

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

Leila Renan Oliveira

**ESTUDO FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS
FOLHAS DE *Salacia grandifolia*; SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA
CITOTOXICIDADE DE DERIVADOS DO FRIEDELINOL**

Belo Horizonte

2022

UFMG/ICEX/DQ. 1.526

D. 830

Leila Renan Oliveira

Estudo fitoquímico e de atividades biológicas das folhas de *Salacia grandifolia*; síntese e avaliação da citotoxicidade de derivados do friedelinol

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Grasiely Faria de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Diogo Montes Vidal

Belo Horizonte

2022

Ficha Catalográfica

O481e
2022
D

Oliveira, Leila Renan.

Estudo fitoquímico e de atividades biológicas das folhas de *Salacia grandifolia* [manuscrito] ; síntese e avaliação da citotoxicidade de derivados do friedelinol / Leila Renan Oliveira. 2022.

159 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Grasiely Faria de Sousa.

Coorientador: Diogo Montes Vidal.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.

Bibliografia: f. 90-98.

Anexos: f. 99-159.

1. Química orgânica – Teses. 2. Produtos naturais – Teses. 3. Terpenos – Teses. 4. Agentes antivirais – Teses. 5. Agentes anti-infecciosos – Teses. 6. Agentes antineoplásicos – Teses. 7. Infecções por coronavírus – Teses. 8. Matéria médica vegetal – Teses. 9. Testes biológicos – Teses. 10. Ressonância magnética nuclear – Teses. 11. Biossíntese – Teses. 12. Agentes anti-inflamatórios – Teses. 13. Celastraceae – Teses. I. Sousa, Grasiely Faria de, Orientadora. II. Vidal, Diogo Montes, Coorientador. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

"Estudo Fitoquímico e de Atividades Biológicas das Folhas de *Salacia Grandifolia*; Síntese e Citotoxicidade de Derivados do Friedelinol"

Leila Renan Oliveira

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Grasiely Faria de Sousa - Orientadora
UFMG

Prof. Rafael Cesar Gonçalves Pereira
CEFET - MG

Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas
UFMG

Belo Horizonte, 19 de dezembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Grasiely Faria de Sousa, Professora do Magistério Superior**, em 19/12/2022, às 16:29, 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 **Rafael Cesar Gonçalves Pereira, Usuário Externo**, em 23/12/2022, às 10:42, 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 09/02/2023, às 16:15, 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, informando o código verificador **1962692** e o código CRC **33AFC563**.

AGRADECIMENTOS

Nunca vi dois anos inteiros passarem tão rápido. Ao mesmo tempo, parece que fiz coisas demais em pouco tempo. Não são muitas as pessoas que sabem o que aconteceu durante esse período, tantas mudanças e libertações e novas experiências. Mais um ciclo se encerra, e meu agradecimento vai para todas as pessoas que participaram dele junto comigo.

Primeiramente, agradeço à minha mãe, que sofreu, lutou e se libertou junto comigo quando as coisas ficaram insustentáveis. Ela aguenta meus estresses diários e sempre chega com um chocolatinho quando sabe que estou precisando.

Agradeço aos meus amigos Rachel, Rubens e Ludy, que mesmo longe, em outros estados, não deixam de estar presentes. Aos antigos amigos, Vicente e Átila, pelas partidas de Magic, e Gabriel, cujos surtos eu aguento desde 2015 e que me diverte e impressiona com os pensamentos sobre a vida. Aos novos amigos, William, companheiro de *fast-food* e fã da Marvel, e Pedro, companheiro de RPG.

À minha amada melhor amiga Maria Luiza, que o Universo trouxe de volta pra minha vida através do temido doutorado em Física da UFMG. Voltar a te ver e conversar com você diariamente é uma coisa que não tem preço, mesmo você sempre estando sem tempo e com pressa por causa das inúmeras matérias e trabalhos. Você ainda me deve alguns rolês e eu vou cobrar.

Ao meu amor, y do meu x, Alexandre, por me aguentar nos meus piores momentos de estresse e por abrilhantar ainda mais os melhores momentos. Por ser meu *player 2*, companheiro na descoberta de bares *nerds* de BH e cúmplice de rodízios de pizza (e outros rolês envolvendo muita comida). Por ser o químico mais brilhante que eu conheço e me ajudar com dicas de reações e empréstimo de reagentes (um). Por me mandar memes e me fazer rir quando eu estava triste, por simplesmente ficar deitado ao meu lado quando eu precisava e por me incentivar (e acompanhar) a realizar meus desejos da minha *bucket list*.

À família do melhor laboratório do DQ, o NEPLAM, obrigada pelas festinhas e pelos conhecimentos passados, mas principalmente pelas festinhas. Mari e Karen, que desde que eu era IC me ensinaram tudo que eu precisava saber pra ser uma boa química de produtos naturais. Beth, Lucas, Hiago, Sabrina e Sandy, pelas risadas nos nossos cafés com fofoca e por tornarem o ambiente de trabalho muito mais leve e

gostoso. À Laura, por sempre sanar minhas curiosidades pelo seu trabalho diferenciado e por conversar sobre quadrinhos. À Ana Granja, primeira fã de Brandon Sanderson que eu conheci, pelas ótimas indicações de livros. À Iasmim, minha IC, pela ajuda no trabalho e pelos momentos de descontração.

Aos meus orientadores, Grasi e Diogo, que tanto me ensinaram, e ainda ensinam, que aguentaram minhas mensagens fazendo perguntas tarde da noite sobre colunas e reações, e que aceitaram passar comigo pelo perrengue da síntese envolvendo triterpenos (e que perrengue!). À Lucienir, nossa “chefe” do laboratório, que sempre dava uma passadinha pra conferir como andava o trabalho e sempre deu dicas e sugestões sobre tudo.

Aos professores Eduardo Alberto e Jarbas, pelas consultorias sobre reatividade e RMN, que estão neste trabalho.

Ao professor Willian Rocha e sua aluna, Aline Bozzi, que estão colaborando com uma parte inesperada que se desenrolou desse trabalho (*spoiler*: são cálculos teóricos para explicar a reatividade – ou falta dela – do fridelinol).

À Dr^a. Ivana Silva Lula, pela competência e disposição na obtenção dos espectros de RMN. Ao Mateus e todos os integrantes do Laboratório de Vírus do ICB, e ao professor Adriano Sabino da Farmácia, pela realização dos testes biológicos.

Aos funcionários do DQ, pela assistência e apoio técnico.

À secretaria do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da UFMG.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim, a todos que ajudaram e contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“That’s the trouble with science. Always upending itself. Ruining perfect systems for the little inconvenience of them being wrong.”

Brandon Sanderson – Rhythm of War

RESUMO

O estudo fitoquímico do extrato hexânico das folhas de *Salacia grandifolia* resultou no isolamento e caracterização de oito constituintes. Além do triterpeno pentacíclico inédito na literatura, 28-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SG8**), foram isolados sete triterpenos friedelânicos conhecidos: friedelan-3-ona (**SG1**), friedelan-3 β -ol (**SG2**), friedelano-3,15-diona (**SG3**), 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SG4**), 28-hidroxifriedelan-3-ona (**SG5**), 30-hidroxifriedelan-3-ona (**SG6**) e 29-hidroxifriedelan-3-ona (**SG7**). Também foi realizada a síntese de oito ésteres derivados dos diastereoisômeros do friedelinol, sendo quatro do isômero α (*p*-bromobenzoato de friedelan-3 α -ila, naproxenato de friedelan-3 α -ila, pent-4-inoato de friedelan-3 α -ila e undec-10-inoato de friedelan-3 α -ila) e quatro do isômero β (*p*-bromobenzoato de friedelan-3 β -ila, naproxenato de friedelan-3 β -ila, pent-4-inoato de friedelan-3 β -ila e 10-undecinoato de friedelan-3 β -ila). O estudo da atividade biológica consistiu na avaliação da atividade antiviral contra o coronavírus murino e da atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) para os triterpenos isolados (**SG1-SG8**) e três extratos das folhas de *S. grandifolia* (hexânico, clorofórmico e acetato etílico). Além disso, cinco ésteres e quatro triterpenos (**SG3**, **SG5**, **SG6** e **SG8**) tiveram sua atividade citotóxica avaliada frente às linhagens THP-1 e K-562 de leucemia monocítica aguda e leucemia mieloide crônica, respectivamente. Dois extratos (hexânico e acetato etílico) e os triterpenos **SG5** e **SG8** apresentaram atividade contra o coronavírus murino, sendo **SG5** o mais ativo (EC₅₀ = 3,125 μ M). Nenhum triterpeno ou extrato mostraram atividade contra *S. aureus* ou MRSA. Os ésteres e triterpenos testados apresentaram baixa atividade citotóxica contra as linhagens de células de leucemia.

Palavras-chave: Celastraceae. *Salacia grandifolia*. Triterpenos. Atividade antiviral.

ABSTRACT

The phytochemical study of *Salacia grandifolia* hexane leaf extract resulted in the isolation and characterization of eight constituents. The isolation yielded a new pentacyclic triterpene, 28-hydroxyfriedelane-3,15-dione (**SG8**) and seven known friedelane triterpenes: friedelan-3-one (**SG1**), friedelan-3 β -ol (**SG2**), friedelane-3,15-dione (**SG3**), 15 α -hydroxyfriedelan-3-one (**SG4**), 28-hydroxyfriedelan-3-one (**SG5**), 30-hydroxyfriedelan-3-one (**SG6**) and 29-hydroxyfriedelan-3-one (**SG7**). The synthesis of eight new triterpene esters was also carried out, starting from the isomers friedelan-3 α -ol and friedelan-3 β -ol. The study of biological activities consisted in the evaluation of antiviral activity against the murine coronavirus and the antibacterial activity against *S. aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) for the isolated triterpenes (**SG1-SG8**) and three extracts (hexane, chloroform and ethyl acetate extracts of *S. grandifolia* leaves). In addition, the cytotoxic activity of four triterpenes (**SG3**, **SG5**, **SG6** and **SG8**) and five synthesized esters were evaluated against THP-1 and K-562 leukemia cell lines. Two extracts (hexane and ethyl acetate) and the compounds **SG5** and **SG8** exhibited moderate to high antiviral activity, with emphasis on **SG5**, which presented EC₅₀ = 3.125 μ M. Neither the triterpenes nor the extracts showed antibacterial activity against *S. aureus* or MRSA. The esters and compounds tested showed low cytotoxic activity against THP-1 and K-562 leukemia cell lines.

Keywords: Celastraceae. *Salacia grandifolia*. Triterpenes. Antiviral activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas da lovastatina, benzilpenicilina e trabectedina.....	23
Figura 2 – Estruturas de fármacos isolados de plantas	23
Figura 3 – Esquema simplificado da biossíntese dos precursores dos terpenos	25
Figura 4 – Biossíntese do oxidoesqualeno.....	26
Figura 5 – Ciclização do oxidoesqualeno	27
Figura 6 – Formação do lupeol.....	28
Figura 7 – Formação da α -amirina e da β -amirina.....	29
Figura 8 – Formação da friedelina	30
Figura 9 – Folhas e exemplar de <i>S. grandifolia</i>	31
Figura 10 – Esquema utilizado para obtenção dos extratos de folhas de <i>S. grandifolia</i>	34
Figura 11 – Esquema de fracionamento de SEH	37
Figura 12 – Esquema de fracionamento de EH.....	40
Figura 13 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3).....	56
Figura 14 – Correlações do HSQC para SG8.....	57
Figura 15 – Correlações de HMBC dos hidrogênios vizinhos às carbonilas para SG8	58
Figura 16 – Correlações de HMBC para os hidrogênios ligados ao carbono hidroxilado de SG8	59
Figura 17 – Algumas correlações observadas nos mapas de contorno HMBC (), COSY () e NOESY () para SG8.....	59
Figura 18 – Exemplos de derivados de triterpenos pentacíclicos	62
Figura 19 – Estrutura do 3β -hidroxilup-20(29)-en-28-oato de 2,3,5,6-trimetilpirazina	62
Figura 20 – Proposta de mecanismo para a esterificação de Steglich.....	64
Figura 21 – Rota para obtenção dos ésteres derivados do friedelinol.....	64
Figura 22 – Estruturas dos ácidos carboxílicos usados nas reações de esterificação	71
Figura 23 – Projeção de Newman do anel A do β -friedelinol	72
Figura 24 – Projeção de Newman do anel A do α -friedelinol	72

Figura 25 – Expansão dos espectros de RMN de H mostrando os sinais de H-3 dos ésteres sintetizados: L1 (a), L3 (b), L5 (c), L7 (d), L2 (e), L4 (f), L6 (g), L8 (h).....	74
Figura 26 – Expansão do RMN de C evidenciando o sinal de carbono carbonílico para três ésteres sintetizados: L1 (esquerda), L2 (centro), L3 (direita).....	75
Figura 27 – Estruturas do bevirimat, betulona, betulonal e 28-O-acetil-3 β -hidroxilup-20(29)-en-30-al.....	77
Figura 28 – Estruturas da glicirrizina, betulina e ácidos maslínico, ursólico e betulínico.....	78
Figura 29 – Estruturas dos derivados triazólicos do ácido betulínico; 2,3-indolo-28-cianoetoxibetulina e 2,3-indolouvaol.....	80
Figura 30 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG1	99
Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de SG1	100
Figura 32 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG1	101
Figura 33 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG1	101
Figura 34 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG2	102
Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de SG2	103
Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG2.....	104
Figura 37 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG2.....	104
Figura 38 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG3	105
Figura 39 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SG3	106
Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SG3.....	107
Figura 41 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de SG3.....	107
Figura 42 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG4	108
Figura 43 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de SG4.....	109
Figura 44 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SG4.....	110
Figura 45 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de SG4.....	110
Figura 46 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG5	111
Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de SG5.....	112
Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG5.....	113
Figura 49 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG5.....	113
Figura 50 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG6	114
Figura 51 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de SG6.....	115

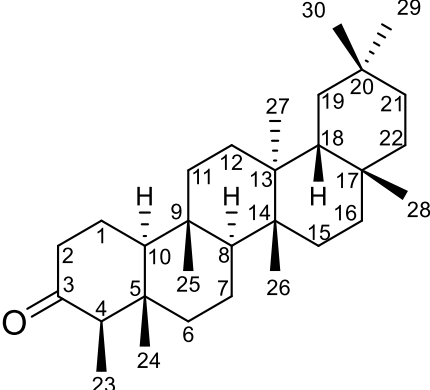
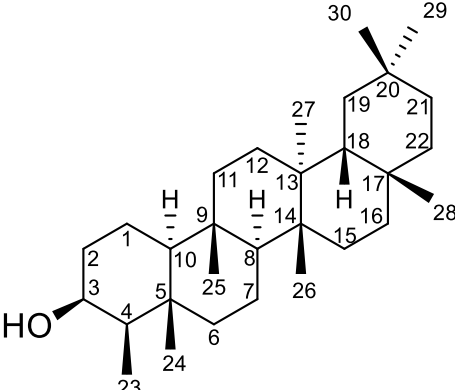
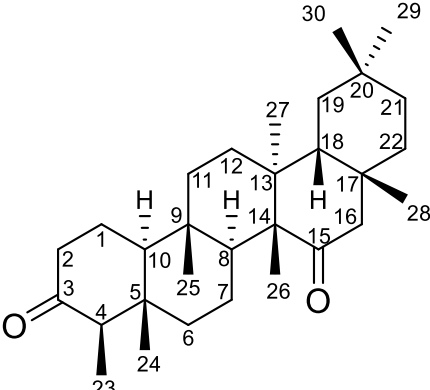
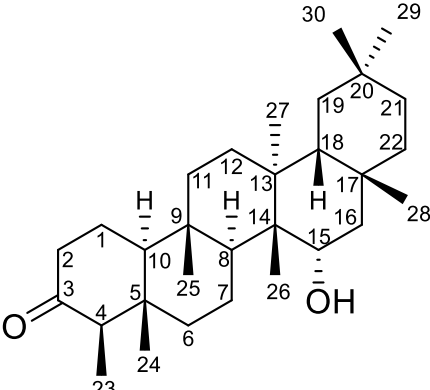
Figura 52 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG6.....	116
Figura 53 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG6.....	116
Figura 54 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG7	117
Figura 55 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de SG7.....	118
Figura 56 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG7	119
Figura 57 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG7	119
Figura 58 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de SG8	120
Figura 59 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de SG8.....	121
Figura 60 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SG8	122
Figura 61 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SG8.....	122
Figura 62 – Mapa de contornos e expansão HSQC (600 MHz, CDCl_3) de SG8	123
Figura 63 – Mapa de contornos e expansões HMBC (600 MHz, CDCl_3) de SG8	124
Figura 64 – Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl_3) de SG8	126
Figura 65 – Mapa de contornos NOESY (600 MHz, CDCl_3) de SG8.....	127
Figura 66 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L1	128
Figura 67 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L1	129
Figura 68 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L1.....	131
Figura 69 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L1	131
Figura 70 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L2.....	132
Figura 71 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L2	133
Figura 72 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L2.....	135
Figura 73 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L2	135
Figura 74 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L3.....	136
Figura 75 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L3	137
Figura 76 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L3.....	139
Figura 77 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L3	139
Figura 78 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L4.....	140
Figura 79 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L4	141
Figura 80 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L4.....	143
Figura 81 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L4	143
Figura 82 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L5.....	144
Figura 83 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L5	145

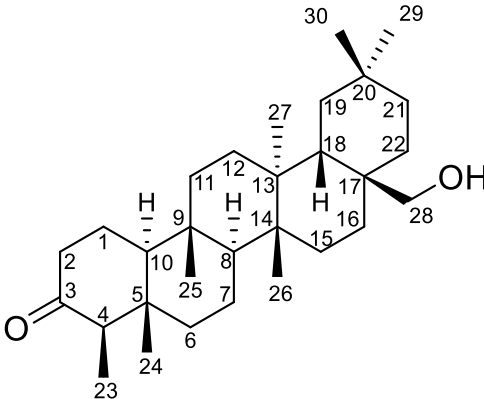
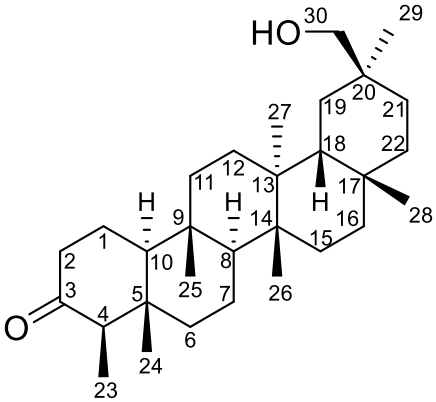
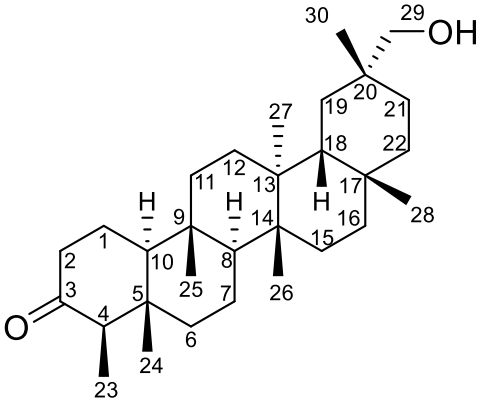
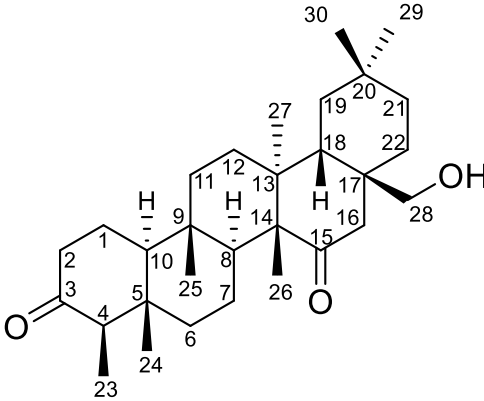
Figura 84 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L5.....	147
Figura 85 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L5	147
Figura 86 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L6.....	148
Figura 87 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L6	149
Figura 88 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L6.....	151
Figura 89 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L6	151
Figura 90 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L7	152
Figura 91 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L7	153
Figura 92 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L7.....	155
Figura 93 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L7	155
Figura 94 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L8.....	156
Figura 95 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de L8	157
Figura 96 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L8.....	158
Figura 97 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L8	159

LISTA DE TABELAS

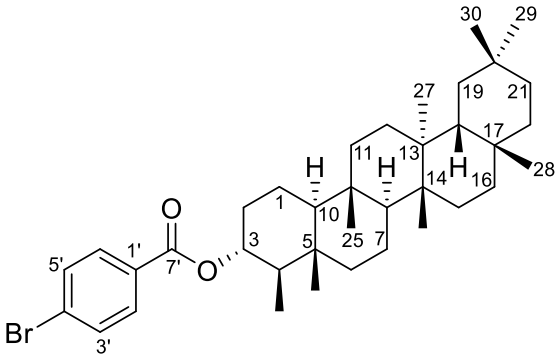
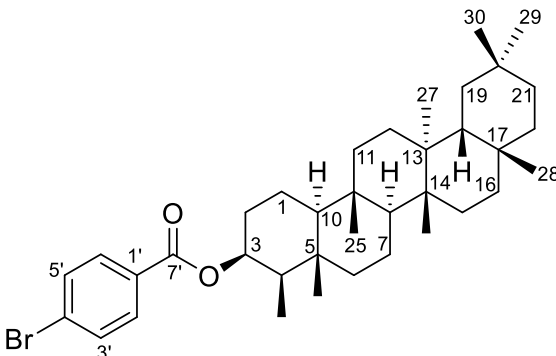
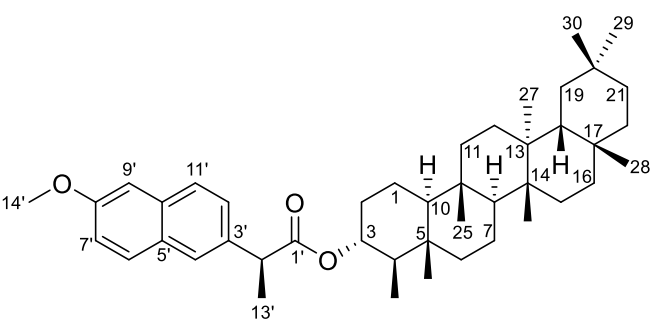
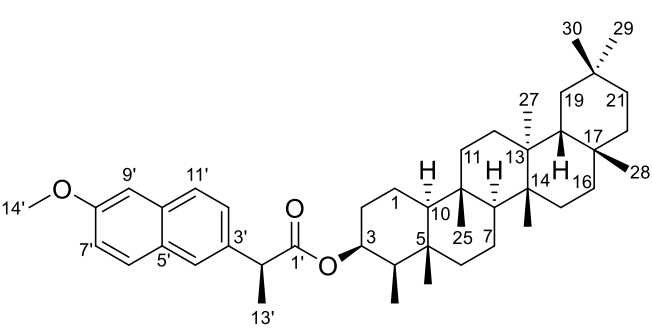
Tabela 1 – Ordem de eluição da coluna A	35
Tabela 2 – Ordem de eluição da coluna E	38
Tabela 3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG1 (CDCl ₃ , 150 MHz)	42
Tabela 4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG2 (CDCl ₃ , 150 MHz)	44
Tabela 5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG3 (CDCl ₃ , 100 MHz)	46
Tabela 6 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG4 (CDCl ₃ , 150 MHz)	48
Tabela 7 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG5 (CDCl ₃ , 150 MHz)	50
Tabela 8 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG6 (CDCl ₃ , 150 MHz)	52
Tabela 9 – Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de SG7 (CDCl ₃ , 150 MHz)	54
Tabela 10 – Dados de RMN 1D e 2D de SG8 (600 MHz, CDCl ₃)	60
Tabela 11 – Resumo da metodologia das esterificações	65
Tabela 12 – Tentativas de esterificação com diferentes ácidos carboxílicos	70
Tabela 13 – Deslocamentos químicos (ppm) dos hidrogênios H-3 para os ésteres sintetizados	73
Tabela 14 – Resultados da avaliação de atividade antiviral	85
Tabela 15 – Valores de IC ₅₀ obtidos a partir do ensaio de viabilidade celular (MTT) nas linhagens	88

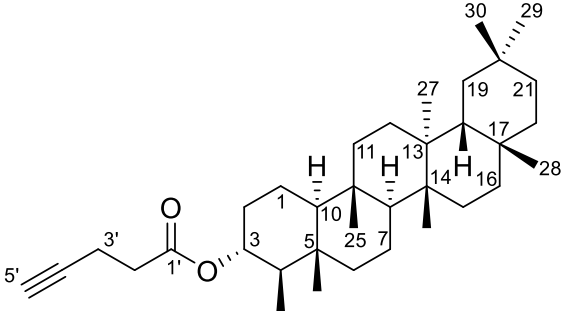
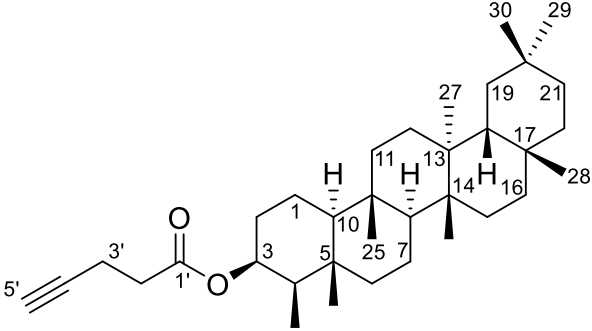
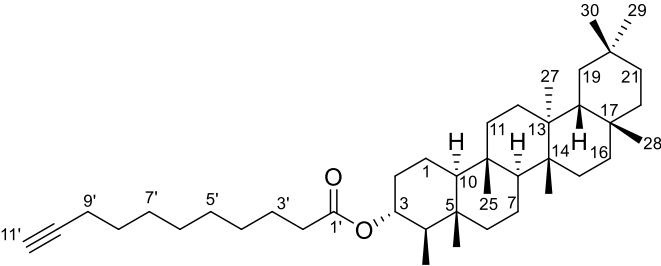
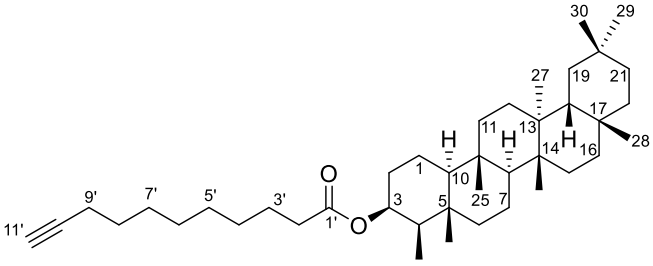
LISTA DE COMPOSTOS ISOLADOS DE *S. grandifolia*

Código	Nome	Estrutura	Página
SG1	friedelan-3-ona (friedelina)		41
SG2	Friedelan-3 β -ol (friedelinol)		43
SG3	friedelano-3,15- diona		45
SG4	15 α - hidroxifriedelan- 3-ona		47

SG5	28- hidroxifriedelan- 3-ona (canofilol)		49
SG6	30- hidroxifriedelan- 3-ona		51
SG7	29- hidroxifriedelan- 3-ona		53
SG8	28- hidroxifriedelano -3,15-diona		55

LISTA DE ÉSTERES SINTETIZADOS A PARTIR DO FRIEDELINOL

Código	Nome	Estrutura	Página
L1	<i>p</i> -bromobenzoato de friedelan-3 α -ila		66
L2	<i>p</i> -bromobenzoato de friedelan-3 β -ila		66
L3	naproxenato de friedelan-3 α -ila		67
L4	naproxenato de friedelan-3 β -ila		67

L5	pent-4-inoato de friedelan-3 α -ila		68
L6	pent-4-inoato de friedelan-3 β -ila		68
L7	undec-10-inoato de friedelan-3 α -ila		69
L8	undec-10-inoato de friedelan-3 β -ila		69

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – ESTUDO QUÍMICO DOS EXTRATOS	22
1. INTRODUÇÃO	22
1.1 Produtos naturais na descoberta de novos fármacos	22
1.2 Triterpenos pentacíclicos.....	24
1.3 Biossíntese de triterpenos	24
1.4 O gênero <i>Salacia</i> e a espécie <i>Salacia grandifolia</i>	30
2. OBJETIVOS	32
3. Metodologia.....	33
3.1 – Material e métodos gerais	33
3.2 – Coleta e identificação do material vegetal	33
3.3 – Preparação dos extratos das folhas de <i>Salacia grandifolia</i>	34
3.4 – Elaboração do sólido do extrato hexânico (SEH)	35
3.5 – Elaboração do extrato hexânico (EH).....	37
4. Determinação Estrutural.....	41
4.1 – SG1 : friedelan-3-ona (friedelina)	41
4.2 – SG2 : friedelan-3 β -ol (friedelinol)	43
4.3 – SG3 : friedelano-3,15-diona	45
4.4 – SG4 : 15 α -hidroxifriedelan-3-ona	47
4.5 – SG5 : 28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol)	49
4.6 – SG6 : 30-hidroxifriedelan-3-ona	51
4.7 – SG7 : 29- hidroxifriedelan-3-ona.....	53
4.8 – SG8 : 28-hidroxifriedelano-3,15-diona	55
CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO FRIEDELINOL.....	61
1. INTRODUÇÃO	61

1.1 Modificações estruturais em produtos naturais	61
1.2 Esterificação – Reação de Steglich	63
2. Metodologia	65
2.2 – Dados físico-químicos dos ésteres sintetizados.....	66
3. Discussão de Resultados	70
3.1 – Reatividade	70
3.2 – Produtos obtidos.....	72
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS	76
1. INTRODUÇÃO	76
1.1 Triterpenos com atividade antiviral.....	76
1.2 Triterpenos e derivados com atividade citotóxica.....	78
2. ENSAIOS ANTIVIRAL E ANTIMICROBIANO	81
2.1 Metodologia	81
2.1.1 – Linhagem celular, vírus e cepas bacterianas	81
2.1.2 – Replicação viral	81
2.1.3 – Titulação viral.....	81
2.1.4 – Concentração citotóxica 50% (CC ₅₀)	82
2.1.5 – Concentração efetiva 50% (EC ₅₀) e índice de seletividade (SI).....	82
2.1.6 – Avaliação da atividade antibacteriana e concentração inibitória mínima (MIC)	83
2.2 Resultados	84
3. ENSAIO CITOTÓXICO.....	86
3.1 Metodologia.....	86
3.1.1 – Linhagens celulares K-562 e THP-1	86
3.1.2 – Ensaio de viabilidade celular.....	86
3.1.3 – Determinação do IC ₅₀ para as linhagens celulares	87
3.2 Resultados	87
CONCLUSÃO.....	89

Referências	90
APÊNDICE A – ESPECTROS DOS PRODUTOS DE FITOQUÍMICA	99
APÊNDICE B – ESPECTROS DOS PRODUTOS DE SEMISSÍNTESE	128

CAPÍTULO 1 – ESTUDO QUÍMICO DOS EXTRATOS

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos naturais na descoberta de novos fármacos

Historicamente, os produtos naturais têm desempenhado um papel fundamental na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, principalmente para o tratamento de câncer, doenças infecciosas e doenças cardiovasculares (ATANASOV et al., 2021). A alta diversidade estrutural dos produtos naturais, aprimorada por milhares de anos pela evolução e pela seleção natural, resulta em um amplo espectro de atividades biológicas para essas moléculas e, conseqüentemente, em diversas aplicações farmacológicas (TRIPATHI et al., 2018). Uma pesquisa realizada por Newman e Cragg (2020) mostrou que, de todos os fármacos aprovados pelo FDA de 1981 a 2019, 56,5% possuem alguma relação com produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Os produtos naturais podem ser encontrados em diversas fontes, como os fungos, de onde foram isoladas as estatinas (mevastatina e lovastatina) (**Figura 1**, pág. 23), que atuam diminuindo os níveis de colesterol no sangue (ENDO, 2017), e a benzilpenicilina (**Figura 1**, pág. 23), primeiro antibiótico descoberto por Alexander Fleming (CRAGG; NEWMAN, 2014). Os organismos marinhos (animais, microrganismos e algas) também são uma fonte de produtos naturais que vem atraindo o interesse dos pesquisadores (CARROLL et al., 2021). Como exemplo, têm-se os fármacos ziconotida, um analgésico peptídico sintético baseado na toxina do caracol *Conus magus* (BROOKES; ELDABE; BATTERHAM, 2016), e trabectedina (**Figura 1**, pág. 23), um antitumoral isolado da espécie *Ecteinascidia turbinata* (JIMENEZ et al., 2020).

A fonte mais estudada de produtos naturais é o Reino Plantae (GURIB-FAKIM, 2006). Um dos primeiros produtos naturais isolados de plantas foi a betulina (**Figura 2**, pág. 23), isolada em 1788, quando ainda não se buscava uma aplicação farmacológica (KRÓL et al., 2015). A morfina, isolada da papoula em 1804, foi o primeiro produto natural isolado visando uma aplicação farmacológica (BERNARDINI

et al., 2018). Outras substâncias de destaque são a quinina e a artemisinina (**Figura 2**), fármacos antimaláricos isolados de *Cinchona sp* e *Artemisia annua*, respectivamente. A descoberta da artemisinina rendeu o Prêmio Nobel de Medicina de 2015 à Dra. Youyou Tu (KRUNGKRAI; KRUNGKRAI, 2016). A vincristina e a vimblastina, da espécie *Catharanthus roseus* (vinca de Madagascar), e o paclitaxel (**Figura 2**), da espécie *Taxus brevifolia* (teixo) são exemplos de fármacos antitumorais isolados de plantas (ZYAD et al., 2018).

Figura 1 – Estruturas da lovastatina, benzilpenicilina e trabectedina

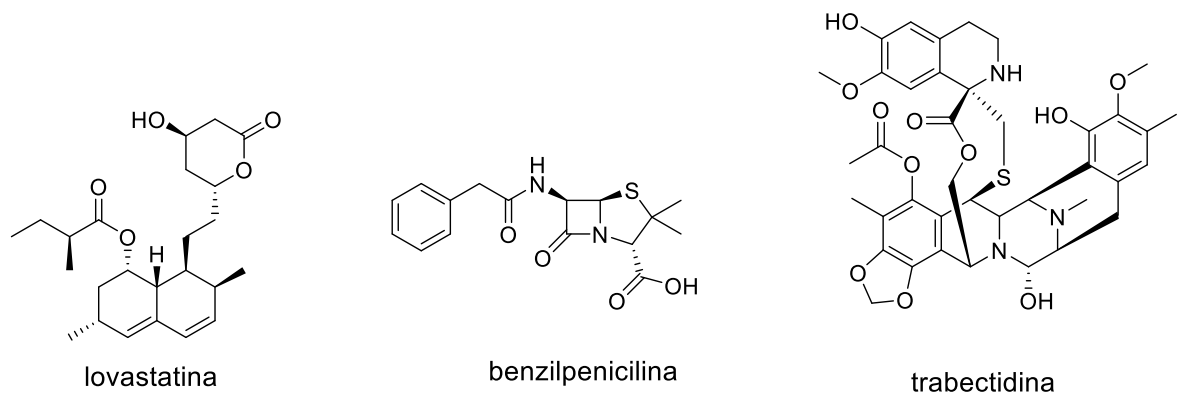
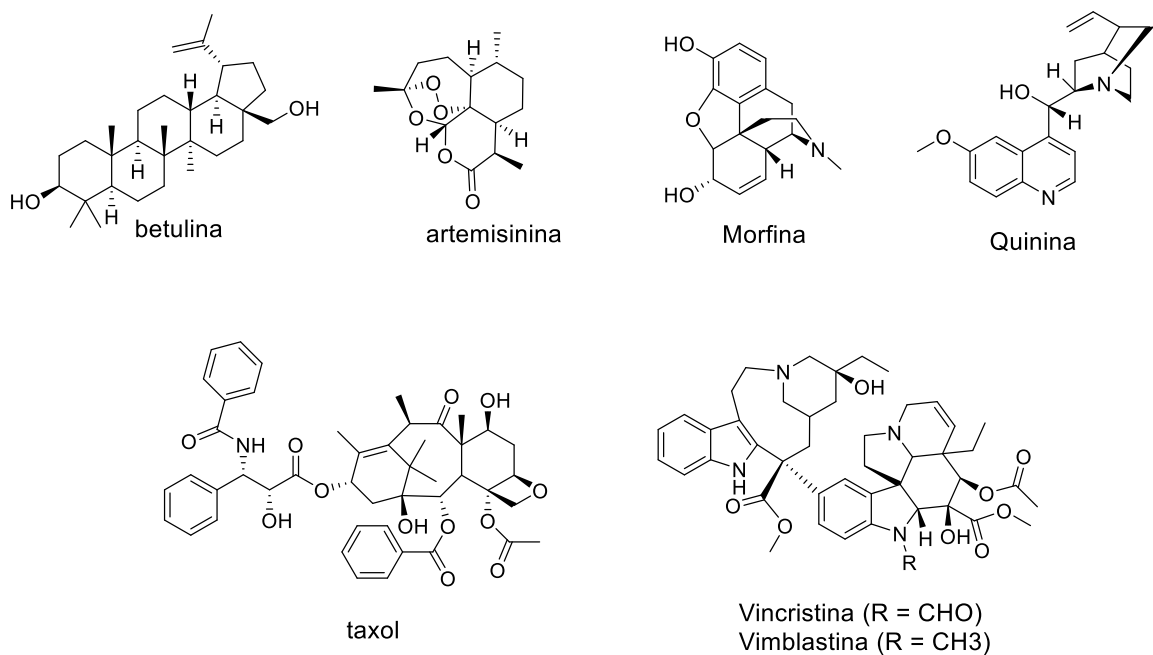


Figura 2 – Estruturas de fármacos isolados de plantas



1.2 Triterpenos pentacíclicos

Os terpenos são um importante grupo de compostos ativos usualmente encontrados em plantas, contando com mais de 23000 estruturas conhecidas (KABERA et al., 2014). Eles são biossintetizados a partir do acoplamento de unidades isoprênicas (C_5) e são classificados de acordo com o número dessas unidades em monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (BERGMAN; DAVIS; PHILLIPS, 2019).

Dentre os terpenos, destacam-se os triterpenos que, devido à sua grande diversidade estrutural, apresentam diversas atividades biológicas, tais como antitumoral (tingenona e pristimerina), anti-inflamatória (celastrol), antimicrobiana ($1\alpha,29$ -di-hidroxifriedelan-3-ona) cardioprotetora (lupeol, ácido 2α -hidroxiursólico), antidiabética (α -amirina) e antiviral (ácido betulínico, ácido oleanólico e ácido ursólico) (RODRIGUES et al., 2019; SALVADOR et al., 2017; SHENG; SUN, 2011; SOUSA et al., 2017; THENGYAI et al., 2020; VENKATESHA et al., 2016; XIAO et al., 2018).

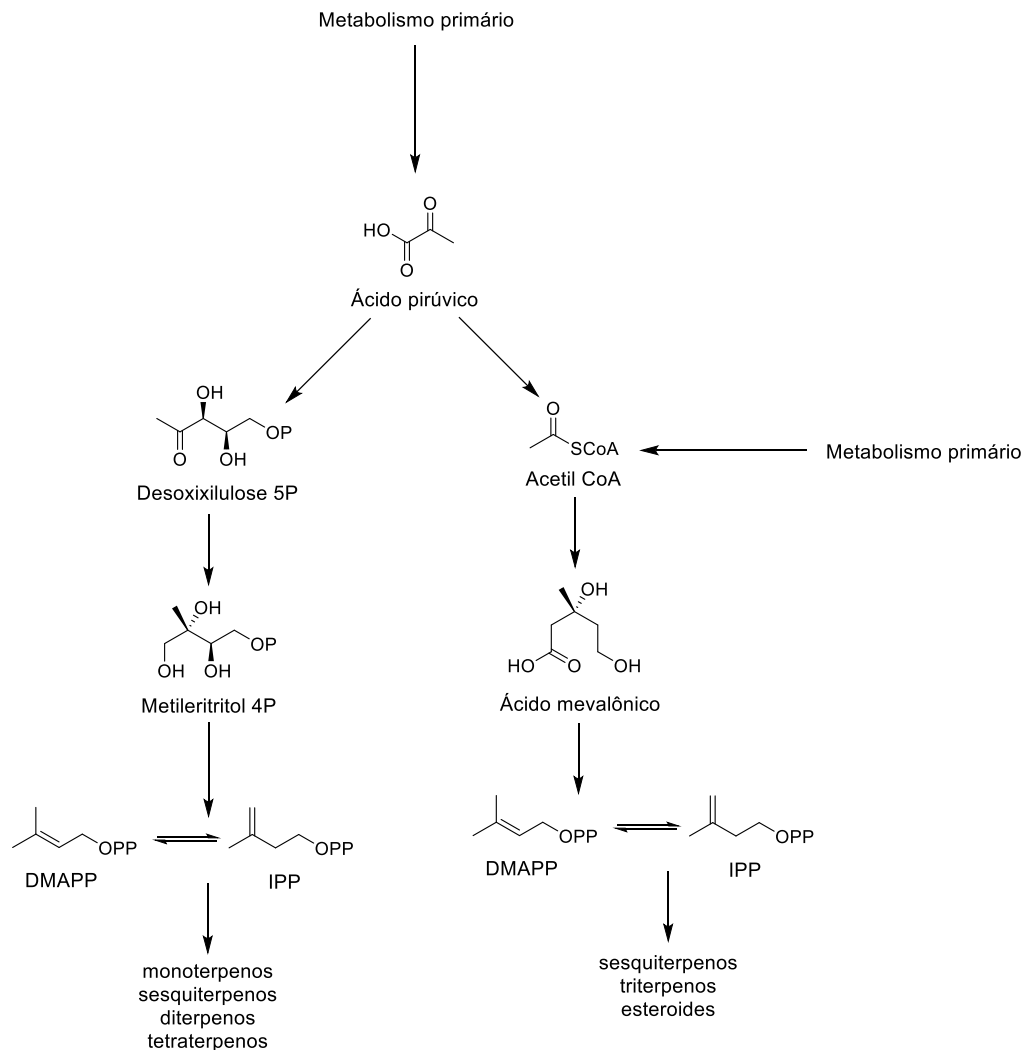
1.3 Biossíntese de triterpenos

Os terpenos se originam a partir do acoplamento cabeça-cauda de dois precursores: o pirofosfato de dimetilalila (DMAPP) e o pirofosfato de isopentenila (IPP). Esses dois precursores são formados por meio do metabolismo primário, que sintetiza a acetil coenzima A (acetil-CoA). A acetil-CoA posteriormente reage com duas outras unidades de acetil-CoA para formar o 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. Esse tioéster, então, é hidrolisado e reduzido a mevalonato, mediante o consumo de duas unidades de NADPH. Logo depois, o mevalonato sofre uma fosforilação seguida de uma descarboxilação, resultando nos isômeros DMAPP e IPP. Essa rota é conhecida como a rota do mevalonato para biossíntese de terpenoides (KIRBY; KEASLING, 2009).

O outro caminho para a biossíntese dos terpenos é a rota do metileritritol-fosfato, que envolve transformação do ácido pirúvico em desoxixilulose 5-fosfato, através de uma descarboxilação do ácido seguida do ataque à carbonila de uma molécula de gliceraldeído-3-fosfato. No próximo passo, a desoxixilulose 5-fosfato passa por um rearranjo seguido de redução para originar o metileritritol-4-fosfato. Finalmente, a transformação do metileritritol-4P em DMAPP e IPP acontece em cinco etapas, envolvendo um intermediário cíclico (2-C-metileritritol-2,-4-ciclodifosfato) e

sua posterior redução mediada por enzimas de ferro-enxofre (**Figura 3**) (BERGMAN; DAVIS; PHILLIPS, 2019). Ambas as rotas biossintéticas ocorrem nas plantas, sendo que a via do mevalonato acontece no citoplasma das células e a via do metileritritol-fosfato acontece nos plastídeos (KIRBY; KEASLING, 2009).

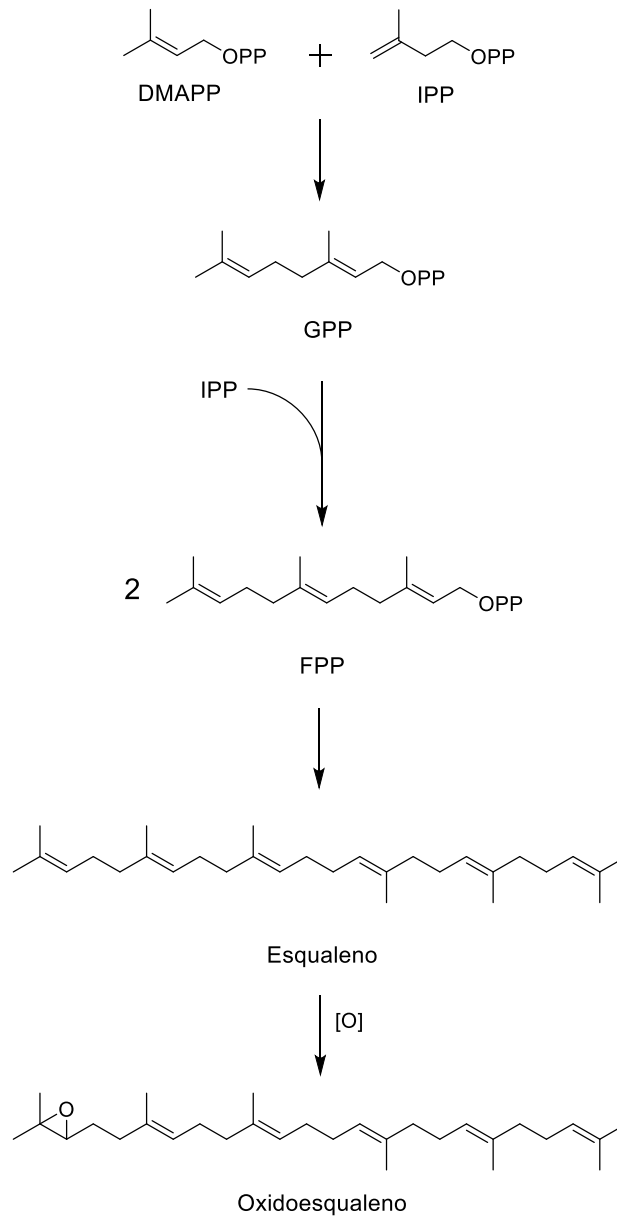
Figura 3 – Esquema simplificado da biossíntese dos precursores dos terpenos



Uma vez que os precursores DMAPP e IPP são formados, as duas rotas biossintéticas seguem o mesmo caminho. Quando duas unidades C5 se ligam, forma-se o pirofosfato de geranila (GPP), precursor dos monoterpenos. Quando uma unidade C5 se liga ao GPP, é formado o pirofosfato de farnesila (FPP), precursor dos sesquiterpenos. Para formar o esqualeno, hidrocarboneto precursor dos triterpenos, duas moléculas de FPP se ligam pelas extremidades fosfatadas, liberando duas moléculas de pirofosfato. Em seguida, o esqualeno é oxidado entre os carbonos 2 e 3

pela enzima esqualeno epoxidase, formando o oxidoesqualeno (**Figura 4**) (DEWICK, 2009).

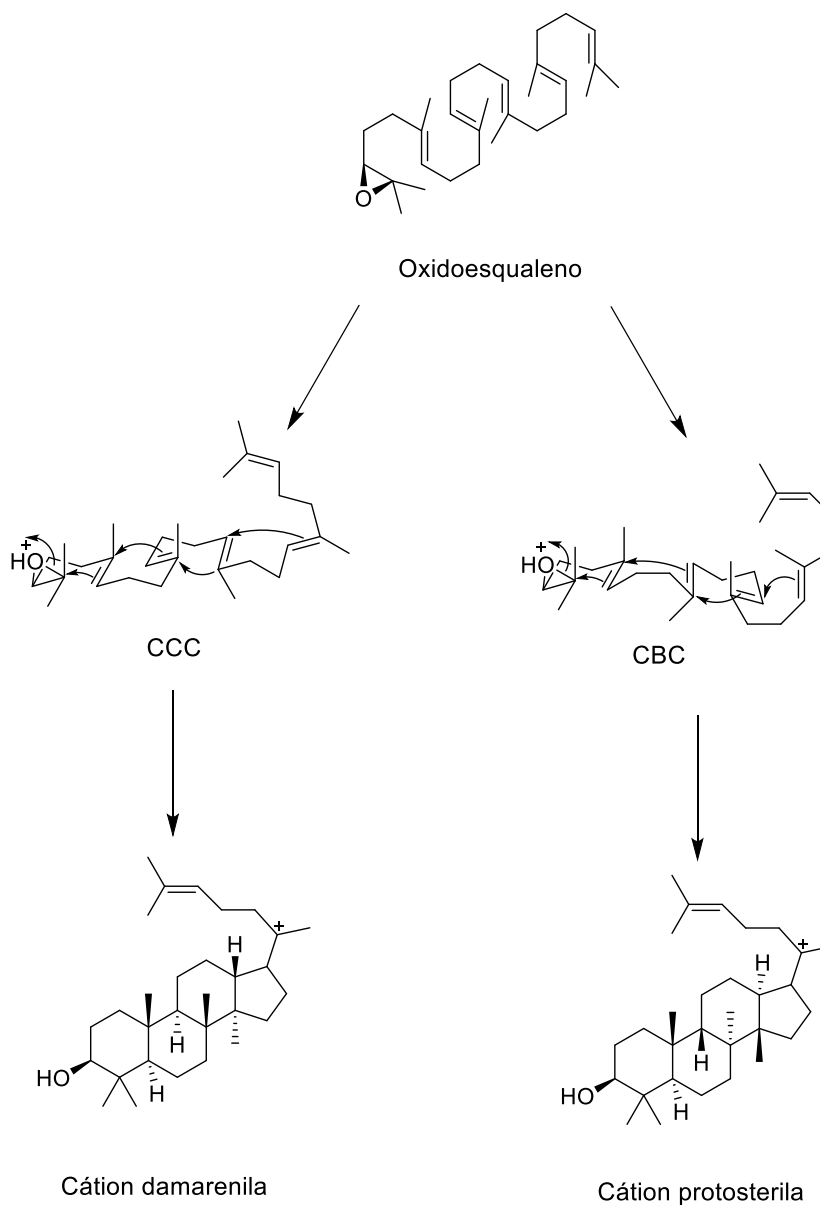
Figura 4 – Biossíntese do oxidoesqualeno



O oxidoesqualeno, ao sofrer processos de ciclização mediados pelas enzimas oxidoesqualeno ciclasas, pode dar origem aos esteroides e aos triterpenos. A ciclização pode dar origem a dois diferentes intermediários catiônicos tetracíclicos: o cátion damarenila e o cátion protosterila (STEPHENSON; FIELD; OSBOURN, 2019). A diferença entre esses dois compostos está relacionada à conformação assumida pelos seus precursores, sendo que o damarenila (precursor dos triterpenos) provém de uma conformação cadeira-cadeira-cadeira (CCC) e o protosterila (precursor dos

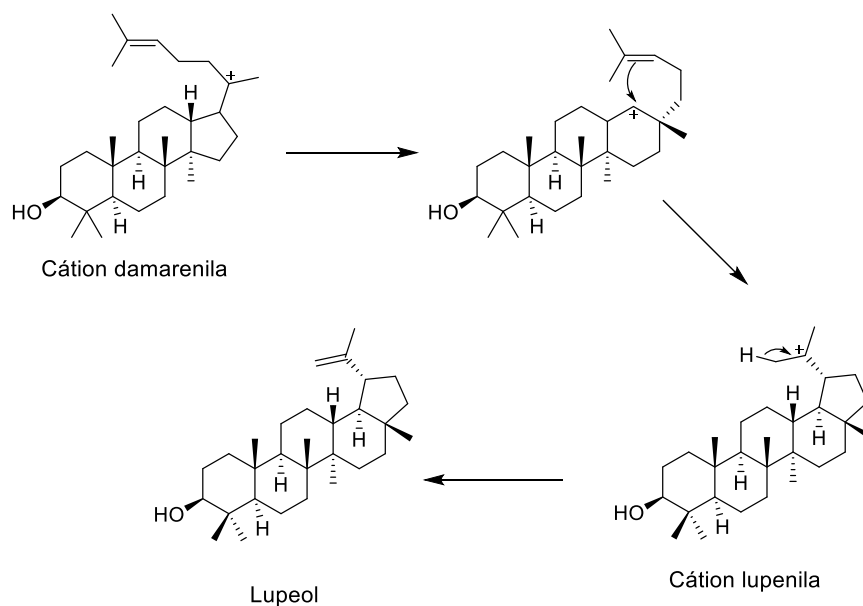
esteroides) de uma conformação cadeira-barco-cadeira (CBC) (**Figura 5**) (THIMMAPPA et al., 2014).

Figura 5 – Ciclização do oxidoesqualeno



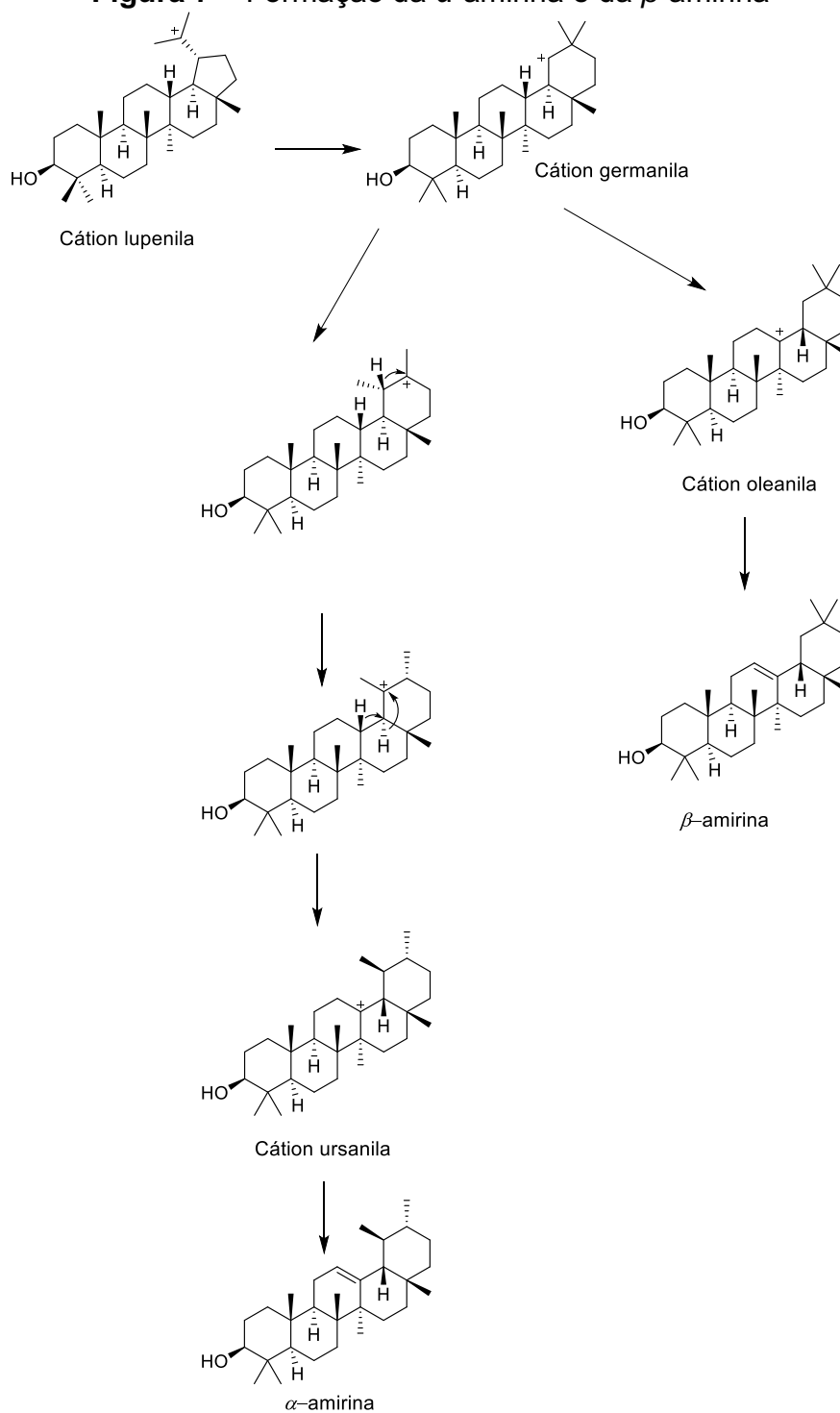
Uma vez formado, o cátion damarenila sofre uma expansão do quarto anel seguida pela formação do quinto anel, originando o cátion lupenila, intermediário chave na biossíntese da maioria dos triterpenos pentacíclicos conhecidos. A perda de um próton para formar uma ligação dupla carbono-carbono dá origem ao lupeol (**Figura 6**, pág. 28) (BASYUNI et al., 2007).

Figura 6 – Formação do lupeol

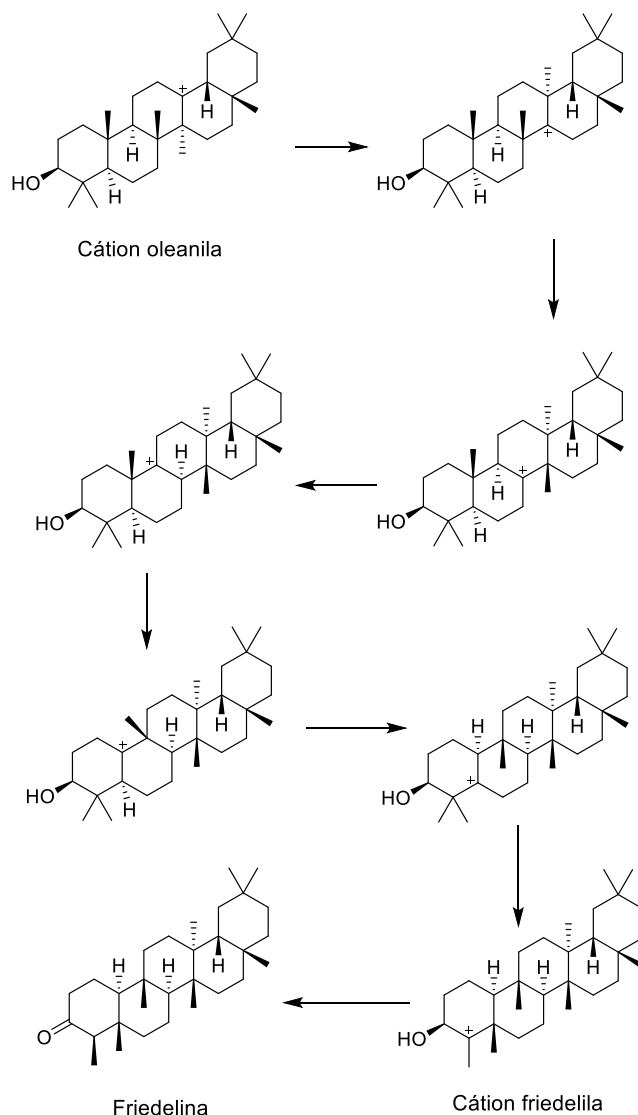


Ao sofrer uma expansão de anel, o cátion lupelila se torna o cátion germanila, que logo em seguida sofre um rearranjo de um grupo metileto (carbono 30) e de três hidretos, seguido da perda de um próton, formando a α -amirina (**Figura 7**, pág. 29) (REES; MERCER; GOODWIN, 1966). Para formar o cátion oleanila, o cátion germanila passa pelo rearranjo de dois hidretos. A perda de um próton formando uma ligação dupla entre os carbonos 12 e 13 dá origem à β -amirina (**Figura 7**, pág. 29) (BUSTA et al., 2020; HUANG et al., 2022).

