50 µL de azul de Tripán para contagem manual de células viáveis em câmara de Neubauer. O azul de Tripán corou o citoplasma de células mortas possibilitando assim a contagem de células inviáveis. Posteriormente à contagem, a suspensão celular ( $5 \times 10^5$  células/100 µL por poço) foi distribuída em placas de 96 poços (Corning Costar Inc., EUA) para realização do ensaio de viabilidade celular.

### **2.2 – Ensaio de viabilidade celular utilizando MTT**

As linhagens THP-1, K562, CMSP e WI-26 VA4 foram cultivadas em placas de 96 poços contendo  $1 \times 10^7$  células por poço. Após o plaqueamento de células, as placas foram incubadas por 24h a 37 °C com atmosfera de 5% CO<sub>2</sub>. Em seguida, os poços foram lavados com meio de cultura e tratados com as amostras em concentrações decrescentes dos constituintes isolados e sintetizados (100, 10, 1, 0,1 µM) por um período de 48h. Poços sem os tratamentos foram utilizados como controle negativo. Como controles positivos foram utilizados os fármacos citarabina (Accord, São Paulo -SP), para a linhagem THP-1, e imatinibe (Libbs, São Paulo- SP), para a linhagem K562. Em seguida, 100 µL do reagente 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) na concentração de 5% m/v foram adicionados a cada poço e após três horas a 37 °C, DMSO foi adicionado para dissolver os cristais de formazan. A leitura da quantidade de azul de formazan formado foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 550 nm (Espectrofotômetro SpectraMax Plus – Molecular Devices, EUA).

A concentração que inibe 50% o crescimento das células (CI<sub>50</sub>) na presença dos compostos testados e dos controles positivos foi determinada em comparação com o controle negativo. O desvio padrão foi calculado com base nos valores obtidos em triplicatas. O índice de seletividade foi calculado a partir da relação entre os CI<sub>50</sub> obtidos para CMSP ou WI-26 VA4 e os CI<sub>50</sub> obtidos para cada tratamento com as linhagens tumorais.

### **2.3 – Ensaio de marcação por Anexina V e iodeto de propídeo (IP) para apoptose**

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Células THP-1 e K562 foram tratadas com os triterpenos **P3** e **P5**, na concentração do  $CI_{50}$ . Em seguida as células foram coletadas e lavadas com SFB. Após a centrifugação a 800 rpm, foi adicionado tampão de ligação 1X Anexina V às células, que foram posteriormente incubadas a 37 °C por 30 min com 2,5 µL de Anexina V e IP. A apoptose celular foi medida utilizando citometria de fluxo (Fortessa, BD Biosciences, EUA).

### 2.4 – Análise da expressão de mRNA

O RNA total foi extraído com o reagente Trizol LS (Invitrogen, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. O RNA foi quantificado utilizando espectrofotômetro Nanovue plus (GE Healthcare Life Sciences) e a qualidade avaliada por eletroforese em gel. O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado a partir de 1,5 µg de RNA em um volume total de 20 µL usando o kit de transcrição reversa com alta capacidade (Life Technologies®, Carlsbad, Califórnia, EUA).

A expressão gênica de TP53 (5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'; 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3') (XIAO et al., 2011), p21 (5'-TGAGCCGCGACTGTGATG-3'; 5'-GTCTCGGTGACAAAGTCGAATT-3') (YI et al., 2012), BAX (5'-TCTGGCCCTACAC-3'; 5'-ACAAACTGGCCCAACAGAAC-3') (CHEN et al., 2014) e BCL-2 (5'-TCCGCATCAGGAAGGCTAGA-3'; 5'-AGGACCAGGCCTCCAAGCT-3') (MICKE et al., 2006) foi quantificada por meio do método de PCR quantitativo (qPCR) usando o GAPDH como gene endógeno e o kit SYBR-Green PCR Master Mix® (Thermo Fisher Scientific Inc., Asheville, NC) de acordo com as instruções do fabricante. O ensaio de PCR em tempo real foi realizado em um termociclador StepOne Real-Time PCR System (Applied Biosystems) nas seguintes condições: 95 °C por 10 minutos, 40 ciclos de 15 segundos a 95 °C e 60 °C por 1 minuto. No final do processo, o estágio da curva de dissociação é aumentado (95 °C por 15 segundos).

### 2.5 – Análise estatística

Todos os valores foram expressos como média ± DP. Os valores de  $CI_{50}$  foram calculados usando o programa OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton,

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

MA, EUA). O teste *t* de Student foi usado para comparar os dados entre o grupo de controle e o grupo de teste. Os resultados da expressão gênica foram analisados por meio do programa "Sigma Stat" versão 2.03. Para os dados com distribuição normal foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. Utilizou-se ANOVA para comparação entre grupos, sendo realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Holm-Sidak.

### 2.5 – Análise quimiométrica

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) foi executada para agrupar os compostos com base em seus valores de atividades citotóxicas experimentais contra linhagens celulares THP-1 e K562, como um método de medição de similaridade biológica. A HCA foi realizada utilizando os valores das atividades citotóxicas para os triterpenos pentacíclicos isolados de galhos de *C. cognatum* (**P2**, **P3**, **P5**, **P8**, **P9**, **P11** e **P12**) como entrada. A distância euclidiana foi utilizada como método de medição para similaridade e método de ligação média.

A relação entre descritores moleculares e as atividades biológicas foi avaliada empregando a análise de componentes principais (PCA). Em seguida, os descritores físico-químicos e moleculares dos triterpenos **P2**, **P3**, **P5**, **P8**, **P9**, **P11** e **P12** foram calculados com o software PaDEL-descriptor (YAP, 2011). Nesta etapa, foram calculados 2.187 descritores e, em seguida, foram realizadas as seguintes estratégias de seleção de variáveis com base em trabalhos relatados anteriormente (MALTAROLLO et al., 2019; SOUZA et al., 2004; WEBER et al., 2006): (i) o peso de Fisher foi calculado para identificar os descritores com maior importância para distinguir os agrupamentos identificados na HCA ( $FW > 1$ ); (ii) os coeficientes de correlação de Pearson foram calculados para identificar as variáveis altamente correlacionadas ( $R > 0,80$ ) para ambos os valores experimentais; (iii) três variáveis foram selecionadas com altas correlações com atividades biológicas e baixas correlações entre si. Os três descritores foram escalonados automaticamente antes dos estudos de PCA. Tanto a HCA quanto o PCA foram realizados com o software Chemoface 1.63 (NUNES et al., 2012).

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

### 3 – RESULTADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

#### 3.1 – Atividade citotóxica *in vitro*

A atividade citotóxica foi avaliada de acordo com os valores obtidos de  $CI_{50}$  em  $\mu M$  para duas linhagens de células tumorais, THP-1 (LMA) e K562 (LMC), e duas linhagens de células saudáveis, CMSP (células mononucleares de sangue periférico) e WI-26 VA4 (fibroblastos de pulmão humano), e também pelo índice de seletividade (IS), que é a razão entre os valores de  $CI_{50}$  para as células saudáveis e os valores obtidos para as células tumorais nos diferentes tratamentos (**Tabela 30, p. 119**).

Todos os produtos naturais avaliados (substâncias com código **P**) exibiram efeitos citotóxicos moderados a elevados para as células tumorais. Os compostos **P8**, **P9**, **P13** e **P14** foram mais citotóxicos para a linhagem K562 do que para THP-1, enquanto **P11** e **P12** apresentaram maior citotoxicidade contra THP-1. Os triterpenos **P2**, **P3** e **P5** exibiram citotoxicidade semelhante para ambas as linhagens de células em cada tratamento. Os compostos **P3**, **P5** e **P13** apresentaram  $CI_{50}$  semelhante ou inferior aos valores observados para os controles positivos. Além disso, **P5** exibiu maior seletividade para as linhagens de células THP-1 do que o controle de citarabina e seletividade semelhante ao imatinibe para K562. **P13** apresentou índice de seletividade superior a ambos os controles. **P3**, **P5** e **P13** demonstraram valores de índice de seletividade comparáveis aos agentes quimioterápicos já utilizados em clínica. Os constituintes **P1**, **P4** e **P17**, as misturas de **P3** e **P4**, **P5** e **P6**, **P15** e **P16**, e os metabólitos primários **P7** e **P10** não foram avaliados neste experimento.

Estes resultados demonstram o potencial citotóxico dos produtos naturais testados, e estão em concordância com outros trabalhos que identificaram que alguns desses mesmos triterpenos agiram como inibidores da proliferação de células tumorais K562 e THP-1. Como exemplo, os resultados de  $CI_{50}$  e índice de seletividade obtidos por Aguilar e colaboradores (2020) para o composto **P2** frente à linhagem THP-1 foram semelhantes ao deste trabalho, porém  $CI_{50}$  contra células K562 foi quatro vezes menor. Para o composto **P5**, outro estudo mostrou que este triterpeno era cinco vezes menos citotóxico contra K562 em relação ao obtido neste trabalho, embora a seletividade não tenha sido relatada (GE et al., 2018). Morales e colaboradores (2020) relataram  $CI_{50}$  para **P8** duas e três vezes menores contra as

### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

linhagens K562 e THP-1, respectivamente. Reyes-Chilpa e colaboradores (2004) relataram que o composto **P9** não era citotóxico contra K562, embora tenha sido observado neste trabalho uma atividade citotóxica moderada contra esta mesma linhagem celular.

**Tabela 30. Valores de  $CI_{50}$  em  $\mu M$  para linhagens THP-1, K562, CMSP e WI-26 VA4 e índice de seletividade (IS)**

Substância	$CI_{50}$ ( $\mu M$ ) $\pm$ DP				IS <sup>c</sup>	
	THP-1 <sup>a</sup>	K562 <sup>b</sup>	CMSP	WI-26 VA4	THP-1	K562
<b>P2</b>	39,07 $\pm$ 2,93	38,52 $\pm$ 2,30	68,55 $\pm$ 3,90	ND	1,75	1,78
<b>P3</b>	15,75 $\pm$ 2,60	14,18 $\pm$ 1,43	55,20 $\pm$ 2,82	ND	3,50	3,89
<b>P5</b>	9,92 $\pm$ 0,82	8,45 $\pm$ 0,85	55,65 $\pm$ 3,02	ND	5,61	6,59
<b>P8</b>	35,85 $\pm$ 2,32	24,07 $\pm$ 1,52	75,40 $\pm$ 3,85	ND	2,10	3,13
<b>P9</b>	53,55 $\pm$ 3,90	43,71 $\pm$ 2,01	90,10 $\pm$ 5,10	ND	1,68	2,06
<b>P11</b>	26,35 $\pm$ 3,32	50,55 $\pm$ 3,62	92,55 $\pm$ 5,25	ND	3,50	1,83
<b>P12</b>	33,60 $\pm$ 2,26	64,75 $\pm$ 3,90	88,90 $\pm$ 4,68	ND	2,65	1,37
<b>P13</b>	13,06 $\pm$ 1,50	9,75 $\pm$ 1,04	68,62 $\pm$ 3,50	ND	5,25	7,03
<b>P14</b>	48,95 $\pm$ 4,31	21,40 $\pm$ 1,70	74,55 $\pm$ 3,30	ND	1,52	3,48
<b>S1</b>	36,22 $\pm$ 3,14	12,11 $\pm$ 1,85	66,42 $\pm$ 2,90	ND	1,83	5,48
<b>S2</b>	59,15 $\pm$ 2,61	62,82 $\pm$ 3,71	79,25 $\pm$ 3,66	ND	1,34	1,26
<b>S3</b>	21,80 $\pm$ 2,55	15,20 $\pm$ 1,85	68,65 $\pm$ 4,15	ND	3,15	4,51
<b>S5a</b>	88,02 $\pm$ 5,85	>300	ND	126,06 $\pm$ 4,64	1,43	ND
<b>S6a</b>	49,95 $\pm$ 2,80	78,95 $\pm$ 5,50	ND	142,85 $\pm$ 9,57	2,85	1,80
<b>S5b</b>	155,40 $\pm$ 9,75	>300	ND	136,34 $\pm$ 5,10	0,88	ND
<b>S6b</b>	61,42 $\pm$ 3,95	205,10 $\pm$ 12,30	ND	225,14 $\pm$ 10,55	3,66	1,10
<b>S5c</b>	25,90 $\pm$ 2,05	31,58 $\pm$ 2,12	ND	175,50 $\pm$ 8,95	6,77	5,56
<b>S6c</b>	>300	>300	ND	178,02 $\pm$ 5,85	ND	ND
<b>S5d</b>	120,90 $\pm$ 13,15	51,90 $\pm$ 3,10	ND	85,93 $\pm$ 6,50	0,71	1,66
<b>S6d</b>	>300	>300	ND	>300	ND	ND
<b>S5e</b>	>300	>300	ND	>300	ND	ND
<b>S6e</b>	165,50 $\pm$ 13,30	>300	ND	92,37 $\pm$ 6,54	0,55	ND
<b>S7</b>	90,90 $\pm$ 8,05	195,90 $\pm$ 7,40	ND	129,20 $\pm$ 5,80	1,42	0,65
<b>S8</b>	>300	>300	ND	>300	ND	ND
<b>Citarabina</b>	12,70 $\pm$ 1,20	ND	58,70 $\pm$ 3,76	ND	4,62	ND
<b>Imatinibe</b>	ND	10,50 $\pm$ 1,05	69,63 $\pm$ 3,13	ND	ND	6,63

ND: não determinado. <sup>a</sup> **P3**, **P5** e **P13** estatisticamente semelhantes ao controle citarabina. <sup>b</sup> **P5**, **P13** e **S1** estatisticamente semelhantes ao controle imatinibe. <sup>c</sup> IS calculado em relação ao  $CI_{50}$  obtido para CMSP ou WI-26 VA4.



### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Para os produtos de síntese (substâncias com código **S**) foi observado que, excetuando **S1**, **S3** e **S5c**, as demais amostras foram pouco ativas ou não apresentaram citotoxicidade detectável nas concentrações avaliadas.

O produto de síntese **S1**, o ácido populnônico, foi obtido a partir da oxidação da mistura de **P11** e **P12**, mas também pode ser encontrado a partir de fontes vegetais, como na espécie *Pleckia populnea* (MIRANDA et al., 2009). Comparado as estruturas de **P2** (friedelina), **P11** (29-hidroxifriedelan-3-ona) e **S1**, é possível inferir que substituintes na posição C-29 do triterpeno não afetaram significativamente o efeito citotóxico frente à linhagem THP-1. No entanto, para a linhagem K562, a presença da hidroxila em C-29, como observado em **P11**, parece ter afetado negativamente a atividade citotóxica, ao passo que a carboxila nessa mesma posição promoveu um aumento significativo na atividade, sendo possível observar que o  $Cl_{50}$  e IS para **S1** foram similares aos obtidos pelo controle positivo. É interessante observar que possivelmente a presença de um grupo hidroxila em C-29 pode estar associada à diminuição do potencial citotóxico. Comparando o valor de  $Cl_{50}$  de **P13** (acetato de 3-oxofriedelan-29-ila) com aquele obtido para o triterpeno não acetilado **P11**, a atividade citotóxica e a seletividade são muito superiores. Corroborando com essa hipótese, **P3** (friedelinol) apresentou citotoxicidade e seletividade superiores ao triterpeno **P12** (friedelano-3 $\beta$ ,29-diol).

Em relação aos intermediários **S2** e **S3**, o grupo propargila afetou negativamente a atividade citotóxica. Comparando com **S1**, observou-se uma diminuição na  $Cl_{50}$  em ambas as linhagens para **S2** e para K562 para **S3**. A função orgânica ligada ao grupo propargila também influenciou na atividade citotóxica. Para os triterpenos propargílicos foi observado que a função amida tornou a substância **S3** potencialmente mais citotóxica quando comparada ao análogo éster **S2**.

De todos os dez derivados glicosiltriazólicos obtidos, somente **S5c** apresentou um moderado  $Cl_{50}$ , porém com bons índices de seletividade. Pode-se inferir que possivelmente o aumento expressivo da massa molar dessas substâncias possa estar associado a uma brusca diminuição das atividades citotóxicas testadas.

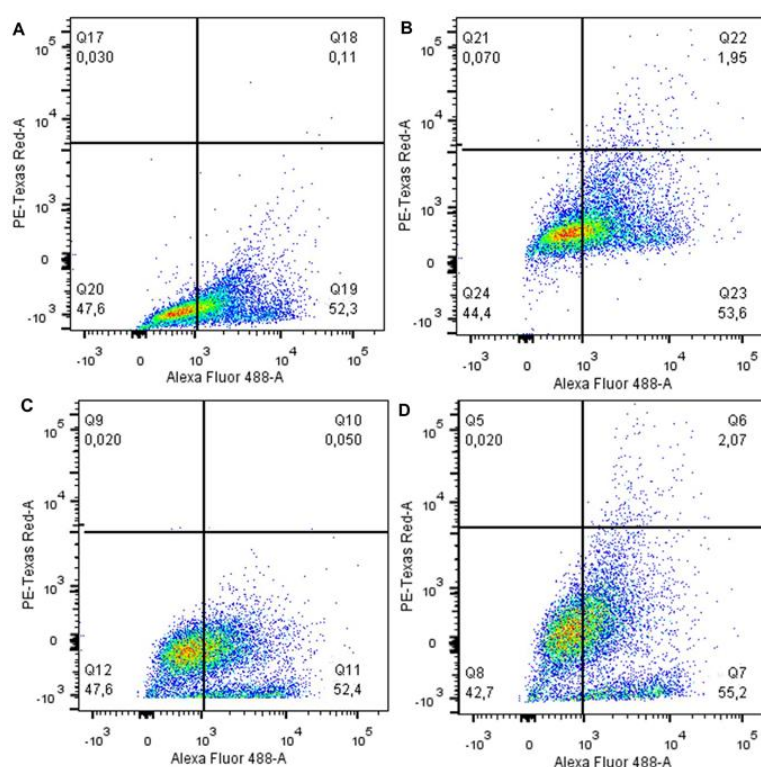
Como forma de se investigar o mecanismo de ação para as substâncias mais ativas, os triterpenos **P3** e **P5** foram avaliados quanto aos mecanismos de apoptose, a partir de estudos por citometria de fluxo, e quanto à expressão gênica de proteínas chave das vias apoptóticas celulares.

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

### 3.2 – Avaliação do mecanismo de ação para apoptose

Os mecanismos básicos da apoptose podem ser explorados para identificar novos alvos potenciais para o tratamento terapêutico de doenças que mostram um desequilíbrio entre a proliferação e a morte celular, como o câncer. Para determinar a porcentagem de morte celular por apoptose e necrose das linhagens THP-1 e K562, as células foram tratadas com os triterpenos **P3** e **P5**, seguidos da análise por citometria de fluxo. Na **Figura 55** é apresentada a porcentagem de células viáveis (quadrante inferior esquerda), células em apoptose inicial (quadrante inferior direita), células em apoptose tardia (quadrante superior direita) e células necróticas (quadrante superior esquerda) após 48 h de tratamento.

**Figura 55. Histogramas representativos de citometria de fluxo da avaliação da apoptose/necrose utilizando Anexina V e PI.**



A e B: histogramas da linhagem THP-1 após tratamento com **P3** (A) e **P5** (B) na  $Cl_{50}$ .

C e D: histogramas da linhagem K562 após tratamento com **P3** (C) e **P5** (D) na  $Cl_{50}$ .

A linhagem THP-1, quando tratada com **P3**, apresentou 47,60% de células viáveis, 52,30% na apoptose inicial e apenas 0,11% na apoptose tardia. Para o tratamento com **P5**, foram observadas 44,40% de células viáveis, 53,60% na apoptose

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

inicial e 1,95% na apoptose tardia. Para a linhagem K562 tratada com **P3**, 47,60% das células foram viáveis, 52,40% se apresentaram na apoptose inicial e apenas 0,05% na apoptose tardia. O tratamento da linhagem K562 com **P5** exibiu 42,70% de células viáveis, 55,20% da apoptose inicial e 2,07% da apoptose tardia. Os resultados evidenciam que ambos os triterpenos testados induzem a apoptose inicial em maior proporção dentre todas as células não viáveis.

Alguns triterpenos, como o ácido betulínico, ativam a apoptose agindo sobre a membrana mitocondrial mediada pela via intrínseca, promovendo um aumento da expressão de proteínas pró-apoptóticas, como a ativação do gene BAX, e suprimindo a expressão de genes antiapoptóticos como o BCL-2 (RZESKI et al., 2006). Os triterpenos ácidos ursólico e oleanólico também agem na regulação de genes da família BCL-2, induzindo apoptose em células tumorais a partir de vias apoptóticas dependentes da mitocôndria (KASSI et al., 2009; SHYU; KAO; YEN, 2010). Dessa forma, pode-se sugerir que os triterpenos **P3** e **P5** podem agir de forma semelhante aos triterpenos pentacíclicos citados, uma vez que compartilham algumas semelhanças químicas, como alta hidrofobicidade e a presença de um grupo hidroxila no carbono C-3, o que pode estar relacionado às suas atividades devido às interações estereoeletrônicas com um determinado alvo. Foram realizadas mais investigações sobre a expressão gênica e análise quimiométrica a fim de apoiar esta hipótese para **P3** e **P5**.

### 3.3 – Estudos da expressão gênica em células sobreviventes

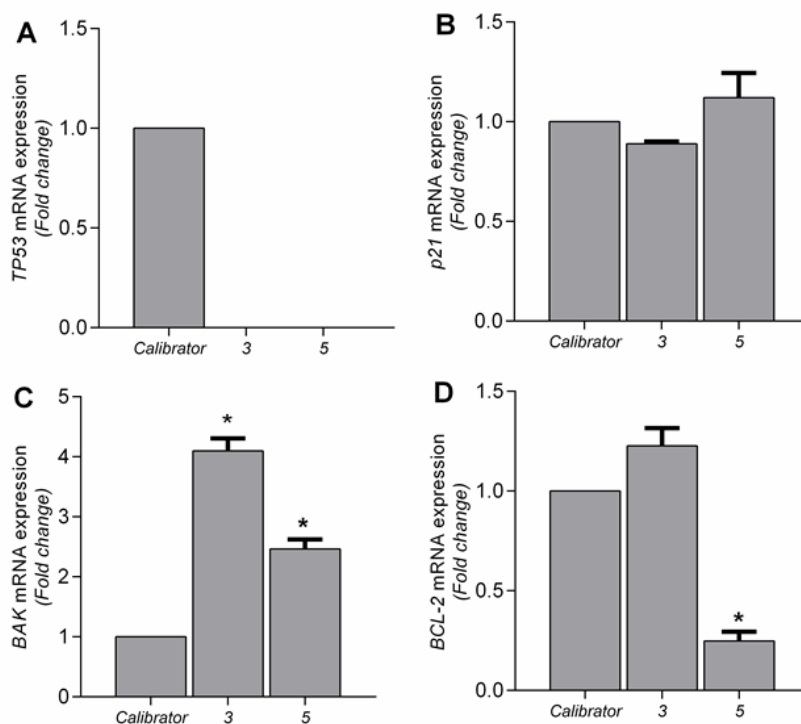
Existem diversos fatores que podem desencadear a apoptose, incluindo agentes quimioterápicos, danos ao DNA, choque térmico, privação dos fatores de crescimento, baixa quantidade de nutrientes e aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ZHANG; MEN; LEI, 2014). A fim de entender melhor a relação entre os danos ao DNA e a morte celular induzida pelos triterpenos **P3** e **P5**, foram realizadas reações de transcrição reversa qPCR para calcular a expressão relativa de mRNA dos genes p21, TP53, BCL-2 e BAK.

A resposta celular aos danos do DNA envolve a transcrição do gene TP53, responsável pela indução do ponto de controle G1/S de mitose, agindo na supressão tumoral (HU et al., 2013). As linhagens THP-1 (**Figura 56A, p. 123**) e K562 (**Figura**

### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

57A, p.124), quando tratadas com os triterpenos **P3** e **P5**, mostram uma deficiência na expressão do TP53, indicando uma via de ativação da apoptose independente das proteínas p53.

**Figura 56. Quantificação relativa dos genes TP53 (A), p21 (B), BAK (C) e BCL-2 (D) em células THP-1 nas concentrações do  $CI_{50}$  de P3 e P5**

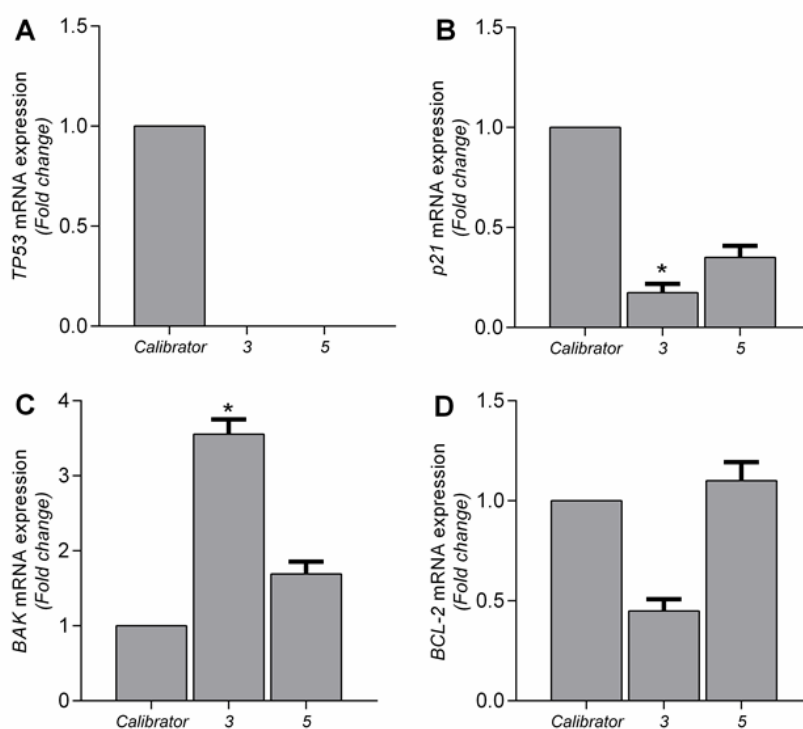


\* Valores significativamente diferentes do controle (\* p < 0,05).

Na linhagem THP-1, a expressão do gene p21 não apresentou diferença significativa em relação aos tratamentos com **P3** e **P5**. O alvo BAK, por outro lado, mostrou um aumento significativo na expressão de mRNA para ambos os triterpenos. **P3** promoveu um aumento da expressão gênica em até quatro vezes em relação às células sem tratamento. Quanto à expressão BCL-2, entretanto, foi observada uma redução significativa na expressão gênica para **P5**. Assim, o aumento no BAK e a diminuição no BCL-2 indicam um possível mecanismo de ativação da apoptose pela via intrínseca (GALLUZZI et al., 2018).

### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Figura 57. Quantificação relativa dos genes TP53 (A), p21 (B), BAK (C) e BCL-2 (D) em células K562 nas concentrações do  $CI_{50}$  de P3 e P5



\* Valores significativamente diferentes do controle (\*  $p < 0,05$ ).

Para a linhagem K562, o gene BCL-2 não apresentou diferença significativa em relação à sua expressão. O gene p21, em relação ao controle, obteve uma diminuição significativa para **P3**, e um aumento significativo na expressão do gene BAK. As proteínas p21, em células com deficiência na proteína p53 (associada ao gene TP53), estão associadas à promoção da tumorigênese e inibição da apoptose (AL BITAR; GALI-MUHTASIB, 2019). A atividade pró-apoptótica para as amostras testadas nas células K562 pode também estar relacionada à inibição do gene p21.

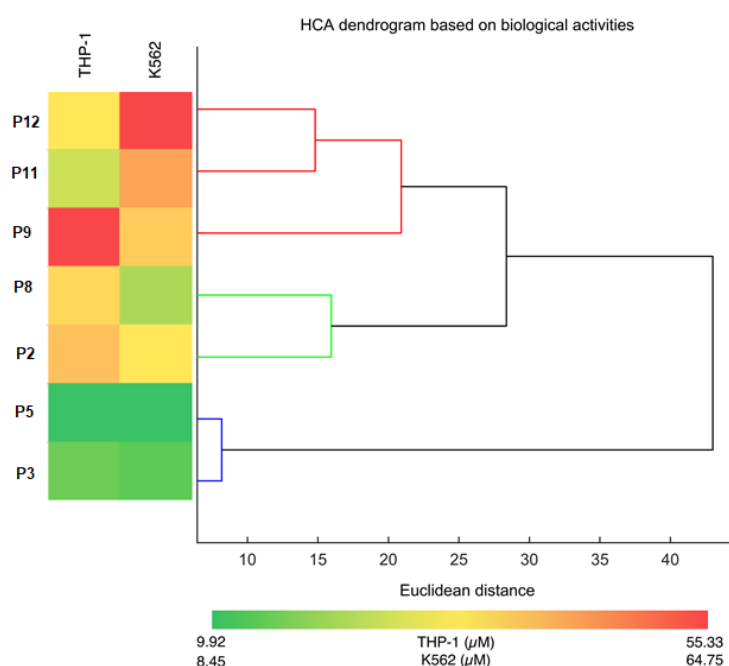
A ativação da via mitocondrial pode ser promovida a partir de danos irreversíveis ao DNA e quando fatores de sobrevivência, como a proteína BCL-2, envolvidos em vias antiapoptóticas são removidos (GHANTE; JAMKHANDE, 2019). Os dados sugerem que **P3** e **P5** induzem uma via de apoptose independente da proteína p53, mostrando que estes complexos possivelmente interferem com a replicação do DNA pela interação direta. Os resultados *in vitro* sugerem que esses triterpenos são um potencial protótipo de um agente antitumoral nocivo ao DNA tanto contra LMA quanto contra LMC.

## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

### 3.4 – Análise quimiométrica

Foram escolhidos os triterpenos mais ativos que foram isolados de galhos de *C. cognatum*, como forma de possibilitar a realização de um estudo quimiométrico que permitiu inferir importantes relações entre as estruturas químicas e as atividades para as substâncias testadas. Dois métodos de análise multivariada foram realizados para estabelecer uma relação entre a atividade citotóxica relatada para os triterpenoides e suas estruturas químicas. A análise de agrupamento hierárquico (HCA) agrupou amostras **P2, P3, P5, P8, P9, P11 e P12** por atividades citotóxicas contra ambas as linhagens celulares, e os descritores moleculares relacionados à análise de componentes principais (PCA) foram calculados a partir de sete amostras isoladas dos galhos. Vários estudos relataram abordagens quimiométricas similares para discriminar estruturas químicas de acordo com suas atividades biológicas, agrupando-as com base em seus descritores moleculares. Esta estratégia é útil para sugerir a relação entre as propriedades moleculares e as atividades biológicas. Portanto, a partir dessas análises é possível inferir um possível mecanismo de ação das amostras avaliadas ou a existência de um alvo molecular comum (MALTAROLLO et al., 2019; MOLFETTA et al., 2005; SAIDEMBERG; BAPTISTA-SAIDEMBERG; PALMA, 2011).

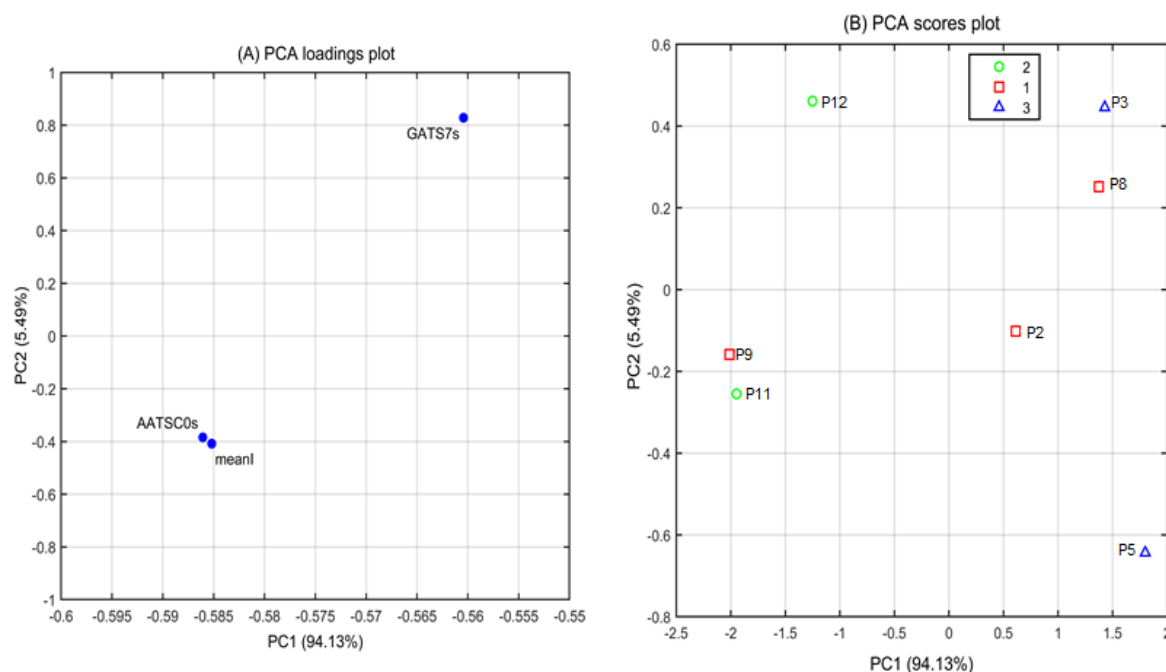
**Figura 58. Dendrograma da HCA a partir dos ensaios de atividade citotóxica**



### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Inicialmente, os estudos de HCA (**Figura 58**), foram executados utilizando atividades citotóxicas contra as linhagens de células THP-1 e K562 para agrupar os compostos **P2**, **P3**, **P5**, **P8**, **P9**, **P11** e **P12**. De acordo com o dendrograma as amostras foram agrupadas em três grandes grupos. Os valores experimentais mostraram que tanto o primeiro grupo (**P2**, **P8** e **P9**) quanto o segundo grupo (**P11** e **P12**) apresentam moléculas moderadamente ou pouco ativas. O terceiro grupo compreende **P3** e **P5**, que correspondem às moléculas mais ativas.

**Figura 59. (A) Gráfico de pesos do PCA (1: GATS7s, 2: meanI, 3: AATSC0s); (B) Gráfico de pontuação das amostras definido a partir do PCA.**



O PCA (**Figura 59**) indicou que o primeiro componente principal (PC1) reteve a maior quantidade de informação total (94,13%) e, portanto, teve a maior contribuição para a análise. Dos mais de 2000 descritores calculados, foram selecionados três descritores que eram mais adequados para os estudos PCA: autocorrelação Geary de lag 7 ponderada pelo estado de ionização (GATS7s); autocorrelação Broto-Moreau centralizada média de lag 0 ponderada pelo estado de ionização (AATSC0s); e *E-state* médio (meanI). GATS7s e AATSC0s são descritores de autocorrelação topológica baseados na energia de ionização dos átomos. Os GATS7s representam cadeias longas, e os AATSC0s estão centrados em um átomo. O descritor meanI é um descritor eletrotológico baseado no ambiente eletrônico dos átomos, que

### CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

representa a acessibilidade eletrônica responsável pelas interações intermoleculares (TODESCHINI; CONSONNI; MANNHOLD, 2009; TODESCHINI; CONSONNI, 2000).

O gráfico de pesos do PCA (**Figura 59A, p. 126**) mostrou que o GATS7s (1) tem as maiores contribuições para ambos os componentes principais, enquanto o meanI (2) e o AATSC0s (3) contribuíram mais negativamente para o PC2 (que reteve apenas 5,49% das informações). Assim, o eixo mais importante para agrupar as amostras analisadas é o PC1. Verificando o gráfico de pontuação do PCA (**Figura 59B, 126**), os triterpenos **P3** e **P5** foram separados dos TPs menos ativos ao longo do PC1. A única exceção é **P8**, localizado particularmente próximo ao **P3** no eixo PC1, devido à sua maior atividade citotóxica dentre as amostras do primeiro e segundo agrupamentos previstos pela HCA.

Todos os três descritores são eletronicamente relacionados entre si, sugerindo a importância das interações intermoleculares polares. Além disso, os dois primeiros descritores (GATS7s e AATSC0s) estão relacionados à topologia molecular, indicando também a importância do tamanho e da forma molecular para suas atividades antitumorais. No conjunto, tamanho molecular, estrutura do esqueleto carbônico e acessibilidade eletrônica sugerem indiretamente que existe uma relação entre as atividades citotóxicas a um alvo molecular a ser posteriormente estudado (MUKHERJEE; JAYARAM, 2013; TRIPATHI; BANKAITIS, 2017).



## CAPÍTULO 3: ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

### 4 – CONSIDERAÇÕES PARA O ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os triterpenos **P3**, **P5** e **P13** foram os mais ativos contra as linhagens celulares de leucemia THP-1 e K562. Eles exibiram atividade citotóxica e seletividade maior ou semelhante para ambas as linhagens de células LMA e LMC quando comparados aos controles. Os demais produtos naturais apresentaram citotoxicidade moderada. Para os produtos de síntese, **S1**, **S3** apresentaram toxicidade similar ao controle para a linhagem K562 de LMC, e toxicidade moderada para a linhagem THP-1. O derivado glicosiltriazólico **S5c** apresentou toxicidade moderada para ambas as linhagens e os demais produtos de síntese apresentaram baixa citotoxicidade.

Os histogramas de citometria de fluxo de **P3** e **P5** evidenciaram um aumento na porcentagem de células mortas no quadrante inferior direito, indicando morte por apoptose inicial. A avaliação da expressão de mRNA mostrou que ambas as linhagens celulares tiveram sua expressão gênica BAK aumentada e BCL-2 diminuída quando tratadas com os triterpenos **P3** e **P5**. Esses dados corroboram a hipótese de apoptose inicial por via mitocondrial-intrínseca.

De acordo com a análise quimiométrica para as substâncias isoladas de galhos de *C. cognatum*, as amostras avaliadas foram agrupadas com sucesso em dois grupos principais em relação aos seus valores de  $Cl_{50}$ , compostos ativos (**P3** e **P5**) e compostos moderadamente ou pouco ativos (**P2**, **P8**, **P9**, **P11** e **P12**). A seleção de variáveis seguida por PCA distinguiu esses grupos usando descritores moleculares que representam tamanho molecular, forma e disponibilidade eletrônica. Em conjunto, esses resultados sugerem, indiretamente, a importância do tamanho e forma molecular, bem como as interações intermoleculares realizadas pelo grupo hidroxila em C-3 como as principais características para as interações do ligante ao alvo molecular.

Estes resultados evidenciam que os triterpenos pentacíclicos correspondem a uma classe de produtos naturais promissora para a descoberta de novos medicamentos antitumorais. Investigações posteriores para a descoberta de alvos moleculares específicos são necessárias para que possam contribuir para o melhor entendimento do mecanismo de ação destes triterpenos em células tumorais.

## CONCLUSÃO

Neste estudo foi descrito o fracionamento dos extratos acetato etílico e metanólico de folhas e dos extratos hexânico, clorofórmico, acetato etílico e metanólico de galhos de *Cheiloclinium cognatum*, bem como a síntese de quatorze derivados triterpênicos inéditos. As substâncias isoladas e sintetizadas foram caracterizadas e avaliadas quanto ao potencial citotóxico frente à duas linhagens de células tumorais de leucemia.

A partir do estudo fitoquímico de folhas e galhos de *C. cognatum* foi possível a identificação de 17 substâncias, dentre elas dois compostos graxos (**P7** e **P10**), um esteroide (**P8**), um éster graxo de triterpeno (**P1**), nove triterpenos pentacíclicos, sendo eles seis friedelanos (**P2**, **P3**, **P9**, **P11**, **P12** e **P13**), um glutinano (**P4**), um ursano (**P5**) e um oleanano (**P6**), um flavonoide (**P14**), dois ácidos fenólicos (**P15** e **P16**) e uma xantona (**P17**). As substâncias **P4**, **P5**, **P6**, **P14**, **P15**, **P16** e **P17** foram isoladas pela primeira vez de espécies do gênero *Cheiloclinium*. É importante ressaltar que, a partir deste estudo, tanto folhas quanto galhos de *C. cognatum* revelaram ser importantes fontes vegetais de alguns metabólitos secundários em grande quantidade. Foram obtidos 1,64 g de canofilol (**P9**), 1,50 g de 29-hidroxifriedelan-3-ona (**P11**) e 1,29 g da mistura de **P11+P12** (3 $\beta$ ,29-dihidroxifriedelano), correspondendo, respectivamente, a 12,4%, 11,4% e 9,8% do extrato clorofórmico dos galhos. A xantona mangiferina (**P17**) também foi isolada em quantidades expressivas tanto de folhas quanto de galhos, sendo obtidos 3,1 g a partir do extrato metanólico de folhas (5,2% do extrato), 1,08 g do extrato acetato etílico de galhos (4,3% do extrato) e 7,8 g do extrato metanólico de galhos (13% do extrato).

Também neste trabalho foi realizada a síntese de 19 produtos, sendo 14 destes inéditos: os intermediários **S2**, **S3**, **S7** e **S8**; e dez derivados glicosiltriazólicos **S5a-e** e **S6a-e**. Os derivados glicosiltriazólicos foram obtidos em um total de três etapas a partir da mistura dos triterpenos naturais **P11** e **P12** e apresentaram rendimentos globais variando de 33 a 64%. Este é o primeiro relato de obtenção de derivados 1,2,3-triazólicos em triterpenos com esqueleto friedelânico.

No estudo de citotoxicidade, 25 substâncias, dentre produtos naturais e de síntese, foram avaliadas quanto ao potencial citotóxico frente às linhagens THP-1 de LMA e K562 de LMC. Todos os nove produtos naturais testados (**P2**, **P3**, **P5**, **P8**, **P9**,

## CONCLUSÃO

**P11**, **P12**, **P13** e **P14**) apresentaram citotoxicidade moderada a alta quando comparados aos controles positivos, com destaque para as substâncias mais ativas **P3**, **P5** e **P13**. Os produtos de síntese **S1** e **S3** apresentaram valores de  $CI_{50}$  próximos aos observados para os controles positivos e, dentre os produtos glicosiltriazólicos, o composto **S5c** apresentou moderada atividade frente a ambas as linhagens. Embora os produtos de síntese não resultaram em substâncias com grande potencial citotóxico frente às células tumorais de leucemia testadas, estudos futuros, tanto *in silico* quanto *in vitro* visarão avaliar o potencial leishmanicida e fungicida para estas substâncias.

O estudo dos mecanismos de ação da citotoxicidade realizado para os triterpenos **P3** e **P5** indicou um possível mecanismo de apoptose inicial promovido por vias mitocondriais intrínsecas, e estudos quimiométricos sugeriram que tanto a forma e o tamanho quanto a presença de um grupo hidroxila na posição C-3 podem estar associados à atividade citotóxica destas substâncias. Investigações posteriores em relação aos seus alvos moleculares específicos precisam ser realizadas como forma de melhor compreender mais detalhes do mecanismo molecular de ação destes triterpenos nas células tumorais.

Como perspectivas para o trabalho, visa-se realizar a desproteção dos grupos glicosídicos dos derivados triazólicos, bem como a avaliação do potencial antifúngico e antileishmania para todos os derivados de semissíntese.

## REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids**. Elsevier Science, 2013.
- AGUILAR, M. G.; SOUSA, G. F.; EVANGELISTA, F. C. G.; SABINO, A. P.; VIEIRA FILHO, S. A.; DUARTE, L. P. Imines and lactones derived from friedelanes and their cytotoxic activity. **Natural Product Research**, v. 34, n. 6, p. 810–815, 2020.
- ALVARENGA, N.; FERRO, E. A. Bioactive Triterpenes and Related Compounds from Celastraceae. In: R. Atta ur (Org.); **Studies in Natural Products Chemistry**. v. 33, p.239–307, 2006.
- ANDREÃO, P. S. S.; GIACOMINI, R. A.; STUMBO, A. M.; WALDMAN, W. R.; BRAZ FILHO, R.; LIGIÉRO, C. B. P.; MIRANDA, P. C. M. L. Utilização e recuperação de sílica gel impregnada com nitrato de prata. **Quimica Nova**, v. 33, n. 1, p. 212–215, 2010.
- ANJANEYULU, V.; RAVI, K. Terpenoids from *Euphorbia antiquorum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 6, p. 1695–1697, 1989.
- BEBENEK, E.; CHROBAK, E.; WIETRZYK, J.; KADELA, M.; CHROBAK, A.; KUSZ, J.; KSIAZEK, M.; JASTRZEBSKA, M.; BORYCZKA, S. Synthesis, structure and cytotoxic activity of acetylenic derivatives of betulonic and betulinic acids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1106, p. 210–219, 2016.
- BETANCOR, C.; FREIRE, R.; GONZALEZ, A. G.; SALAZAR, J. A.; PASCARD, C.; PRANGE, T. Three triterpenes and other terpenoids from *Catha cassinoides*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 9, p. 1989–1993, 1980.
- AL BITAR, S.; GALI-MUHTASIB, H. The Role of the Cyclin Dependent Kinase Inhibitor p21(cip1/waf1) in Targeting Cancer: Molecular Mechanisms and Novel Therapeutics. **Cancers**, v. 11, n. 10, p. 1475, 2019.
- BORELLA, R.; FORTI, L.; GIBELLINI, L.; DE GAETANO, A.; DE BIASI, S.; NASI, M.; COSSARIZZA, A.; PINTI, M. Synthesis and Anticancer Activity of CDDO and CDDO-Me, Two Derivatives of Natural Triterpenoids. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4097, 2019.
- BORI, I. D.; HUNG, H.-Y.; QIAN, K.; CHEN, C.-H.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LEE, K.-H. Anti-AIDS agents 88. Anti-HIV conjugates of betulin and betulinic acid with AZT prepared via click chemistry. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 15, p. 1987–1989, 2012.
- BUFU, T.; DI, X.; YILIN, Z.; GEGER, L.; XI, C.; LING, W. Celastrol inhibits colorectal cancer cell proliferation and migration through suppression of MMP3 and MMP7 by the

## REFERÊNCIAS

- PI3K/AKT signaling pathway. **Anti-cancer drugs**, v. 29, n. 6, p. 530–538, 2018.
- CHAO, W.; LIMIN, S.; CHENGYUE, Z.; WENJI, L.; RENYI, W.; YUE, G.; YUQING, Y.; AH-NG, K.; WANG, C.; SHU, L.; ZHANG, C.; LI, W.; WU, R.; GUO, Y.; YANG, Y.; KONG, A.-N. Histone Methyltransferase Setd7 Regulates Nrf2 Signaling Pathway by Phenethyl Isothiocyanate and Ursolic Acid in Human Prostate Cancer Cells. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 18, p. 1700840, 2018.
- CHEN, C.; MA, Q.; LIU, C.; DENG, P.; ZHU, G.; ZHANG, L.; HE, M.; LU, Y.; DUAN, W.; PEI, L.; LI, M.; YU, Z.; ZHOU, Z. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation impairs neurite outgrowth of embryonic neural stem cells. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, p. 5103, 2014.
- CHEN, J.; LI, W.; YAO, H.; XU, J. Insights into drug discovery from natural products through structural modification. **Fitoterapia**, v. 103, p. 231–241, 2015.
- CHIN, M. P.; BAKRIS, G. L.; BLOCK, G. A.; CHERTOW, G. M.; GOLDSBERRY, A.; INKER, L. A.; HEERSPINK, H. J. L.; O'GRADY, M.; PERGOLA, P. E.; WANNER, C.; WARNOCK, D. G.; MEYER, C. J. Bardoxolone Methyl Improves Kidney Function in Patients with Chronic Kidney Disease Stage 4 and Type 2 Diabetes: Post-Hoc Analyses from Bardoxolone Methyl Evaluation in Patients with Chronic Kidney Disease and Type 2 Diabetes Study. **American Journal of Nephrology**, v. 75063, n. 1, p. 40–47, 2018.
- COSTA, E. A.; SANTOS, L. R.; PONTES, I. S.; MATOS, L. G.; SILVA, G. A.; LIÃO, L. M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cheiloclinium cognatum* root barks. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 508–513, 2007.
- COUPERUS, P. A.; CLAGUE, A. D. H.; VAN DONGEN, J. P. C. M. Carbon-13 chemical shifts of some model carboxylic acids and esters. **Organic Magnetic Resonance**, v. 11, n. 12, p. 590–597, 1978.
- CSUK, R.; DEIGNER, H.-P. P. The potential of click reactions for the synthesis of bioactive triterpenes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 8, p. 949–958, 2019.
- CZOCHANSKA, Z.; FOO, L. Y.; NEWMAN, R. H.; PORTER, L. J. Polymeric proanthocyanidins. Stereochemistry, structural units, and molecular weight. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, , n. 0, p. 2278–2286, 1980.
- DAI, J.-J.; TAO, H.-M.; MIN, Q.-X.; ZHU, Q.-H. Anti-hepatitis B virus activities of friedelolactones from *Viola diffusa* Ging. **Phytomedicine**, v. 22, n. 7–8, p. 724–729,

## REFERÊNCIAS

2015.

DE-EKNAMKUL, W.; POTDUANG, B. Biosynthesis of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 389–398, 2003.

DICKER, I.; ZHANG, S.; RAY, N.; BENO, B. R.; REGUEIRO-REN, A.; JOSHI, S.; COCKETT, M.; KRYSTAL, M.; LATAILLADE, M. Resistance profile of the HIV-1 maturation inhibitor GSK3532795 in vitro and in a clinical study. **PLOS ONE**, v. 14, n. 10, p. e0224076, 2019.

DUARTE, L. P. Estudo químico, estrutural e da atividade antibacteriana de triterpenos pentacíclicos isolados dos galhos e raízes de *Austroplenckia populnea*. **Tese de Doutorado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.**, 2000.

DUARTE, L. P.; FIGUEIREDO, R. C.; SOUSA, G. F. DE; SOARES, D. B. DA S.; RODRIGUES, S. B. V.; SILVA, F. C.; SILVA, G. D. DE F.; VIEIRA FILHO, S. A. Chemical constituents of *Salacia elliptica* (Celastraceae). **Química Nova**, v. 33, p. 900–903, 2010.

DZUBAK, P.; HAJDUCH, M.; VYDRA, D.; HUSTOVA, A.; KVASNICA, M.; BIEDERMANN, D.; MARKOVA, L.; URBAN, M.; SAREK, J. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. **Natural Product Reports**, v. 23, n. 3, p. 394–411, 2006.

FOLKMAN, J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. **Nature Medicine**, v. 1, n. 1, p. 27–30, 1995.

FRAGA, B. M.; REINA, M.; LUIS, J. G.; RODRÍGUEZ, M. L. Rhoiptelenol and Rhoiptelenone, Two Pentacyclic Triterpenes from *Sideritis macrostachya*. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C**, v. 58, n. 9–10, p. 621–625, 2003.

FRANCO, L. L.; BRANDÃO, M. C.; FILHO, J. D. S.; ALVES, R. J. Síntese de N-glicosilsulfonamidas derivadas de D-glicose e N-acetilglicosamina. **Química Nova**, v. 38, n. 8, p. 1044–1052, 2015.

FUJIOKA, T.; KASHIWADA, Y.; KILKUSKIE, R. E.; COSENTINO, L. M.; BALLAS, L. M.; JIANG, J. B.; JANZEN, W. P.; CHEN, I.-S.; LEE, K.-H. Anti-AIDS Agents, 11. Betulinic Acid and Platanic Acid as Anti-HIV Principles from *Syzygium claviflorum*, and the Anti-HIV Activity of Structurally Related Triterpenoids. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 2, p. 243–247, 1994.

## REFERÊNCIAS

- GALLUZZI, L.; VITALE, I.; AARONSON, S. A.; ABRAMS, J. M.; ADAM, D.; AGOSTINIS, P.; ALNEMRI, E. S.; ALTUCCI, L.; AMELIO, I.; ANDREWS, D. W.; ANNICCHIARICO-PETRUZZELLI, M.; ANTONOV, A. V.; ARAMA, E.; BAEHRECKE, E. H.; BARLEV, N. A.; BAZAN, N. G.; BERNASSOLA, F.; BERTRAND, M. J. M.; BIANCHI, K.; et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. **Cell Death and Differentiation**, v. 25, n. 3, p. 486–541, 2018.
- GE, Y. C.; ZHANG, H. J.; LEI, J. X.; WANG, K. W. Chemical Constituents of *Viburnum odoratissimum* and Their Cytotoxic Activities. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 54, n. 3, p. 600–602, 2018.
- GHANTE, M. H.; JAMKHANDE, P. G. Role of Pentacyclic Triterpenoids in Chemoprevention and Anticancer Treatment: An Overview on Targets and Underling Mechanisms. **Journal of Pharmacopuncture**, v. 22, n. 2, p. 55–67, 2019.
- GHOSH, S. Biosynthesis of Structurally Diverse Triterpenes in Plants: the Role of Oxidosqualene Cyclases. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, v. 82, n. 4, p. 1189–1210, 2016.
- GILL, B. S.; KUMAR, S. Triterpenes in cancer: significance and their influence. **Molecular biology reports**, v. 43, n. 9, p. 881–896, 2016.
- GOMES, S. M. A.; SILVA, E. A. M. DA; LOMBARDI, J. A.; AZEVEDO, A. A.; VALE, F. H. A. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de Hippocrateoideae (Celastraceae) no Sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 945–961, 2005.
- GUPTA, P.; ZHANG, G.-N.; BARBUTI, A. M.; ZHANG, X.; KARADKHELKAR, N.; ZHOU, J.; DING, K.; PAN, J.; YOGANATHAN, S.; YANG, D.-H.; CHEN, Z.-S. Preclinical development of a novel BCR-ABL T315I inhibitor against chronic myeloid leukemia. **Cancer Letters**, v. 472, p. 132–141, 2020.
- HARRISON, L. J.; SIA, G. L.; SIM, K. Y.; TAN, H. T. W.; CONNOLLY, J. D.; LAVAUD, C.; MASSIOT, G. A ferulic acid ester of sucrose and other constituents of *Bhesa paniculata*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 6, p. 1497–1500, 1995.
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22–24, p. 2831–2846, 2007.
- HENNEH, I. T.; HUANG, B.; MUSAYEV, F. N.; HASHIMI, R. AL; SAFO, M. K.; ARMAH, F. A.; AMEYAW, E. O.; ADOKOH, C. K.; EKOR, M.; ZHANG, Y. Structural elucidation and in vivo anti-arthritic activity of  $\beta$ -amyrin and polpunonic acid isolated from the root

## REFERÊNCIAS

- bark of *Ziziphus abyssinica* Hochst Ex. A Rich (Rhamnaceae). **Bioorganic Chemistry**, v. 98, p. 103744, 2020.
- HERNANDES, C.; PEREIRA, A.; SEVERINO, P. Compounds From Celastraceae Targeting Cancer Pathways and Their Potential Application in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Review. **Current Genomics**, v. 18, n. 1, p. 60–74, 2016.
- HILL, R. A.; CONNOLLY, J. D. Triterpenoids. **Natural Product Reports**, v. 35, n. 12, p. 1294–1329, 2018.
- HONDA, T.; GRIBBLE, G. W.; SUH, N.; FINLAY, H. J.; ROUNDS, B. V.; BORE, L.; FAVALORO FRANK G.; WANG, Y.; SPORN, M. B. Novel Synthetic Oleanane and Ursane Triterpenoids with Various Enone Functionalities in Ring A as Inhibitors of Nitric Oxide Production in Mouse Macrophages. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1866–1877, 2000.
- HONDA, T.; ROUNDS, B. V.; BORE, L.; FINLAY, H. J.; FAVALORO FRANK G.; SUH, N.; WANG, Y.; SPORN, M. B.; GRIBBLE, G. W. Synthetic Oleanane and Ursane Triterpenoids with Modified Rings A and C: A Series of Highly Active Inhibitors of Nitric Oxide Production in Mouse Macrophages. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 22, p. 4233–4246, 2000.
- HONG, D. S.; KURZROCK, R.; SUPKO, J. G.; HE, X.; NAING, A.; WHEELER, J.; LAWRENCE, D.; EDER, J. P.; MEYER, C. J.; FERGUSON, D. A.; MIER, J.; KONOPLEVA, M.; KONOPLEV, S.; ANDREEFF, M.; KUFEL, D.; LAZARUS, H.; SHAPIRO, G. I.; DEZUBE, B. J. A phase I first-in-human trial of bardoxolone methyl in patients with advanced solid tumors and lymphomas. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 18, n. 12, p. 3396–3406, 2012.
- HU, W.; GE, Y.; OJCIUS, D. M.; SUN, D.; DONG, H.; YANG, X. F.; YAN, J. p53 signalling controls cell cycle arrest and caspase-independent apoptosis in macrophages infected with pathogenic *Leptospira* species. **Cellular Microbiology**, v. 15, n. 10, p. 1624–1659, 2013.
- INCA. Estatísticas de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 8/8/2020.
- JELLER, A. H.; SILVA, D. H. S.; LIÃO, L. M.; BOLZANI, V. DA S.; FURLAN, M. Antioxidant phenolic and quinonemethide triterpenes from *Cheiloclinium cognatum*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1977–1982, 2004.



## REFERÊNCIAS

- JIN, L.; TOLENTINO, D. R.; MELAIMI, M.; BERTRAND, G. Isolation of bis(copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne “click reaction”. **Science Advances**, v. 1, n. 5, p. 1–5, 2015.
- JUARISTI, E.; CUEVAS, G. Recent studies of the anomeric effect. **Tetrahedron**, v. 48, n. 24, p. 5019–5087, 1992.
- KANAMOTO, T.; KASHIWADA, Y.; KANBARA, K.; GOTOH, K.; YOSHIMORI, M.; GOTO, T.; SANO, K.; NAKASHIMA, H. Anti-human immunodeficiency virus activity of YK-FH312 (a betulinic acid derivative), a novel compound blocking viral maturation. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1225–1230, 2001.
- KANDA, H.; YAMAWAKI, K. Bardoxolone methyl: drug development for diabetic kidney disease. **Clinical and Experimental Nephrology**, v. 24, p. 857–864, 2020.
- KASHIWADA, Y.; HASHIMOTO, F.; COSENTINO, L. M.; CHEN, C.-H.; GARRETT, P. E.; LEE, K.-H. Betulinic Acid and Dihydrobetulinic Acid Derivatives as Potent Anti-HIV Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 1016–1017, 1996.
- KASSI, E.; SOURLINGAS, T. G.; SPILIOTAKI, M.; PAPOUTSI, Z.; PRATSINIS, H.; ALIGIANNIS, N.; MOUTSATSOU, P. Ursolic acid triggers apoptosis and Bcl-2 downregulation in MCF-7 breast cancer cells. **Cancer Investigation**, v. 27, n. 7, p. 723–733, 2009.
- KENYON, J.; PLATT, B. C. 143. The optical rotatory powers of (+)-[gamma]-methyl-n-heptane. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, p. 633–637, 1939.
- KHAN, I.; GURU, S. K.; RATH, S. K.; CHINTHAKINDI, P. K.; SINGH, B.; KOUL, S.; BHUSHAN, S.; SANGWAN, P. L. A novel triazole derivative of betulinic acid induces extrinsic and intrinsic apoptosis in human leukemia HL-60 cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 104–116, 2016.
- KIRBY, J.; KEASLING, J. D. Biosynthesis of Plant Isoprenoids: Perspectives for Microbial Engineering. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, n. 1, p. 335–355, 2009.
- KLASS, J.; TINTO, W. F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. Friedelane triterpenoids from *Peritassa compta*: Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C assignments by 2D nmr spectroscopy. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 11, p. 1626–1630, 1992.
- KONOPLEVA, M.; TSAO, T.; RUVOLO, P.; STIOUF, I.; ESTROV, Z.; LEYSATH, C. E.; ZHAO, S.; HARRIS, D.; CHANG, S.; JACKSON, C. E.; MUNSELL, M.; SUH, N.; GRIBBLE, G.; HONDA, T.; MAY, W. S.; SPORN, M. B.; ANDREEFF, M. Novel

## REFERÊNCIAS

- triterpenoid CDDO-Me is a potent inducer of apoptosis and differentiation in acute myelogenous leukemia. **Blood**, v. 99, n. 1, p. 326 LP – 335, 2002.
- KUMAR, R.; MAULIK, P. R.; MISRA, A. K. Significant rate accelerated synthesis of glycosyl azides and glycosyl 1,2,3-triazole conjugates. **Glycoconjugate Journal**, v. 25, n. 7, p. 595–602, 2008.
- KUMAR, R.; TIWARI, P.; MAULIK, P. R.; MISRA, A. K. A generalized procedure for the one-pot preparation of glycosyl azides and thioglycosides directly from unprotected reducing sugars under phase-transfer reaction conditions. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 74–79, 2006.
- LI, J. J.; YANG, J.; LÜ, F.; QI, Y. T.; LIU, Y. Q.; SUN, Y.; WANG, Q. Chemical constituents from the stems of *Celastrus orbiculatus*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 4, p. 279–283, 2012.
- LI, Y.; PENG, G.; LI, Q.; WEN, S.; HSUN-WEI HUANG, T.; ROUFOGALIS, B. D.; YAMAHARA, J. *Salacia oblonga* improves cardiac fibrosis and inhibits postprandial hyperglycemia in obese zucker rats. **Life Sciences**, v. 75, n. 14, p. 1735–1746, 2004.
- LIAO, L. M.; SILVA, G. A.; MONTEIRO, M. R.; ALBUQUERQUE, S. Trypanocidal activity of quinonemethide triterpenoids from *Cheiloclinium cognatum* (Hippocrateaceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 63, n. 3–4, p. 207–210, 2008.
- LLS. Facts and Statistics of the Leukemia and Lymphoma society. Disponível em: <<https://www.lls.org/facts-and-statistics/facts-and-statistics-overview/facts-and-statistics#Leukemia>>. Acesso em: 8/8/2020.
- LODEIRO, S.; XIONG, Q.; WILSON, W. K.; KOLESNIKOVA, M. D.; ONAK, C. S.; MATSUDA, S. P. T. An Oxidosqualene Cyclase Makes Numerous Products by Diverse Mechanisms: A Challenge to Prevailing Concepts of Triterpene Biosynthesis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 36, p. 11213–11222, 2007.
- LU, C.-H.; ZHANG, J.-X.; GAN, F.-Y.; SHEN, Y.-M. Chemical constituents of the suspension cell cultures of *Maytenus hookeri*. **Acta Botanica Sinica**, v. 44, n. 5, p. 603–610, 2002.
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. <sup>13</sup>C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517–1575, 1994.
- MAJEED, R.; SANGWAN, P. L.; CHINTHAKINDI, P. K.; KHAN, I.; DANGROO, N. A.;

## REFERÊNCIAS

- THOTA, N.; HAMID, A.; SHARMA, P. R.; SAXENA, A. K.; KOUL, S. Synthesis of 3-O-propargylated betulinic acid and its 1,2,3-triazoles as potential apoptotic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, p. 782–792, 2013.
- MALTAROLLO, V. G.; RESENDE, M. F. DE; KRONENBERGER, T.; LINO, C. I.; SAMPAIO, M. C. P. D.; PITTA, M. G. DA R.; RÊGO, M. J. B. DE M.; LABANCA, R. A.; OLIVEIRA, R. B. DE. In vitro and in silico studies of antioxidant activity of 2-thiazolylhydrazone derivatives. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 86, p. 106–112, 2019.
- MANNINA, L.; LUCHINAT, C.; PATUMI, M.; EMANUELE, M. C.; ROSSI, E.; SEGRE, A. Concentration dependence of <sup>13</sup>C NMR spectra of triglycerides: implications for the NMR analysis of olive oils. **Magnetic resonance in chemistry**, v. 38, n. 10, p. 886–890, 2000.
- MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 8, p. 2952–3015, 2008.
- MICKE, P.; OHSHIMA, M.; TAHMASEBPOOR, S.; REN, Z.-P.; ÖSTMAN, A.; PONTÉN, F.; BOTLING, J. Biobanking of fresh frozen tissue: RNA is stable in nonfixed surgical specimens. **Laboratory Investigation**, v. 86, n. 2, p. 202–211, 2006.
- MIRANDA, R. R. S. DE; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; VIEIRA FILHO, S. A.; CARVALHO, P. B. DE; MESSAS, A. C. Evaluation of antibacterial activity of “Mangabarana” *Austroplenckia populnea* Reissek (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 370–375, 2009.
- MIRANDA, R. R. S.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; FORTES, I. C. P.; FILHO, S. A. V. Structural determination of 3 $\beta$ -stearoyloxy-urs-12-ene from *Maytenus salicifolia* by 1D and 2D NMR and quantitative <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 127–131, 2006.
- MOKOKA, T. A.; MCGAW, L. J.; MDEE, L. K.; BAGLA, V. P.; IWALEWA, E. O.; ELOFF, J. N. Antimicrobial activity and cytotoxicity of triterpenes isolated from leaves of *Maytenus undata* (Celastraceae). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 111–119, 2013.
- MOLFETTA, F. A.; BRUNI, A. T.; HONÓRIO, K. M.; DA SILVA, A. B. F. A structure–activity relationship study of quinone compounds with trypanocidal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 4, p. 329–338, 2005.
- MOO-PUC, J. A.; MARTÍN-QUINTAL, Z.; MIRÓN-LÓPEZ, G.; MOO-PUC, R. E.;

## REFERÊNCIAS

- QUIJANO, L.; MENA-REJÓN, G. J. Isolation and antitrichomonal activity of the chemical constituents of the leaves of *Maytenus phyllanthoides* benth. (Celastraceae). **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 85–88, 2014.
- MORALES, S.; AGUILAR, M.; PEREIRA, R.; DUARTE, L.; SOUSA, G.; OLIVEIRA, D.; EVANGELISTA, F.; SABINO, A.; VIANA, R.; ALVES, V.; VIEIRA-FILHO, S. Constituents from root of *Maytenus distichophylla*, antimicrobial activity and toxicity for cell and *Caenorhabditis elegans*. **Química Nova**, v. 43, n. 8, p. 1066–1073, 2020.
- MOUJIR, L.; R. LÓPEZ, M.; P. REYES, C.; JIMÉNEZ, I. A.; L. BAZZOCCHI, I. Structural Requirements for Antimicrobial Activity of Phenolic Nor-Triterpenes from Celastraceae Species. **Applied Sciences**, v. 9, n. 15, p. 2957–2967, 2019.
- MUKHERJEE, G.; JAYARAM, B. A rapid identification of hit molecules for target proteins via physico-chemical descriptors. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 15, n. 23, p. 9107–9116, 2013.
- NAKAJIMA, N.; IKADA, Y. Mechanism of Amide Formation by Carbodiimide for Bioconjugation in Aqueous Media. **Bioconjugate Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 123–130, 1995.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.
- NIU, G.; SUN, L.; PEI, Y.; WANG, D. Oleanolic acid inhibits colorectal cancer angiogenesis by blocking the VEGFR2 signaling pathway. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, v. 18, n. 4, p. 583–590, 2017.
- NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003–2010, 2012.
- NÚÑEZ, M. J.; ARDILES, A. E.; MARTÍNEZ, M. L.; TORRES-ROMERO, D.; JIMÉNEZ, I. A.; BAZZOCCHI, I. L. Triterpenoids from *Cassine xylocarpa* and *Celastrus vulcanicola* (Celastraceae). **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 1, p. 148–151, 2013.
- OLDFIELD, E.; LIN, F.-Y. Terpene Biosynthesis: Modularity Rules. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 5, p. 1124–1137, 2012.
- DE OLIVEIRA, D. M.; SILVA, G. D. DE F.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Chemical constituents isolated from roots of *Maytenus acanthophylla* Reissek (Celastraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, n. 8, p. 661–665,

## REFERÊNCIAS

2006.

PANUCCI, R. K. I.; MELLITTO, A.; OLIVEIRA, C. R.; MARIN, W. M.; BINCOLETTI, C. In vitro Study of Anti-Leukemic Potential of Ursolic Acid in Jurkat Cell Line. **Journal of Clinical & Experimental Oncology**, v. 5, n. 3, p. 1–3, 2016.

PATLOLLA, J. M. R.; RAO, C. V. Triterpenoids for cancer prevention and treatment: current status and future prospects. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 147–155, 2012.

PEREIRA, R. C. G. Estudo químico e biológico dos extratos hexânico e clorofórmico de folhas de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm. (Celastraceae) e avaliação do perfil de fragmentação de seus triterpenos friedelânicos por APCI-IT-TOF. **Dissertação de Mestrado. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG**, 2015.

PEREIRA, R. C. G.; SOARES, D. C. F.; OLIVEIRA, D. C. P.; DE SOUSA, G. F.; VIEIRA-FILHO, S. A.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; LULA, I.; SILVA-CUNHA, A.; DUARTE, L. P. Triterpenes from leaves of *Cheiloclinium cognatum* and their in vivo antiangiogenic activity. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 360–366, 2018.

PERGOLA, P. E.; RASKIN, P.; TOTO, R. D.; MEYER, C. J.; HUFF, J. W.; GROSSMAN, E. B.; KRAUTH, M.; RUIZ, S.; AUDHYA, P.; CHRIST-SCHMIDT, H.; WITTES, J.; WARNOCK, D. G. Bardoxolone Methyl and Kidney Function in CKD with Type 2 Diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 4, p. 327–336, 2011.

PERLIKOVA, P.; KVASNICA, M.; URBAN, M.; HAJDUCH, M.; SAREK, J. 2-Deoxyglycoside Conjugates of Lupane Triterpenoids with High Cytotoxic Activity - Synthesis, Activity, and Pharmacokinetic Profile. **Bioconjugate Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 2844–2858, 2019.

PERON, G.; MARZARO, G.; DALL'ACQUA, S. Known Triterpenes and their Derivatives as Scaffolds for the Development of New Therapeutic Agents for Cancer. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 10, p. 1259–1269, 2019.

POKORNY, J.; URBAN, L. B. AND M. Click Reactions in Chemistry of Triterpenes - Advances Towards Development of Potential Therapeutics. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 636–658, 2018.

RAGA, D. D.; DIEZMOS, M. L. S.; ORANTIA, A. C. C.; LO, M. J. A.; EVANGELISTA, J. C. P.; KIM, S. H.; SHEN3, C.-C.; RAGASA, C. Y. Analgesic triterpenes from *Ardisia*

## REFERÊNCIAS

- cf. Elliptica* (Subgenus: *Tinus*) (Myrsinaceae). **Der Pharma Chemica**, v. 6, n. 4, p. 153–161, 2014.
- RAJPUT, J.; HOTH, S.; VANGALA, M. AuBr<sub>3</sub>-catalyzed azidation of per-O-acetylated and per-O-benzoylated sugars. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 14, p. 682–687, 2018.
- RASHID, S.; DAR, B. A.; MAJEED, R.; HAMID, A.; BHAT, B. A. Synthesis and biological evaluation of ursolic acid-triazolyl derivatives as potential anti-cancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 66, p. 238–245, 2013.
- REYES-CHILPA, R.; ESTRADA-MUÑIZ, E.; RAMÍREZ APAN, T.; AMEKRAZ, B.; AUMELAS, A.; JANKOWSKI, C. K.; VÁZQUEZ-TORRES, M. Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. **Life Sciences**, v. 75, n. 13, p. 1635–1647, 2004.
- RODRIGUES, A. C. B. DA C.; OLIVEIRA, F. P. DE; DIAS, R. B.; SALES, C. B. S.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; COSTA, E. V.; SILVA, F. M. A. DA; ROCHA, W. C.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P. In vitro and in vivo anti-leukemia activity of the stem bark of *Salacia impressifolia* (Miers) A. C. Smith (Celastraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 516–524, 2019.
- RODRIGUES, V. G.; DUARTE, L. P.; SILVA, R. R.; SILVA, G. D. F.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; TAKAHASHI, J. A.; MATILDES, B. L. G.; FONSECA, T. H. S.; GOMES, M. A.; VIEIRA FILHO, S. A. *Salacia crassifolia* (Celastraceae): Chemical constituents and antimicrobial activity. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 237–242, 2015.
- RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, D.; DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; CSUK, R.; HELLER, L. Hederagenin as a triterpene template for the development of new antitumor compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 105, p. 57–62, 2015.
- ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 14, p. 2596–2599, 2002.
- RZESKI, W.; STEPULAK, A.; SZYMAŃSKI, M.; SIFRINGER, M.; KACZOR, J.; WEJKSZA, K.; ZDZISIŃSKA, B.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M. Betulinic acid decreases expression of bcl-2 and cyclin D1, inhibits proliferation, migration and induces apoptosis in cancer cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of**

## REFERÊNCIAS

**Pharmacology**, v. 374, n. 1, p. 11–20, 2006.

SAIDEMBERG, D. M.; BAPTISTA-SAIDEMBERG, N. B.; PALMA, M. S. Chemometric analysis of *Hymenoptera* toxins and defensins: A model for predicting the biological activity of novel peptides from venoms and hemolymph. **Peptides**, v. 32, n. 9, p. 1924–1933, 2011.

SALAZAR, G. C. M.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A.; LULA, I. S. Two epimeric friedelane triterpenes isolated from *Maytenus truncata* Reiss: <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C chemical shift assignments. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, n. 11, p. 977–980, 2000.

SALVADOR, J. A. R.; LEAL, A. S.; VALDEIRA, A. S.; GONÇALVES, B. M. F.; ALHO, D. P. S.; FIGUEIREDO, S. A. C.; SILVESTRE, S. M.; MENDES, V. I. S. Oleanane-, ursane-, and quinone methide friedelane-type triterpenoid derivatives: Recent advances in cancer treatment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 95–130, 2017.

SANTOS, J. P. DOS; OLIVEIRA, W. X. C.; VIEIRA-FILHO, S. A.; PEREIRA, R. C. G.; SOUZA, G. F. DE; GOUBEIA, V. A.; SABINO, A. DE P.; EVANGELISTA, F. C. G.; TAKAHASHI, J. A.; MOURA, M. A. F.; ALMEIDA, F. B.; DUARTE, L. P. Phytochemical and biological studies of constituents from roots of *Salacia crassifolia* (Celastraceae). **Quimica Nova**, v. 43, p. 558–567, 2020.

SAREK, J.; KVASNICA, M.; VLK, M.; URBAN, M.; DZUBAK, P.; HAJDUCH, M. The Potential of Triterpenoids in the Treatment of Melanoma. In: M. Murph (Org.); **Research on Melanoma - A Glimpse into Current Directions and Future Trends**. p.428, 2011. BoD – Books on Demand.

SHAHAT, A. A.; HASSAN, R. A.; NAZIF, N. M.; VAN MIERT, S.; PIETERS, L.; HAMMUDA, F. M.; VLIETINCK, A. J. Isolation of mangiferin from *Bombax malabaricum* and structure revision of shamimin. **Planta medica**, v. 69, n. 11, p. 1068–1070, 2003.

SHANKAR, E.; ZHANG, A.; FRANCO, D.; GUPTA, S. Betulinic Acid - Mediated Apoptosis in Human Prostate Cancer Cells Involves p53 and Nuclear Factor-Kappa B (NF-kB) Pathways. **Molecules**, v. 22, n. 264, p. 1–14, 2017.

SHASTRY, V.; HALDANKAR, A.; KADAM, N. HPLC Estimation of Mangiferin in *Salacia chinensis* Linn. **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 9, p. 6679–6682, 2009.

SHEEHAN, J. C.; HESS, G. P. A New Method Of Forming Peptide Bonds. **Journal of**

## REFERÊNCIAS

- American Chemical Society**, v. 77, n. 4, p. 1067–1068, 1955.
- SHYU, M. H.; KAO, T. C.; YEN, G. C. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in HuH7 human hepatocellular carcinoma cells through a mitochondrial-dependent pathway and downregulation of XIAP. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6110–6118, 2010.
- SILVA, F. C.; RODRIGUES, V. G.; DUARTE, L. P.; LULA, I. S.; SINISTERRA, R. D.; VIEIRA-FILHO, S. A.; RODRIGUES, R. A. L.; KROON, E. G.; OLIVEIRA, P. L.; FARIAS, L. M.; MAGALHÃES, P. P.; SILVA, G. D. F. Antidiarrheal activity of extracts from *Maytenus Gonoclada* and inhibition of Dengue Virus by lupeol. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1555–1564, 2017.
- SIMMONS, M. P.; CAPPA, J. J.; ARCHER, R. H.; FORD, A. J.; EICHSTEDT, D.; CLEVINGER, C. C. Phylogeny of the Celastreae (Celastraceae) and the relationships of *Catha edulis* (qat) inferred from morphological characters and nuclear and plastid genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, n. 2, p. 745–757, 2008.
- SMITH, P. F.; OGUNDELE, A.; FORREST, A.; WILTON, J.; SALZWEDEL, K.; DOTO, J.; ALLAWAY, G. P.; MARTIN, D. E. Phase I and II study of the safety, virologic effect, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of single-dose 3-o-(3',3'-dimethylsuccinyl)betulinic acid (bevirimat) against human immunodeficiency virus infection. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 10, p. 3574–3581, 2007.
- SOUZA, J.; MOLFETTA, F. A.; HONÓRIO, K. M.; SANTOS, R. H. A.; DA SILVA, A. B. F. A study on the antipicornavirus activity of flavonoid compounds (flavones) by using quantum chemical and chemometric methods. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 44, n. 3, p. 1153–1161, 2004.
- THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene Biosynthesis in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, n. 1, p. 225–257, 2014.
- TODESCHINI, R.; CONSONNI, V. **Handbook of Molecular Descriptors**. Wiley, 2000.
- TODESCHINI, R.; CONSONNI, V.; MANNHOLD, R. **Molecular Descriptors for Chemoinformatics, 2 Volume Set: Volume I: Alphabetical Listing / Volume II: Appendices, References**. 2<sup>o</sup> ed. Wiley, 2009.
- TORNØE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(i)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of



## REFERÊNCIAS

- terminal alkynes to azides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 9, p. 3057–3064, 2002.
- TRIPATHI, A.; BANKAITIS, V. A. Molecular Docking: From Lock and Key to Combination Lock. **Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2017.
- TROPPER, F. D.; ANDERSSON, F. O.; BRAUN, S.; ROY, R. Phase transfer catalysis as a general and stereoselective entry into glycosyl azides from glycosyl halides. **Synthesis**, , n. 7, p. 618–620, 1992.
- TRUMBULL, E. R.; BIANCHI, E.; ECKERT, D. J.; WIEDHOPF, R. M.; COLE, J. R. Tumor Inhibitory Agents from *Vauquelinia corymbosa* (Rosaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 9, p. 1407–1408, 1976.
- VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 2, p. 606–631, 2009.
- VELOSO, C. C.; FERREIRA, R. C. M.; RODRIGUES, V. G.; DUARTE, L. P.; KLEIN, A.; DUARTE, I. D.; ROMERO, T. R. L.; PEREZ, A. C. Tingenone, a pentacyclic triterpene, induces peripheral antinociception due to cannabinoid receptors activation in mice. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 1, p. 227–233, 2018.
- VELOSO, C. C.; SOARES, G. L.; PEREZ, A. C.; RODRIGUES, V. G.; SILVA, F. C. Pharmacological potential of *Maytenus* species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 533–540, 2017.
- WAECHTER, F.; SILVA, G. N. S. DA; WILLIG, J. B.; OLIVEIRA, C. B. DE; VIEIRA, B. D.; TRIVELLA, D. B. B.; ZIMMER, A. R.; BUFFON, A.; GNOATTO, D. A. P. AND S. C. B. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Betulinic Acid Derivatives as New Antitumor Agents for Leukemia. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 13, p. 1777–1785, 2017.
- WANG, Y.; BOOTH, B.; RAHMAN, A.; KIM, G.; SM, H.; ZINEH, I. Toward Greater Insights on Pharmacokinetics and Exposure–Response Relationships for Therapeutic Biologics in Oncology Drug Development. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 101, n. 5, p. 582–584, 2017.
- WEBER, K. C.; HONÓRIO, K. M.; BRUNI, A. T.; DA SILVA, A. B. F. The use of classification methods for modeling the antioxidant activity of flavonoid compounds. **Journal of Molecular Modeling**, v. 12, n. 6, p. 915–920, 2006.

## REFERÊNCIAS

- WEI, G.; LUAN, W.; WANG, S.; CUI, S.; LI, F.; LIU, YONGXIANG; LIU, YANG; CHENG, M. A library of 1,2,3-triazole-substituted oleanolic acid derivatives as anticancer agents: design, synthesis, and biological evaluation. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 1507–1514, 2015.
- WHO. World Health Organization | Cancer country profiles 2020. Disponível em: <<http://www.who.int/cancer/country-profiles/en/>>. Acesso em: 8/8/2020.
- WISHART, D. S.; KNOX, C.; GUO, A. C.; EISNER, R.; YOUNG, N.; GAUTAM, B.; HAU, D. D.; PSYCHOGIOS, N.; DONG, E.; BOUATRA, S.; MANDAL, R.; SINELNIKOV, I.; XIA, J.; JIA, L.; CRUZ, J. A.; LIM, E.; SOBSEY, C. A.; SHRIVASTAVA, S.; HUANG, P.; et al. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. **Nucleic acids research**, v. 37, n. Database issue, p. D603-10, 2009.
- XIAO, Z.; LIU, Q.; MAO, F.; WU, J.; LEI, T. TNF- $\alpha$ -induced VEGF and MMP-9 expression promotes hemorrhagic transformation in pituitary adenomas. **International journal of molecular sciences**, v. 12, n. 6, p. 4165—4179, 2011.
- YAP, C. W. PaDEL-descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. **Journal of Computational Chemistry**, v. 32, n. 7, p. 1466–1474, 2011.
- YI, X.; HONG, M.; GUI, B.; CHEN, Z.; LI, L.; XIE, G.; LIANG, J.; WANG, X.; SHANG, Y. RNA processing and modification protein, carbon catabolite repression 4 (Ccr4), arrests the cell cycle through p21-dependent and p53-independent pathway. **The Journal of biological chemistry**, v. 287, n. 25, p. 21045–21057, 2012.
- YIN, R.; LI, T.; TIAN, J. X.; XI, P.; LIU, R. H. Ursolic acid, a potential anticancer compound for breast cancer therapy. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 568–574, 2018.
- DE ZEEUW, D.; AKIZAWA, T.; AUDHYA, P.; BAKRIS, G. L.; CHIN, M.; CHRIST-SCHMIDT, H.; GOLDSBERRY, A.; HOUSER, M.; KRAUTH, M.; LAMBERS HEERSPINK, H. J.; MCMURRAY, J. J.; MEYER, C. J.; PARVING, H.-H.; REMUZZI, G.; TOTO, R. D.; VAZIRI, N. D.; WANNER, C.; WITTES, J.; WROLSTAD, D.; et al. Bardoxolone Methyl in Type 2 Diabetes and Stage 4 Chronic Kidney Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 26, p. 2492–2503, 2013.
- ZENG, A.-Q.; YU, YAN; YAO, Y.-Q.; YANG, F.-F.; LIAO, M.; SONG, L.-J.; LI, Y.-L.; YU, YANG; LI, Y.-J.; DENG, Y.-L.; YANG, S.-P.; ZENG, C.-J.; LIU, P.; XIE, Y.-M.; YANG, J.-L.; ZHANG, Y.-W.; YE, T.-H.; WEI, Y.-Q. Betulinic acid impairs metastasis

## REFERÊNCIAS

and reduces immunosuppressive cells in breast cancer models. **Oncotarget**, v. 9, n. 3, p. 3794–3804, 2018.

ZHANG, L.; JI, M.-Y.; QIU, B.; LI, Q.-Y.; ZHANG, K.-Y.; LIU, J.-C.; DANG, L.-S.; LI, M.-H. Phytochemicals and biological activities of species from the genus *Maytenus*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 29, n. 4, p. 575–606, 2020.

ZHANG, W.; MEN, X.; LEI, P. Review on anti-tumor effect of triterpene acid compounds. **Journal of cancer research and therapeutics**, v. 10, n. 5, p. 14, 2014.

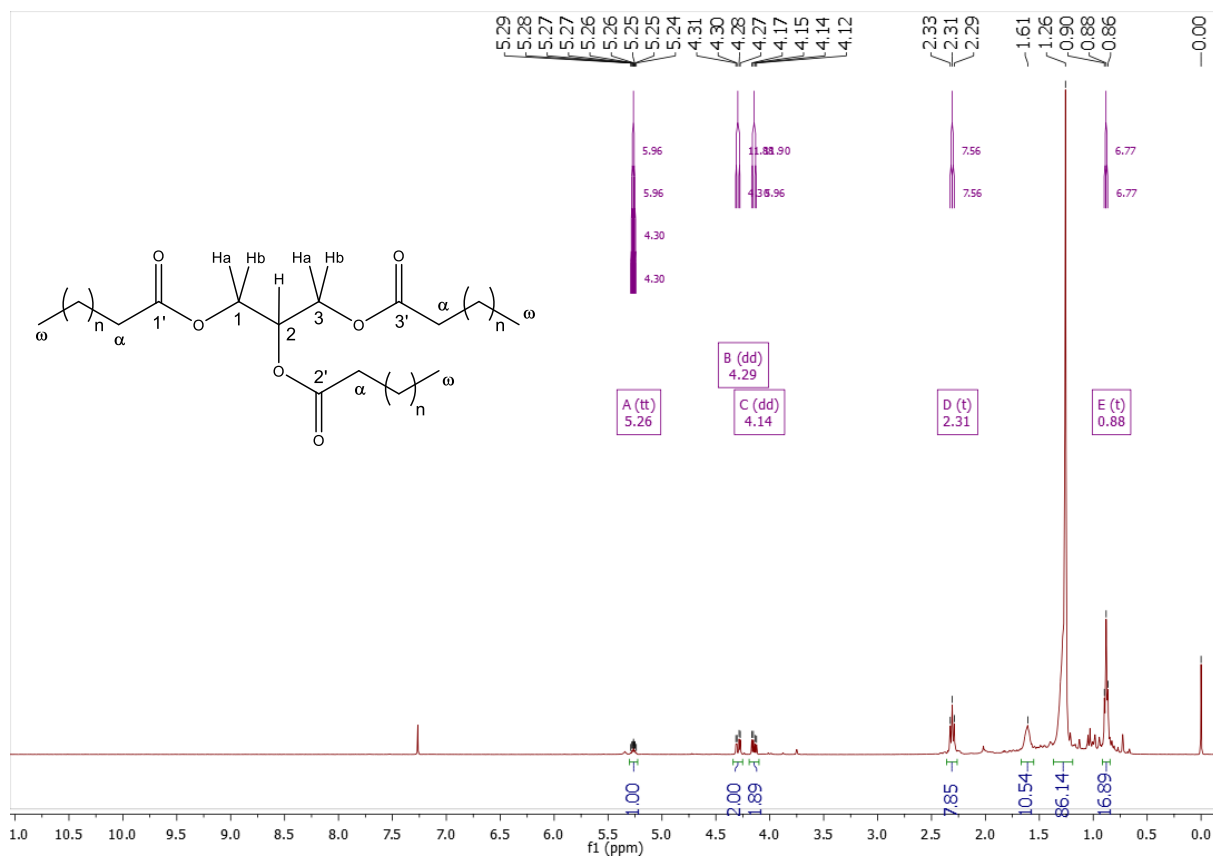
ZHOU, J.; WEI, X.; CHEN, F.; LI, C.; YANG, J.; MA, J.; BAO, X.; ZHANG, DAN; ZHANG, DONG-MING. Anti-inflammatory pentacyclic triterpenes from the stems of *Euonymus carnosus*. **Fitoterapia**, v. 118, p. 21–26, 2017.

ZHOU, M.; ZHANG, R.-H.; WANG, M.; XU, G.-B.; LIAO, S.-G. Prodrugs of triterpenoids and their derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 131, p. 222–236, 2017.