Figura 7 – Formação da α -amirina e da β -amirina



O cátion oleanila também pode sofrer sete rearranjos sucessivos de metilas e hidretos até formar o cátion friedelila, que sofre mais um rearranjo de hidreto seguido da perda de um próton, originando a friedelina (**Figura 8**, pág. 30) (BUSTA et al., 2020)

Figura 8 – Formação da friedelina

Depois da biossíntese dos esqueletos principais, os triterpenos pentacíclicos podem sofrer modificações em sua estrutura, como oxidação, esterificação e hidroxilação. Dentre elas, as modificações promovidas pelas enzimas P450 são cruciais para a funcionalização e diversificação das estruturas dos triterpenos, já que as reações são regio e estereoespecíficas e as enzimas podem atuar em diferentes locais do esqueleto triterpênico (BUSTA et al., 2020; GHOSH, 2017; THIMMAPPA et al., 2014).

1.4 O gênero *Salacia* e a espécie *Salacia grandifolia*

O gênero *Salacia* pertence à família Celastraceae e conta com aproximadamente 200 espécies distribuídas em regiões tropicais, tais como América

do Sul, Índia e China. Espécies desse gênero são utilizadas na medicina tradicional de diversos países do sudeste Asiático como anti-inflamatório e para o tratamento do diabetes (SANTOS et al., 2020). O extrato aquoso de *S. oblonga*, por exemplo, apresentou potente atividade hipoglicêmica, através da interação de compostos do extrato com a enzima α -glicosidase em um mecanismo de inibição enzimática competitiva. Essa interação da enzima com o extrato e não com o carboidrato sugere que uma menor quantidade de glicose seja liberada na corrente sanguínea, o que manteria o índice glicêmico em níveis saudáveis (KKG; NEELAPU; CHALLA, 2014).

O extrato hidroetanólico das folhas de *S. senegalensis* também apresentou atividade antifúngica frente aos fungos dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Epidermophyton floccosum*. Também foi observada atividade em relação à atenuação da atividade inflamatória. O extrato inibiu a enzima 5-lipooxigenase da soja com um IC_{50} de 71,14 $\mu\text{g MI}^{-1}$ sem causar danos à célula (GOMES et al., 2019).

Popularmente conhecida como siputá, a espécie *Salacia grandifolia* (Mart.) G. Don (**Figura 9**) é um arbusto ou árvore que pode atingir de 1,5 a 4 m de altura e pode ser encontrada nos estados brasileiros de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia, em regiões de Mata Atlântica (BARBOSA; SCABBIA, 2019; WANDERLEY et al., 2003).

Figura 9 – Folhas e exemplar de *S. grandifolia*



(Fonte: Guilherme Antar)

Até a presente data, nenhum estudo químico ou biológico foi realizado utilizando extratos de partes de *S. grandifolia*.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das folhas de *S. grandifolia*, visando o isolamento e a identificação de diferentes constituintes químicos. Também teve como objetivo a síntese de ésteres inéditos do friedelinol para, juntamente com os compostos isolados, serem avaliados frente a células de leucemia, coronavírus murino, *S. aureus* e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA).

Dessa forma, foram objetivos específicos deste trabalho:

- * O preparo dos extratos hexânico, clorofórmico, acetato etílico e metanólico das folhas de *S. grandifolia*.
- * Fracionamento do extrato hexânico.
- * Síntese de diferentes ésteres inéditos a partir dos isômeros do friedelinol.
- * Realização de testes biológicos para avaliar a atividade antiviral, antimicrobiana, citotóxica e de inibição da acetilcolinesterase para os compostos isolados e sintetizados.

3. Metodologia

3.1 – Material e métodos gerais

O fracionamento dos extratos e a purificação das frações foram feitos por meio de cromatografia em coluna (CC) de sílica gel 60 (70 – 230 mesh ou 230 – 400 mesh). As análises preliminares de pureza foram feitas em placas de cromatografia em camada delgada (CCD) preparadas com sílica gel 60 e água destilada, ativadas em estufa a 100 °C, por no mínimo trinta minutos. As placas de CCD foram reveladas com uma solução reveladora 1:1 v/v contendo vanilina em álcool etílico (1% m/v) e ácido perclórico em água (3% v/v), seguido de aquecimento a 100 °C.

As colunas cromatográficas foram eluídas com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradientes de polaridade crescente. Quando a reutilização de misturas se mostrou necessária, a proporção foi aferida com o auxílio de um refratômetro.

Os espectros de RMN foram obtidos utilizando os espectrômetros Bruker Avance III 400 MHz nanobay, ou Avance Neo 600 MHz do Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química da UFMG. O solvente utilizado foi clorofórmio deuterado (CDCl_3). Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em ppm, o padrão de referência interna utilizado foi tetrametilsilano (TMS; $\delta_{\text{H}} = \delta_{\text{C}} = 0$) e as constantes de acoplamento (J) foram calculadas em Hertz (Hz).

3.2 – Coleta e identificação do material vegetal

As folhas de *Salacia grandifolia* foram coletadas no município de Embu-Guaçu, São Paulo, em Dezembro de 2020, pelo professor Dr. Guilherme de Medeiros Antar, do Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo – *Campus* São Mateus.

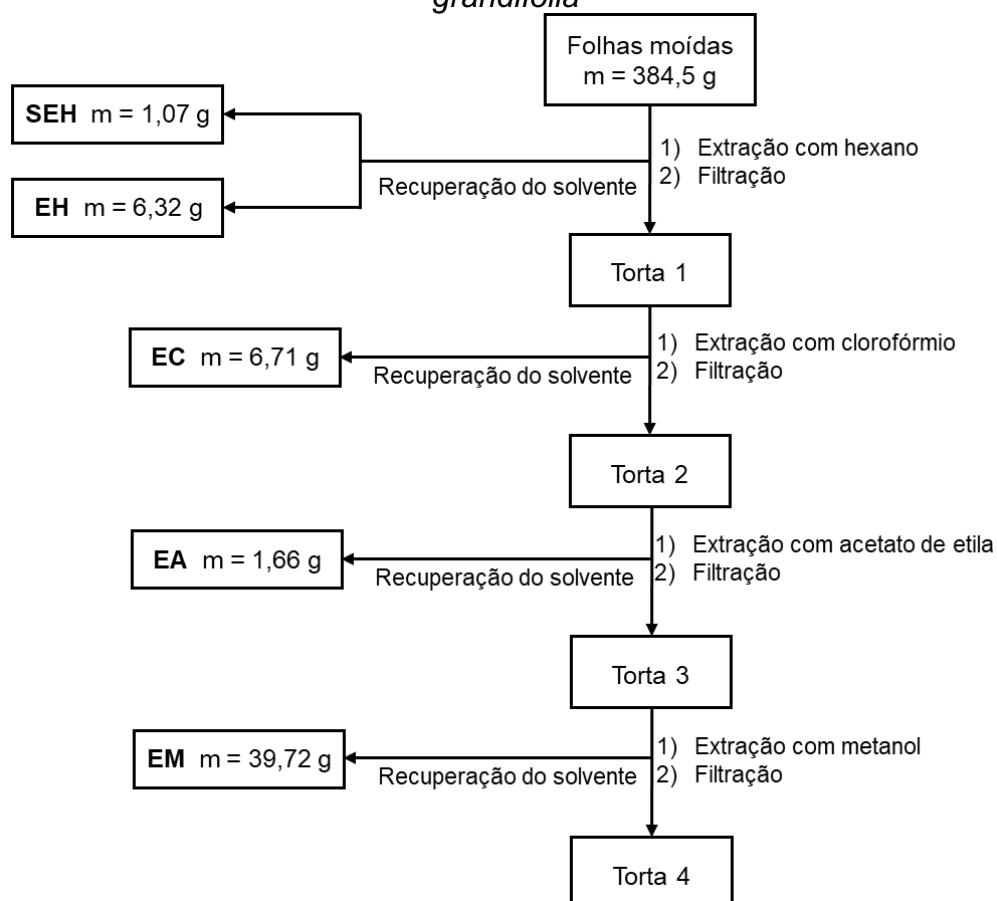
A identificação do material vegetal também foi feita pelo professor Guilherme, e uma exsicata do espécime (ANTAR3242) foi depositada no Herbário SPF, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da USP. O acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrado no SisGen e recebeu o código AEC7E65.

3.3 – Preparação dos extratos das folhas de *Salacia grandifolia*

Após a coleta, as folhas de *S. grandifolia* foram submetidas à secagem à temperatura ambiente e, posteriormente, foram pulverizadas em moinho de facas, obtendo-se 384,5 g de material moído. Este material foi submetido à extração exaustiva à temperatura ambiente com o uso de hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, separadamente. Cada extrato foi filtrado e o solvente foi recuperado utilizando-se evaporador rotativo sob pressão reduzida. Durante a recuperação do solvente do extrato hexânico houve precipitação de sólido que foi separado através de filtração sob pressão reduzida.

A nomenclatura dos extratos foi feita da seguinte maneira: letra S para sólido; E, para extrato; H para hexânico; C para clorofórmico; A para acetato etílico e M para metanólico. Portanto, o sólido que precipitou do extrato hexânico foi identificado como SEH; o sobrenadante do extrato hexânico como EH, assim por diante. A extração está esquematizada na **Figura 10**. Os metabólitos e/ou misturas isolados foram identificados pelas letras SG, seguidas da ordem de isolamento dos compostos.

Figura 10 – Esquema utilizado para obtenção dos extratos de folhas de *S. grandifolia*



3.4 – Elaboração do sólido do extrato hexânico (SEH)

SEH, um sólido não cristalino e ligeiramente esverdeado (1,07 g), foi obtido durante a recuperação do solvente do extrato hexânico (EH). O material foi submetido à cromatografia em coluna (Coluna A) utilizando-se 111,8 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluente, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade. Foram coletadas 267 frações de 20 mL (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Ordem de eluição da coluna A

Frações	Eluente
1-13	Hexano
14-221	Hex/AcOEt 9:1
222-248	Hex/AcOEt 8:2
249-266	Hex/AcOEt 1:1
267	Metanol

As 267 frações foram reunidas em 13 grupos de acordo com a similaridade dos perfis na cromatografia em camada delgada. Os grupos não descritos não possuíam massa suficiente para serem trabalhados ou não resultaram no isolamento de nenhum composto.

Grupo A1 (frações 1-48; 50,4 mg): foi obtido um sólido branco levemente amarelado. O perfil em CCD mostrou duas manchas, uma roxa e uma amarela. Adicionou-se hexano ao sólido e verificou-se a solubilização da impureza amarela. Após uma filtração, obteve-se um sólido branco não cristalino (42,1 mg). A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C permitiu identificar o sólido como o friedelan-3-ona (friedelina, **SG1**).

Grupo A2 (frações 49-78; 345,1 mg): foi obtido um sólido branco amarelado. O perfil em CCD mostrou 2 manchas roxas e uma mancha amarela. Adicionou-se hexano ao sólido e verificou-se a dissolução de uma impureza amarela. Em seguida foi feita uma filtração e foi obtido um sólido não cristalino branco (288,6 mg), cujo perfil na CCD mostrou uma mancha roxa e uma amarela. A análise dos espectros de RMN

de ^1H e ^{13}C permitiu identificar uma mistura de friedelan-3-ona (friedelina, **SG1**) e friedelan-3 β -ol (friedelinol, **SG2**).

Grupo A3 (frações 79-118; 181,8 mg): foi obtido um sólido branco cujo perfil na CCD mostrou duas manchas. O sólido foi purificado por CC (**coluna B**). Foram utilizados 22,0 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluentes, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **B5 (frações 42-64; 27,4 mg)** foi obtido como um sólido branco e foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com a literatura permitiu identificar o sólido como o friedelano-3,15-diona (**SG3**).

O subgrupo **B7 (frações 75-81; 7,9 mg)** foi obtido como um sólido branco e foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C , e a comparação com a literatura permitiu identificá-lo como a 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SG4**).

Grupo A6 (frações 137-188; 109 mg): foi obtido um sólido branco esverdeado. Ao adicionar acetona, verificou-se a solubilização da impureza verde. Após uma filtração, obteve-se um sólido branco não cristalino (74,3 mg). A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C permitiu identificar o composto como 28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol, **SG5**).

Grupos A8 (frações 189-231; 81 mg): foi obtido um sólido branco amarelado que foi purificado por coluna (**coluna C**). Foram utilizados 7,1 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e como eluentes hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **C5 (frações 23-44; 23,2 mg)** foi obtido como um sólido branco e foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com a literatura permitiu identificar o sólido como a 30-hidroxifriedelan-3-ona (**SG6**).

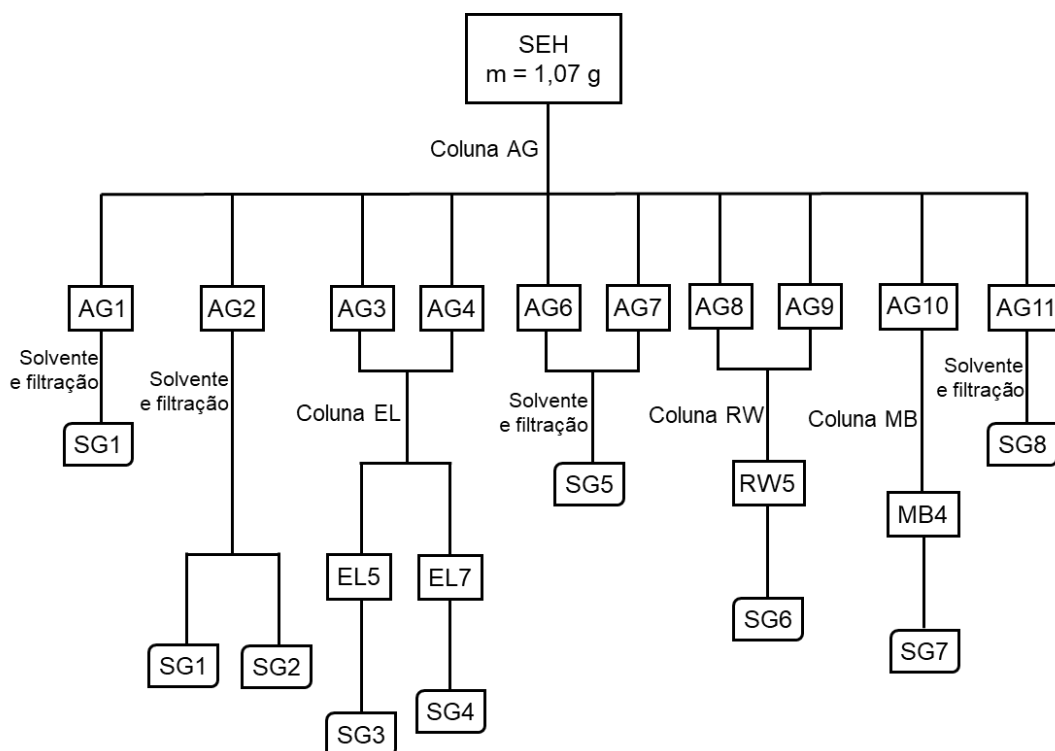
Grupo A10 (frações 232-252; 59,9 mg): foi obtido um sólido branco amarelado que foi submetido à purificação por CC (**coluna D**). Foram utilizados 7 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e, como eluentes, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **D4 (frações 11-13; 11,1 mg)** foi obtido como um sólido branco e foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com a literatura permitiu identificar o sólido como a 29-hidroxifriedelan-3-ona (**SG7**).

Grupo A11 (frações 253-262; 100 mg): foi obtido um sólido branco amarelado. A adição de acetona provocou a dissolução da impureza amarela, e a posterior filtração permitiu obter um sólido branco não cristalino (47,7 mg). A análise dos

espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e dos mapas de contornos HSQC, HMBC, COSY e NOESY permitiu identificar o composto como 28-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SG8**), inédito na literatura.

Figura 11 – Esquema de fracionamento de SEH



Legenda:

- SG1 – friedelina (50,4 mg)
- SG2 – friedelinol (mistura; 345,1 mg)
- SG3 – 3,15-dioxofriedelano (27,4 mg)
- SG4 – 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (7,9 mg)
- SG5 – canofilol (74,3 mg)
- SG6 – 30-hidroxifriedelan-3-ona (23,2 mg)
- SG7 – 29-hidroxifriedelan-3-ona (11,1 mg)
- SG8 – 28-hidroxifriedelan-3,15-diona (47,7 mg)

3.5 – Elaboração do extrato hexânico (EH)

EH foi obtido como um sólido verde após a filtração de SEH (6,3 g). O material foi submetido à cromatografia em coluna (**Coluna E**) utilizando-se 303,2 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e, como eluente, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade. Foram coletadas 115 frações de 125 mL (**Tabela 2**, pág. 38).

Tabela 2 – Ordem de eluição da coluna E

Frações	Eluente
1-40	Hexano
41-65	Hex/AcOEt 9:1
66-70	Hex/AcOEt 8:2
71-80	Hex/AcOEt 7:3
81-96	Hex/AcOEt 1:1
97-102	Hex/AcOEt 3:7
103-109	AcOEt
110-114	AcOEt/MeOH 1:1
115	Metanol

As 115 frações foram reunidas em 17 grupos de acordo com a similaridade dos perfis na cromatografia em camada delgada. Os grupos não descritos não possuíam massa suficiente para serem trabalhados ou não resultaram no isolamento de nenhum composto.

Grupo E4 (frações 45-46, 1,9 g): foi obtido um sólido verde, que foi submetido à CC para purificação (**coluna F**). Foram utilizados 48,9 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e, como eluentes, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **F1 (frações 43-48, 849,9 mg)** foi submetido à CC para purificação (**coluna G**). Foram utilizados 40,3 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e como eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **G7 (frações 56-73, 140,7 mg)** foi obtido como um sólido branco amarelado. A impureza foi removida com a adição de acetona e posterior filtração. O sólido branco resultante (135,7 mg) foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com dados da literatura permitiu identificar o composto como o friedelan-3-ona (friedelina, **SG1**).

O subgrupo **F5 (frações 56-71, 170,8 mg)** foi obtido como um sólido levemente esverdeado. A impureza verde foi retirada com a adição de hexano e acetona e

posterior filtração, resultando em um sólido branco de aspecto brilhante (67,1 mg). O sólido foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C , e a comparação com a literatura permitiu identificá-lo como friedelan-3 β -ol (friedelinol, **SG2**).

O subgrupo **F8 (frações 85-89, 80 mg)** foi obtido como um sólido amarelado. A adição de acetona solubilizou a impureza e um sólido branco (38,1 mg) foi obtido após uma filtração. O sólido foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação com a literatura permitiu identificá-lo como o friedelano-3,15-diona (**SG3**).

Grupo E5 (frações 47-49, 972,8 mg): o grupo foi submetido à CC para purificação (**coluna H**). Foram utilizados 90,5 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e como eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **H4 (frações 41-68, 57,1 mg)** foi obtido como um sólido branco de aspecto brilhante e foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com dados da literatura permitiu identificar o composto como o friedelan-3 β -ol (friedelinol, **SG2**).

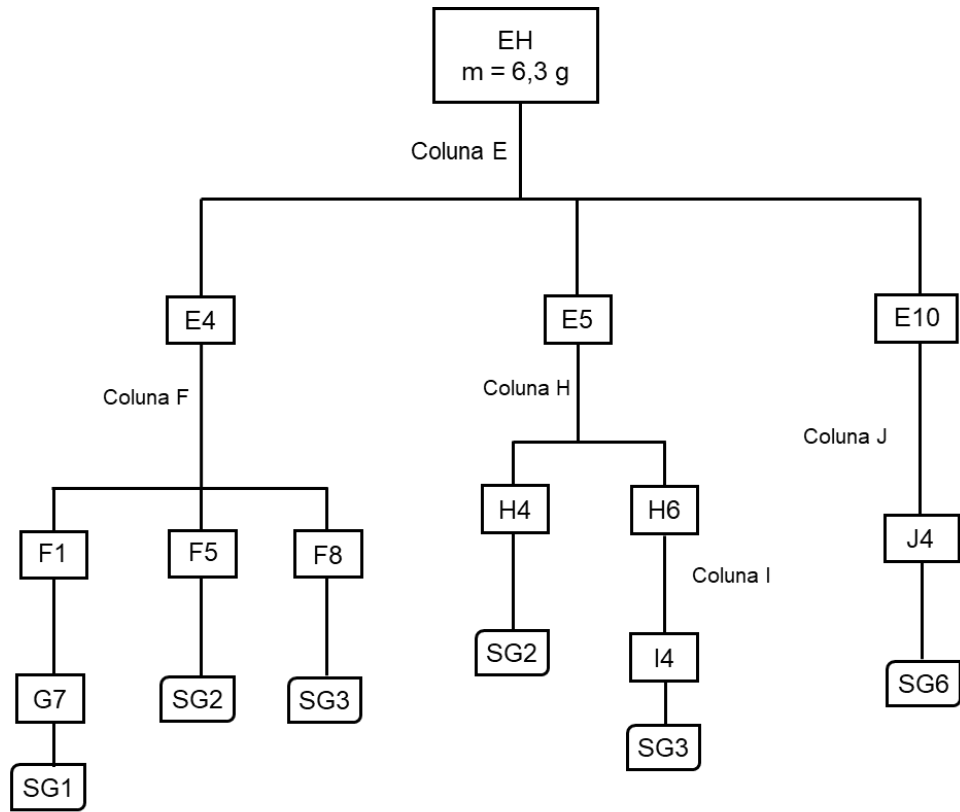
O subgrupo **H6 (frações 81-92, 192,9 mg)** foi submetido à CC (**coluna I**). Foram utilizados 20 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e, como eluentes, hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **I4 (frações 28-39, 35,4 mg)** foi obtido como um sólido branco, que foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com dados da literatura permitiu identificar o composto como o friedelano-3,15-diona (**SG3**).

Grupo E10 (fração 54, 760,1 mg): foi obtido um sólido branco esverdeado que foi submetido à CC (**coluna J**). Foram utilizados 75 g de sílica gel 60 (230-400 mesh) e, como eluentes, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em gradiente de polaridade.

O subgrupo **J4 (frações 71-84, 52,7 mg)** foi obtido como um sólido esverdeado. A impureza foi solubilizada com a adição de metanol e retirada por filtração. O sólido branco resultante (17,7 mg) foi submetido às análises de RMN de ^1H e ^{13}C . A comparação com dados da literatura permitiu identificar o composto como a 30-hidroxifriedelan-3-ona (**SG6**).

Figura 12 – Esquema de fracionamento de EH



Legenda:

SG1 – friedelina (135,7 mg)

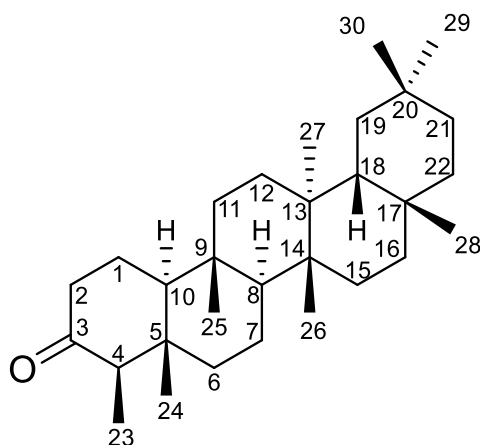
SG2 – friedelinol (124,2 mg)

SG3 – friedelan-3,15-diona (73,5 mg)

SG6 – 30-hidroxifriedelan-3-ona (17,7 mg)

4. Determinação Estrutural

4.1 – **SG1**: *friedelan-3-ona* (*friedelina*)



SG1 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 99) foram observadas bandas em 2928 e 2870 cm^{-1} , relativas ao estiramento de ligação C-H de carbono sp^3 . Também foi observada uma banda fina e intensa em 1716 cm^{-1} , relativa ao estiramento de ligação C=O. As bandas observadas em 1458 e 1390 cm^{-1} correspondem à deformação angular dos grupos CH_2 e CH_3 .

O espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 100) apresentou sete simpletos relativos a sete metilas: δ_{H} 0,73 (3H); 0,87 (3H); 0,96 (3H); 1,00 (3H); 1,01 (3H); 1,05 (3H); 1,18 (3H), além de um duplete em δ_{H} 0,88 (3H, $J = 6,55$ Hz) sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,87 ppm.

O espectro de RMN de ^{13}C de **SG1** (Apêndice A3, pág. 101) apresentou 30 sinais, indicando que a amostra poderia se tratar de um triterpeno. Foi observado um sinal em δ_{C} 213,23 ppm característico de carbono carbonílico, além de um sinal em δ_{C} 7,0, associado à metila 23 de triterpenos 3-oxofriedelânicos (CAMARGO et al., 2022).

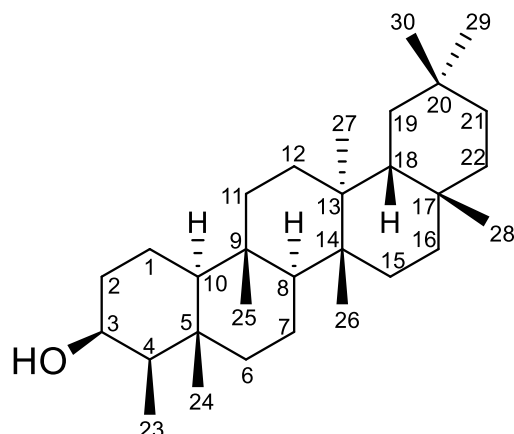
Após análise dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , do subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 101) e comparação com a literatura (CAMARGO et al., 2022), **SG1** foi identificado como o friedelan-3-ona (friedelina) (**Tabela 3**, pág. 42).

Tabela 3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG1** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG1	δ_c friedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,4	22,2
2	CH ₂	41,7	41,4
3	C	213,2	212,8
4	CH	58,4	58,1
5	CH ₂	42,3	42,0
6	CH ₂	41,5	41,2
7	CH ₂	18,4	18,1
8	CH	53,3	53,0
9	C	37,6	37,4
10	CH	59,7	59,4
11	CH ₂	35,8	35,5
12	CH ₂	30,7	30,4
13	C	39,9	39,6
14	C	38,5	38,2
15	C	32,6	32,2
16	CH ₂	36,2	35,9
17	C	30,2	29,9
18	CH	43,0	42,8
19	CH ₂	35,5	35,2
20	C	28,3	28,0
21	CH ₂	33,0	32,7
22	CH ₂	39,4	39,2
23	CH ₃	7,0	6,7
24	CH ₃	14,8	14,5
25	CH ₃	18,1	17,8
26	CH ₃	18,8	18,5
27	CH ₃	20,4	20,1
28	CH ₃	32,3	32,0
29	CH ₃	31,9	31,7
30	CH ₃	35,2	34,9

* CDCl_3 , (CAMARGO et al., 2022)

4.2 – **SG2**: *friedelan-3 β -ol* (*friedelinol*)



SG2 foi isolado como um sólido branco não cristalino parcialmente solúvel em clorofórmio. No espectro da região do IV (Apêndice A, pág. 102) foi observada uma banda em 3482 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação O-H de álcool. Também foram observadas bandas em 2930 e 2870 , típicas de estiramento da ligação C-H de carbono sp^3 . As bandas em 1458 e 1386 cm^{-1} correspondem à deformação angular de CH_2 e CH_3 , respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 103) de **SG2** apresentou um quarteto em δ_{H} 3,74 ppm (1H), região característica de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado, sete simpletos na região de metilas (δ_{H} 0,86; 0,94; 0,96; 0,99; 1,00; 1,01; 1,17 ppm), além de um duplete (δ_{H} 0,93 ppm, 3H, $J = 7,84\text{ Hz}$) sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,94.

O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 104) apresentou 30 sinais, indicando que a amostra poderia se tratar de um triterpeno pentacíclico. Foi observado um sinal em δ_{C} 11,8 ppm, característico da metila 23 de triterpenos do tipo 3β -hidroxifriedelanos (CAMARGO et al., 2022), além de um sinal em δ_{C} 72,9 ppm, característico de carbono hidroxilado.

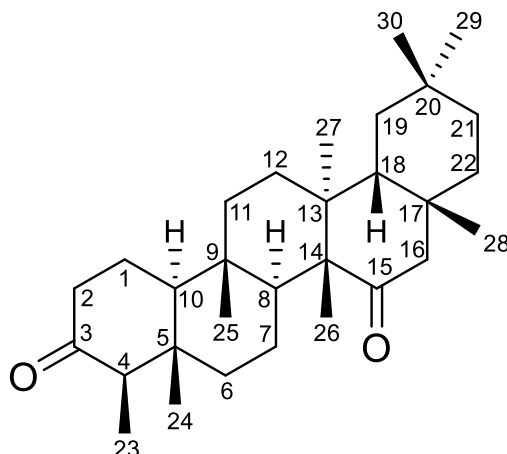
Após análise dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , do subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 104) e comparação com a literatura, **SG2** foi identificado como o *friedelan-3 β -ol* (*friedelinol*) (**Tabela 4**, pág. 44).

Tabela 4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG2** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG2	δ_c 3 β -hidroxifriedelano*
1	CH ₂	15,9	16,2
2	CH ₂	36,2	36,1
3	CH	72,9	71,6
4	CH	49,3	49,6
5	CH ₂	38,0	38,1
6	CH ₂	41,9	42,0
7	CH ₂	17,7	17,7
8	CH	53,3	53,3
9	C	37,2	37,2
10	CH	61,5	61,7
11	CH ₂	35,5	35,7
12	CH ₂	30,8	30,7
13	C	38,5	38,4
14	C	39,8	39,7
15	C	32,5	32,3
16	CH ₂	35,7	35,9
17	C	30,2	30,0
18	CH	43,0	42,9
19	CH ₂	35,3	35,4
20	C	28,3	28,2
21	CH ₂	33,0	32,9
22	CH ₂	39,4	39,3
23	CH ₃	11,8	12,1
24	CH ₃	16,5	16,6
25	CH ₃	18,4	18,4
26	CH ₃	20,3	20,1
27	CH ₃	18,8	18,7
28	CH ₃	32,2	32,1
29	CH ₃	35,2	35,0
30	CH ₃	31,9	31,9

* $\text{CDCl}_3 + \text{PyD}_5$, (MAHATO; KUNDU, 1994)

4.3 – **SG3**: *friedelano-3,15-diona*



SG3 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 105) foram observadas duas bandas em 1716 e 1700 cm^{-1} relativas aos estiramentos de dois grupos carbonila. Também foi observada uma banda larga em 2934 cm^{-1} correspondente ao estiramento de ligações C–H de carbonos sp^3 . A banda observada em 1390 cm^{-1} foi atribuída à deformação angular do grupo CH_3 .

No espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 106) foram observados sete simpletos relativos a sete metilas em δ_{H} 0,74; 0,90; 0,92; 0,96; 1,02; 1,22 e 1,33, além de um duplete em δ_{H} 0,89 (3H, $J = 7,54$ Hz) sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,90. Também foi possível observar dois dupletos em δ_{H} 2,19 e 2,52 ppm (1H, $J = 18,65$ Hz), típicos de H de carbono adjacente a um grupo carbonila. Esse valor da constante J corresponde a um acoplamento geminal 2J entre hidrogênios cujo ângulo de ligação HCH é aproximadamente 109° , ou seja, hidrogênios pertencentes a um ciclo-hexano em conformação de cadeira (PAVIA et al., 2013). Como os sinais são dupletos, inferiu-se que esse grupo $-\text{CH}_2$ estaria localizado entre dois carbonos não hidrogenados, sem outros hidrogênios vizinhos capazes de promover outro tipo de acoplamento.

O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 107) apresentou 30 sinais de carbono, indicando que **SG3** poderia se tratar de um triterpeno pentacíclico. Foi observado um sinal em δ_{C} 7,0 ppm, característico do carbono da metila 23 de triterpenos 3-oxofriedelânicos (CAMARGO et al., 2022). Também foram observados dois sinais correspondentes a carbonos carbonílicos, um em δ_{C} 213,2 e outro em δ_{C} 214,3 ppm.

Após análise dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , do subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 107) e comparação com a literatura, **SG3** foi identificado como

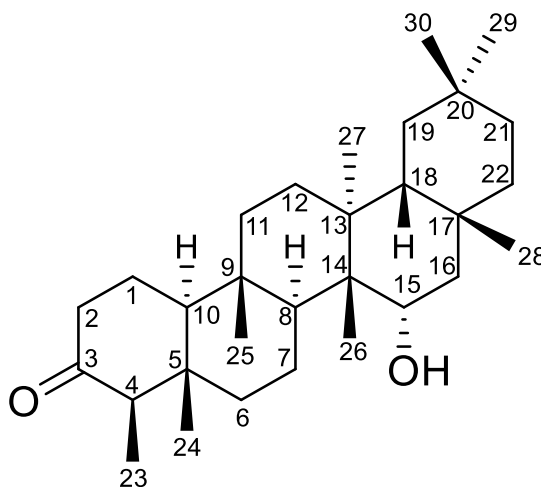
sendo o friedelano-3,15-diona, e as atribuições de todos os sinais de ^{13}C estão apresentadas na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG3** (CDCl_3 , 100 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG3	δ_c friedelano-3,15-diona*
1	CH ₂	22,4	22,3
2	CH ₂	41,6	41,4
3	C	213,2	213,1
4	CH	58,4	58,2
5	C	42,2	42,0
6	CH ₂	40,6	40,5
7	CH ₂	21,4	21,3
8	CH	45,4	45,3
9	C	37,4	37,2
10	CH	59,4	59,3
11	CH ₂	34,5	34,4
12	CH ₂	29,6	29,4
13	C	42,5	42,4
14	C	54,4	54,2
15	C	214,3	214,1
16	CH ₂	54,1	54,0
17	C	33,6	33,5
18	CH	44,1	44,0
19	CH ₂	35,1	34,9
20	C	28,0	27,9
21	CH ₂	33,9	33,8
22	CH ₂	38,8	38,6
23	CH ₃	7,0	6,8
24	CH ₃	15,1	15,0
25	CH ₃	17,5	17,4
26	CH ₃	14,8	14,7
27	CH ₃	19,1	18,9
28	CH ₃	32,3	32,2
29	CH ₃	33,4	33,3
30	CH ₃	33,5	33,4

* CDCl_3 , (KLASS; TINTO, 1992)

4.4 – **SG4**: 15 α -hidroxifriedelan-3-ona



SG4 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 108) foi observada uma banda em 3428 cm^{-1} , relativa ao estiramento da ligação O-H de álcool. Também foram observadas bandas em 2928 e 2856 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C-H de carbono sp^3 ; além de uma banda fina em 1718 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação C=O.

O espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 109) de **SG4** apresentou sete simpletos relativos a sete metilas: δ_{H} 0,73 (3H); 0,89 (3H); 0,95 (3H); 1,00 (3H); 1,02 (3H); 1,07 (3H) e 1,30 (3H), além de um duplete em δ_{H} 0,88 (3H, $J = 6,73\text{ Hz}$), parcialmente sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,89 ppm. Esse duplete é um sinal característico da metila 23 de triterpenos do tipo friedelano. Também foi observado um duplete em δ_{H} 3,73 ppm (1H, $J = 7,88\text{ Hz}$), região característica de hidrogênios ligados a carbono hidroxilado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 110) apresentou 30 sinais, indicando que **SG4** poderia se tratar de um triterpeno pentacíclico. Foi observado um sinal em δ_{C} 7,0 ppm, característico do carbono da metila 23 de triterpenos 3-oxofriedelânicos (CAMARGO et al., 2022). Também foram observados um sinal em δ_{C} 213,3 ppm, relativo a um carbono carbonílico, e um sinal em δ_{C} 74,8 ppm, relativo a um carbono hidroxilado. O subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 110) mostrou que o carbono em δ_{C} 74,8 ppm se trata de um carbono metínico.

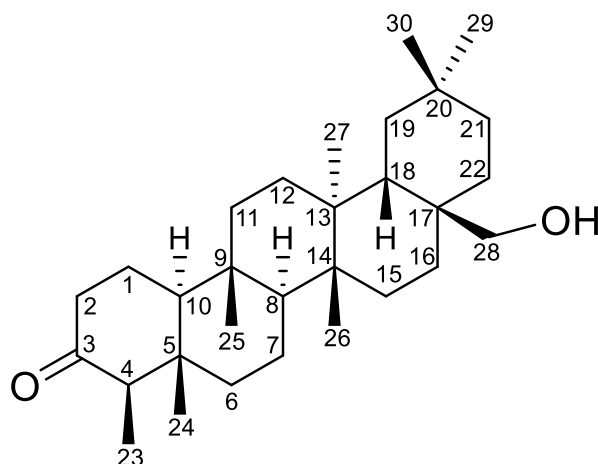
Após comparação com a literatura (KLASS; TINTO, 1992), **SG4** foi identificado como o 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**Tabela 6**, pág. 48).

Tabela 6 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG4** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG4	δ_c 15 α -hidroxifriedelan-3-ona *
1	CH ₂	22,5	22,4
2	CH ₂	41,7	41,5
3	C	213,3	213,1
4	CH	58,3	58,2
5	C	42,2	42,0
6	CH ₂	41,4	41,3
7	CH ₂	20,1	20,0
8	CH	53,6	53,5
9	C	38,0	37,8
10	CH	59,5	59,4
11	CH ₂	35,9	35,8
12	CH ₂	31,3	31,2
13	C	40,7	40,6
14	C	44,2	44,1
15	CH	74,8	74,6
16	CH ₂	48,5	48,4
17	C	30,4	30,2
18	CH	41,8	41,6
19	CH ₂	35,7	35,6
20	C	28,3	28,2
21	CH ₂	32,1	31,9
22	CH ₂	39,0	38,9
23	CH ₃	7,0	6,8
24	CH ₃	14,6	14,5
25	CH ₃	18,1	18,0
26	CH ₃	14,2	14,1
27	CH ₃	18,9	18,8
28	CH ₃	32,8	32,6
29	CH ₃	31,1	30,9
30	CH ₃	35,8	35,7

* CDCl_3 , (KLASS; TINTO, 1992)

4.5 – **SG5**: 28-hidroxfriedelan-3-ona (canofilol)



SG5 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 111) foi observada uma banda em 3546 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação O–H de álcool. Também foram observadas bandas em 2930 e 2870 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C–H de carbono sp^3 ; além de uma banda fina e intensa em 1708 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação C=O. As bandas observadas em 1466 e 1390 cm^{-1} correspondem à deformação angular dos grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente. A banda em 1054 cm^{-1} foi atribuída a um estiramento de C–O de álcool primário.

No espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 112) foram observados seis simpletos relativos a seis metilas: δ_{H} 0,72 (3H); 0,87 (3H); 0,91 (3H); 0,98 (3H); 0,99 (3H) e 1,13 (3H), além de um duplete em δ_{H} 0,88 (3H, $J = 6,77\text{ Hz}$) relativo a uma sétima metila vizinha de um carbono hidrogenado. Esse duplete é um sinal característico da metila 23 de triterpenos do tipo friedelano. Também foram observados dois dupletos parcialmente sobrepostos em δ_{H} 3,62 (1H, $J = 11,29\text{ Hz}$) e 3,64 ppm, região de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 113) mostrou 30 sinais, sugerindo que **SG5** se trata de um triterpeno pentacíclico. Foi observado um sinal em δ_{C} 7,0 ppm, característico do carbono da metila 23 de triterpenos 3-oxofriedelânicos (CAMARGO et al., 2022). Também foi observado um sinal em δ_{C} 213,3 ppm, característico de carbono carbonílico, além de um sinal em δ_{C} 68,2 ppm, atribuído a um carbono hidroxilado. O subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 113) mostrou que o sinal em δ_{C} 68,2 ppm pertence a um carbono metilênico.

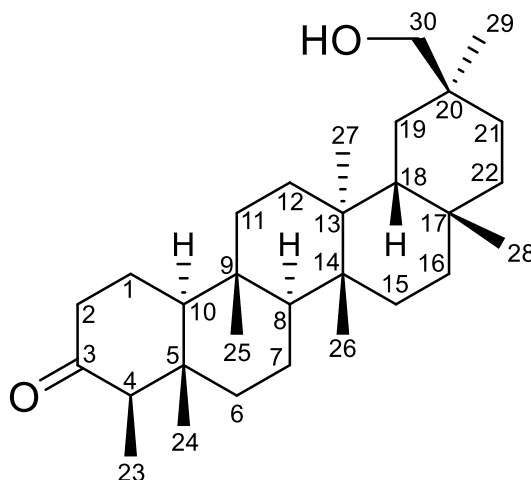
Após comparação com a literatura (LI et al., 2010), **SG5** foi identificado como 28-hidroxifriedelan-3-ona (canofilol) (**Tabela 7**).

Tabela 7 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG5** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG5	δ_c 28-hidroxifriedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,4	22,3
2	CH ₂	41,6	41,5
3	C	213,3	213,2
4	CH	58,4	58,2
5	C	42,2	42,1
6	CH ₂	41,4	41,2
7	CH ₂	18,4	18,2
8	CH	52,6	52,5
9	C	37,6	37,5
10	CH	59,6	59,5
11	CH ₂	35,6	35,4
12	CH ₂	30,2	30,1
13	C	39,6	39,4
14	C	38,3	38,1
15	CH ₂	31,4	31,2
16	CH ₂	29,5	29,1
17	C	35,3	35,2
18	CH	39,5	39,4
19	CH ₂	34,4	34,5
20	C	28,3	28,2
21	CH ₂	31,5	31,4
22	CH ₂	33,5	33,4
23	CH ₃	7,0	6,8
24	CH ₃	14,8	14,7
25	CH ₃	18,2	18,1
26	CH ₃	19,2	19,1
27	CH ₃	19,3	19,2
28	CH ₂	68,2	68,1
29	CH ₃	33,0	32,9
30	CH ₃	34,7	34,3

* CDCl_3 , (LI et al., 2010)

4.6 – **SG6**: 30-hidroxfriedelan-3-ona



SG6 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 114) foi observada uma banda em 3536 cm^{-1} característica do estiramento da ligação O–H de álcool. Também foram observadas bandas em 2936 e 2868 cm^{-1} , referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C–H de carbono sp^3 ; além de uma banda fina e intensa em 1716 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação C=O. As bandas observadas em 1450 e 1388 cm^{-1} correspondem à deformação angular dos grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente. A banda em 1060 cm^{-1} se refere a um estiramento de C–O de álcool primário.

No espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 115) foram observados seis simpletos relativos a seis metilas: δ_{H} 0,72; 0,87; 0,98; 1,00; 1,07 e 1,15 ppm, além de um duplete em δ_{H} 0,88 (3H, $J = 6,77\text{ Hz}$), característico dos hidrogênios da metila 23 de triterpenos pentacíclicos do tipo friedelano. Também foram observados dois dupletos em δ_{H} 3,35 (1H, $J = 10,50\text{ Hz}$) e 3,43 ppm (1H, $J = 10,50\text{ Hz}$), região característica de hidrogênios ligados a carbono hidroxilado.

O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 116) apresentou 30 sinais, sugerindo que **SG6** se trata de um triterpeno pentacíclico. O sinal em δ_{C} 7,0 ppm permitiu inferir que **SG6** poderia ser um triterpeno pentacíclico do tipo 3-oxofriedelano. Também foram observados sinais em δ_{C} 213,4 ppm, característico de carbono carbonílico, e em δ_{C} 72,1 ppm, típico de carbono hidroxilado. Analisando-se o DEPT, o sinal em δ_{C} 72,1 ppm foi atribuído a um carbono metilênico.

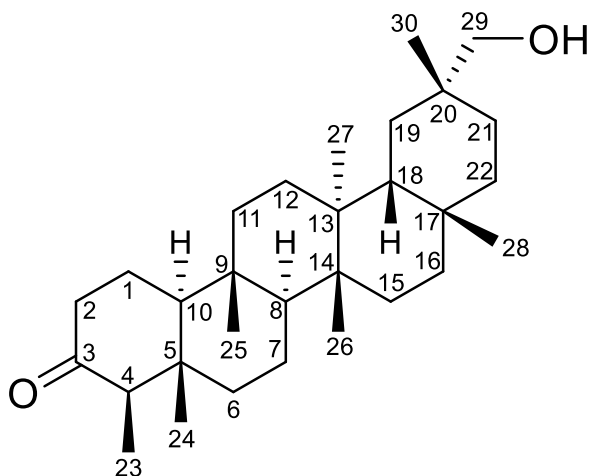
Através das análises dos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (Apêndice A, pág. 116) e após comparação com a literatura (FERREIRA et al., 2019), **SG6** foi identificado como 30-hidroxifriedelan-3-ona (**Tabela 8**).

Tabela 8 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG6** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG6	δ_c 30-hidroxifriedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,4	22,3
2	CH ₂	41,7	41,5
3	C	213,4	213,2
4	CH	58,4	58,2
5	C	42,3	42,2
6	CH ₂	41,4	41,3
7	CH ₂	18,4	18,3
8	CH	53,1	53,0
9	C	37,6	37,5
10	CH	59,6	59,5
11	CH ₂	35,7	35,6
12	CH ₂	30,7	30,5
13	C	39,9	39,8
14	C	38,5	38,4
15	CH ₂	32,3	32,1
16	CH ₂	36,1	35,9
17	C	30,1	30,0
18	CH	42,9	42,7
19	CH ₂	29,5	29,3
20	C	33,5	33,4
21	CH ₂	28,3	28,2
22	CH ₂	38,2	38,1
23	CH ₃	7,0	6,8
24	CH ₃	14,8	14,7
25	CH ₃	18,2	18,0
26	CH ₃	20,1	20,0
27	CH ₃	18,7	18,6
28	CH ₃	32,3	32,1
29	CH ₃	29,1	28,9
30	CH ₂	72,1	72,0

* CDCl_3 , (FERREIRA et al., 2019)

4.7 – **SG7**: 29- hidroxifriedelan-3-ona



SG7 foi isolado como um sólido branco não cristalino solúvel em clorofórmio. No espectro na região do IV (Apêndice A, pág. 117) foi observada uma banda larga em 3468 cm^{-1} característica de estiramento da ligação O–H de álcool. Também foram observadas bandas em 2930 e 2868 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C–H de carbono sp^3 ; além de uma banda estreita em 1718 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação C=O. As bandas pouco intensas observadas em 1458 e 1388 cm^{-1} correspondem à deformação angular dos grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 118) foram observados dois dupletos em δ_{H} 3,29 ppm (1H, $J = 10,3$ Hz) e δ_{H} 3,25 ppm (1H, $J = 10,3$ Hz), característicos de H ligado a um carbono hidroxilado. O alto valor de J indica um acoplamento geminal entre esses hidrogênios (PAVIA et al., 2013), sugerindo tratarem-se de hidrogênios vizinhos a um centro estereogênico. Tais átomos são classificados como diastereotópicos (não são magneticamente equivalentes), o que explica a existência de dois sinais bem separados no espectro, um para cada hidrogênio. O espectro também apresentou seis simpletos na região de metilas (δ_{H} 0,73; 0,87; 1,03; 1,04; 1,05 e 1,22), além de um duplete em δ_{H} 0,88 (3H, $J = 6,65$ Hz) sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,87.

No espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 119) foram observados 30 sinais, dentre eles sinais em δ_{C} 213,2; 6,8 e 74,8 ppm, relativos a uma carbonila, à metila 23 de triterpenos 3-oxofriedelanos e a um carbono carbinólico, respectivamente. No subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 119) observou-se que o sinal em δ_{C} 74,8 (região de carbono hidroxilado) se referia a um carbono metilênico.

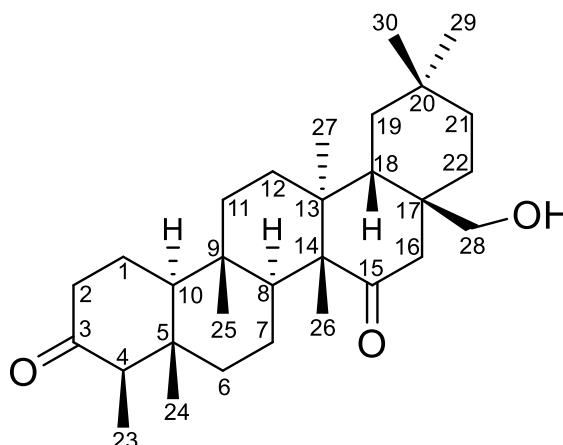
A presença desses sinais sugeriu que **SG7** poderia se tratar de um triterpeno pentacíclico do tipo 3-oxofriedelano (CAMARGO et al., 2022). Após comparação com a literatura (MAHATO; KUNDU, 1994), **SG7** foi identificado como 29-hidroxifriedelan-3-ona (**Tabela 9**).

Tabela 9 – Atribuição e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C de **SG7** (CDCl_3 , 150 MHz)

Átomo	Tipo de carbono	δ_c de SG7	δ_c 29-hidroxifriedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,3	22,3
2	CH ₂	41,5	41,5
3	C	213,2	213,3
4	CH	58,2	58,2
5	C	42,2	42,2
6	CH ₂	41,3	41,3
7	CH ₂	18,2	18,2
8	CH	53,4	53,4
9	C	37,4	37,4
10	CH	59,5	59,4
11	CH ₂	35,7	35,6
12	CH ₂	29,8	29,7
13	C	40,0	39,9
14	C	38,3	38,2
15	CH ₂	32,7	32,7
16	CH ₂	35,9	35,9
17	C	30,5	30,5
18	CH	41,9	41,8
19	CH ₂	30,6	30,6
20	C	33,1	33,1
21	CH ₂	27,8	27,8
22	CH ₂	39,5	39,5
23	CH ₃	6,8	6,8
24	CH ₃	14,7	14,7
25	CH ₃	17,9	17,9
26	CH ₃	18,5	18,5
27	CH ₃	20,8	20,8
28	CH ₃	32,1	32,1
29	CH ₂	74,8	74,7
30	CH ₃	25,8	25,8

* CDCl_3 , (MAHATO; KUNDU, 1994)

4.8 – **SG8**: 28-hidroxifriedelano-3,15-diona

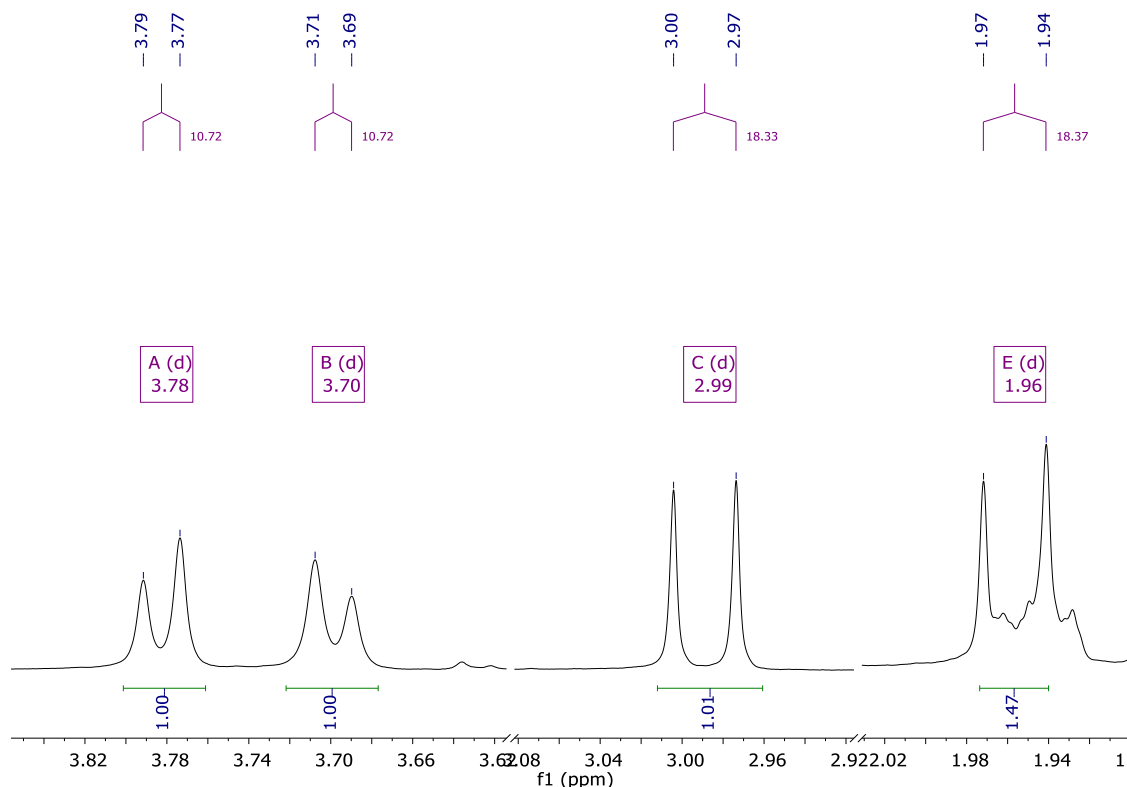


SG8 foi isolado do sólido do extrato hexânico (SEH) como um sólido branco não cristalino, e sua temperatura de fusão não foi determinada, pois a amostra decompôs em 259,6 °C.

Uma banda característica de estiramento de O-H foi observada no espectro na região do IV em 3530 cm^{-1} (Apêndice A, pág. 120), bem como duas bandas em 2934 e 2868 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C–H de carbono sp^3 . Duas bandas finas e intensas de estiramento de carbonila de cetona foram observadas em 1708 e 1700 cm^{-1} . As bandas observadas em 1458 e 1388 cm^{-1} correspondem à deformação angular de grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente.

No espectro de RMN de ^1H (Apêndice A, pág. 121) foram observados quatro simpletos atribuídos a seis metilas em δ_{H} 0,73 (3H); 0,89 (3H); 0,99 (9H, três sinais sobrepostos) e 1,20 (3H). Observou-se um duplete em δ_{H} 0,89 (3H, $J = 4,01$ Hz), sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,91, característico da metila 23 de triterpenos do grupo dos friedelanos. Observaram-se dois dupletos em δ_{H} 3,70 (1H, $J = 10,72$ Hz) e 3,78 (1H, $J = 10,72$ Hz), região de sinais de hidrogênio de grupo hidroximetilênico (**Figura 13**, pág. 56). O valor dessa constante de acoplamento é característico de acoplamento geminal 2J entre hidrogênios de carbono metilênico alifático. Também foram observados dois dupletos em δ_{H} 2,99 e 1,96 (1H, $J = 18,35$ Hz) (**Figura 13**, pág. 56). Esse valor de J corresponde a um acoplamento geminal 2J entre hidrogênios cujo ângulo de ligação HCH é aproximadamente 109°, ou seja, hidrogênios pertencentes a um ciclo-hexano em conformação de cadeira (PAVIA et al., 2013).

Figura 13 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3)



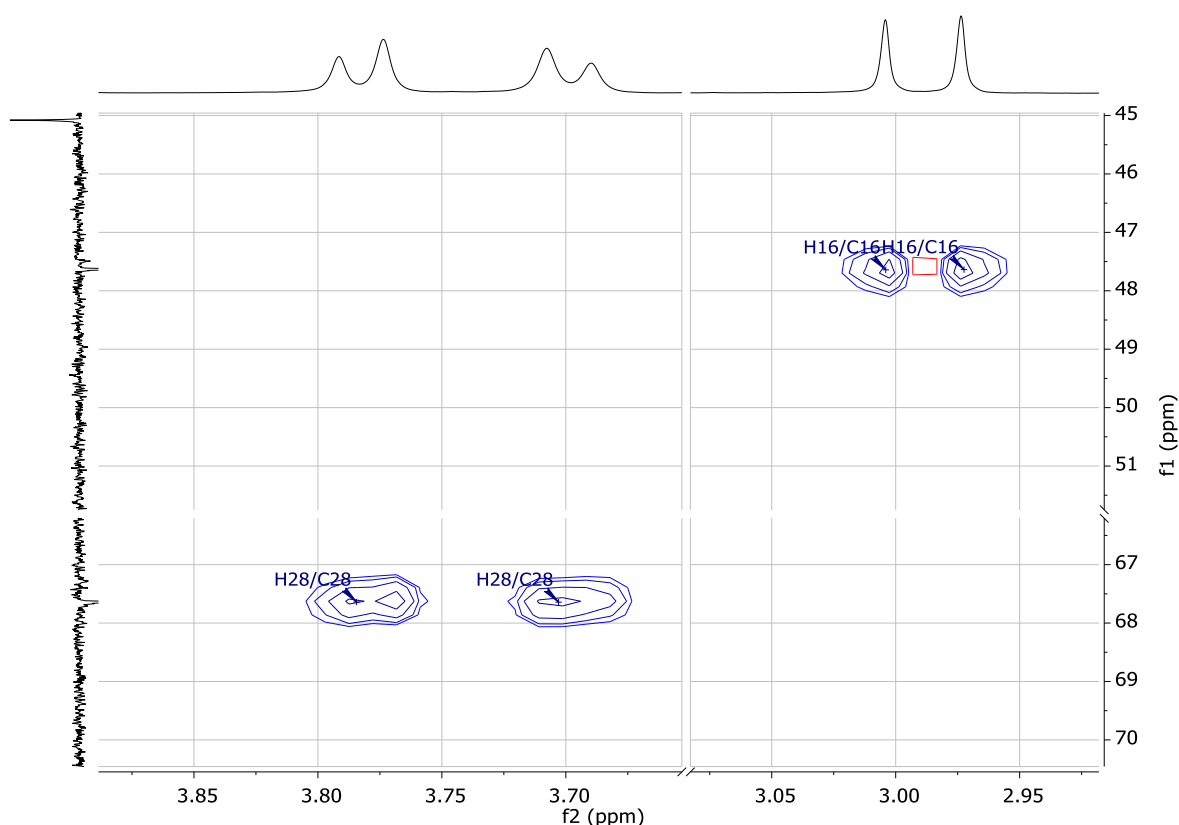
O espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice A, pág. 122) apresentou 30 sinais, indicando que a amostra poderia ser um triterpeno pentacíclico; as sete metilas identificadas no espectro de ^1H corroboraram essa sugestão. Os triterpenos do tipo 3-oxo-friedelano apresentam uma particularidade empírica no espectro de RMN de ^{13}C . Os elétrons π da carbonila em C3 geram uma região de anisotropia magnética (PAVIA et al., 2013), e a metila 23 se encontra no cone de proteção gerado pela carbonila. Conseqüentemente, observa-se um sinal muito característico para esse carbono em torno de 7 ppm, valor menor do que os observados para as demais metilas. Para **SG8**, a metila 23 foi associada ao sinal observado em δ_c 6,8 no espectro de ^{13}C . Também foram observados dois sinais relativos a duas carbonilas: δ_c 213,1 e 213,9. Além disso, o espectro apresentou um sinal em δ_c 67,6, região de deslocamento de carbono hidroxilado. O subespectro DEPT-135 (Apêndice A, pág. 122) mostrou que este sinal em δ_c 67,6 é referente a um carbono metilênico.

Os sinais de RMN de ^{13}C de **SG8** foram comparados com dados da literatura para o friedelano-3,15-diona e a 28-hidroxifriedelan-3-ona (CAMARGO et al., 2022), e foram observadas similaridades entre os dados. Contudo, observaram-se algumas

diferenças, como os deslocamentos químicos atribuídos a C-16, C-17 e C-22. A fim de determinar a estrutura de **SG8** procedeu-se à análise detalhada dos mapas de contornos HSQC, HMBC, COSY e NOESY.

No HSQC (Apêndice A, pág. 123) foi observada uma correlação entre o sinal em δ_c 6,8 e o duplete em δ_H 0,89, ambos característicos da metila 23. Também foram observadas correlações entre os dois dupletos em δ_H 3,70 e 3,78 e o carbono hidroxilado em δ_c 67,6 (**Figura 14**), e entre os dois dupletos em δ_H 2,99 e 1,96 e o carbono em δ_c 47,6 (**Figura 14**).

Figura 14 – Correlações do HSQC para SG8



No HMBC (Apêndice A, pág. 124) foi possível observar correlações que determinaram as posições dos substituintes. A correlação entre os hidrogênios 23 em δ_H 0,89 e o carbono em δ_c 213,1 permitiu confirmar que essa carbonila se tratava da carbonila em C-3. Outra correlação dos hidrogênios 23 com o carbono não hidrogenado em δ_c 42,1 permitiu definir esse carbono como o C-5. No COSY (Apêndice A, pág. 126), observou-se a correlação dos hidrogênios 23 com o hidrogênio em δ_H 2,30, associado ao carbono em δ_c 58,2. Como o único hidrogênio

próximo o suficiente para ter uma correlação no COSY é o hidrogênio 4, o sinal em δ_c 58,2 foi associado ao C-4.

No HMBC (Apêndice A, pág. 124) também foi possível observar uma correlação entre o sinal da segunda carbonila (δ_c 213,9) e os dois dupletos em δ_H 2,99 e 1,96 (**Figura 15**). Como os hidrogênios apresentam apenas o acoplamento geminal, suspeitou-se que eles são vizinhos de dois carbonos não hidrogenados. A comparação com a literatura forneceu a hipótese de a segunda carbonila estar no C-15, assim supôs-se que os hidrogênios geminais pertencem ao C-16 (δ_c 47,6). Essas suposições foram confirmadas pelas correlações no HMBC de H-16 (δ_H 2,99 e 1,96) com os carbonos cabeça de ponte C-17 e C-18 (δ_c 39,3 e 40,1; respectivamente), e com o carbono hidroxilado em δ_c 67,6. Também foram observadas correlações dos hidrogênios em δ_H 3,70 e 3,78 com os sinais em δ_c 31,9; 39,3; 40,1 e 47,6, associados aos carbonos C-22, C-17, C-18 e C-16, respectivamente (**Figura 16**, pág. 59), além da correlação dos H-26 (δ_H 1,20) com o carbono carbonílico C-15 (δ_c 213,9).

Figura 15 – Correlações de HMBC dos hidrogênios vizinhos às carbonilas para **SG8**

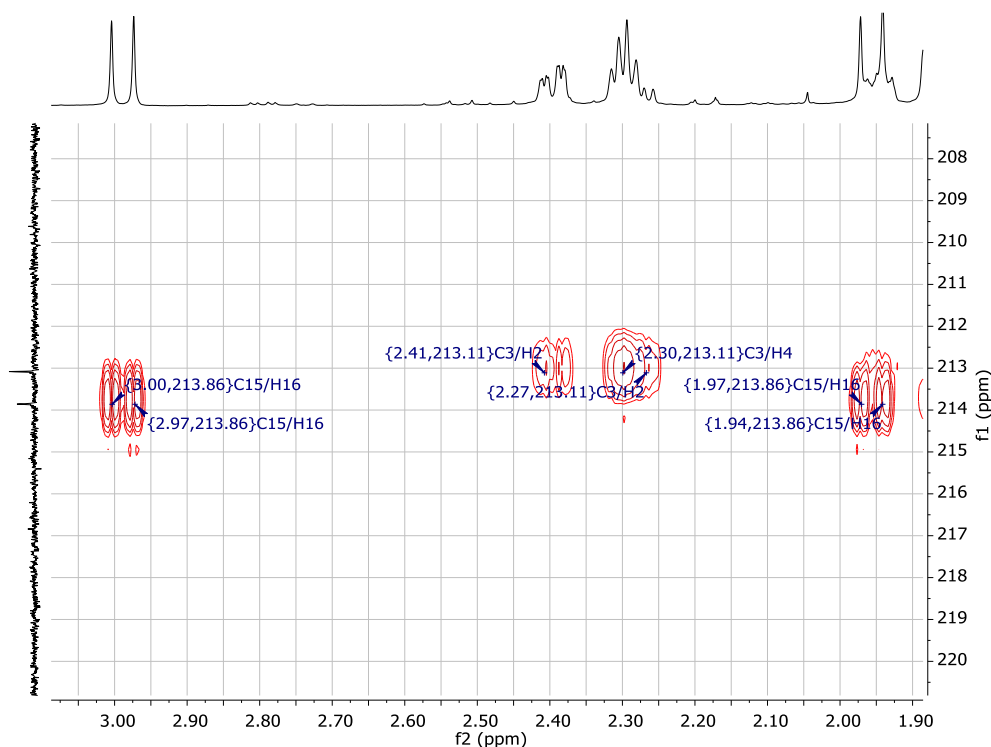
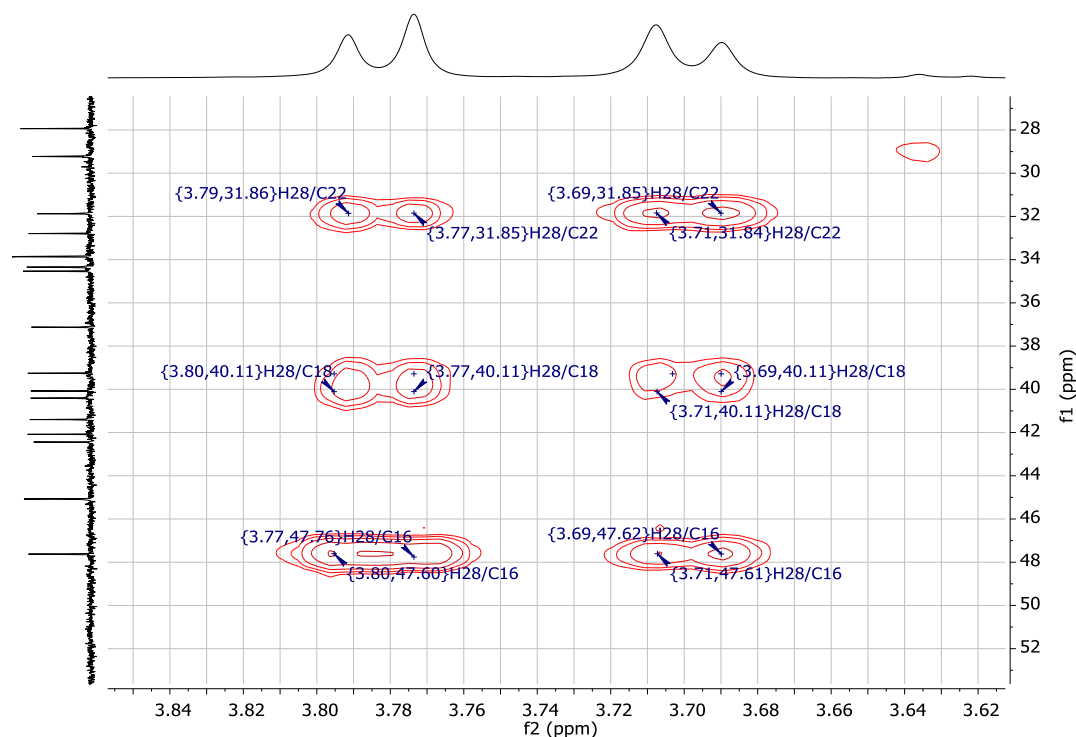


Figura 16 – Correlações de HMBC para os hidrogênios ligados ao carbono hidroxilado de **SG8**



O mapa de contornos COSY (Apêndice A, pág. 126) mostrou correlações entre os dois hidrogênios H-16 e entre os dois hidrogênios H-28, além de correlações entre o H-4 e os hidrogênios H-1, H-2 e H-23. A **Figura 17** apresenta algumas correlações observadas nos mapas de contornos de **SG8**.

Após a análise detalhada dos espectros de RMN 1D e dos mapas de contornos, **SG8** foi identificado como sendo 28-hidroxifriedelano-3,15-diona, um composto inédito na literatura. As atribuições completas dos dados de RMN se encontram na **Tabela 10** (pág. 60).

Figura 17 – Algumas correlações observadas nos mapas de contorno HMBC (→), COSY (—) e NOESY (↔) para **SG8**

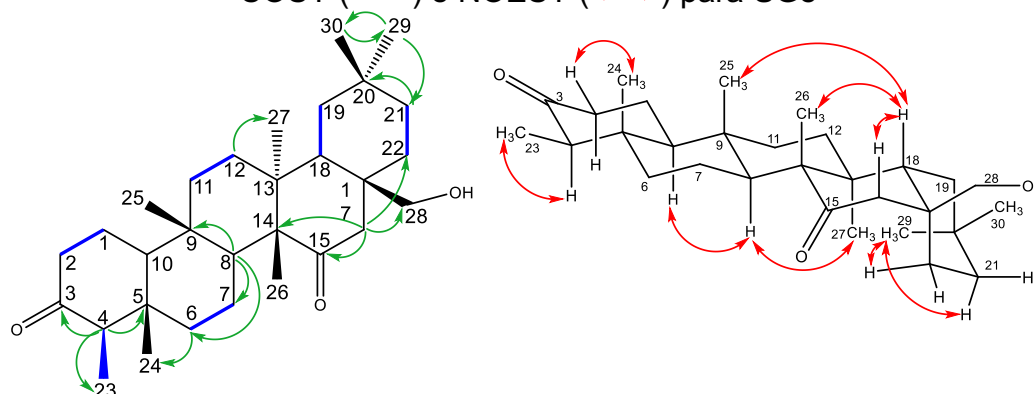


Tabela 10 – Dados de RMN 1D e 2D de SG8 (600 MHz, CDCl₃)

Nº	Tipo	δ_c SG8	δ_H SG8	HMBC H→C	COSY	NOESY	δ_c friedelano- 3,15-diona*	δ_c canofilol *
1	CH ₂	22,2	1,68 α	2, 5, 10	2 β	2 α , 24	22,3	22,1
			1,96 β	-	4	11 β		
2	CH ₂	41,4	2,27 α	1	1 β , 23	1 α , 2 β	41,4	41,3
			2,39 β	1, 3, 4, 10	1 α , 2 α	2 α		
3	C	213,1	-	-	-	-	213,1	213,6
4	CH	58,2	2,30 α	1, 3, 5, 6, 10, 23, 24	1 β , 2 β , 23	10 α , 23	58,2	57,8
5	C	42,1	-	-	-	-	42,0	41,9
6	CH ₂	40,4	1,55	4, 7, 8, 24	24, H6 (1,71)	6	40,5	41,0
			1,71	5, 7, 8, 9, 10, 24	7, H6 (1,55)	6, 7		
7	CH ₂	21,2	1,35	14	-	6	21,3	18,1
			1,75	-	-	-		
8	CH	45,1	1,87 α	6, 7, 9, 10, 14, 25, 26	7	10, 27	45,3	52,2
9	C	37,1	-	-	-	-	37,2	37,3
10	CH	59,3	1,60- 1,62 α	1, 4, 8, 9, 24, 25	-	4 α , 11 α	59,3	59,1
11	CH ₂	34,4	1,20 α	8, 13, 25	11 β , 12 α	1 α , 10 α , 11 β , 16 α	34,4	35,3
			1,48 β	8, 9, 12, 13, 25	10, 11 α	1 β		
12	CH ₂	29,2	1,48 β	-	-	1 β , 20 β	29,4	29,9
			1,53 α	8, 9, 13, 14, 18, 27	11 α	11 α , 25, 29		
13	C	42,4	-	-	-	-	42,4	39,1
14	C	54,1	-	-	-	-	54,2	38,0
15	C	213,9	-	-	-	-	214,9	31,3
16	CH ₂	47,6	1,96 β	15, 17, 18, 22, 26, 28	16 α	16 α , 18 β	54,0	29,0
			2,99 α	15, 17, 18, 22, 26, 28	16 β	11 α , 16 β		
17	C	39,3	-	-	-	-	33,5	35,1
18	CH	40,1	1,67 β	12, 13, 17, 19, 20, 22, 27, 28	19	16 β , 25, 26	44,0	39,2
19	CH ₂	34,5	1,43	13, 17, 18, 20, 21, 29, 30	18	-	34,9	34,4
			1,55 - 1,58		18	-		
20	C	27,9	-	-	-	-	27,9	27,9
21	CH ₂	33,9 (33,8 5)	1,32 α	17, 20, 22, 29, 30	22 α	28, 29	33,8	31,4
			1,39 β		22 β	25		
22	CH ₂	31,9	1,49 β	16, 17, 18, 20, 28	21 α	16 β , 26	38,6	33,2
			1,59 α	16, 17, 18, 20	21 β	8 α , 29		
23	CH ₃	6,8	0,89	3, 4, 5, 24	4, 2 α	4, 18 β	6,8	6,7
24	CH ₃	15,0	0,75	4, 5, 6	6	1 α	15,0	14,5
25	CH ₃	17,4	0,91	8, 9, 10, 11	-	12 α	17,4	18,0
26	CH ₃	14,6	1,20	8, 14, 15, 25	-	28	14,7	18,9
27	CH ₃	19,4	0,99	12, 13, 14, 18	-	-	18,9	19,1
28	CH ₂	67,6	3,69	16, 17, 18, 22	H28	18 β , 26 β , 28	32,2	67,0
			3,79		H28	18, 21 α , 28, 30		
29	CH ₃	32,8	0,99	19, 21, 30	-	12 α , 21 α , 22 α	33,3	32,9
30	CH ₃	33,9 (33,8 7)	0,99	20, 29	-	-	33,4	34,2

*CDCl₃, (CAMARGO et al., 2022)

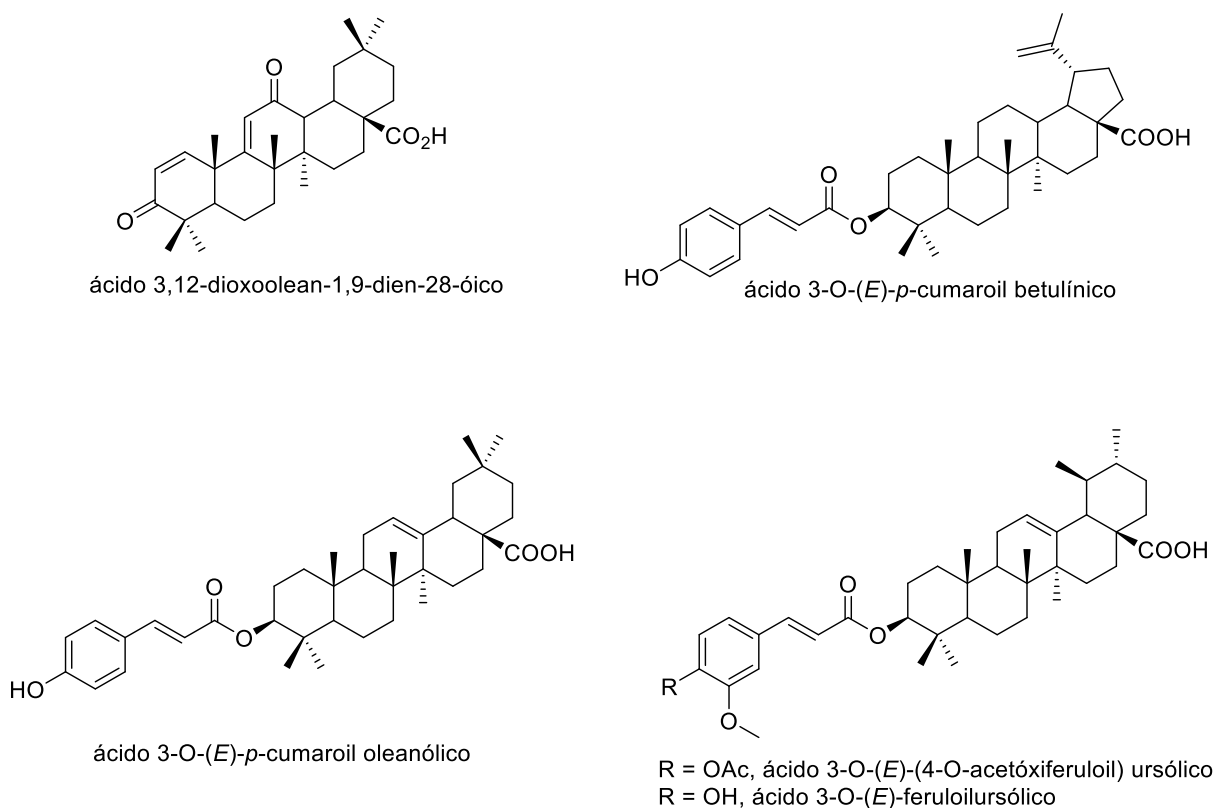
CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO FRIEDELINOL

1. INTRODUÇÃO

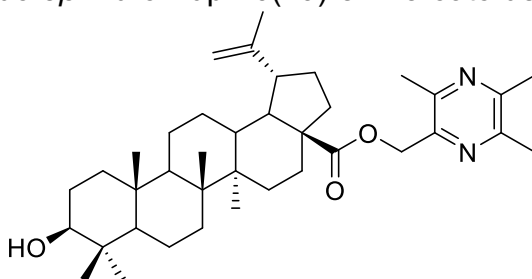
1.1 Modificações estruturais em produtos naturais

Como citado anteriormente, os produtos naturais são a fonte mais rica de compostos bioativos, devido à sua ampla variedade estrutural e alta complexidade. Entretanto, apesar dos pontos positivos, raramente esses produtos naturais podem ser empregados diretamente em aplicações clínicas devido a problemas de solubilidade, baixa seletividade e alta toxicidade (GUO, 2017; YAO et al., 2017). Portanto, são feitas modificações estruturais que visam aumentar a seletividade, melhorar a atividade biológica e superar resistências desenvolvidas pelos patógenos, bem como melhorar aspectos físico-químicos e farmacocinéticos dos produtos naturais (MAJHI; DAS, 2021).

Modificações estruturais em triterpenos podem acarretar um aumento da atividade biológica. Derivados carbonilados α , β insaturados dos ácidos ursólico e oleanólico, por exemplo, inibiram a produção de óxido nítrico induzida por interferon- γ em macrófagos de camundongos, sendo que o derivado ácido 3,12-dioxo-oleano-1,9-dien-28-óico (**Figura 18**, pág. 62) foi o mais ativo, com IC₅₀ de 0,9 μ M (HONDA et al., 1997). O éster do ácido *p*-cumárico com o ácido betulínico (ácido 3-O-(*E*)-*p*-cumaroilbetulínico) (**Figura 18**, pág. 62) resultou em um aumento da atividade antimicrobiana (MIC = 6,25 μ g/mL) contra *Mycobacterium tuberculosis* H₃₂RA quando comparado com o ácido betulínico (MIC = 50 μ g/mL). Os ésteres do ácido cumárico com o ácido oleanólico e do ácido ferúlico com o ácido ursólico (**Figura 18**, pág. 62) também apresentaram atividades melhores do que os triterpenos naturais: MIC = 6,25 μ g/mL para o ácido 3-O-(*E*)-*p*-cumaroiloleanólico e 3,13 μ g/mL para os ácidos 3-O-(*E*)-feruloilursólico e 3-O-(*E*)-(4-O-acetóxiferuloil) ursólico (TANACHATCHAIRATANA et al., 2008).

Figura 18 – Exemplos de derivados de triterpenos pentacíclicos

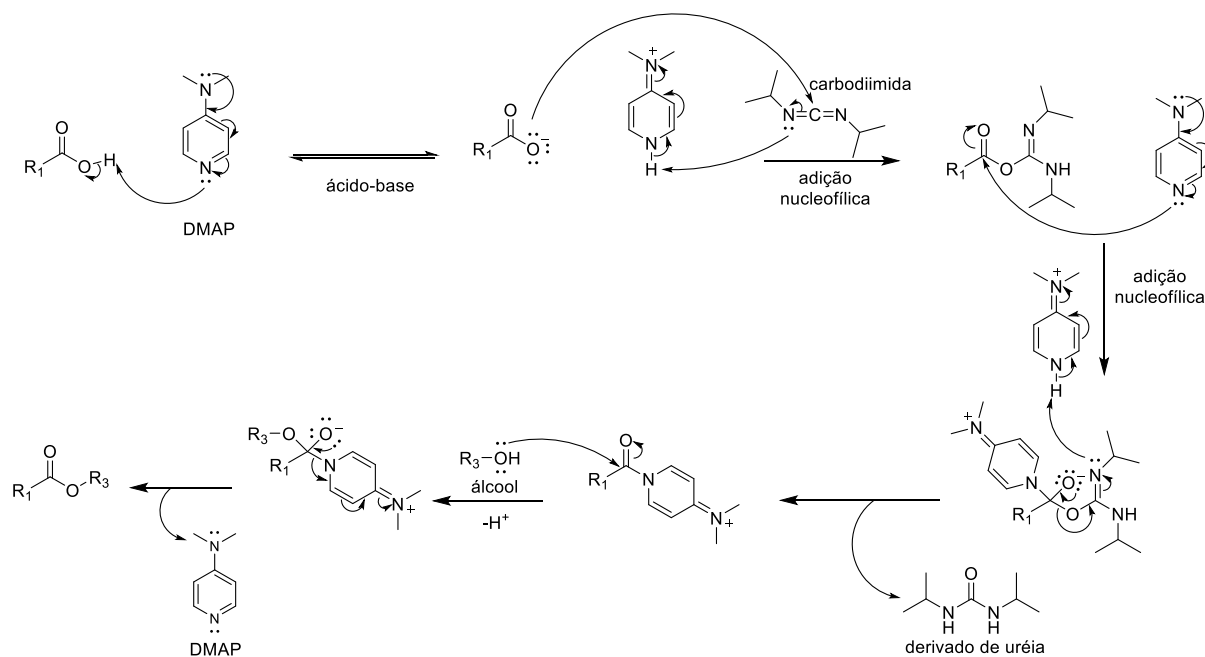
Derivados triterpênicos da ligustrazina foram sintetizados e tiveram sua atividade citotóxica avaliada frente a células Bel-7402, HT-29, MCF-7, HeLa e HepG2. De modo geral, a maioria dos derivados apresentou atividade citotóxica maior do que a verificada para os triterpenos originais. Particularmente, o 3 β -hidroxilup-20(29)-en-28-oato de 2,3,5,6-trimetilpirazina (**Figura 19**) apresentou atividade citotóxica superior à do controle positivo cisplatina (IC₅₀= 5,91 (Bel-7402); 5,28 (HT-29); 4,57 (HepG2); 5,17 (MCF-7) e 6,22 μ M (HeLa)), com IC₅₀ de 4,19 (Bel-7402); 5,23 (HT-29); 4,48 (HepG2); 4,23 (MCF-7) e 4,34 μ M (HeLa) (XU et al., 2015).

Figura 19 – Estrutura do 3 β -hidroxilup-20(29)-en-28-oato de 2,3,5,6-trimetilpirazina

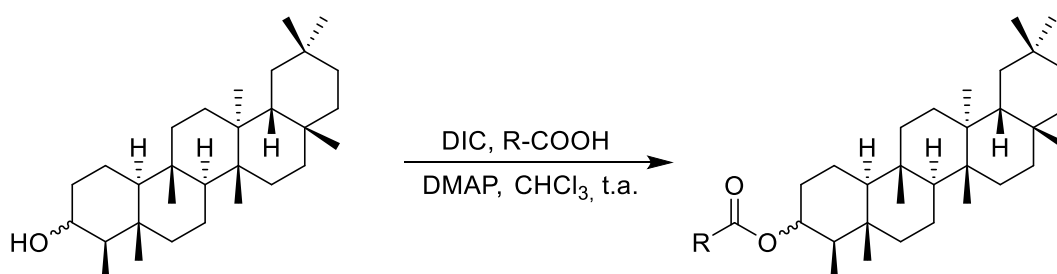
1.2 Esterificação – Reação de Steglich

A reação de Steglich é uma esterificação muito utilizada em síntese orgânica por permitir condições brandas de reação e não necessitar de cloretos de ácido geralmente sensíveis ao ar e à umidade (IMRIE et al., 2002). Originalmente, a metodologia envolve o uso da *N,N*-dicicloexilcarbodiimida (DCC) como reagente de acoplamento na presença de 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador. Apesar da sua utilidade, o DCC é um composto irritante, potencialmente danoso aos órgãos e alergênico. Outro empecilho para seu uso é a formação do subproduto *N,N*-dicicloexilureia, insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos, que pode contaminar o produto final da reação em quantidades traço extremamente difíceis de serem removidas. Em vista desses problemas, foram desenvolvidas outras metodologias utilizando outros tipos de carbodiimida, como a diisopropilcarbodiimida (DIC) e o cloridrato de etilcarbodiimida (EDC) (JORDAN et al., 2021).

A proposta de mecanismo para a reação de Steglich é mostrada na **Figura 20** (pág. 64). Primeiramente ocorre uma reação ácido-base entre o ácido carboxílico e o DMAP, formando o ânion carboxilato, que reage com a carbodiimida em uma adição nucleofílica. O átomo de nitrogênio com carga negativa da carbodiimida desprotona o cátion DMAP, regenerando o catalisador. Em seguida o DMAP ataca a carbonila em uma adição nucleofílica, originando um intermediário tetraédrico. Quando a carbonila é reestabelecida ocorre a eliminação da diisopropilureia e a formação de uma amida intermediária. Essa amida reage com o álcool em uma adição nucleofílica à carbonila, liberando uma molécula de DMAP e formando o éster desejado.

Figura 20 – Proposta de mecanismo para a esterificação de Steglich

Considerando o potencial biológico dos derivados de triterpenos pentacíclicos e a relativa facilidade de realização da reação de esterificação, optou-se por sintetizar novos ésteres derivados do friedelinol (isômeros α e β). A síntese proposta envolve a realização da esterificação de Steglich utilizando-se a diisopropilcarbodiimida (DIC) como reagente de acoplamento (**Figura 21**).

Figura 21 – Rota para obtenção dos ésteres derivados do friedelinol

2. Metodologia

Em um balão de fundo redondo de 10 mL foram adicionados 0,0467 mmol de friedelinol (isômero α ou β), 0,140 mmol de ácido carboxílico (**Tabela 11**), 0,0140 mmol de DMAP e 5,00 mL de clorofórmio. Após 10 minutos, sob agitação e à temperatura ambiente, foram adicionados 0,140 mmol de DIC ao meio reacional. O andamento da reação foi acompanhado por CCD. Ao final da reação o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando CHCl_3 como eluente. Os tempos de reação e rendimentos estão descritos na **Tabela 11**.

Tabela 11 – Resumo da metodologia das esterificações

Produto	Isômero do friedelinol (mg)	Ácido (mg)	DMAP (mg)	DIC (μL)	Tempo de reação	Rendimento (%)
L1	α (20,3)	<i>p</i> -bromobenzoico (28,3)	2	22	30 h	75
L2	β (20,2)	<i>p</i> -bromobenzoico (28,3)	2	22	72 h	13
L3	α (20,6)	naproxeno (32,3)	2	22	2 h 30 min	93
L4	β (20,1)	naproxeno (32,4)	2	22	24 h	95
L5	α (20,3)	pent-4-inoico (13,7)	2	22	1 h 15 min	98
L6	β (20,2)	pent-4-inoico (13,5)	2	22	3 h	77
L7	α (20,3)	undec-10-inoico (26,1)	2	22	6 h 30 min	89
L8	β (20,5)	undec-10-inoico (25,6)	2	22	72 h	46

Foram feitas outras sete reações com diferentes ácidos carboxílicos: siríngico, 3,5-dinitrobenzóico, cafeico, L-DOPA, 4-metiltiazol-5-carboxílico e piperazina-2-carboxílico. Essas reações seguiram as mesmas estequiometria e metodologia das reações mencionadas acima, exceto a reação com a L-DOPA que foi feita sob refluxo para facilitar a solubilidade da mesma.

A respeito das demais reações, quando foi observado que não havia formação de produto depois de, no mínimo, 24 horas à temperatura ambiente, a reação foi colocada sob refluxo. Entretanto, nenhuma das sete reações resultou em produto.

2.2 – Dados físico-químicos dos ésteres sintetizados

Nome: *p*-bromobenzoato de friedelan-3 α -ila (**L1**)

Aspecto: sólido branco amorfo

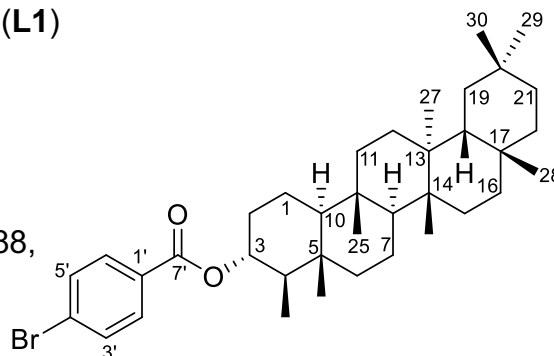
Fórmula molecular: C₃₇H₅₅BrO₂

Massa molar: 611,75 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 2926, 2864, 1718, 1458, 1388,

1264, 1118, 1010, 842, 758

Ponto de fusão (°C): 263,5



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,88 (d, J = 8,55 Hz, 1H); 7,57 (d, J = 8,54 Hz, 1H); 4,86 (td, J = 10,68; 4,97 Hz, 1H); 2,20 (ddd, J = 11,06; 5,20; 2,79 Hz, 1H); 1,81 (dt, J = 12,66; 2,54 Hz, 1H); 1,18 (s, 3H); 1,02 (s, 3H); 1,00 (s, 6H); 0,95 (s, 3H); 0,87 (s, 3H); 0,84 (s, 3H); 0,81 (d, J = 6,66 Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 165,7; 131,8; 131,2; 130,0; 127,9; 76,5; 60,1; 53,2; 50,3; 42,9; 41,5; 39,8; 39,4; 38,6; 38,4; 37,2; 36,2; 35,7; 35,5; 35,2; 32,9; 32,8; 32,5; 32,2; 31,9; 30,7; 30,2; 28,3; 20,3; 19,5; 18,8; 18,3; 18,0; 14,7; 10,3.

Espectros: Apêndice B, pág. 128

Nome: *p*-bromobenzoato de friedelan-3 β -ila (**L2**)

Aspecto: sólido branco amorfo

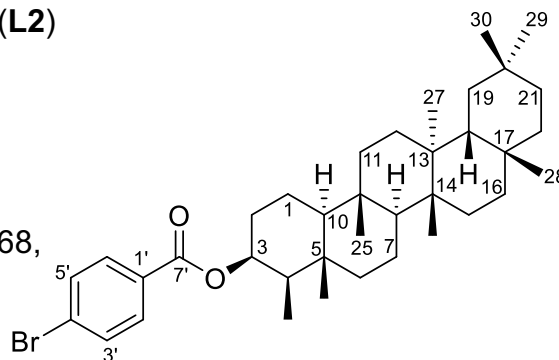
Fórmula molecular: C₃₇H₅₅BrO₂

Massa molar: 611,75 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 2926, 2868, 1708, 1272, 1168,

1100, 1010, 890, 846, 758

Ponto de fusão (°C): 233,6



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,90 (d, J = 8,53 Hz, 1H); 7,59 (d, J = 8,51 Hz, 1H); 5,15 (q, J = 2,63 Hz, 1H); 2,04 (dd, J = 14,30; 2,58 Hz, 1H); 1,80 (dt, J = 12,85; 2,56 Hz, 1H); 1,18 (s, 3H); 1,08 (s, 3H); 1,02 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,95 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,87 (d, J = 7,08 Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 166; 131,9; 131,2; 130,0; 127,9; 76,0; 61,1; 53,3; 48,5; 43,0; 41,7; 39,8; 39,4; 38,5; 38,0; 37,3; 36,2; 35,7; 35,5; 35,2; 32,9; 32,5; 32,3; 32,2; 31,9; 30,8; 30,2; 28,3; 20,3; 18,8; 18,4; 17,9; 16,6; 16,5; 11,6.

Espectros: Apêndice B, pág. 132

Nome: (S)-naproxenato de friedelan-3 α -ila (**L3**)

Aspecto: sólido branco amorfo

Fórmula molecular: C₄₅H₆₆O₃

Massa molar: 655,02 g mol⁻¹

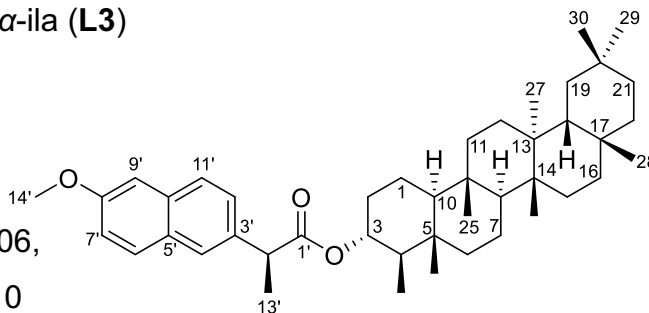
IV (ν Max/cm⁻¹): 2934, 2868, 1726, 1606,

1458, 1388, 1264, 1174, 1034, 854, 810

Ponto de fusão (°C): 250,2-250,6

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,69 (dd, J = 8,59; 4,65 Hz, 2H); 7,64 (s, 1H); 7,39 (dd, J = 8,51; 1,71 Hz, 1H); 7,12 (m, 2H); 4,63 (td, J = 11,04; 5,01 Hz, 1H); 3,91 (s, 3H); 3,81 (q, J = 7,11 Hz, 1H); 1,94 (dq, J = 11,39; 3,61; 3,61; 3,26 Hz, 1H); 1,74 (dt, J = 12,86; 2,89; 2,89 Hz, 1H); 1,55 (d, J = 7,17 Hz, 3H); 1,16 (s, 3H); 0,98 (s, 3H); 0,96 (s, 6H); 0,93 (s, 3H); 0,80 (s, 3H); 0,79 (s, 3H); 0,72 (d, J = 6,65 Hz, 3H).

*principais sinais



RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 174,6; 157,7; 136,2; 133,7; 129,4; 129,1; 127,1; 126,5; 126,0; 119,0; 105,7; 75,7; 59,9; 55,4; 53,1; 50,0; 45,9; 42,9; 41,4; 39,8; 39,4; 38,5; 38,4; 37,1; 36,2; 35,6; 35,5; 35,2; 32,9; 32,5; 32,4; 32,2; 31,9; 31,7; 30,7; 30,1; 28,3; 22,8; 20,3; 19,3; 18,7; 18,7; 18,2; 18,0; 14,6; 14,3; 11,6; 10,1.

Espectros: Apêndice B, pág. 136

Nome: (S)-naproxenato de friedelan-3 β -ila (**L4**)

Aspecto: sólido branco amorfo

Fórmula molecular: C₄₅H₆₆O₃

Massa molar: 655,02 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 2930, 2870, 1726, 1606,

1458, 1388, 1262, 1218, 1186, 1162, 1030,

920, 894, 856

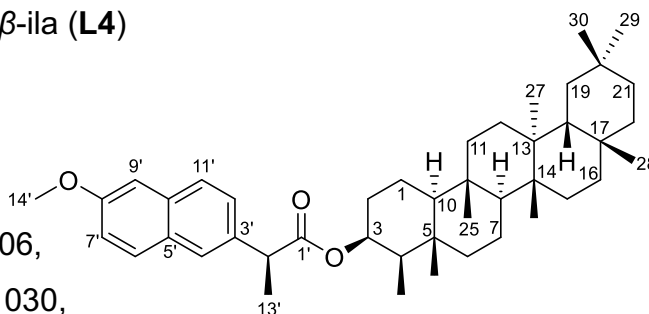
Ponto de fusão (°C): 254,1-254,4

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,68 (d, J = 8,67 Hz, 3H); 7,40 (dd, J = 8,40; 1,61 Hz, 1H); 7,12 (m, 2H); 4,88 (q, J = 2,70 Hz, 1H); 3,91 (s, 1H); 3,83 (q, J = 7,13 Hz, 1H); 1,84 (dq, J = 13,76; 2,38 Hz, 1H); 1,58 (d, J = 7,15 Hz, 3H); 1,16 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,98 (s, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,81 (s, 3H); 0,72 (s, 3H); 0,51 (d, J = 7,06 Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 174,5; 157,6; 136,2; 133,8; 129,4; 129,1; 127,1; 126,5; 126,2; 119,0; 105,7; 75,0; 61,0; 55,4; 53,2; 48,4; 46,3; 42,9; 41,6; 39,8; 39,4; 38,5; 37,9; 37,2; 36,2; 35,7; 35,5; 35,2; 32,9; 32,4; 32,3; 32,2; 31,9; 30,7; 30,1; 28,3; 20,2; 18,8; 18,3; 18,2; 17,8; 16,4; 15,9; 11,1.

Espectros: Apêndice B, pág. 140



Nome: pent-4-inoato de friedelan-3 α -ila (**L5**)

Aspecto: sólido incolor amorfo

Fórmula molecular: C₃₅H₅₆O₂

Massa molar: 508,83 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 3258, 2930, 2854, 1724,

1388, 1350, 1250, 1154, 982

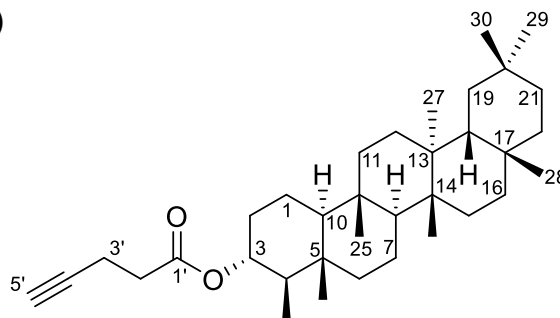
Ponto de fusão (°C): 248,5-248,9

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,67 (td, $J = 10,92$; 4,96 Hz, 1H); 2,08 (ddd, $J = 11,35$; 5,16; 2,85 Hz, 1H); 1,96 (t, $J = 2,16$ Hz, 1H); 1,77 (dt, $J = 12,91$; 2,84 Hz, 1H); 1,17 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,82 (s, 6H); 0,76 (d, $J = 6,67$ Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 171,7; 82,79; 75,82; 69,10; 59,99; 53,11; 50,08; 42,94; 41,44; 39,81; 39,40; 38,55; 38,43; 37,14; 36,18; 35,67; 35,46; 35,16; 33,89; 32,94; 32,82; 32,49; 32,23; 31,94; 30,70; 30,15; 29,85; 28,31; 20,30; 19,46; 18,78; 18,26; 17,98; 14,65; 14,62; 10,10.

Espectros: Apêndice B, pág. 144



Nome: pent-4-inoato de friedelan-3 β -ila (**L6**)

Aspecto: sólido branco amorfo

Fórmula molecular: C₃₅H₅₆O₂

Massa molar: 508,83 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 3276, 2946, 2932, 2870,

1718, 1458, 1388, 1264, 1164, 1002

Ponto de fusão (°C): 252,3-253,9 (o sólido ficou amarelo e

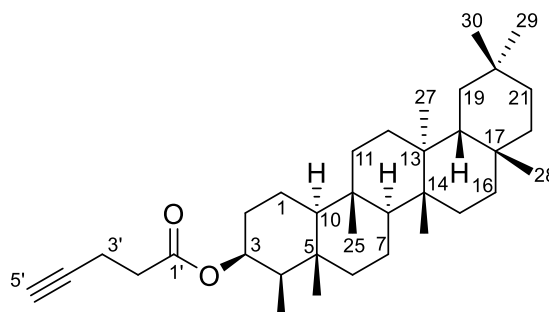
depois fundiu)

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,94 (q, $J = 2,71$ Hz, 1H); 2,60–2,47 (m, 3H); 1,98 (t, $J = 2,45$ Hz, 1H); 1,91 (dt, $J = 13,59$; 2,70 Hz, 1H); 1,75 (dt, $J = 12,25$; 2,64 Hz, 1H); 1,17 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 1,00 (s, 6H); 0,94 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,86 (s, 3H); 0,82 (d, $J = 7,06$ Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 171,6; 82,8; 75,3; 69,2; 61,1; 53,3; 48,2; 42,9; 41,7; 39,8; 39,4; 38,5; 37,9; 37,2; 36,2; 35,7; 35,5; 35,2; 34,1; 32,9; 32,5; 32,3; 32,2; 31,9; 30,8; 30,2; 28,3; 20,3; 18,8; 18,4; 17,8; 16,5; 16,0; 14,7; 11,5

Espectros: Apêndice B, pág. 148



Nome: undec-10-inoato de friedelan-3 α -ila (**L7**)

Aspecto: sólido ceroso branco amorfo

Fórmula molecular: C₄₁H₆₈O₂

Massa molar: 592,99 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 3342, 2932,

2868, 1734, 1458, 1388, 1248, 1172

Ponto de fusão (°C): 216,7

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 4,63 (td, J = 10,97; 4,98 Hz, 1H); 2,26 (t, J = 7,50 Hz, 2H); 2,18 (td, J = 7,07; 2,62 Hz, 2H); 2,07 (ddt, J = 8,14; 6,01; 3,06 Hz, 1H); 1,93 (t, J = 2,63 Hz, 1H); 1,77 (dt, J = 12,39; 2,64 Hz, 1H); 1,17 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,82 (s, 6H); 0,75 (d, J = 6,66 Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 173,8, 84,9, 75,0, 68,2, 60,0, 53,1, 50,2, 42,9, 41,5, 39,8, 39,4, 38,5, 38,4, 37,1, 36,2, 35,7, 35,5, 35,2, 34,9, 32,9, 32,9, 32,5, 32,2, 31,9, 30,7, 30,1, 29,3, 29,2, 29,0, 28,8, 28,6, 28,3, 25,2, 20,3, 19,5, 18,8, 18,5, 18,3, 18,0, 14,6, 10,1.

Espectros: Apêndice B, pág. 152

Nome: undec-10-inoato de friedelan-3 β -ila (**L8**)

Aspecto: sólido branco amorfo

Fórmula molecular: C₄₁H₆₈O₂

Massa molar: 592,99 g mol⁻¹

IV (ν Max/cm⁻¹): 2932, 2870,

2860, 1728, 1458, 1388, 1244, 1164, 1002, 982

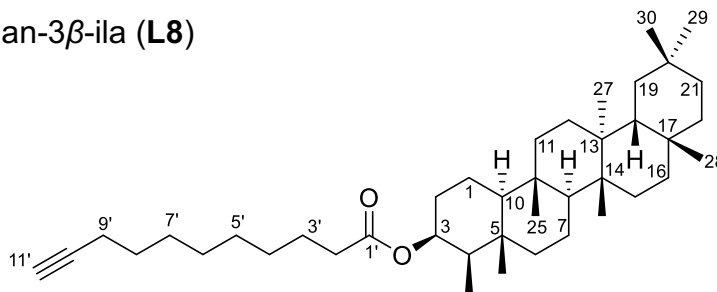
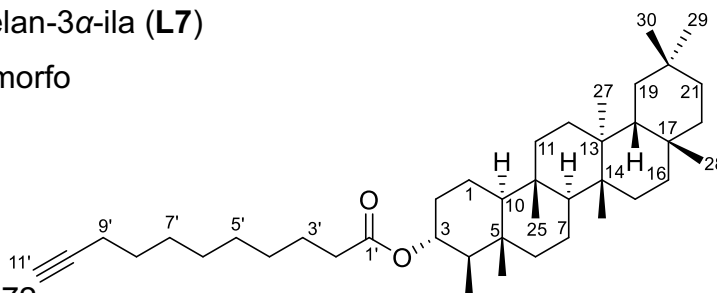
Ponto de fusão (°C): 219,1

RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃): δ 4,89 (q, J = 2,78; 2,67; 2,67 Hz, 1H); 2,29 (t, J = 7,48; 7,48 Hz, 1H), 2,17 (td, J = 7,13; 7,12; 2,63 Hz, 2H); 1,93 (t, J = 2,61; 2,61 Hz, 1H); 1,88 (dq, J = 13,93; 3,00; 2,84; 2,84 Hz, 2H); 1,75 (dt, J = 12,56; 2,89; 2,89 Hz, 2H); 1,17 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,86 (s, 3H); 0,80 (d, J = 7,05 Hz, 3H).

*principais sinais

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 173,8; 84,9; 74,5; 68,2; 61,1; 53,3; 48,2; 43,0; 41,8; 39,8; 39,4; 38,5; 38,0; 37,2; 36,2; 35,7; 35,5; 35,2; 35,1; 32,9; 32,5; 32,4; 32,2; 31,9; 30,8; 30,2; 29,3; 29,2; 29,1; 28,8; 28,6; 28,3; 25,3; 20,3; 18,8; 18,5; 18,4; 17,8; 16,5; 16,0; 11,5.

Espectros: Apêndice B, pág. 156



3. Discussão de Resultados

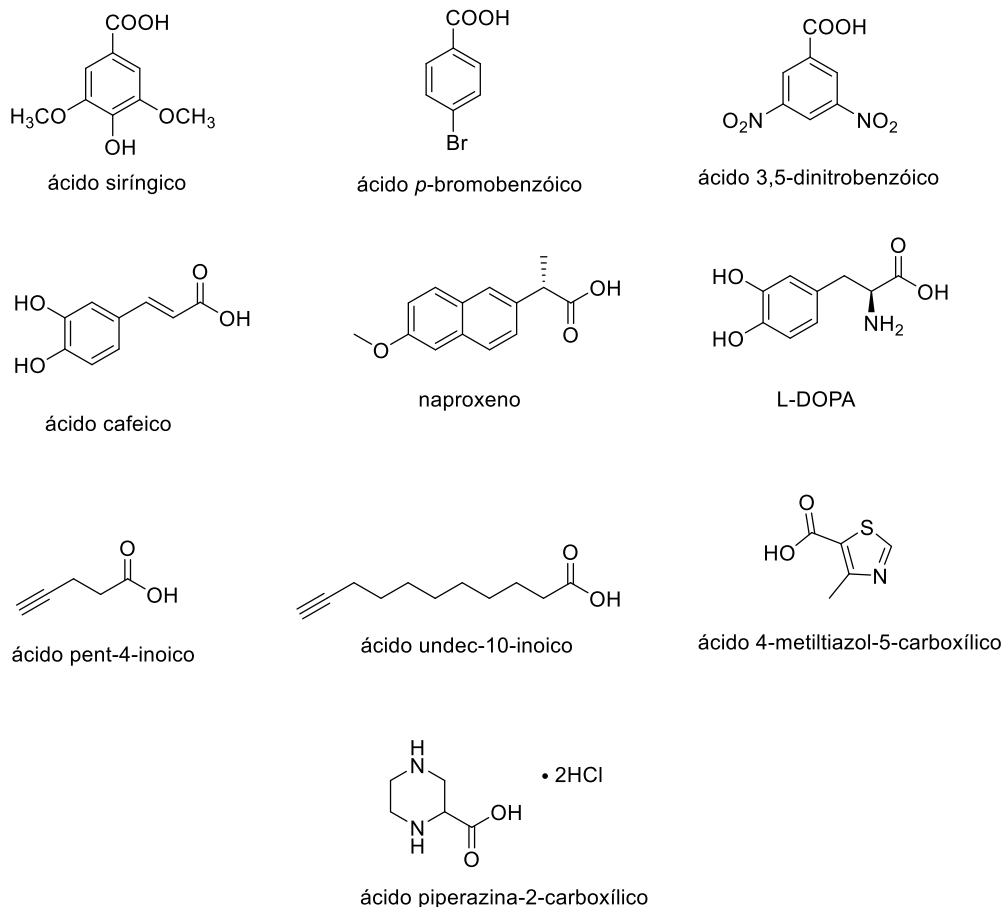
3.1 – Reatividade

Foram feitas 15 tentativas de esterificação com diferentes ácidos carboxílicos (Figura 22, pág. 71) utilizando-se a metodologia com DIC/DMAP, das quais 8 resultaram nos produtos desejados (Tabela 12).

Tabela 12 – Tentativas de esterificação com diferentes ácidos carboxílicos

Tentativa	Isômero do friedelinol	Ácido	Tempo	Temperatura	Solvente	Rendimento
1	α	ácido <i>p</i> -bromobenzóico	30 horas	ambiente	CHCl ₃	75% (L1)
2	β	ácido <i>p</i> -bromobenzóico	72 horas	ambiente	CHCl ₃	13% (L2)
3	α	naproxeno	2h 30 min	ambiente	CHCl ₃	93% (L3)
4	β	naproxeno	24 horas	ambiente	CHCl ₃	95% (L4)
5	α	ácido pent-4-inoico	1 h 15 min	ambiente	CHCl ₃	98% (L5)
6	β	ácido pent-4-inoico	3 horas	ambiente	CHCl ₃	77% (L6)
7	α	ácido undec-10-inoico	6 h 30 min	ambiente	CHCl ₃	89% (L7)
8	β	ácido undec-10-inoico	72 horas	ambiente	CHCl ₃	46% (L8)
9	β	ácido siríngico	44 horas	ambiente	CHCl ₃	não reagiu
			24 horas	refluxo		não reagiu
10	β	ácido 3,5-dinitrobenzóico	24 horas	ambiente	DMSO	não reagiu
			24 horas	refluxo		não reagiu
11	β	ácido cafeico	24 horas	ambiente	CHCl ₃	não reagiu
			24 horas	refluxo		não reagiu
12	α	ácido cafeico	48 horas	ambiente	CHCl ₃	não reagiu
13	α	L-DOPA	24 horas	refluxo	DMSO	não reagiu
14	α	ácido 4-metiltiazol-5-carboxílico	48 horas	ambiente	CHCl ₃	não reagiu
			6 horas	refluxo		não reagiu
15	α	ácido piperazina-2-carboxílico	48 horas	ambiente	CHCl ₃	não reagiu

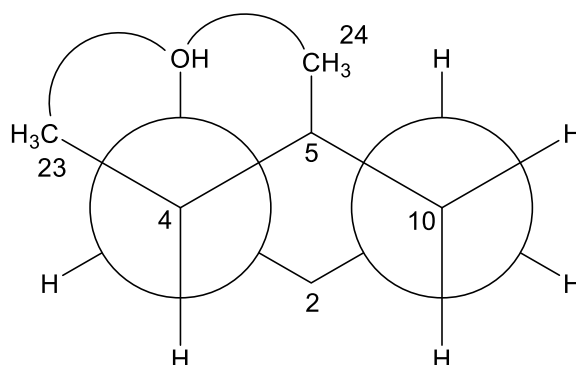
Figura 22 – Estruturas dos ácidos carboxílicos usados nas reações de esterificação



Durante as tentativas de esterificação observou-se que o α -friedelinol sempre reagia mais rapidamente do que o isômero β . Além disso, ambos os isômeros do friedelinol apresentaram dificuldade em reagir com ácidos aromáticos ou que possuem a carbonila conjugada com outras ligações duplas.

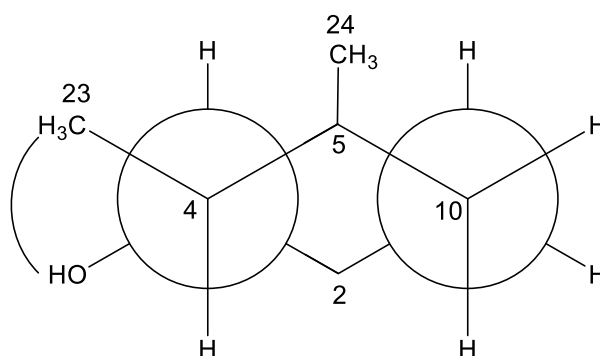
A primeira observação pode ser explicada através da análise conformacional do anel A dos isômeros do friedelinol (a fim de simplificar o desenho e a análise, o anel A foi considerado como um ciclo-hexano substituído em três posições). Para o isômero β (**Figura 23**, pág. 72), a hidroxila em C-3 está na conformação *gauche* em relação às metilas 23 e 24, gerando um impedimento estérico que dificulta o ataque nucleofílico da hidroxila na carbonila do intermediário. Além disso, as reações de esterificação propostas envolvem a inserção de um grupo grande e volumoso em uma posição axial da cadeira, gerando um produto menos estável cuja formação é menos favorável e mais demorada.

Figura 23 – Projeção de Newman do anel A do β -friedelinol



Para o isômero α (**Figura 24**), a hidroxila em C-3 está em uma conformação gauche em relação à metila 23 e anti-periplanar em relação à metila 24, o que não gera tanto impedimento estérico em torno da hidroxila como no isômero β . Ademais, no isômero α , a esterificação insere um grupo grande e volumoso na posição equatorial da cadeira, gerando um produto de conformação mais estável cuja formação é mais favorecida e rápida.

Figura 24 – Projeção de Newman do anel A do α -friedelinol



3.2 – Produtos obtidos

Foram sintetizados oito ésteres derivados do friedelinol, sendo quatro do isômero α e quatro do isômero β . Os isômeros α e β podem ser diferenciados pelo espectro de RMN de ^1H , pelo sinal de hidrogênio ligado ao carbono hidroxilado, que, para o α -friedelinol é um duplete triplo em δ_{H} 3,34 ppm (1H, $J = 10,33$; 10,16 e 4,67 Hz) e para o β -friedelinol é um quarteto em δ_{H} 3,74 (1H, $J = 2,50$; 2,21 e 2,21 Hz). Eles

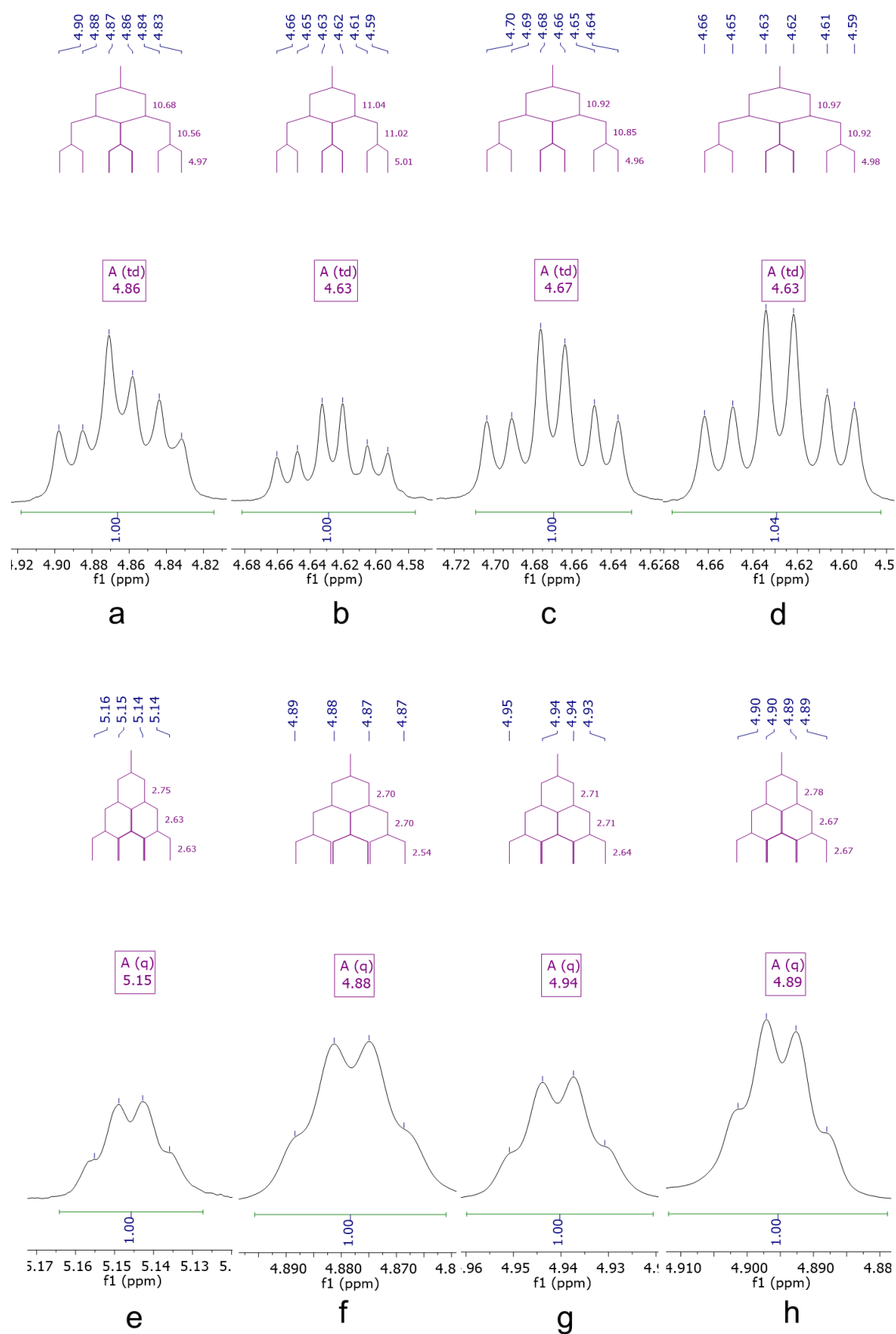
também podem ser diferenciados por meio do sinal da metila 23 no espectro de RMN de carbono, que para o α -friedelinol e β -friedelinol aparecem em torno de δ_c 10,1 e δ_c 11,8 ppm, respectivamente.

Para todos os produtos houve um aumento no deslocamento químico do H-3 quando comparado ao H-3 do friedelinol (**Tabela 13, Figura 25**, pág. 74). Isso se deve ao efeito da ressonância entre os átomos O-C-O do grupo éster, que deixa o oxigênio ligado ao C-3 com uma carga positiva que desblinda o hidrogênio H-3. O sinal de C-3 também sofreu aumento no deslocamento químico para todos os ésteres devido ao efeito da ressonância.