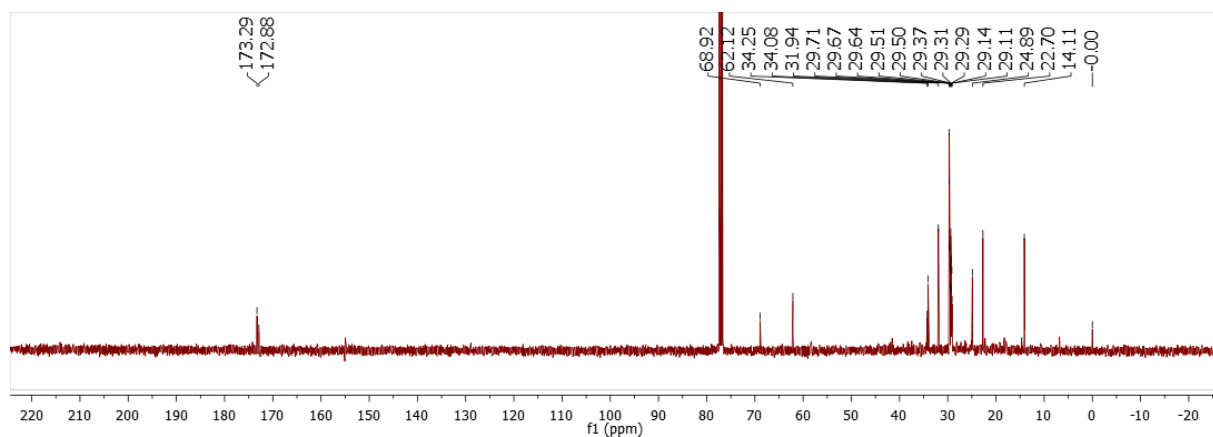
# APÊNDICE

## A. Espectros de P7 (triacilglicerol)

### A1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P7

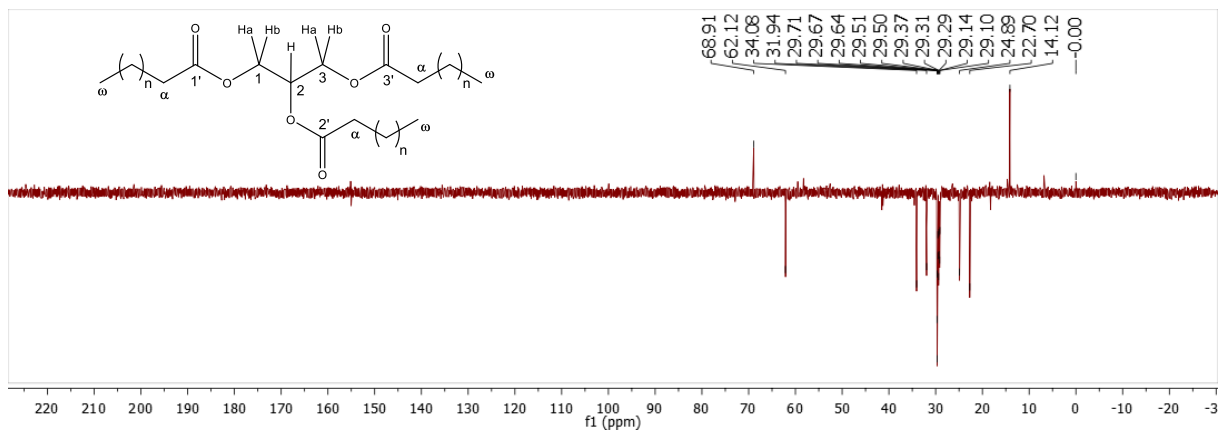


### A2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P7



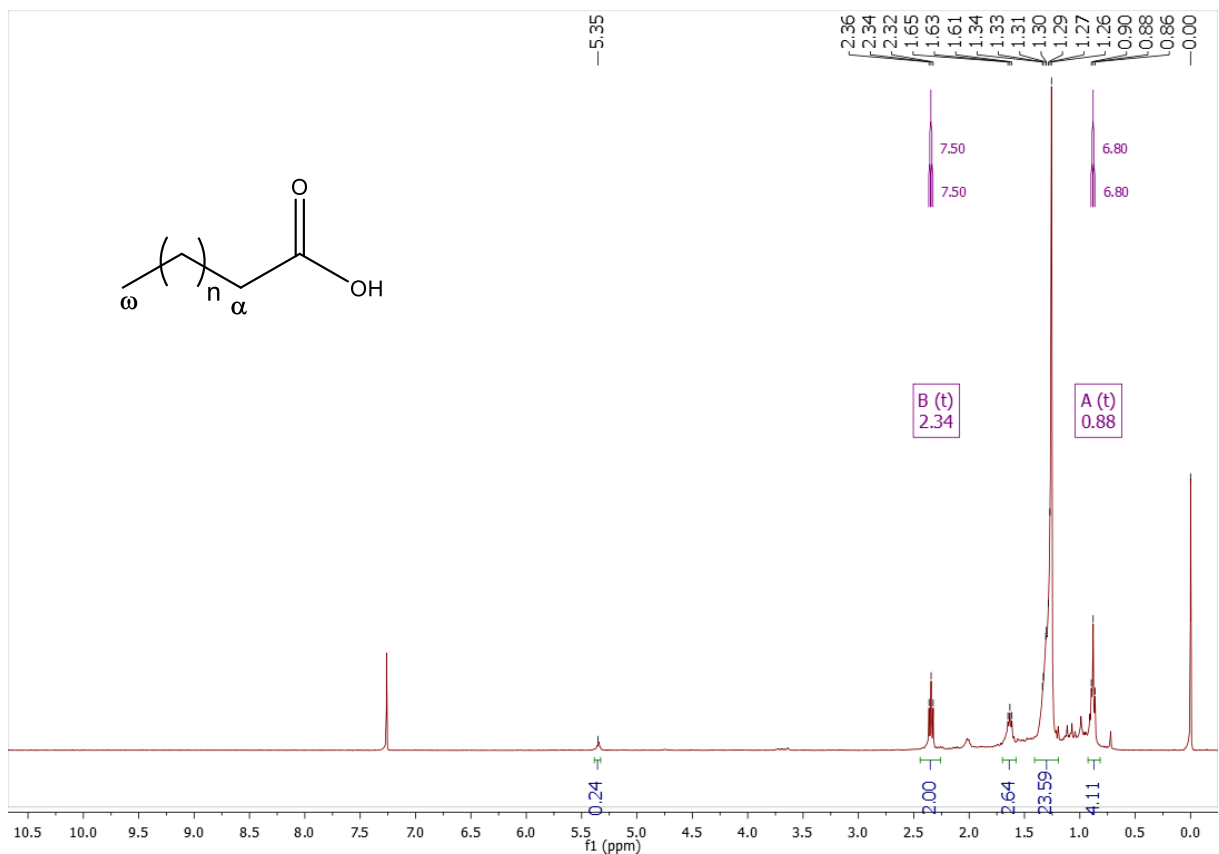
# APÊNDICE

## A3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P7



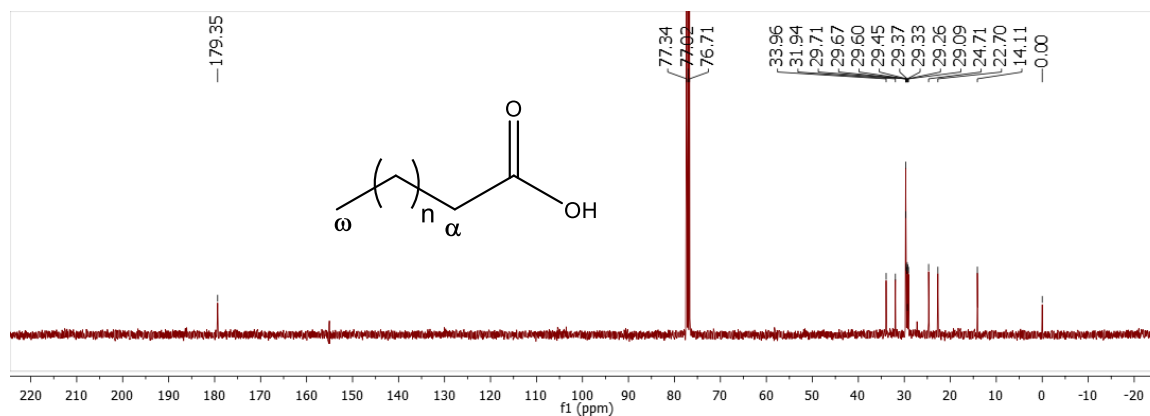
## B. Espectros de P10 (ácido graxo)

### B1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P10

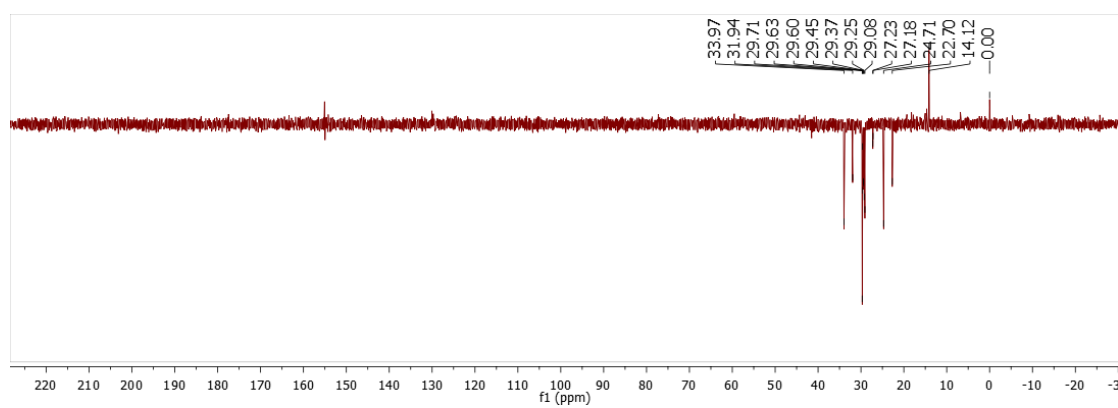


## APÊNDICE

### B2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P10



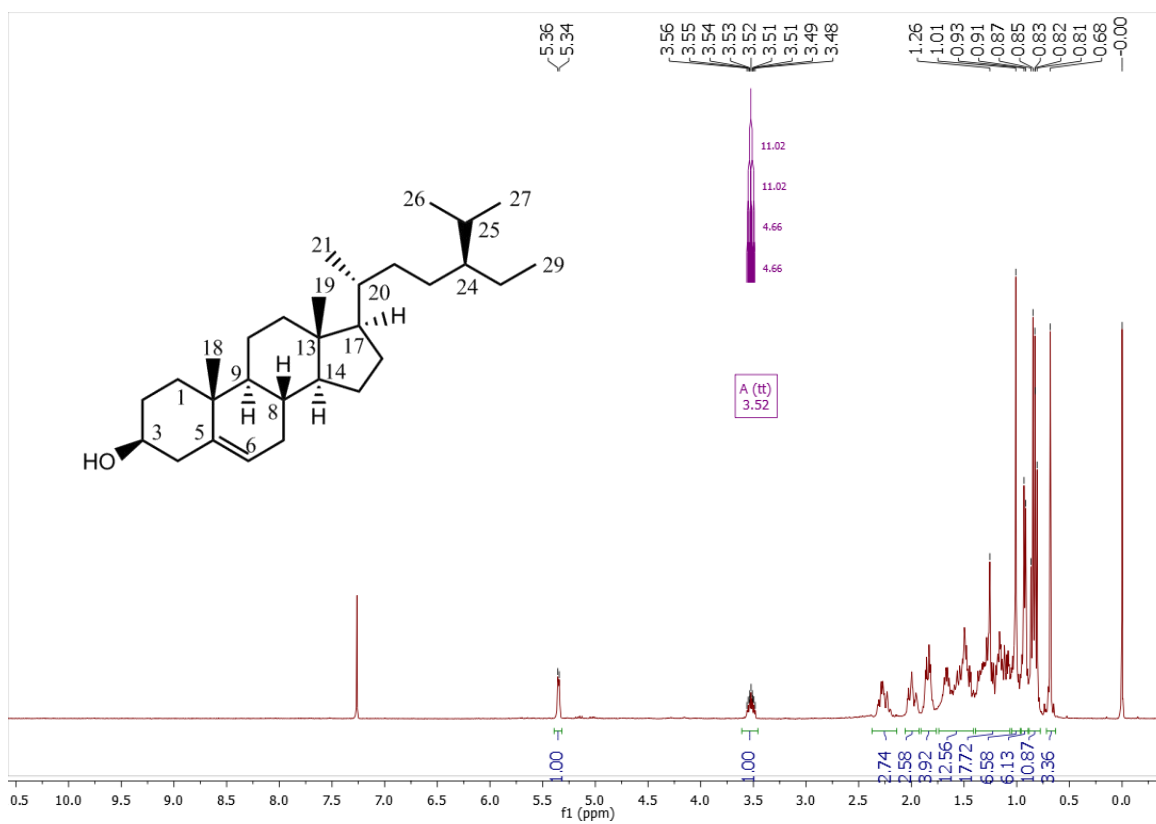
### B3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P10



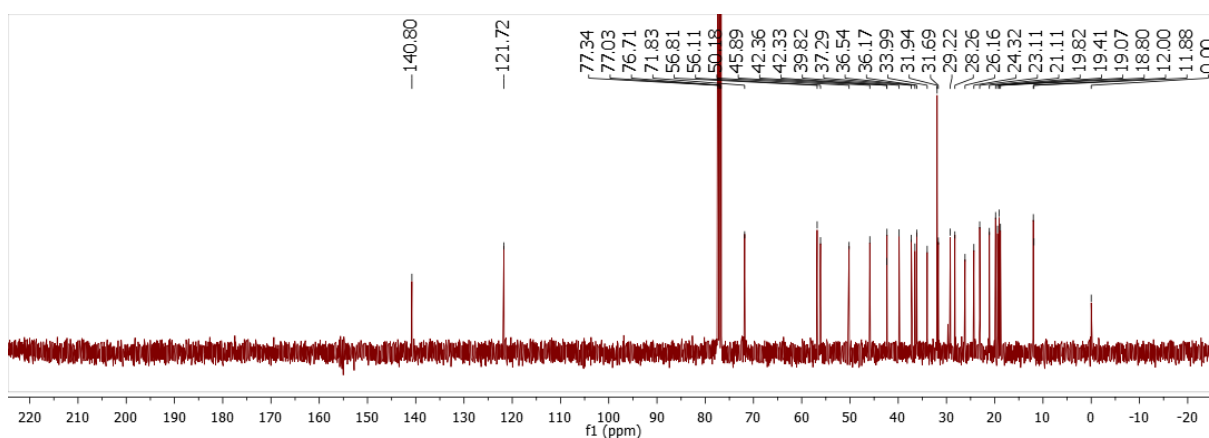
## APÊNDICE

### C. Espectros de P8 ( $\beta$ -sitosterol)

#### C1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P8

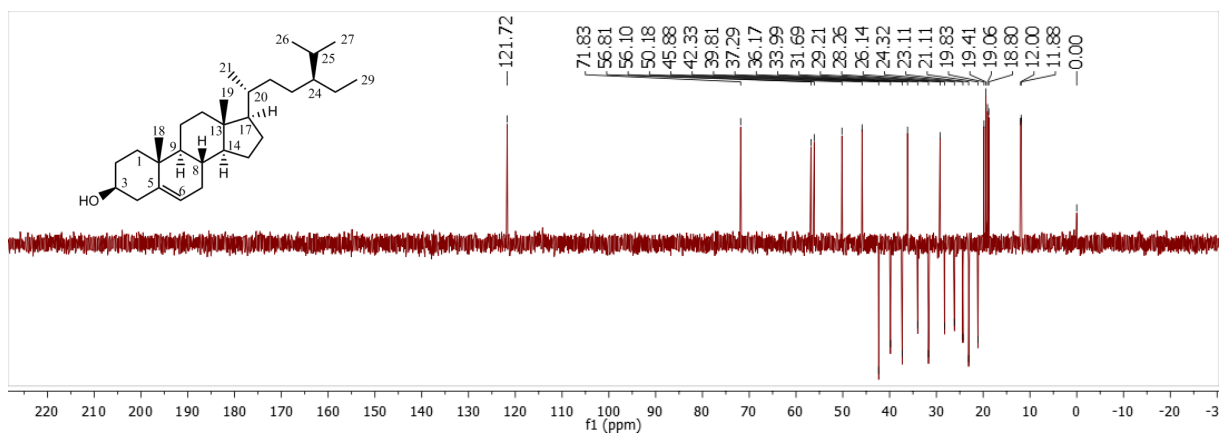


#### C2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P8



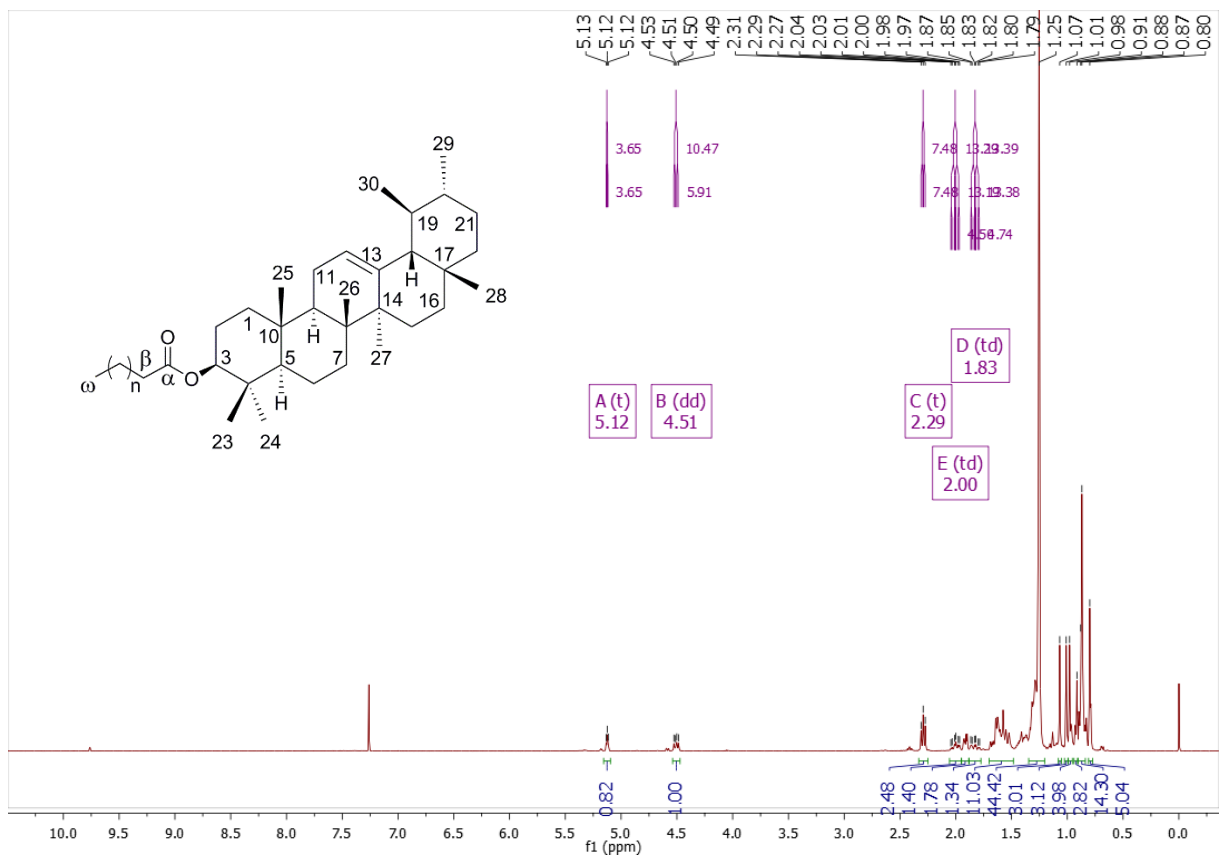
# APÊNDICE

## C3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P8



## D. Espectros de P1 (3β-aciloxiurs-12-eno)

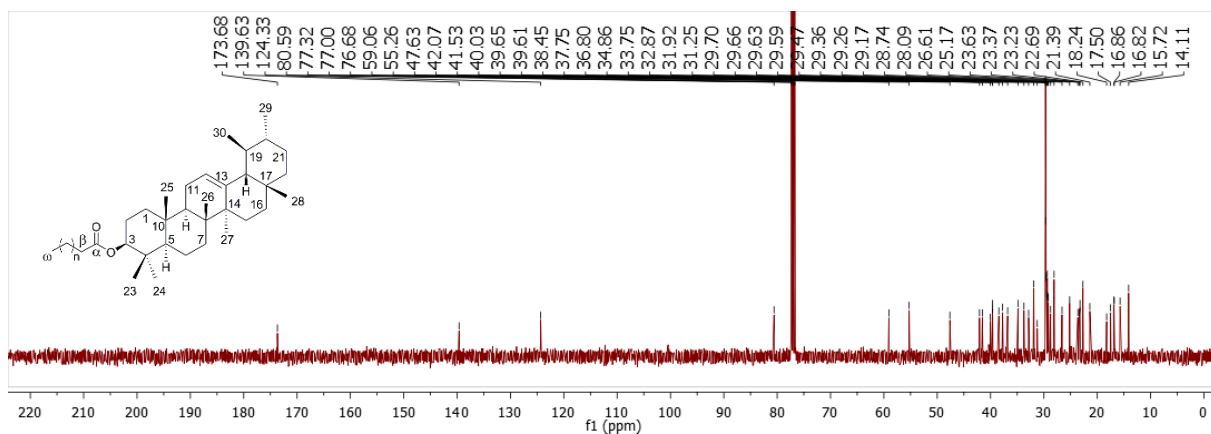
### D1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P1



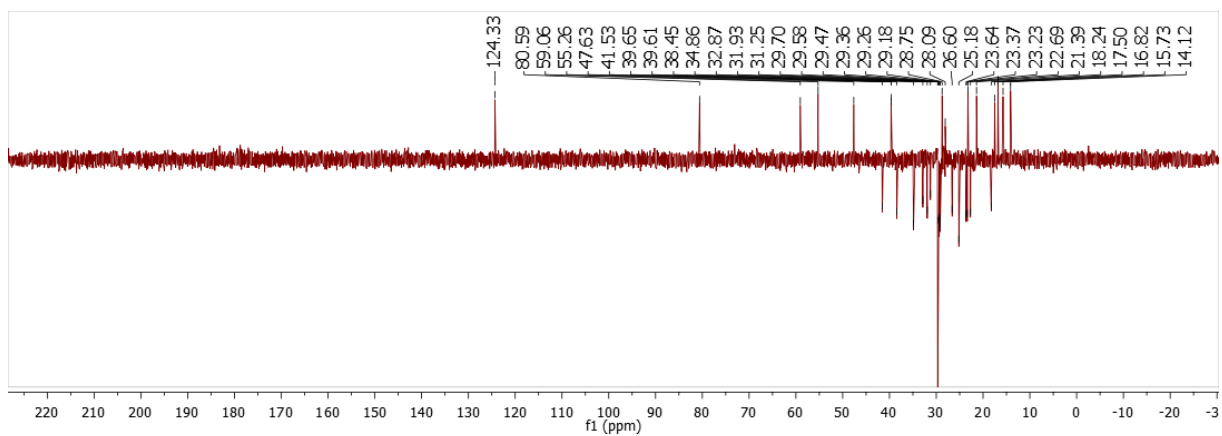


## APÊNDICE

### D2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P1



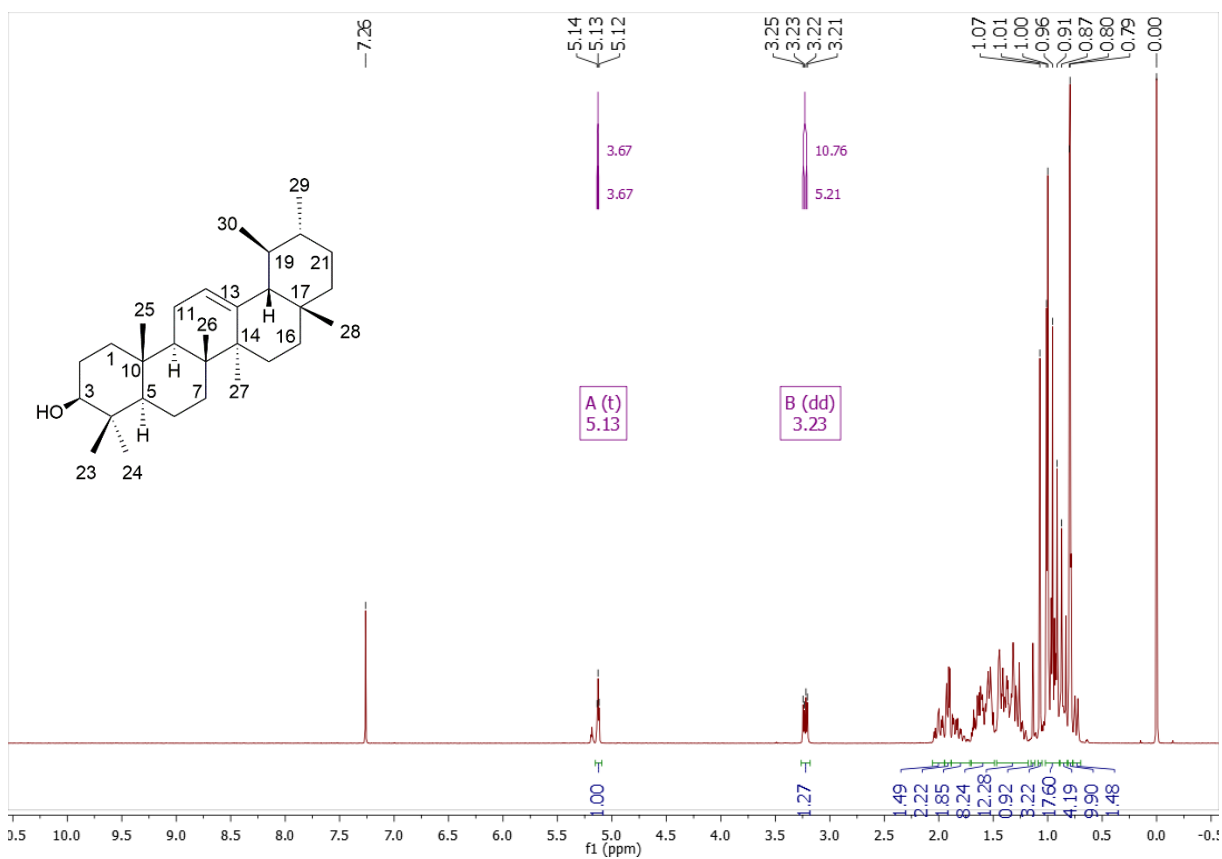
### D3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P1



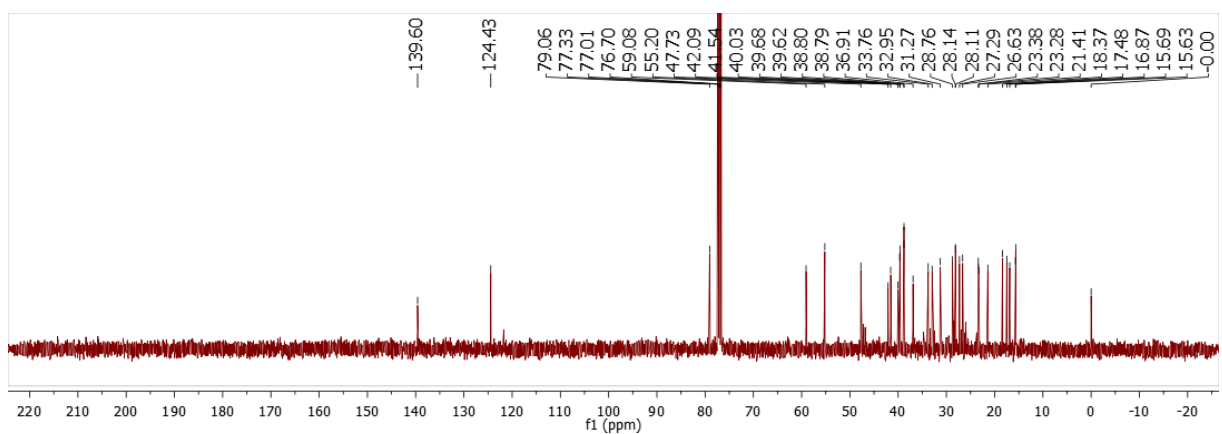
## APÊNDICE

### E. Espectros de P5 ( $\alpha$ -amirina)

#### E1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P5

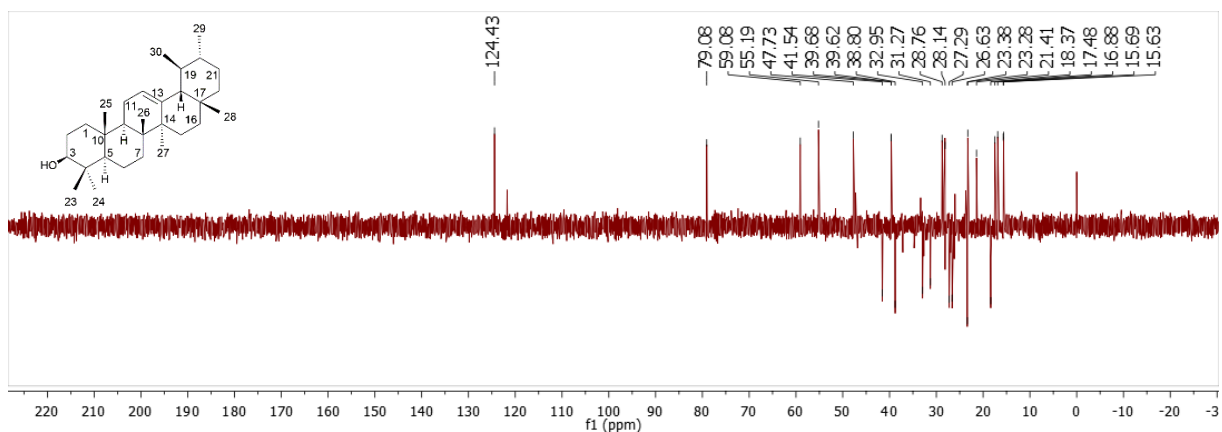


#### E2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P5



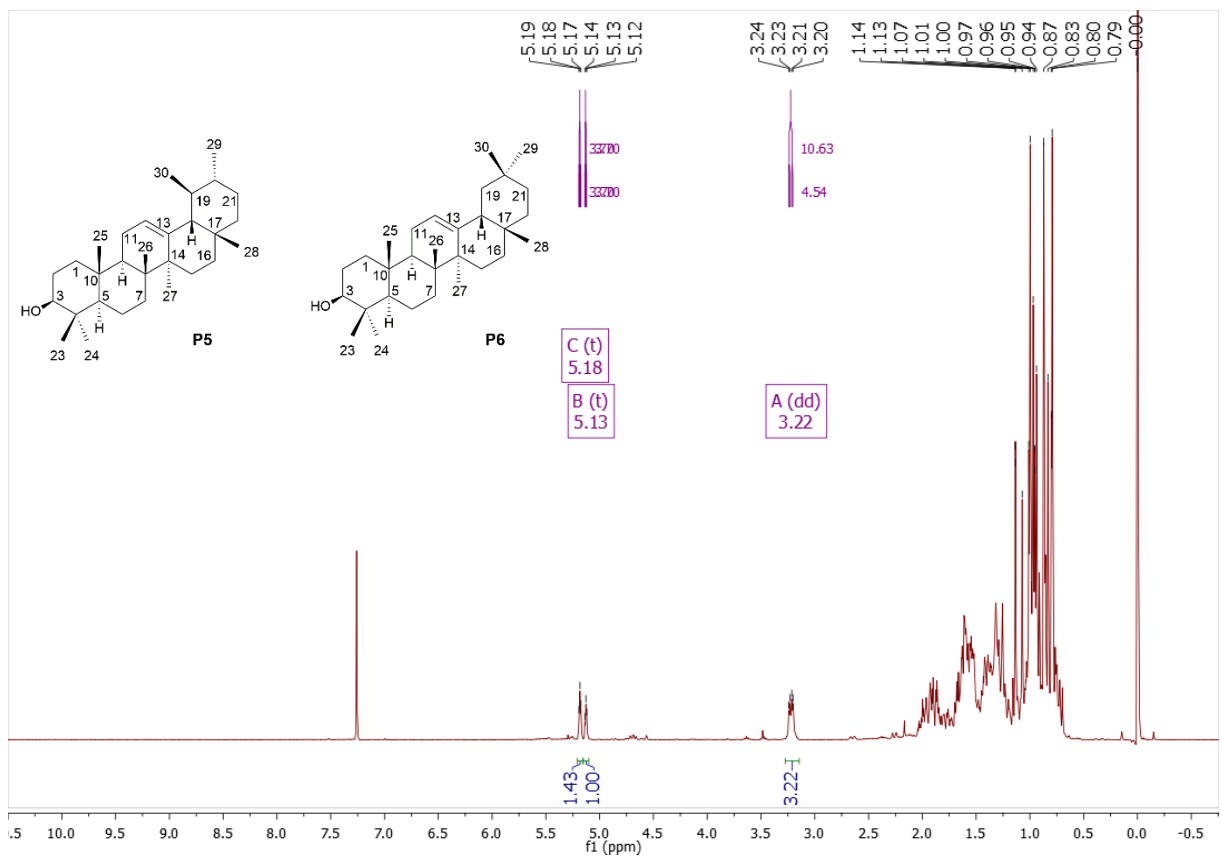
# APÊNDICE

## E3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P5



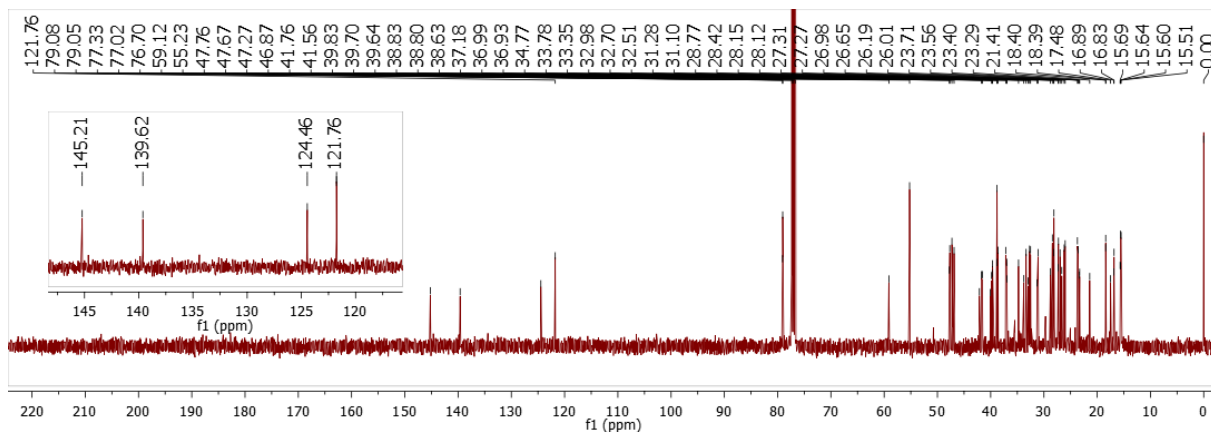
## F. Espectros de P5 (α-amirina) e P6 (β-amirina)

### F1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P5 e P6

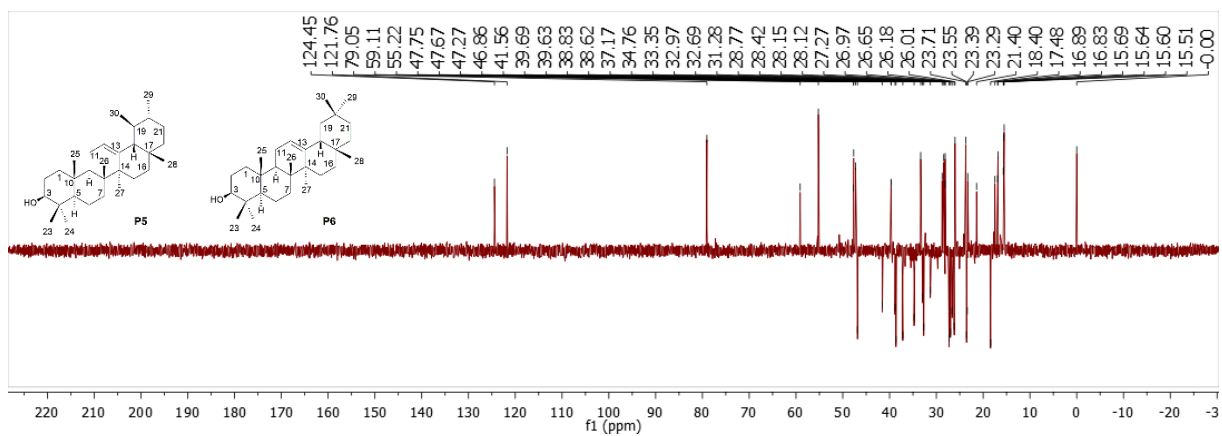


## APÊNDICE

### F2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P5 e P6



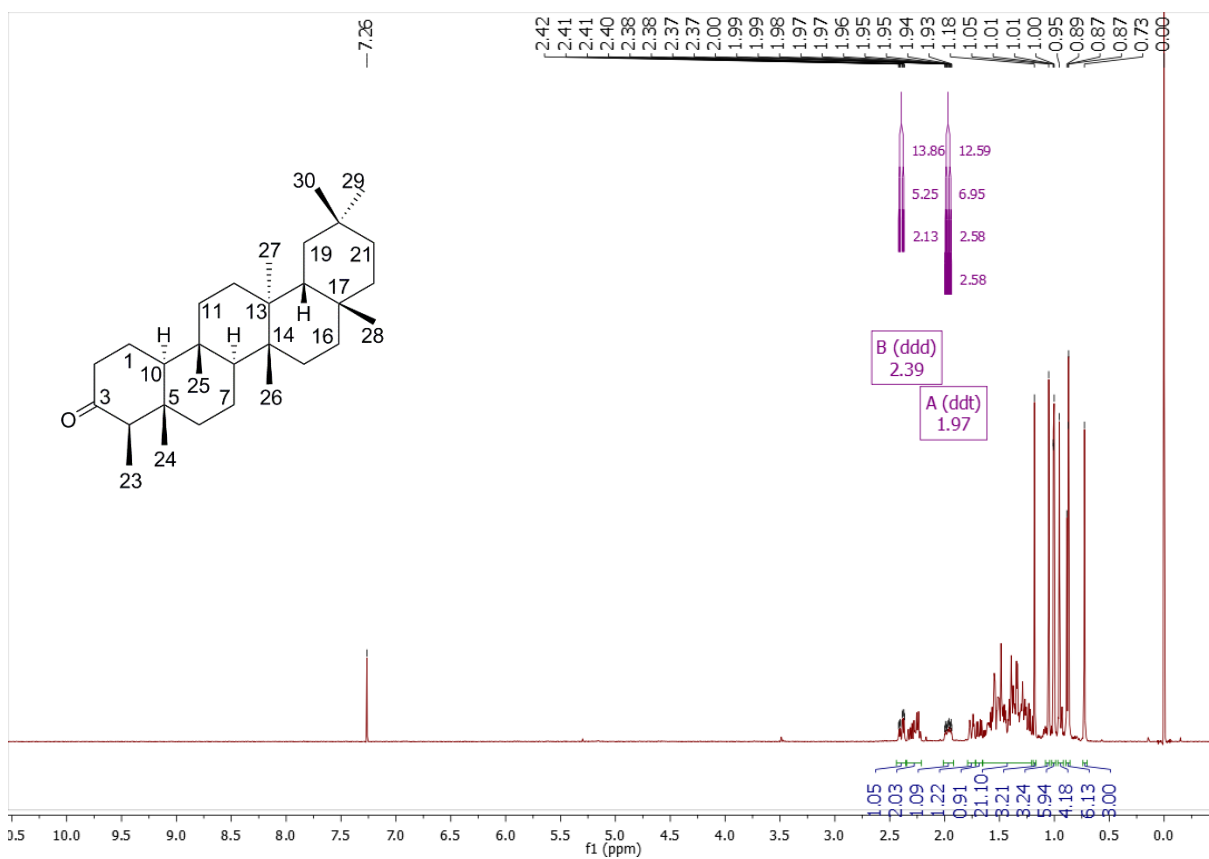
### F3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P5 e P6



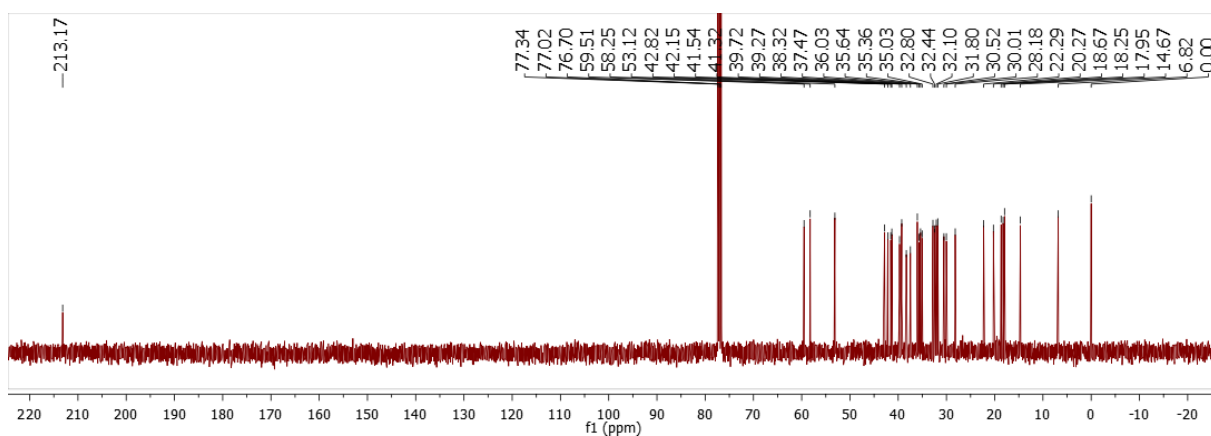
# APÊNDICE

## G. Espectros de P2 (friedelina)

### G1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P2

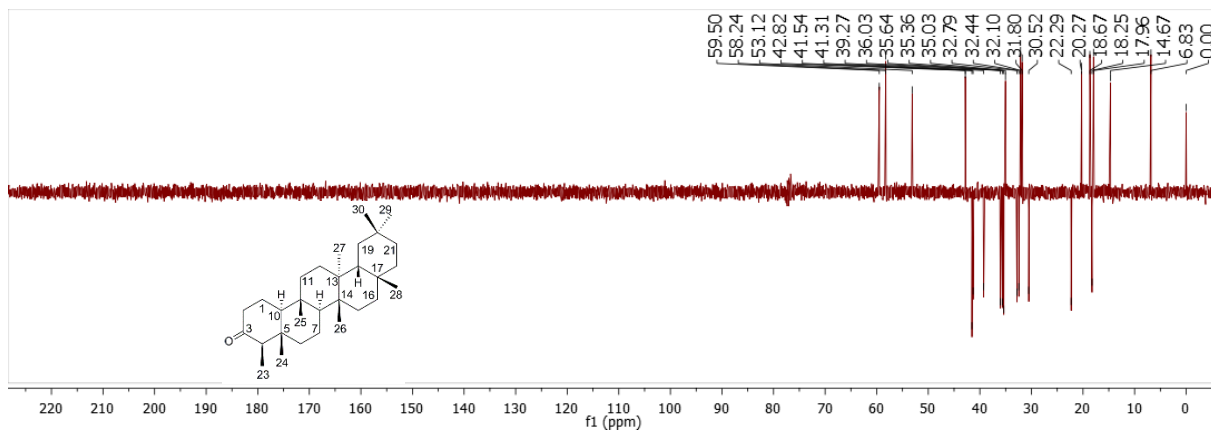


### G2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P2



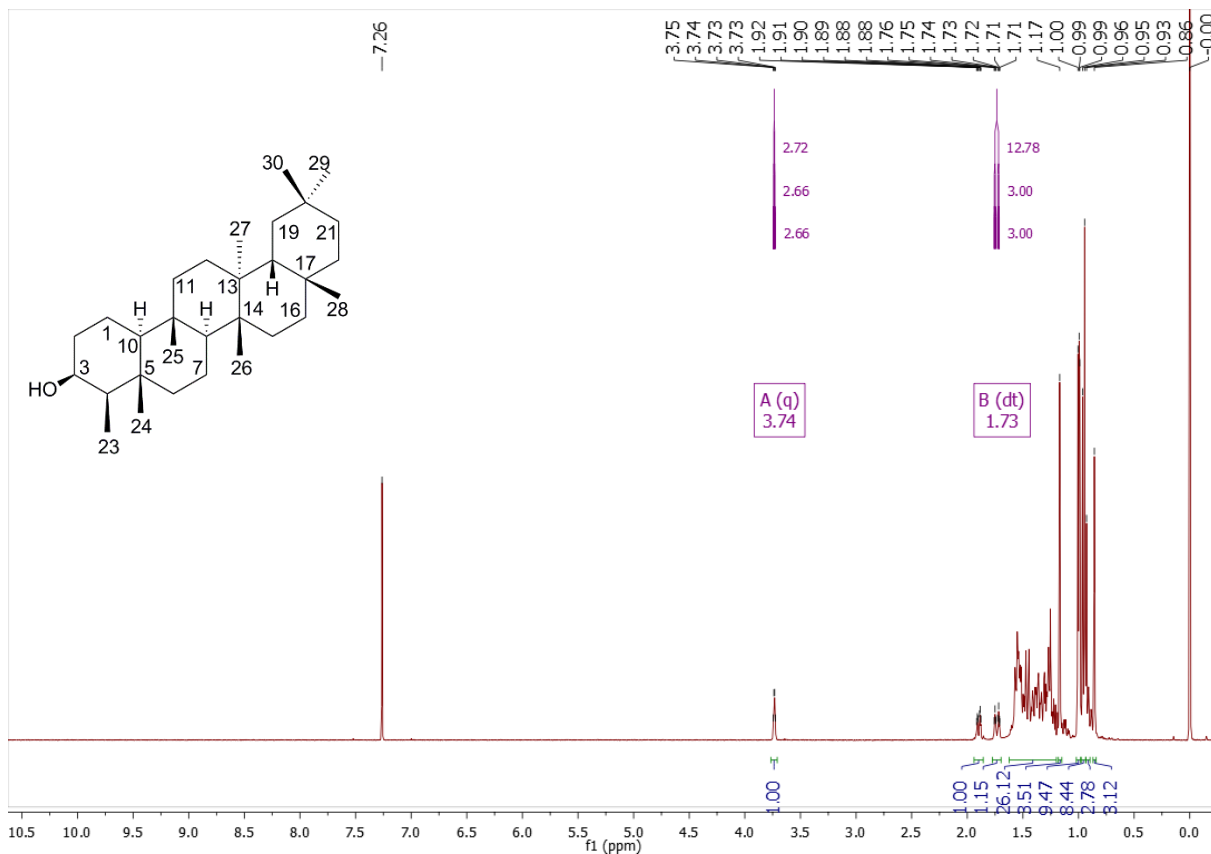
# APÊNDICE

## G3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P2



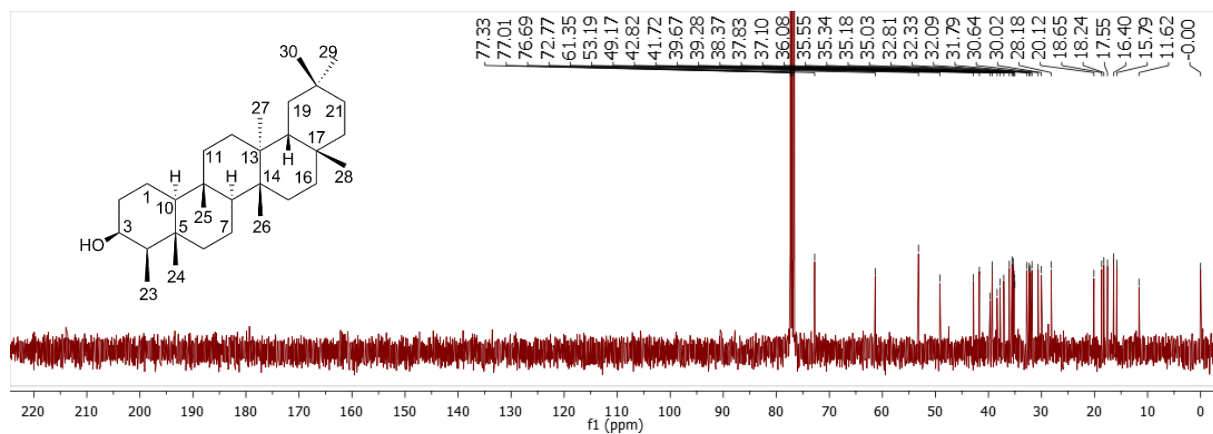
## H. Espectros de P3 (friedelinol)