Tabela 13 – Deslocamentos químicos (ppm) dos hidrogênios H-3 para os ésteres sintetizados

Éster	δ_H	Multiplicidade	Isômero do friedelinol	Ácido
L1	4,86	duplete triplo	α	<i>p</i> -bromobenzóico
L2	5,15	quarteto	β	<i>p</i> -bromobenzóico
L3	4,63	duplete triplo	α	naproxeno
L4	4,88	quarteto	β	naproxeno
L5	4,67	duplete triplo	α	pent-4-inoico
L6	4,94	quarteto	β	pent-4-inoico
L7	4,63	duplete triplo	α	undec-10-inoico
L8	4,89	quarteto	β	undec-10-inoico

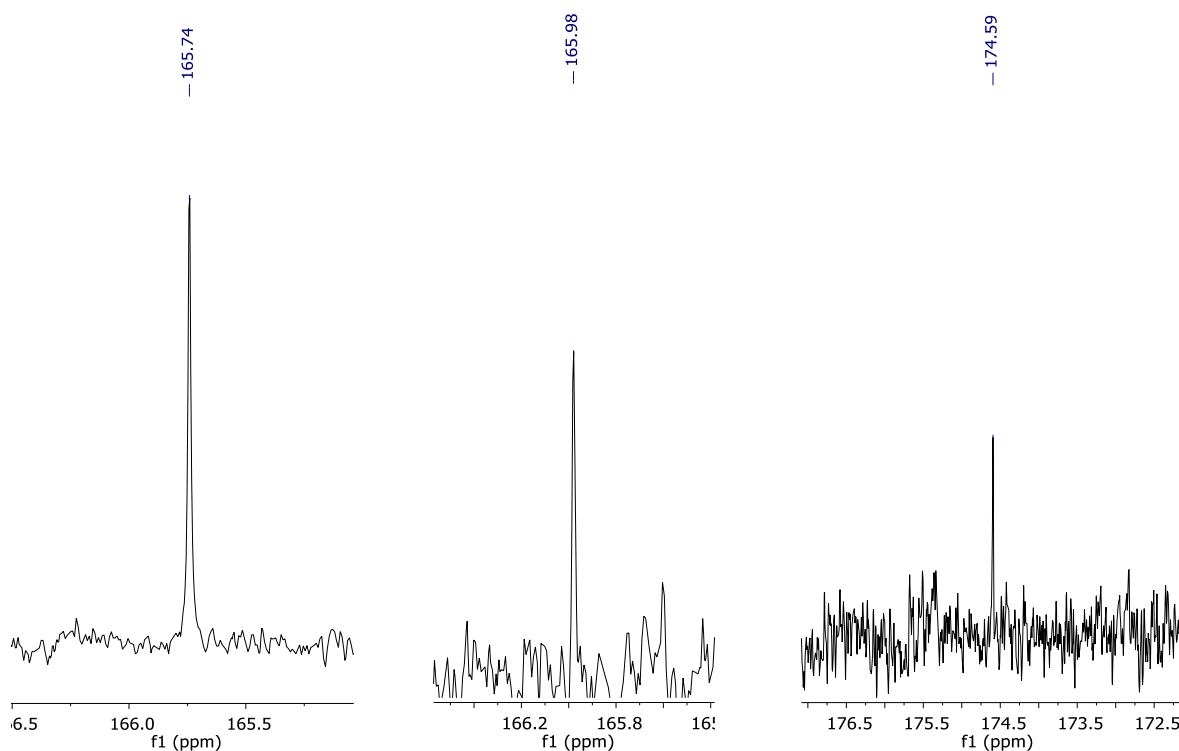
Figura 25 – Expansão dos espectros de RMN de H mostrando os sinais de H-3 dos ésteres sintetizados: L1 (a), L3 (b), L5 (c), L7 (d), L2 (e), L4 (f), L6 (g), L8 (h)



Outra evidência da formação dos produtos é o aparecimento de um sinal no RMN de ^{13}C por volta de 170 ppm, correspondente ao carbono carbonílico do éster. O deslocamento químico deste carbono é menor do que o de uma carbonila de cetona, por exemplo, devido à ressonância entre os átomos O-C-O do grupo éster. Essa ressonância aumenta a densidade eletrônica sobre o carbono carbonílico, deixando-o mais blindado, o que resulta em um deslocamento químico menor.

Para os ésteres aromáticos L1 e L2, o sinal do carbono carbonílico possui um deslocamento químico menor do que os outros ésteres (**Figura 26**). A ressonância da carbonila com o anel aromático aumenta ainda mais a densidade eletrônica sobre o carbono, o que o deixa mais blindado e resulta no deslocamento químico menor.

Figura 26 – Expansão do RMN de C evidenciando o sinal de carbono carbonílico para três ésteres sintetizados: L1 (esquerda), L2 (centro), L3 (direita)



CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS

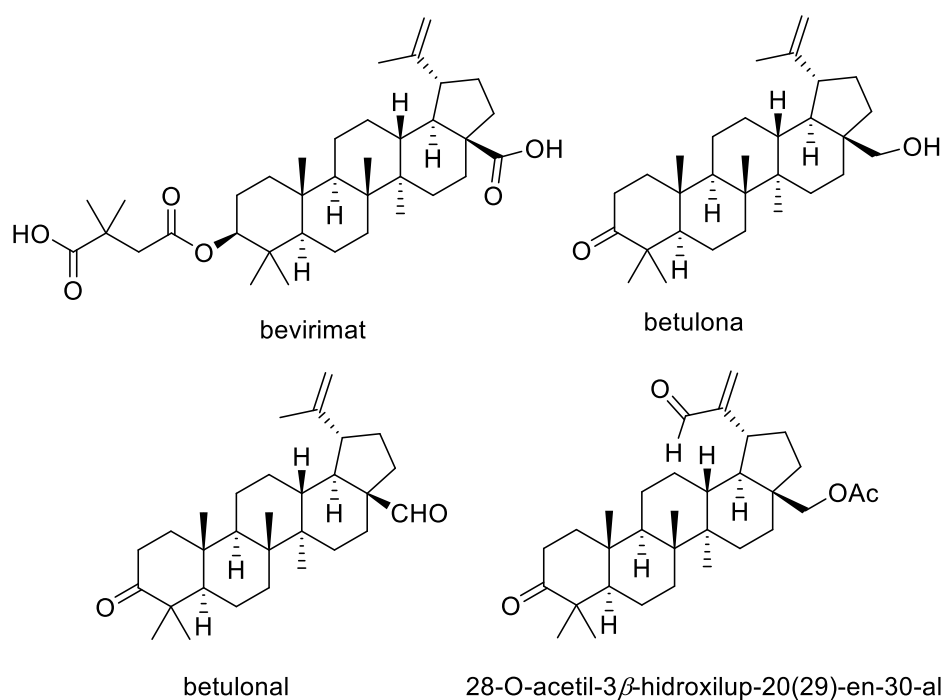
1. INTRODUÇÃO

1.1 Triterpenos com atividade antiviral

Vírus são os patógenos mais comuns no mundo, sendo responsáveis por causar cerca de dois terços das infecções humanas, além de também infectarem animais próximos aos seres humanos, como galinhas, porcos, cães e ovelhas (LIU et al., 2022). Levando em consideração a ameaça à saúde que os vírus representam, além da alta taxa de mutação que eles sofrem, é necessário o desenvolvimento de novos fármacos antivirais que superem a resistência dos patógenos e causem menos efeitos adversos (KHWAZA; OYEDEJI; ADERIBIGBE, 2018).

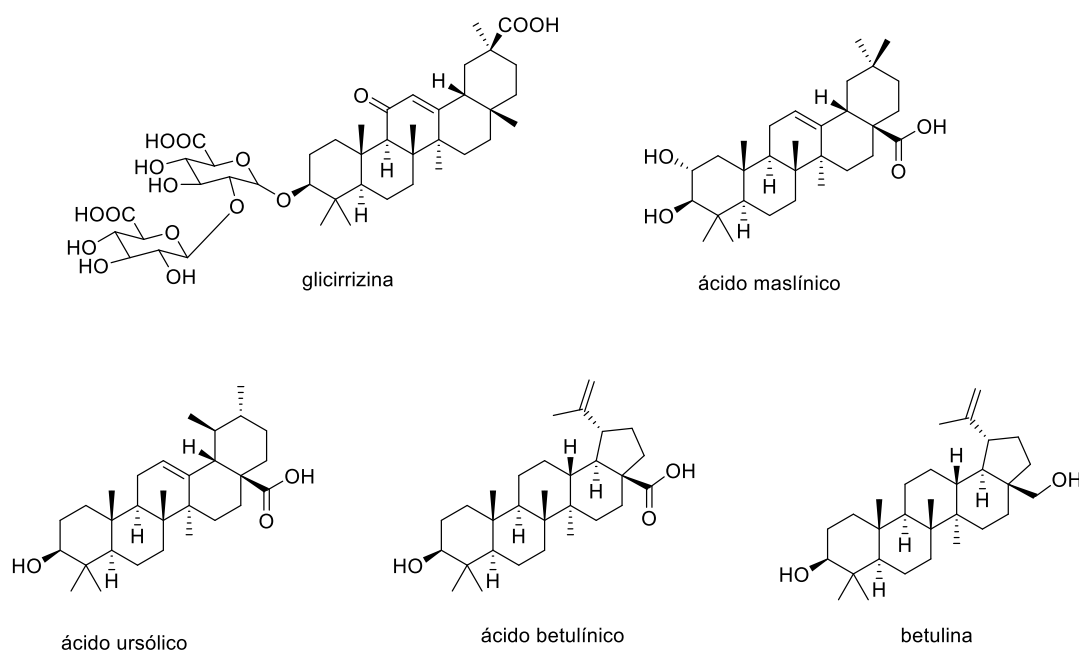
Os triterpenos possuem várias atividades biológicas e, dentre elas, a atividade antiviral é uma das mais conhecidas graças ao bevirimat (**Figura 27**, pág. 77), um derivado do ácido betulínico que apresentou elevada atividade contra o vírus HIV e avançou até a Fase II dos estudos clínicos (SMITH et al., 2007). Outros triterpenos de esqueleto lupano com atividade antiviral reportada são a betulona e dois derivados semissintéticos, betulonal e 28-O-acetil-3 β -hidroxilup-20(29)-en-30-al (**Figura 27**, pág. 77), que obtiveram IC₅₀ de 4,08; 4,18 e 1,70 μ M, respectivamente, em um teste de inibição da replicação do vírus HIV-1 (CALLIES et al., 2015).

Figura 27 – Estruturas do bevirimat, betulona, betulonal e 28-O-acetil-3 β -hidroxilup-20(29)-en-30-al



A atividade antiviral de triterpenos também foi testada contra os coronavírus causadores da SARS e da COVID-19. A glicirrizina (**Figura 28**, pág. 78), por exemplo, inibiu a replicação, adsorção e penetração do SARS-CoV, com uma atividade antiviral melhor do que a do controle positivo ribavirina quando administrada durante e depois da fase de adsorção do vírus ($EC_{50} = 300 \text{ mg mL}^{-1}$) (CINATL et al., 2003). Os ácidos maslínico, ursólico, betulínico e a betulina (**Figura 28**, pág. 78) tiveram sua atividade avaliada contra o vírus da COVID-19, SARS-CoV-2, e apresentaram bons resultados de inibição da protease M^{pro} , principal protease desse vírus, com IC_{50} de 3,22; 12,57; 14,55 e 89,67 μM , respectivamente (ALHADRAMI et al., 2021).

Figura 28 – Estruturas da glicirrizina, betulina e ácidos maslínico, ursólico e betulínico



1.2 Triterpenos e derivados com atividade citotóxica

O câncer é definido como o crescimento anormal de células de um organismo e que podem, então, invadir outros órgãos e tecidos, causando a metástase, a principal causa de morte de pacientes com câncer. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer foi a causa de cerca de 10 milhões de mortes em todo o mundo no ano de 2020 (WHO, 2022).

Os tratamentos atuais para o câncer incluem a quimioterapia, imunoterapia, hormônio terapia e uma combinação de cirurgia e radioterapia. Entretanto, os tratamentos apresentam limitações, tais como baixa seletividade dos fármacos para as células tumorais, o que origina efeitos adversos, resistência a múltiplos fármacos e reaparecimento do tumor (KHWAZA et al., 2021).

Diante deste cenário, a investigação do potencial citotóxico de produtos naturais se torna imprescindível. Os triterpenos pentacíclicos, por possuírem ampla diversidade estrutural, podem atuar em diversos alvos como indução da apoptose, impedimento da proliferação das células tumorais, imunomodulação, entre outros (PADUCH; KANDEFER-SZERSZEN, 2014).

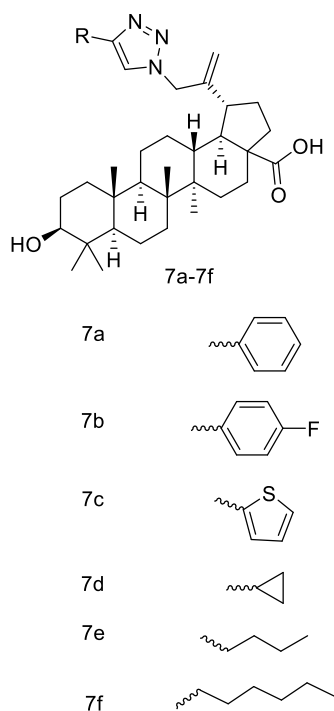
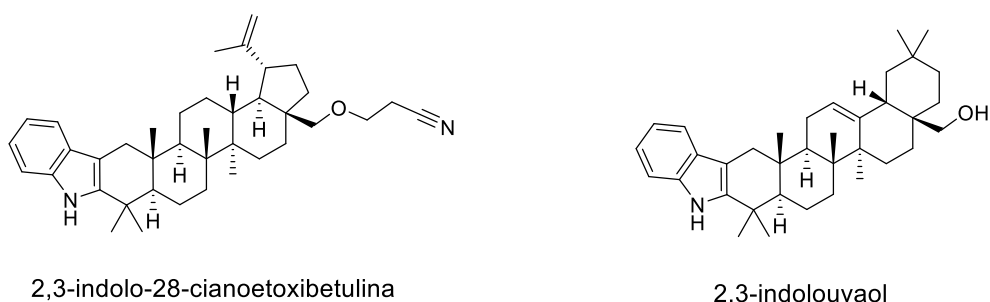
Dentre os tipos de triterpenos pentacíclicos mais estudados quanto à atividade citotóxica tem-se a classe dos quinonametídeos, compostos encontrados nas raízes de plantas da família Celastraceae. Para a tingenona, 22-hidroxitingenona e pristimerina foi relatada potente atividade citotóxica frente a diversas linhagens de células tumorais, dentre elas as células de leucemia HL-60 e K-562. A tingenona apresentou valores de IC₅₀ menores do que o controle positivo, doxorubicina, evidenciando o grande potencial dos triterpenos pentacíclicos (RODRIGUES et al., 2019).

Também foi relatada atividade citotóxica em linhagens de células de câncer de mama, de cérebro, colorretal, leucemia, fígado e pulmão para o ácido ursólico. O ácido asiático apresentou atividade contra linhagens de células de câncer de mama, de cólon, de próstata e de pele. O ácido corosólico foi ativo contra células de câncer de osso, de mama, de colo do útero e leucemia (BONACCORSI et al., 2008; PARK et al., 2005; SALVADOR et al., 2012; XAVIER et al., 2009).

Apesar do notório potencial dos triterpenos pentacíclicos como fármacos antitumorais, essa classe de produtos naturais apresenta limitações, como a baixa solubilidade em água (GUO, 2017). A síntese de derivados de triterpenos pode ser uma alternativa para superar esse tipo de limitação, bem como para potencializar efeitos biológicos existentes.

Derivados heterocíclicos nitrogenados de triterpenos de esqueleto ursano, oleanano e lupano estão entre os candidatos mais promissores no desenvolvimento de novos fármacos antitumorais (KHWAZA et al., 2021). Duas séries de derivados triazólicos do ácido betulínico e da betulina foram preparadas por Shi e colaboradores, e testadas frente a células HL-60 de leucemia. Os derivados do ácido betulínico (**Figura 29**, pág. 80) apresentaram maior citotoxicidade do que o seu precursor (SHI; TANG; YAN, 2014). Dois derivados indólicos, 2,3-indolouvaol e 2,3-indolo-28-cianoetoxibetulina (**Figura 29**, pág. 80), apresentaram potente atividade antitumoral *in vitro* contra as linhagens celulares NCI-H522 (câncer de pulmão) e COLO 205 (câncer de cólon), resultando na morte de 12,65% e 42,78% dessas células, respectivamente (KHUSNUTDINOVA et al., 2018).

Figura 29 – Estruturas dos derivados triazólicos do ácido betulínico; 2,3-indolo-28-cianoetoxibetulina e 2,3-indolouvaol



derivados triazólicos do ácido betulínico

Os estudos apresentados evidenciam expressivas atividades biológicas para diferentes tipos de triterpenos e derivados, mostrando como esses compostos podem ter um grande potencial na descoberta de novos fármacos para tratar diversas doenças. Em vista desse potencial, os extratos e os triterpenos isolados das folhas de *Salacia grandifolia* foram submetidos a testes de atividade antiviral contra o coronavírus murino e de atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e MRSA. Ademais, alguns compostos isolados, bem como ésteres derivados do friedelinol, foram submetidos a testes de atividade citotóxica contra as linhagens K-562 e THP-1 de leucemia.

2. ENSAIOS ANTIVIRAL E ANTIMICROBIANO

2.1 Metodologia

Os ensaios para investigação da atividade antiviral e antibacteriana dos triterpenos foram realizados no Laboratório de Vírus do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, coordenado pelo professor Jônatas Santos Abrahão.

2.1.1 – *Linhagem celular, vírus e cepas bacterianas*

Os vírus foram fornecidos pelo Laboratório de Vírus da UFMG. A linhagem celular L929 (ATCC® CCL-1™) foi usada para os testes com MHV-3. As células foram cultivadas no meio DMEM (*Dulbecco's modified Eagle's medium*) (Cultilab, Brasil). O meio foi suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Brasil) juntamente com 100 IU/mL de penicilina (Cellofarm, Brasil), 100 µg/mL de estreptomicina (Merck, Alemanha) e 0,25 µg/mL de anfotericina B (Cultilab, Brasil). Cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC nº 29213) e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (ATCC nº 43300) foram fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia Clínica da UFMG.

2.1.2 – *Replicação viral*

Monocamadas de células Vero com aproximadamente 60-80% de confluência foram lavadas duas vezes com tampão fosfato-salino e infectadas com uma multiplicidade de infecção de 0,001 para MHV-3. A adsorção foi feita durante 1 hora a 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂ com 1 mL de vírus diluído no meio de cultura (sem SFB), com homogeneização dos frascos a cada 10 minutos. Depois da adsorção, 15 mL do meio de cultura com 2% de SFB foram adicionados aos frascos e incubados sob as mesmas condições. As monocamadas de células foram observadas diariamente sob microscópio ótico até que o efeito citopático estivesse em cerca de 80%. O sobrenadante foi removido e centrifugado a 2,015 g em uma centrífuga RT6000B (Sorvall, Thermo Scientific, USA) por 10 minutos a 4 °C. Os vírus foram armazenados a -70 °C.

2.1.3 – *Titulação viral*

A titulação viral foi realizada em microplacas de 12 poços (1,5 x 10⁵ células por poço) incubada a 37 °C e sob atmosfera de 5% de CO₂ por 24 horas. Cada poço

recebeu diluições em série do vírus no meio de cultura em uma razão de 1:10 (10^{-1} a 10^{-5}), seguido de adsorção por 1 hora. As células foram cobertas com 1,5 mL de meio de cultura M199 (Cultilab, Brasil) com 2% de SBF e 1% de carboximetilcelulose (CMC) (Synth, Brasil). As microplacas foram incubadas por cinco dias a 37 °C e sob atmosfera de 5% de CO₂, então foram fixadas por uma noite com 10% de formalina. Depois foram lavadas com água e tingidas com uma solução 1% de violeta cristal por 20 minutos (ANDRADE et al., 2021).

2.1.4 – Concentração citotóxica 50% (CC₅₀)

Às células plantadas em microplacas de 96 poços (4,0 x 10⁴ células por poço) e incubadas a 37 °C e sob atmosfera de 5% de CO₂ por 24 horas foram adicionados 200 µL de DMEM com 1% de SFB contendo diluição dos compostos a serem testados (100 a 1,56 µM ou 200 a 3,125 µg/mL). Como veículo controle foram usadas diluições seriadas de DMSO. Adicionalmente, um controle de inibição de 10% v/v de DMSO foi utilizado. Depois de 72 horas de incubação sob as mesmas condições, 100 µL de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT, ThermoFischer Scientific, EUA) diluído em DMEM (0,5 mg/mL) foram adicionados em cada poço e as placas foram novamente incubadas por 3 horas (MOSMANN, 1983). O meio de cultura foi removido e 100 µL de DMSO foram adicionados em cada poço para solubilizar os cristais de formazan. Em seguida as placas foram agitadas por 20 minutos.

A absorbância foi lida em 570 nm utilizando-se um espectrofotômetro (VersaMax, Molecular Devices, EUA). As porcentagens de inibição da viabilidade celular foram calculadas como a razão entre a absorbância das células tratadas com os compostos e as células somente com o veículo. A concentração citotóxica de 50% (CC₅₀) é definida como a menor concentração de um composto específico que reduz em 50% a viabilidade das células cultivadas. Regressão linear (LR) foi usada para a análise, considerando os resultados com $r^2 > 0,9$. Todas as condições foram testadas em triplicata e em, pelo menos, dois ensaios independentes.

2.1.5 – Concentração efetiva 50% (EC₅₀) e índice de seletividade (SI)

Às células plantadas em microplacas de 96 poços (4,0 x 10⁴ células por poço) e incubadas a 37 °C e sob atmosfera de 5% de CO₂ por 24 horas foram adicionados 100 µL de DMEM com 1% de SFB contendo diluição dos compostos a serem testados

(diluição de oito vezes a partir dos valores de CC_{50}) e 100 μ L da suspensão viral (multiplicidade de infecção de 0,1) em DMEM com 1% de SFB. Como veículo controle foram usadas diluições seriadas de DMSO. Poços que continham somente os vírus foram usados como controle de infecção, e poços sem células como controles branco e estéril. O tratamento com MTT seguiu o mesmo procedimento usado para o teste de CC_{50} . O valor de EC_{50} foi calculado como a porcentagem da razão entre a absorbância das células infectadas tratadas com os compostos e das células que tinham somente o veículo. Os índices de seletividade (SI) foram calculados usando a razão entre os valores de CC_{50} e EC_{50} . Regressão linear também foi usada para análise, considerando os resultados com $r^2 > 0,9$. Todas as condições foram testadas em triplicata e em pelo menos dois ensaios independentes.

2.1.6 - Avaliação da atividade antibacteriana e concentração inibitória mínima (MIC)

Os compostos selecionados foram avaliados contra *Staphylococcus aureus* (ATCC nº 29213) e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (ATCC nº 43300). A atividade antibacteriana e a concentração inibitória mínima (MIC) dos compostos testados foram avaliadas com o método de microdiluição do caldo em microplacas de 96 poços, de acordo com o protocolo do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Inicialmente, os compostos foram dissolvidos em DMSO e então diluídos no caldo Mueller Hinton (MHB, Oxoid, Thermo Scientific, UK) até a concentração de 200 μ M ou 400 μ g/mL. Em seguida, 100 μ L da diluição foram adicionados em cada poço, e o mesmo volume de suspensão bacteriana contendo 1×10^5 CFU/mL (100.000 unidades formadoras de colônia por mililitro) foi adicionado em cada poço, resultando em uma concentração de 100 μ M ou 200 μ g/mL para os compostos. Um controle de viabilidade (somente suspensão bacteriana), controles de inibição (MHB contendo cinco vezes a MIC de penicilina G para *S. aureus* e vancomicina para MRSA), um controle de esterilidade (apenas o meio de cultura) e um veículo controle (diluições seriadas de DMSO) foram incluídos em cada microplaca de ensaio. Depois de 24 horas de incubação a 37 °C, as microplacas foram inspecionadas visualmente para inibição do crescimento bacteriano, e a absorbância em 600 nm de cada poço foi lida usando um espectrofotômetro leitor de microplacas (VersaMax, Molecular Devices, CA, EUA). A porcentagem de inibição do crescimento foi calculada como a

porcentagem de redução no crescimento comparada com o veículo controle. Poços que não mostraram evidências visuais de crescimento bacteriano (sem turbidez) foram consideradas ativas e a MIC dos compostos promissores na triagem inicial foram testadas como descrito anteriormente, com uma diluição serial de cada composto (100 a 1,56 μM ou 200 a 3,125 $\mu\text{g/mL}$). Todas as condições foram testadas em triplicata e em pelo menos dois ensaios independentes.

2.2 Resultados

Na avaliação da atividade antiviral, a concentração citotóxica de 50% (CC_{50}) em células saudáveis L929 (fibroblastos de camundongos) foi determinada empregando-se MTT em microplacas de 96 poços. Os compostos **SG1-SG8**, depois de três ciclos de congelamento e descongelamento, apresentaram valores de CC_{50} maiores do que 100 μM enquanto os extratos (**EH**, **EC** e **EAE**) apresentaram valores maiores do que 100 $\mu\text{g/mL}$. A concentração efetiva de 50% (EC_{50}) também foi avaliada com MTT sob as mesmas condições, com a adição de uma suspensão viral (multiplicidade de infecção de 0,1) de MHV-3.

Dentre os compostos testados, dois triterpenos **SG5** (canofilol) e **SG8** (28-hidroxifriedelano-3,15-diona), e dois extratos **EH** (extrato hexânico) e **EAE** (extrato acetato etílico), apresentaram atividade antiviral resultando em índices de seletividade (SI) variando de > 1 a > 32 (**Tabela 14**, pág. 85).

Ambos os triterpenos ativos contra o coronavírus murino possuem uma hidroxila em C-28 (**SG5** e **SG8**), sendo que o triterpeno monocarbonilado **SG5** foi mais ativo. O composto **SG3**, análogo não hidroxilado em C-28 de **SG8**, não apresentou atividade. Os demais triterpenos que não possuem a hidroxila em C-28 também não foram ativos. Esses resultados podem sugerir uma relação estrutura-atividade, na qual a presença da hidroxila em C-28 seria essencial para a atividade antiviral, e a presença de uma segunda carbonila diminui a atividade.

Tabela 14 – Resultados da avaliação de atividade antiviral

Composto	CC₅₀ (µM ou µg)	EC₅₀ (µM ou µg)	SI
EH*	> 200 µg/mL	200 µg/mL	> 1
EC**	> 200 µg/mL	NA	-
EAE***	> 200 µg/mL	200 µg/mL	> 1
SG1	> 100 µM	NA	-
SG2	> 100 µM	NA	-
SG3	> 100 µM	NA	-
SG4	> 100 µM	NA	-
SG5	> 100 µM	3,125 µM	> 32
SG6	> 100 µM	NA	-
SG7	> 100 µM	NA	-
SG8	> 100 µM	100 µM	> 1
Ribavirina	80,8 µM	< 10 µM	

NA: Não ativo. *Extrato hexânico. **Extrato clorofórmico. ***Extrato acetato etílico

De modo geral, os resultados obtidos evidenciam que os triterpenos são compostos promissores na busca por novos fármacos antivirais. São necessários novos testes com outros triterpenos hidroxilados em C-28 para estabelecer melhor a relação estrutura-atividade e para investigar o mecanismo pelo qual se dá a atividade antiviral observada.

Para os testes antibacterianos, nenhum dos compostos apresentou atividade contra *S. aureus* ou MRSA.

3. ENSAIO CITOTÓXICO

3.1 Metodologia

Os ensaios para investigação da atividade citotóxica dos triterpenos e derivados foram realizados no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG, coordenado pelo professor Adriano de Paula Sabino.

3.1.1 - Linhagens celulares K-562 e THP-1

As linhagens celulares humanas utilizadas no teste de citotoxicidade K-562 (leucemia mieloide crônica, ATCC® CCL-243™) e THP-1 (leucemia monocítica aguda, ATCC® TIB-202™) foram adquiridas através da *American Type Culture Collection* (ATCC). As células foram mantidas em garrafas plásticas de cultura contendo meio RPMI 1640 (Cultilab, Campinas, SP, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab, Campinas, SP, Brasil), 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10 mM HEPES, pH 7,4, em estufa umidificada a 37 °C e com 5% de CO₂ até a realização dos ensaios.

3.1.2 - Ensaio de viabilidade celular

A citotoxicidade dos compostos em linhagens celulares foi avaliada pelo ensaio de MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol], que reage com enzimas mitocondriais de células viáveis formando um cristal (Formazan) insolúvel em água, mas solúvel em DMSO, onde apresenta uma coloração violeta (CARMICHAEL et al., 1987). Para o cálculo da viabilidade celular fez-se a leitura da absorbância a 550 nm em um leitor de placas de Elisa.

Para o ensaio, as células foram centrifugadas a 70 g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido com meio completo e transferido para uma placa de 96 poços na concentração de 1x10⁴ células/poço. A placa foi incubada em estufa de CO₂ a 37 °C e atmosfera úmida de CO₂ a 5% por 24 horas.

Para a montagem da placa de drogas, tanto os compostos testes quanto os controles positivos (Imatinibe e Citarabina) foram diluídos em meio de cultivo contendo 1% de soro fetal bovino (SFB) e adicionados à placa nas concentrações de 100, 10, 1

e 0,1 µg/mL. Após 48 horas de incubação, adicionou-se 100 µL do sal MTT na concentração de 0,5 mg/mL. Em seguida, a placa foi incubada por um período de 3 horas. Passado o tempo de incubação, o sobrenadante foi retirado e aplicou-se 50 µL de DMSO em cada poço para solubilizar os cristais de formazan. A absorbância por poço foi medida a um comprimento de onda de 550 nm utilizando o *Gen5 (Data Analysis Software – Bio-Tek)*.

Os dados foram analisados a partir de dois experimentos independentes. A concentração mínima que inibiu em 50% a viabilidade celular (IC_{50}) na presença dos compostos testes foi determinada pela comparação com células cultivadas sem a presença dos compostos (consideradas 100% viáveis).

3.1.3 – Determinação do IC_{50} para as linhagens celulares

A inibição do crescimento de 50% das linhagens celulares foi obtida por meio de uma curva dose-resposta em função da regressão linear. Para a confecção da curva foi utilizado o programa *GraphPad Prism 7*.

3.2 Resultados

Os resultados dos ensaios de citotoxicidade contra as células de leucemia monocítica aguda (THP-1) e leucemia mieloide crônica (K-562) estão apresentados na **Tabela 15** (pág. 88).

Todos os compostos testados apresentaram elevados valores de IC_{50} , variando de 266,36 a 622,77 µM contra as células THP-1 (controle Citarabina IC_{50} = 40,75 µM) e de 259,01 a 917,58 µM contra as células K-562 (controle Imatinibe IC_{50} = 34,58 µM). O composto que mostrou melhor atividade contra as células THP-1 foi o éster **L4** ((S)-naproxenato de β-fridelanila), com IC_{50} = 266,36 µM. O mais ativo frente às células K-562 foi o triterpeno **SG8** (28-hidroxifriedelano-3,15-diona), com IC_{50} = 259,01 µM.

Tabela 15 – Valores de IC₅₀ obtidos a partir do ensaio de viabilidade celular (MTT) nas linhagens

Composto	IC ₅₀ (μM) ± DP ^a	
	THP-1 ^d	K-562 ^e
SG3	350 ± 43	593 ± 44
SG5	623 ± 12	318 ± 41
SG6	385 ± 21	361 ± 52
SG8	539 ± 43	259 ± 33
L3	339 ± 8	396 ± 13
L4	266 ± 6	918 ± 43
L5	326 ± 8	267 ± 5
L6	377 ± 36	388 ± 40
L7	572 ± 88	355 ± 30
Imatinib ^c	ND ^b	35 ± 4
Citarabina ^c	41 ± 8	ND

^aOs valores de IC₅₀ foram apresentados como médias ± desvio padrão (DP) de dois experimentos independentes; ^bNão determinado (ND); ^cControles positivos; ^dTHP-1, linhagem celular de leucemia monocítica aguda; ^eK-562, linhagem celular de leucemia mieloide crônica.

Todos os compostos testados apresentaram elevados valores de IC₅₀ (variando de 266 a 623 μM para as células THP-1 e 259 a 918 μM para as células K-562) quando comparados com os controles positivos Imatinibe (IC₅₀ = 35 ± 4, células K-562) e Citarabina (IC₅₀ = 41 ± 8, células THP-1). O composto que mostrou melhor atividade contra às células K-562 foi o triterpeno inédito **SG8** (IC₅₀ = 259 μM) e o mais ativo frente às células THP-1 foi o éster **L4** (IC₅₀ = 266).

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi descrito o fracionamento do sólido do extrato hexânico e do sobrenadante do extrato hexânico das folhas de *Salacia grandifolia*, bem como a síntese de oito derivados triterpênicos inéditos. Os compostos isolados e sintetizados foram caracterizados e tiveram suas atividades antiviral e antibacteriana avaliadas frente ao coronavírus murino, *S. aureus* e MRSA. Os compostos naturais e derivados também tiveram sua atividade citotóxica avaliada frente às linhagens celulares THP-1 e K-562 de leucemia.

O estudo fitoquímico das folhas de *S. grandifolia* resultou em oito triterpenos de esqueleto friedelano: friedelan-3-ona (**SG1**), friedelan-3 β -ol (**SG2**), friedelano-3,15-diona (**SG3**), 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SG4**), 28-hidroxifriedelan-3-ona (**SG5**), 30-hidroxifriedelan-3-ona (**SG6**), 29-hidroxifriedelan-3-ona (**SG7**) e 28-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SG8**). O composto **SG8** é inédito na literatura e corresponde a 4,46% do sólido do extrato hexânico. Os compostos majoritários considerando a soma das massas de **SEH** e **EH** foram a friedelina e o β -friedelinol, cujas massas isoladas correspondem a 2,41% e 1,69% da massa total do extrato. Também foi isolada uma quantidade expressiva da mistura de friedelina e β -friedelinol, correspondente a 3,92% da massa do extrato.

Foram sintetizados oito ésteres inéditos do friedelinol, sendo quatro do isômero α (**L1**, **L3**, **L5**, **L7**) e quatro do isômero β (**L2**, **L4**, **L6**, **L8**). Os ésteres foram preparados através da reação de Steglich com rendimentos variando de 12 a 98%.

Três extratos e todos os compostos isolados no estudo fitoquímico tiveram suas atividades antiviral e antimicrobiana avaliadas. O canofilol (**SG5**) apresentou elevada atividade contra o coronavírus murino e baixa citotoxicidade contra as células saudáveis (L929). O composto inédito 28-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SG8**) apresentou atividade antiviral moderada e baixa citotoxicidade. Os extratos hexânico (**EH**) e acetato etílico (**EAE**) apresentaram baixa atividade antiviral. Nenhum dos compostos testados apresentou atividade antibacteriana. Os compostos testados apresentaram baixa atividade citotóxica contra as linhagens de células de leucemia.

Como perspectivas desse trabalho, visa-se realizar cálculos teóricos a fim de estudar a reatividade dos isômeros do friedelinol frente a ácidos carboxílicos aromáticos, bem como a avaliação da atividade anticolinesterásica dos compostos isolados e sintetizados.

Referências

- ALHADRAMI, H. A.; SAYED, A. M.; SHARIF, A. M.; AZHAR, E. I.; RATEB, M. E. Olive-derived triterpenes suppress sars cov-2 main protease: A promising scaffold for future therapeutics. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 1–9, 2021.
- ANDRADE, A. C. DOS S. P.; CAMPOLINA-SILVA, G. H.; QUEIROZ-JUNIOR, C. M.; OLIVEIRA, L. C. DE; LACERDA, L. DE S. B.; GAGGINO, J. C. P.; SOUZA, F. R. O. DE; CHAVES, I. DE M.; PASSOS, I. B.; TEIXEIRA, D. C.; BITTENCOURT-SILVA, P. G.; VALADÃO, P. A. C.; ROSSI-OLIVEIRA, L.; ANTUNES, M. M.; FIGUEIREDO, A. F. A.; DURÃES-CARVALHO, R.; ARNS, C. W.; GUIMARÃES, P. P. G.; COSTA, G. M. J.; et al. A Biosafety Level 2 Mouse Model for Studying Betacoronavirus-Induced Acute Lung Damage and Systemic Manifestations. **Journal of Virology**, v. 95, n. 22, p. 1–18, 2021.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; ORHAN, I. E.; BANACH, M.; ROLLINGER, J. M.; BARRECA, D.; WECKWERTH, W.; BAUER, R.; BAYER, E. A.; MAJEED, M.; BISHAYEE, A.; BOCHKOV, V.; BONN, G. K.; BRAIDY, N.; BUCAR, F.; CIFUENTES, A.; D'ONOFRIO, G.; BODKIN, M.; et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200–216, 2021.
- BARBOSA, F. DOS R.; SCABBIA, R. J. DE A. Levantamento fitossociológico em um fragmento florestal no centro de referência socioambiental Mata Atlântica, Mogi das Cruzes, SP. **Revista Científica UMC**, , n. 2012, p. 1–3, 2019.
- BASYUNI, M.; OKU, H.; TSUJIMOTO, E.; KINJO, K.; BABA, S.; TAKARA, K. Triterpene synthases from the Okinawan mangrove tribe, Rhizophoraceae. **FEBS Journal**, v. 274, n. 19, p. 5028–5042, 2007.
- BERGMAN, M. E.; DAVIS, B.; PHILLIPS, M. A. Medically useful plant terpenoids: Biosynthesis, occurrence, and mechanism of action. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 1–23, 2019.

BERNARDINI, S.; TIEZZI, A.; MASCI, V. L.; OVIDI, E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural Product Research**, v. 32, n. 16, p. 1926–1950, 2018. Taylor & Francis.

BONACCORSI, I.; ALTIERI, F.; SCIAMANNA, I.; ORICCHIO, E.; GRILLO, C.; CONTARTESE, G.; GALATI, E. M. Endogenous reverse transcriptase as a mediator of ursolic acid's anti-proliferative and differentiating effects in human cancer cell lines. **Cancer Letters**, v. 263, n. 1, p. 130–139, 2008.

BROOKES, M. E.; ELDABE, S.; BATTERHAM, A. Ziconotide Monotherapy: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials. **Current Neuropharmacology**, v. 15, n. 2, p. 217–231, 2016.

BUSTA, L.; SERRA, O.; KIM, O. T.; MOLINAS, M.; PERÉ-FOSSOUL, I.; FIGUERAS, M.; JETTER, R. Oxidosqualene cyclases involved in the biosynthesis of triterpenoids in *Quercus suber* cork. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

CALLIES, O.; BEDOYA, L. M.; BELTRÁN, M.; MUÑOZ, A.; CALDERÓN, P. O.; OSORIO, A. A.; JIMÉNEZ, I. A.; ALCAMÍ, J.; BAZZOCCHI, I. L. Isolation, structural modification, and HIV inhibition of pentacyclic lupane-type triterpenoids from *Cassia xylocarpa* and *Maytenus cuzcoina*. **Journal of Natural Products**, v. 78, n. 5, p. 1045–1055, 2015.

CAMARGO, K. C.; DE AGUILAR, M. G.; MORAES, A. R. A.; DE CASTRO, R. G.; SZCZERBOWSKI, D.; MIGUEL, E. L. M.; OLIVEIRA, L. R.; DE SOUSA, G. F.; VIDAL, D. M.; DUARTE, L. P. Pentacyclic Triterpenoids Isolated from Celastraceae: A Focus in the ^{13}C -NMR Data. **Molecules**, v. 27, n. 3, 2022.

CARMICHAEL, J.; DEGRAFF, W. G.; GAZDAR, A. F.; MINNA, J. D.; MITCHELL, J. B. Evaluation of a Tetrazolium-based Semiautomated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing. **Cancer Research**, v. 47, n. 4, p. 936–942, 1987.

CARROLL, A. R.; COPP, B. R.; DAVIS, R. A.; KEYZERS, R. A.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 38, n. 2, p. 362–413, 2021.

CINATL, J.; MORGENSTERN, B.; BAUER, G.; CHANDRA, P.; RABENAU, H.; DOERR, H. W. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. **Lancet**, v. 361, n. 9374, p. 2045–2046, 2003.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural Products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2014.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products - A biosynthetic approach**. 3^o ed. John Wiley & Sons, Ltd, 2009.

ENDO, A. Discovery and development of statins. **Natural Product Communications**, v. 12, n. 8, p. 1153–1156, 2017.

FERREIRA, F. L.; HAUCK, M. S.; DUARTE, L. P.; MAGALHÃES, J. DE C.; SILVA, L. S. M.; PIMENTA, L. P. S.; LOPES, J. C. D.; SIMÕES, M. O. M.; FILHO, S. A. V. Zika Virus Activity of the Leaf and Branch Extracts of *Tontelea mocrantha* and its Hexane Extracts Phytochemical Study. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 30, n. 4, p. 793–803, 2019.

GHOSH, S. Triterpene structural diversification by plant cytochrome P450 enzymes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. November, p. 1–15, 2017.

GOMES, N. G. M.; OLIVEIRA, A. P.; CUNHA, D.; PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; PINTO, E.; ARAÚJO, L.; ANDRADE, P. B. Flavonoid composition of *Salacia senegalensis* (Lam.) DC. Leaves, evaluation of antidermatophytic effects, and potential amelioration of the associated inflammatory response. **Molecules**, v. 24, n. 14, 2019.

GUO, Z. The modification of natural products for medical use. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 7, n. 2, p. 119–136, 2017.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006.

HONDA, T.; FINLAY, H. J.; GRIBBLE, G. W.; SUH, N.; SPORN, M. B. New enone derivatives of oleanolic acid and ursolic acid as inhibitors of nitric oxide production in mouse macrophages. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 7, n. 13, p. 1623–1628, 1997.

HUANG, L.; HU, Y.; HUANG, R.; CHEN, J.; ZHANG, X.; YUE, J.; FENG, L.; SHE, Y.; JI, A.; ZHENG, Y.; LIU, Z.; ZHANG, R.; DUAN, L. Oxidosqualene Cyclases Involved in the Biosynthesis of Diverse Triterpenes in *Camellia sasanqua*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, n. 26, p. 8075–8084, 2022.

IMRIE, C.; ELAGO, E. R. T.; MCCLELAND, C. W.; WILLIAMS, N. Esterification reactions in ionic liquids. The efficient synthesis of ferrocenyl esters in the ionic liquids [bmim][BF₄] and [bmim][PF₆]. **Green Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 159–160, 2002.

JIMENEZ, P. C.; WILKE, D. V.; BRANCO, P. C.; BAUERMEISTER, A.; REZENDE-TEIXEIRA, P.; GAUDÊNCIO, S. P.; COSTA-LOTUFO, L. V. Enriching cancer pharmacology with drugs of marine origin. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 1, p. 3–27, 2020.

JORDAN, A.; WHYMARK, K. D.; SYDENHAM, J.; SNEDDON, H. F. A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids. **Green Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 6405–6413, 2021. Royal Society of Chemistry.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, p. 377–392, 2014.

KGK, D.; NEELAPU, N. R. R.; CHALLA, S. Role of Antidiabetic Compounds on Glucose Metabolism – A Special Focus on Medicinal Plant: *Salacia* sps. **Medicinal Chemistry**, v. 04, n. 03, 2014.

KHUSNUTDINOVA, E. F.; PETROVA, A. V.; APRYSHKO, G. N.; KUKOVINETS, O. S.; KAZAKOVA, O. B. Synthesis and Cytotoxicity of Indole Derivatives of Betulin, Erythrodiol, and Uvaol. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 322–329, 2018.

KHWAZA, V.; MLALA, S.; OYEDEJI, O. O.; ADERIBIGBE, B. A. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen-containing heterocyclic moiety, privileged hybrids in anticancer drug discovery. **Molecules**, v. 26, n. 9, 2021.

KHWAZA, V.; OYEDEJI, O. O.; ADERIBIGBE, B. A. Antiviral activities of oleanolic acid and its analogues. **Molecules**, v. 23, n. 9, 2018.

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. Friedelane Triterpenoids from *Peritassa compta*: Complete ¹H and ¹³C Assignments by 2d NMR Spectroscopy. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 11, p. 16262–1630, 1992.

KRÓL, S. K.; KIEŁBUS, M.; RIVERO-MÜLLER, A.; STEPULAK, A. Comprehensive review on betulin as a potent anticancer agent. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

KRUNGKRAI, J.; KRUNGKRAI, S. R. Antimalarial qinghaosu/artemisinin: The therapy worthy of a Nobel Prize. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 371–375, 2016. Elsevier B.V.

LI, Y. Z.; LI, Z. L.; YIN, S. L.; SHI, G.; LIU, M. S.; JING, Y. K.; HUA, H. M. Triterpenoids from *Calophyllum inophyllum* and their growth inhibitory effects on human leukemia HL-60 cells. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 586–589, 2010.

LIU, Y.; YANG, L.; WANG, H.; XIONG, Y. Recent Advances in Antiviral Activities of

Triterpenoids. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, p. 1169, 2022.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids - A Compilation and Some Salient Features. **Science**, v. 37, n. 6, p. 1517–1575, 1994.

MAJHI, S.; DAS, D. Chemical derivatization of natural products: Semisynthesis and pharmacological aspects- A decade update. **Tetrahedron**, v. 78, p. 131801, 2021. Elsevier Ltd.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55–63, 1983.

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.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEN, M. Antitumor and Antiviral Activity of Pentacyclic Triterpenes. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 262–268, 2014.

PARK, B. C.; BOSIRE, K. O.; LEE, E. S.; LEE, Y. S.; KIM, J. A. Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells. **Cancer Letters**, v. 218, n. 1, p. 81–90, 2005.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to spectroscopy**. Fifth ed. Bellingham: Cengage, 2013.

REES, H. H.; MERCER, E. I.; GOODWIN, T. W. The stereospecific biosynthesis of plant sterols and alpha- and beta-amyrin. **The Biochemical journal**, v. 99, n. 3, p. 726–734, 1966.

RODRIGUES, A. C. B. DA C.; OLIVEIRA, F. P.; DIAS, R. B.; SALES, C. B. S.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; COSTA, E. V.; SILVA, F. M. A.; 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, n. July 2018, p. 516–524, 2019. Elsevier Ireland Ltd.

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. Elsevier Masson SAS.

SALVADOR, J. A. R.; MOREIRA, V. M.; GONÇALVES, B. M. F.; LEAL, A. S.; JING, Y. Ursane-type pentacyclic triterpenoids as useful platforms to discover anticancer drugs. **Natural product reports**, v. 29, n. 12, p. 1463–1479, 2012.

SANTOS, J. P. DOS; COELHO, W. X. O.; VIEIRA-FILHO, S. A.; PEREIRA, R. C. G.; SOUSA, G. F. DE; GOUVEIA, 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). **Química Nova**, v. 43, n. 5, p. 558–567, 2020.

SHENG, H.; SUN, H. Synthesis, biology and clinical significance of pentacyclic triterpenes: a multi-target approach to prevention and treatment of metabolic and vascular diseases. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 3, p. 543–593, 2011.

SHI, W.; TANG, N.; YAN, W.-D. Synthesis and cytotoxicity of triterpenoids derived from betulin and betulinic acid via click chemistry. **Journal of Asian Natural Products**, , n. November 2014, p. 37–41, 2014.

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.

SOUSA, G. F. D.; AGUILAR, M. G. D.; DIAS, D. F.; TAKAHASHI, J. A.; MOREIRA, M. E. C.; VIEIRA FILHO, S. A.; SILVA, G. D. F.; RODRIGUES, S. B. V.; MESSIAS, M. C. T. B.; DUARTE, L. P. Anti-inflammatory, antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of friedelanes from *Maytenus robusta* branches and isolation of further triterpenoids. **Phytochemistry Letters**, v. 21, n. March, p. 61–65, 2017. Elsevier.

STEPHENSON, M. J.; FIELD, R. A.; OSBOURN, A. The protosteryl and dammarenyl cation dichotomy in polycyclic triterpene biosynthesis revisited: Has this “rule” finally been broken? **Natural Product Reports**, v. 36, n. 8, p. 1044–1052, 2019. Royal Society of Chemistry.

TANACHATCHAIRATANA, T.; BREMNER, J. B.; CHOKCHASIRI, R.; SUKSAMRARN, A. Antimycobacterial activity of cinnamate-based esters of the triterpenes betulinic, oleanolic and ursolic acids. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, n. 2, p. 194–198, 2008.

THENGYAI, S.; THIANONGIN, P.; SONTIMUANG, C.; OVATLARNPORN, C.; PUTTARAK, P. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of medicinal plants in Thai antidiabetic recipes and bioactive compounds from *Vitex glabrata* R. Br. stem bark. **Journal of Herbal Medicine**, v. 19, n. April 2017, p. 100302, 2020. Elsevier.

THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 225–257, 2014.

TRIPATHI, V. C.; SATISH, S.; HORAM, S.; RAJ, S.; LAL, A.; AROCKIARAJ, J.; PASUPULETI, M.; DIKSHIT, D. K. Natural products from polar organisms: Structural diversity, bioactivities and potential pharmaceutical applications. **Polar Science**, v. 18, n. January, p. 147–166, 2018. Elsevier.

VENKATESHA, S. H.; DUDICS, S.; ASTRY, B.; MOUDGIL, K. D. Control of autoimmune inflammation by celastrol, a natural triterpenoid. **Pathogens and Disease**, v. 74, n. 6, p. 1–12, 2016.

WANDERLEY, M. DAS G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Fapesp: RiMa, 2003.

WHO. Cancer. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 15/11/2022.

XAVIER, C. P. R.; LIMA, C. F.; PRETO, A.; SERUCA, R.; FERNANDES-FERREIRA, M.; PEREIRA-WILSON, C. Luteolin, quercetin and ursolic acid are potent inhibitors of proliferation and inducers of apoptosis in both KRAS and BRAF mutated human colorectal cancer cells. **Cancer Letters**, v. 281, n. 2, p. 162–170, 2009. Elsevier Ireland Ltd.

XIAO, S.; TIAN, Z.; WANG, Y.; SI, L.; ZHANG, L.; ZHOU, D. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. **Medicinal Research Reviews**, v. 38, n. 3, p. 951–976, 2018.

XU, B.; CHU, F.; ZHANG, Y.; WANG, X.; LI, Q.; LIU, W.; XU, X.; XING, Y.; CHEN, J.; WANG, P.; LEI, H. A series of new ligustrazine-triterpenes derivatives as anti-tumor agents: Design, synthesis, and biological evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 21035–21055, 2015.

YAO, H.; LIU, J.; XU, S.; ZHU, Z.; XU, J. The structural modification of natural products for novel drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 12, n. 2, p. 121–140, 2017. Taylor & Francis.

ZYAD, A.; LEOUIFOUDI, I.; TILAOUI, M.; MOUSE, H. A.; KHOUCHANI, M.; JAAFARI, A. Natural Products as Cytotoxic Agents in Chemotherapy against Cancer. **Cytotoxicity**. p.65, 2018.

APÊNDICE A – ESPECTROS DOS PRODUTOS DE FITOQUÍMICA

Figura 30 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG1**

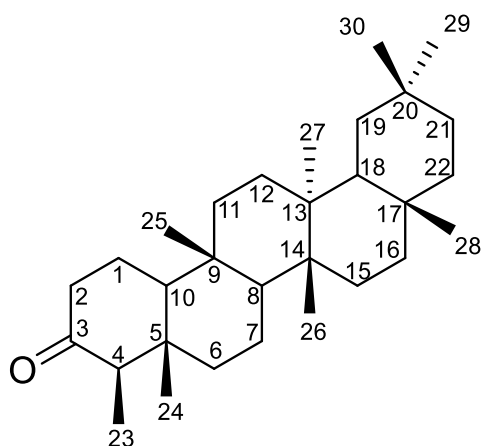
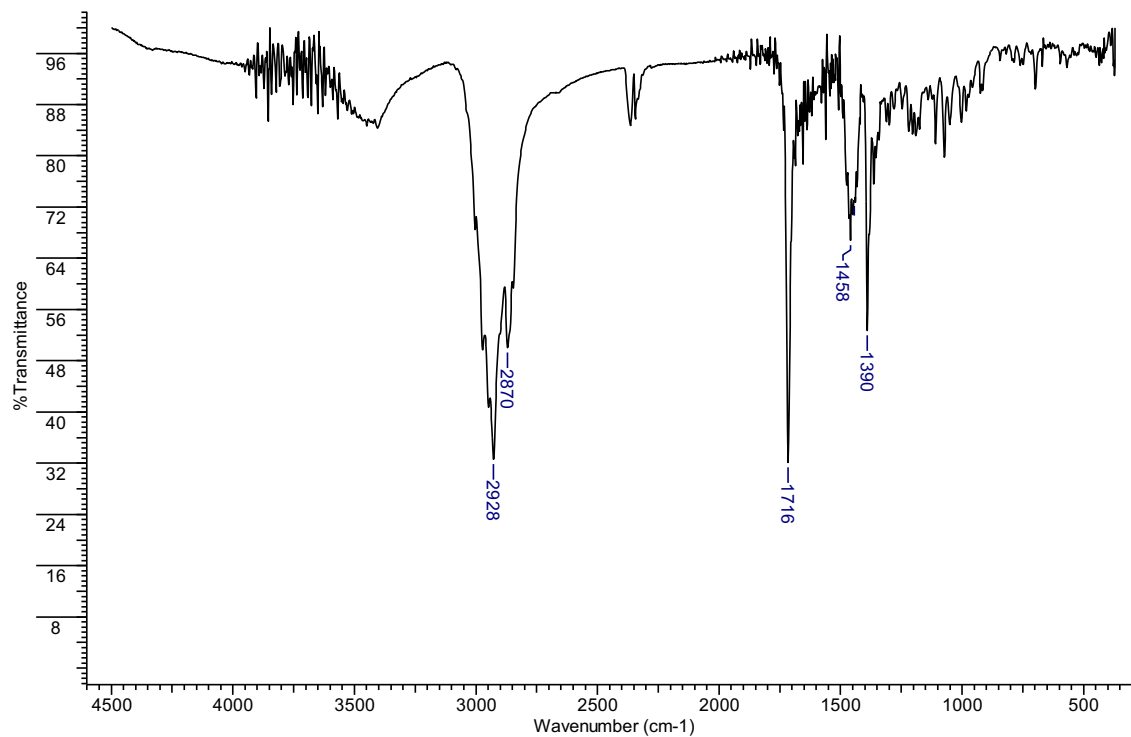


Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de **SG1**

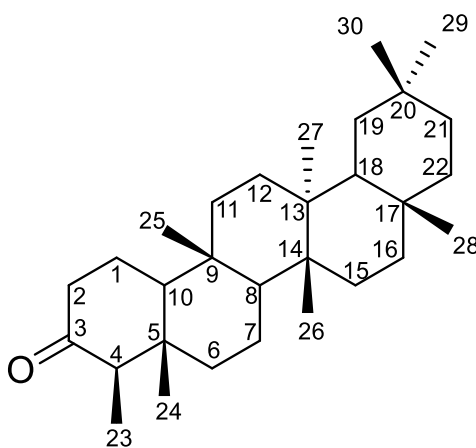
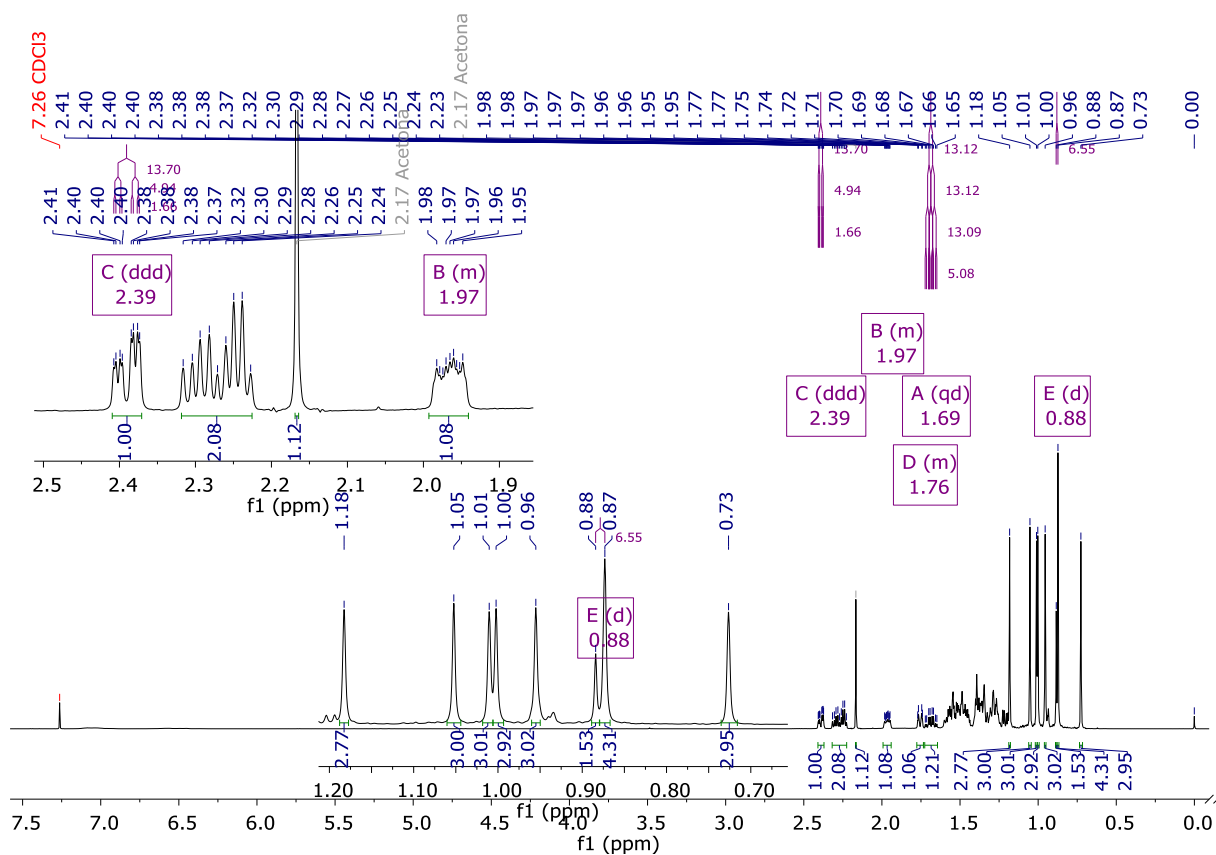