### H1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P3

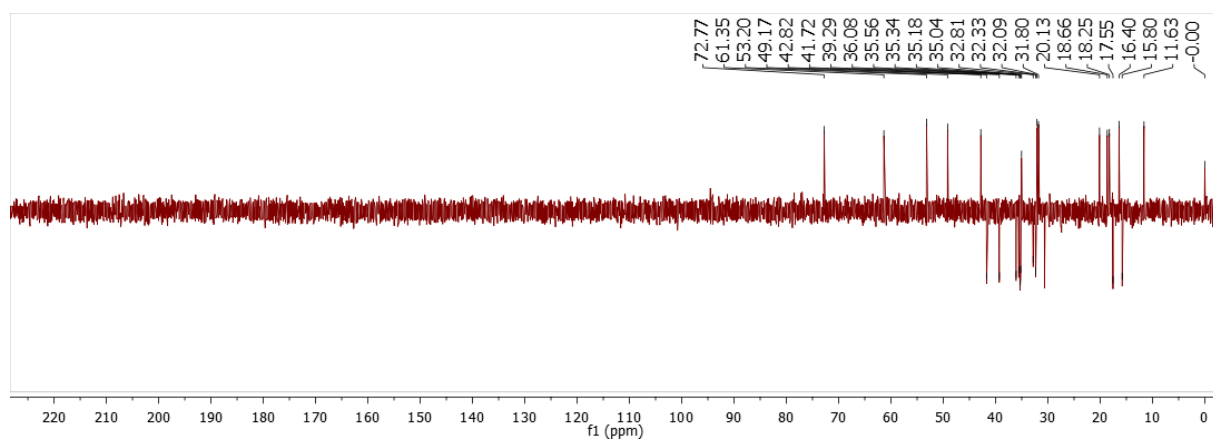


## APÊNDICE

### H2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P3



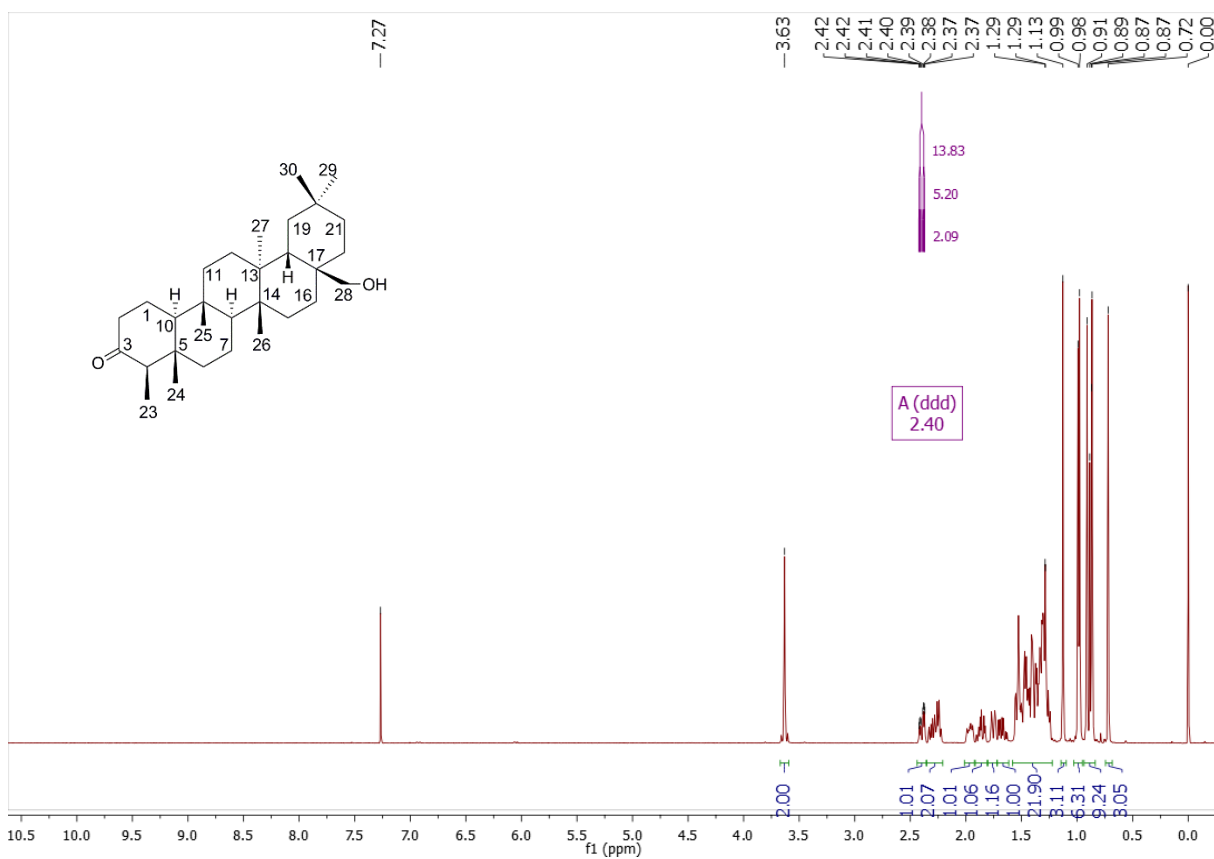
### H3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P3



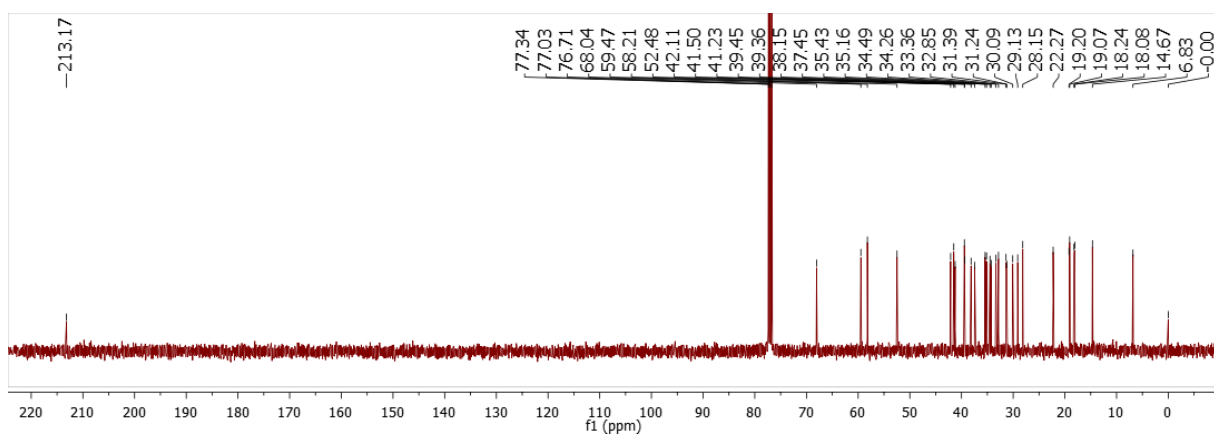
# APÊNDICE

## I. Espectros de P9 (canofilol)

### I1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P9



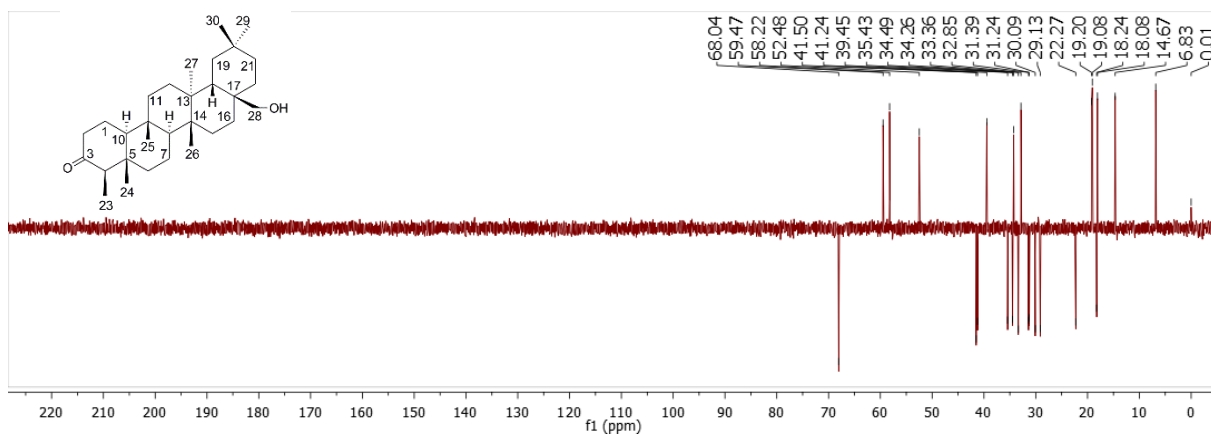
### I2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P9





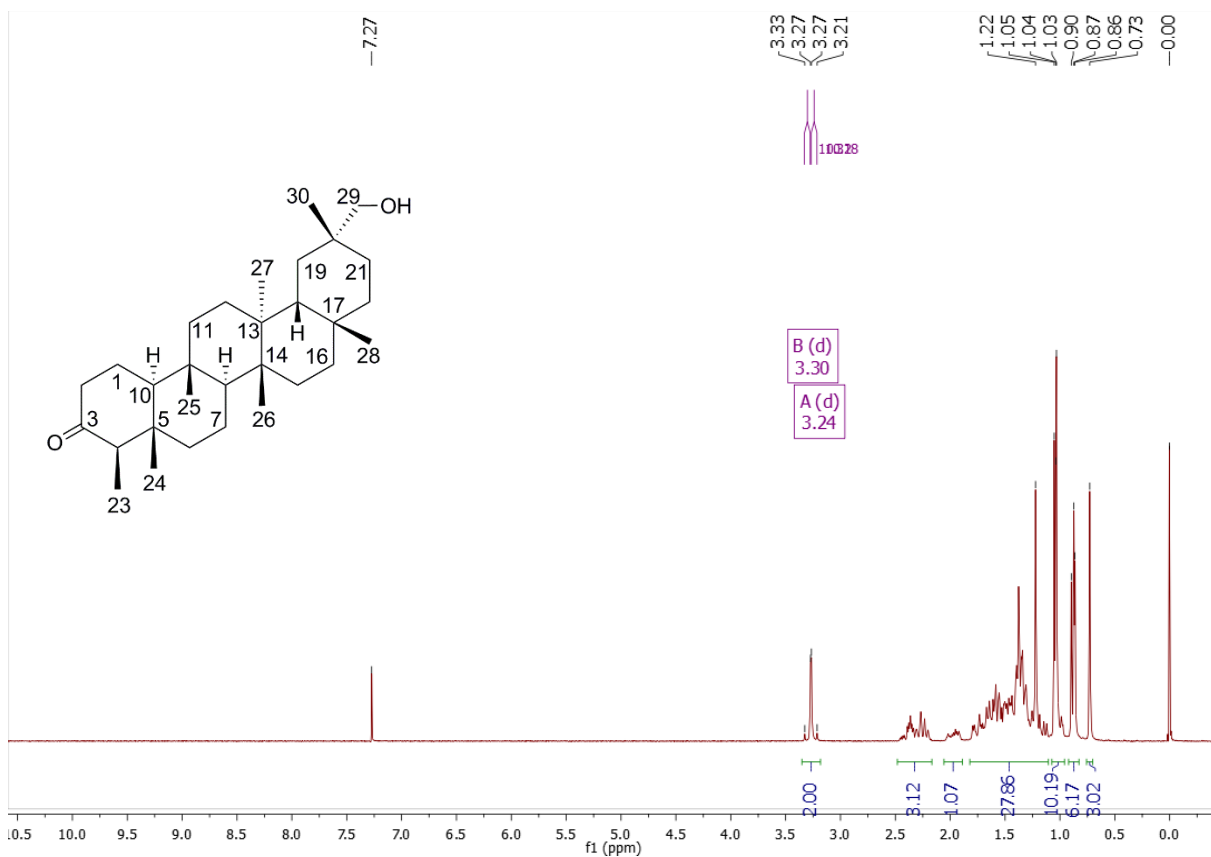
# APÊNDICE

## I3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P9



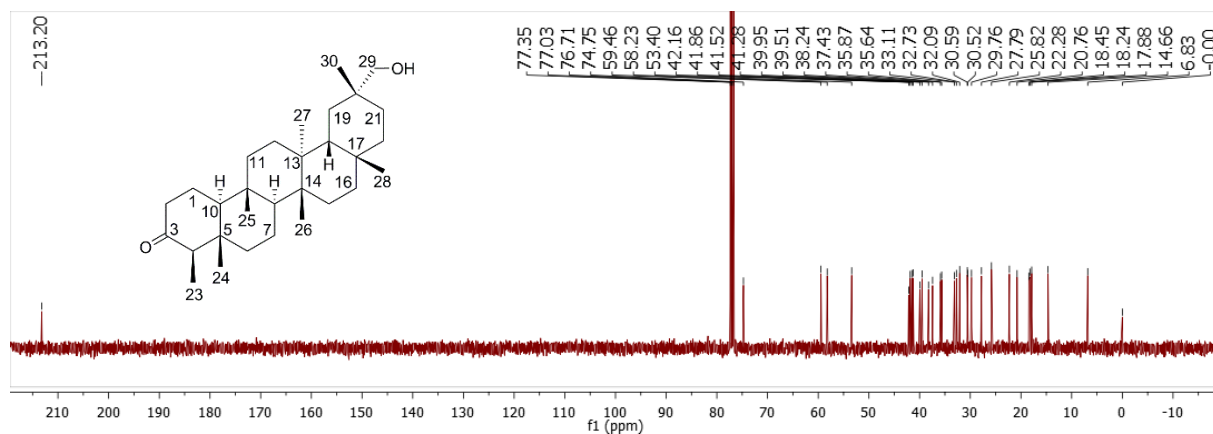
## J. Espectros de P11 (29-hidroxifriedelan-3-ona)

### J1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P11

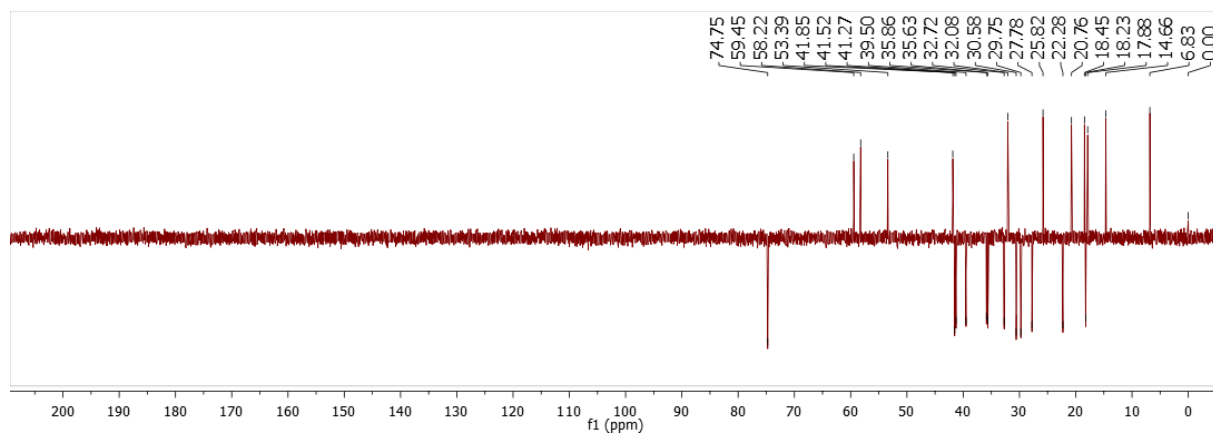


# APÊNDICE

## J2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P11



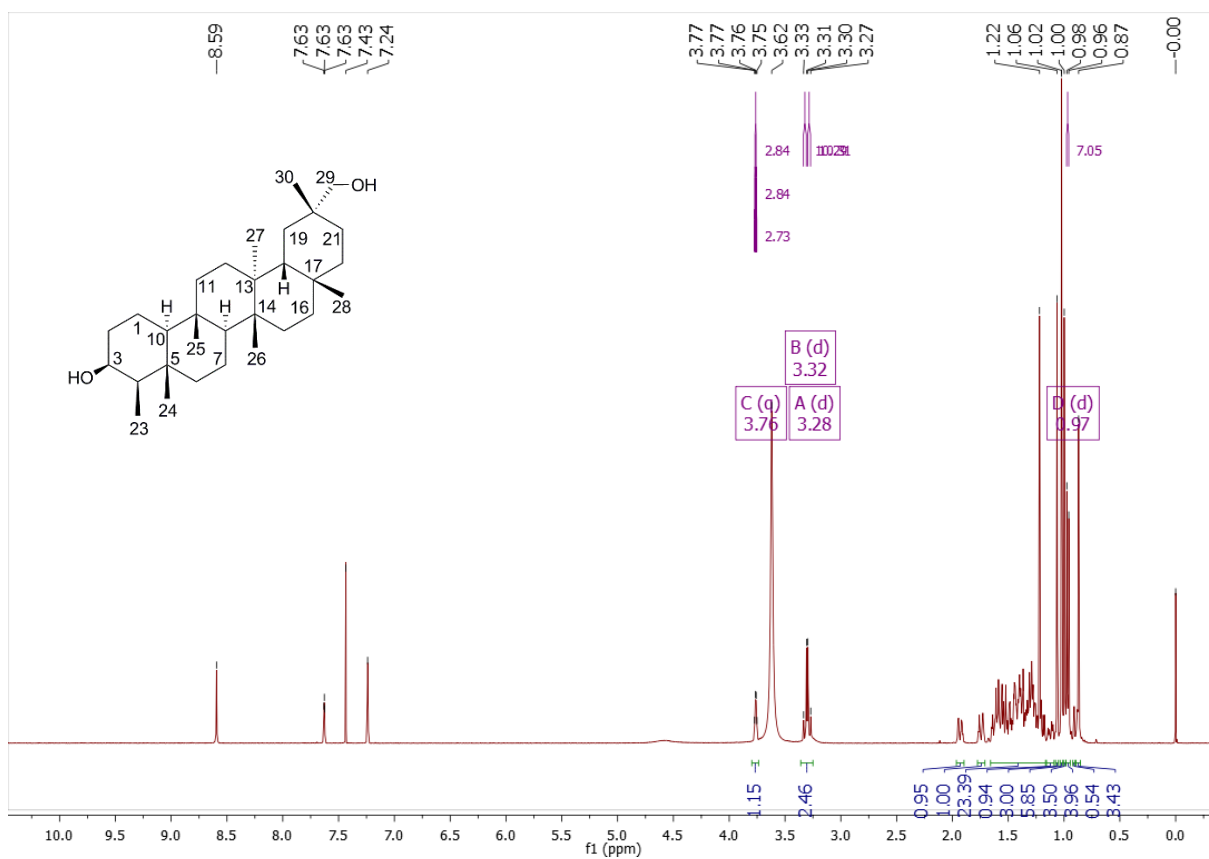
## J3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P11



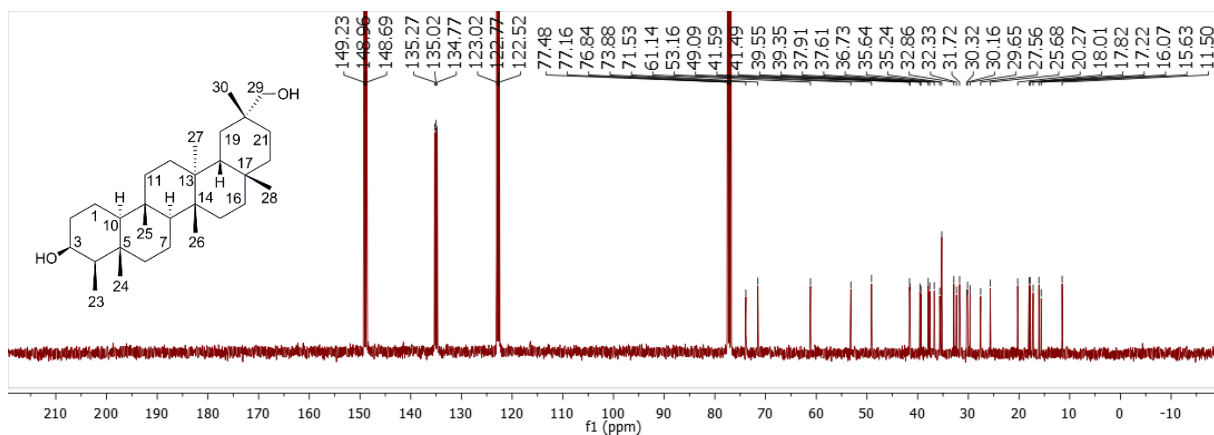
## APÊNDICE

### K. Espectros de P12 (friedelano-3 $\beta$ ,29-diol)

#### K1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de P12

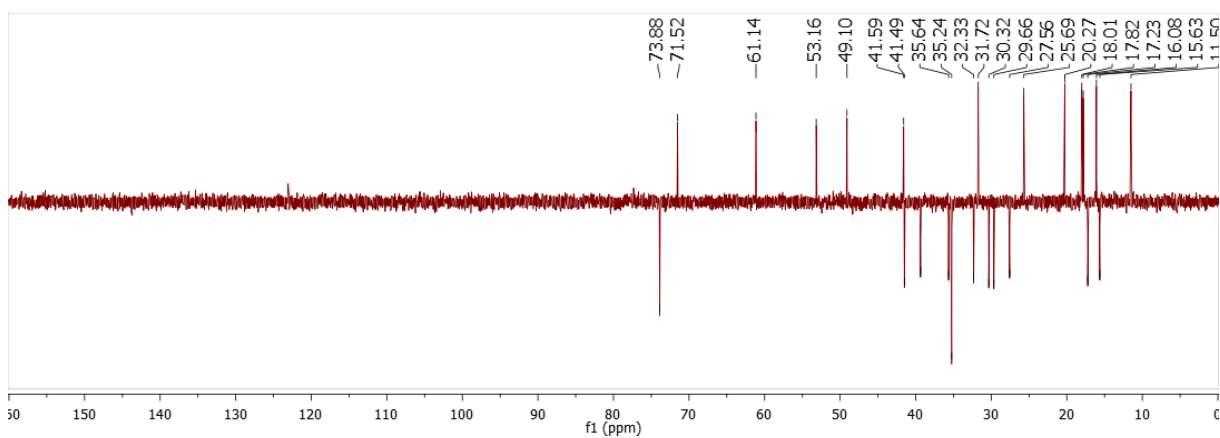


#### K2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de P12



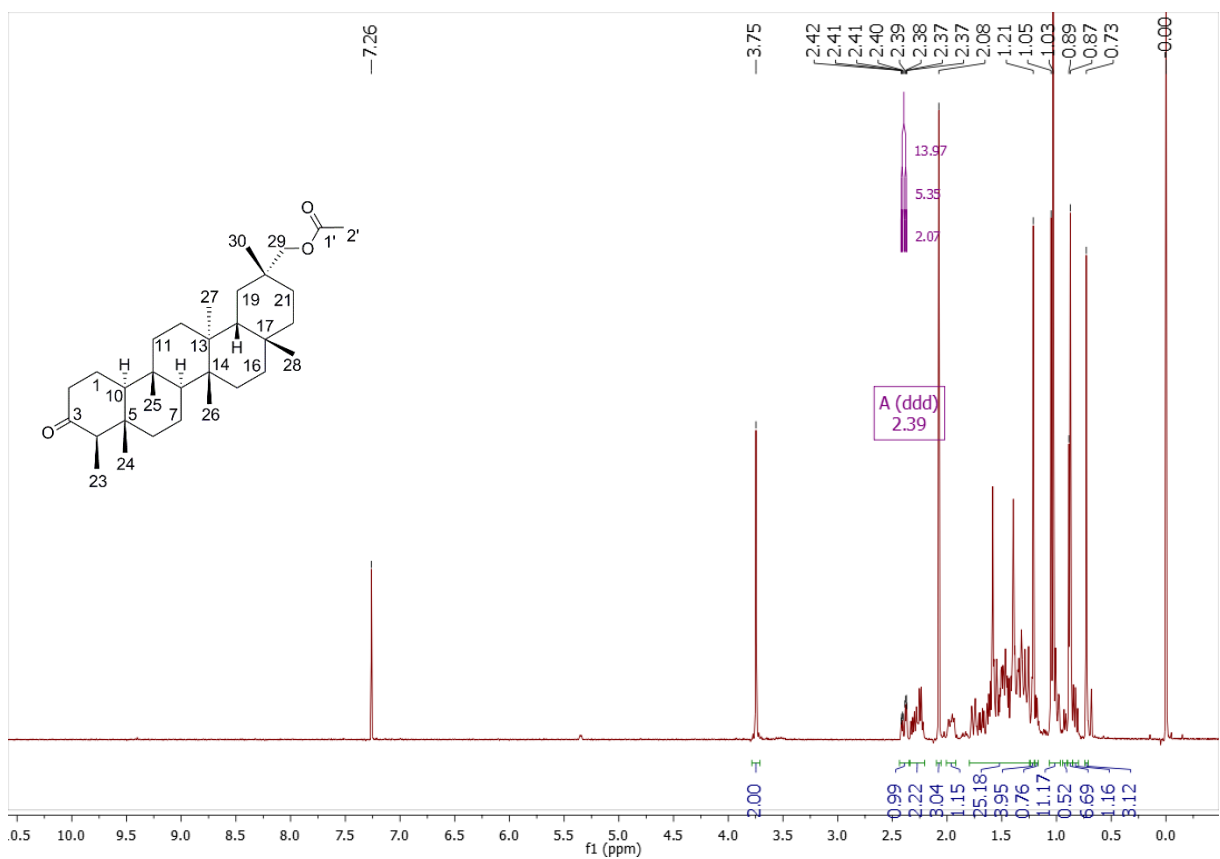
## APÊNDICE

### K3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de **P12**



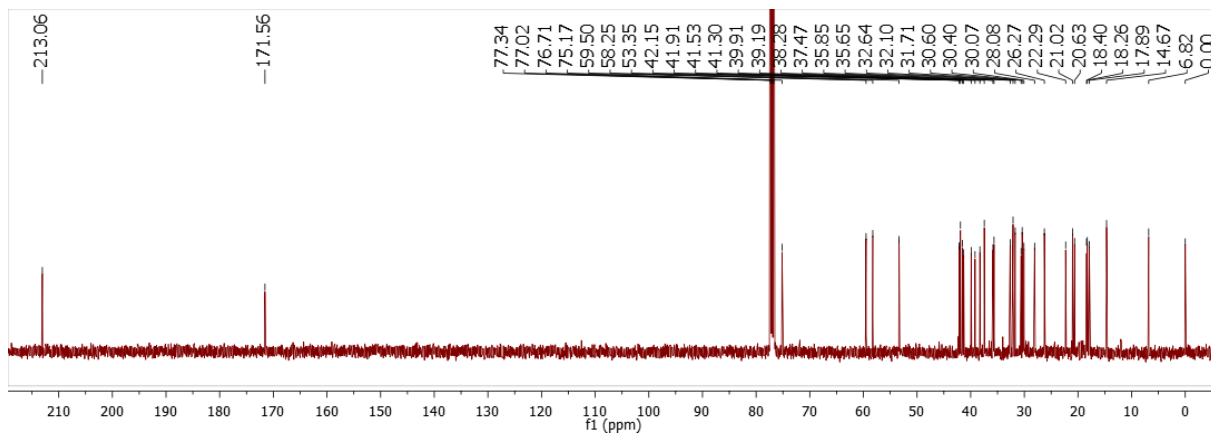
### L. Espectros de P13 (acetato de 3-oxofriedelan-29-ila)

#### L1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **P13**

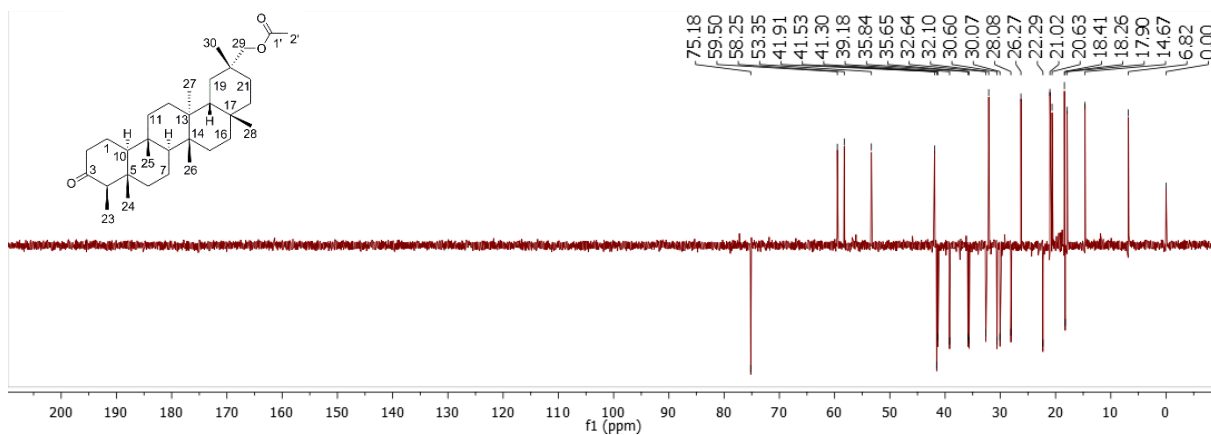


#### L2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **P13**

# APÊNDICE



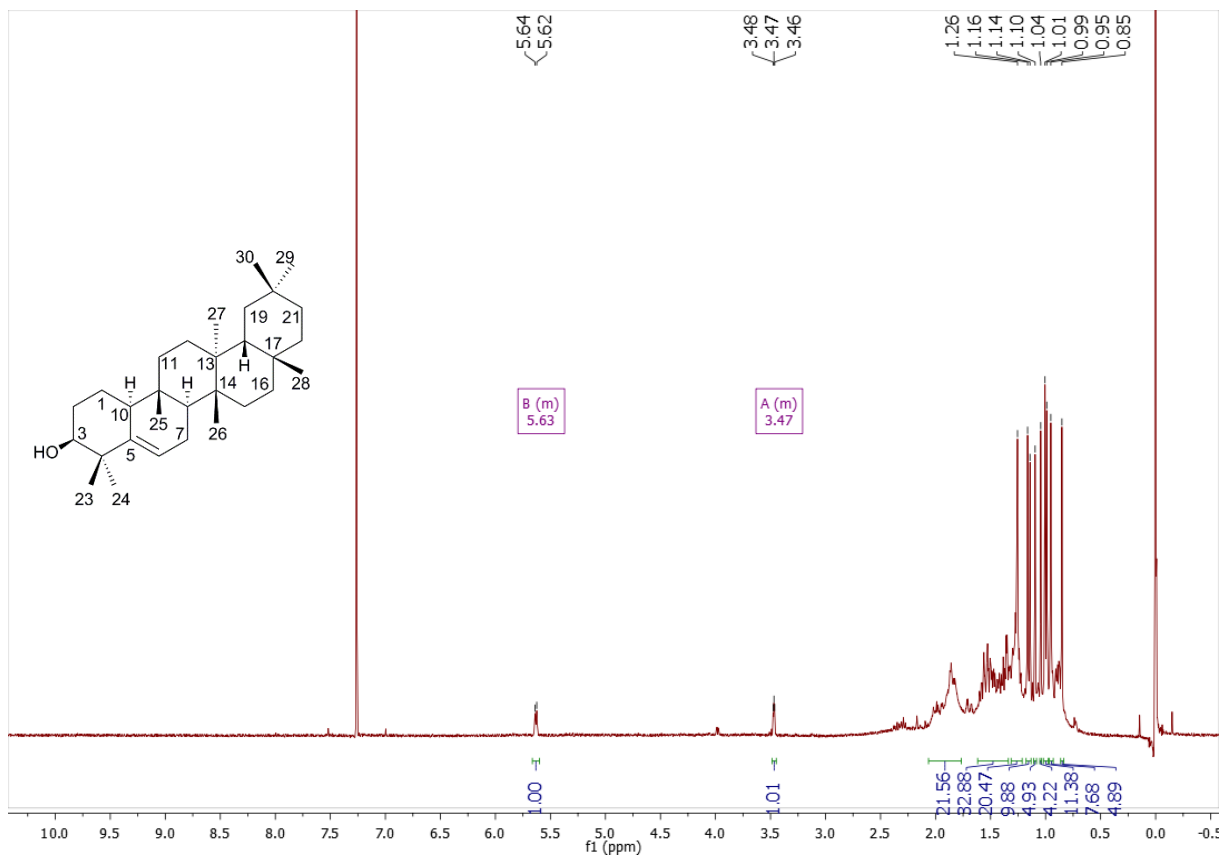
L3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de P13



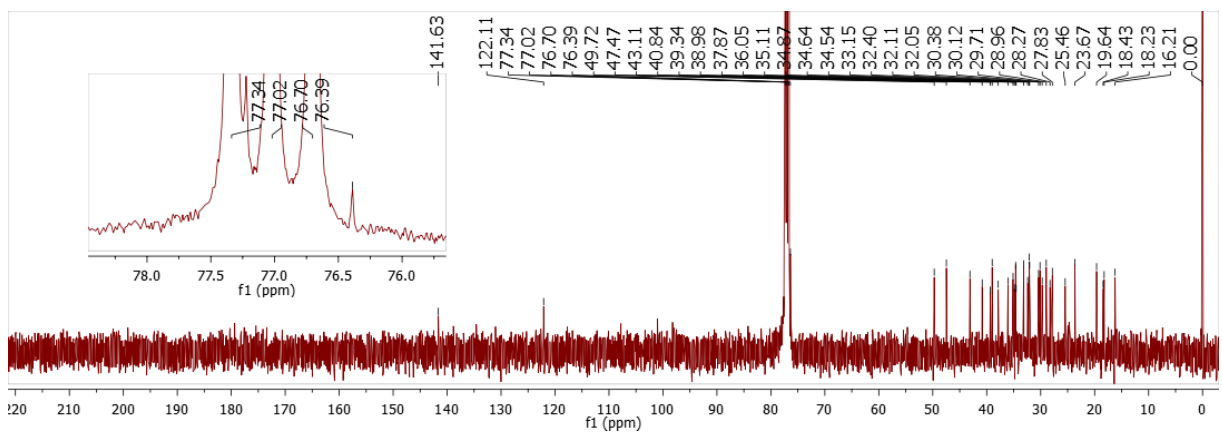
# APÊNDICE

## M. Espectros de P4 (glutinol)

### M1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P4



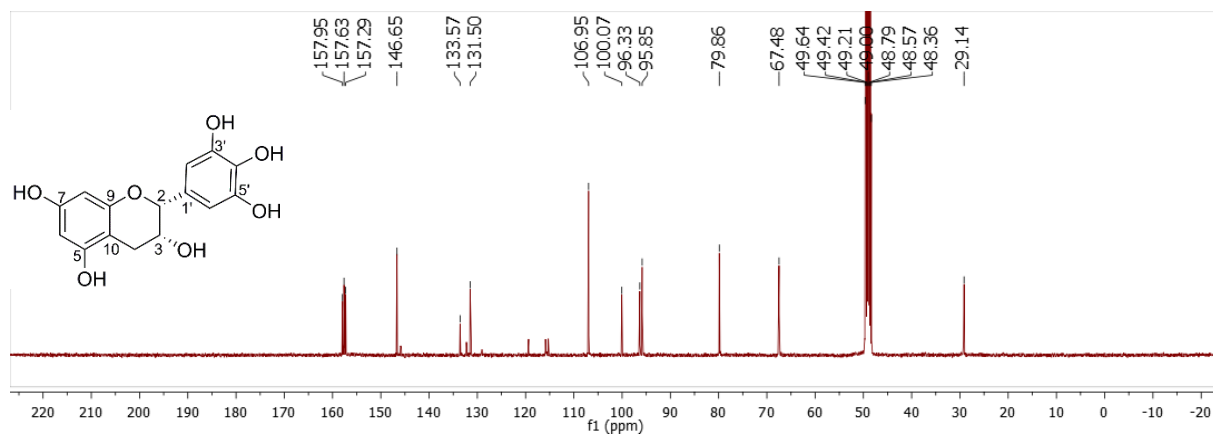
### M2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de P4



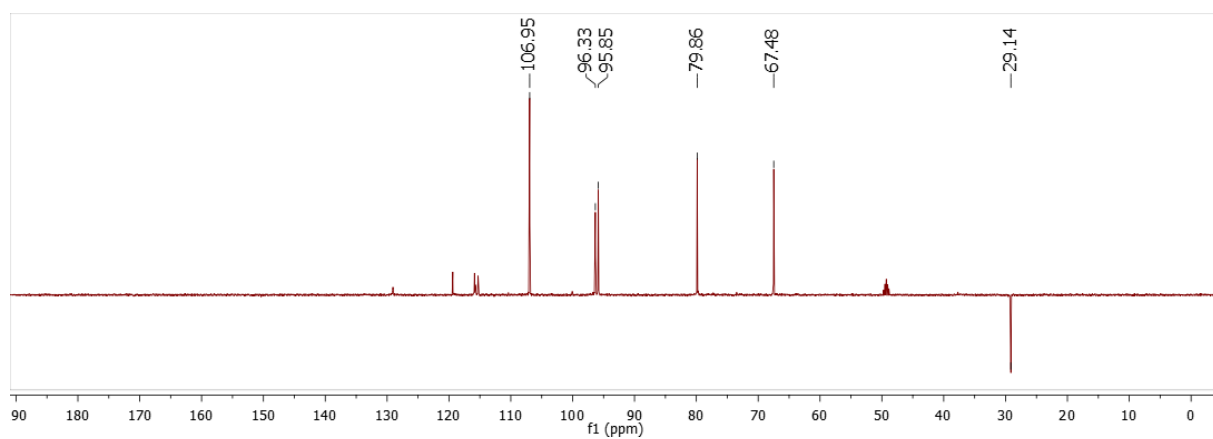


## APÊNDICE

### N2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de P14



### N3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de P14

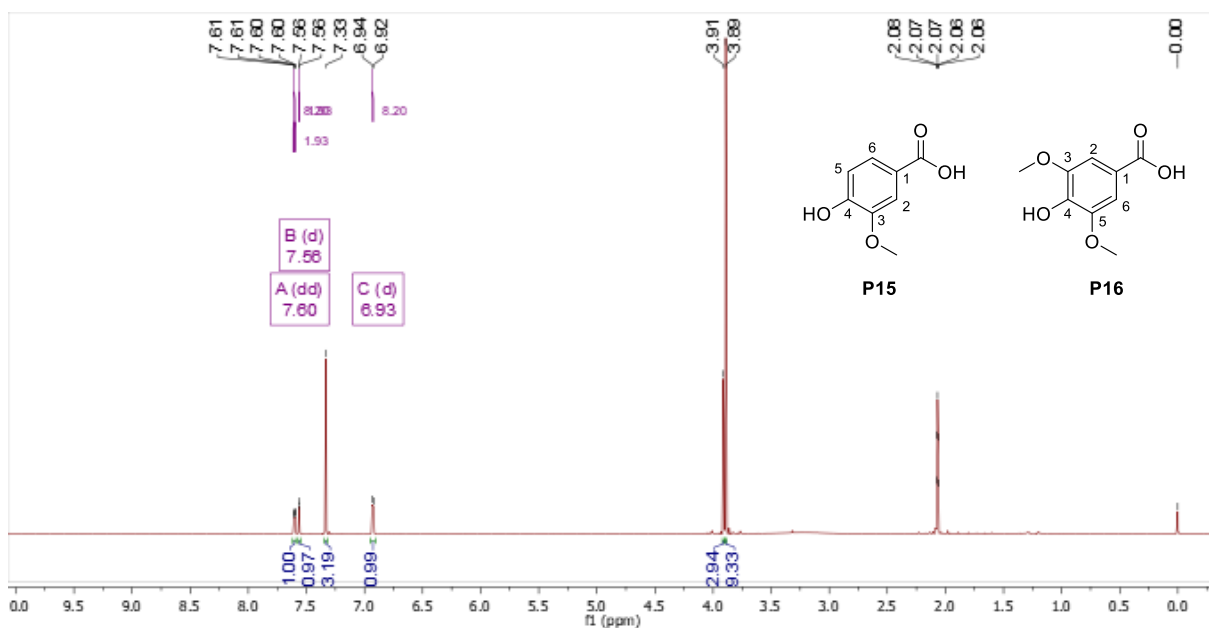




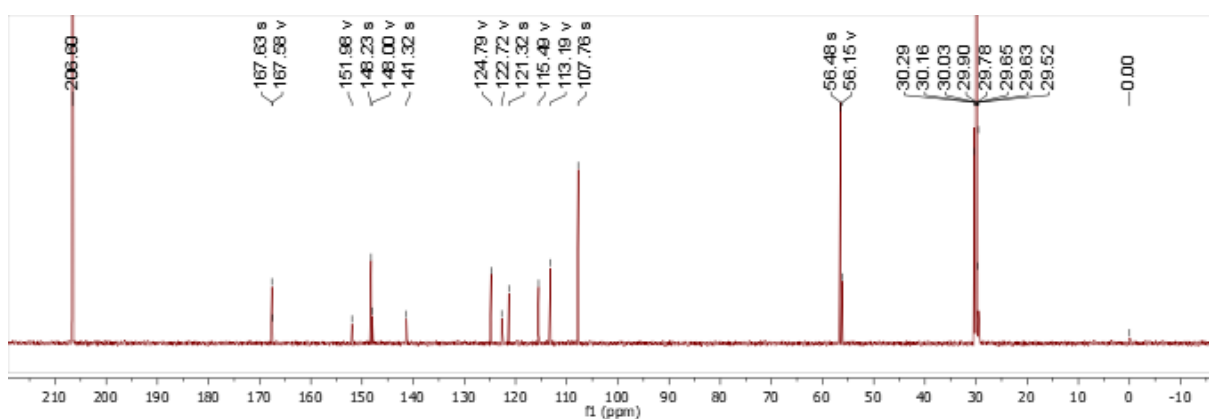
## APÊNDICE

O. Espectros de P15 (ácido vanílico) e P16 (ácido siríngico)

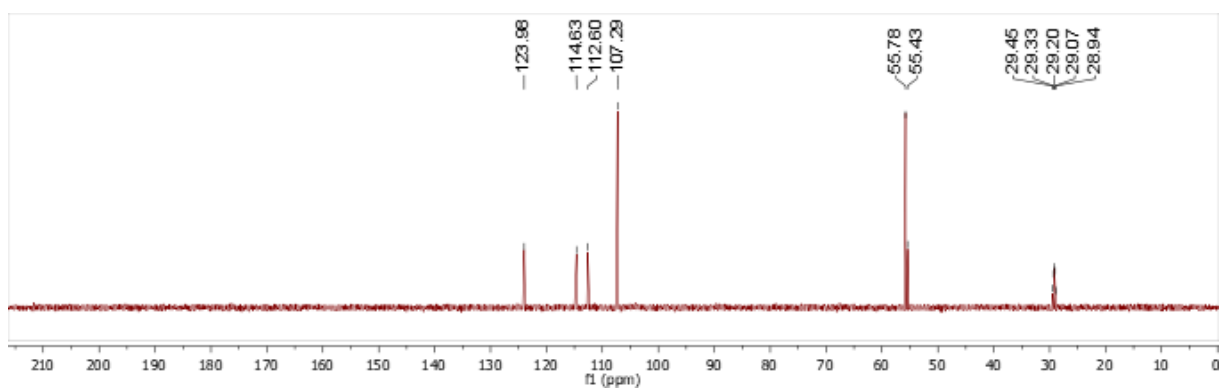
O1 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (600 MHz, acetona- $d_6$ ) de **P15+P16**