Figura 32 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG1**

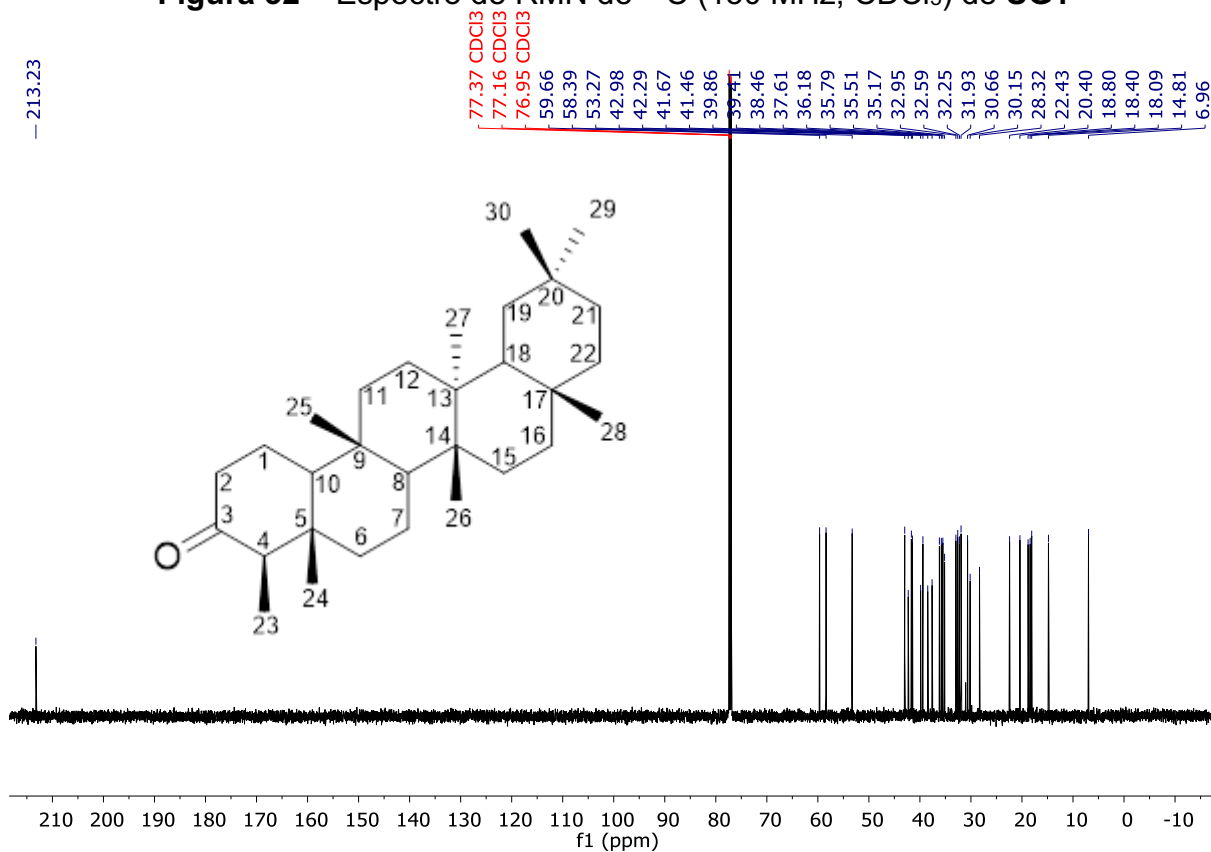


Figura 33 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG1**

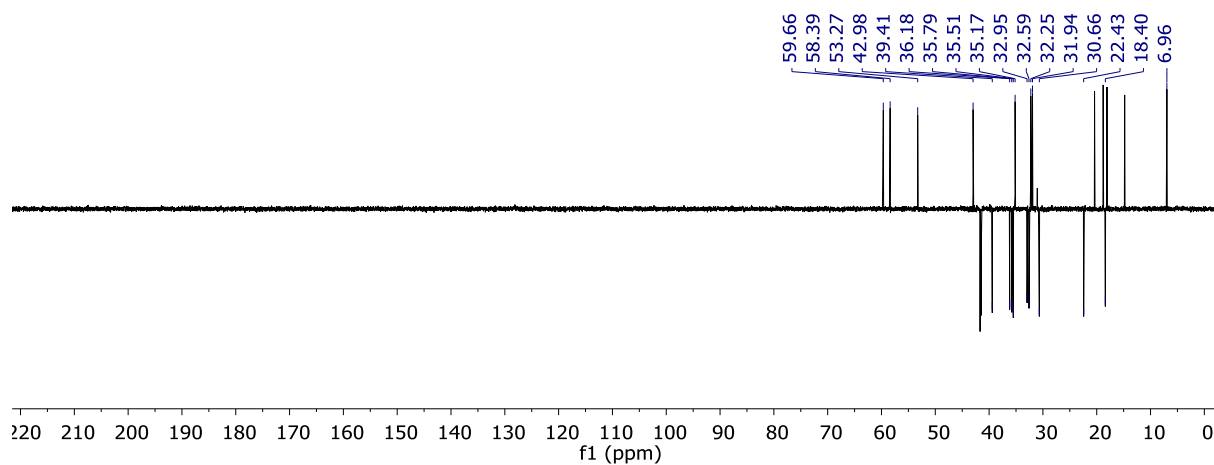


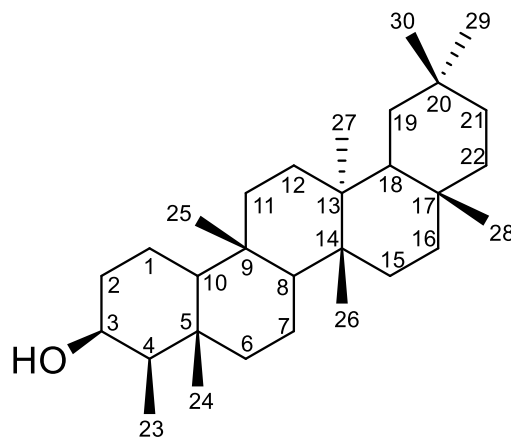
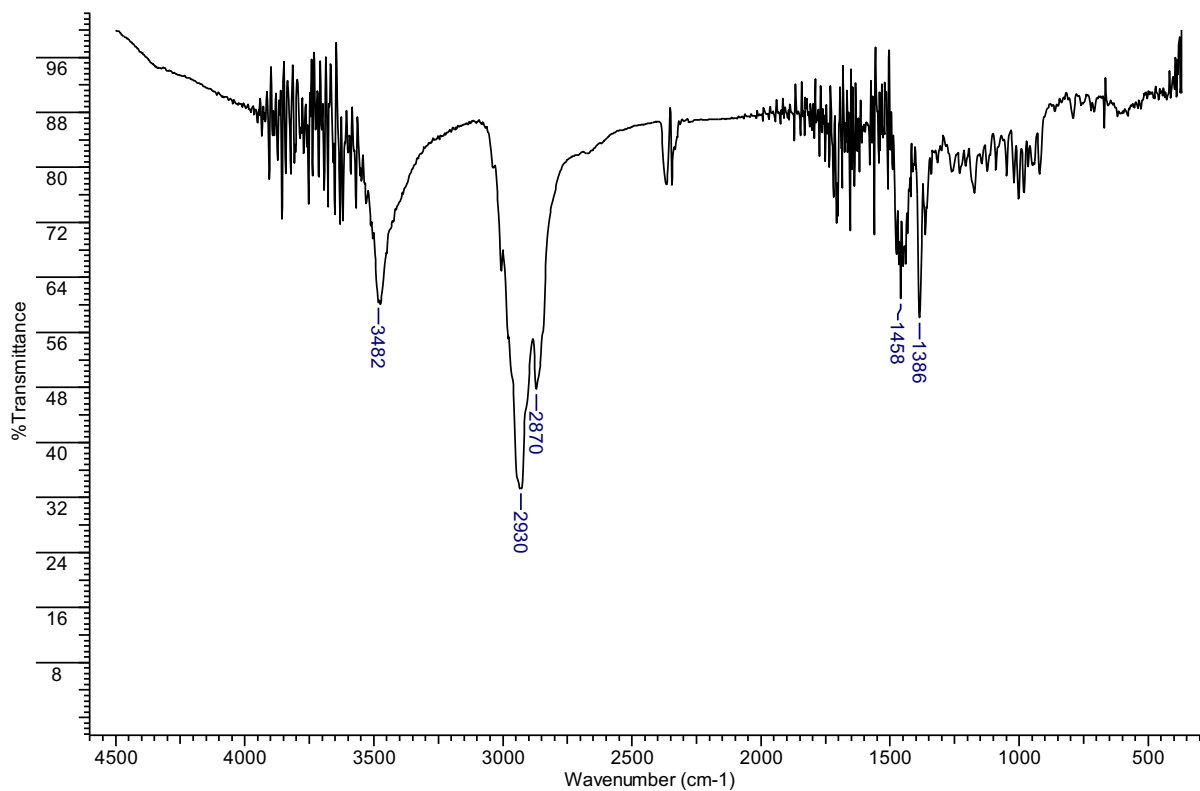
Figura 34 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG2**

Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de **SG2**

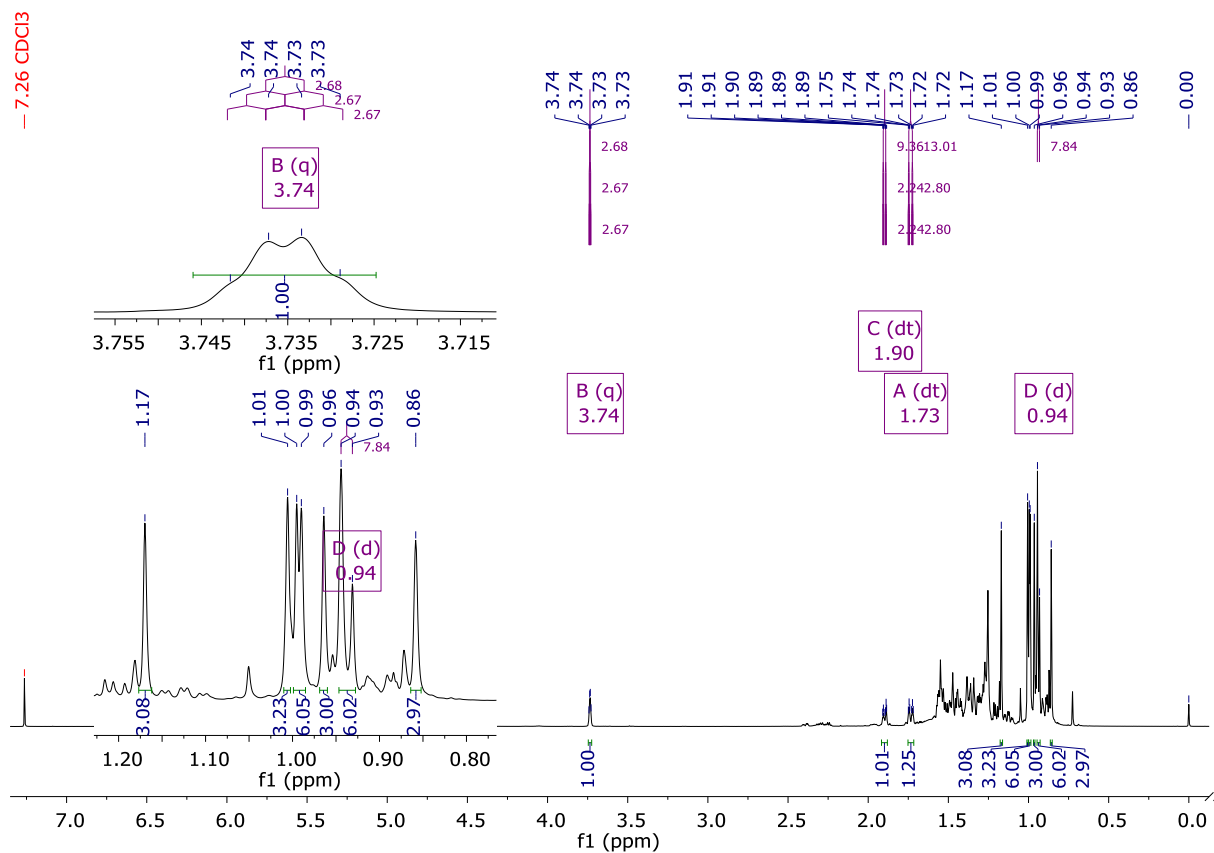


Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG2**

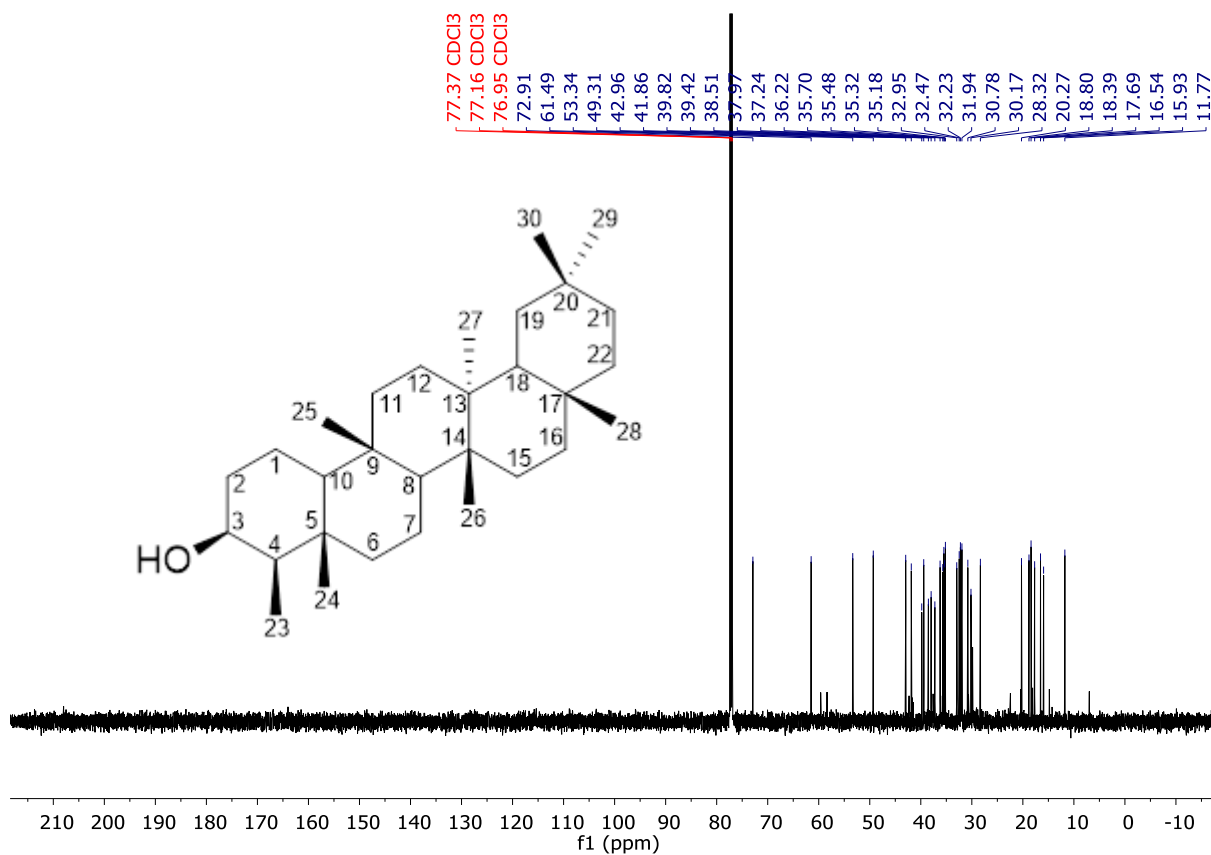


Figura 37 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG2**

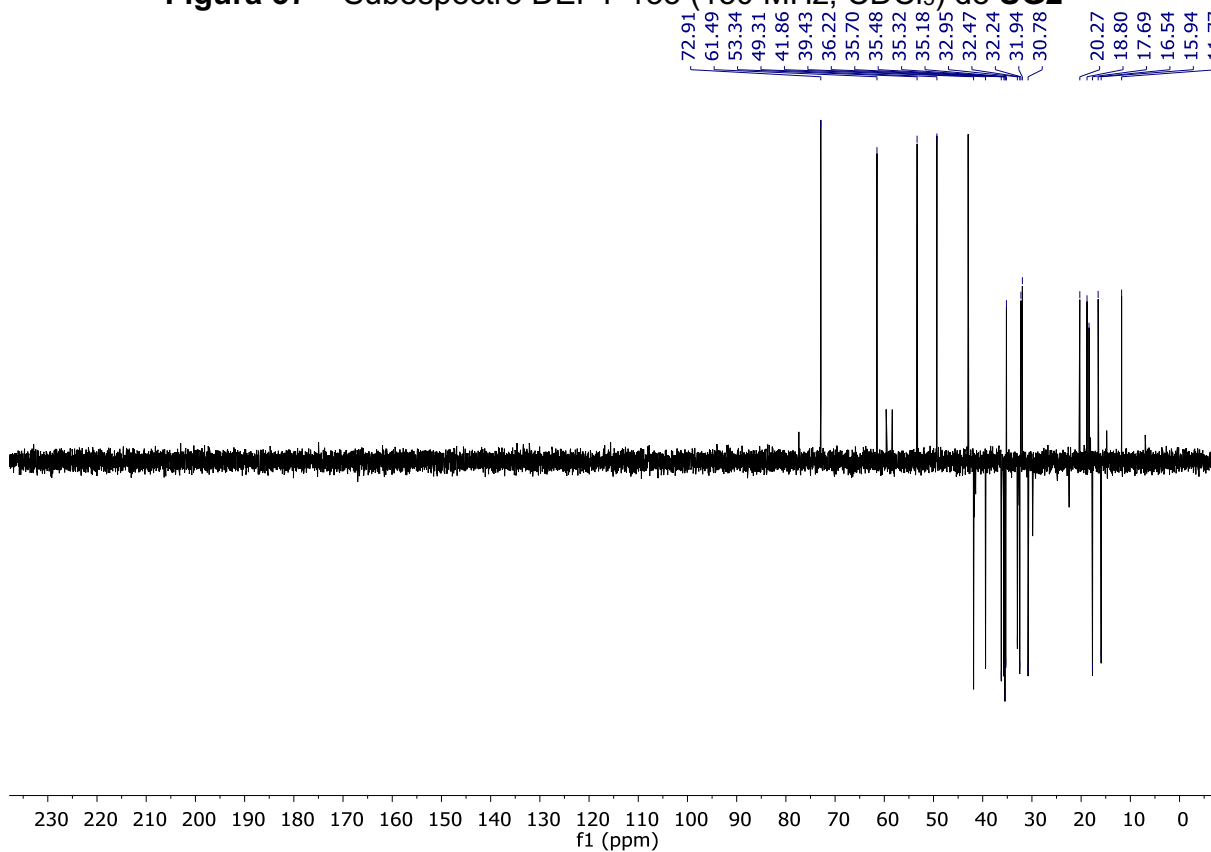


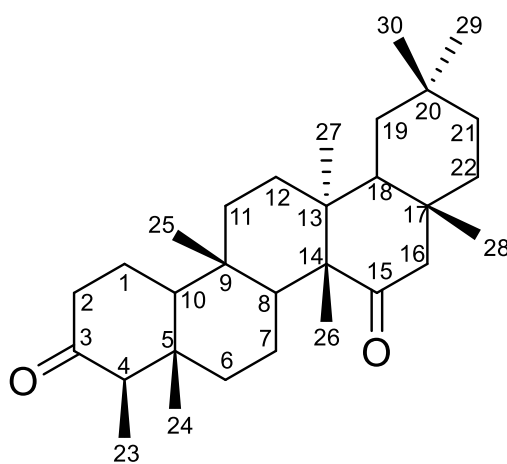
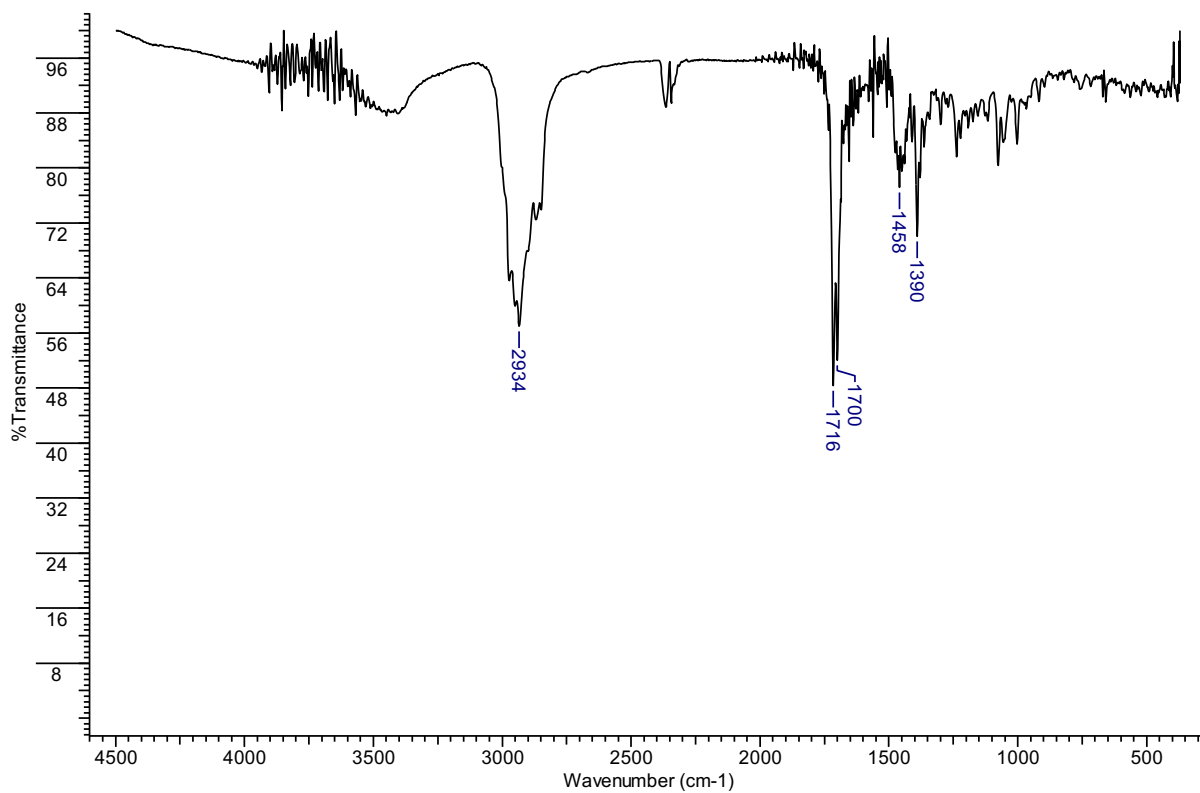
Figura 38 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG3**

Figura 39 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **SG3**

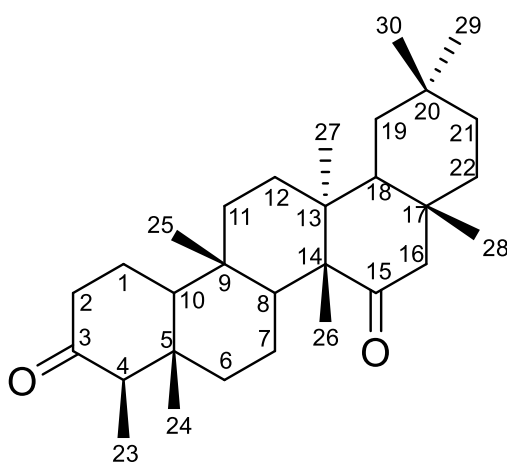
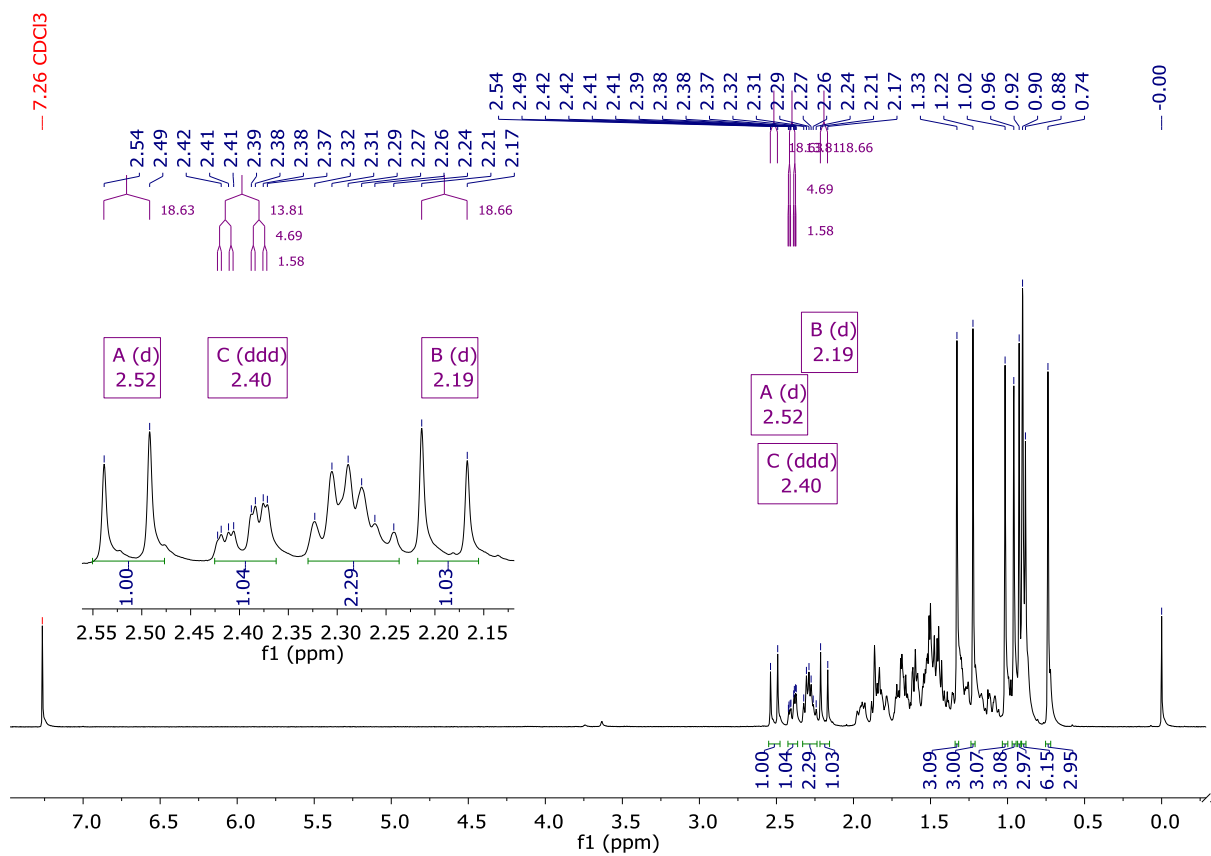


Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **SG3**

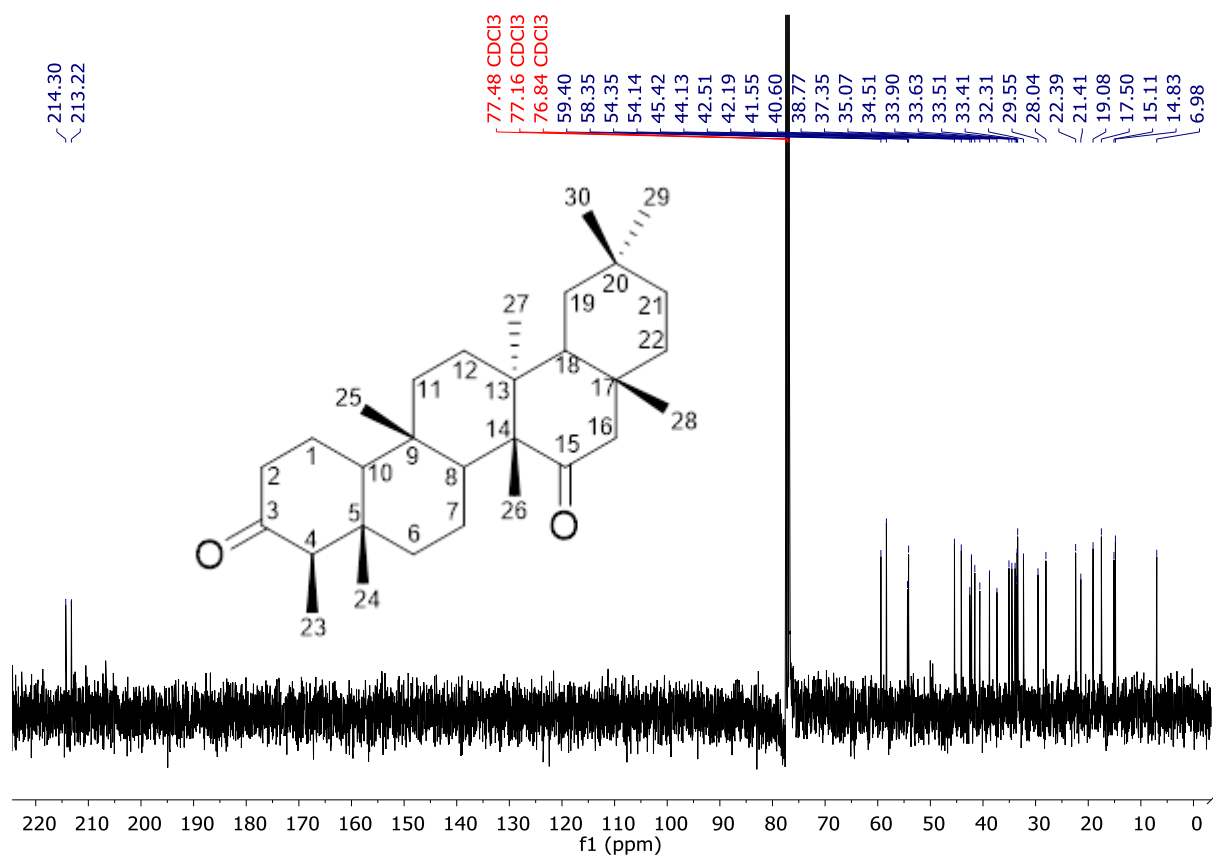


Figura 41 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de **SG3**

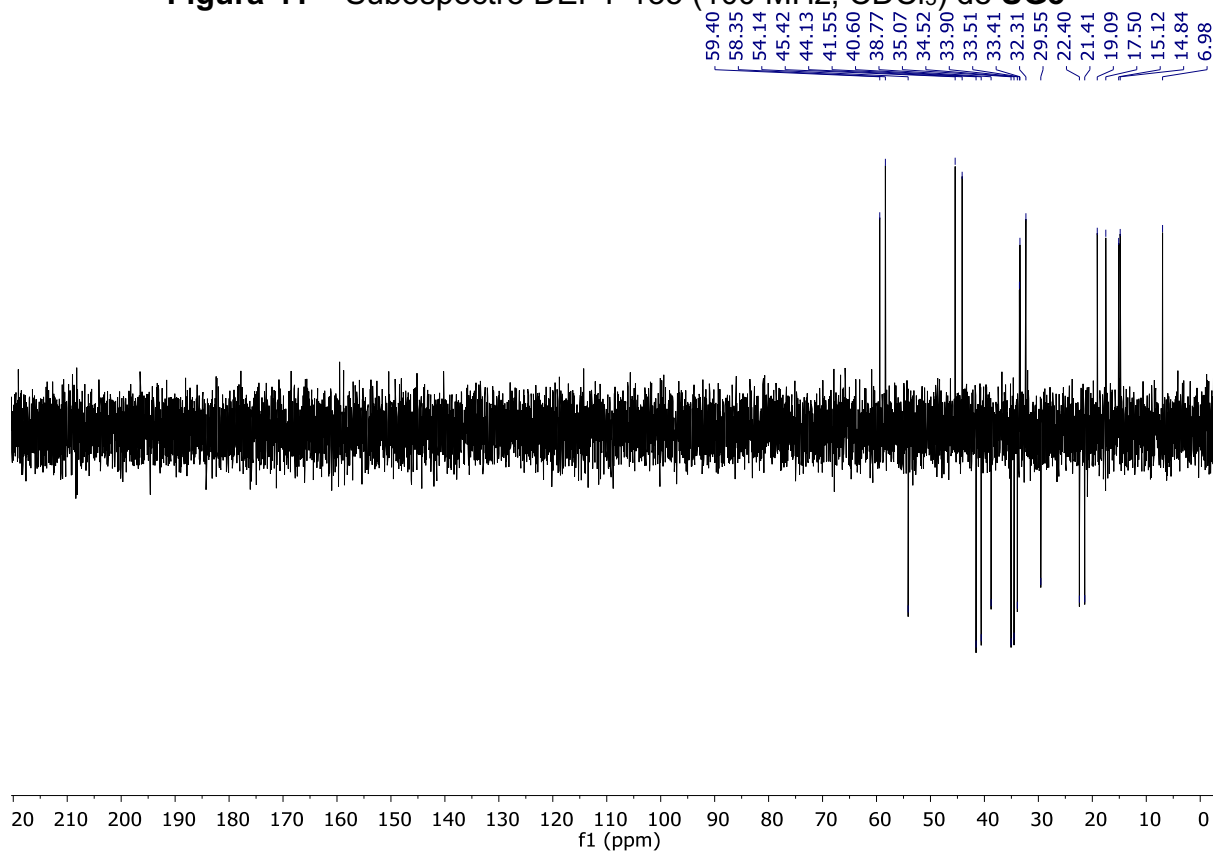


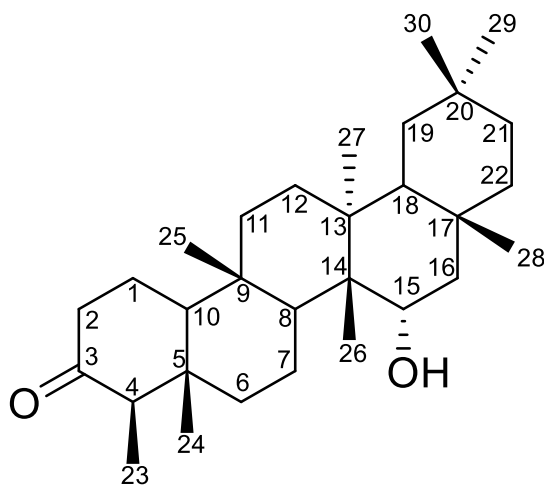
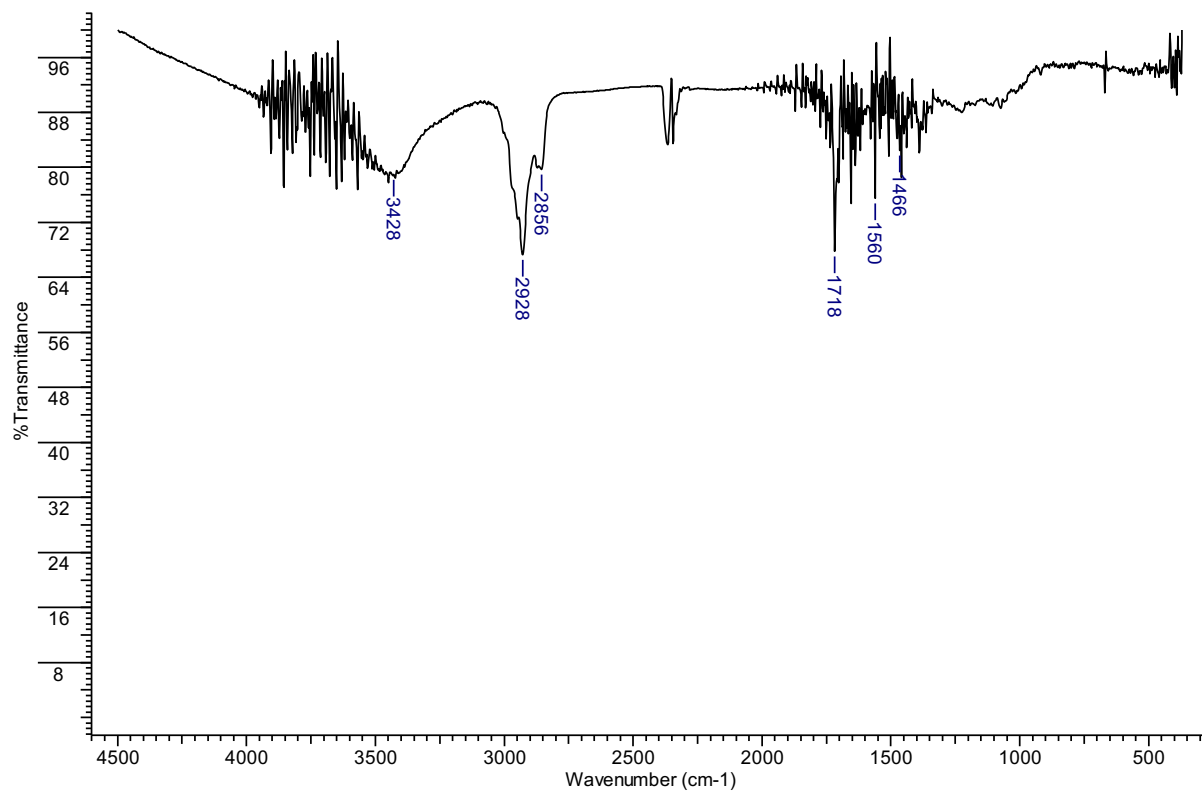
Figura 42 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG4**

Figura 43 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de **SG4**

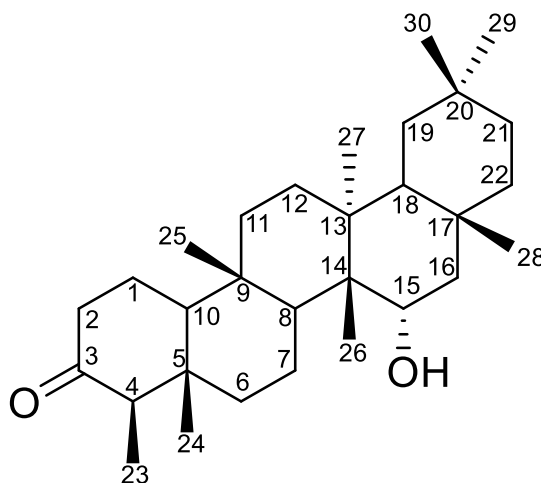
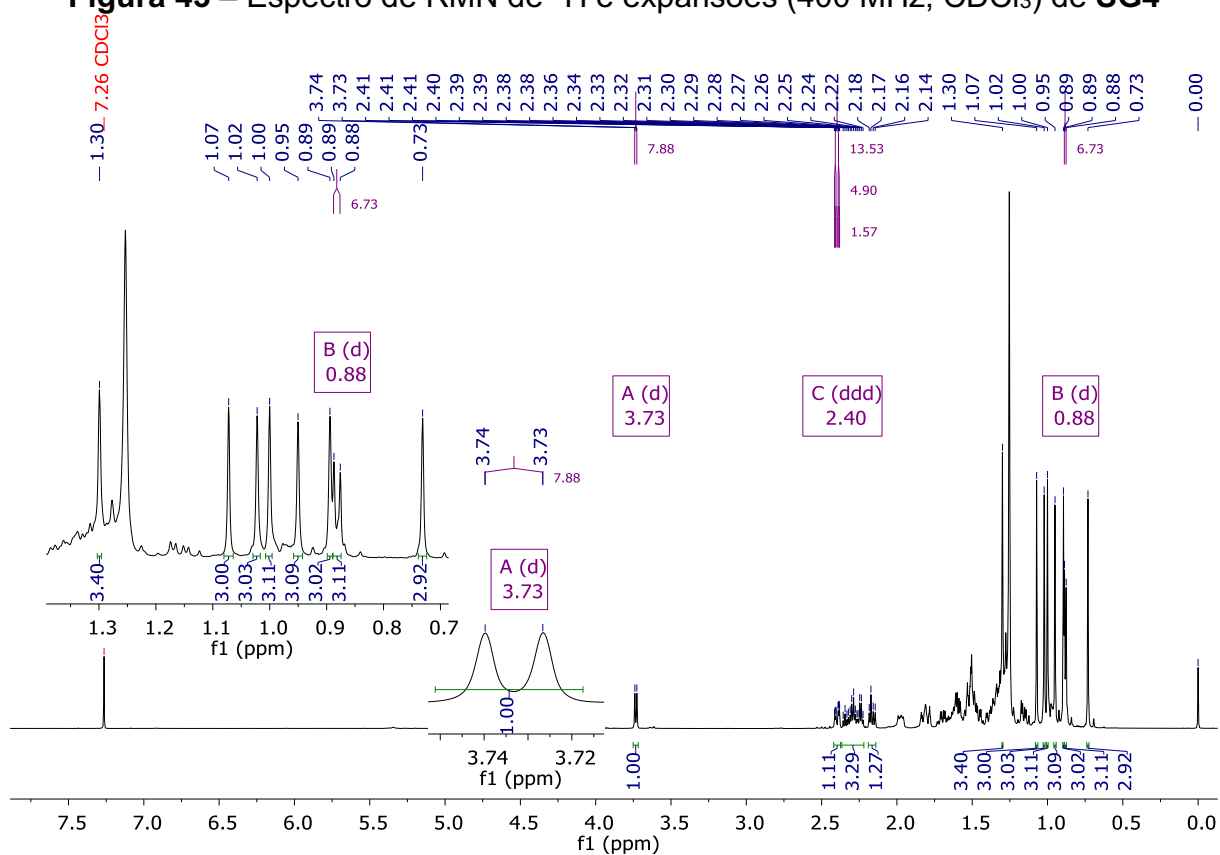


Figura 44 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **SG4**

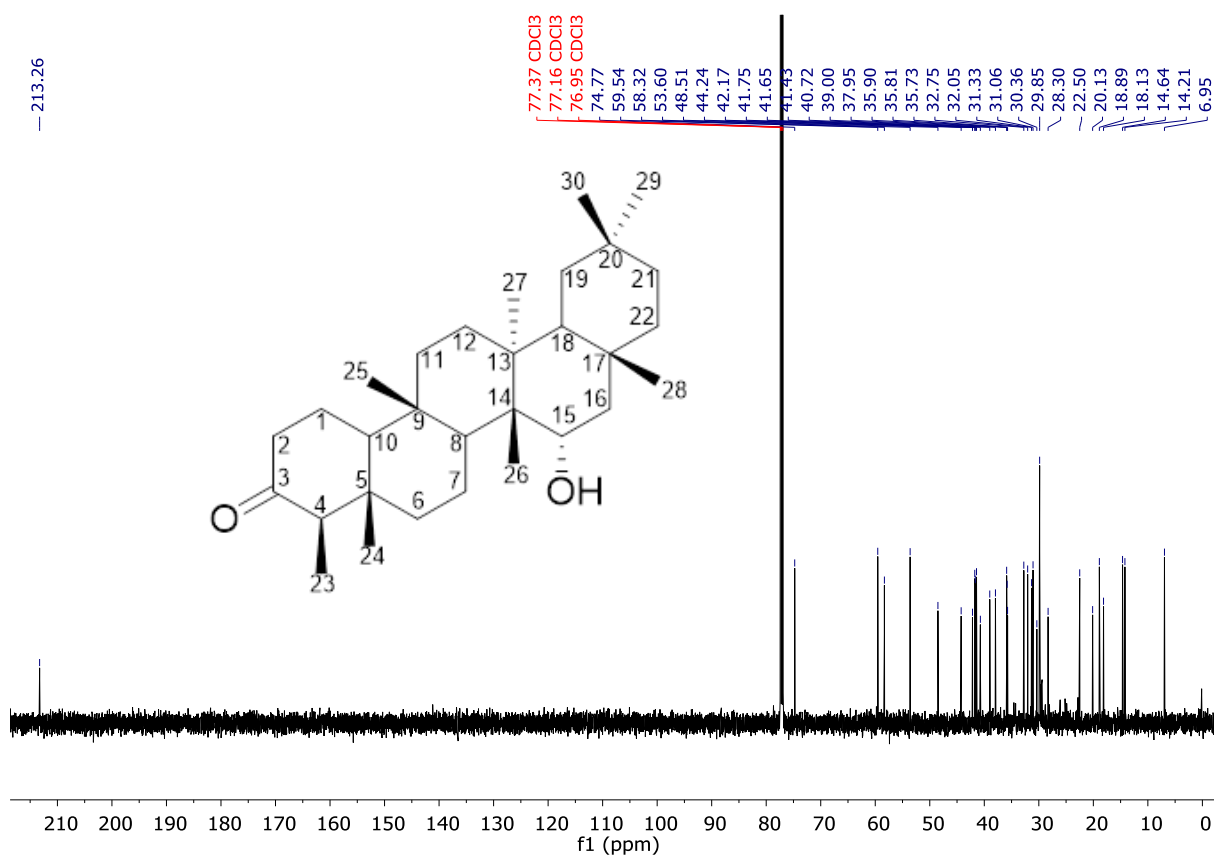


Figura 45 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de **SG4**

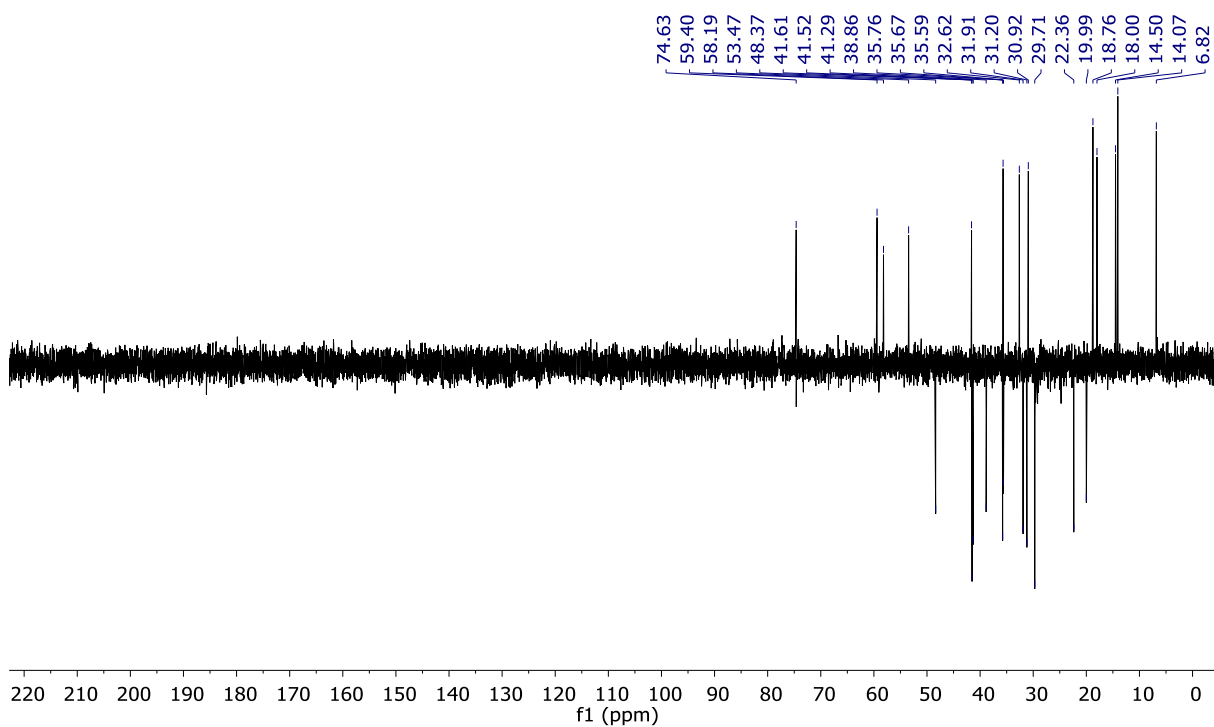


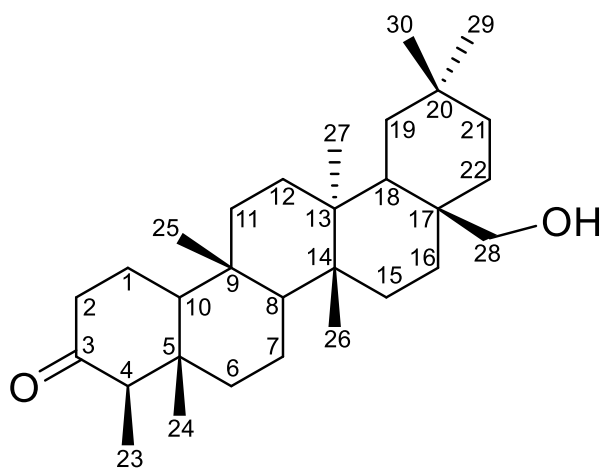
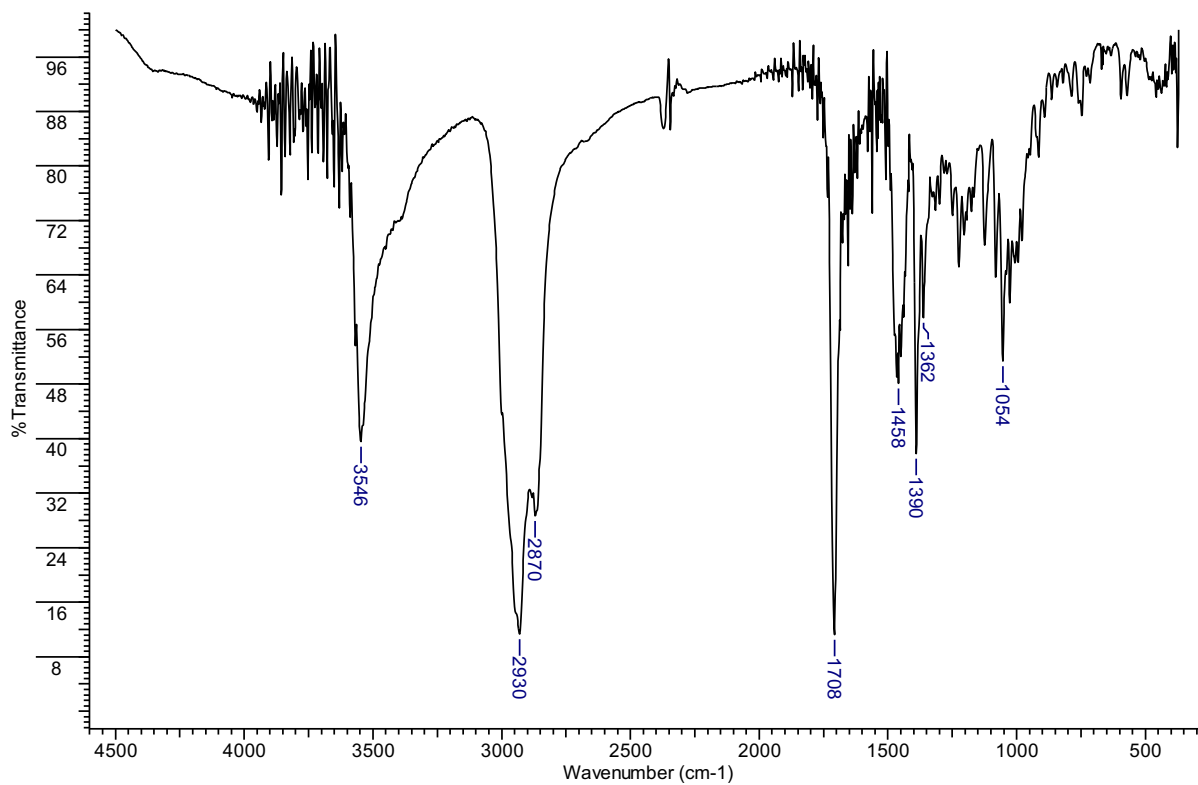
Figura 46 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG5**

Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de **SG5**

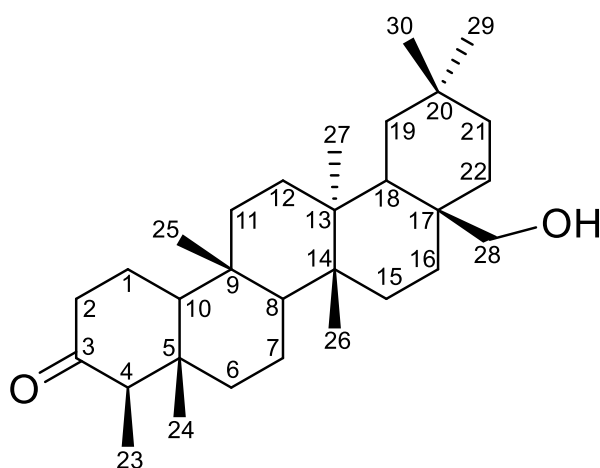
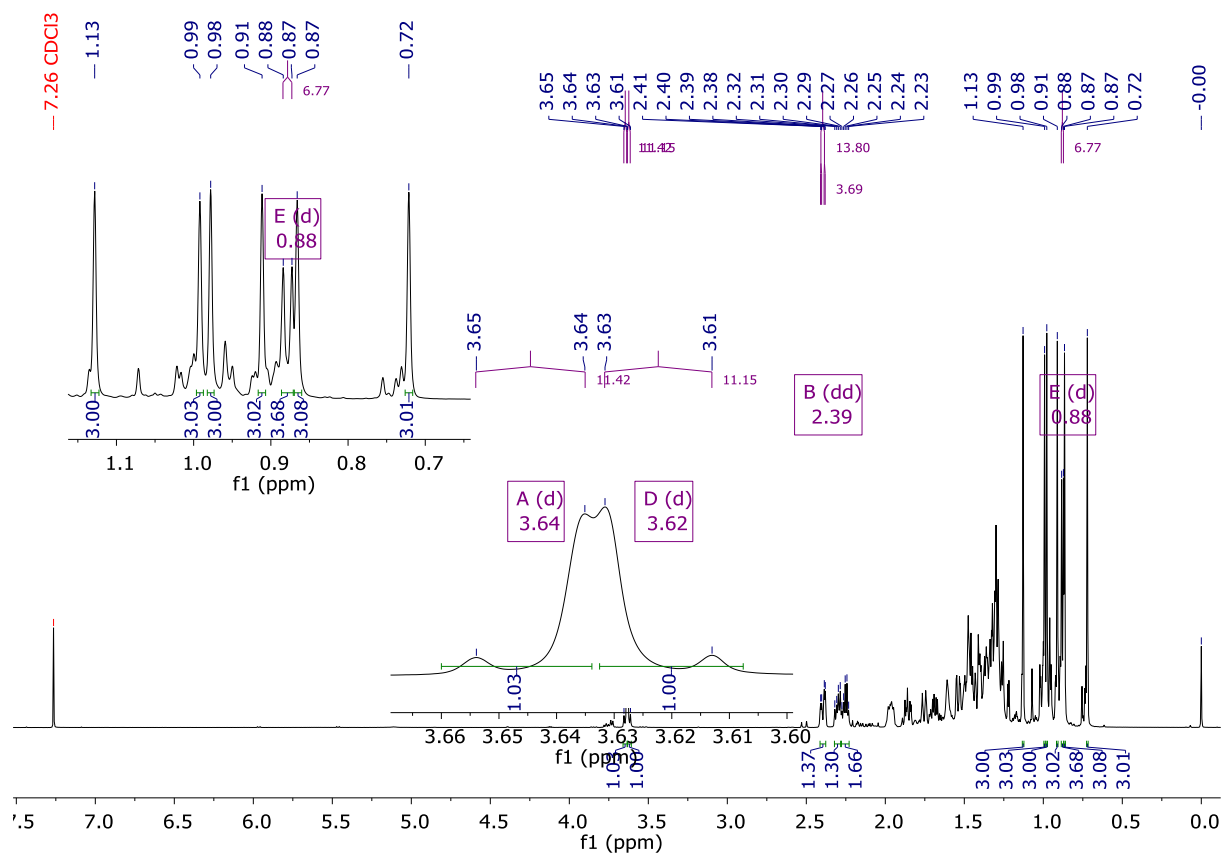


Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG5**

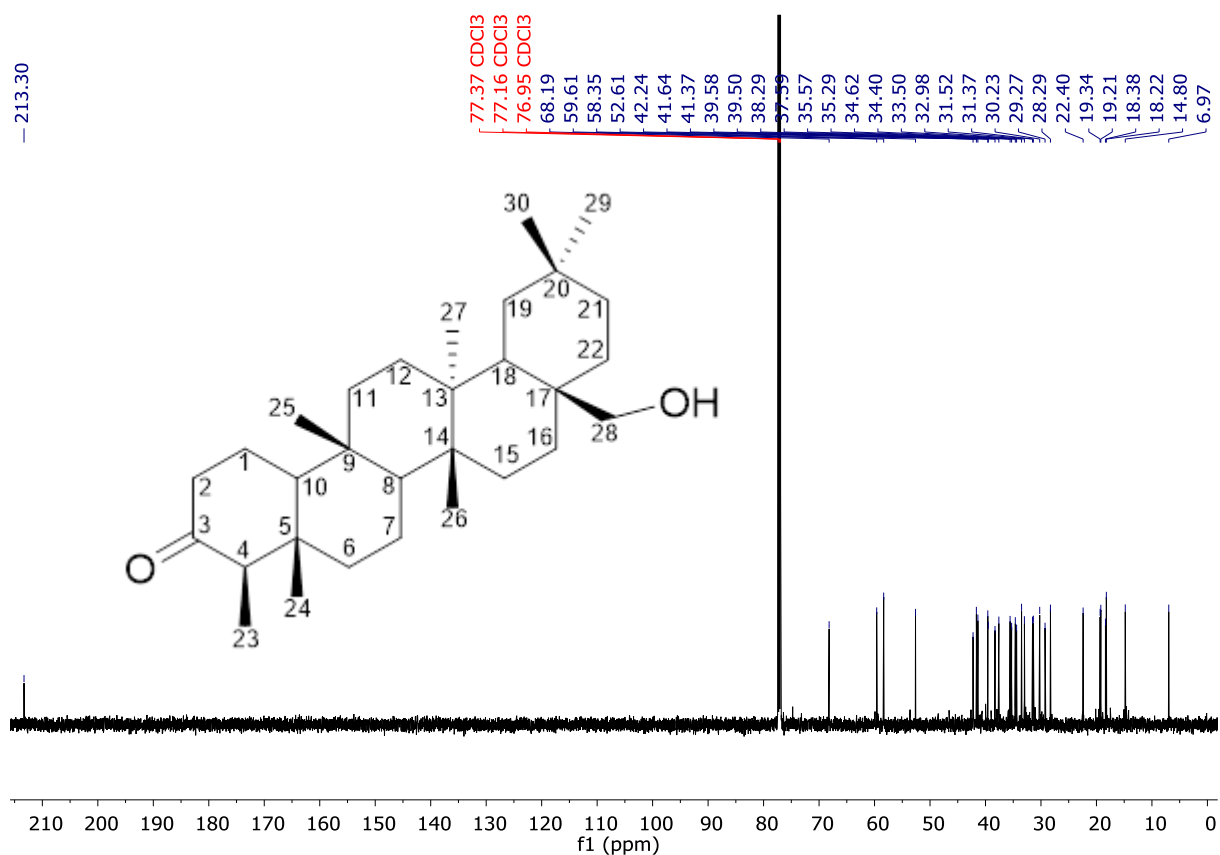


Figura 49 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG5**

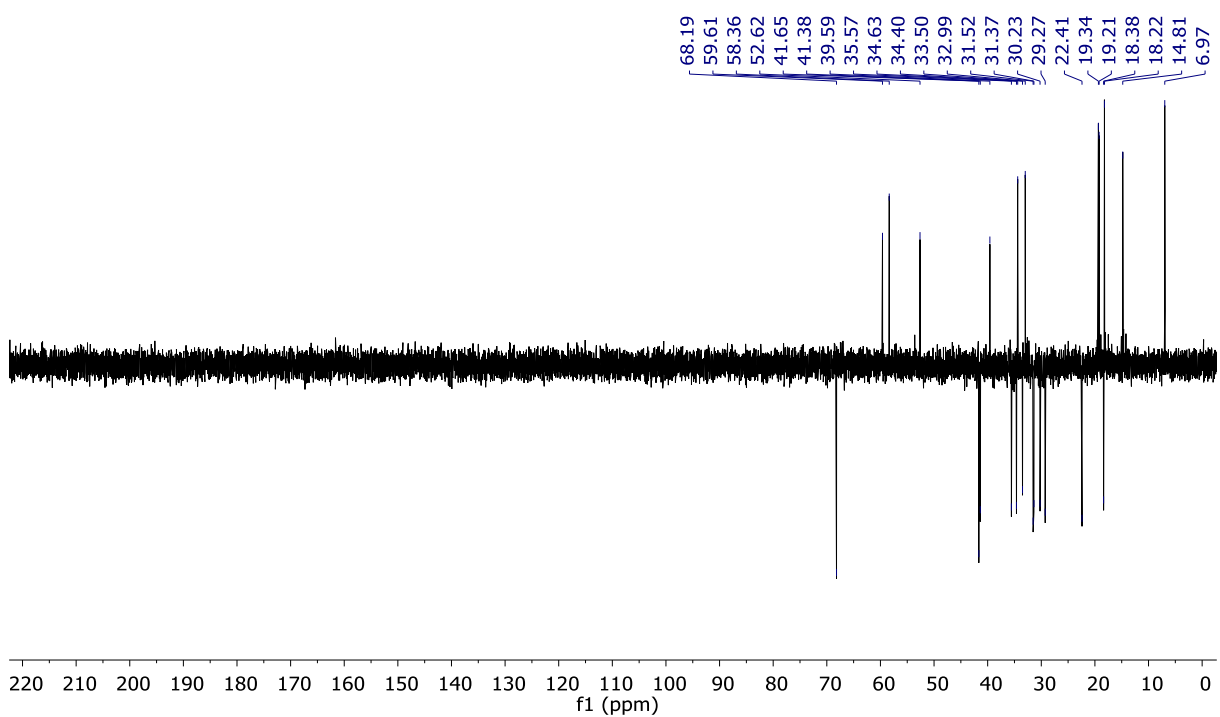


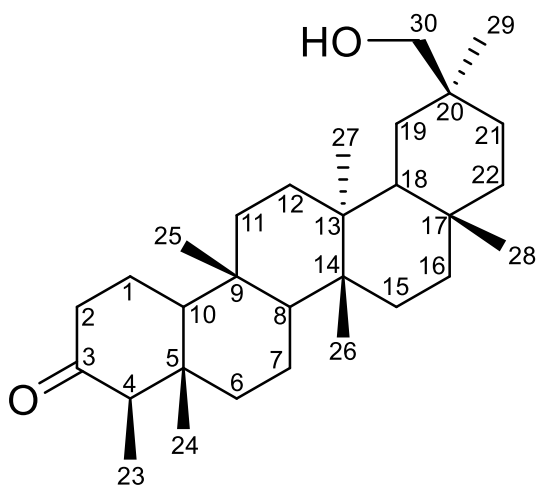
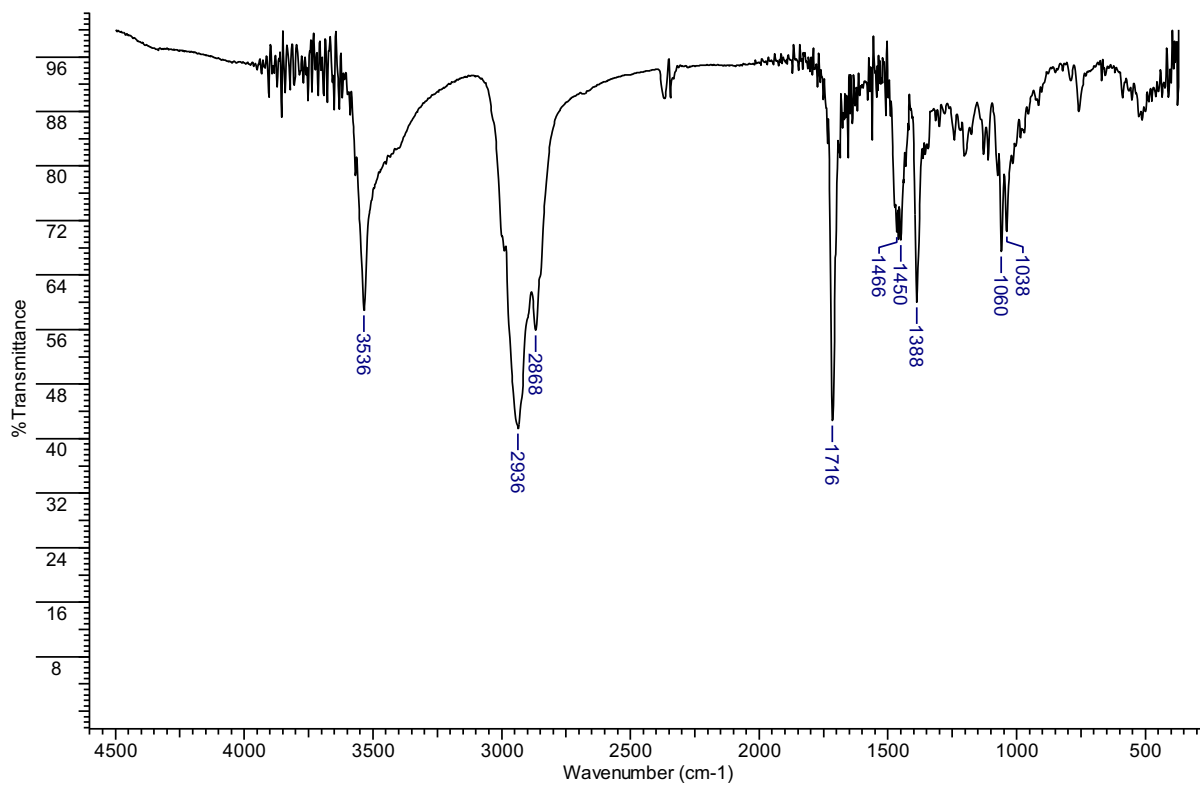
Figura 50 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG6**