O2 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, acetona- $d_6$ ) de **P15+P16**



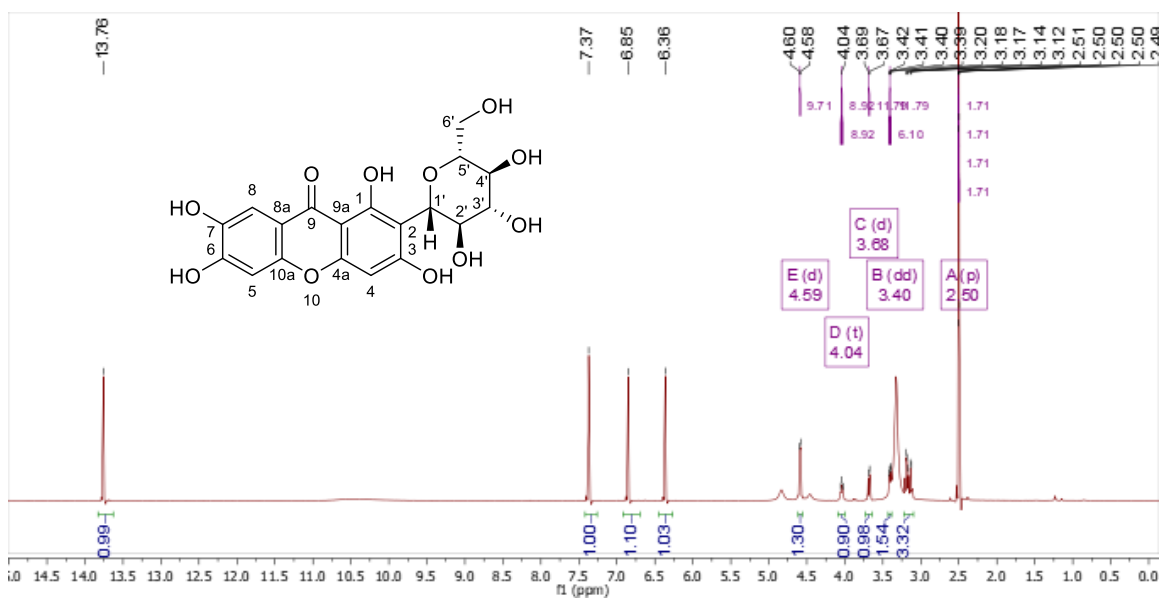
O3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, acetona- $d_6$ ) de **P15+P16**



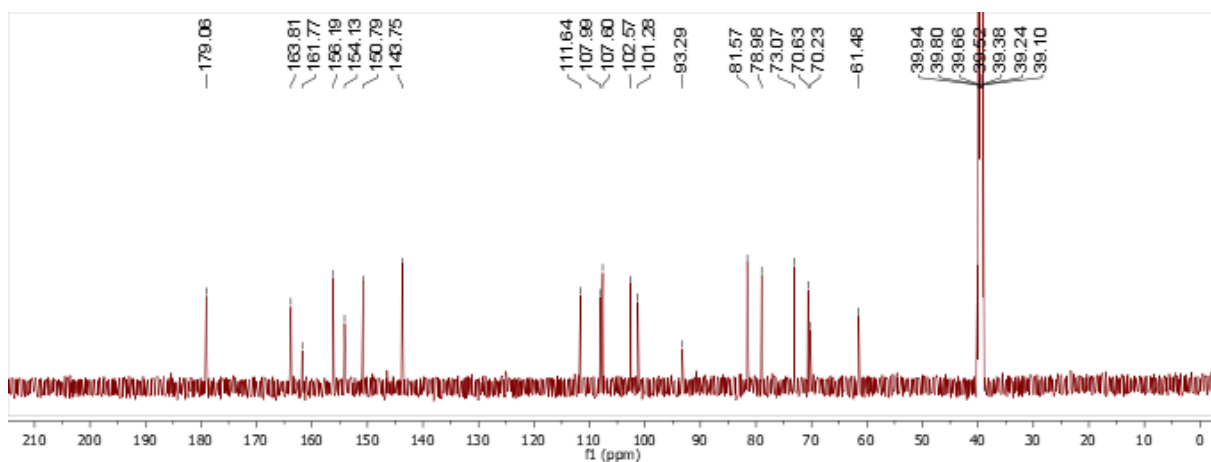
## APÊNDICE

### P. Espectros de P17 (mangiferina)

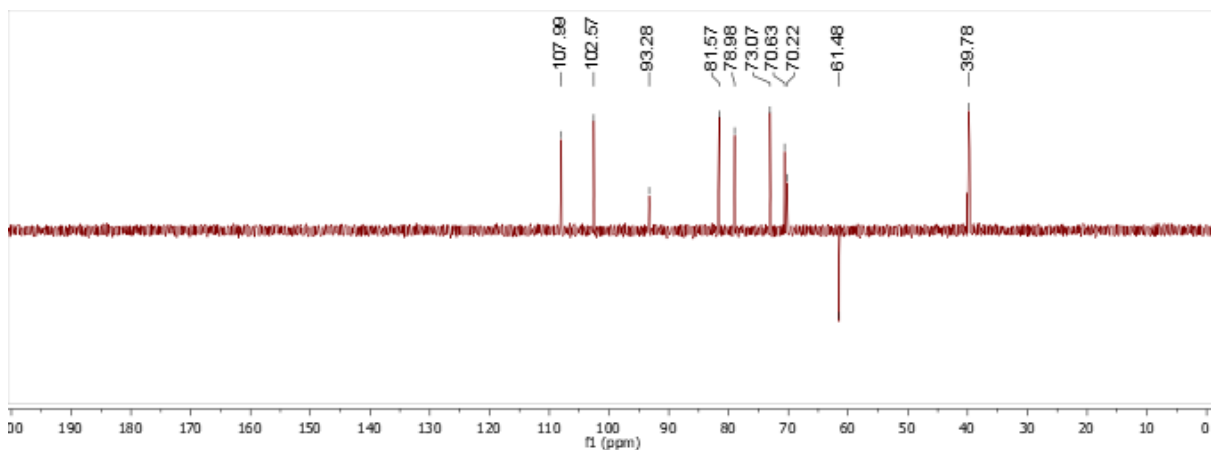
#### P1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, DMSO- $d_6$ ) de P17



#### P2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) de P17



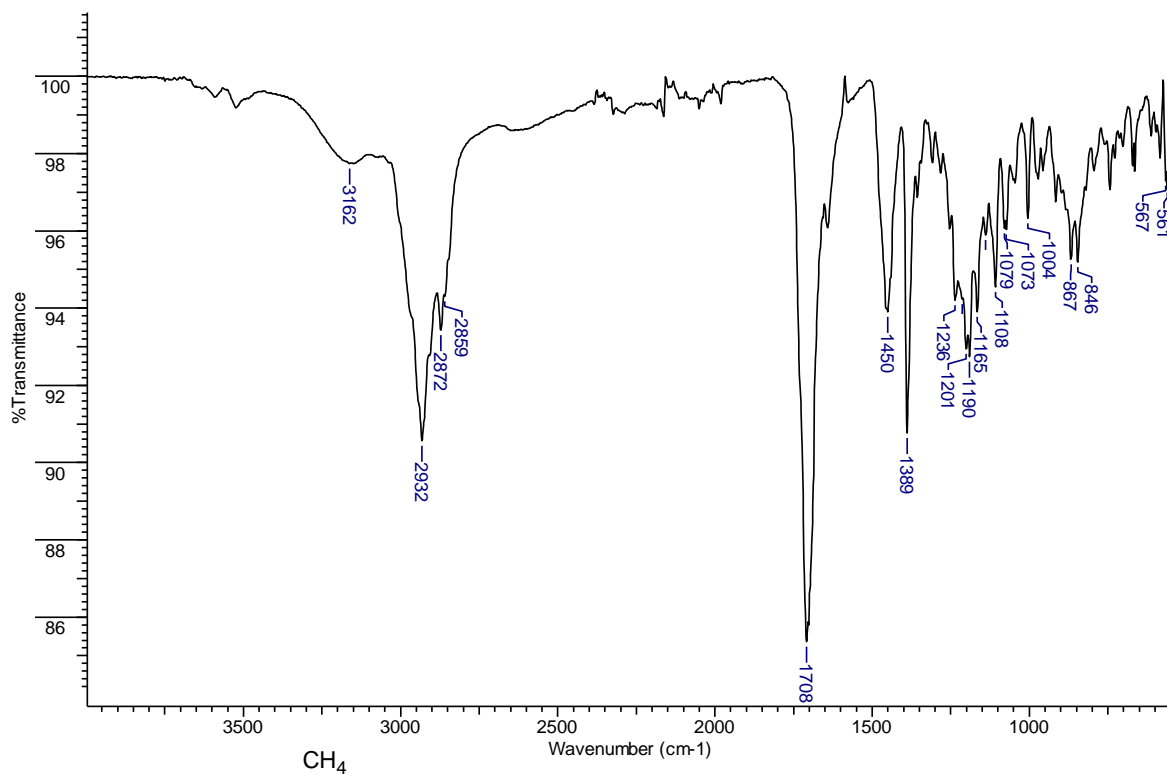
#### P3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, DMSO- $d_6$ ) de P17



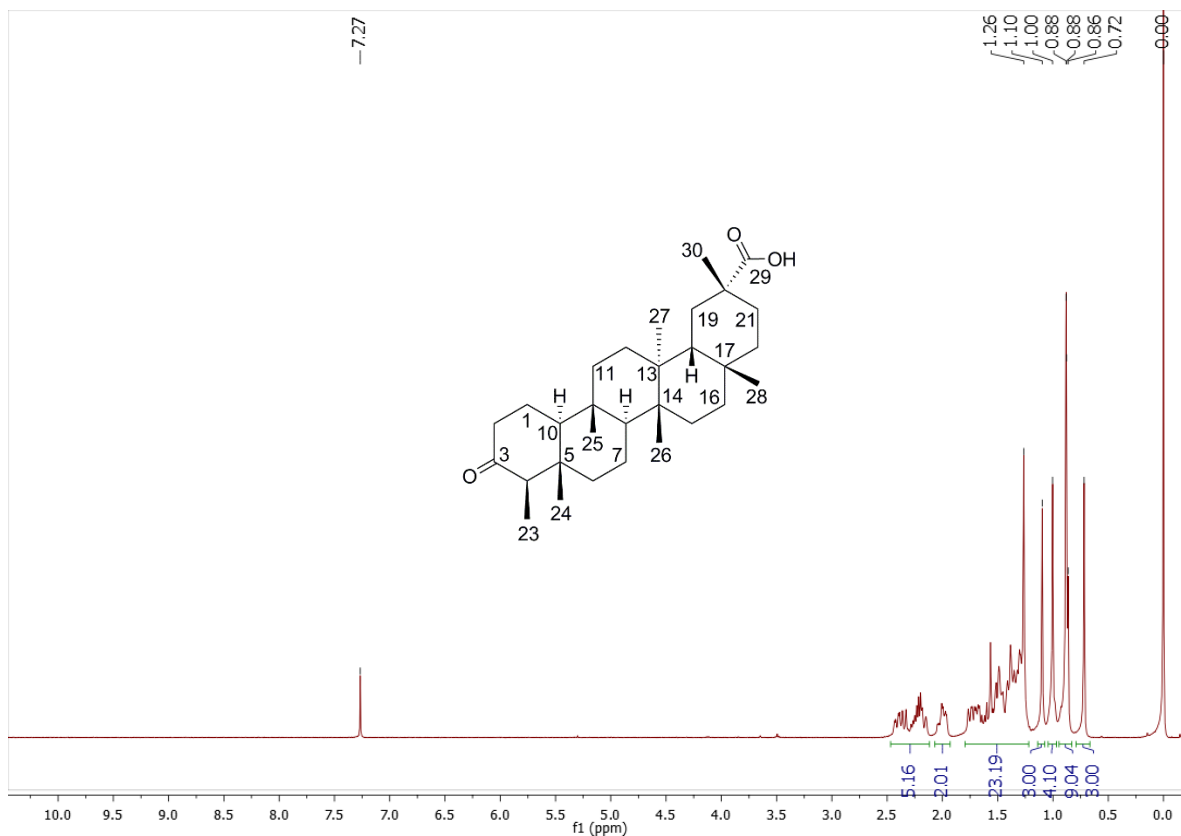
## APÊNDICE

### Q. Espectros de S1 (ácido populônico)

#### Q1 – Espectro na região do IV de S1 (ATR)

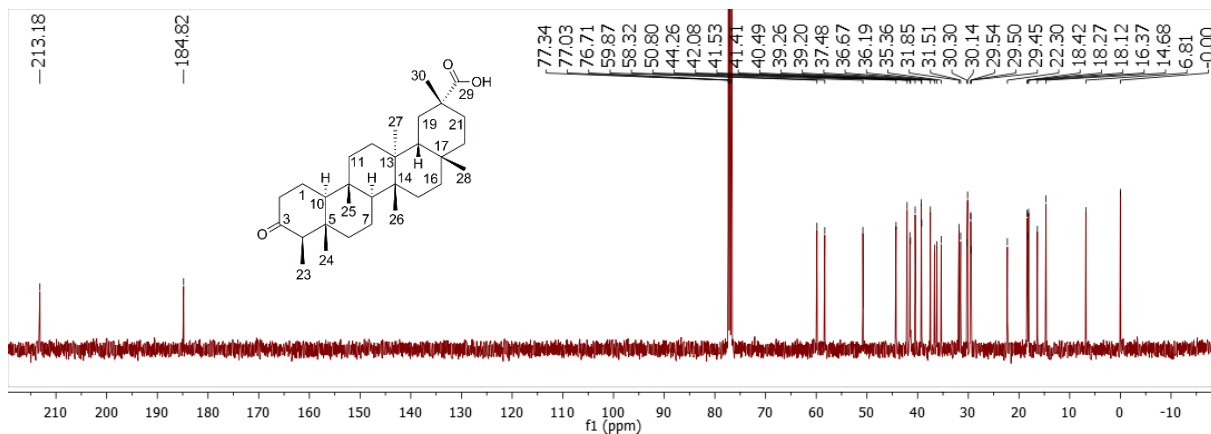


#### Q2 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S1

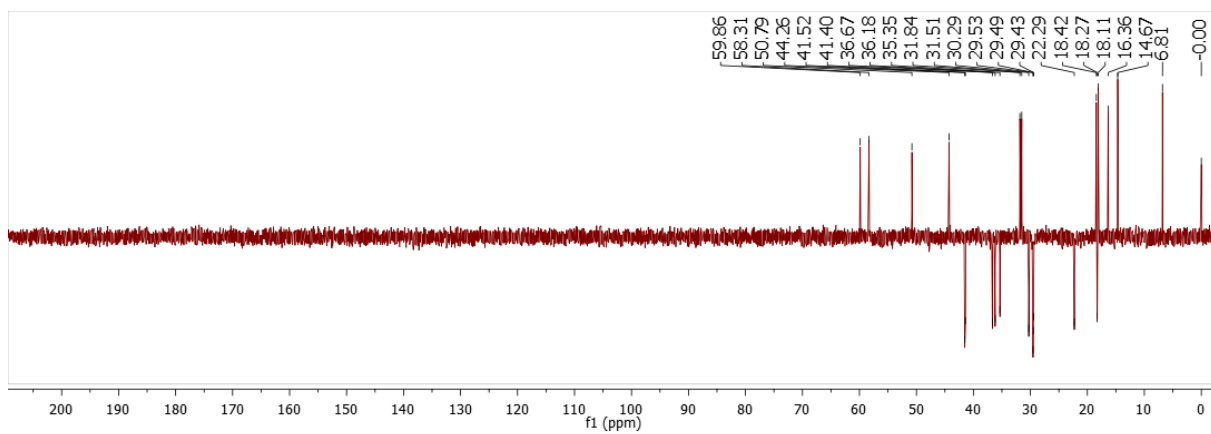


## APÊNDICE

### Q3 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S1**

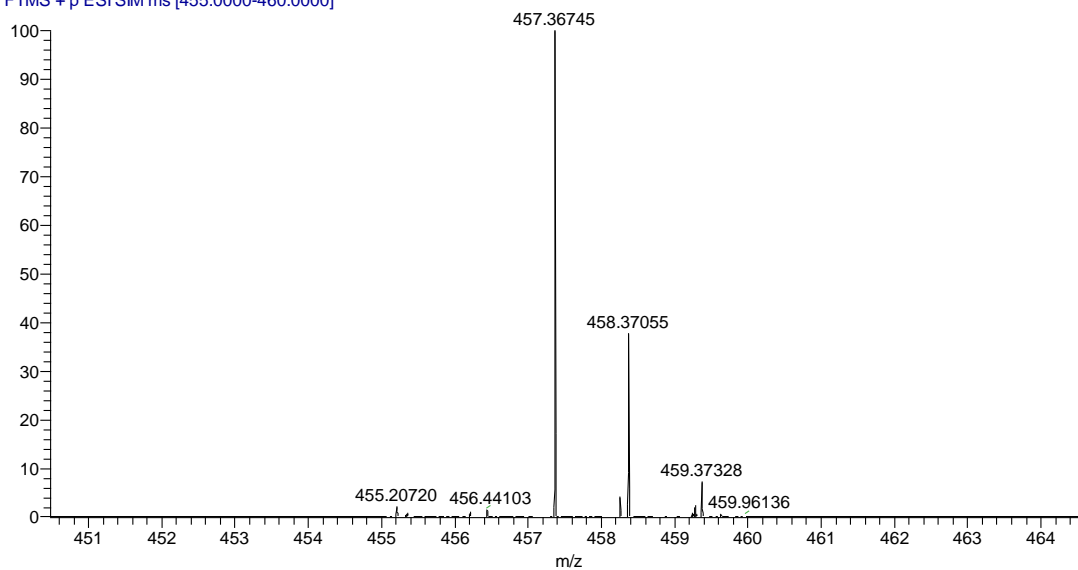


### Q4 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S1**



### Q5 – Espectro de massas de alta resolução de **S1** (H-ESI modo positivo)

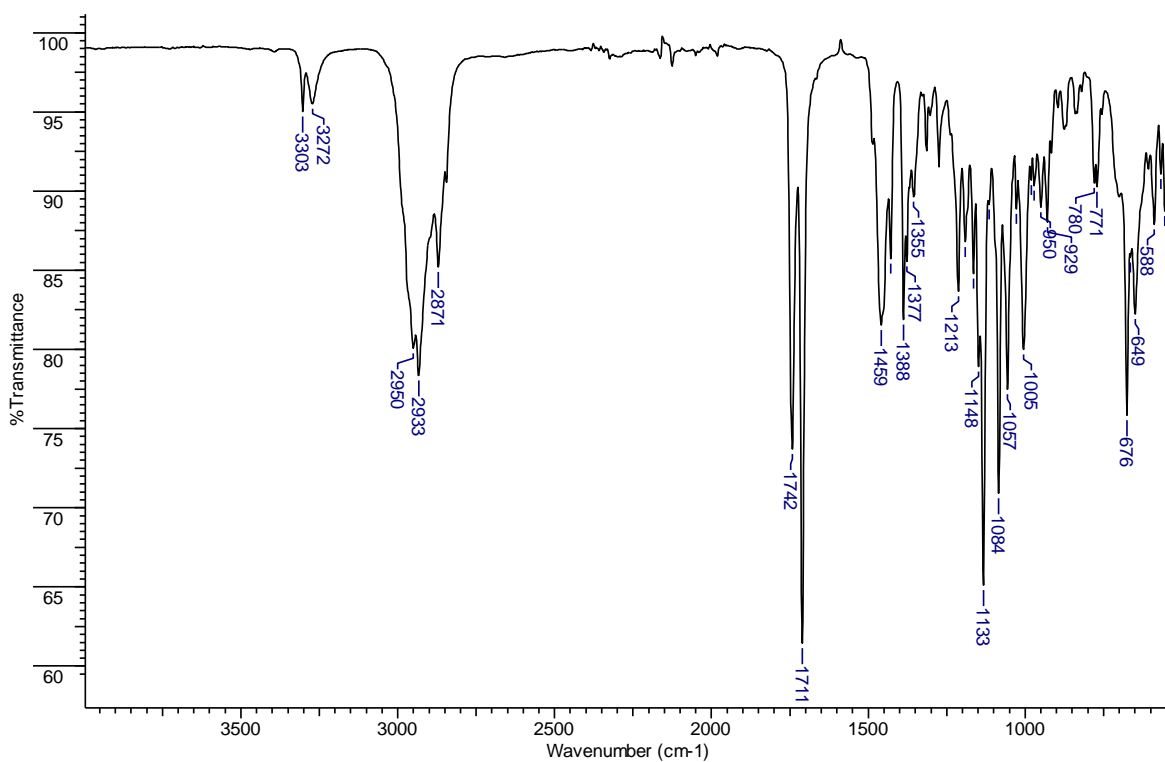
R2\_pos\_455a460 #5-44 RT: 0.02-0.20 AV: 40 NL: 4.89E6  
T: FTMS + p ESI SIM ms [455.0000-460.0000]



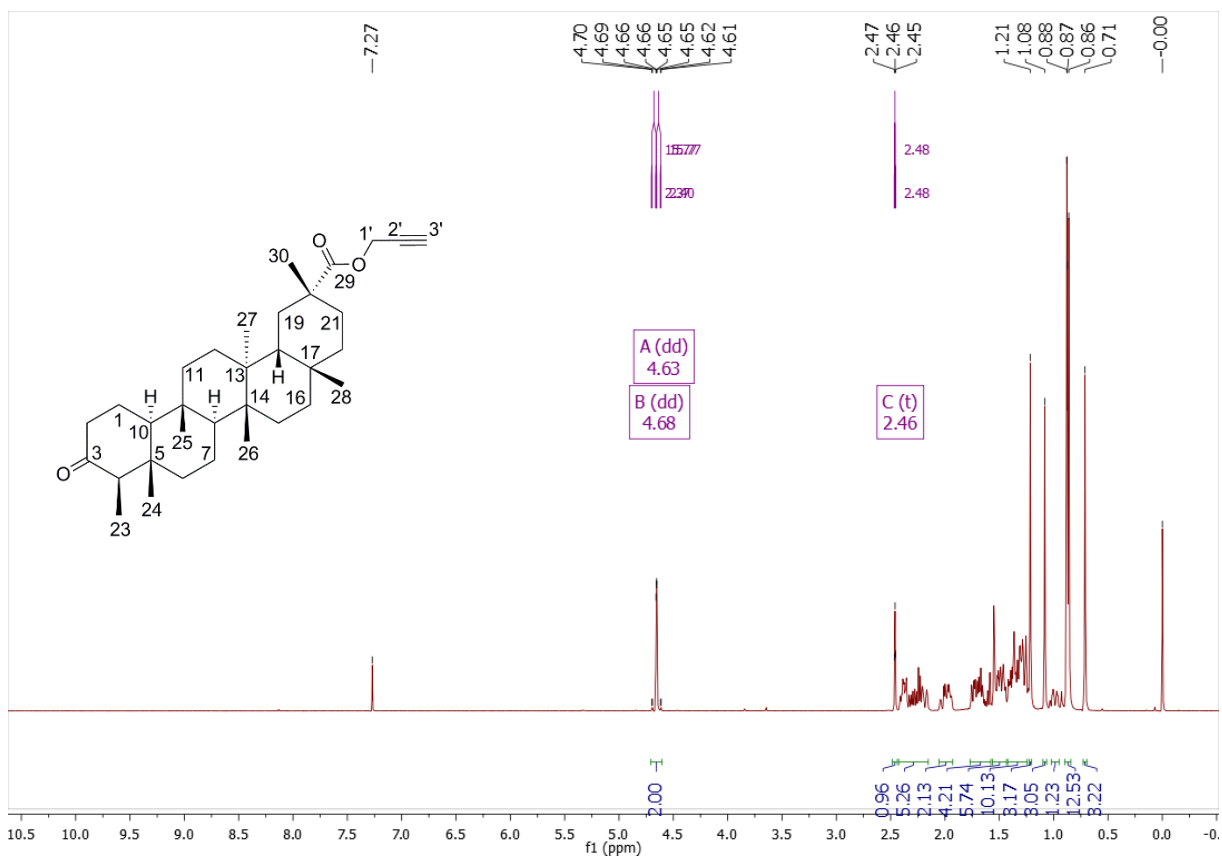
## APÊNDICE

### R. Espectros de S2 (populnonato de propargila)

#### R1 – Espectro na região do IV de S2 (ATR)

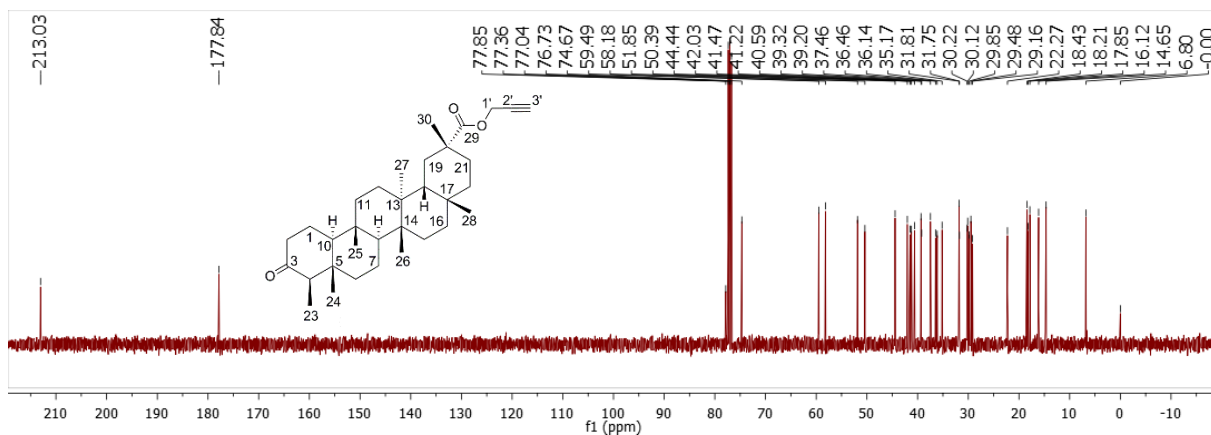


#### R2 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S2

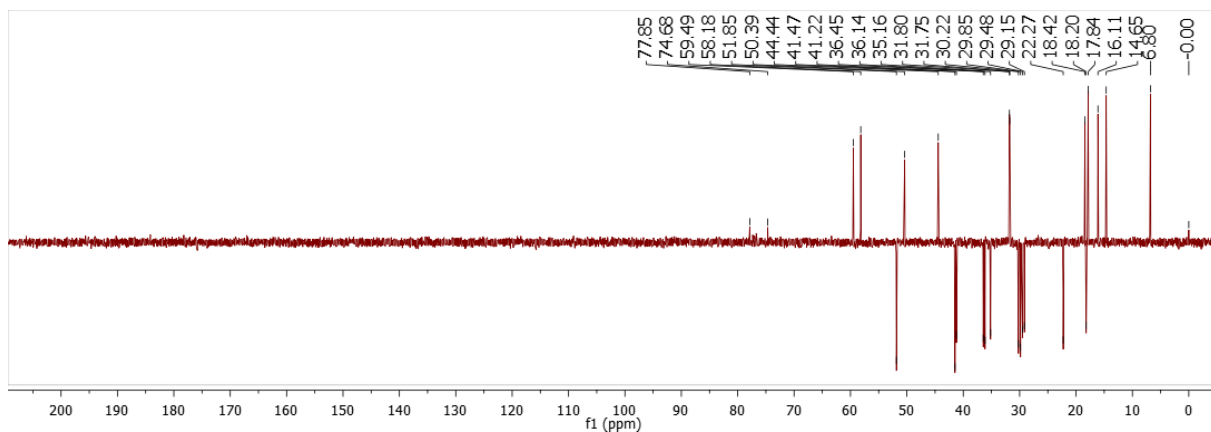


## APÊNDICE

### R3 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S2**

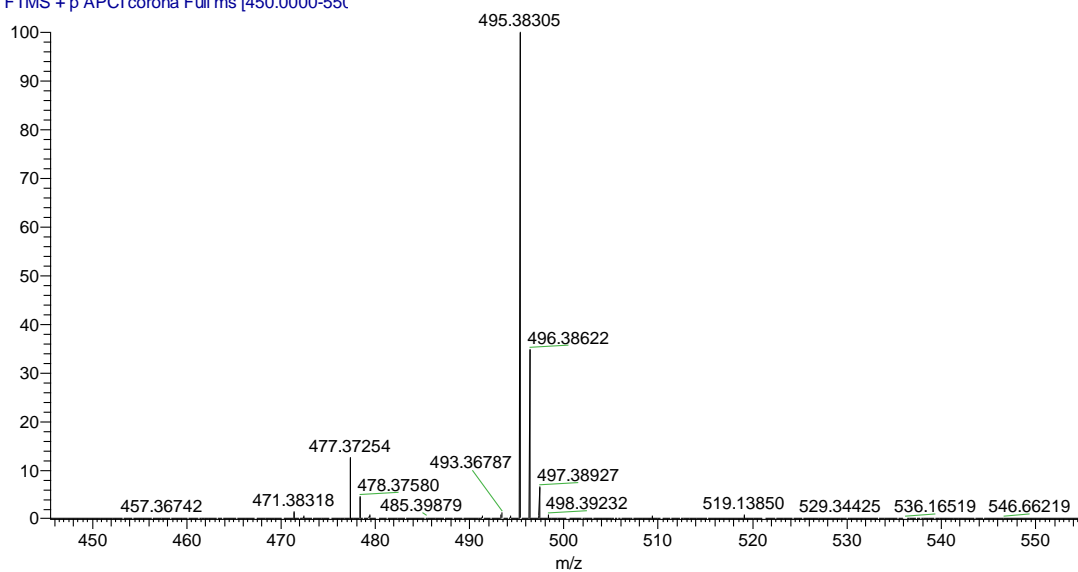


### R4 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S2**



### R5 – Espectro de massas de alta resolução de **S2** (APCI modo positivo)

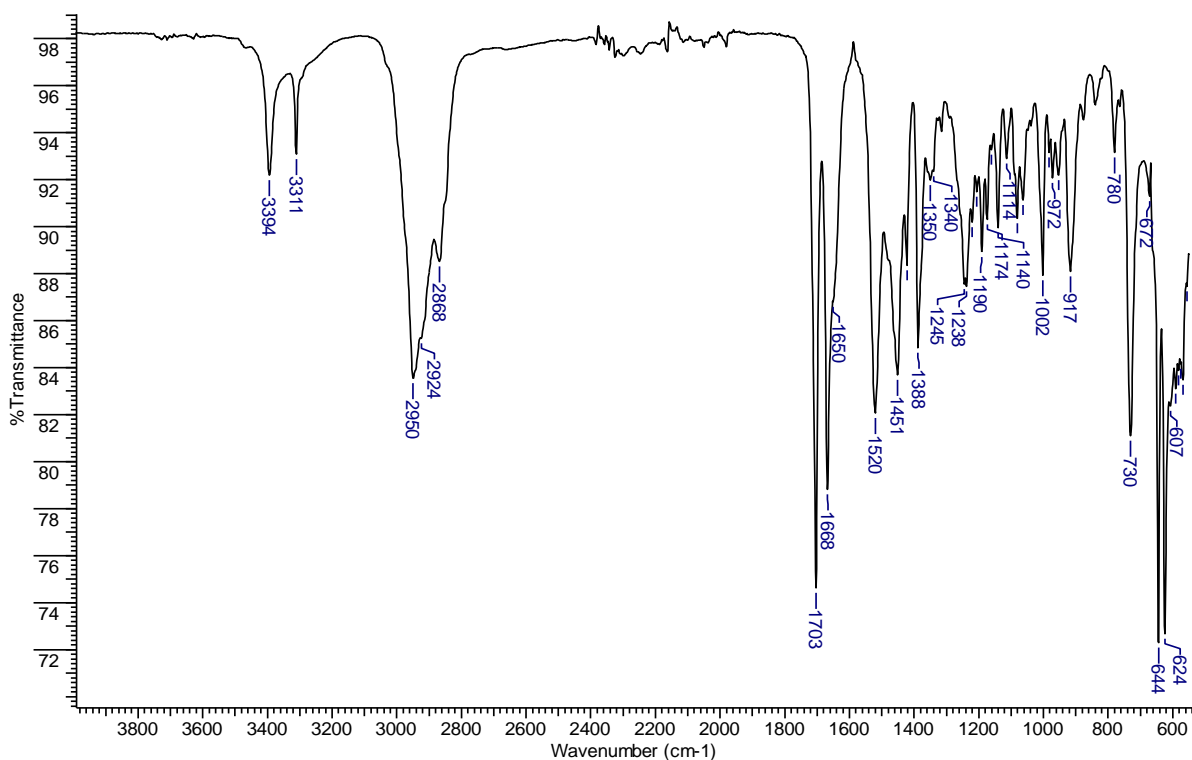
R5\_pos\_2 #4-46 RT: 0.02-0.20 AV: 43 NL: 1.11E8  
T: FTMS + p APCI corona Full ms [450.0000-550]



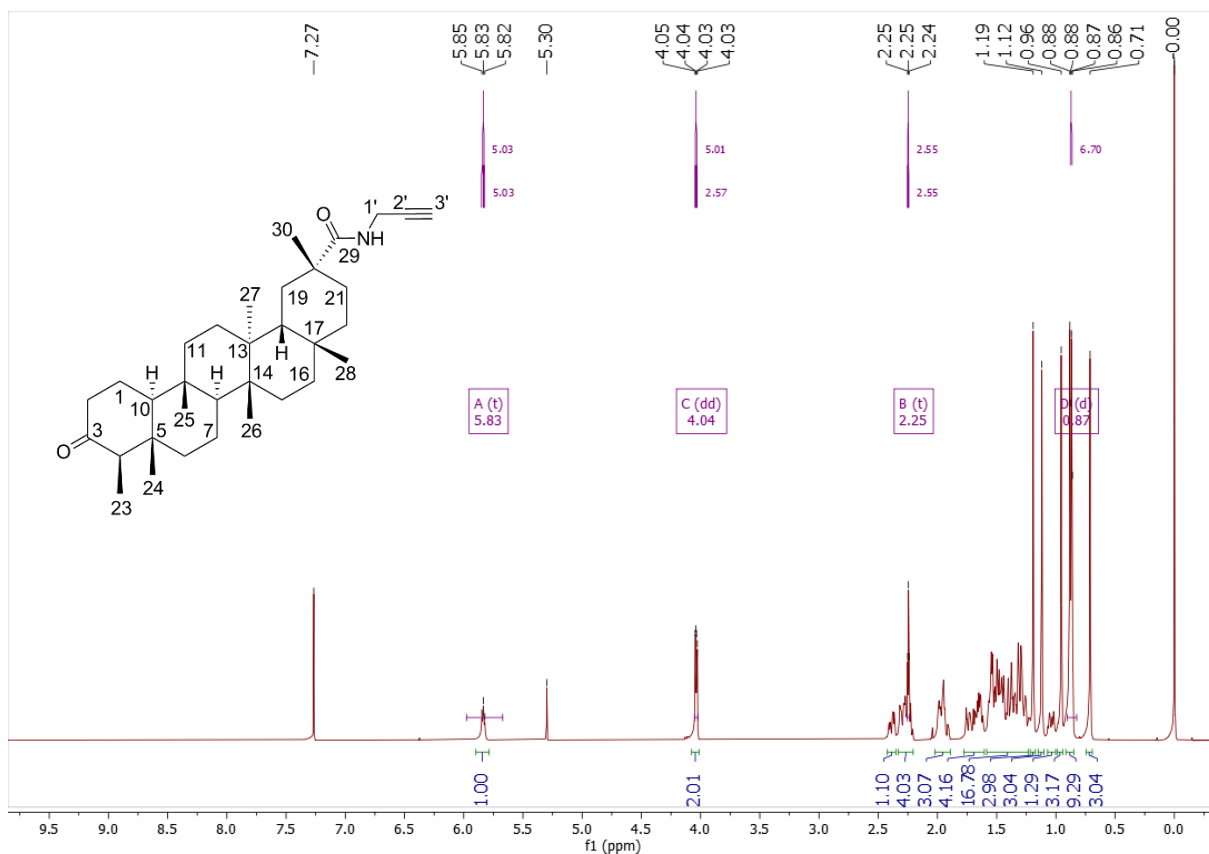
## APÊNDICE

### S. Espectros de S3 (*N*-propargilpopulnonamida)

#### S1 – Espectro na região do IV de S3 (ATR)

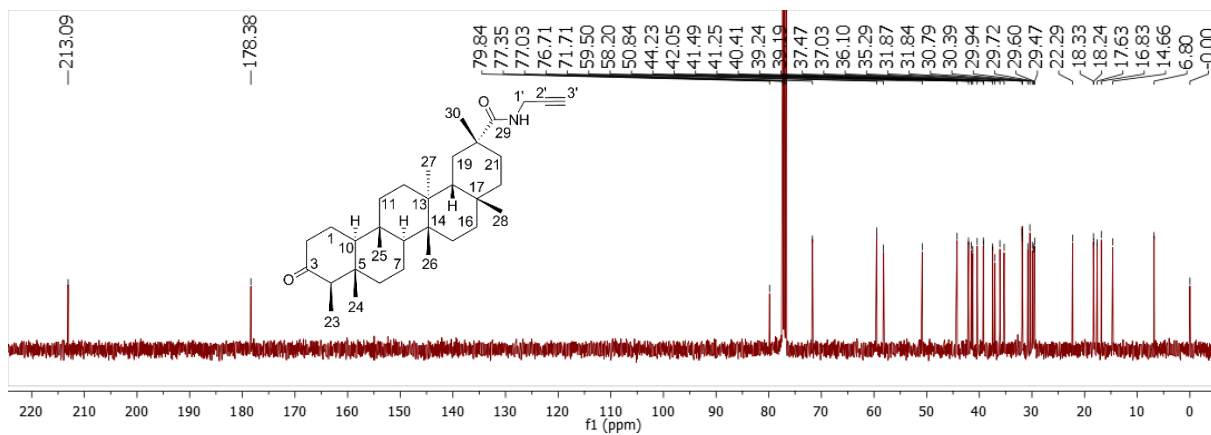


#### S2 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S3

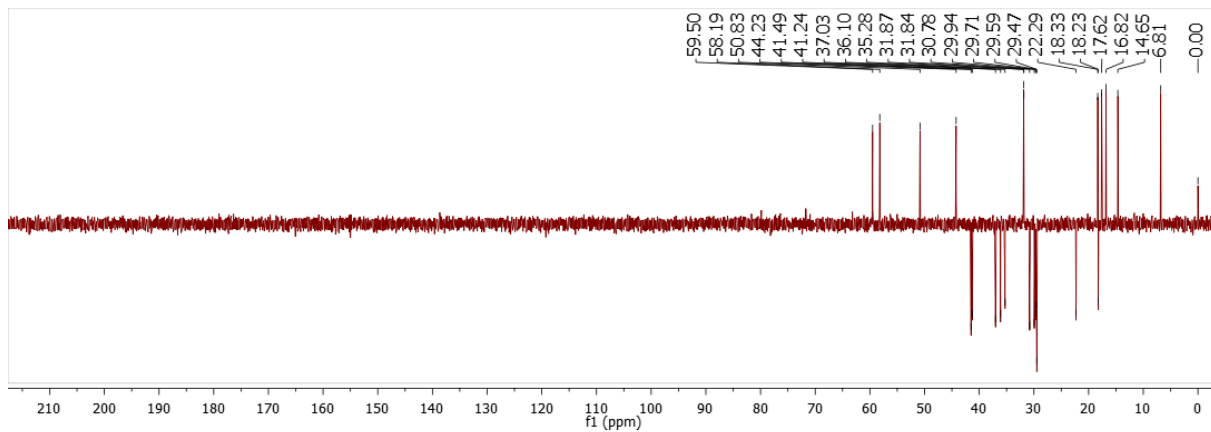


## APÊNDICE

### S3 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S3

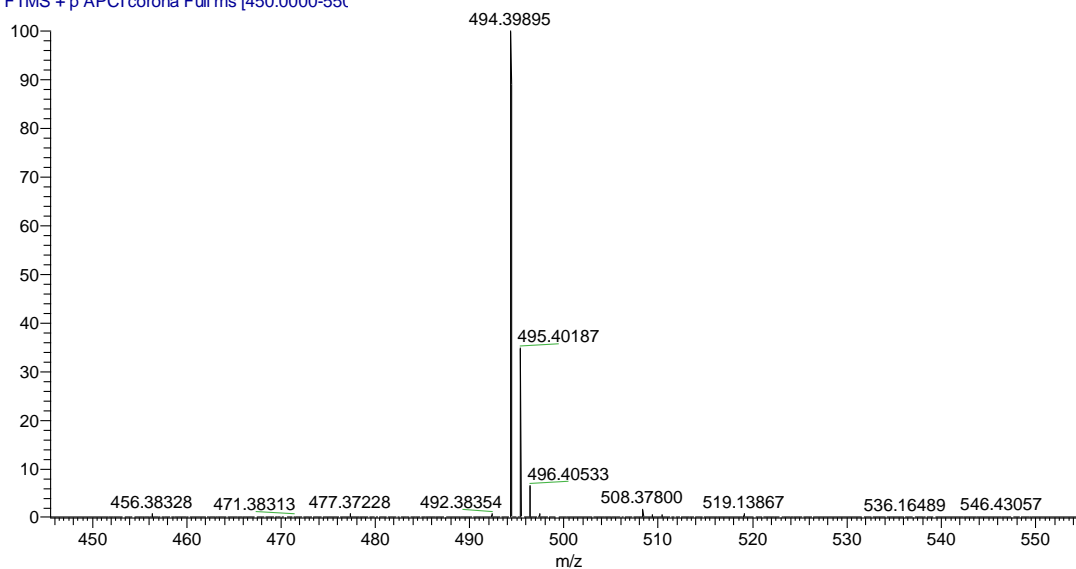


### S4 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S3



### S5 – Espectro de massas de alta resolução de S3 (APCI modo positivo)

R6\_pos #3-48 RT: 0.01-0.21 AV: 46 NL: 1.25E8  
T: FTMS + p APCI corona Full ms [450.0000-550]