Figura 51 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de **SG6**

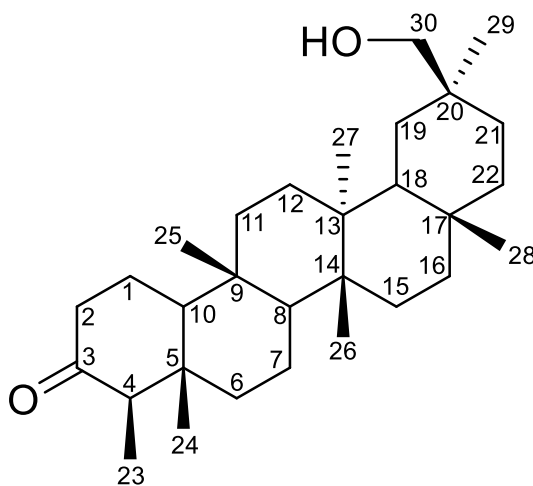
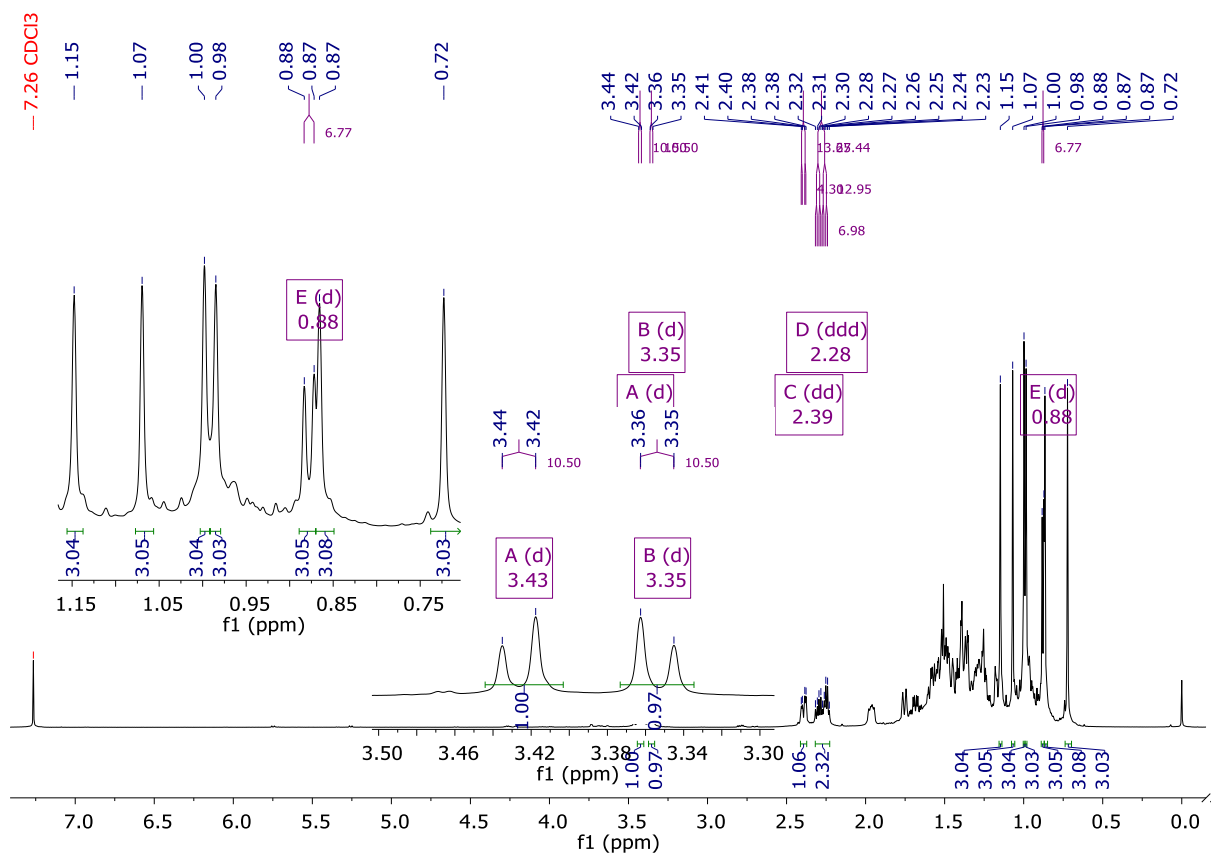


Figura 52 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG6**

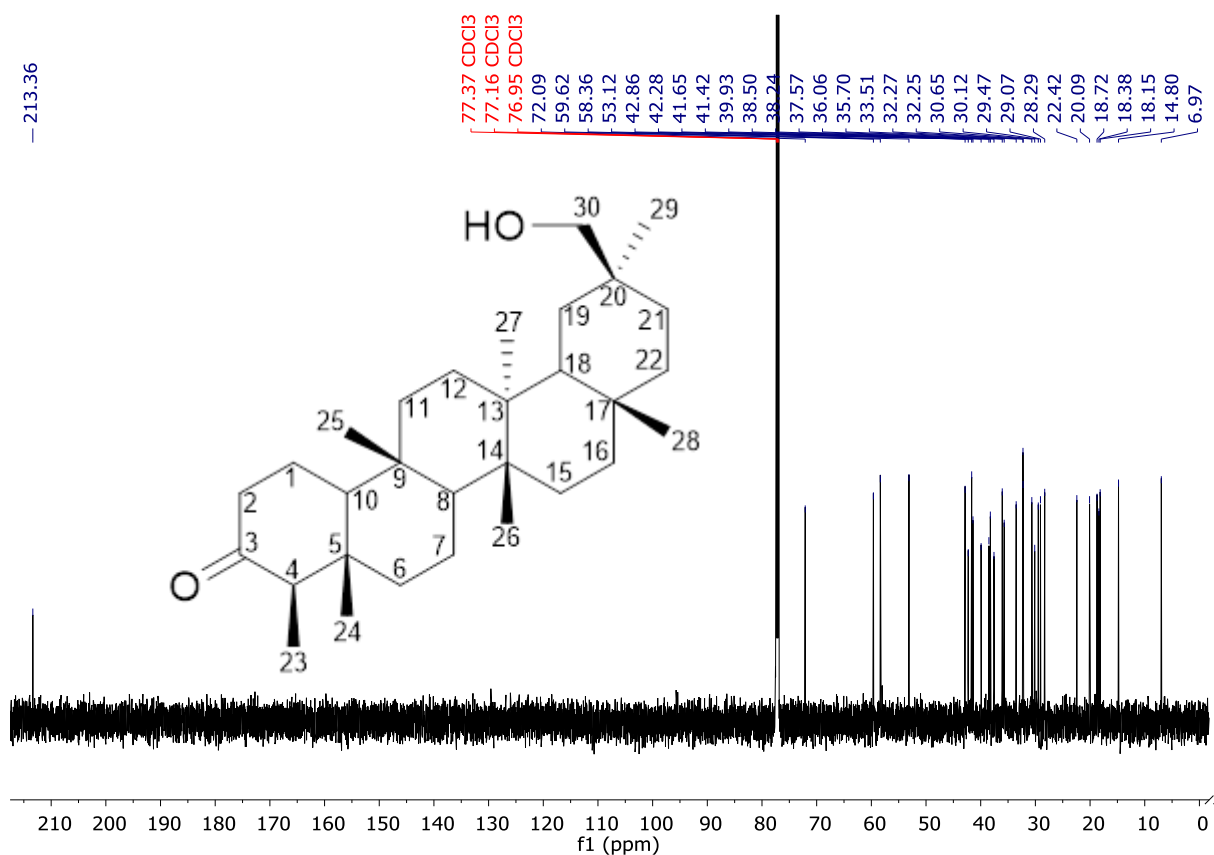


Figura 53 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG6**

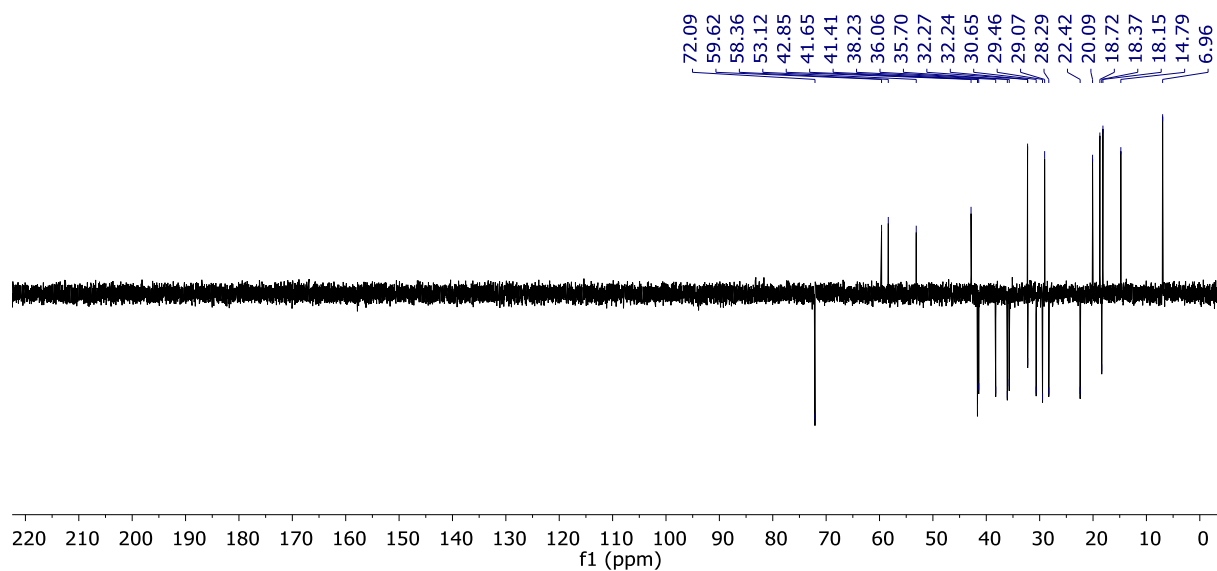


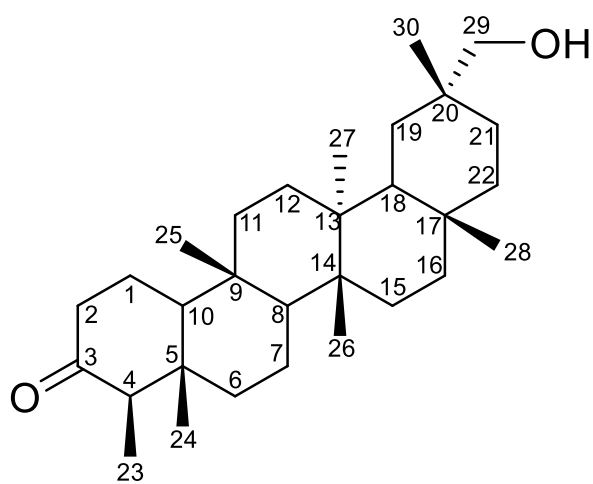
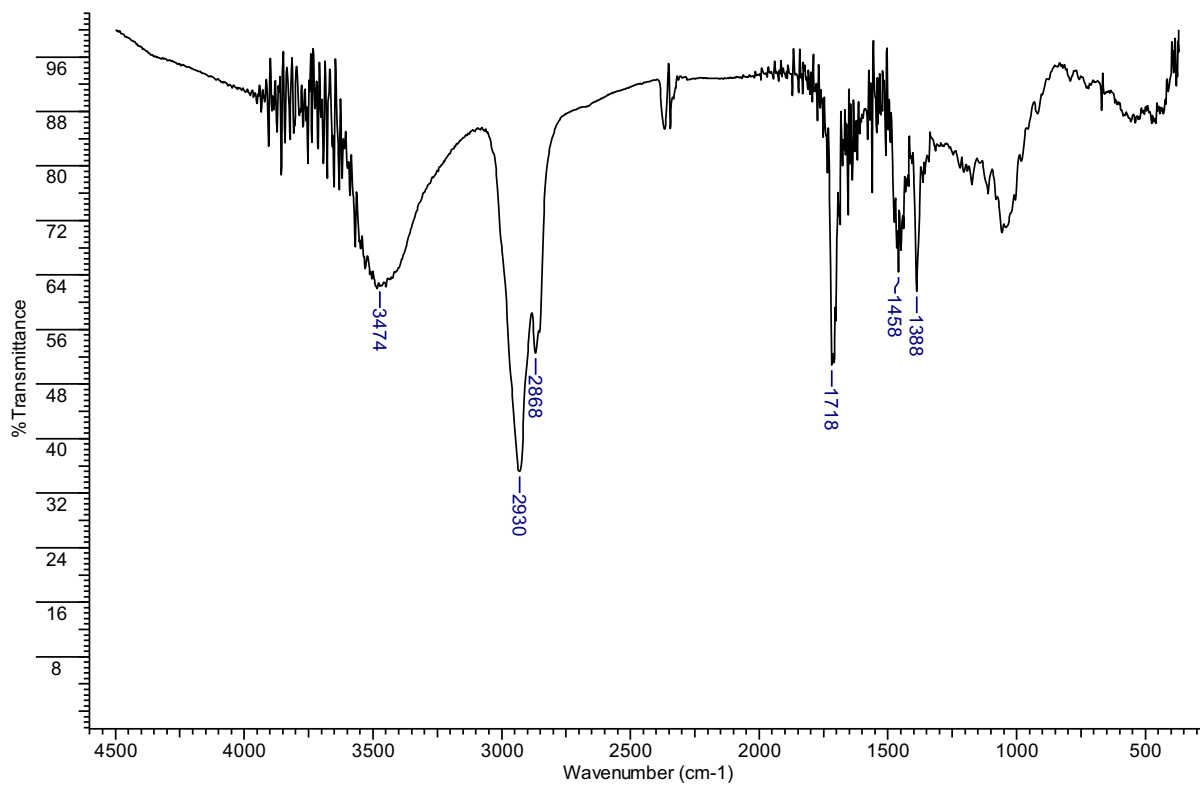
Figura 54 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG7**

Figura 55 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de **SG7**

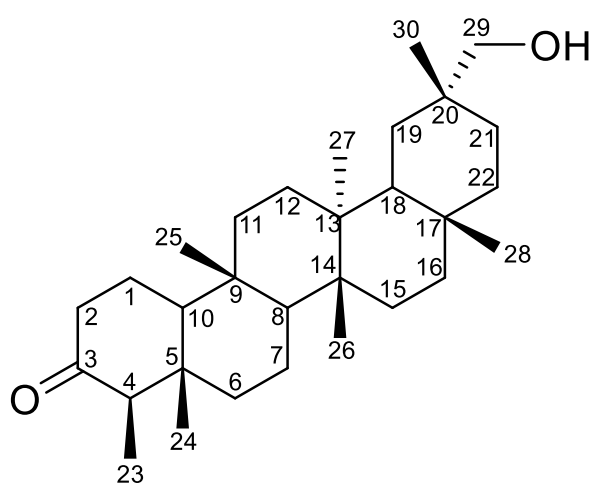
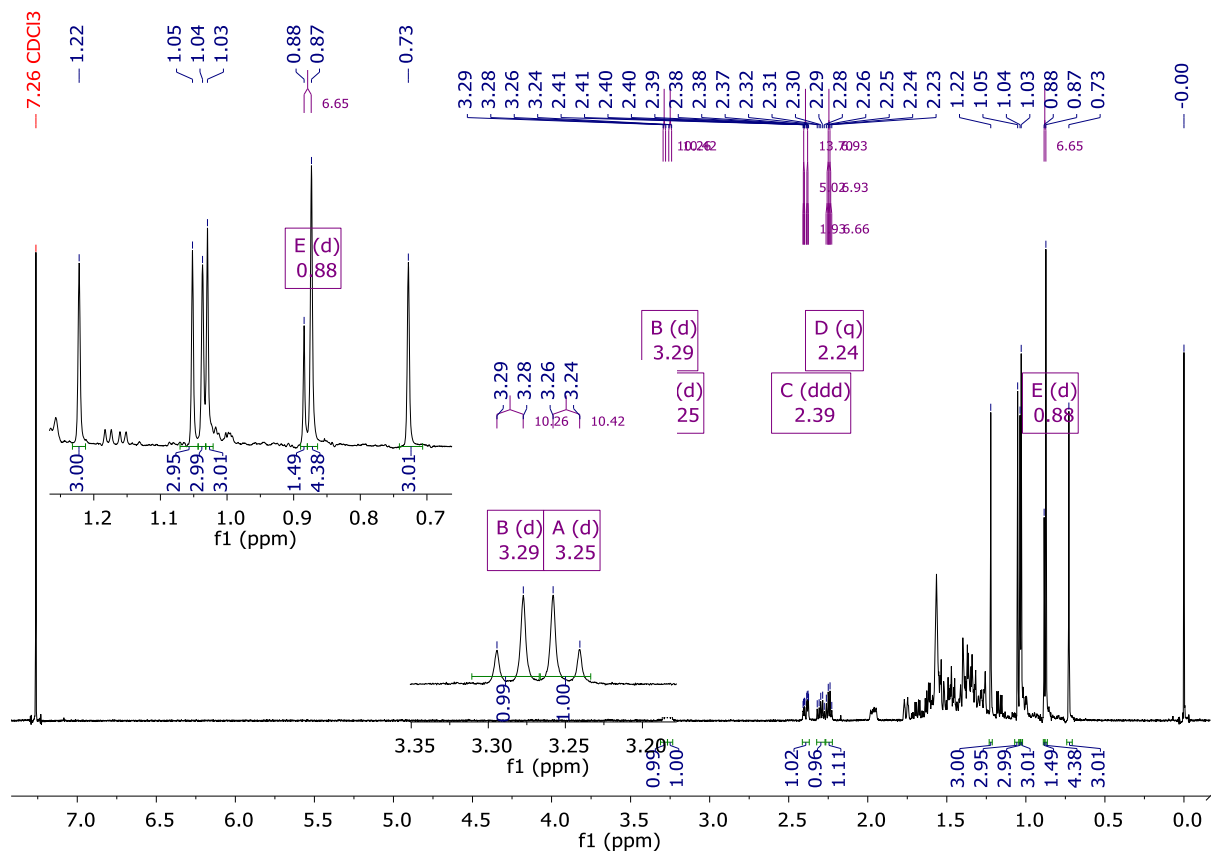


Figura 56 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG7**

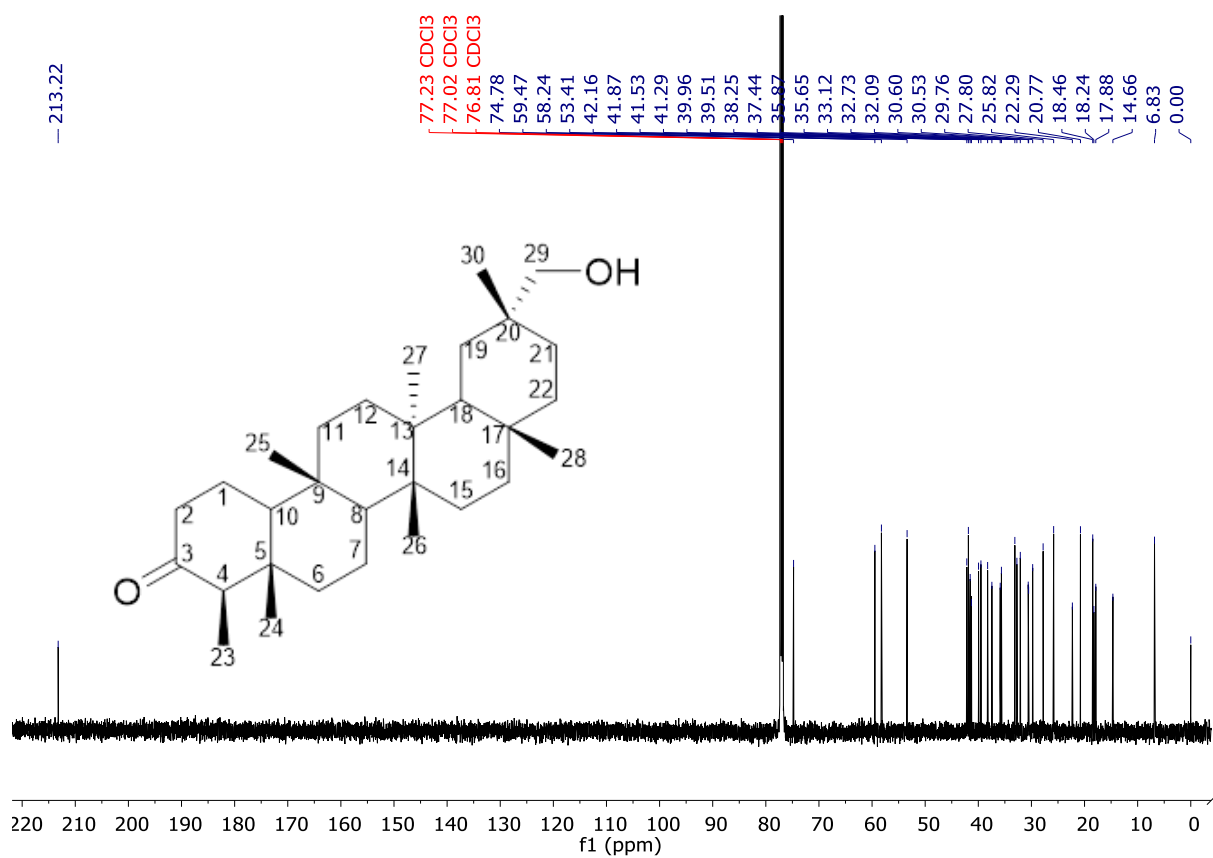


Figura 57 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG7**

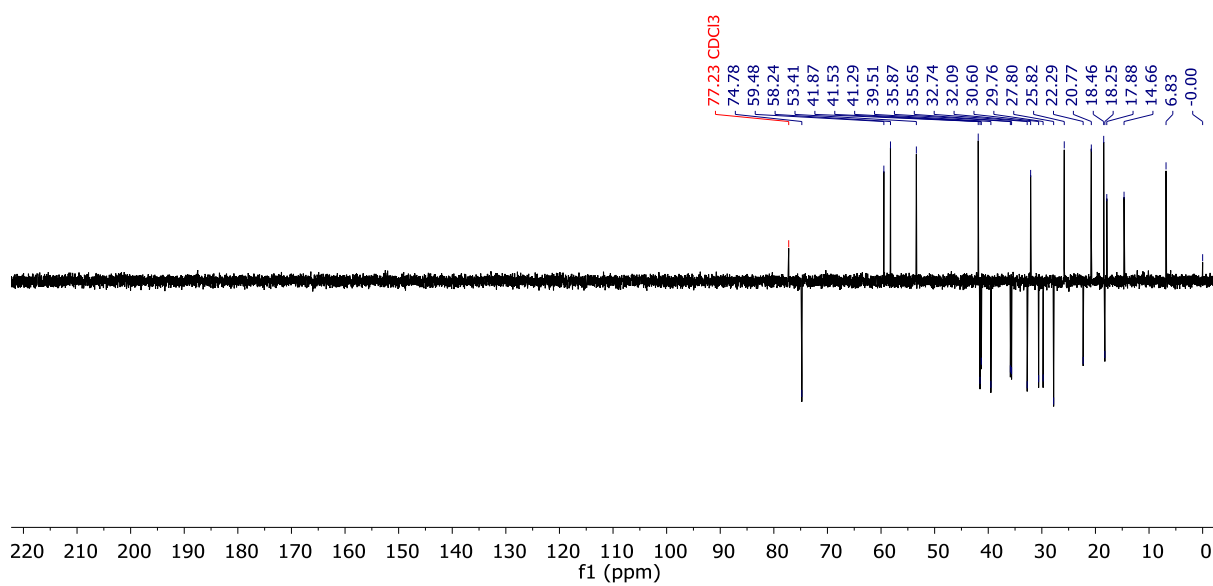


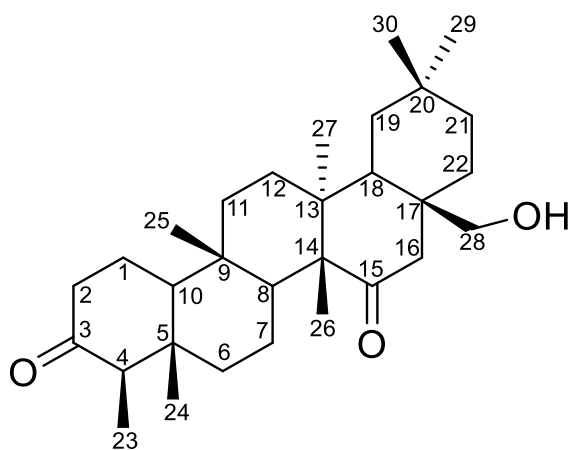
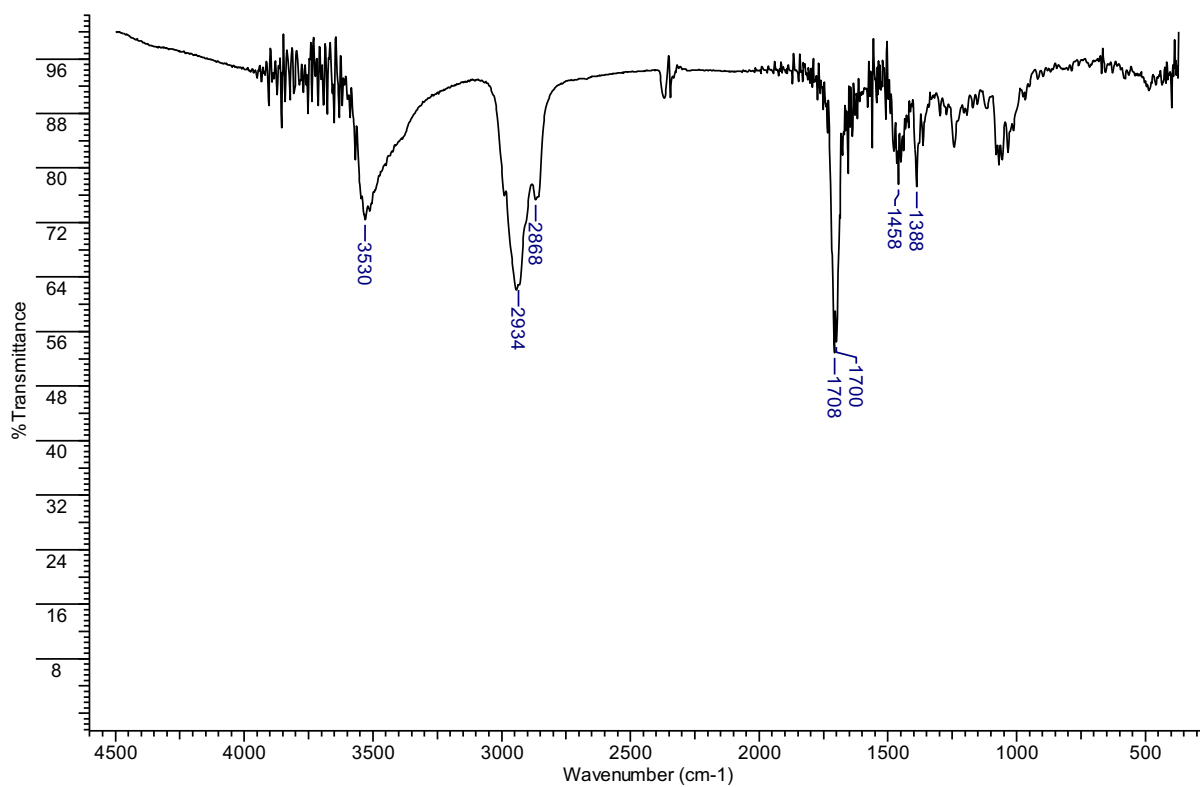
Figura 58 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de **SG8**

Figura 59 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de **SG8**

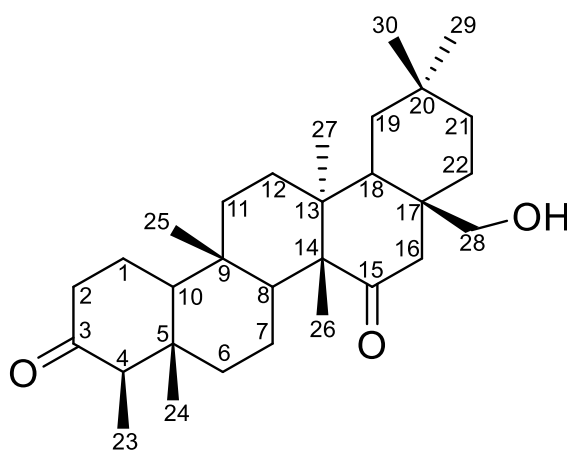
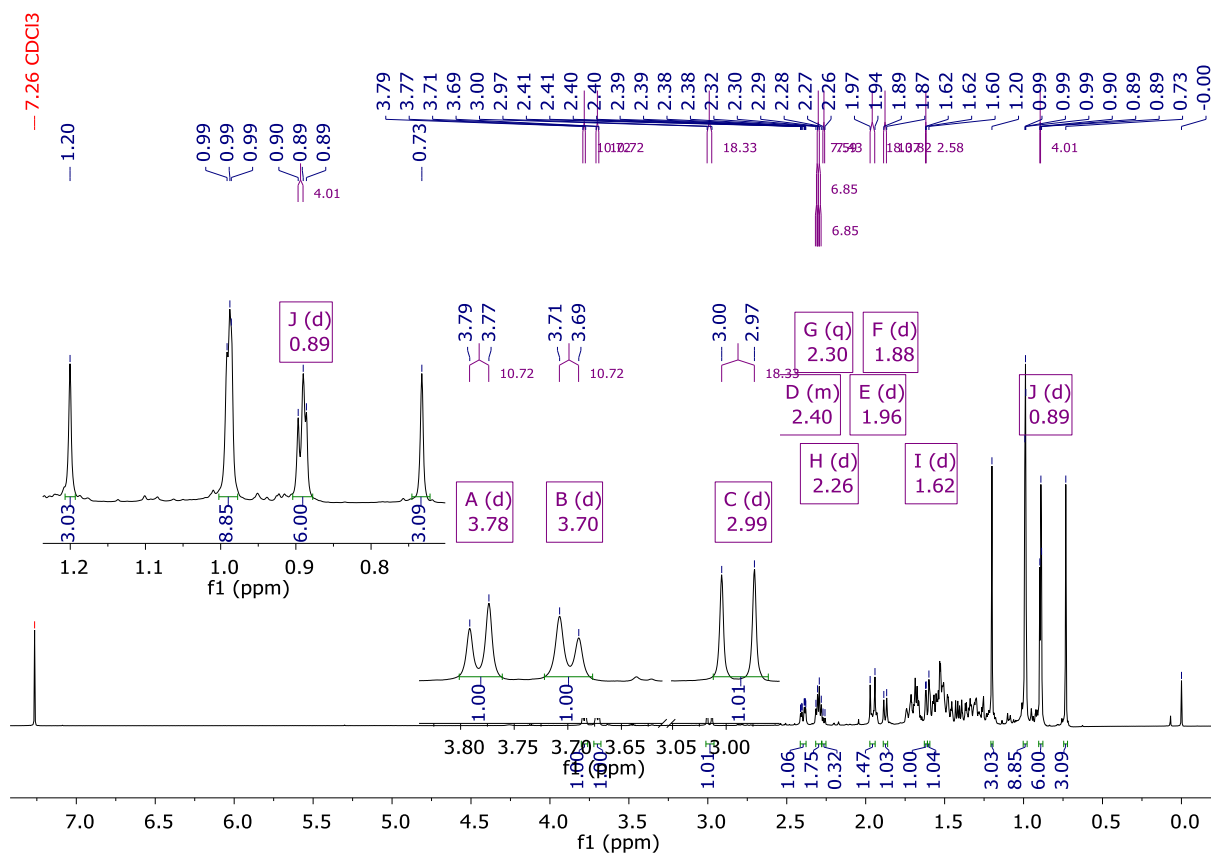


Figura 60 – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SG8**

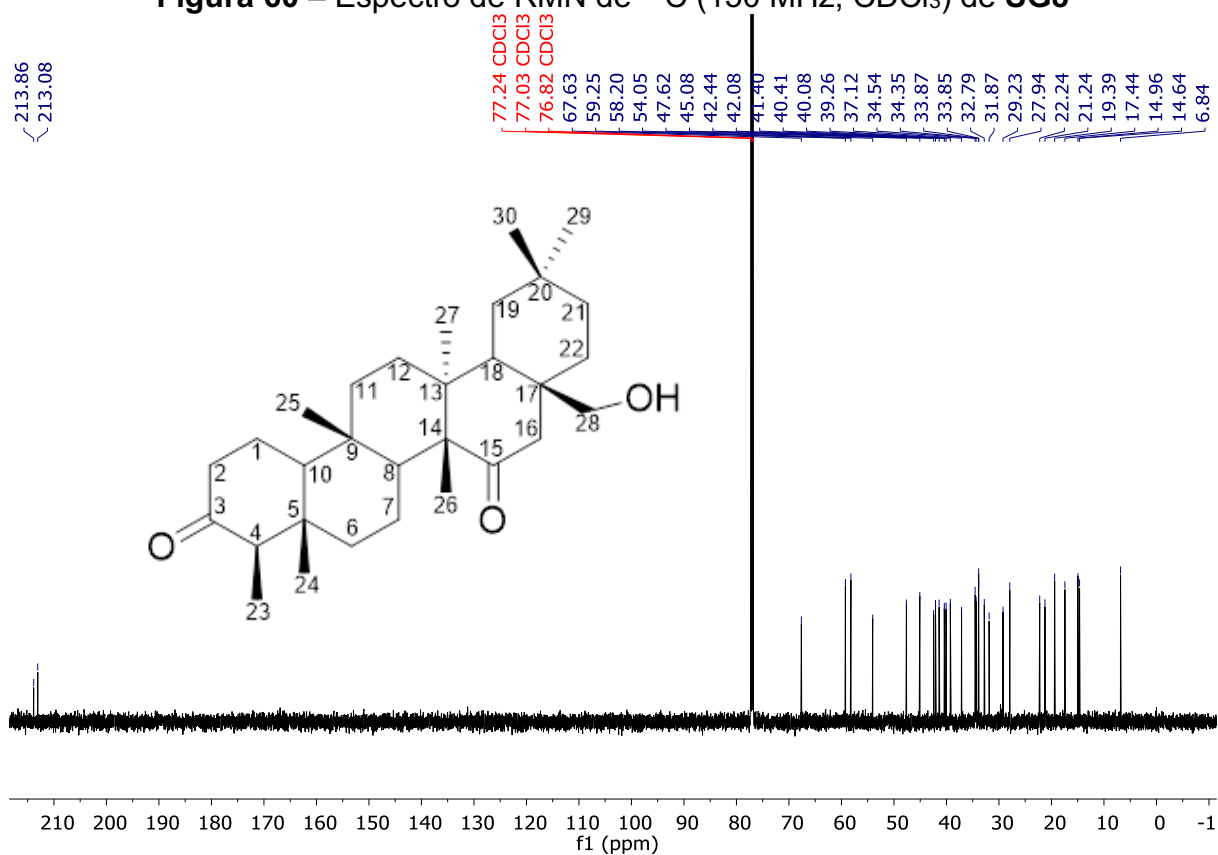


Figura 61 – Subespectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de **SG8**

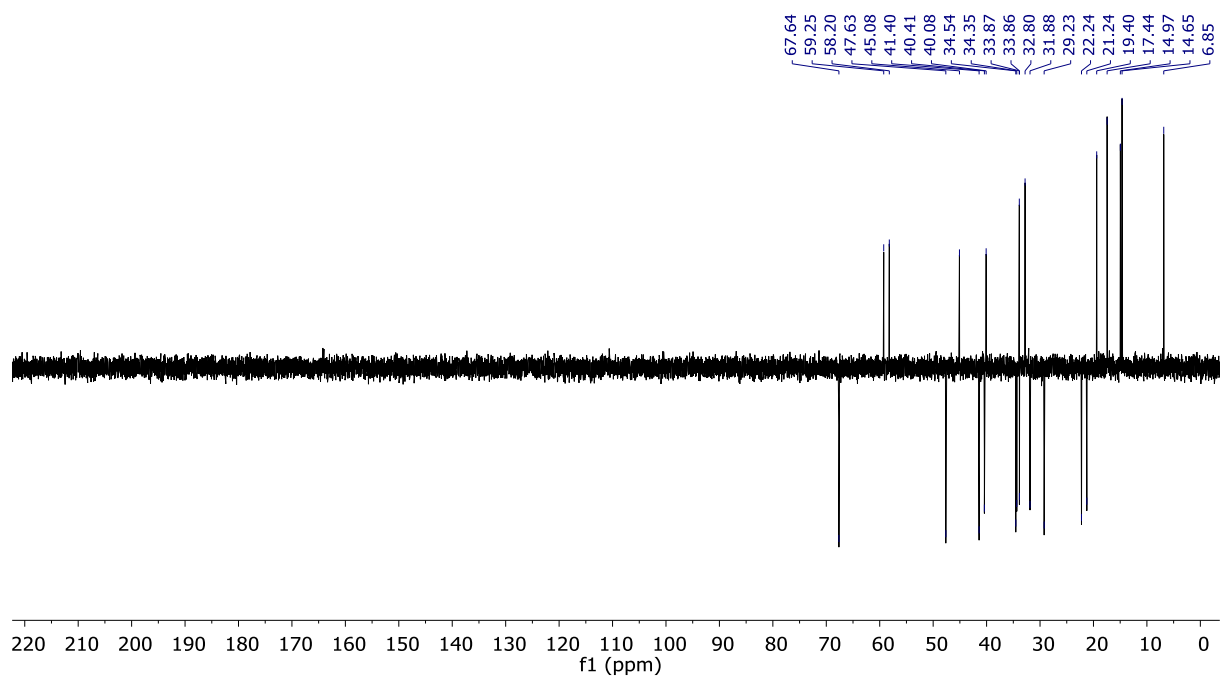


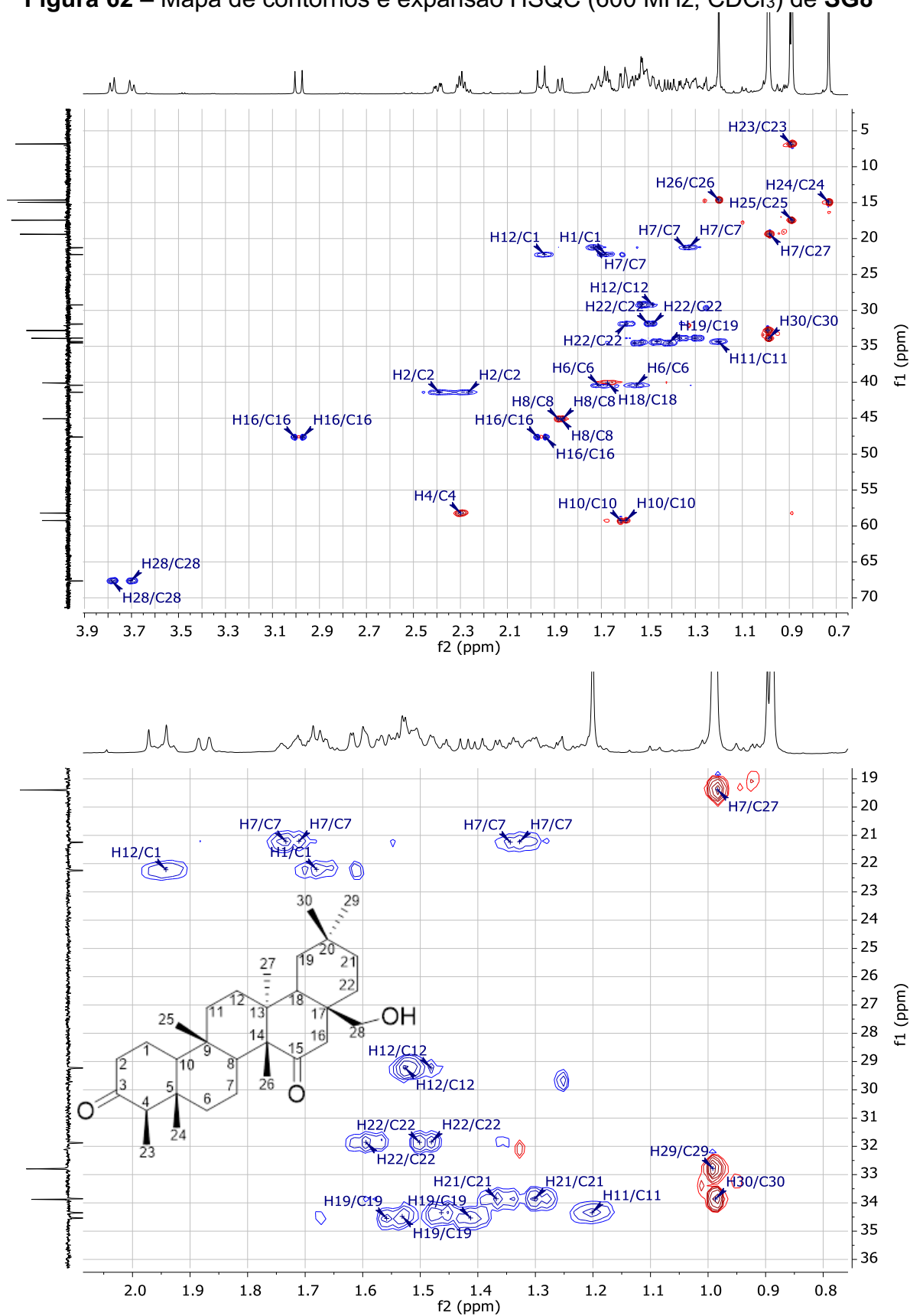
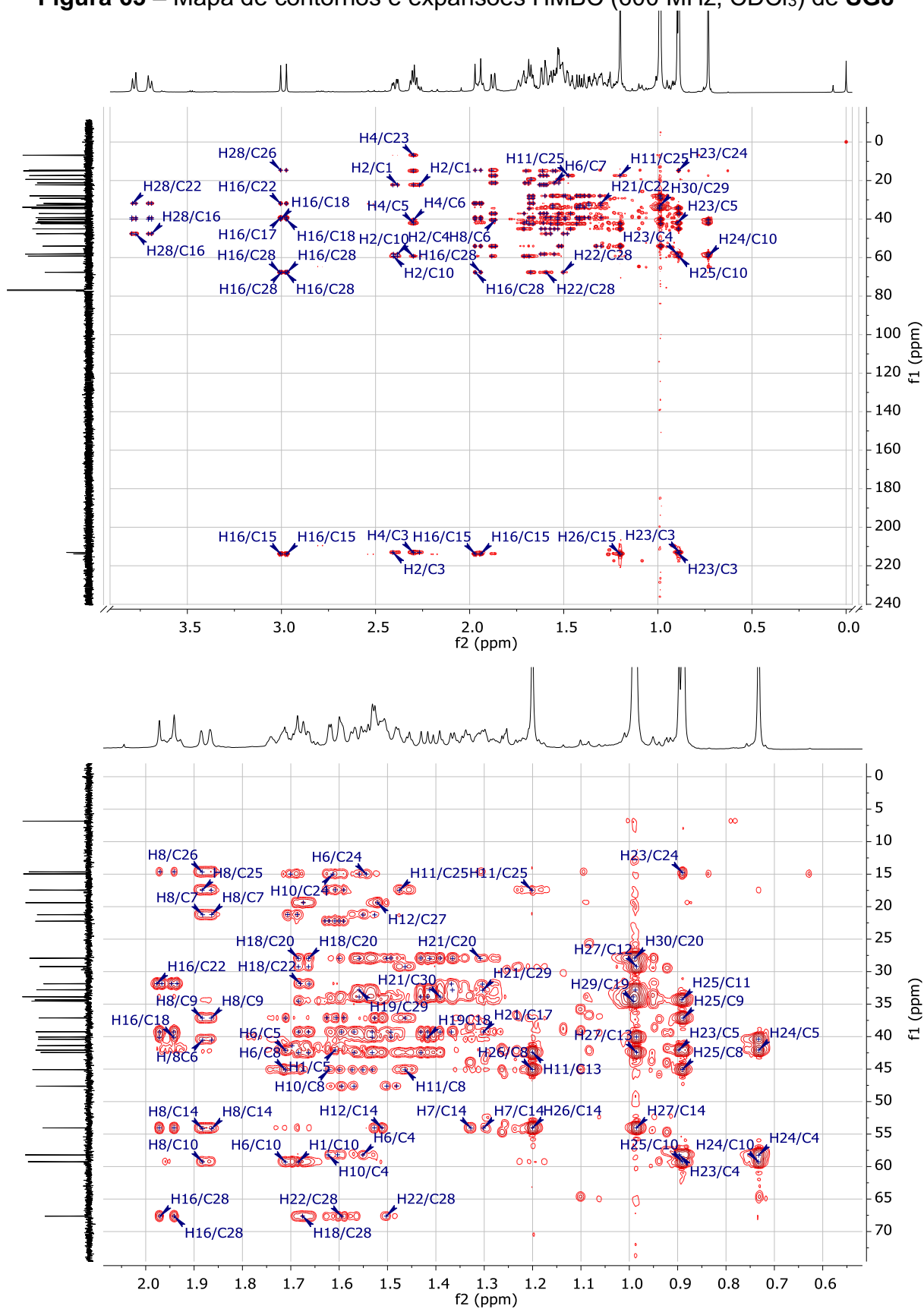
Figura 62 – Mapa de contornos e expansão HSQC (600 MHz, CDCl₃) de **SG8**

Figura 63 – Mapa de contornos e expansões HMBC (600 MHz, CDCl₃) de **SG8**



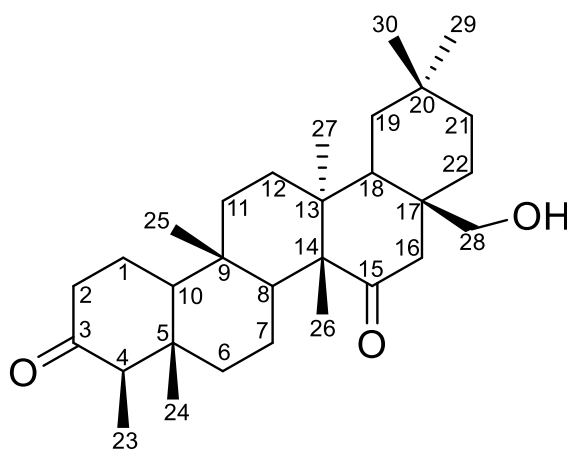
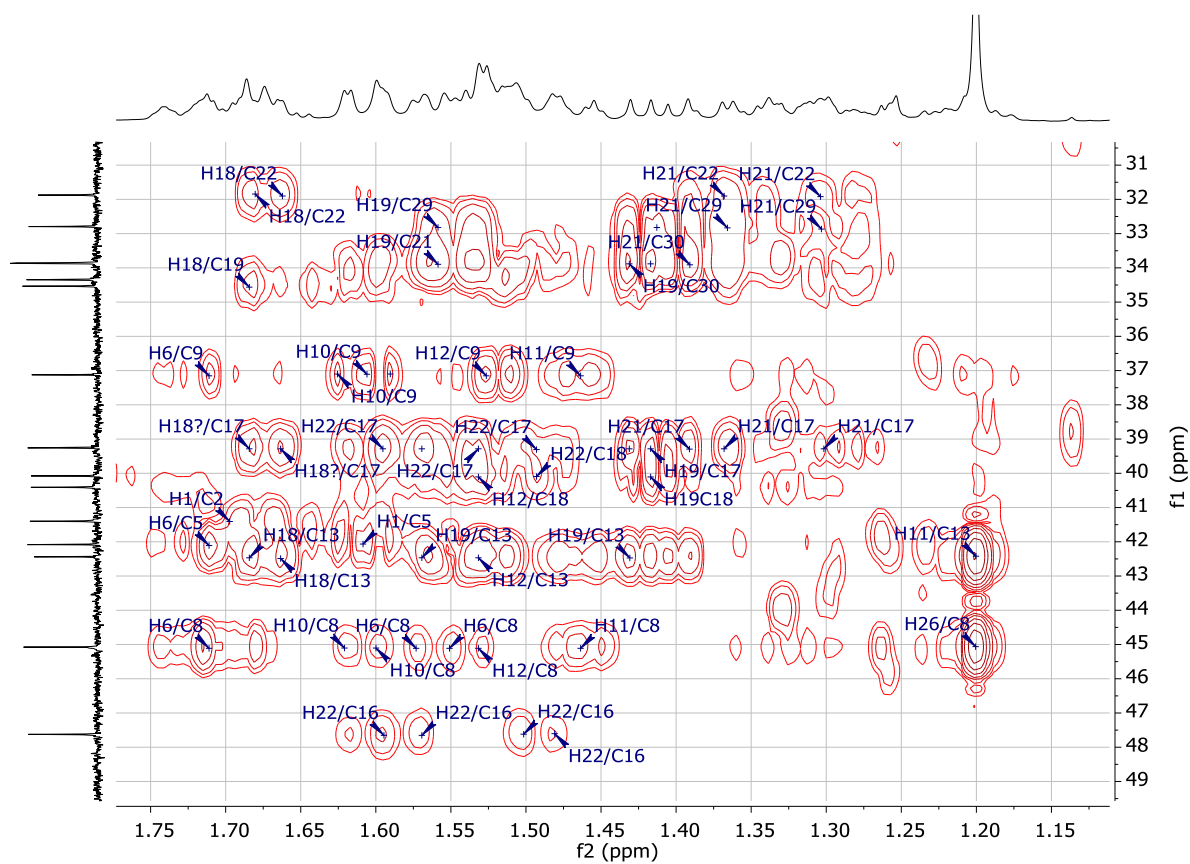


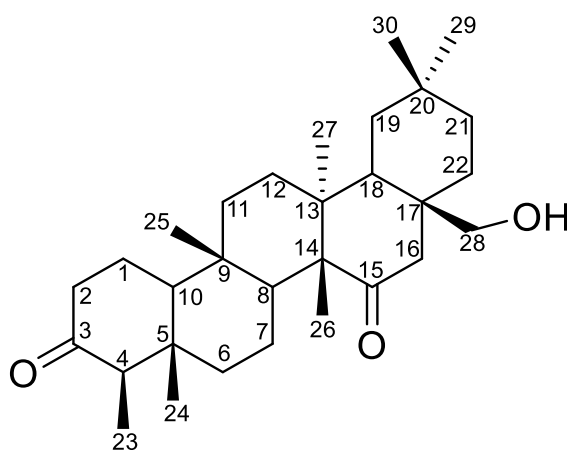
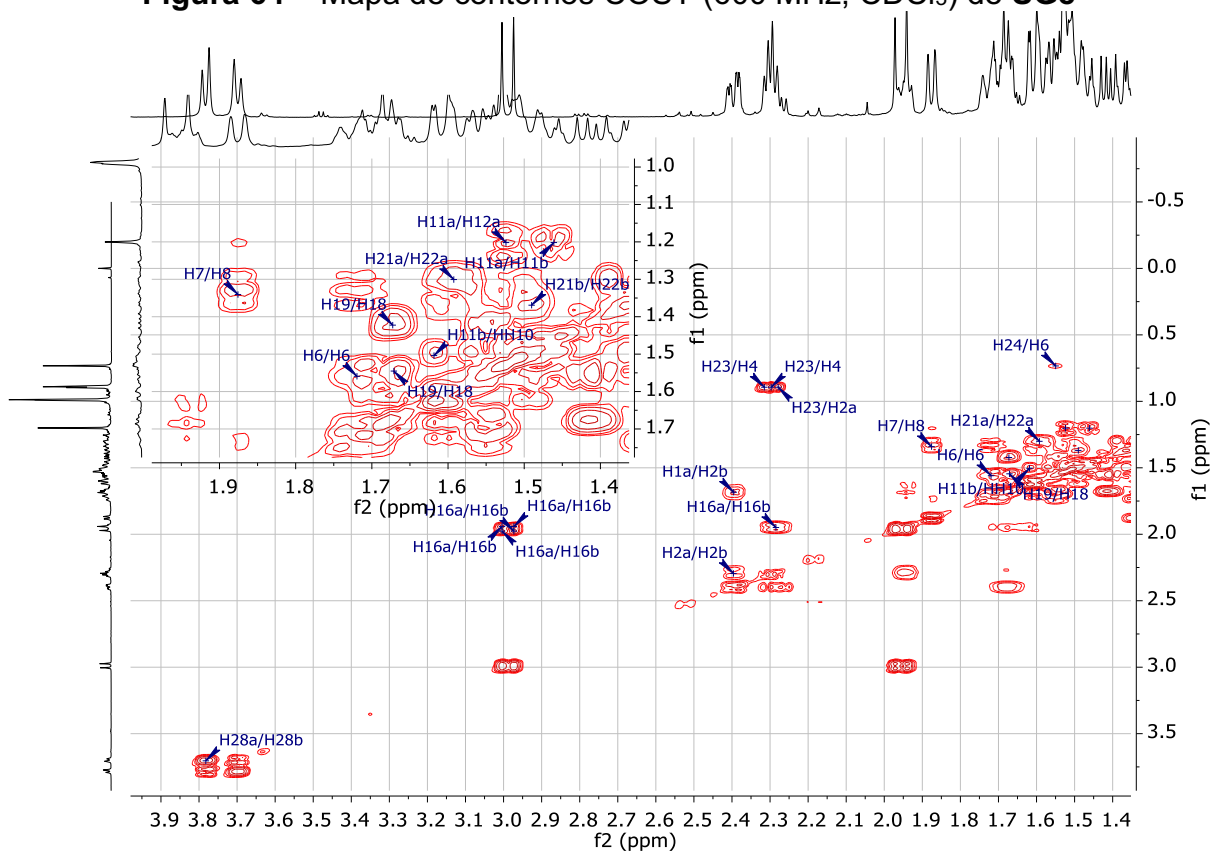
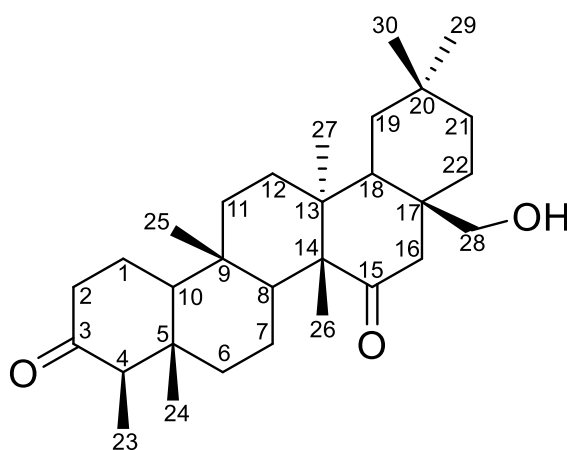
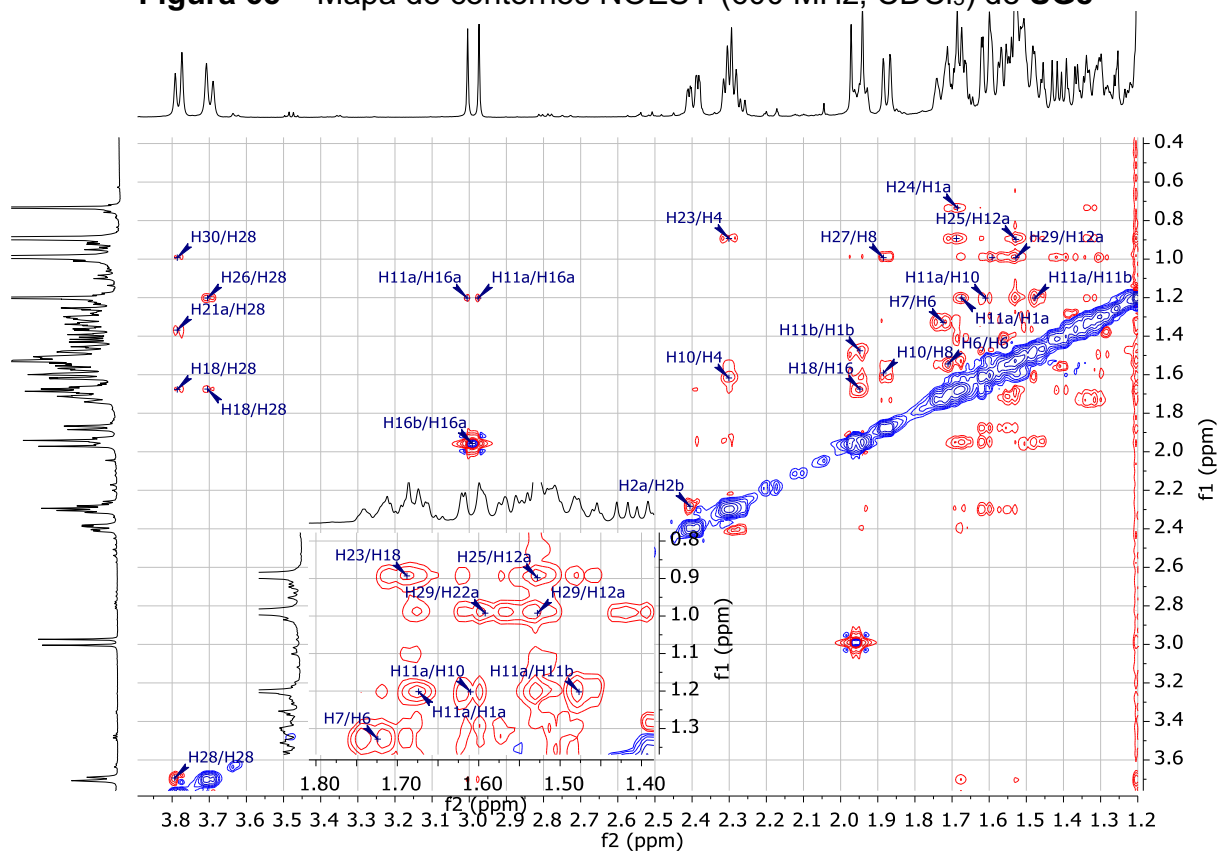
Figura 64 – Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl₃) de SG8