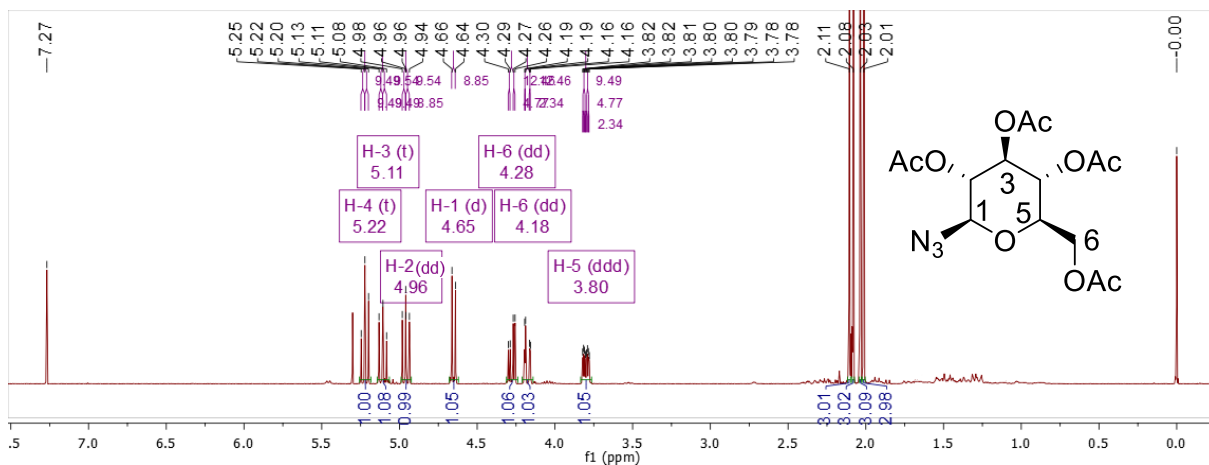


## APÊNDICE

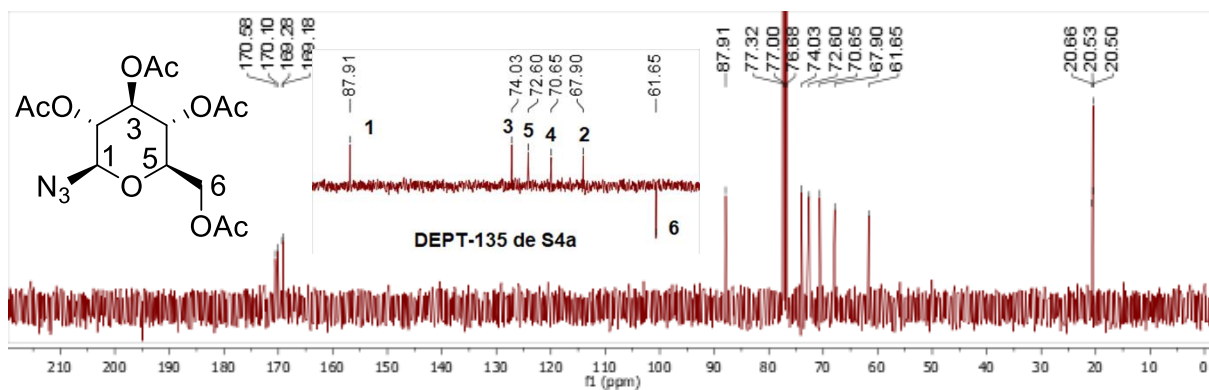
### T. Espectros das glicosilazidas S4a-e

#### T1. 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranoose (S4a)

##### T1.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S4a

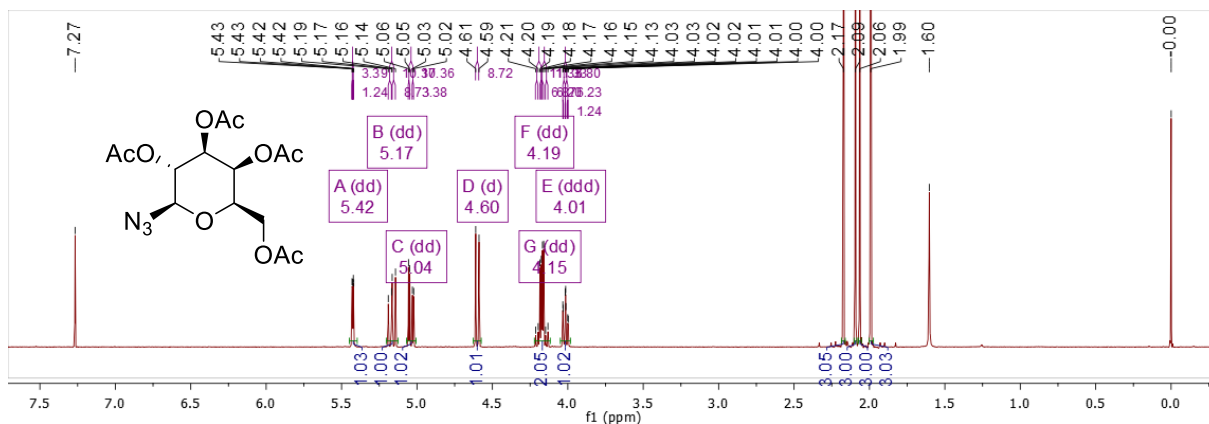


##### T1.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S4a



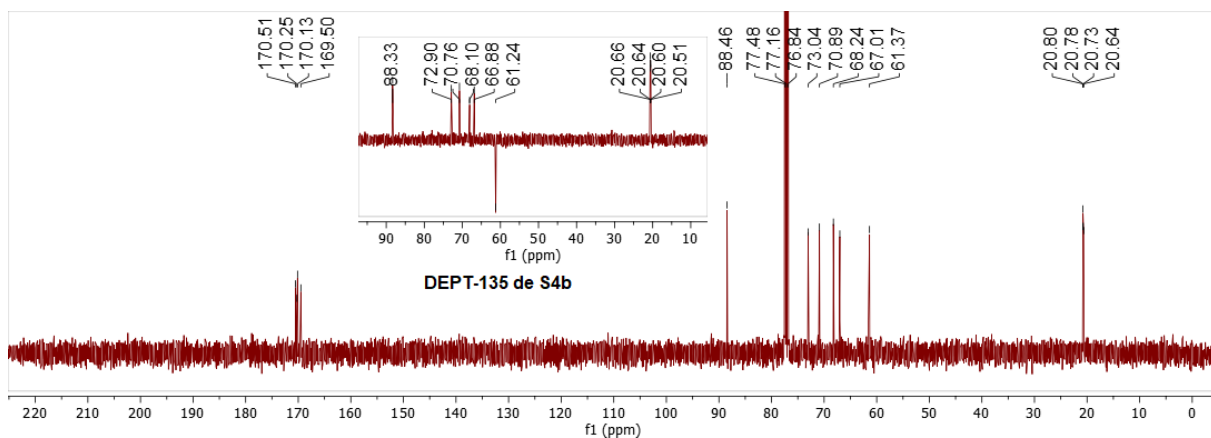
#### T2. 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranoose (S4b)

##### T2.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S4b



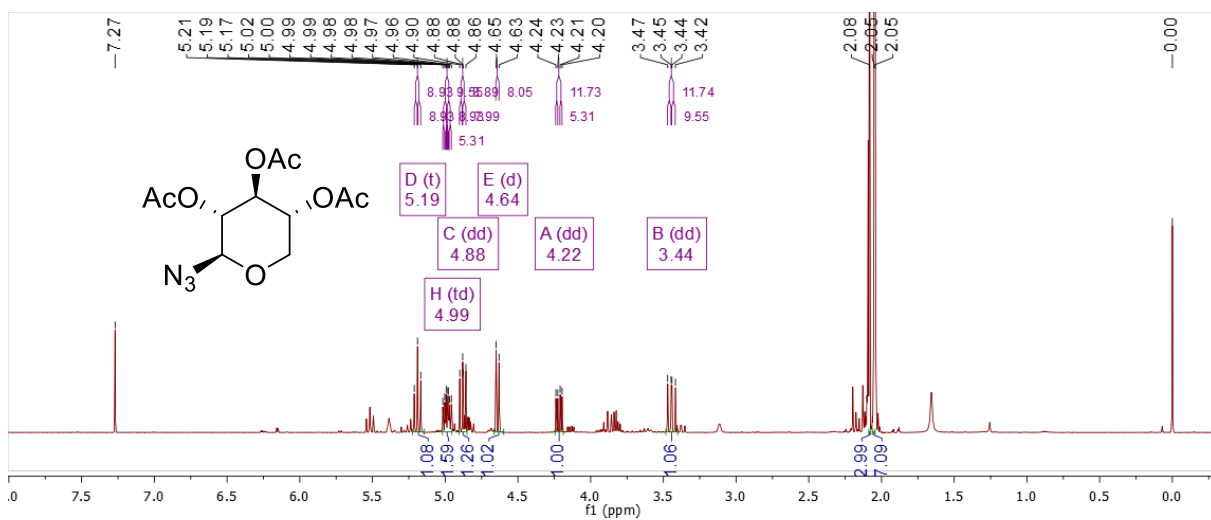
## APÊNDICE

### T2.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S4b**

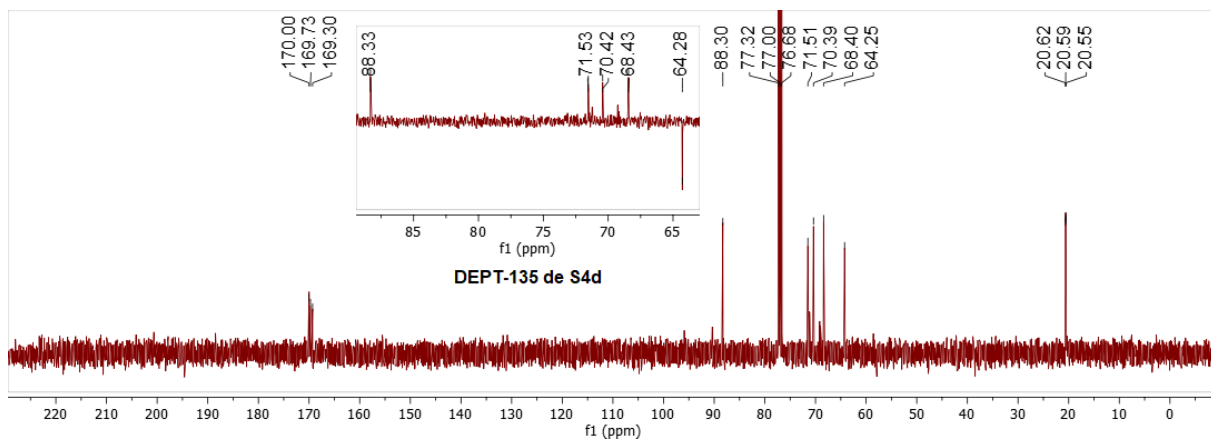


### T3. 2,3,4-tri-*O*-acetil-1-azido- $\beta$ -D-xilopiranoze (**S4d**)

#### T3.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S4d**



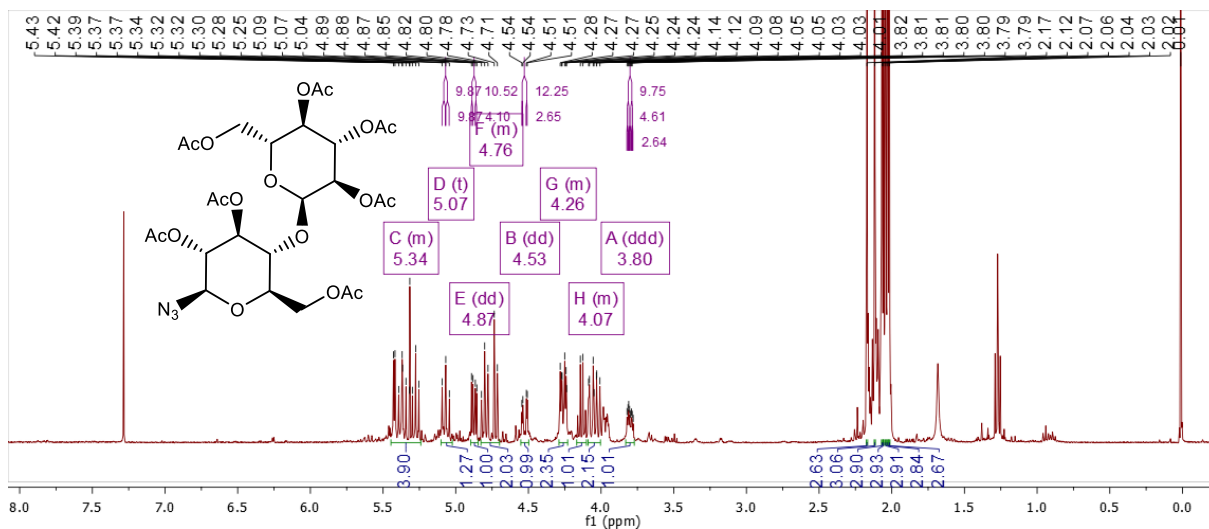
#### T3.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S4d**



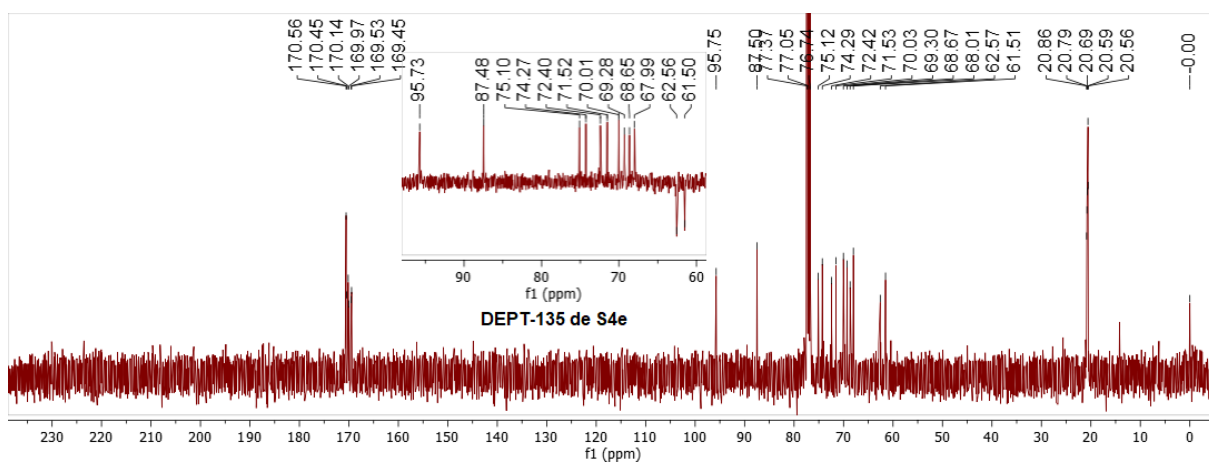
## APÊNDICE

### T4. 2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-azido-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranoose (**S4e**)

#### T4.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S4e**



#### T4.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S4e**

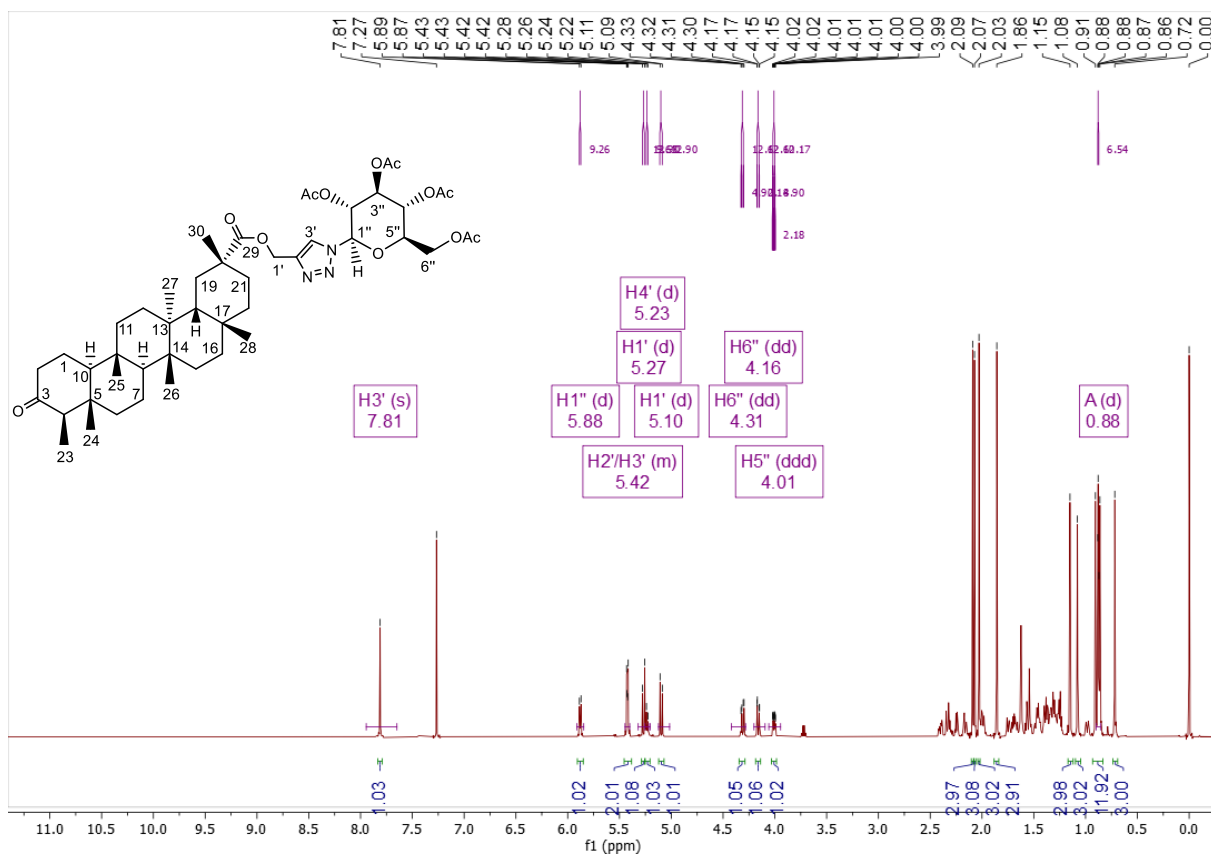


## APÊNDICE

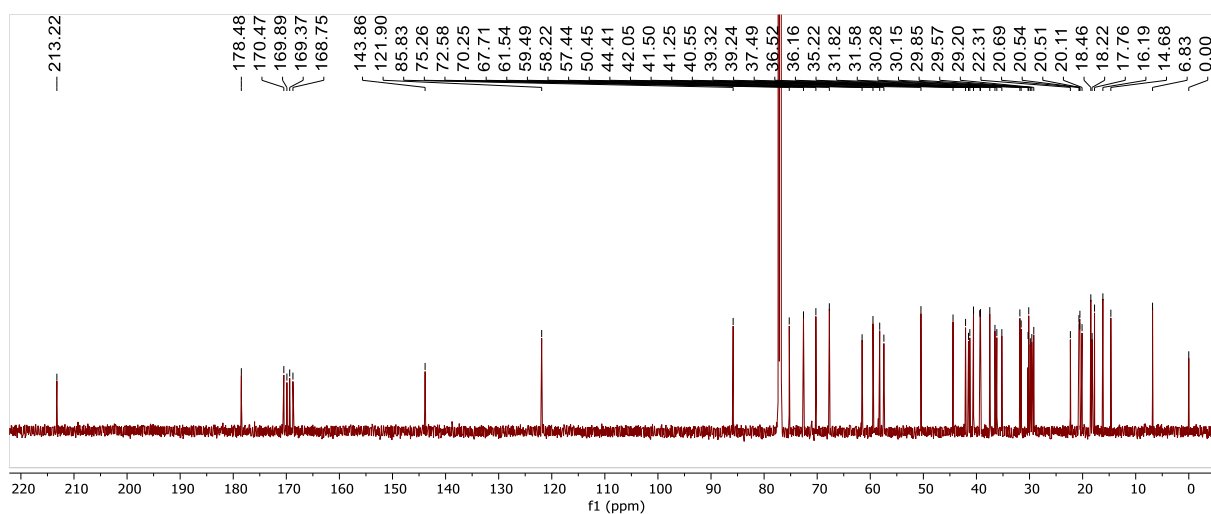
### U. Espectros dos derivados glicosiltriazólicos S5a-e

#### U1. Populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5a)

##### U1.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5a

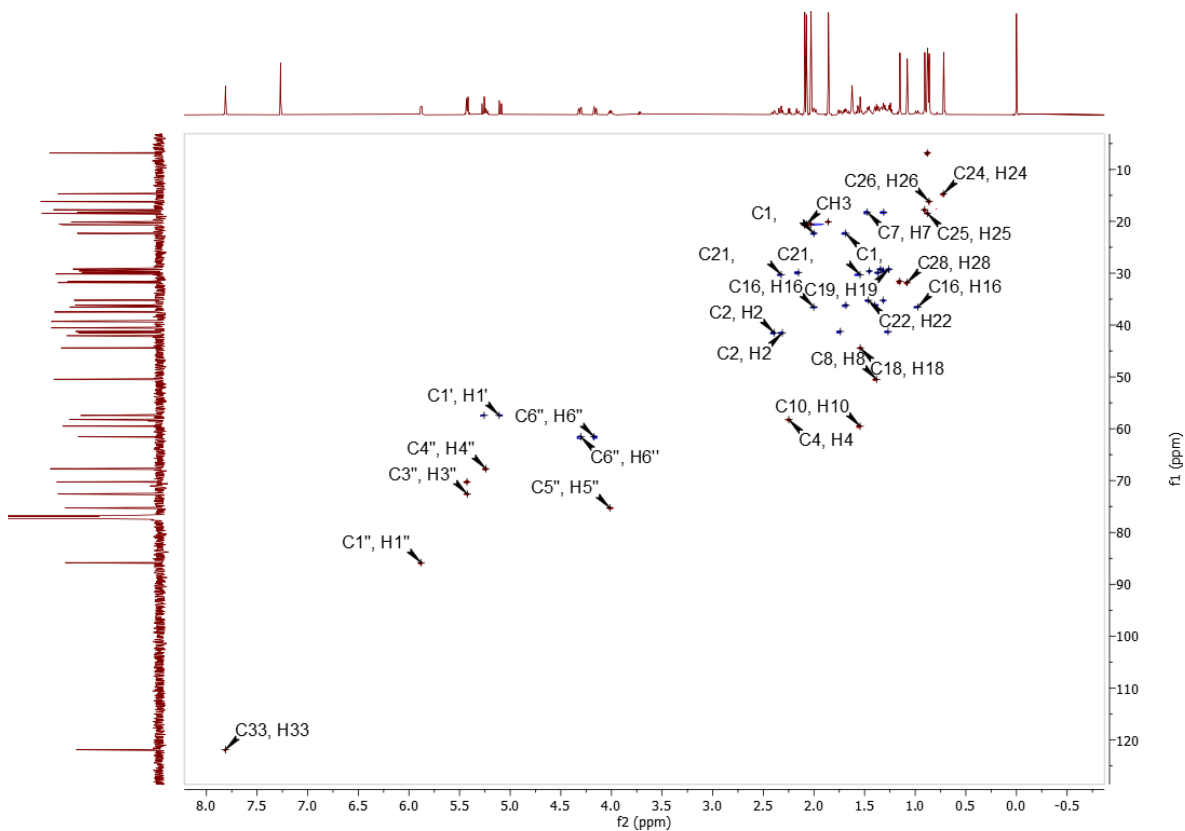


##### U1.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5a

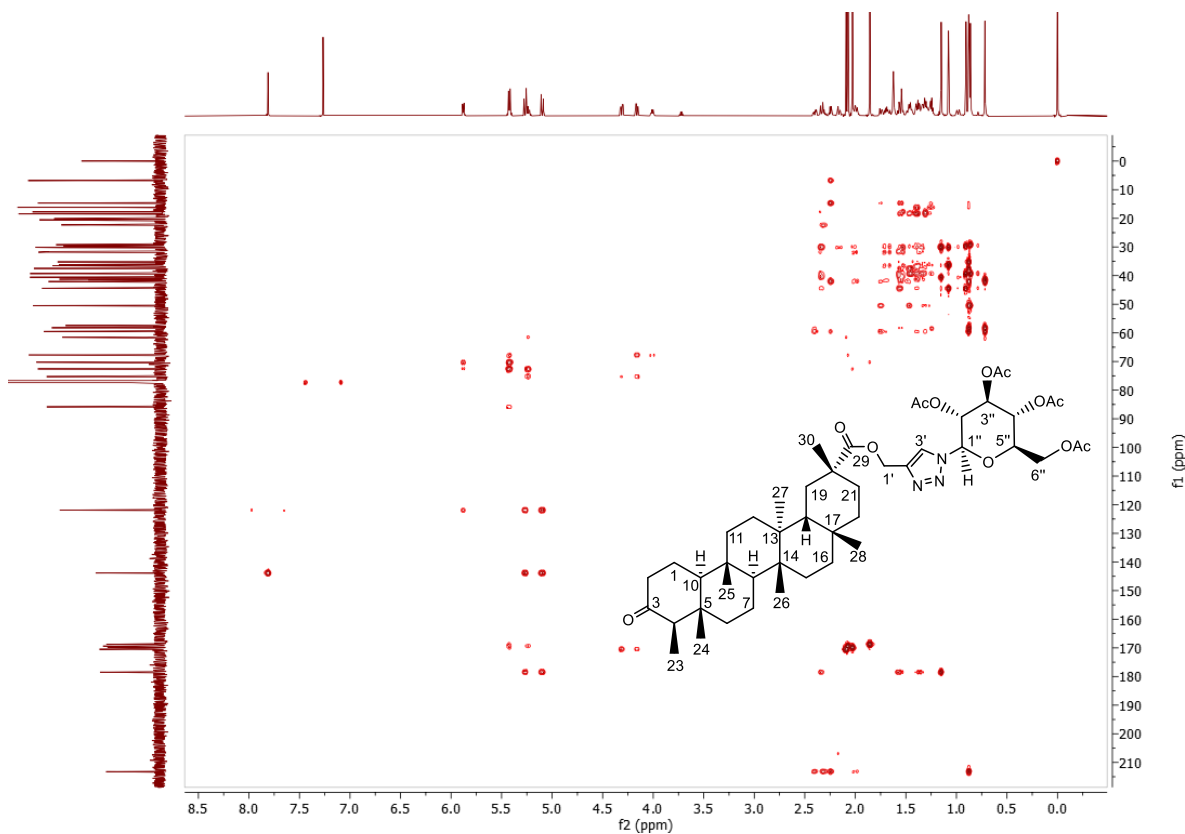


# APÊNDICE

## U1.3 – Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5a**

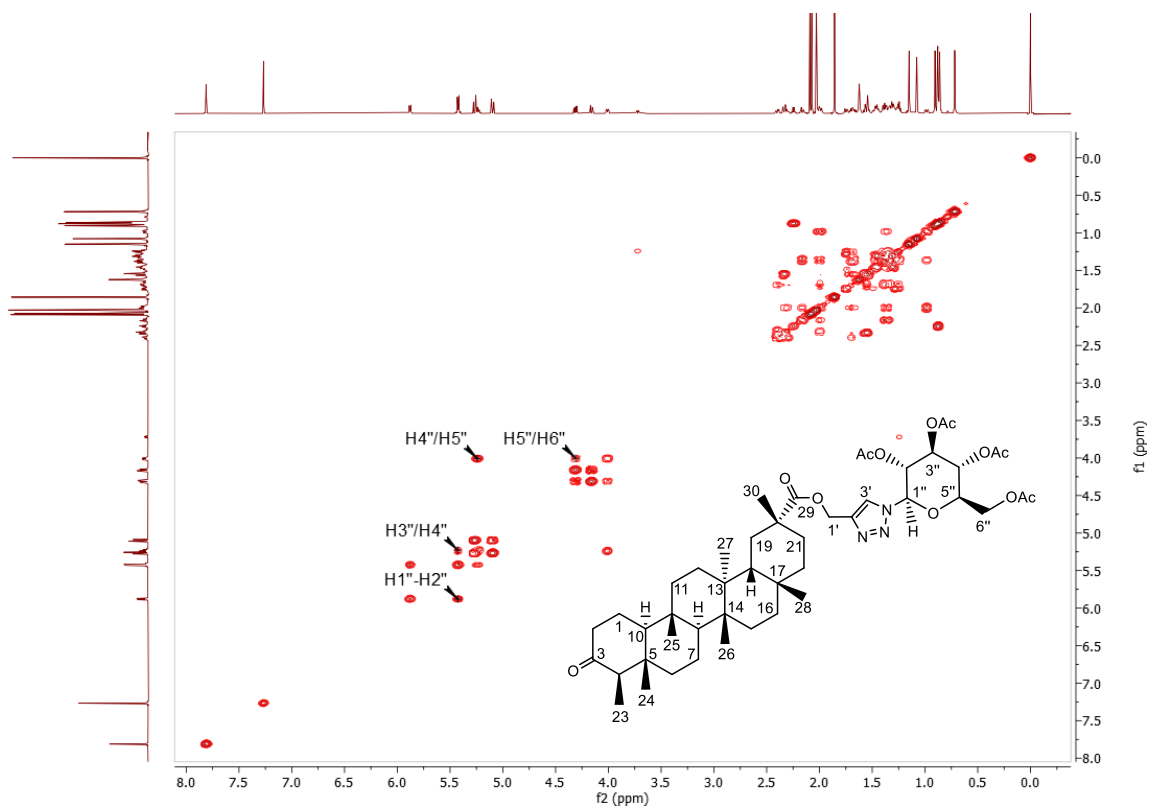


## U1.4 – Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5a**



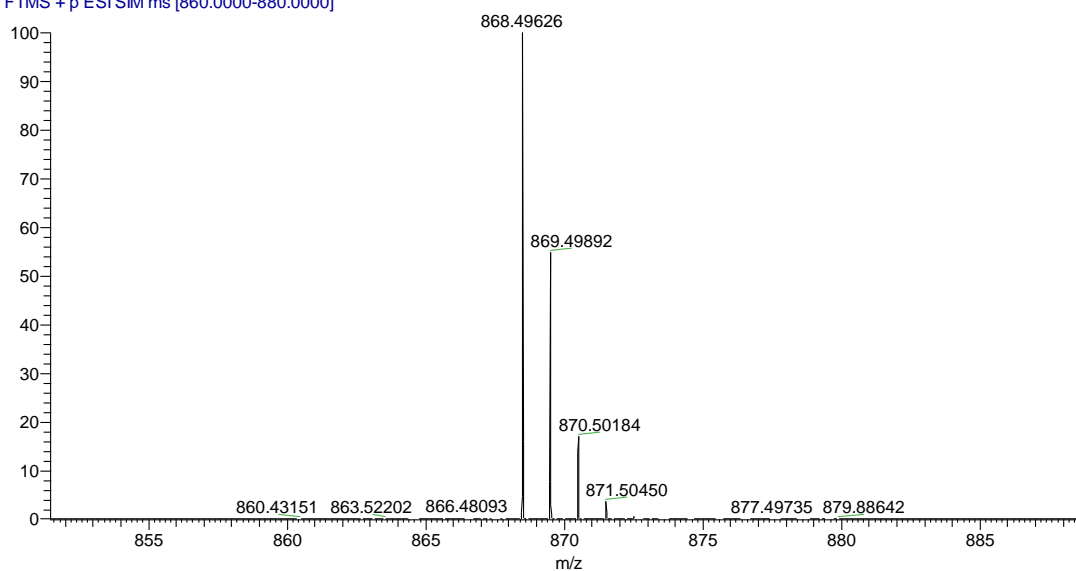
## APÊNDICE

### U1.5 – Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5a**



### U1.6 – Espectro de massas de alta resolução de **S5a** (H-ESI modo positivo)

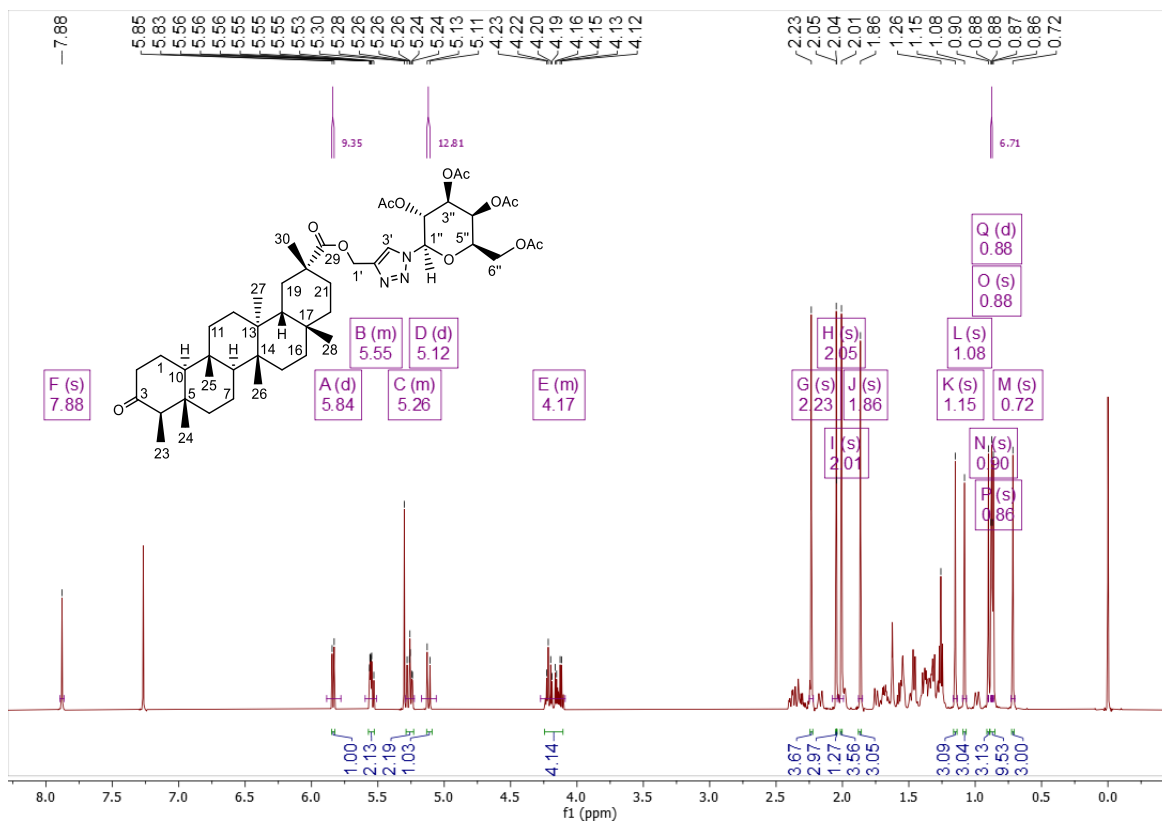
R7\_pos\_860a880 #4-46 RT: 0.02-0.20 AV: 43 NL: 4.76E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [860.0000-880.0000]



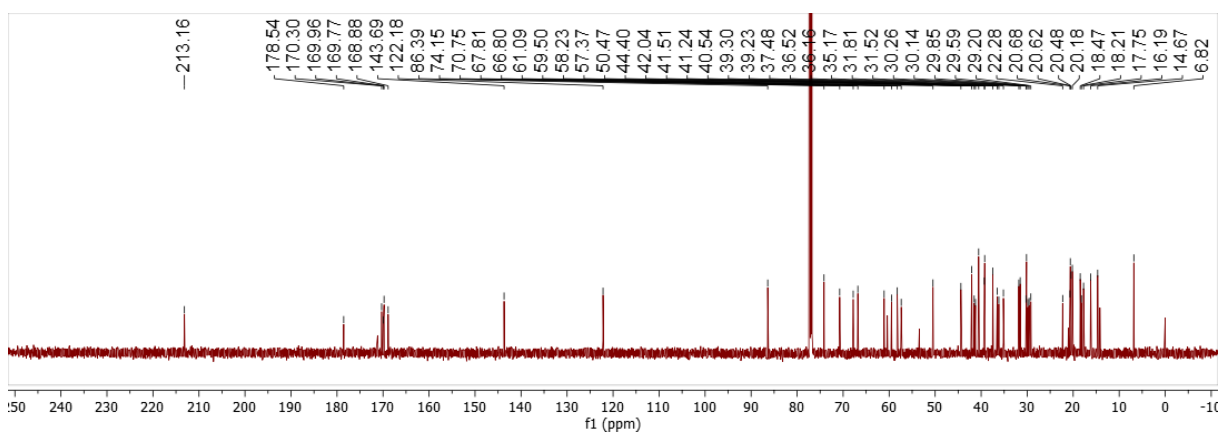
## APÊNDICE

### U2. Populnonato de (1-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5b)

#### U2.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5b

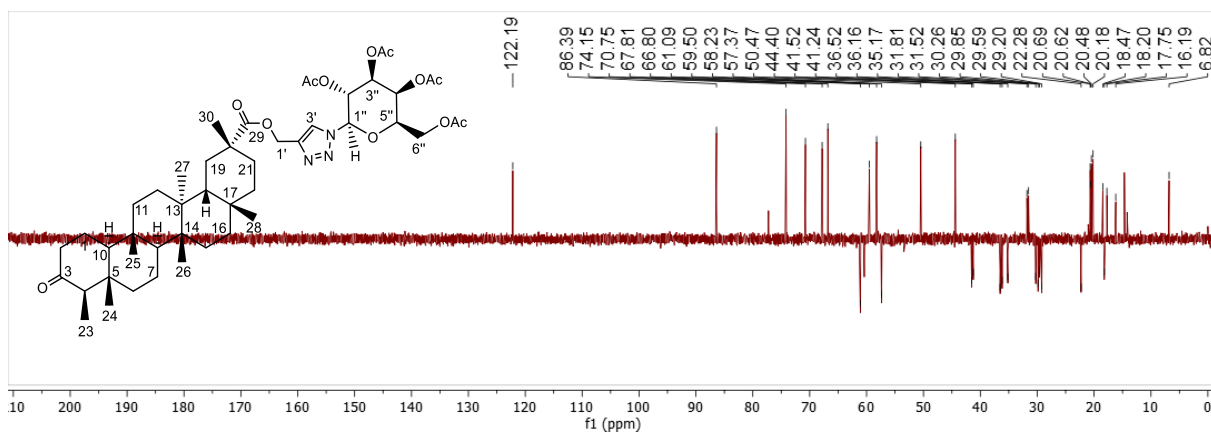


#### U2.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5b



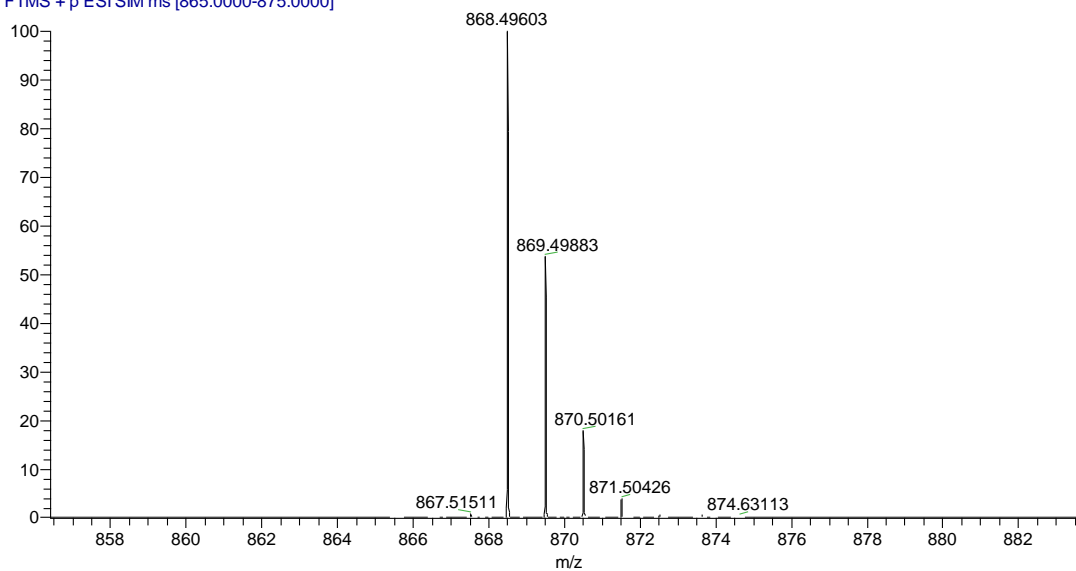
## APÊNDICE

### U2.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5b**



### U2.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S5b** (H-ESI modo positivo)

R9\_pos\_865a875 #6-45 RT: 0.03-0.20 AV: 40 NL: 3.23E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [865.0000-875.0000]