Figura 65 – Mapa de contornos NOESY (600 MHz, CDCl₃) de **SG8**

APÊNDICE B – ESPECTROS DOS PRODUTOS DE SEMISSÍNTESE

Figura 66 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L1

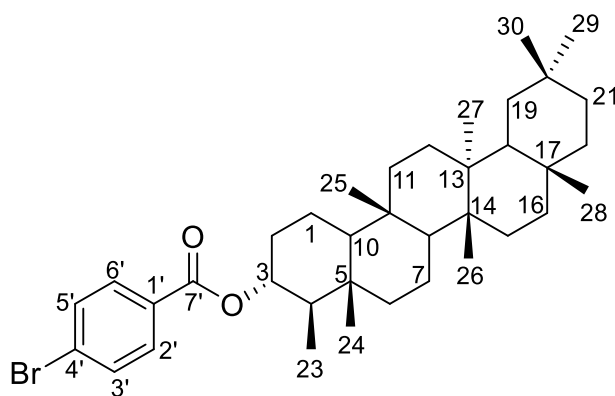
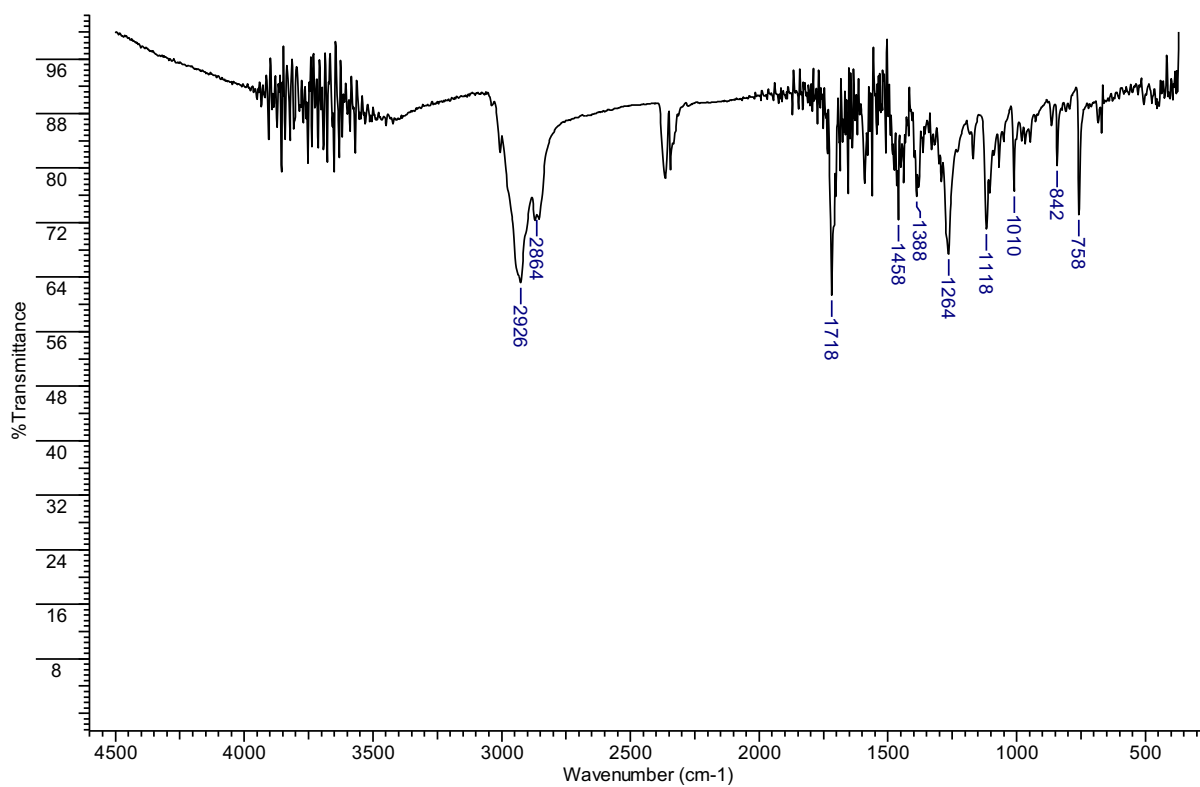
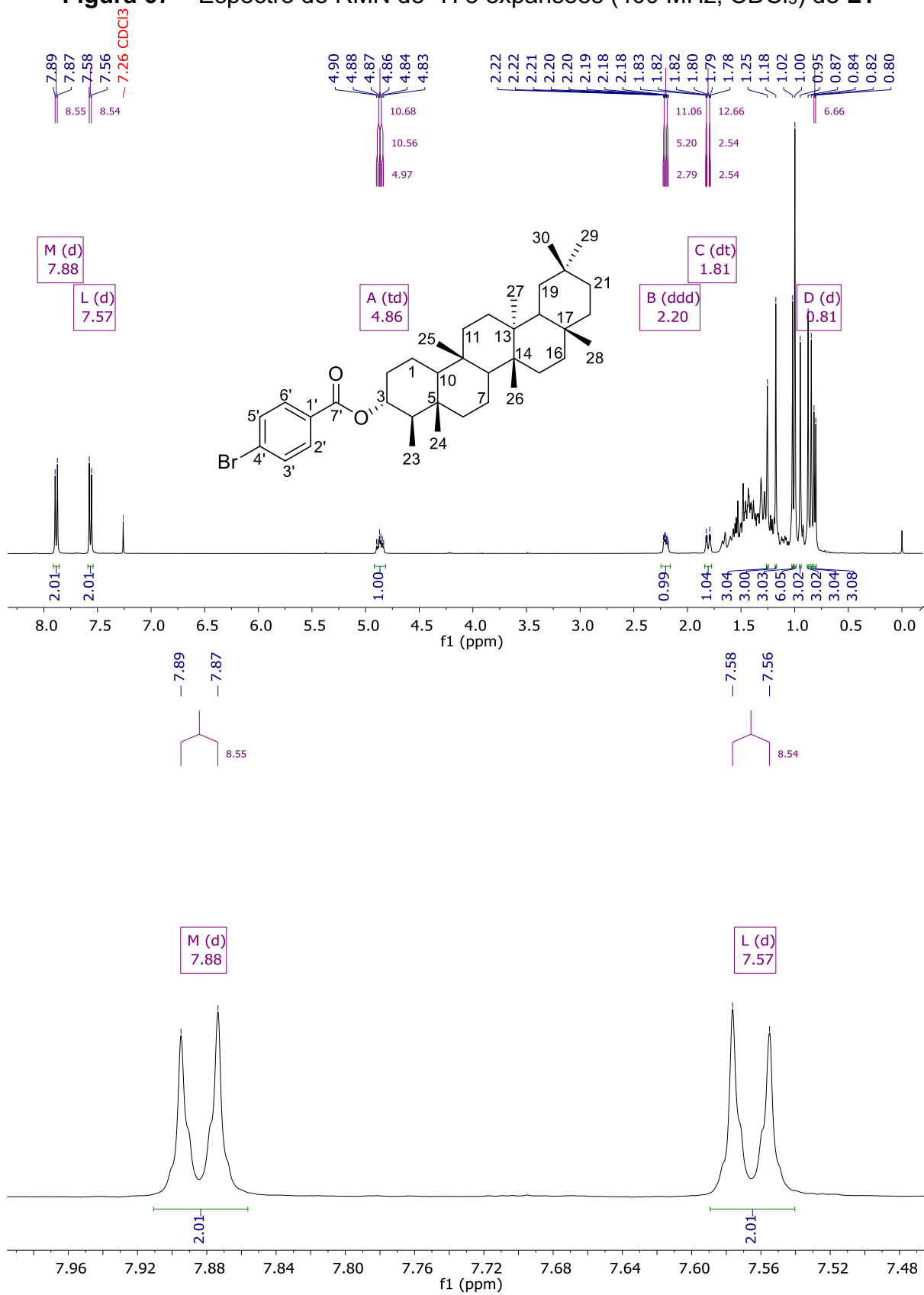


Figura 67 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de **L1**



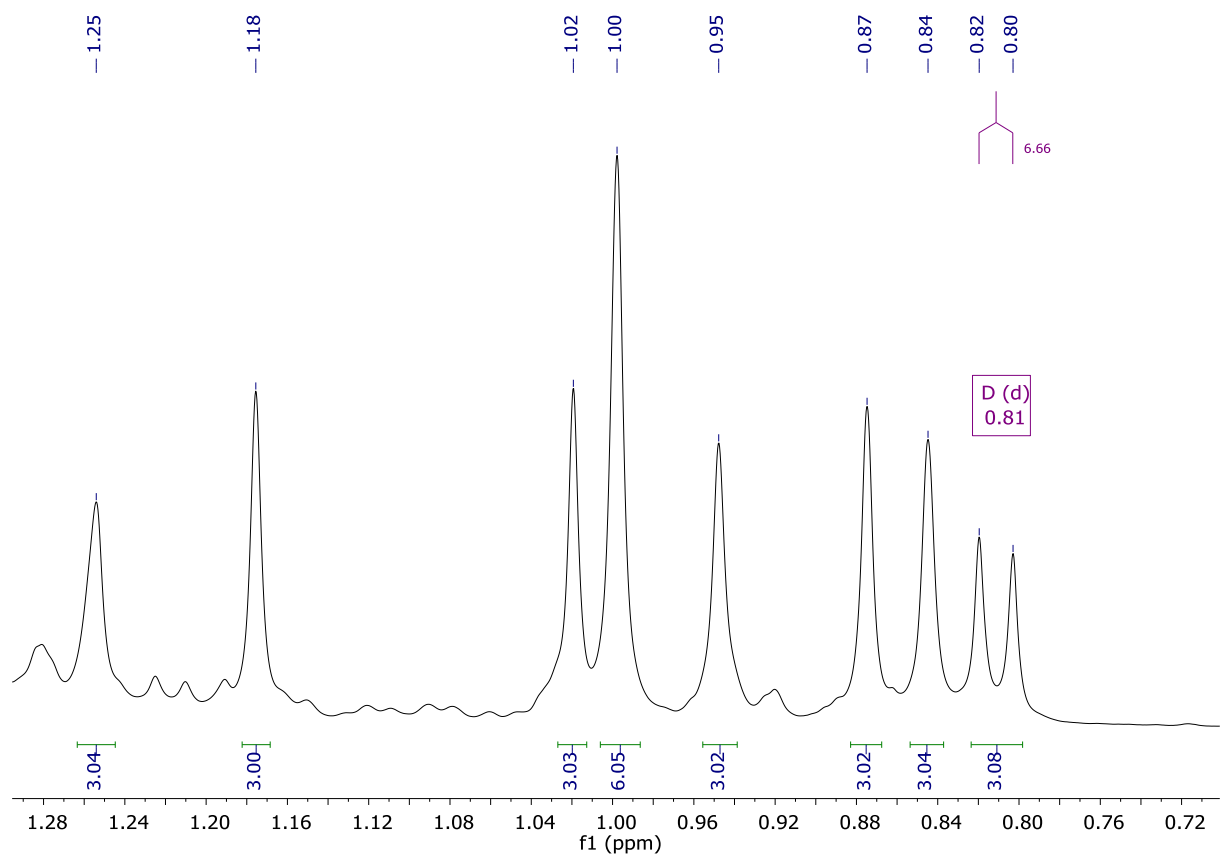
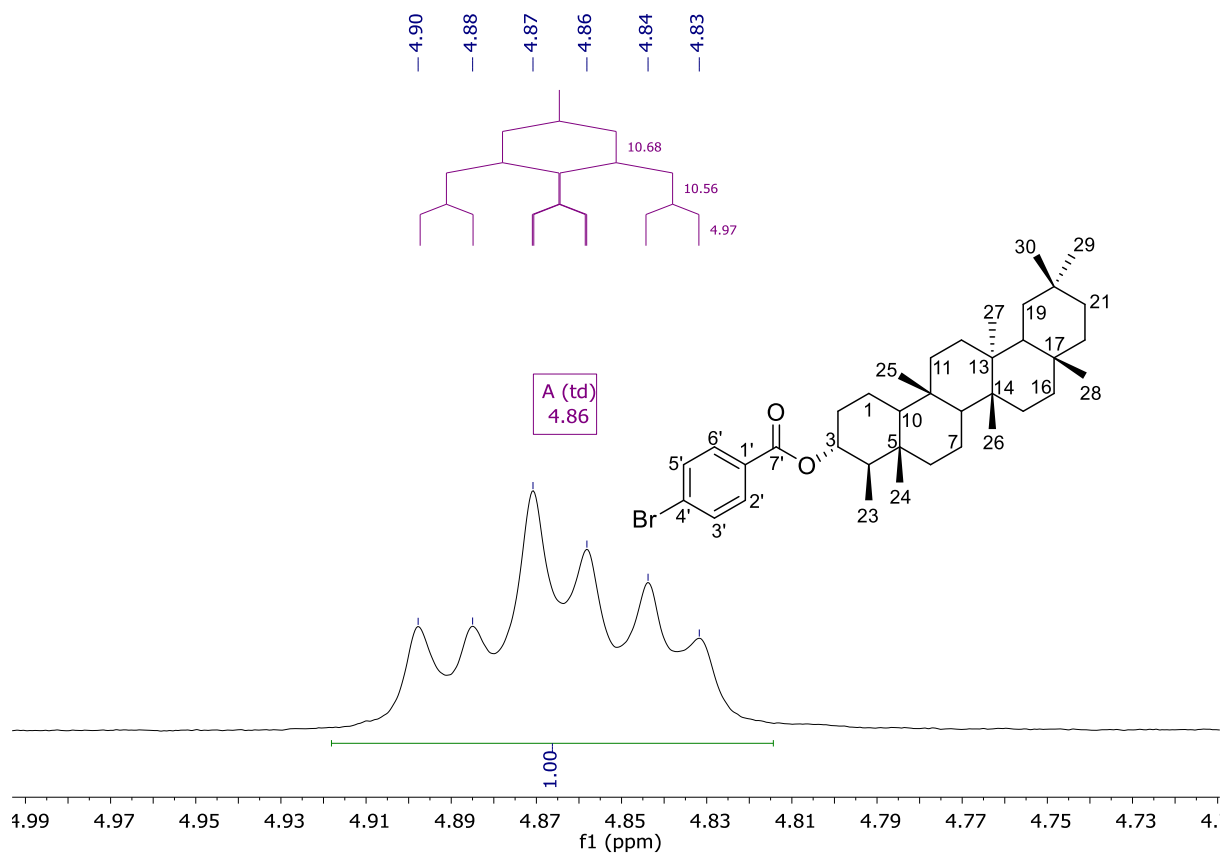


Figura 68 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L1

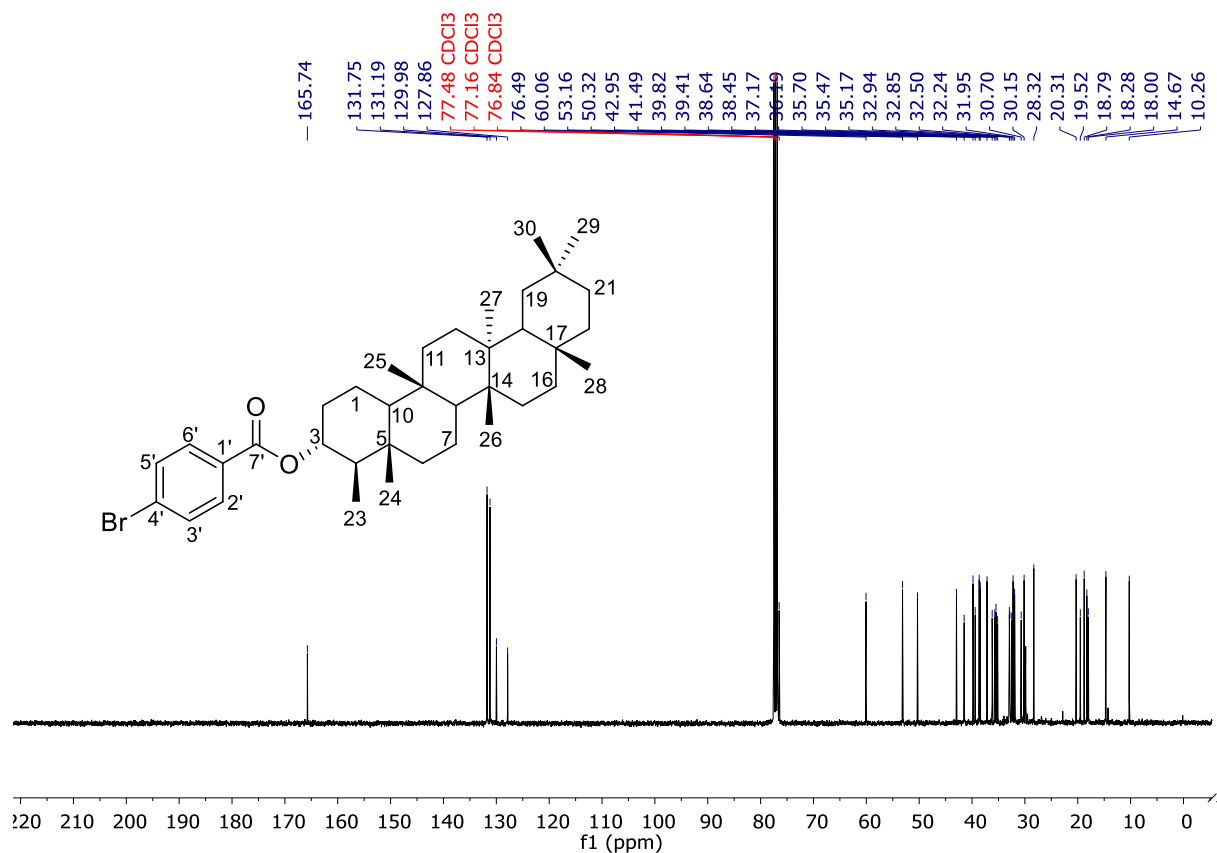


Figura 69 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L1

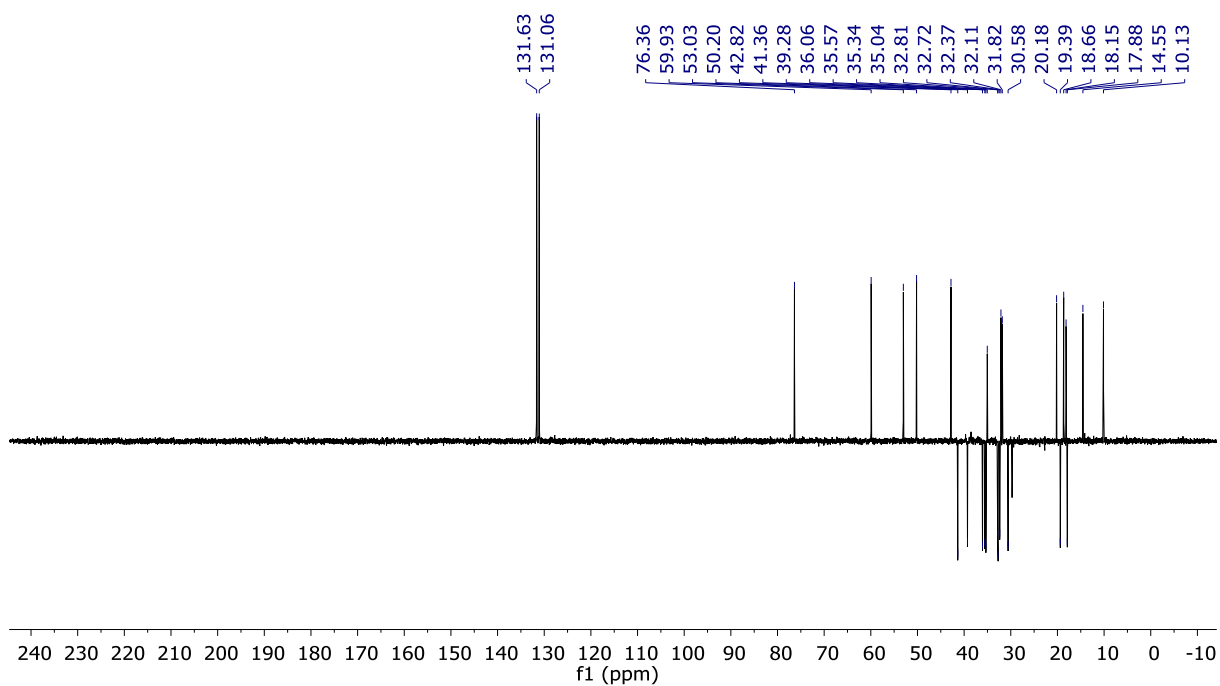


Figura 70 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L2

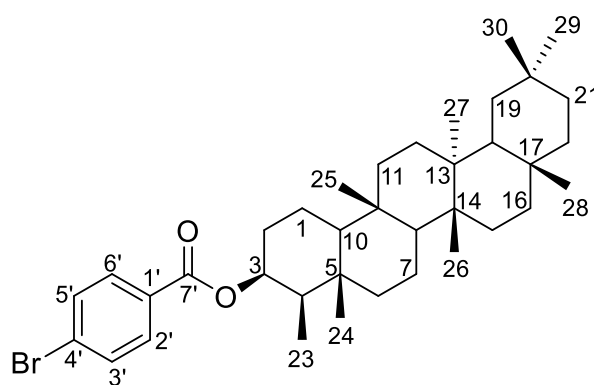
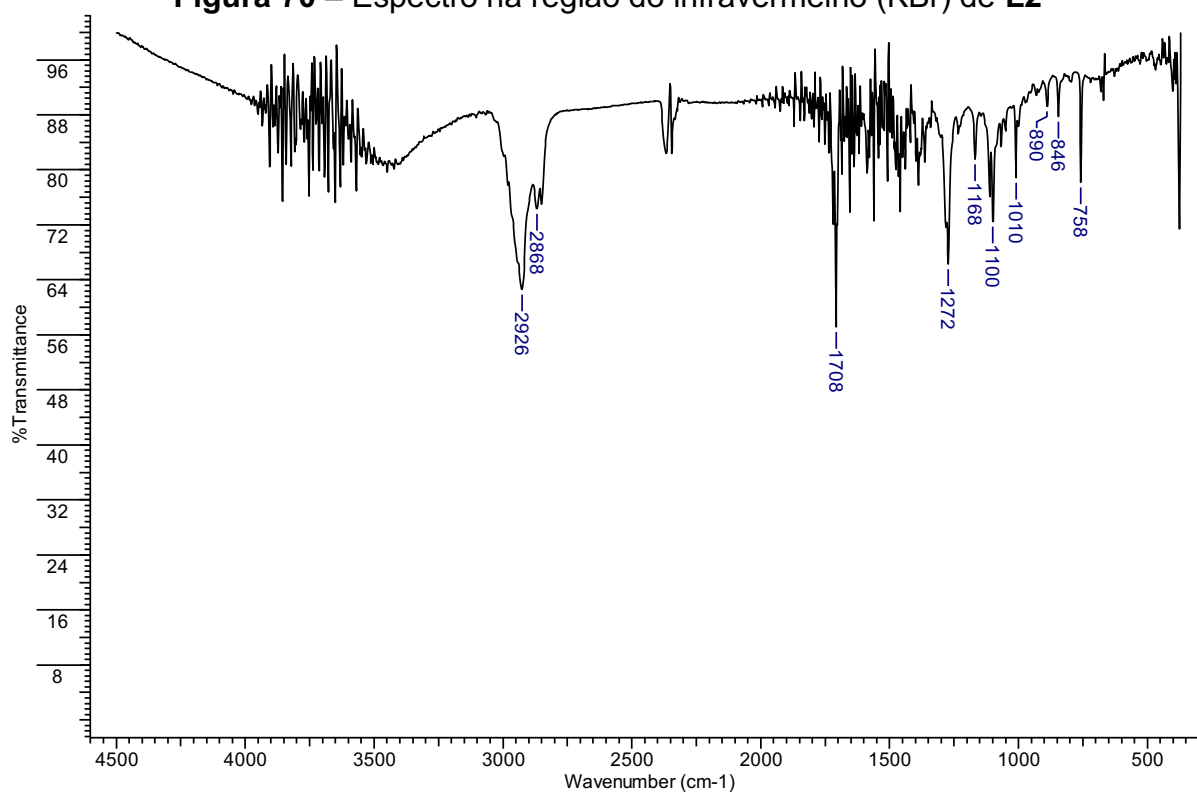
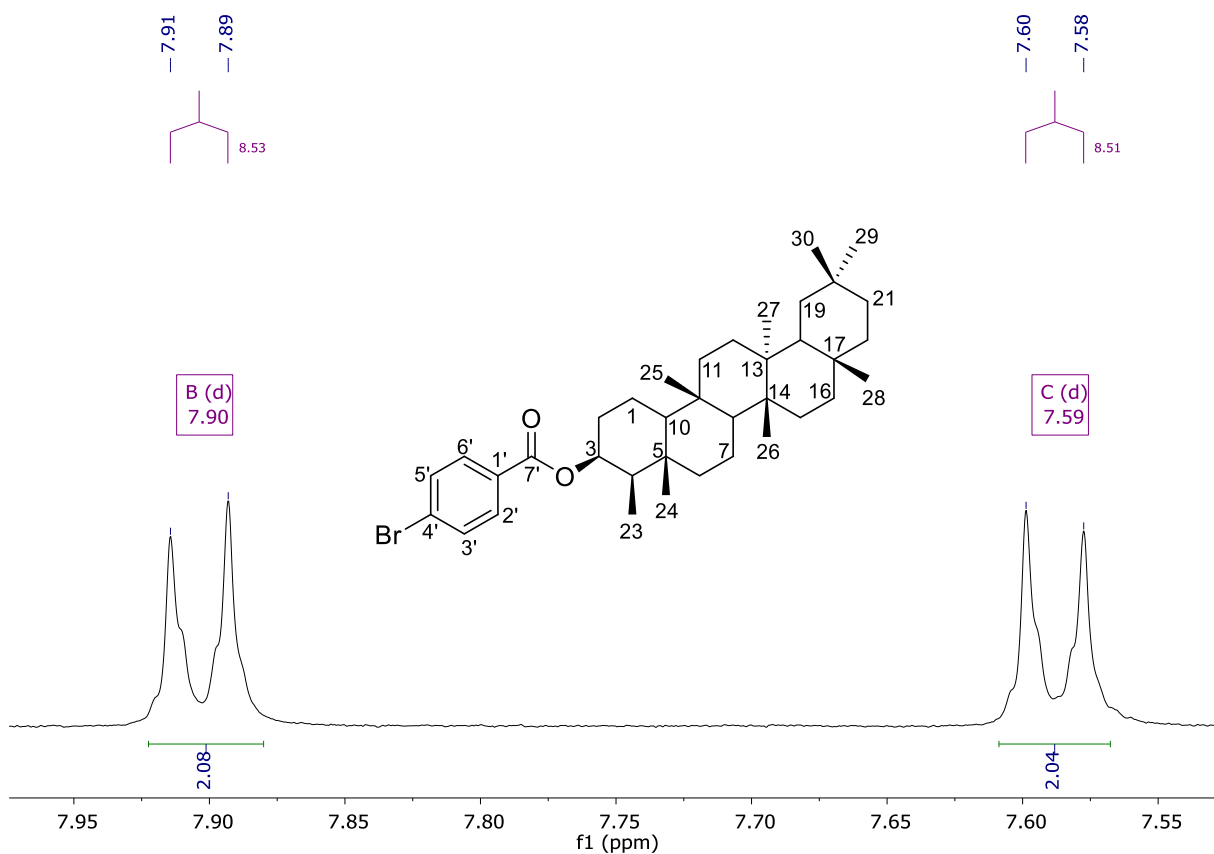
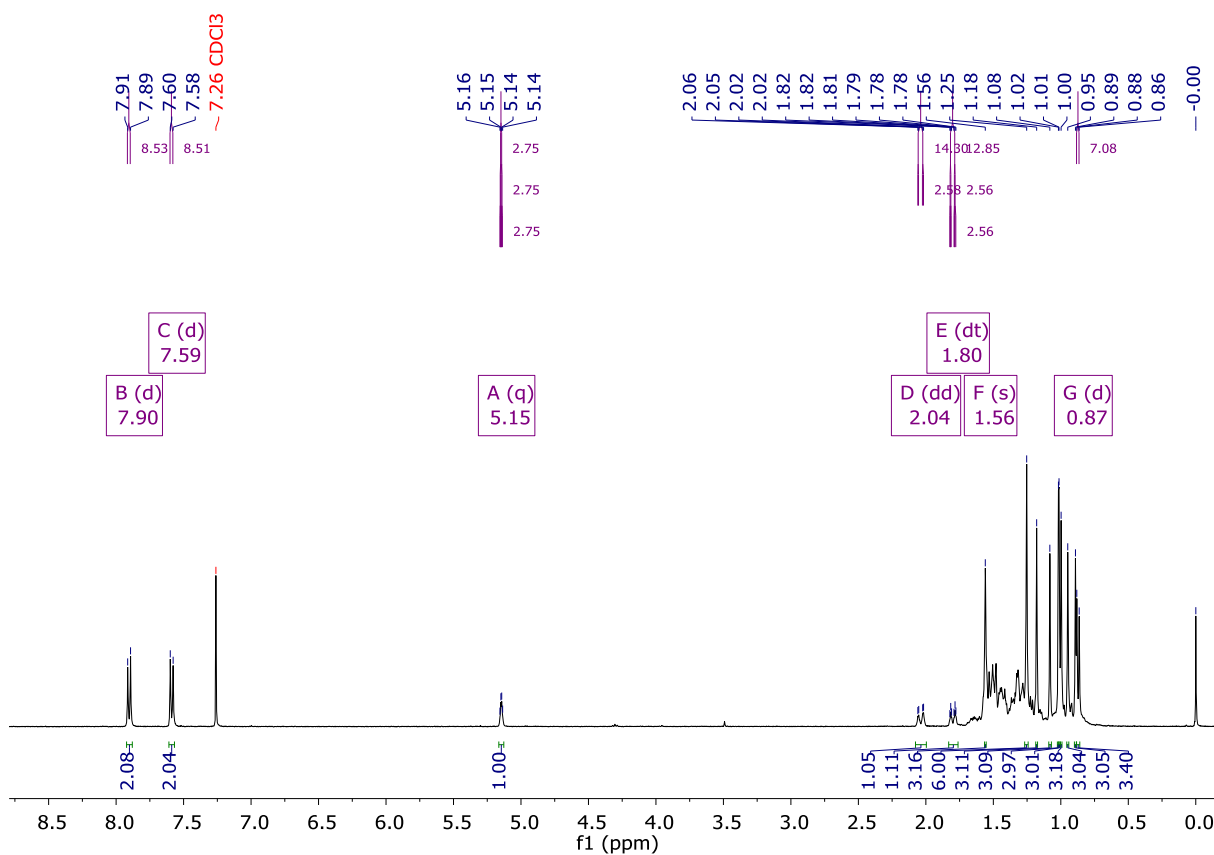


Figura 71 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L2



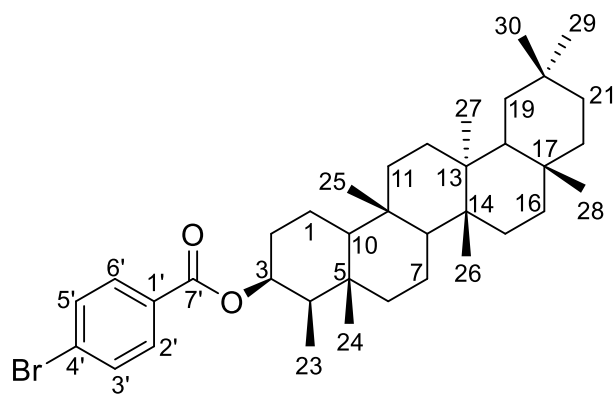
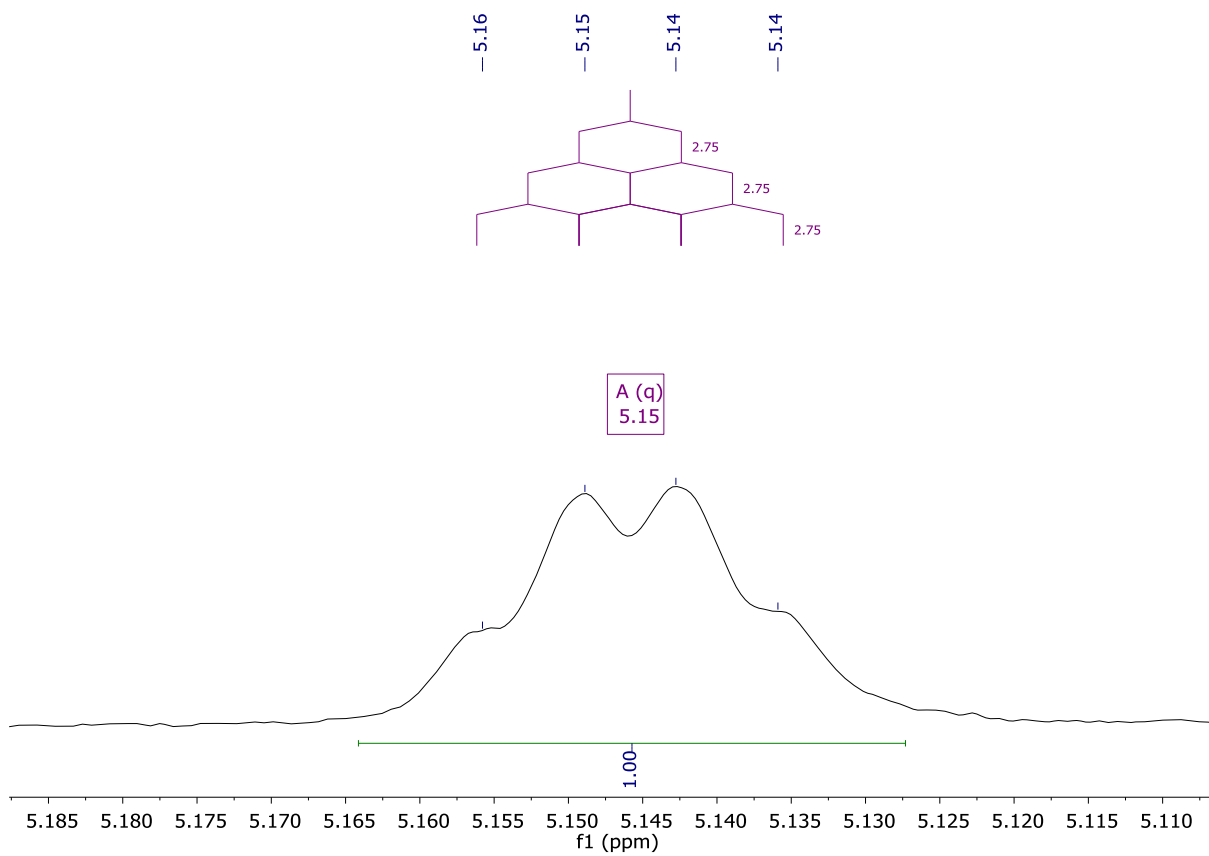


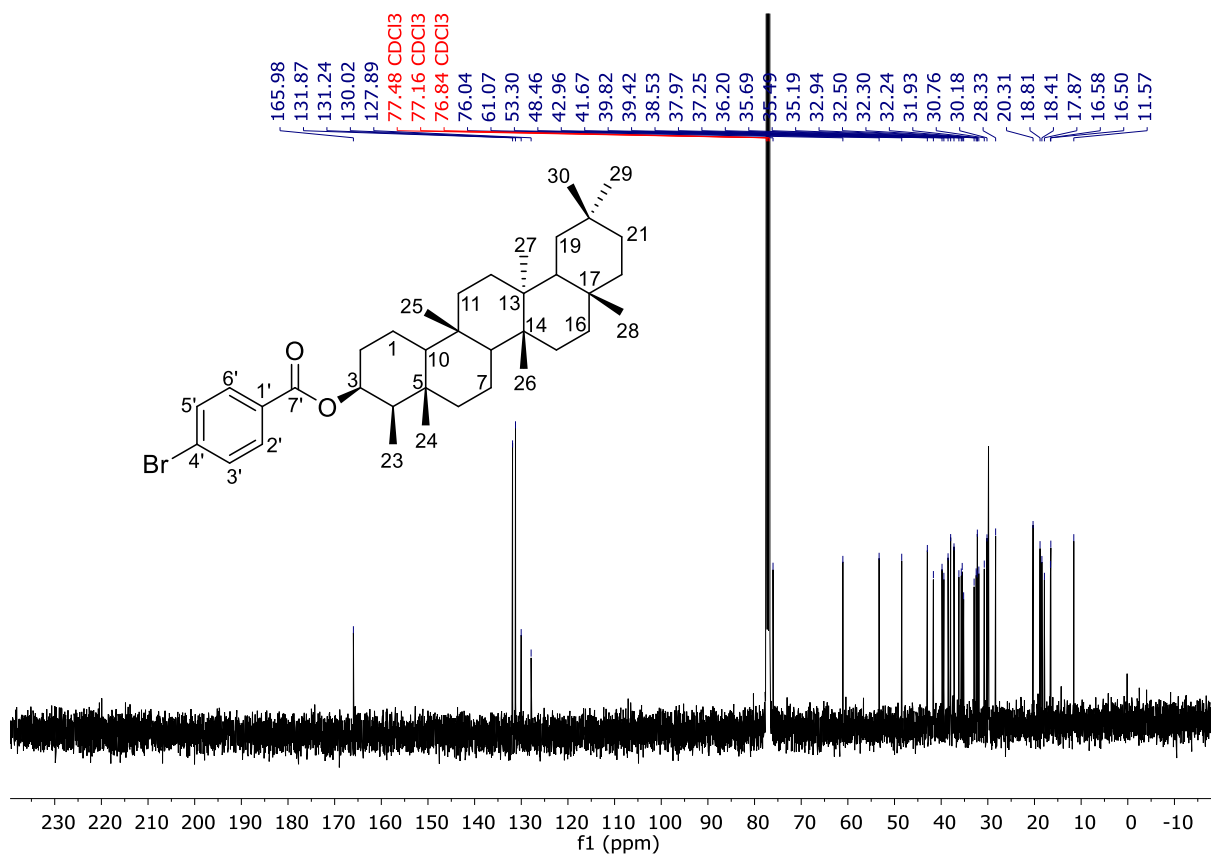
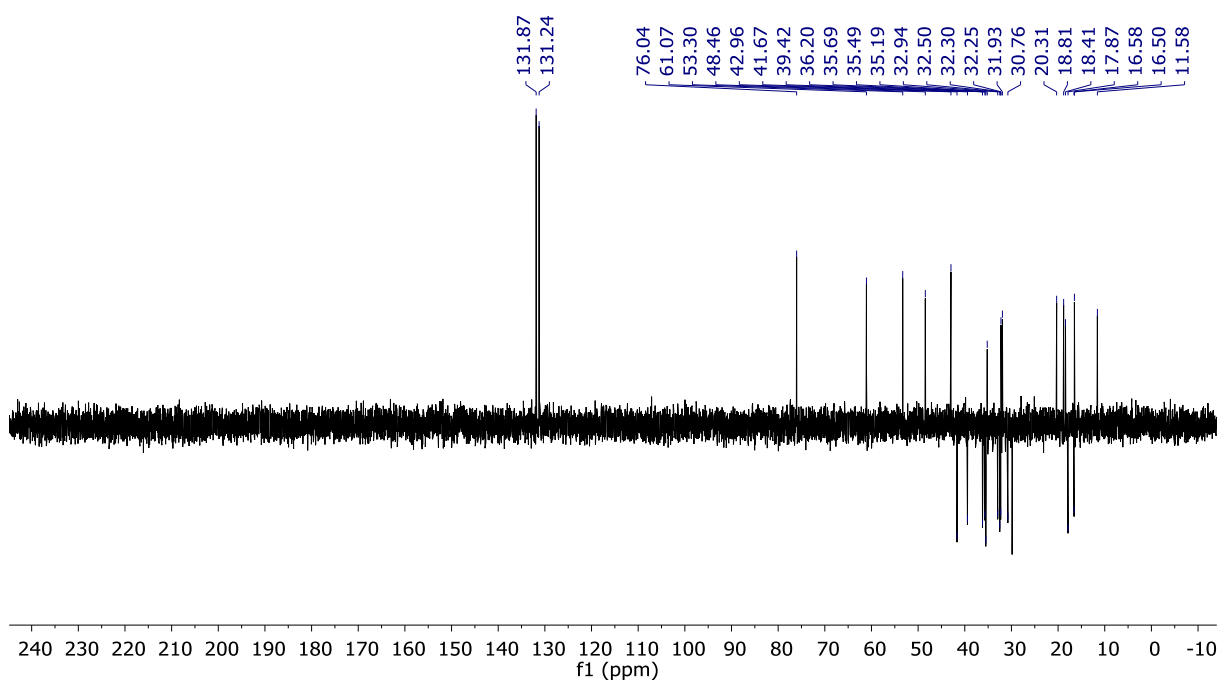
Figura 72 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L2Figura 73 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L2

Figura 74 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L3

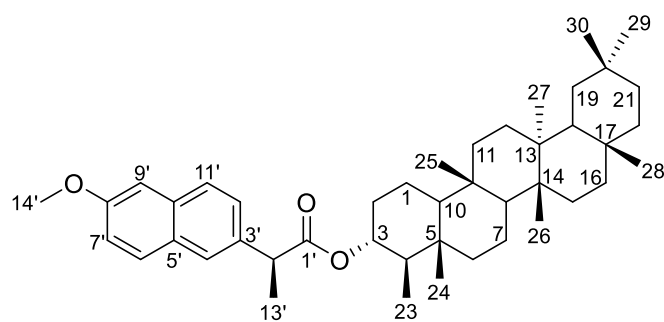
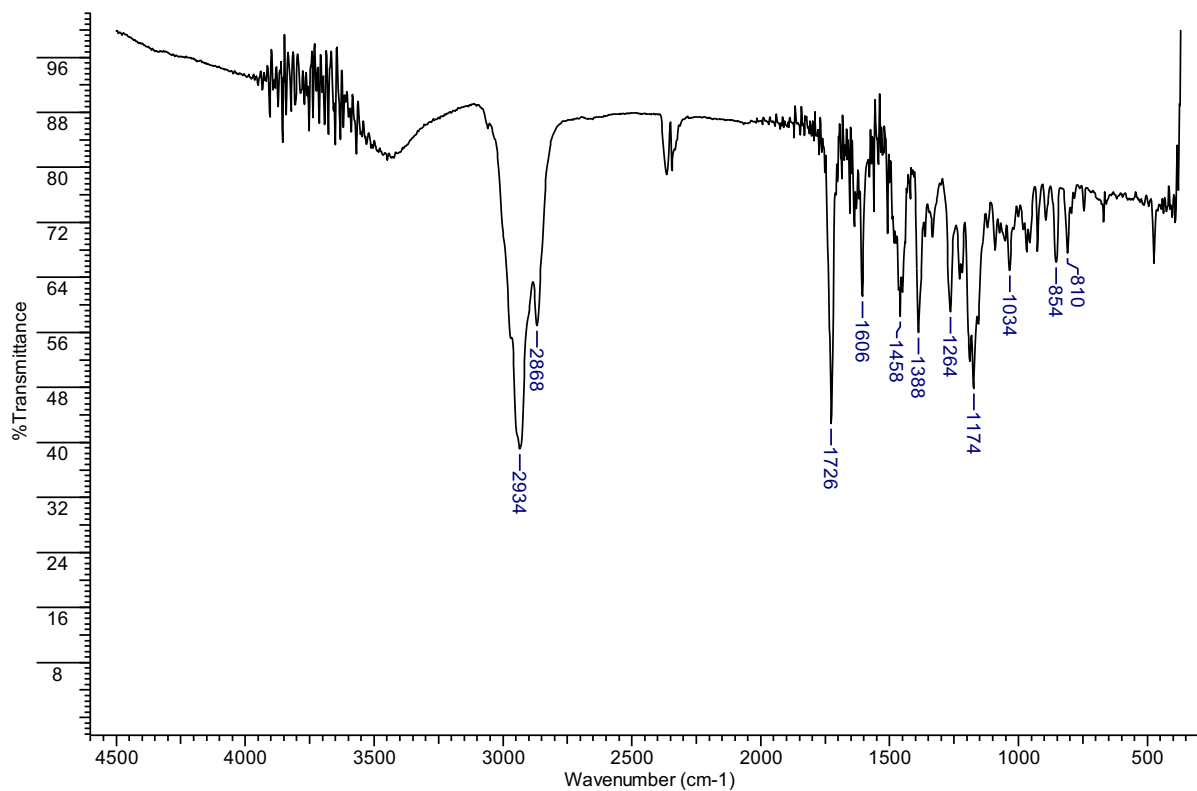
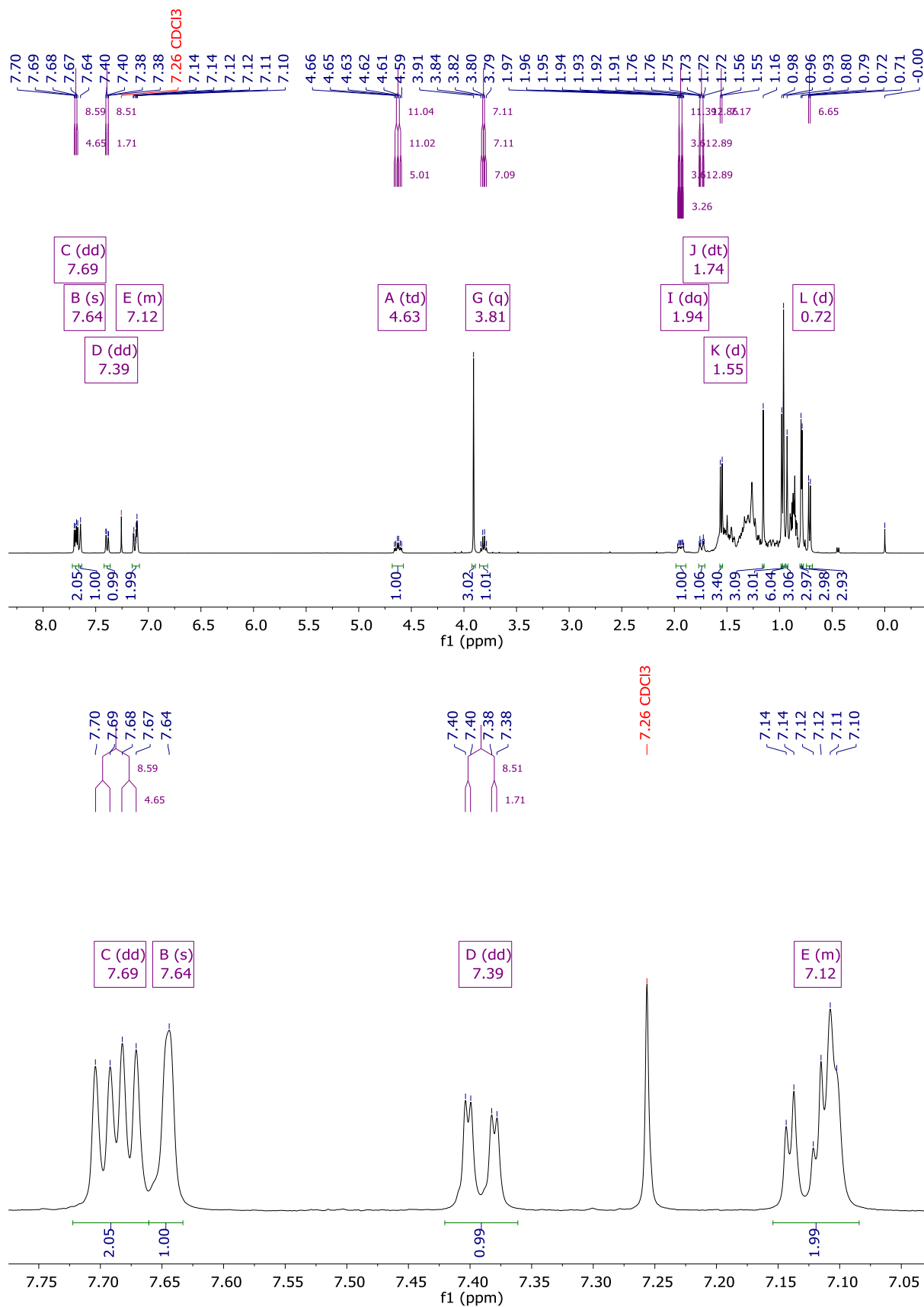


Figura 75 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L3



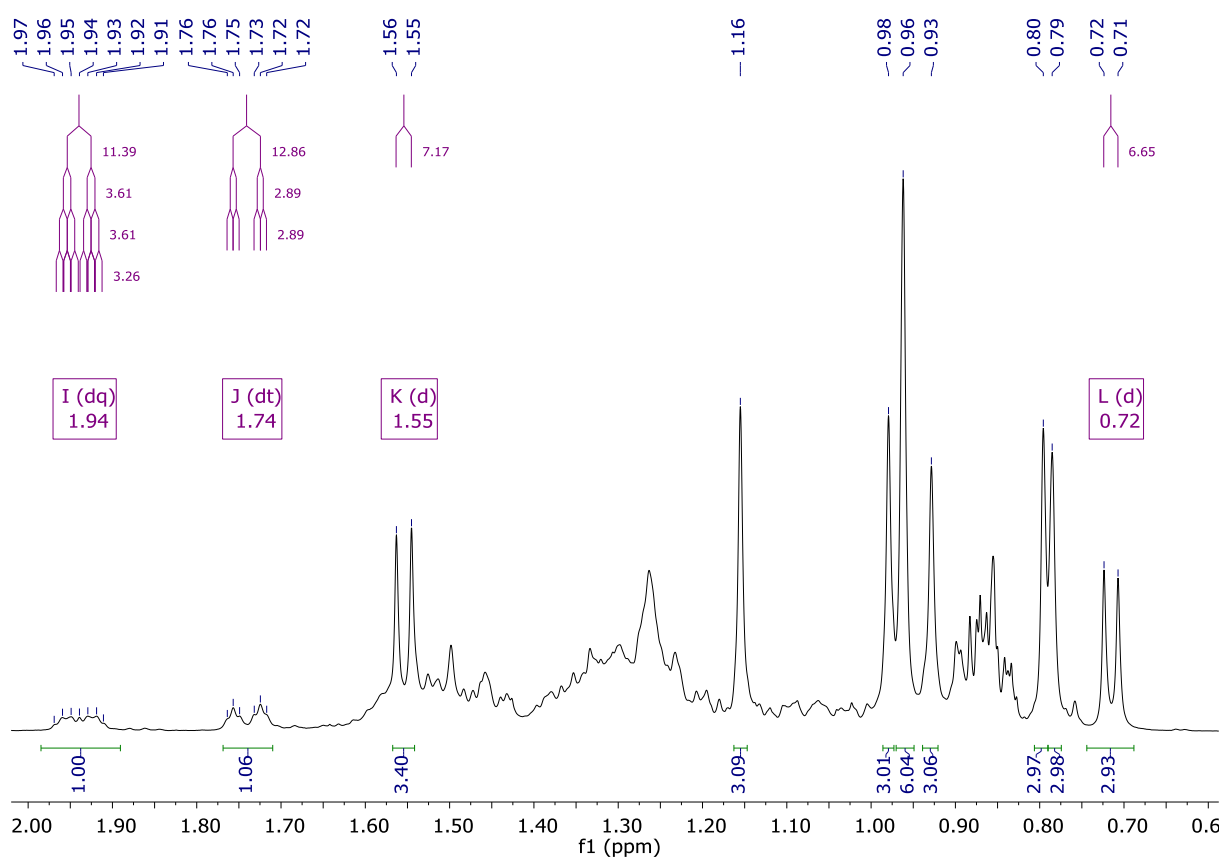
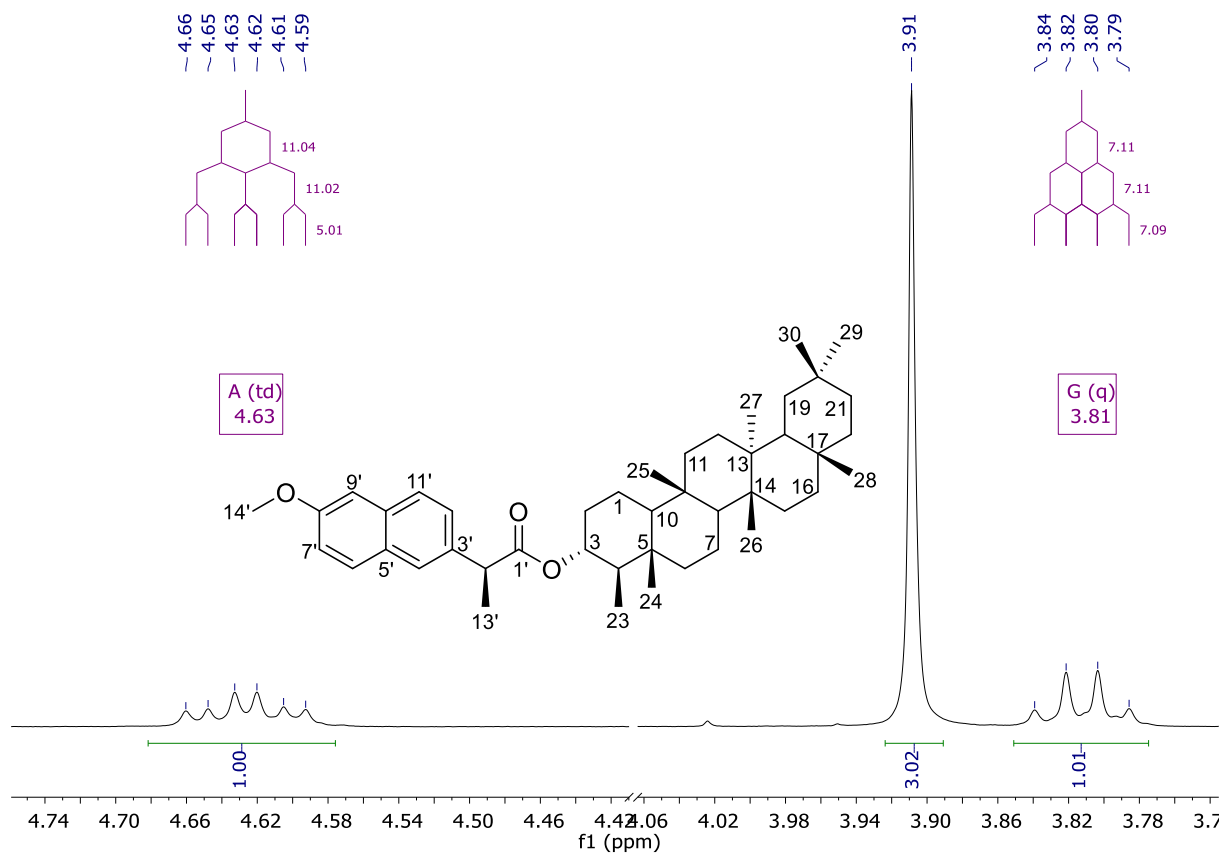