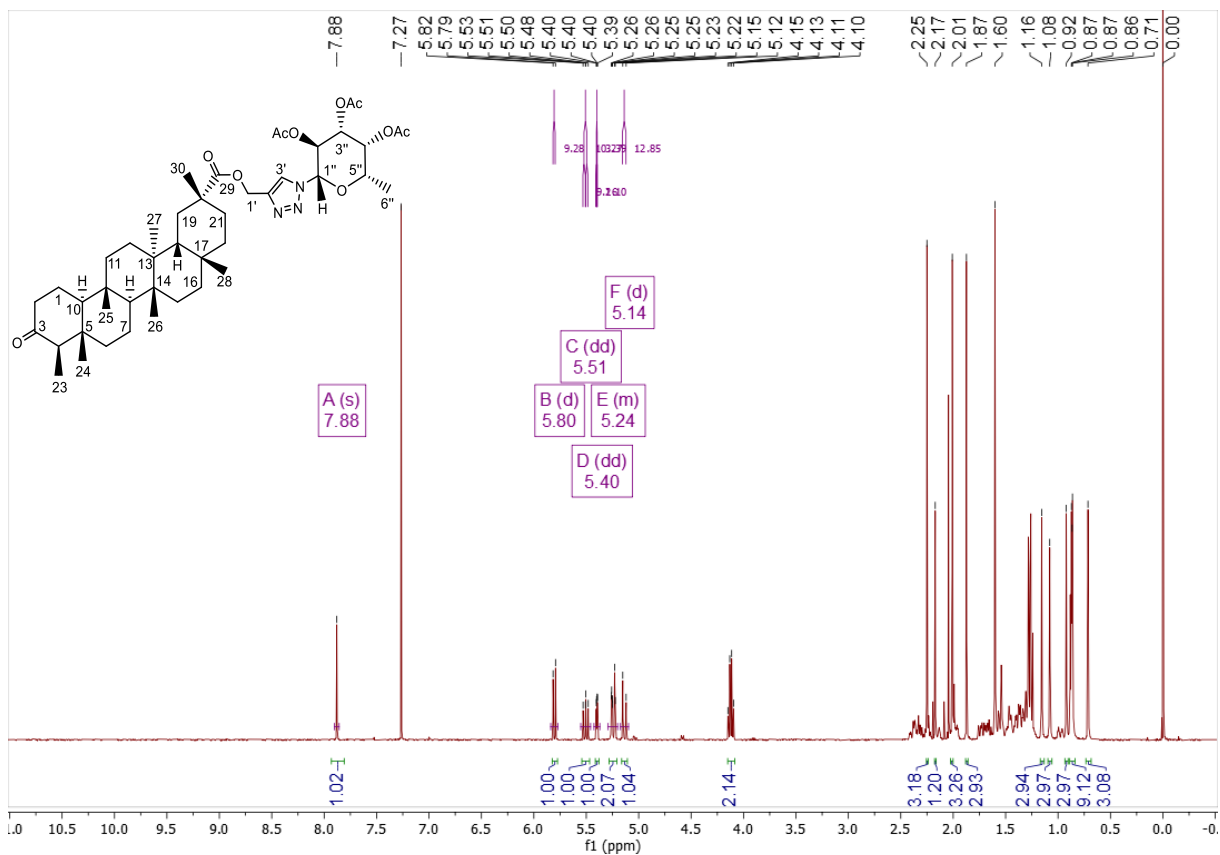




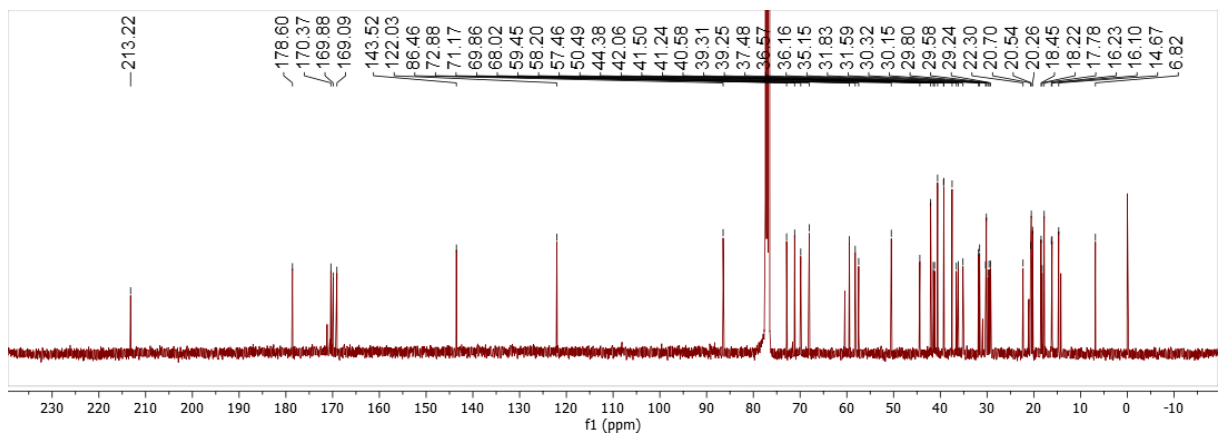
## APÊNDICE

### U3. Populnonato de (1-(2,3,4-tri-O-acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5c)

#### U3.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5c

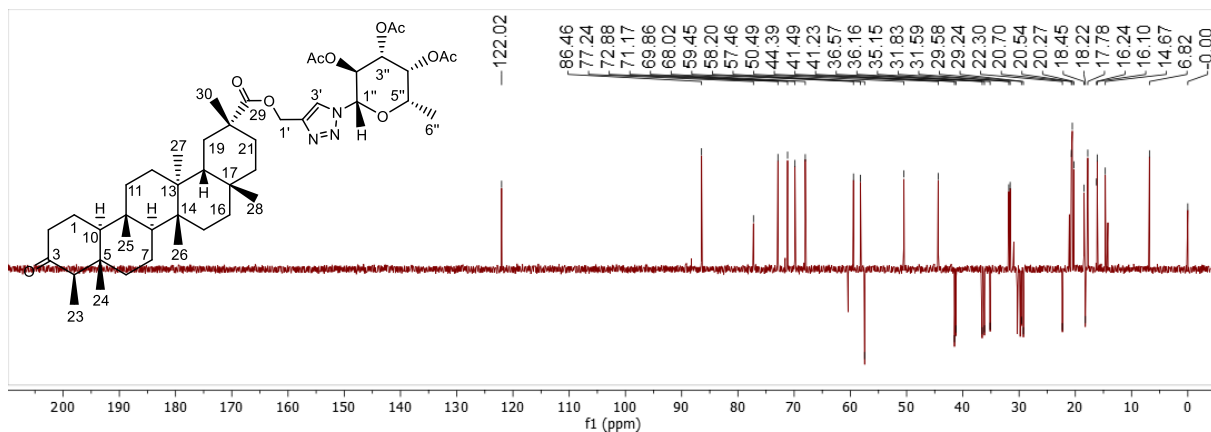


#### U3.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5c



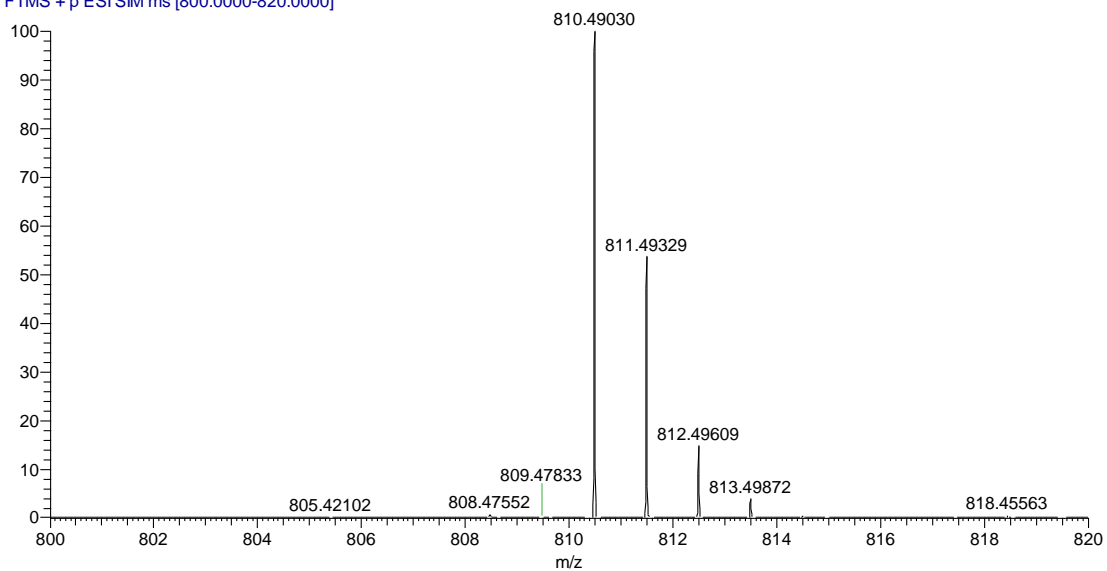
## APÊNDICE

### U3.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5c**



### U3.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S5c** (H-ESI modo positivo)

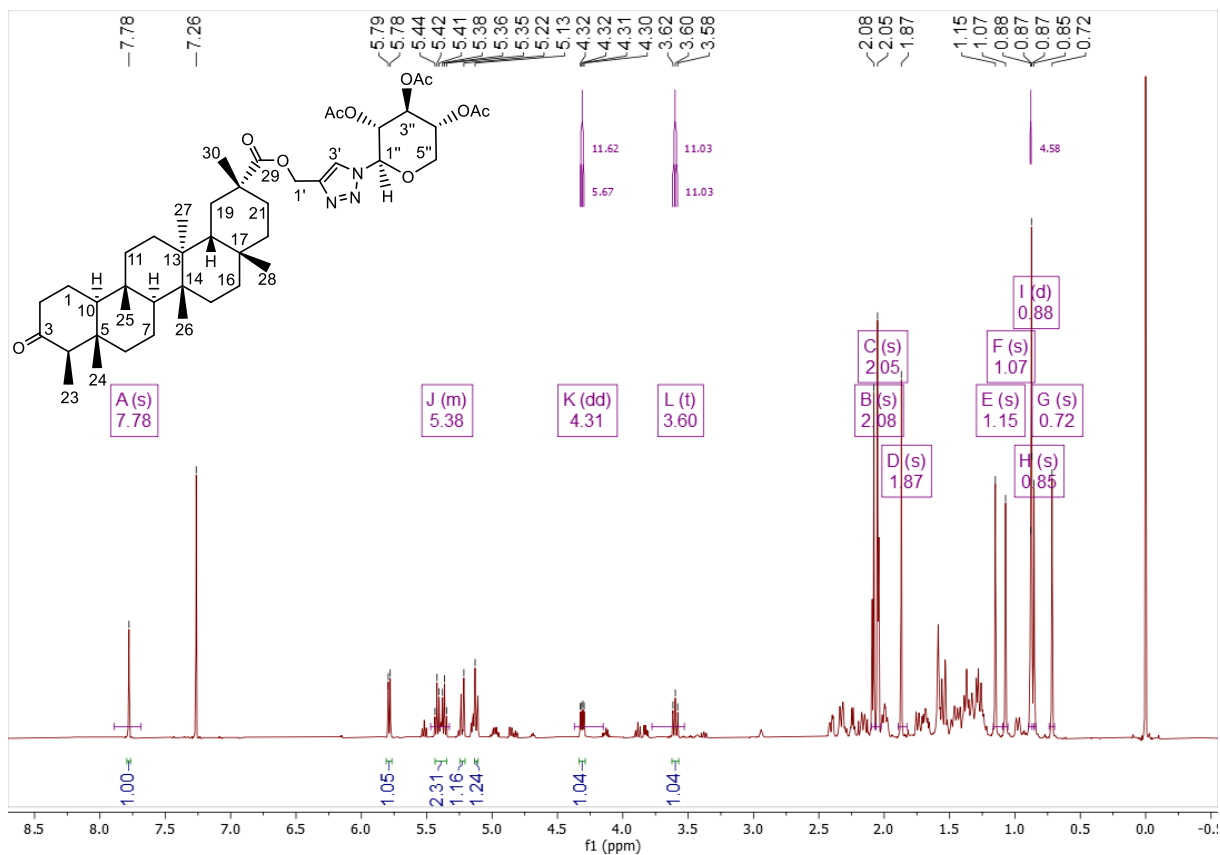
R11\_pos\_800a820 #40 RT: 0.18 AV: 1 NL: 1.94E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [800.0000-820.0000]



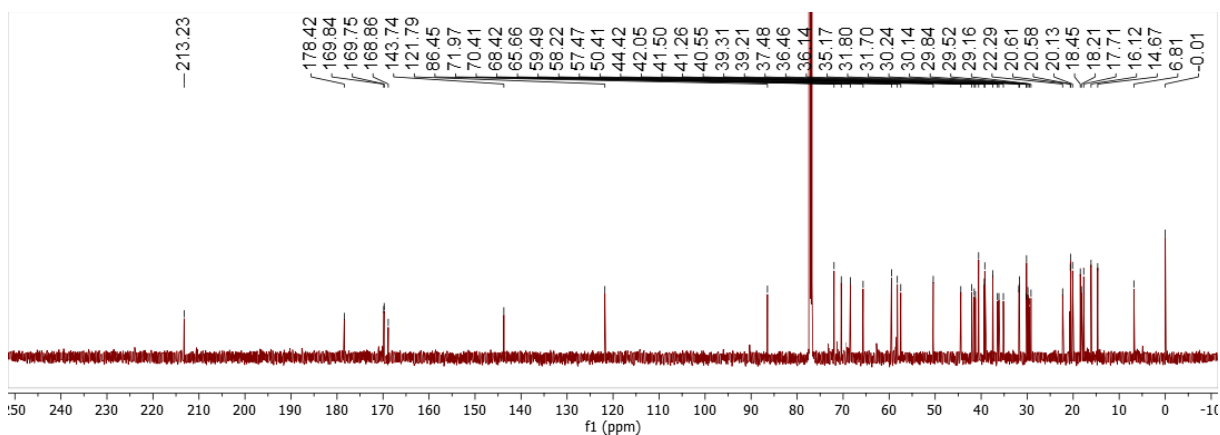
## APÊNDICE

### U4. Populnonato de (1-(2,3,4-tri-O-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5d)

#### U4.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5d

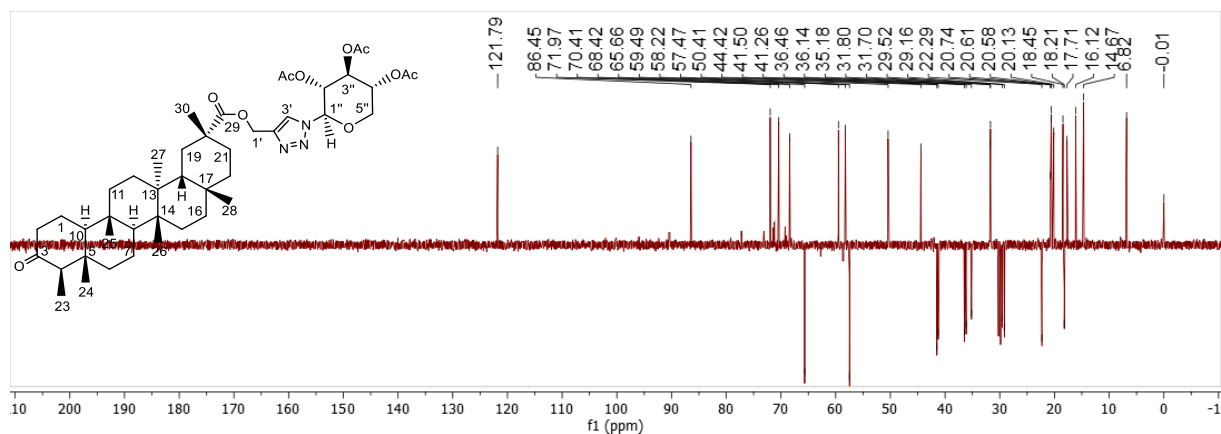


#### U4.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5d



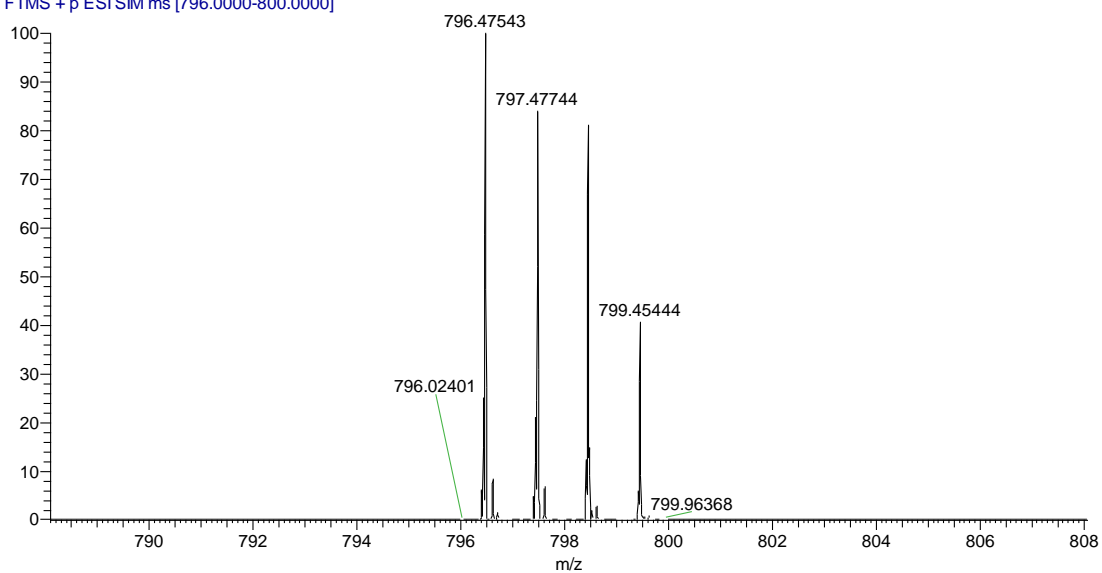
## APÊNDICE

### U4.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S5d



### U4.4 – Espectro de massas de alta resolução de S5d (H-ESI modo positivo)

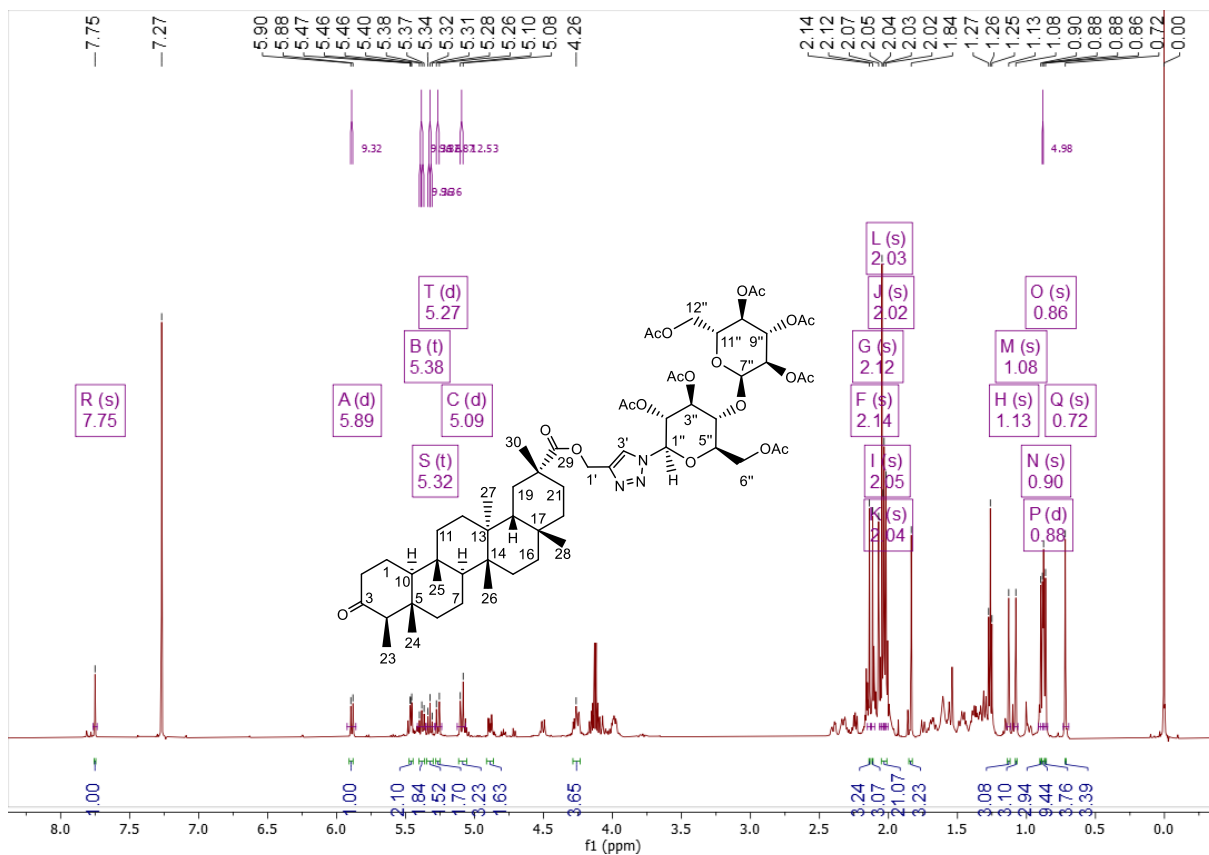
R15\_pos\_796a800 #4-48 RT: 0.02-0.21 AV: 45 NL: 9.39E5  
T: FTMS + p ESI SIM ms [796.0000-800.0000]



## APÊNDICE

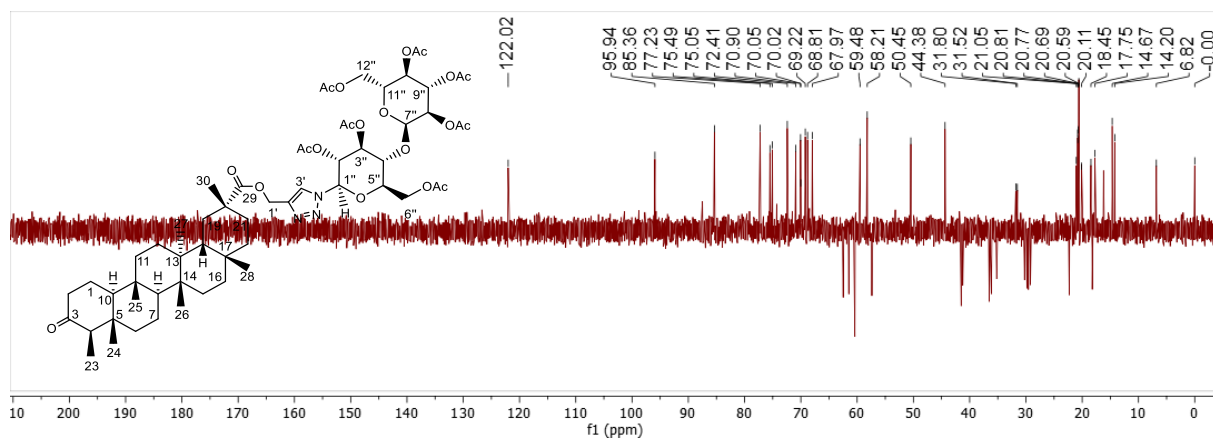
### U5. Populnonato de (1-(2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metila (S5e)

#### U5.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S5e



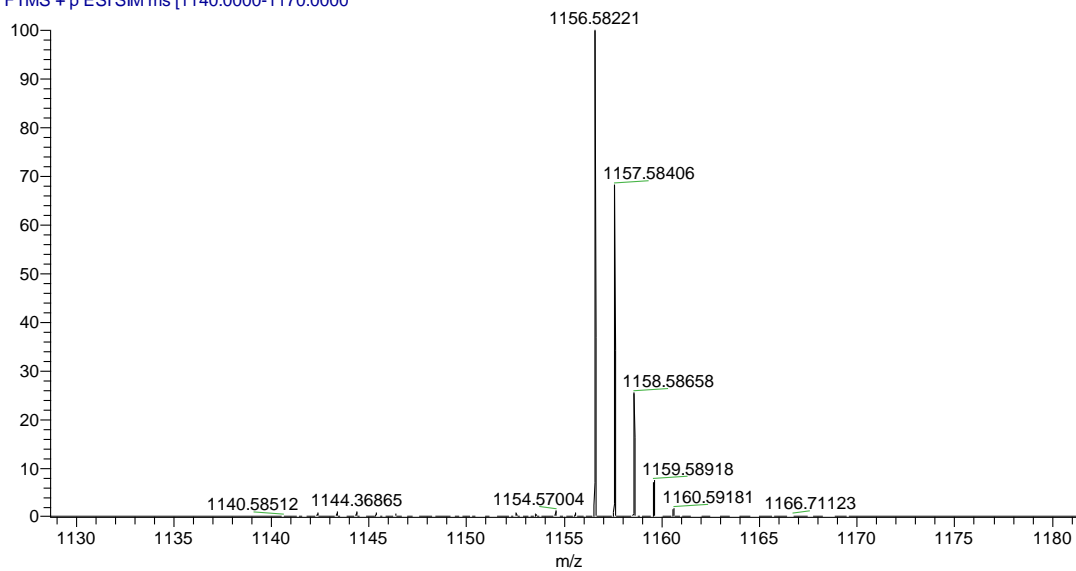
## APÊNDICE

### U5.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S5e**



### U5.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S5e** (H-ESI modo positivo)

R13\_pos\_1140a1170 #5-16 RT: 0.02-0.07 AV: 12 NL: 8.94E6  
T: FTMS + p ESI SIM ms [1140.0000-1170.0000]

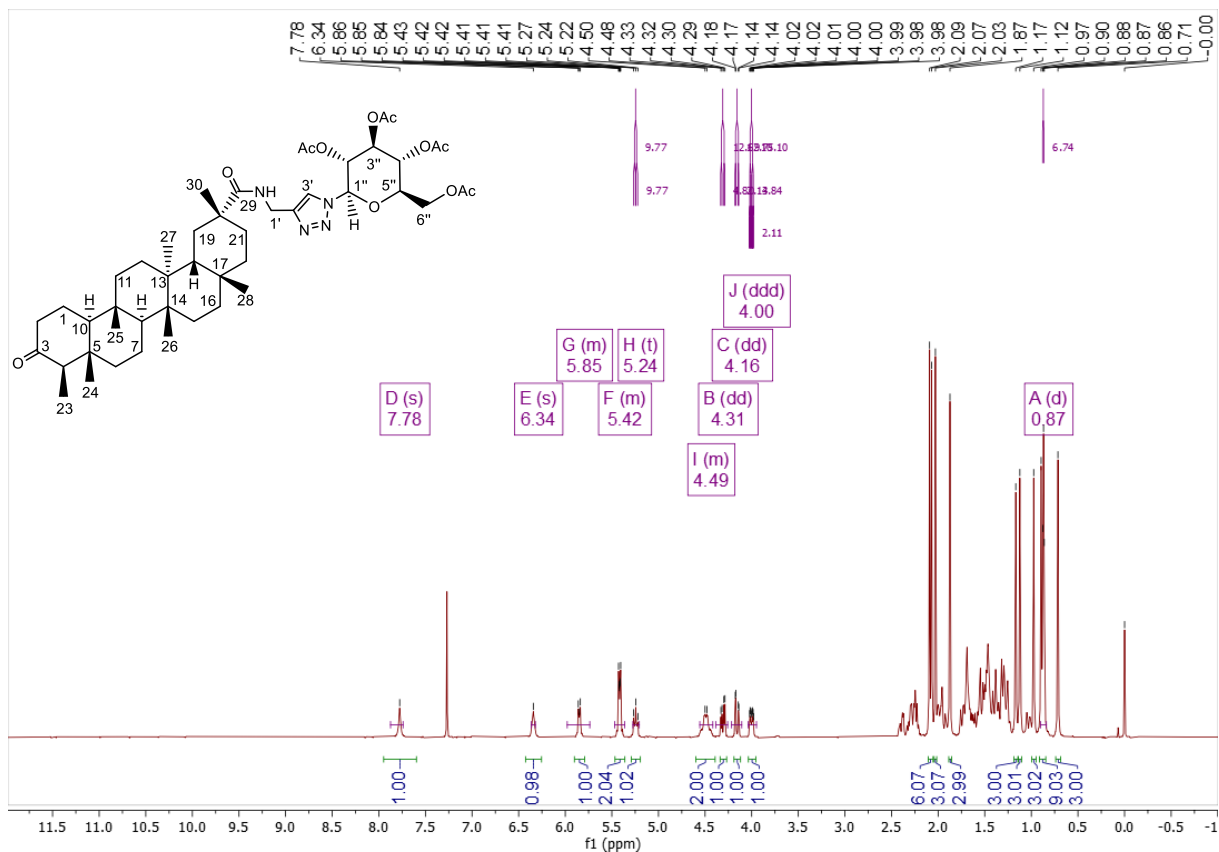


## APÊNDICE

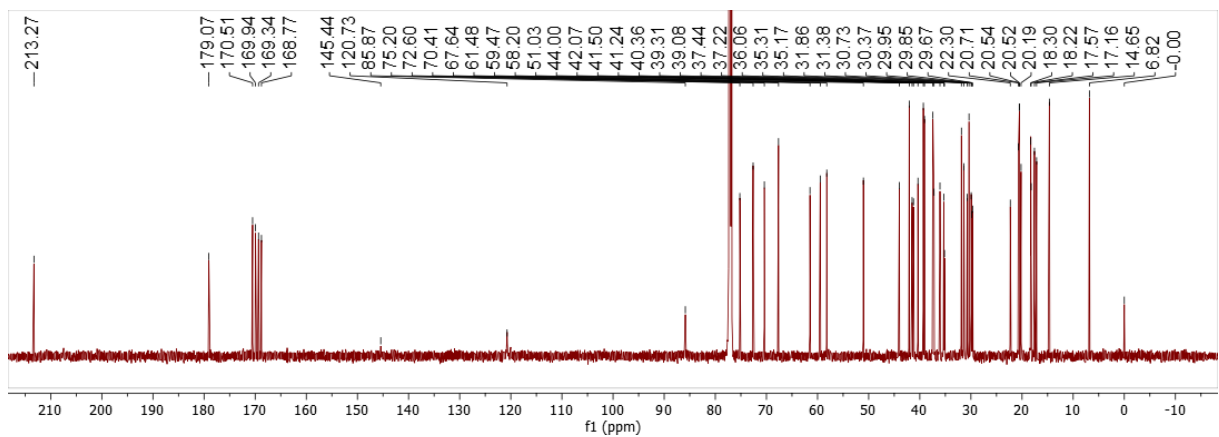
### V. Espectros dos derivados glicosiltriazólicos S6a-e

#### V1. *N*-((1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6a)

##### V1.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S6a

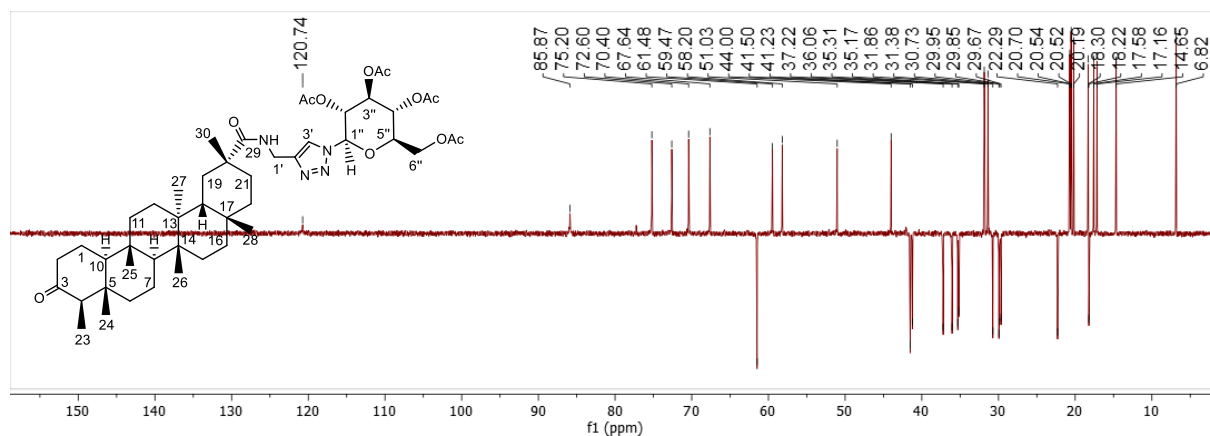


##### V1.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S6a



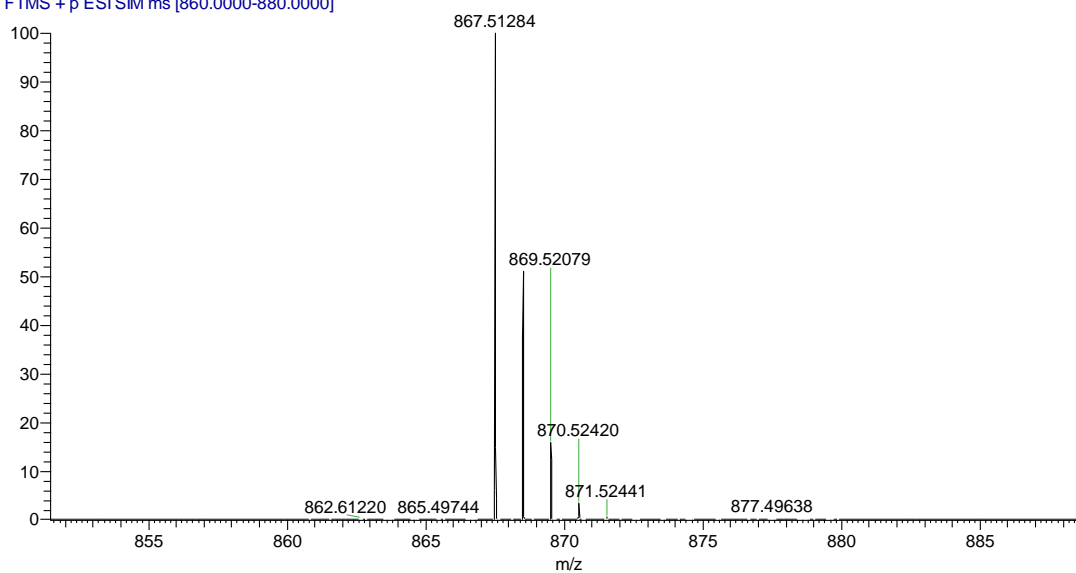
## APÊNDICE

### V1.3 – Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S6a**



### V1.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S6a** (H-ESI modo positivo)

R8\_pos\_860a880 #3-46 RT: 0.01-0.20 AV: 44 NL: 3.65E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [860.0000-880.0000]

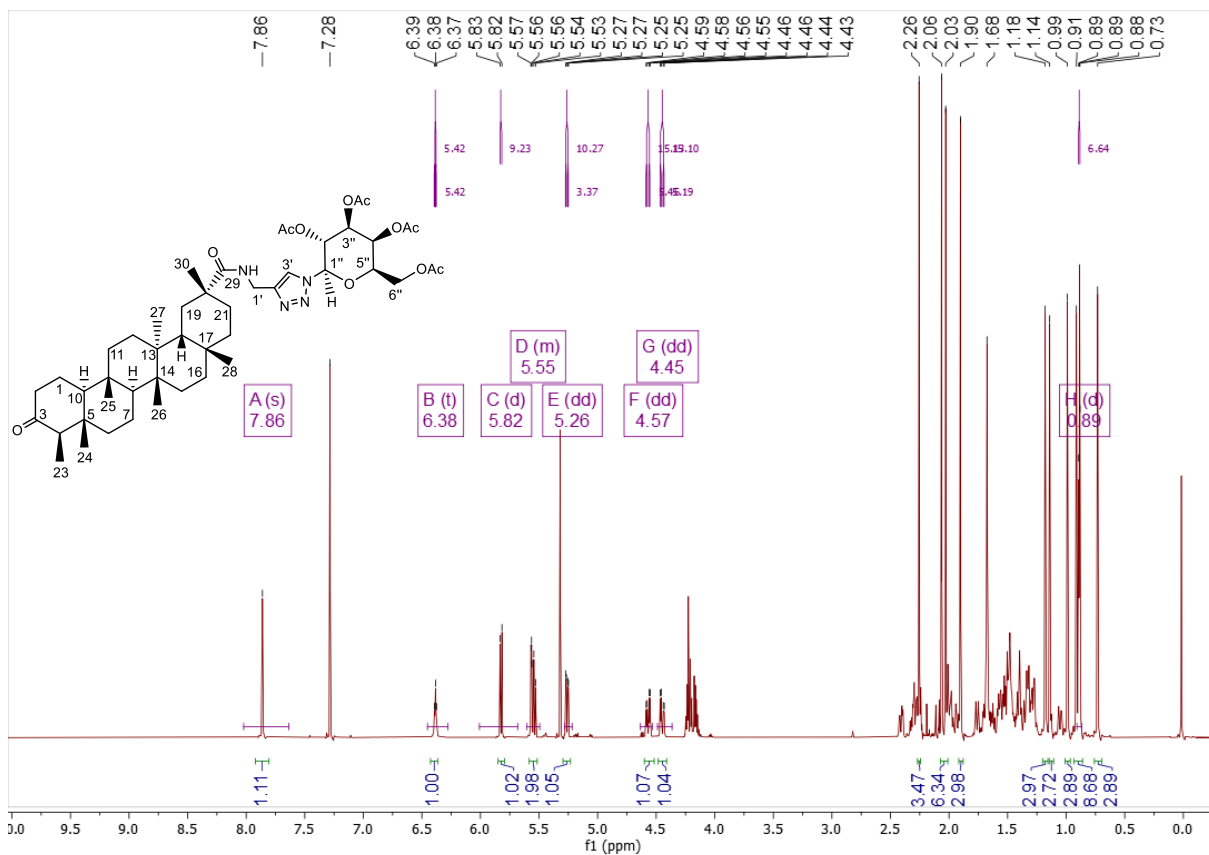




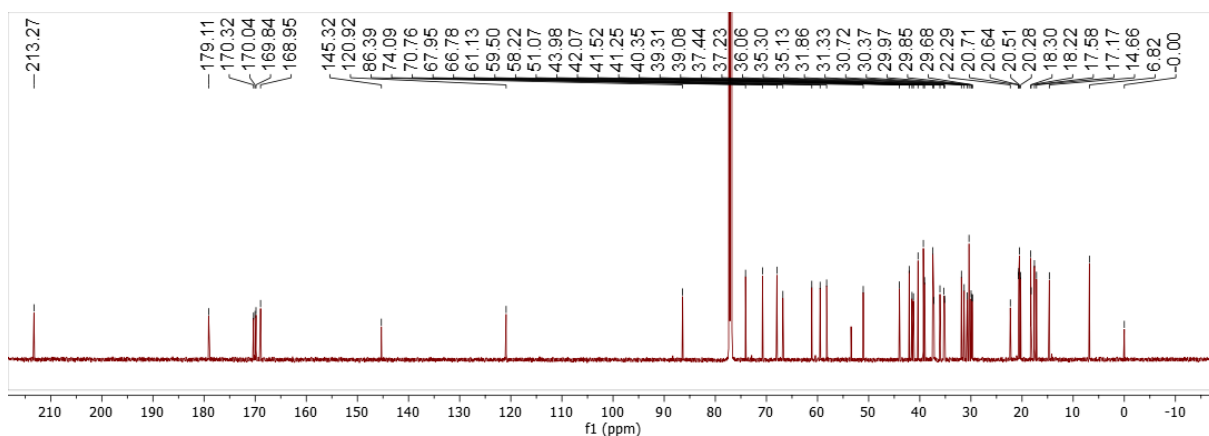
## APÊNDICE

### V2. *N*-((1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-galactopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6b**)

#### V2.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6b**

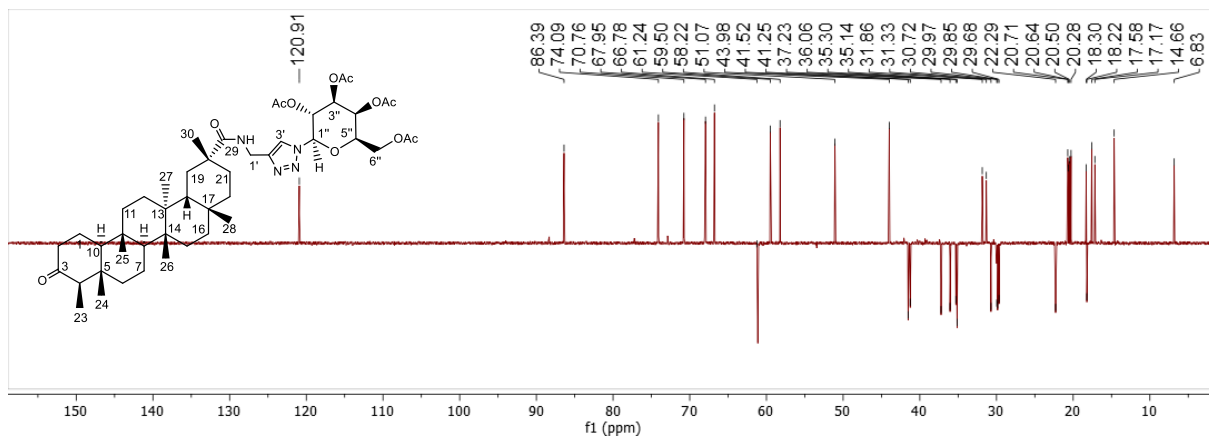


#### V2.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6b**



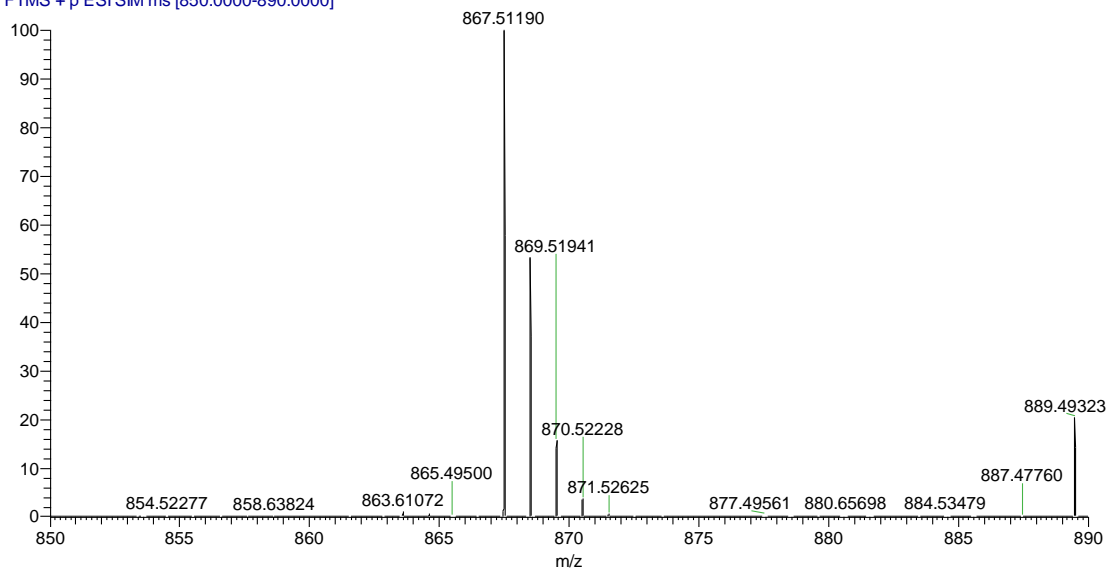
# APÊNDICE

## V2.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S6b**



## V2.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S6b** (H-ESI modo positivo)

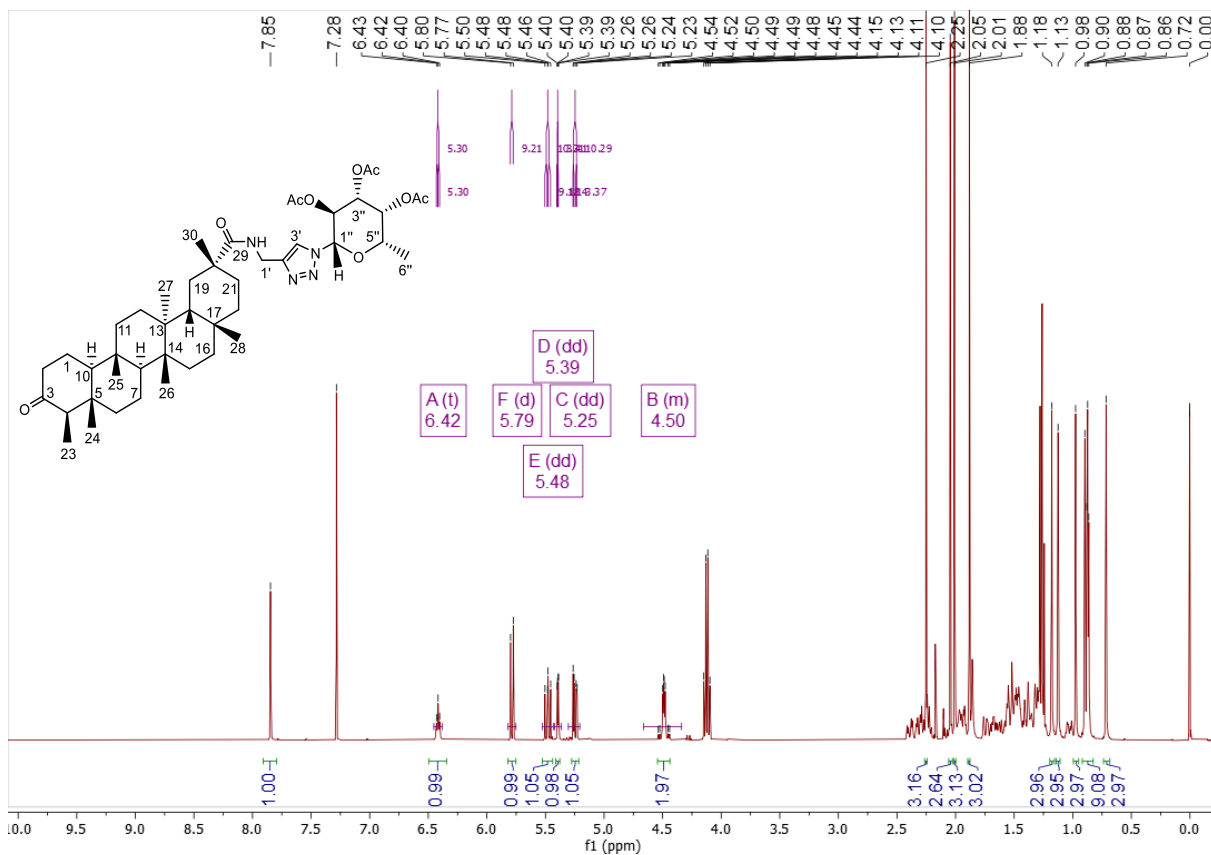
R10\_pos\_850a890 #24 RT: 0.11 AV: 1 NL: 4.14E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [850.0000-890.0000]



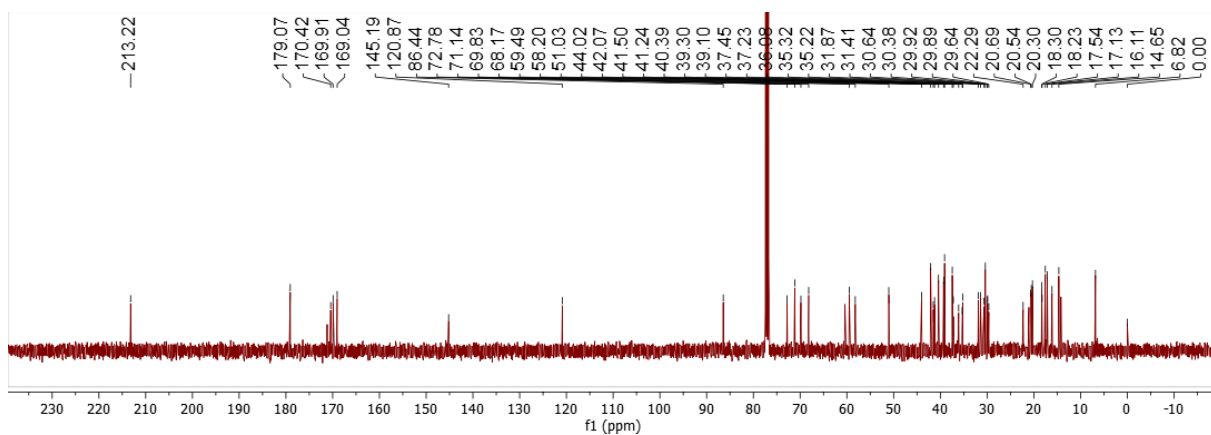
## APÊNDICE

### V3. *N*-((1-(2,3,4-tri-*O*-acetil-1-desoxi- $\alpha$ -L-fucopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6c**)

#### V3.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6c**

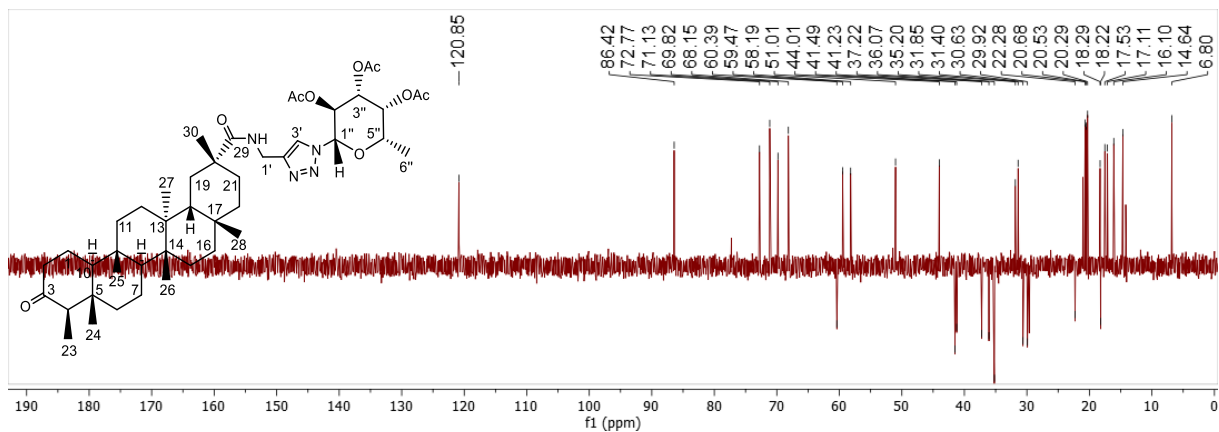


#### V3.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6c**



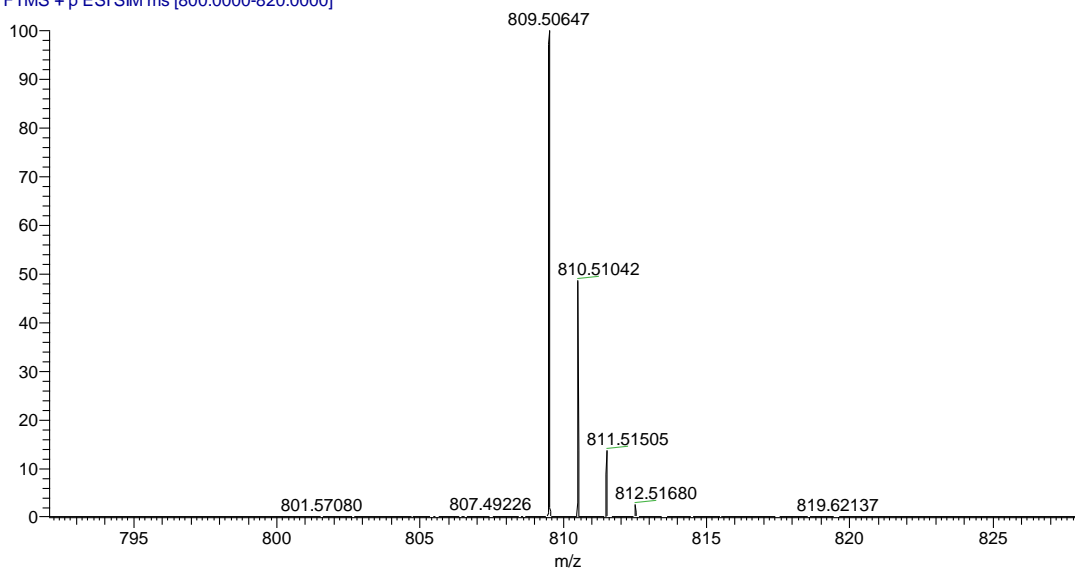
# APÊNDICE

## V3.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S6c



## V3.4 – Espectro de massas de alta resolução de S6c (H-ESI modo positivo)

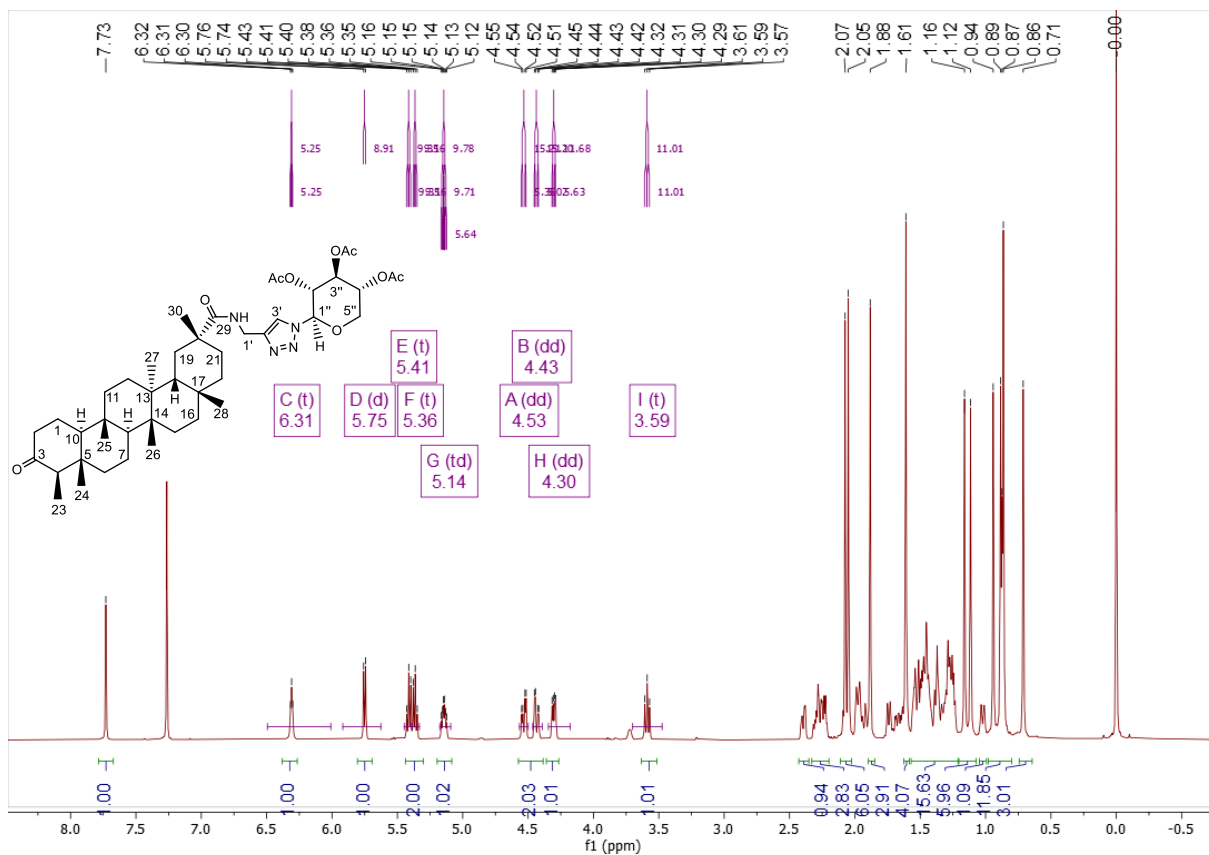
R12\_pos\_800a820 #10-27 RT: 0.04-0.12 AV: 18 NL: 5.71E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [800.0000-820.0000]



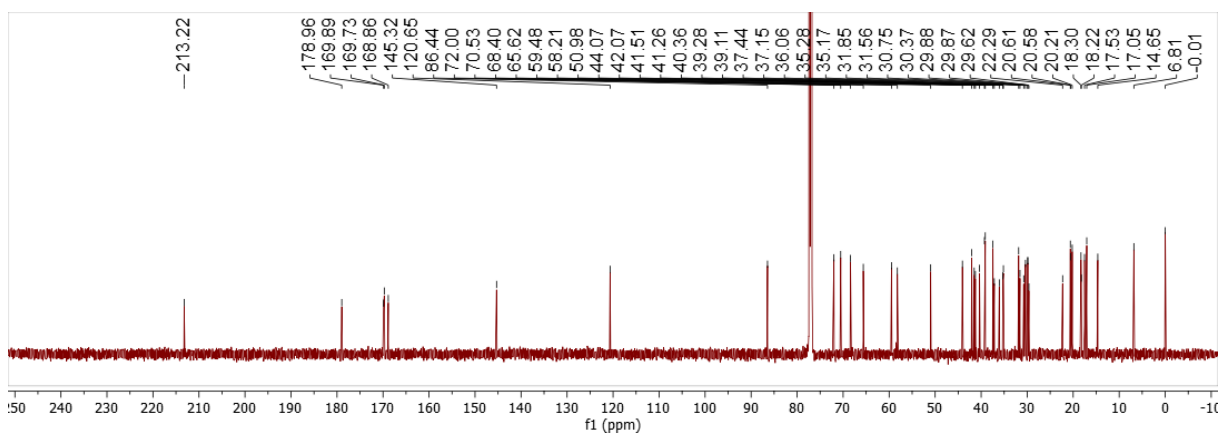
## APÊNDICE

### V4. *N*-((1-(2,3,4-tri-*O*-acetil-1-desoxi- $\beta$ -D-xilopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (S6d)

#### V4.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S6d

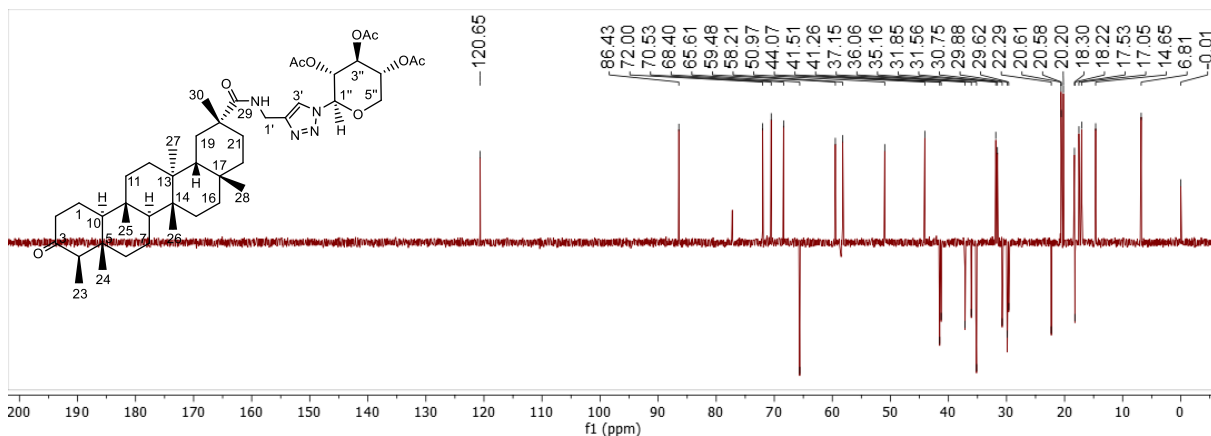


#### V4.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S6d



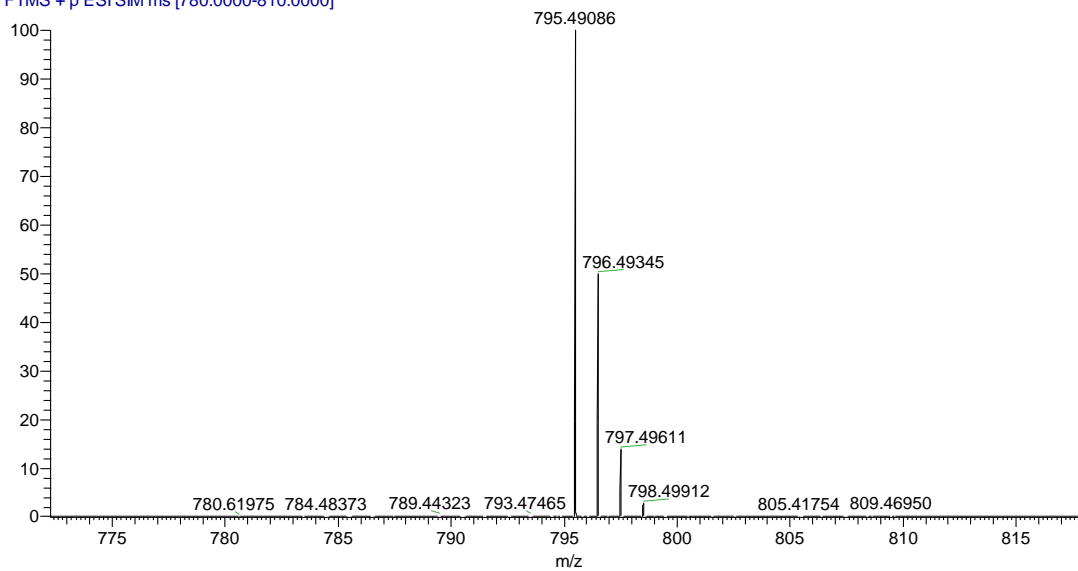
## APÊNDICE

### V4.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S6d**



### V4.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S6d** (H-ESI modo positivo)

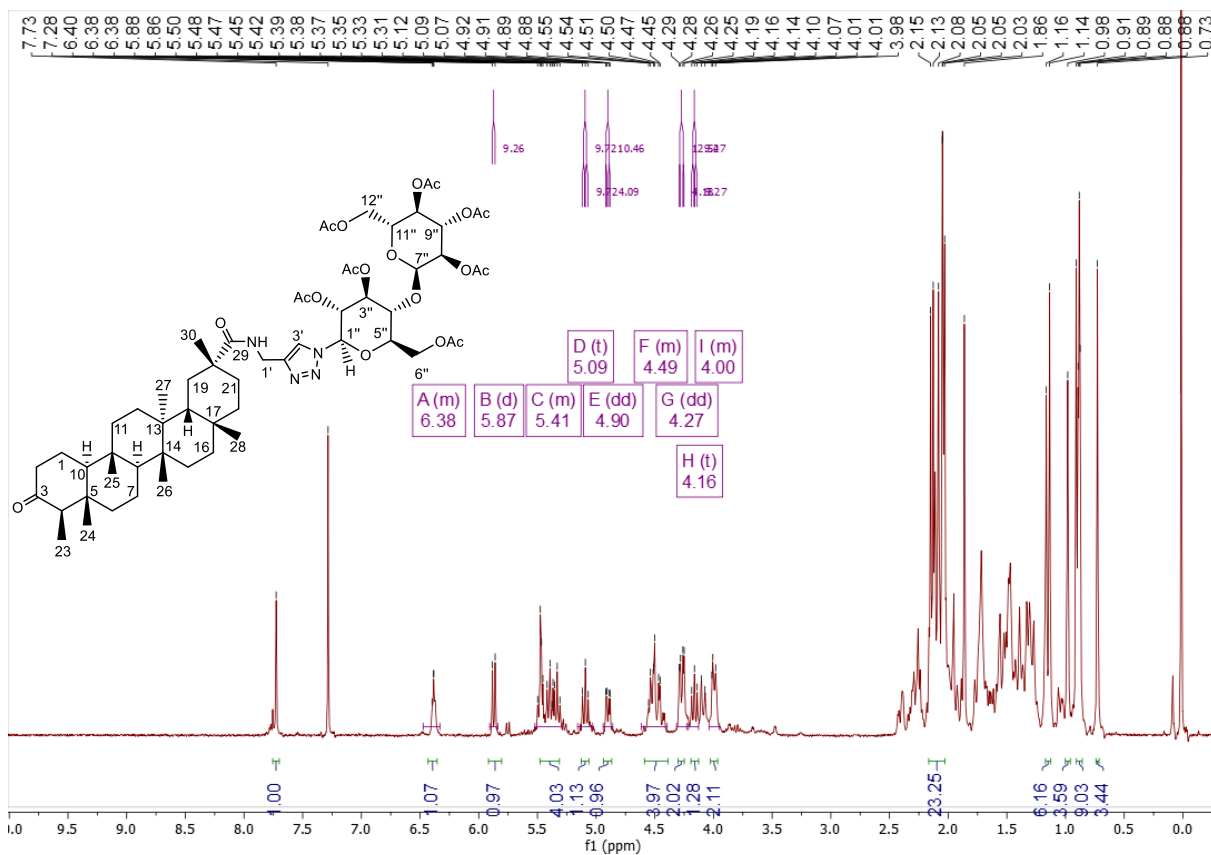
R16\_pos\_780a810 #6-45 RT: 0.03-0.20 AV: 40 NL: 8.04E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [780.0000-810.0000]



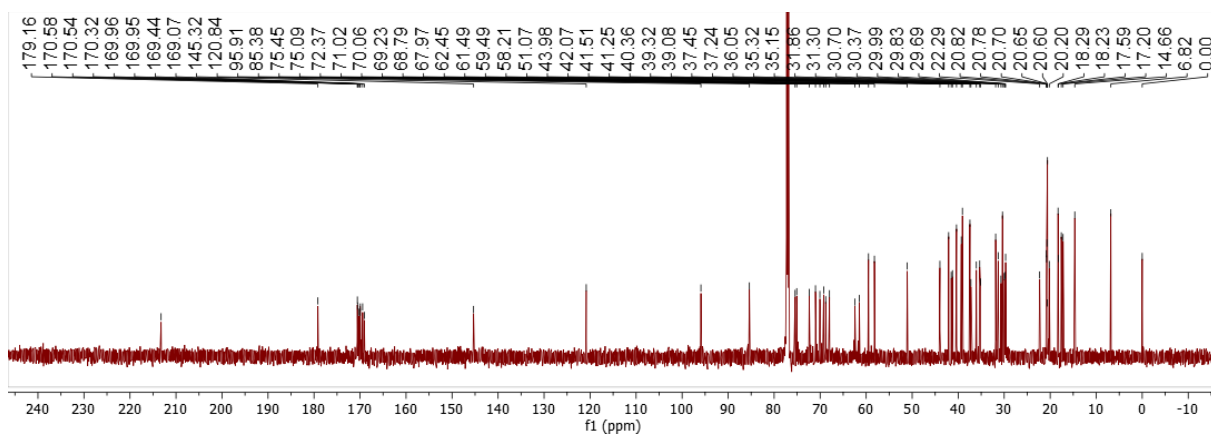
## APÊNDICE

### V5. *N*-((1-(2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- $\alpha$ -D-glicopiranosil)-1-desoxi- $\beta$ -D-glicopiranosil)1,2,3-triazol-4-il)metil)populnonamida (**S6e**)

#### V5.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6e**

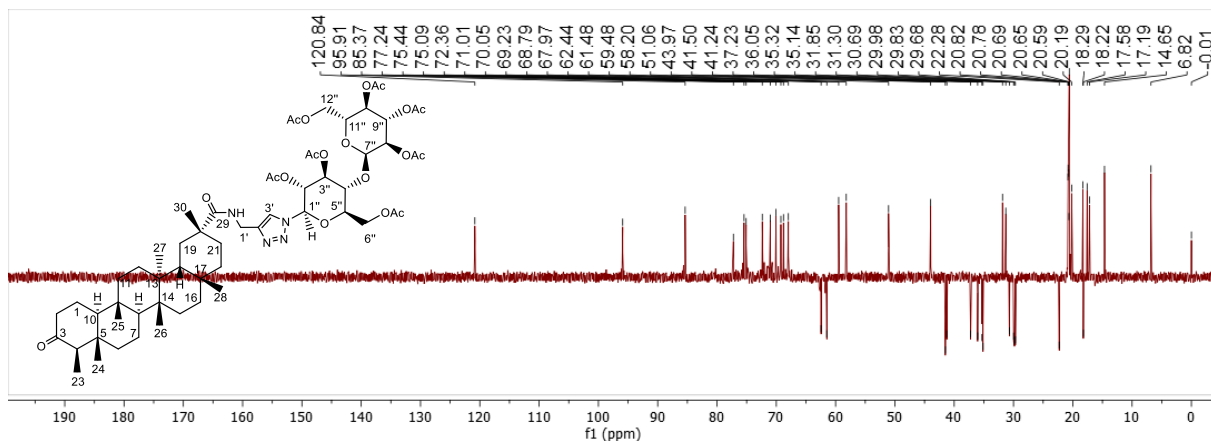


#### V5.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de **S6e**



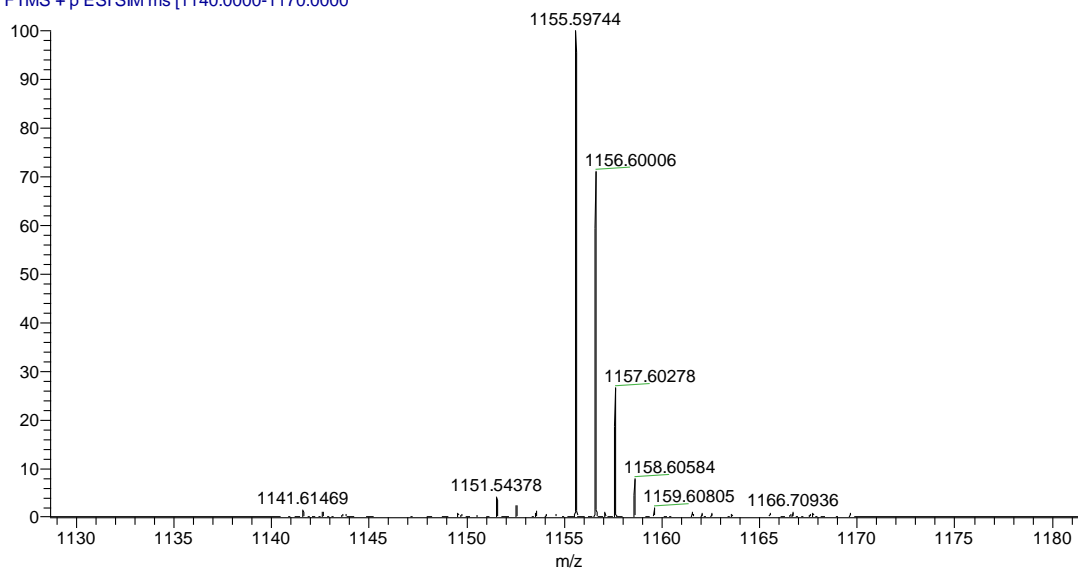
# APÊNDICE

## V5.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S6e**



## V5.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S6e** (H-ESI modo positivo)

R14\_pos\_1140a1170 #6-40 RT: 0.03-0.18 AV: 35 NL: 9.25E6  
T: FTMS + p ESI SIM ms [1140.0000-1170.0000]



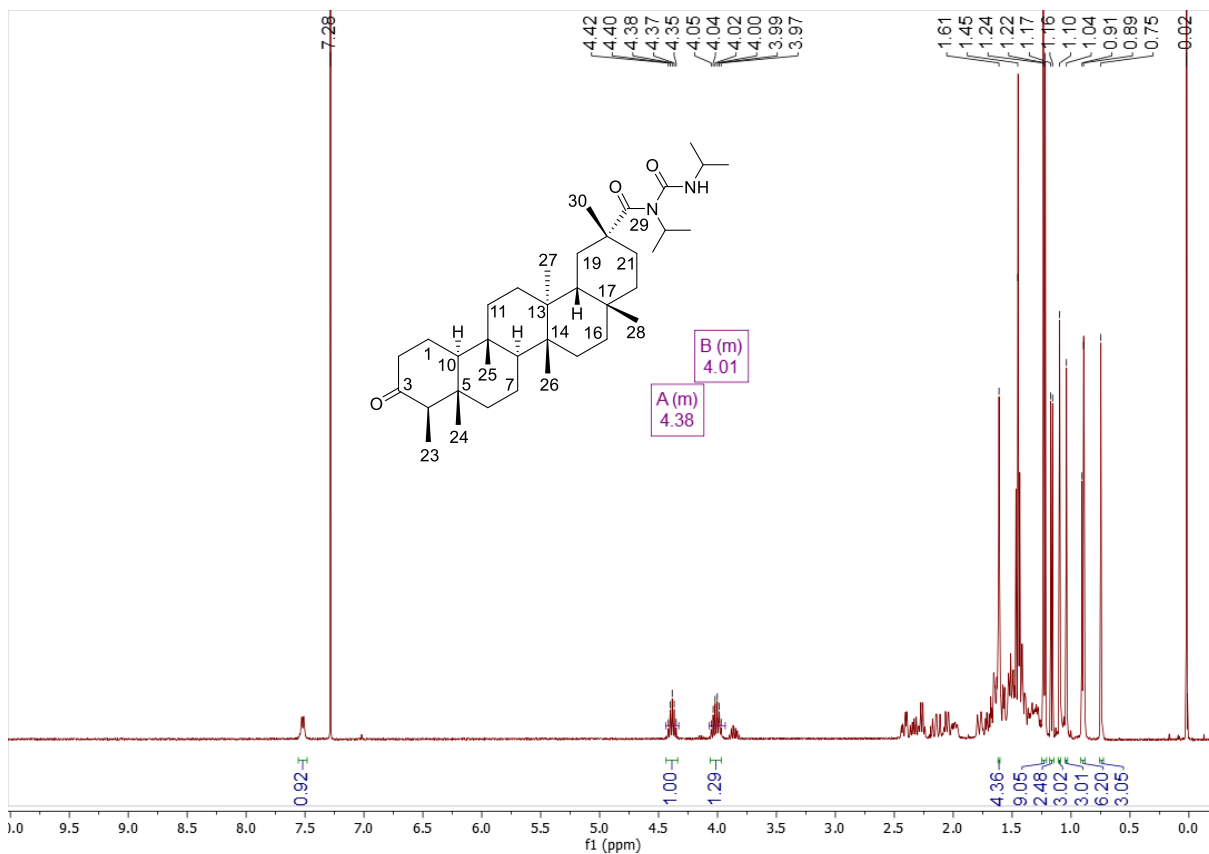


## APÊNDICE

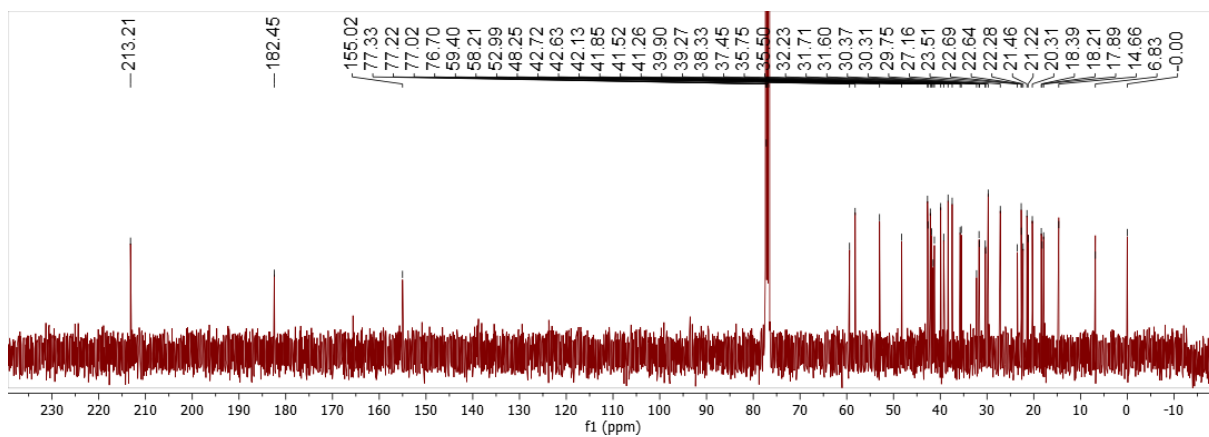
### X. Espectros dos intermediários S7 e S8

#### X1. *N*-isopropil-*N*-(isopropilcarbamoil)populnonamida (S7)

##### X1.1 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S7

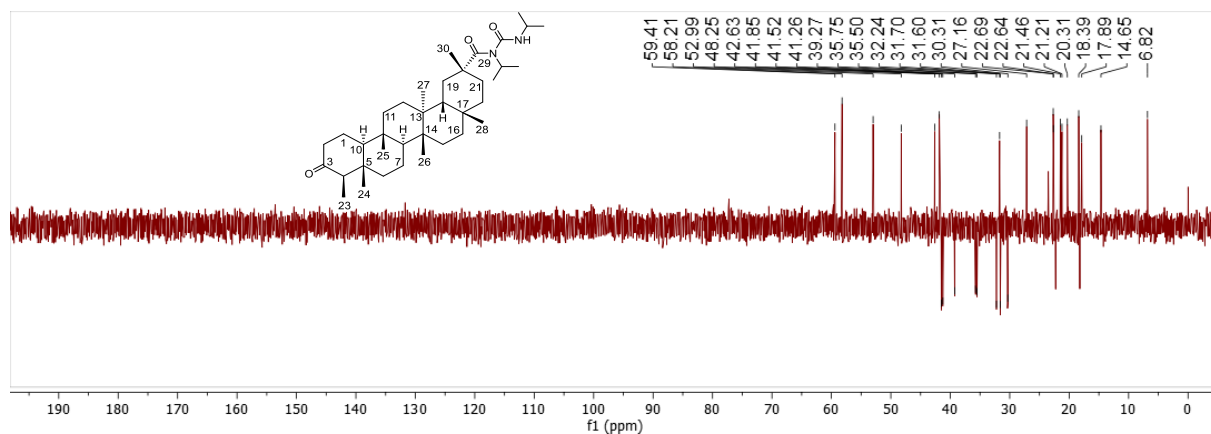


##### X1.2 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de S7



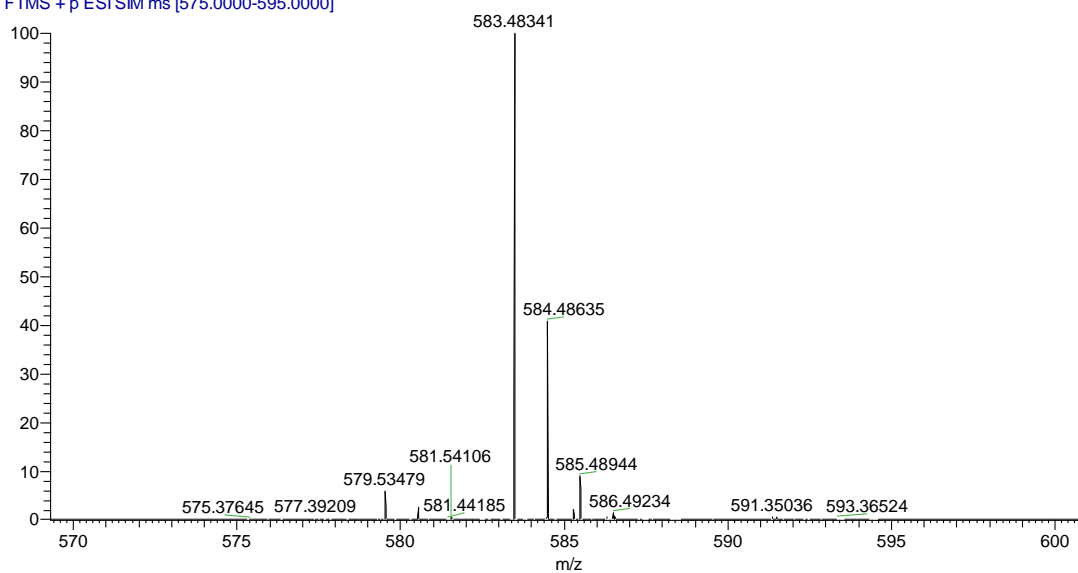
## APÊNDICE

### X1.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S7**



### X1.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S7** (H-ESI modo positivo)

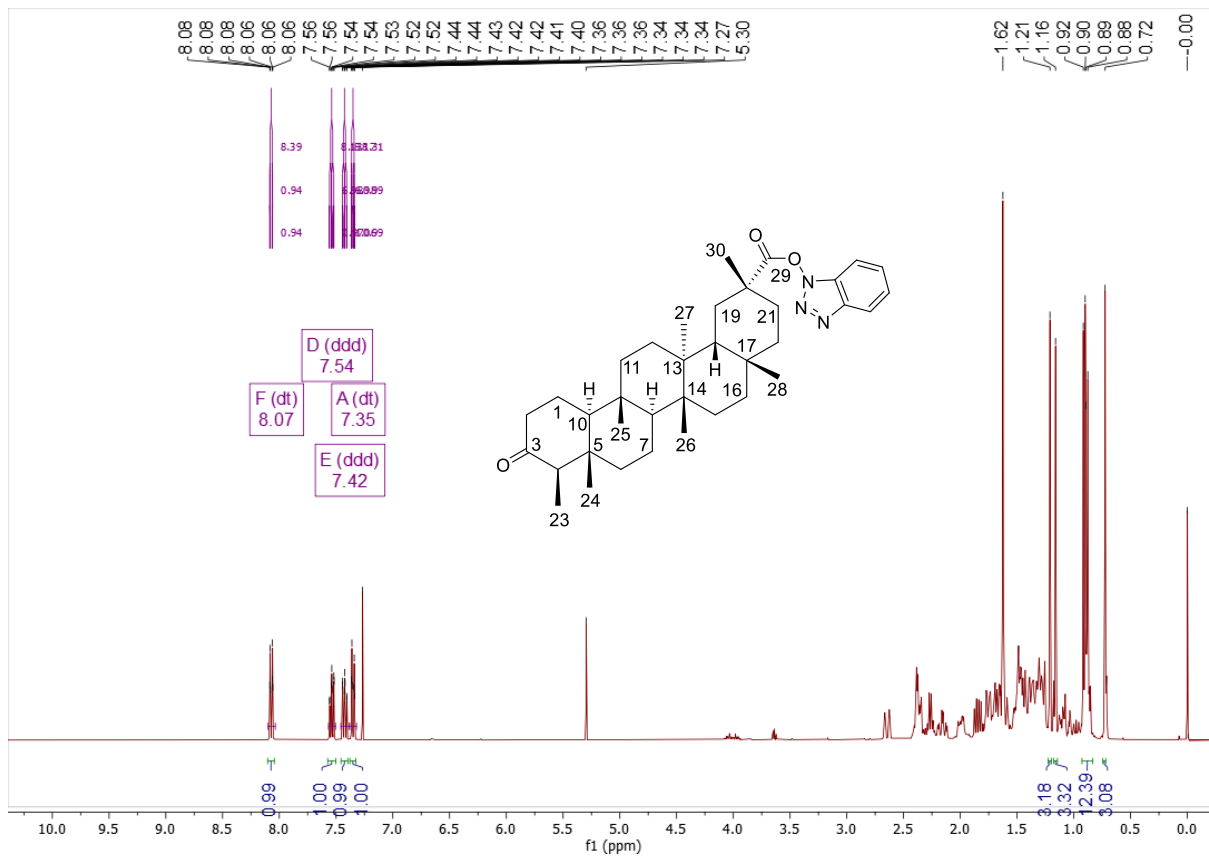
R18\_pos\_575a595 #5-45 RT: 0.02-0.20 AV: 41 NL: 7.30E7  
T: FTMS + p ESI SIM ms [575.0000-595.0000]



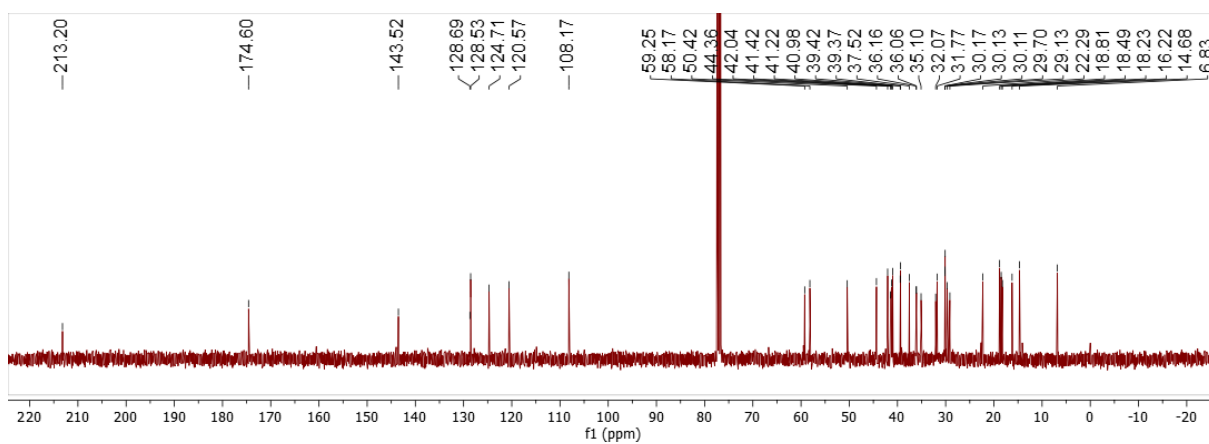
## APÊNDICE

### X2. Populnonato de 1*H*-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ila (S8)

#### X2.1 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S8

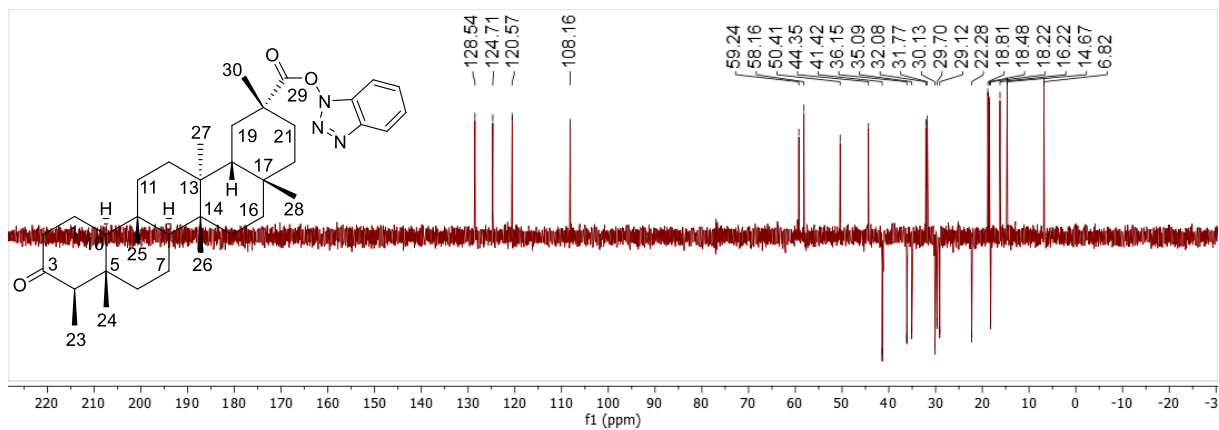


#### X2.2 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de S8



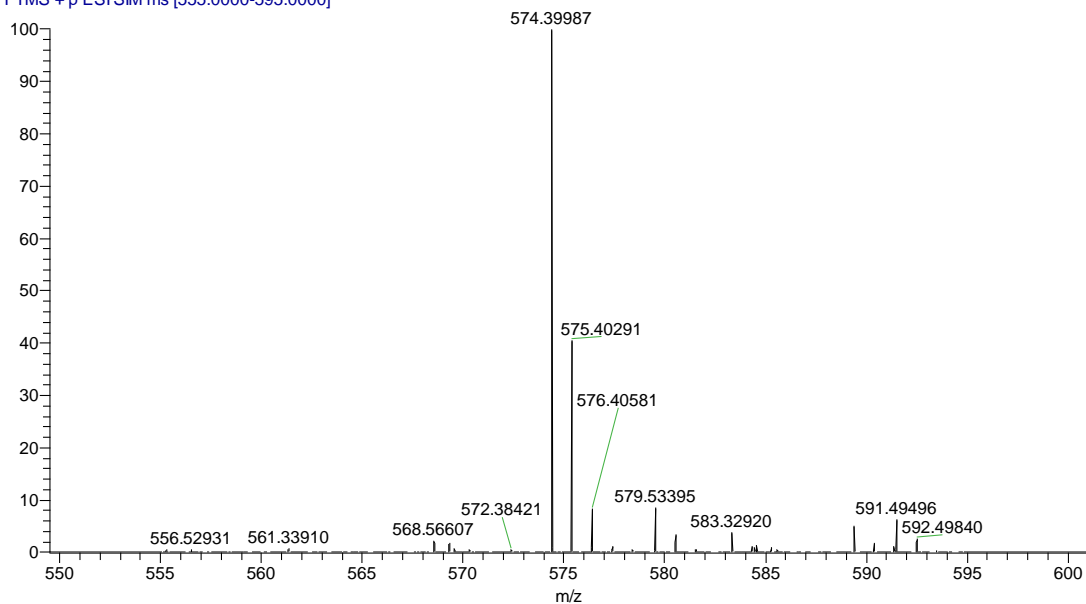
## APÊNDICE

### X2.3 – Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **S8**



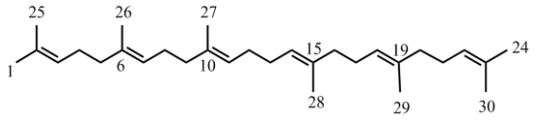
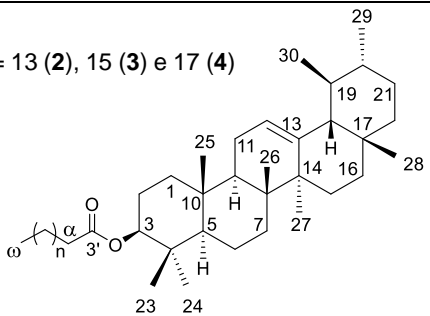
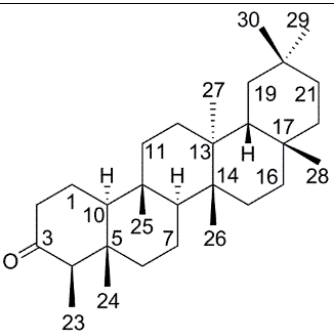
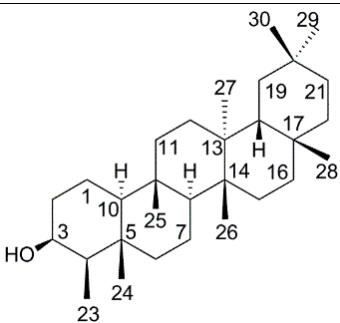
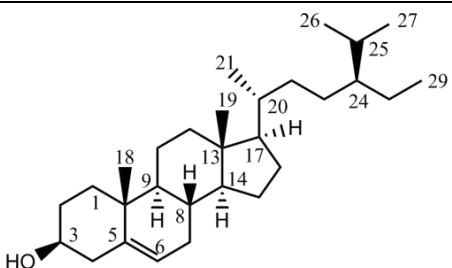
### X2.4 – Espectro de massas de alta resolução de **S8** (H-ESI modo positivo)

R17\_pos #3-45 RT: 0.01-0.20 AV: 43 NL: 1.28E8  
T: FTMS + p ESI SIM ms [555.0000-595.0000]

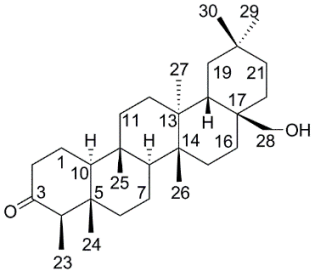
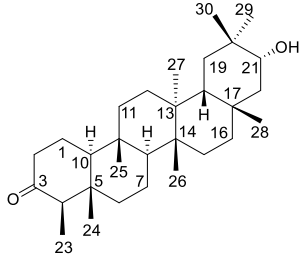
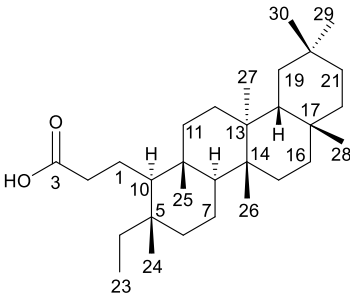
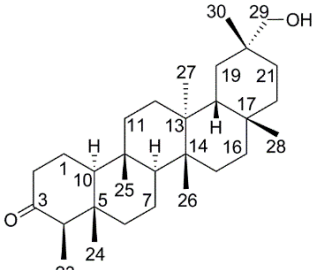
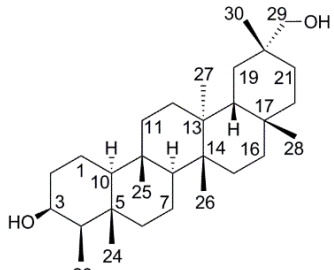


## ANEXOS

### ANEXO 1. CONSTITUINTES ISOLADOS DOS EXTRATOS HEXÂNICO E CLOROFÓRMICO DE FOLHAS DE *C. COGNATUM*

Constituinte	Nome	Estrutura Química
<b>1</b>	esqualeno	
<b>2,3 e 4</b>	palmitato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila, estearato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila e eicosanoato de urs-12-en-3 $\beta$ -ila	<p style="text-align: center;">n = 13 (2), 15 (3) e 17 (4)</p> 
<b>5</b>	friedelan-3-ona (friedelina)	
<b>6</b>	friedelan-3 $\beta$ -ol (friedelinol)	
<b>7</b>	$\beta$ -Sitosterol	

ANEXO

<p>8</p>	<p>28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol)</p>	
<p>9</p>	<p>21<math>\alpha</math>-hidroxifriedelan-3-ona</p>	
<p>10</p>	<p>ácido 3,4-seco-friedelan-3- oico</p>	
<p>11</p>	<p>29-hidroxifriedelan-3-ona</p>	
<p>12</p>	<p>friedelano-3<math>\beta</math>,29-diol</p>	
<p>13</p>	<p><i>gutta-percha</i></p>	