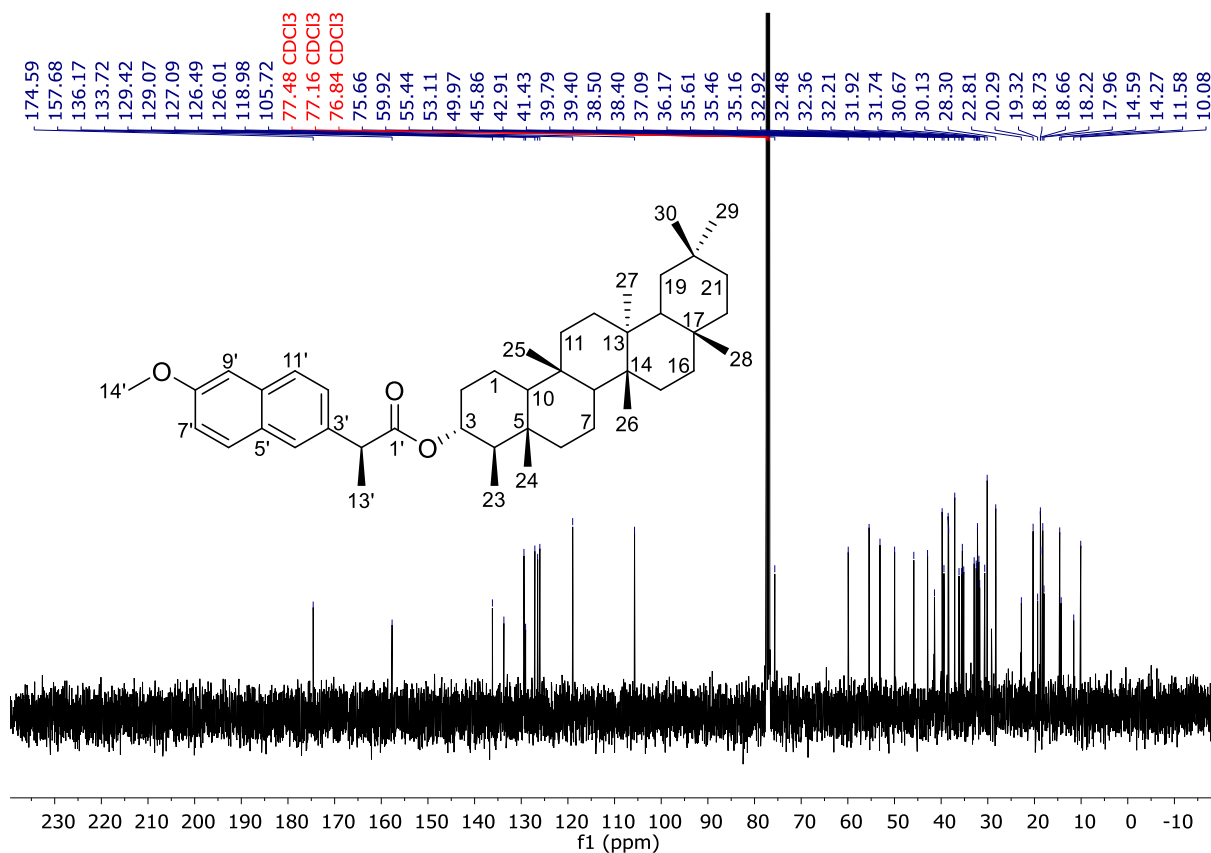
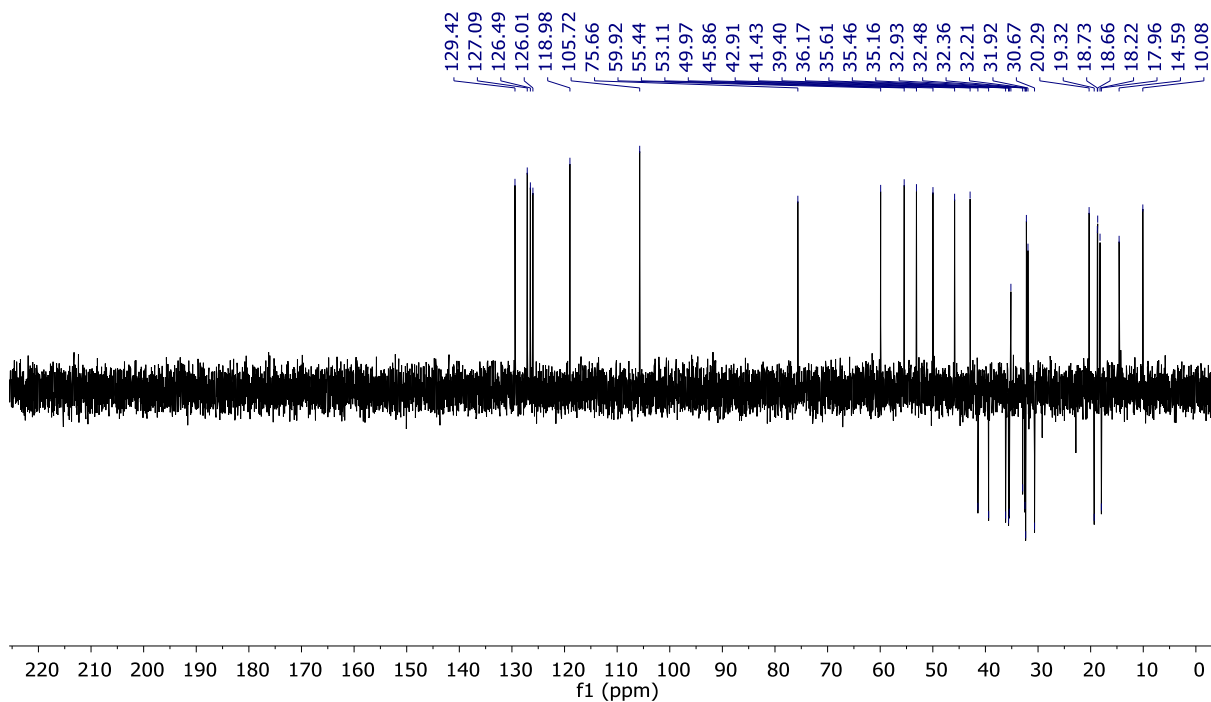
Figura 76 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L3Figura 77 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L3

Figura 78 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L4

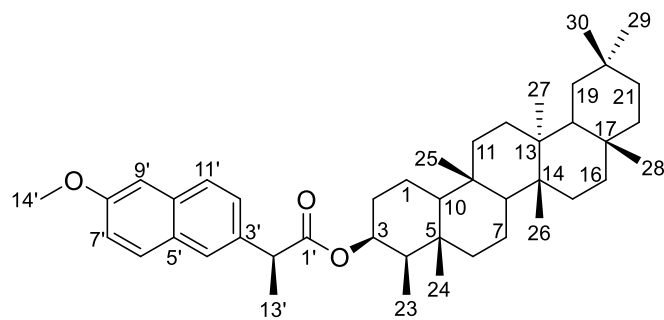
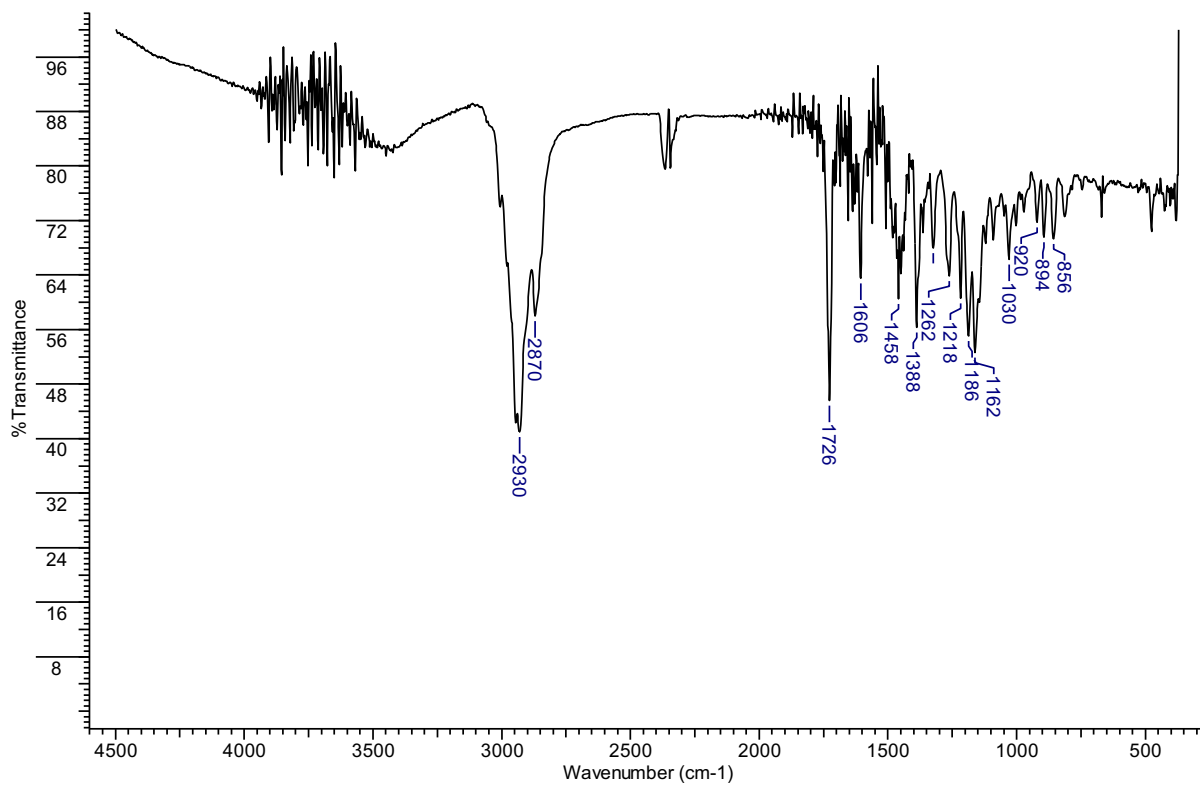
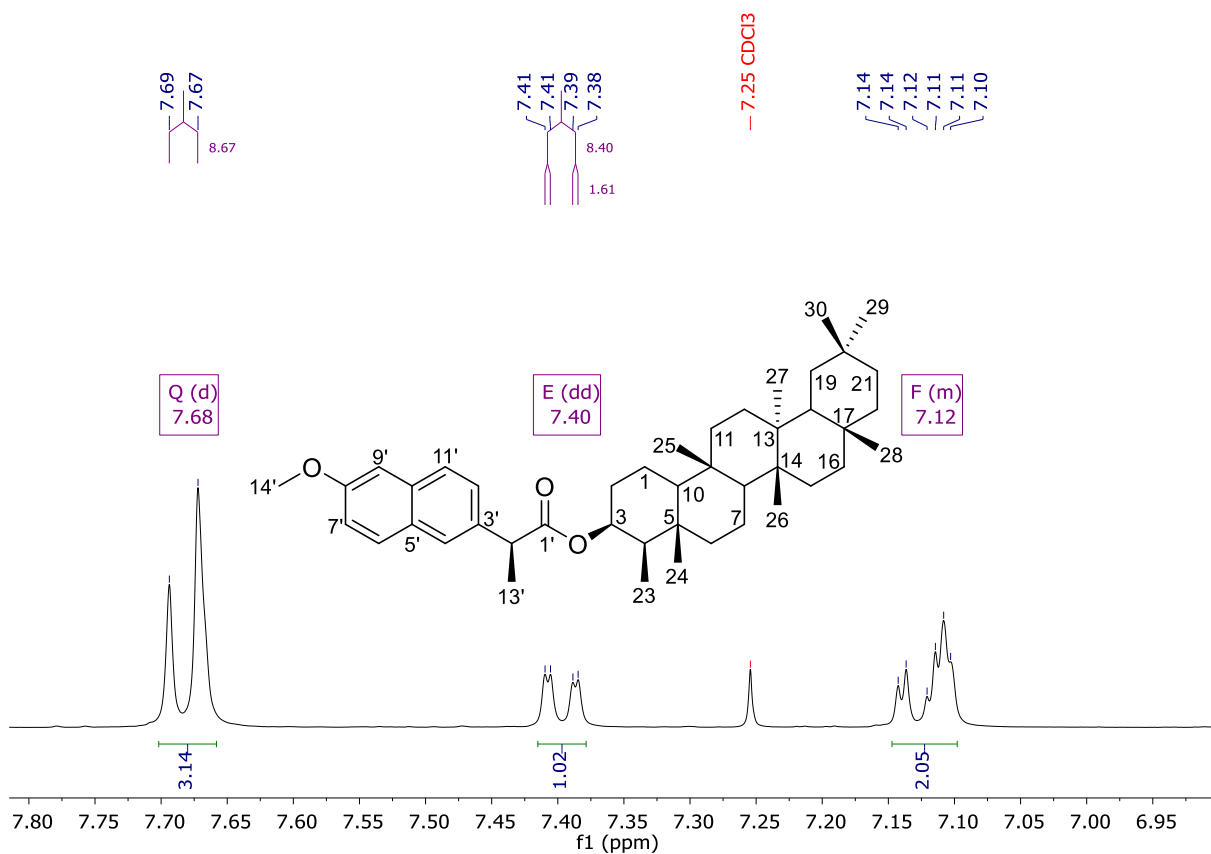
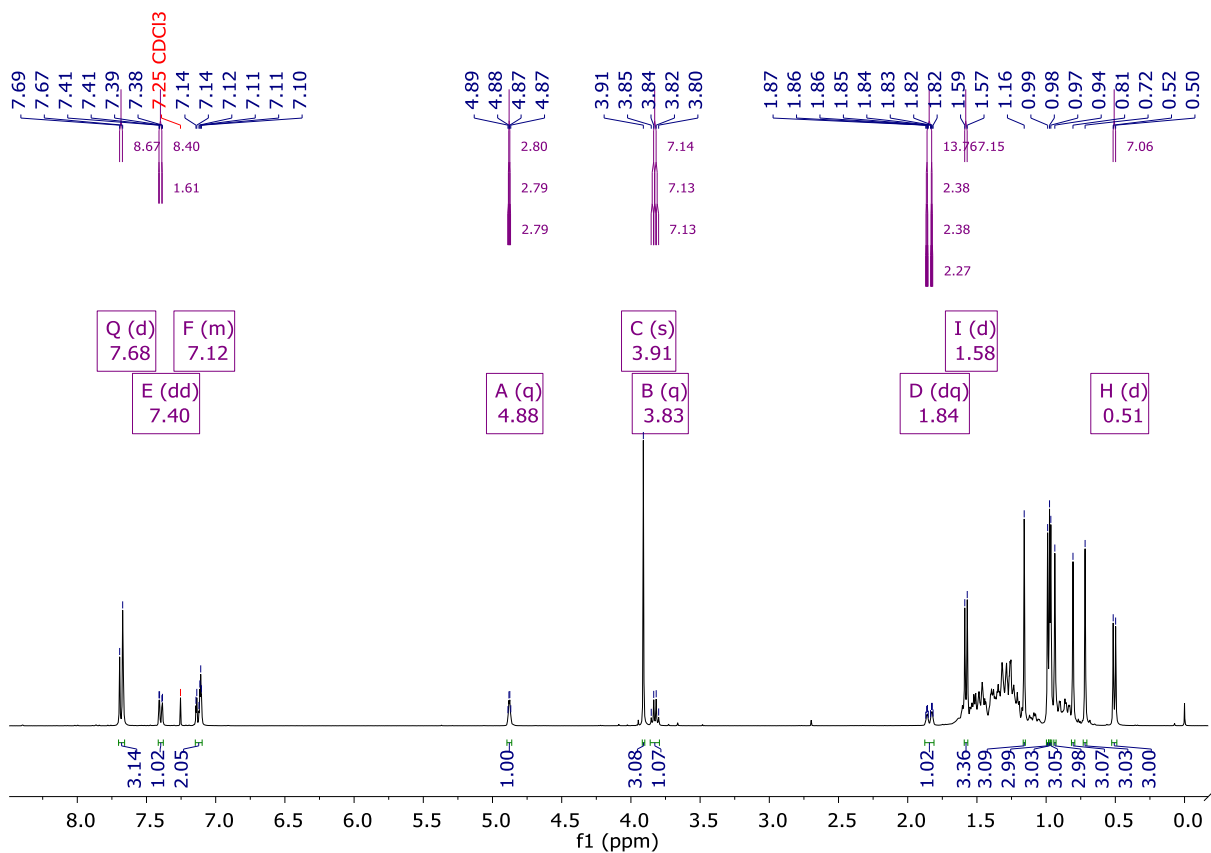


Figura 79 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de **L4**



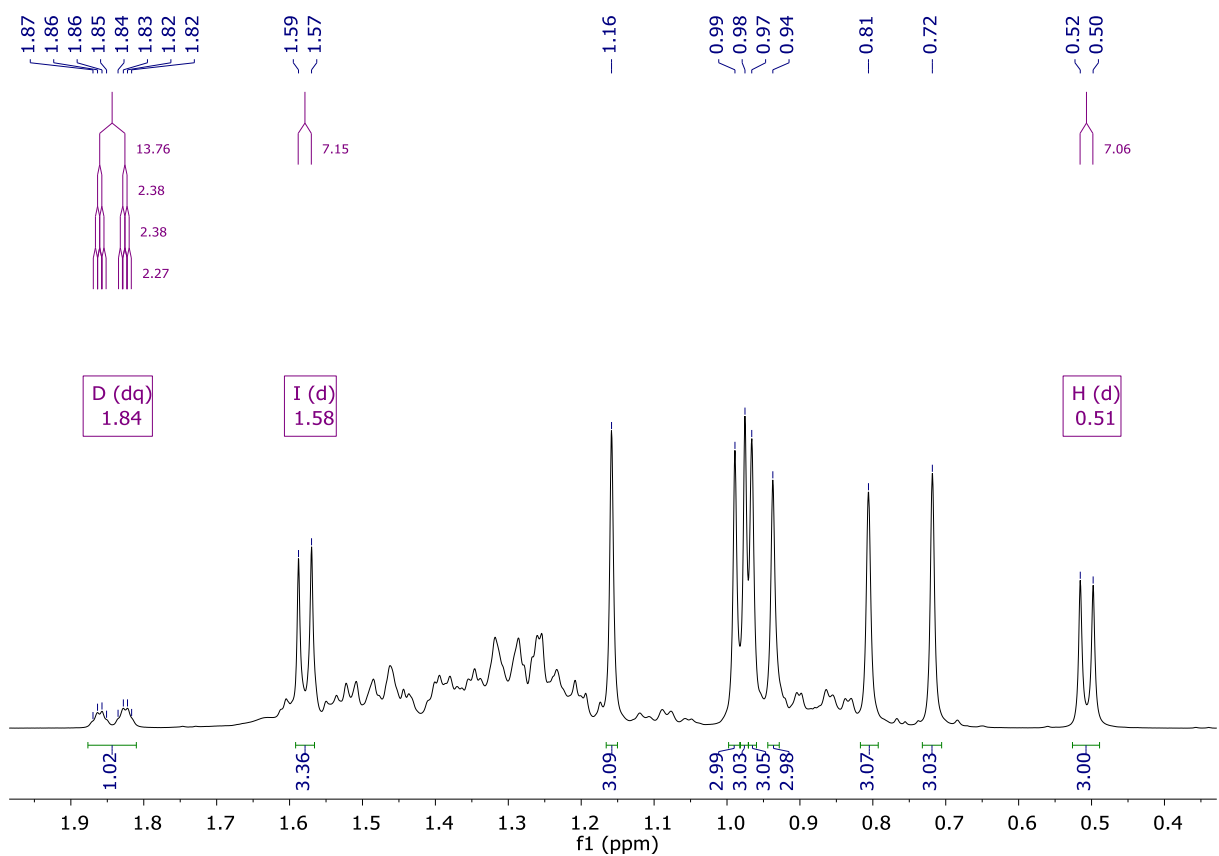
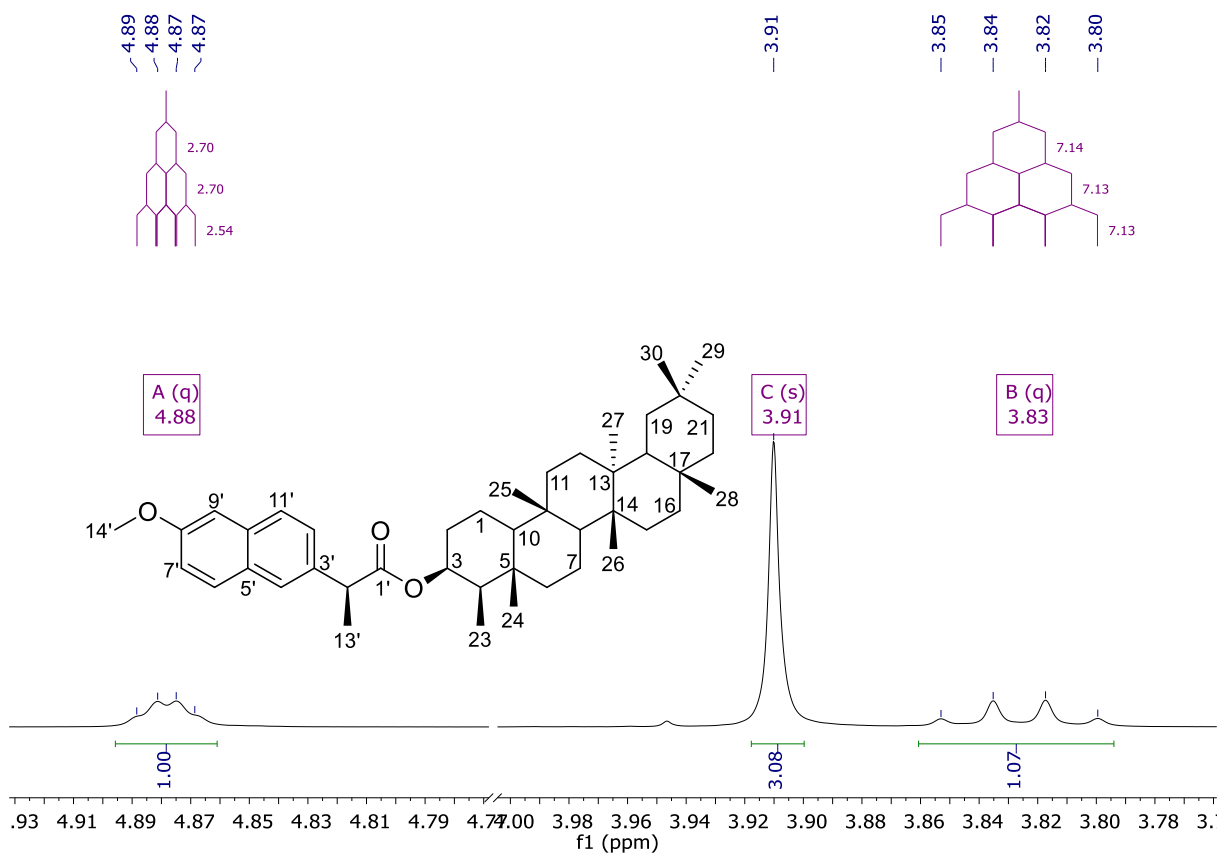


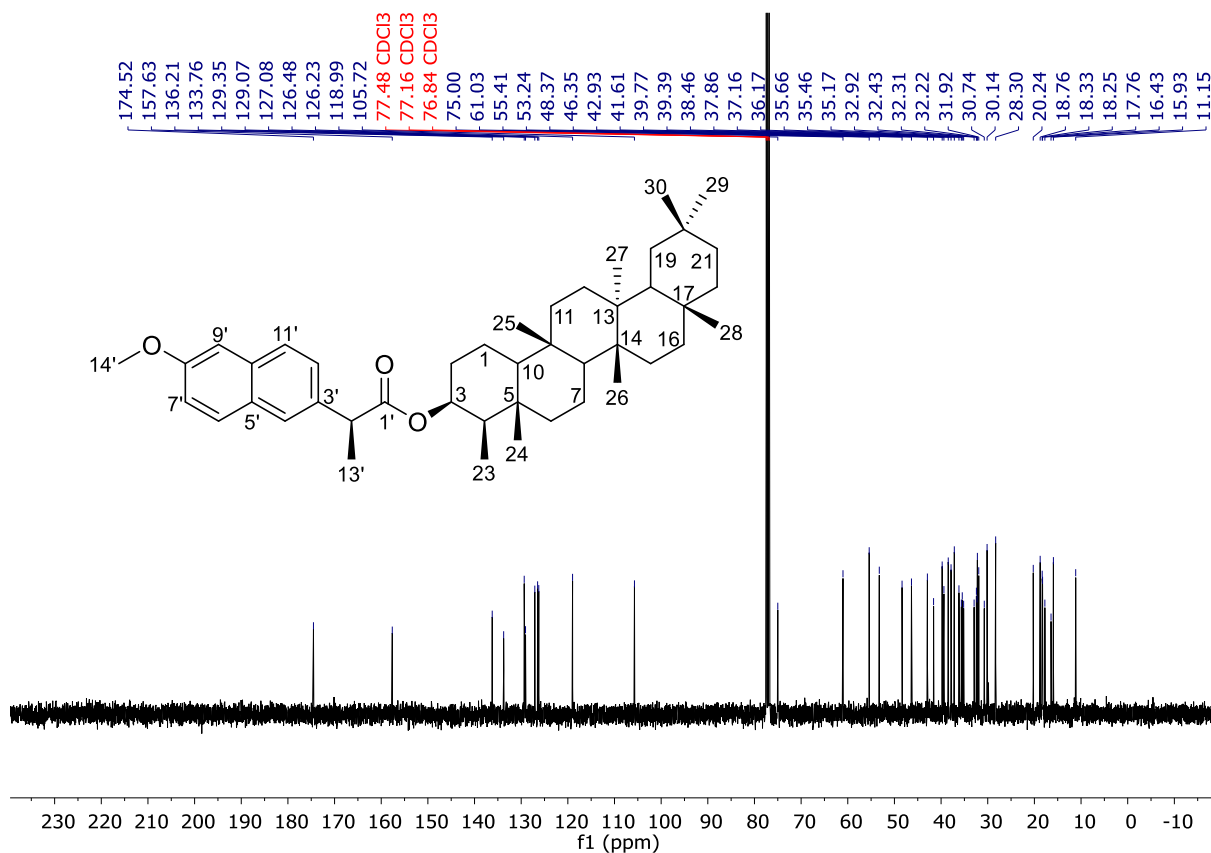
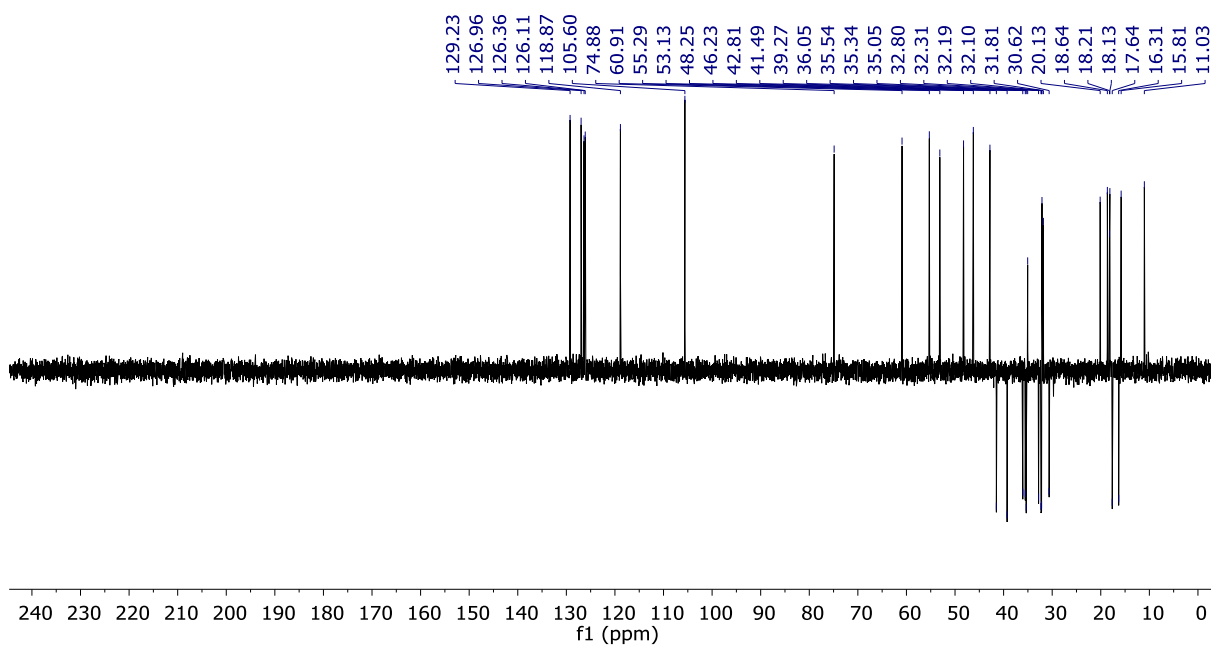
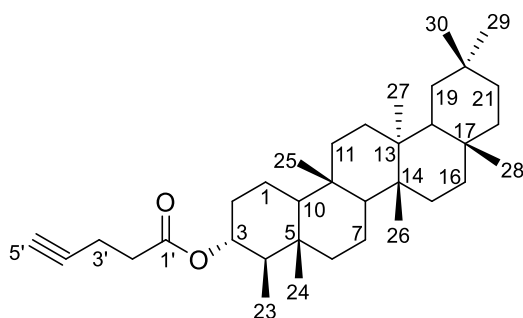
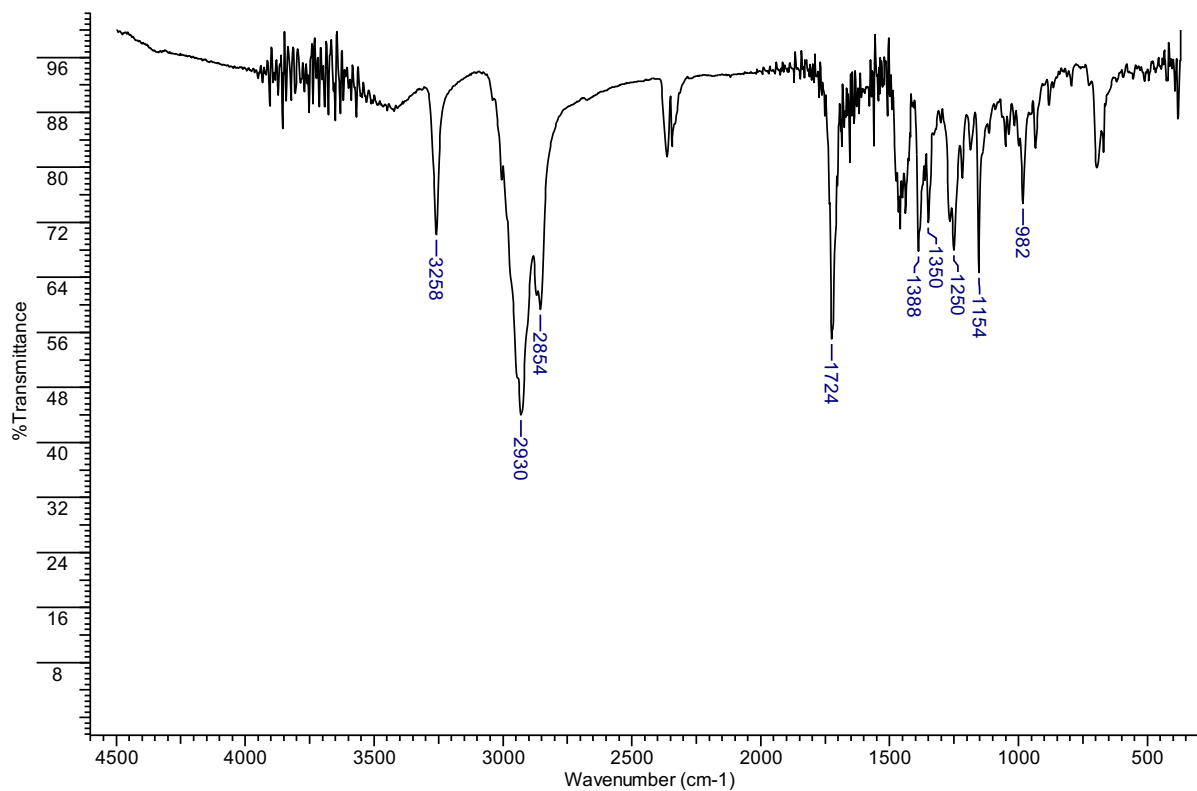
Figura 80 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L4Figura 81 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L4

Figura 82 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L5



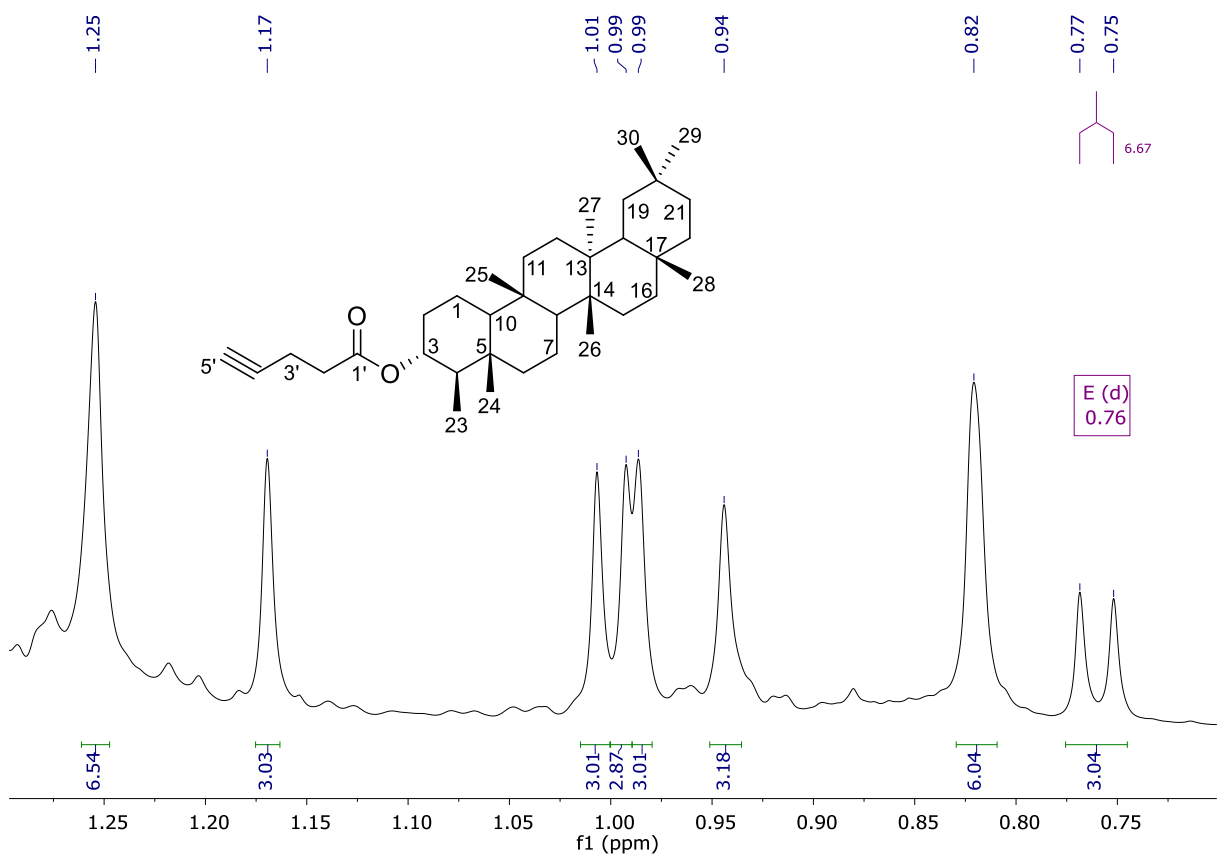
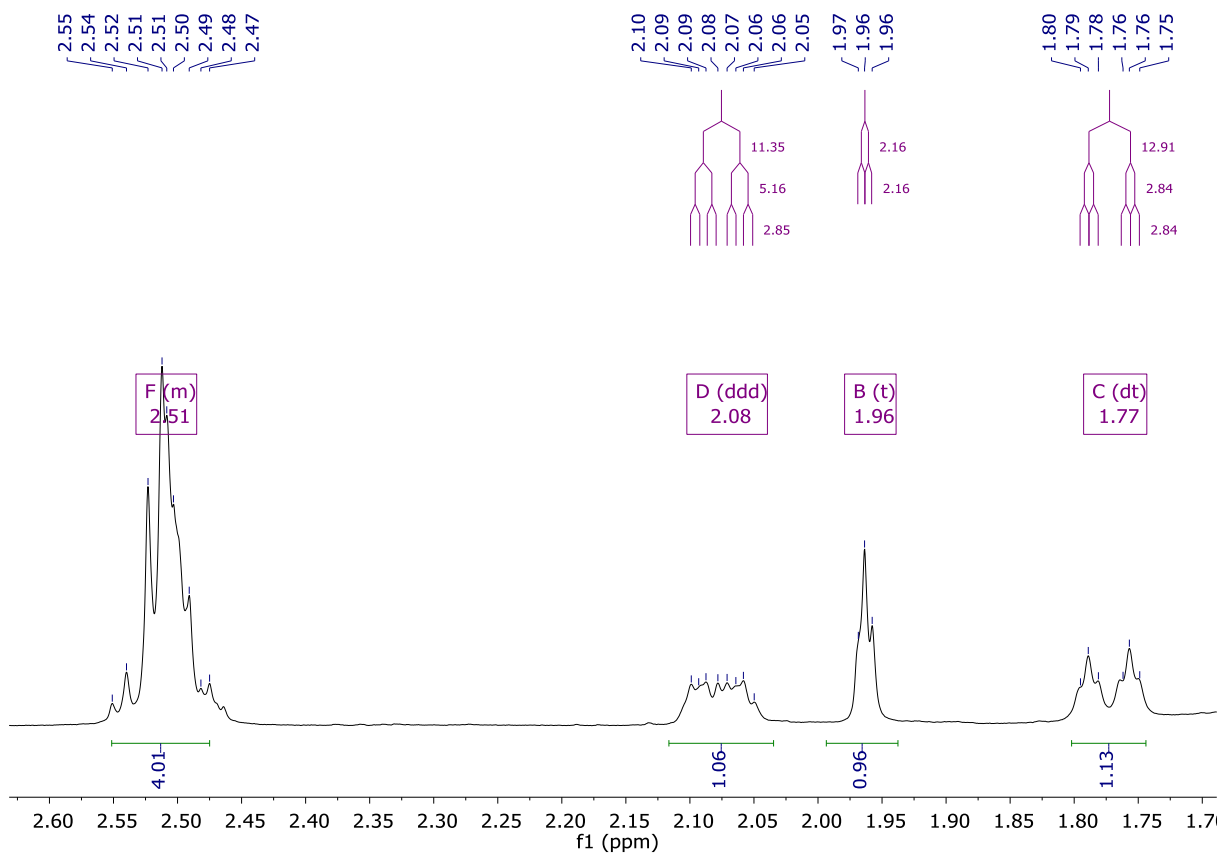


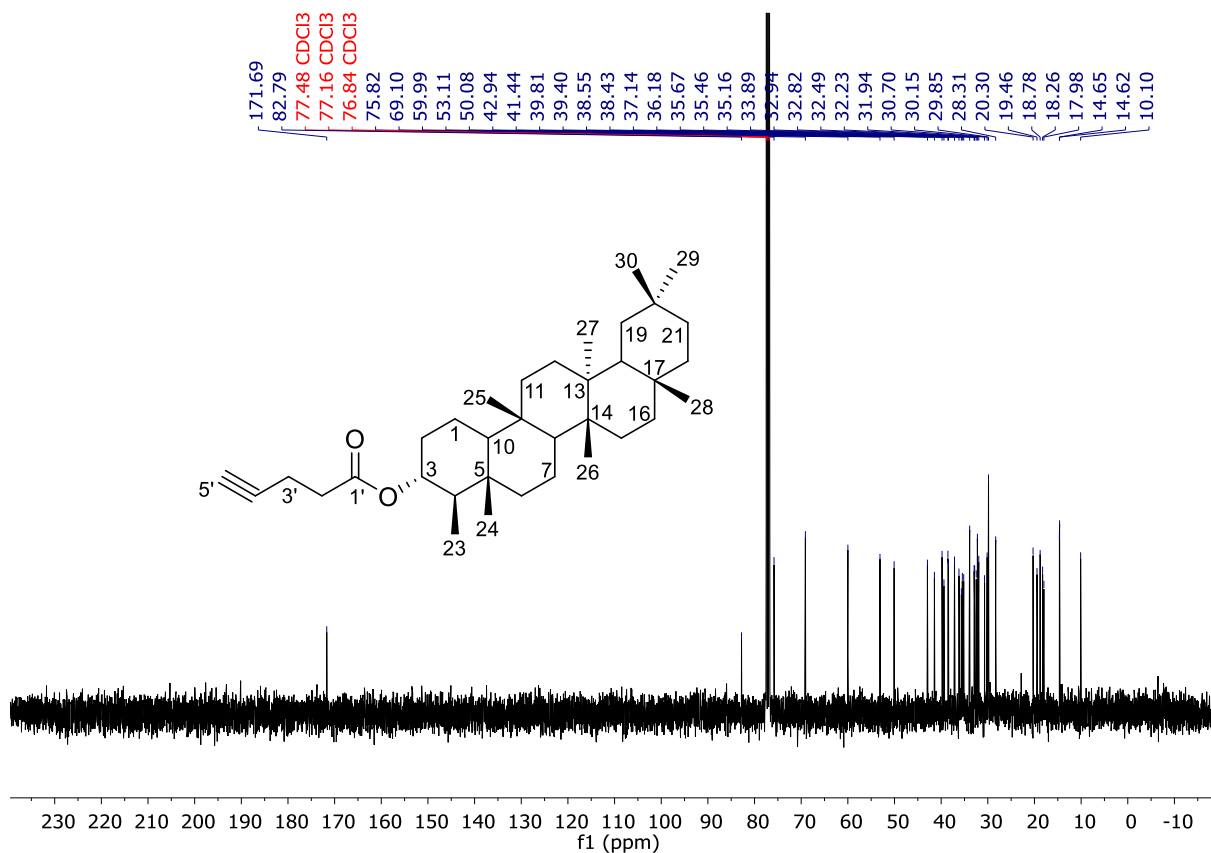
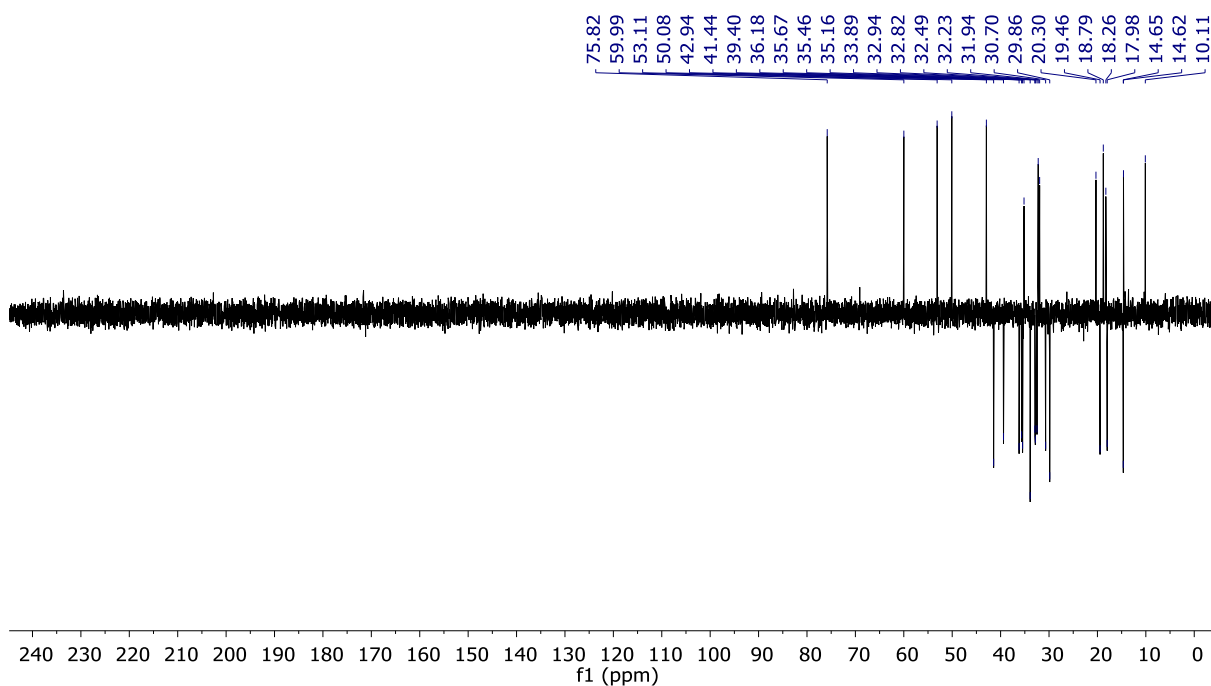
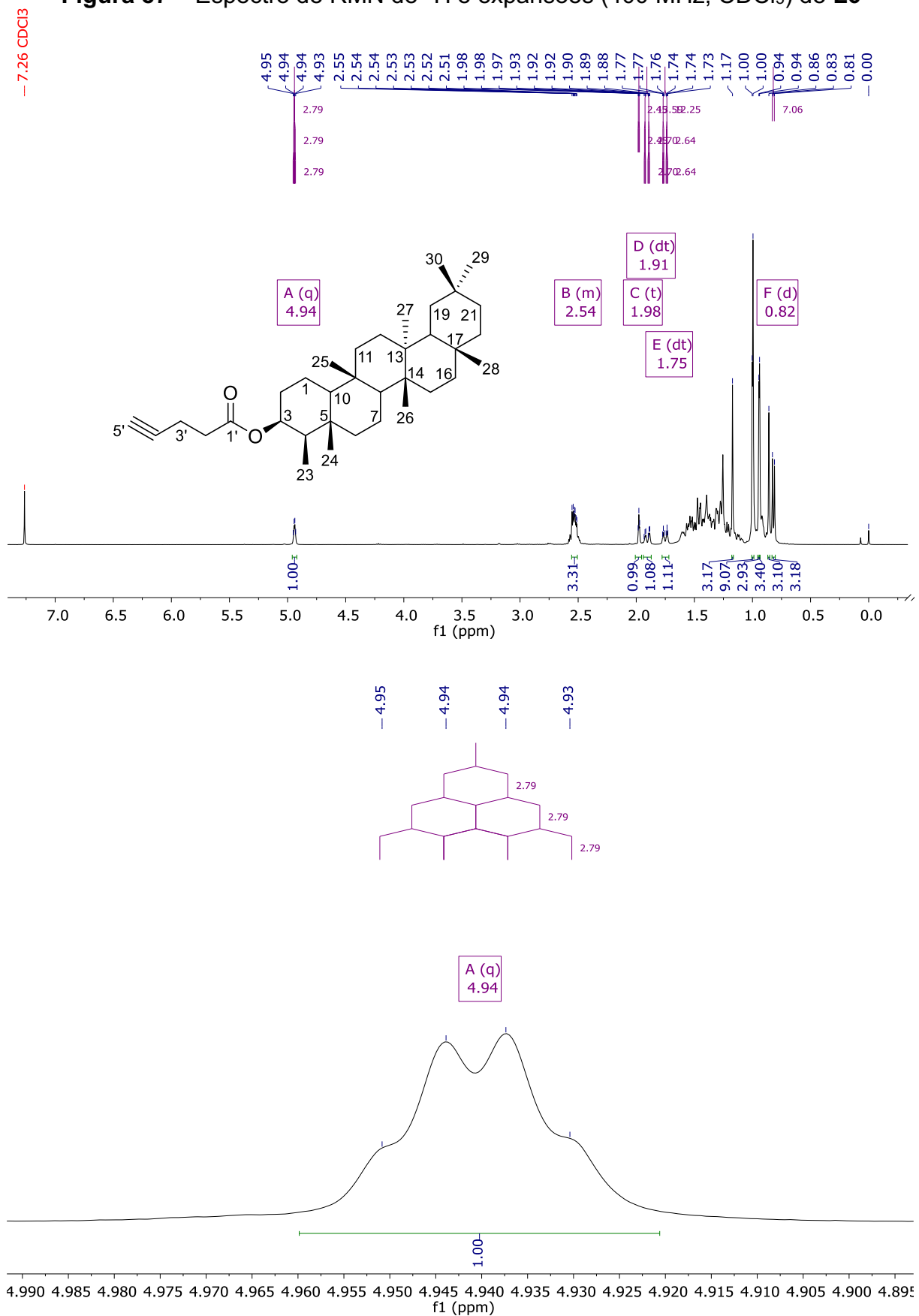
Figura 84 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L5Figura 85 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L5

Figura 87 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L6

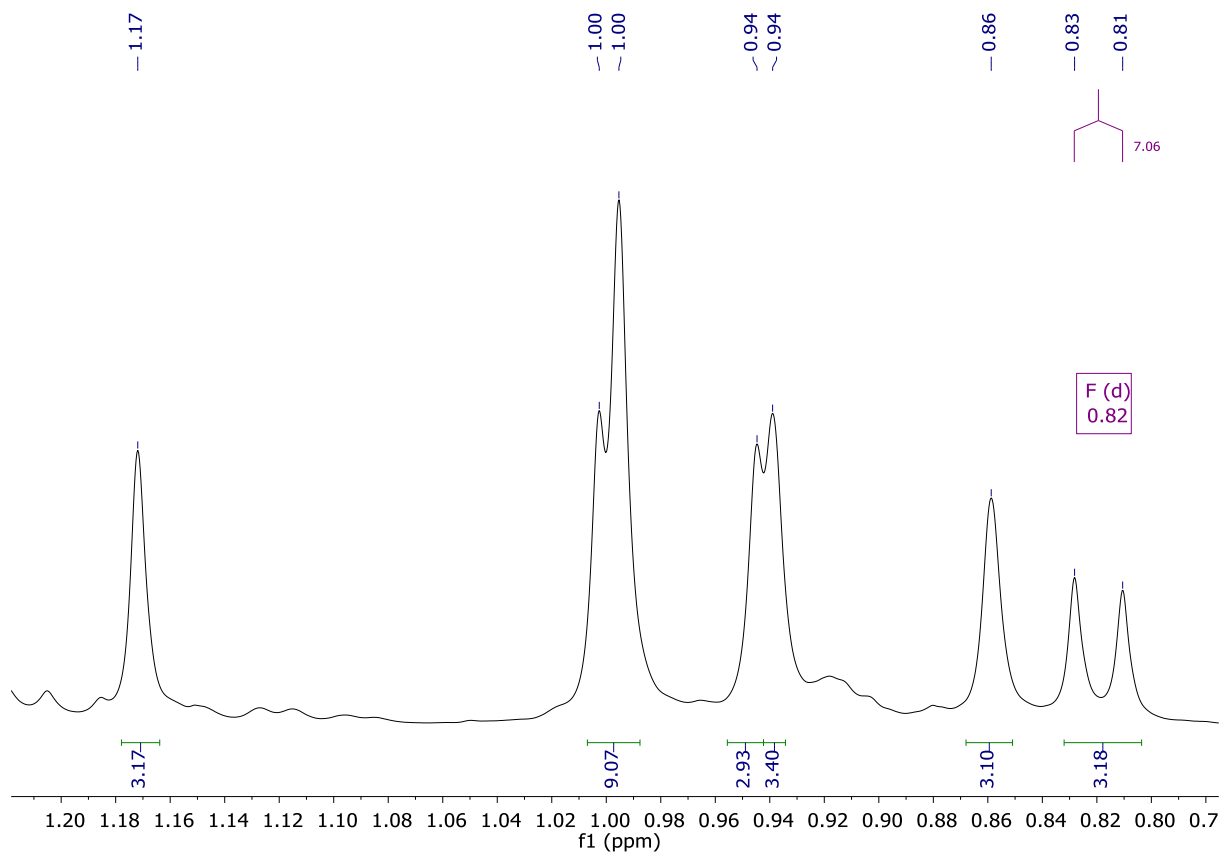
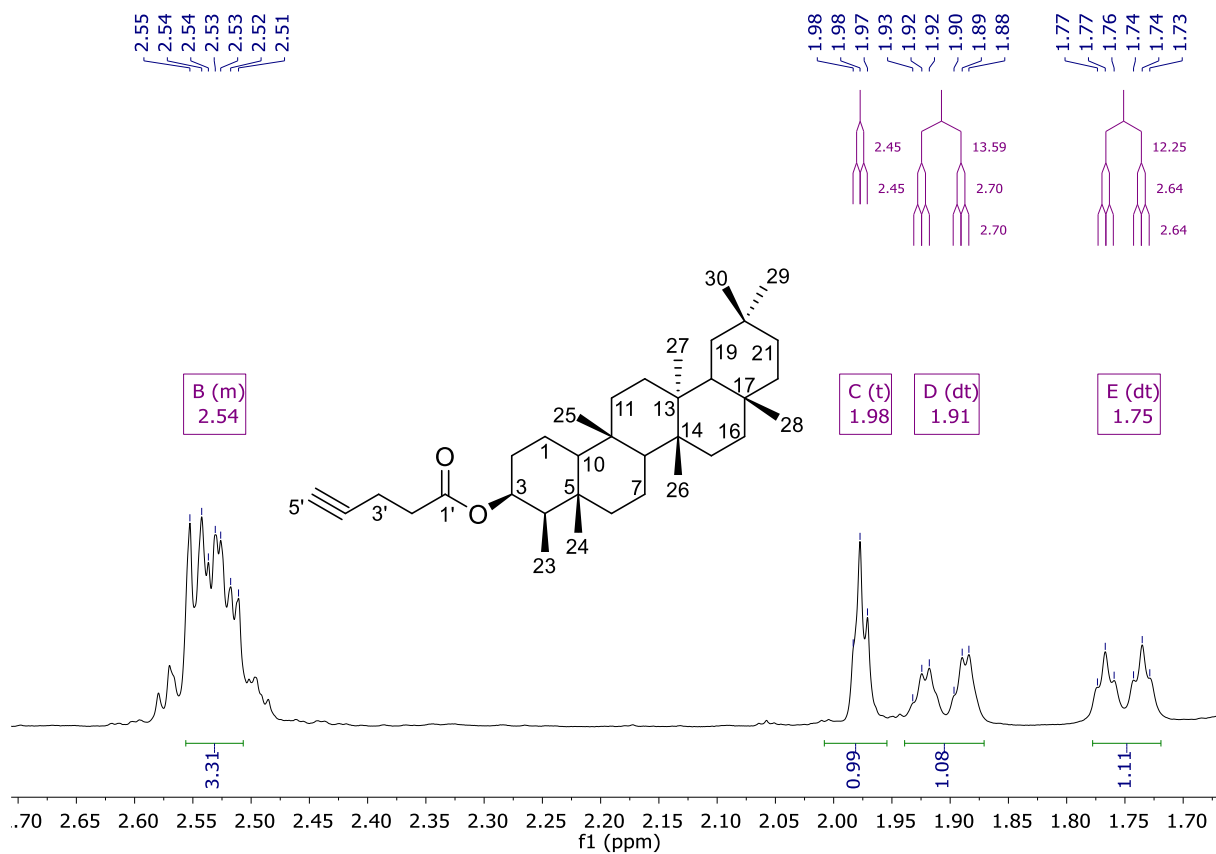


Figura 88 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L6

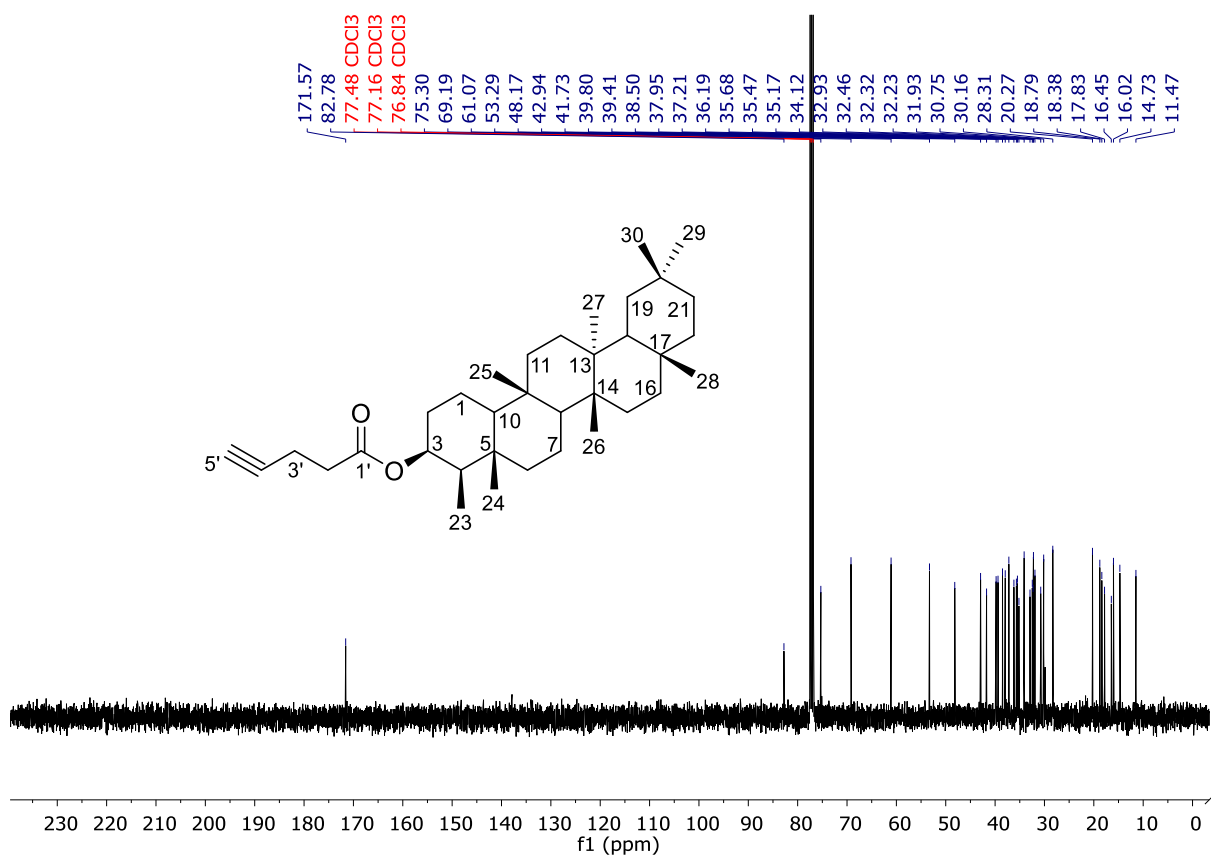


Figura 89 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L6

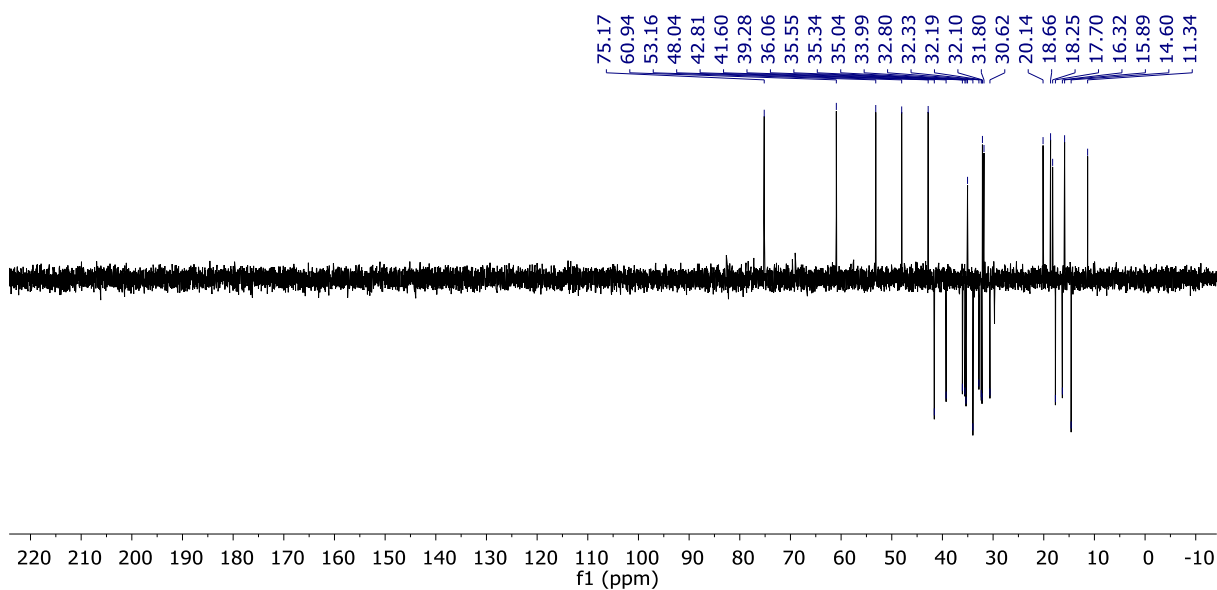


Figura 90 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L7

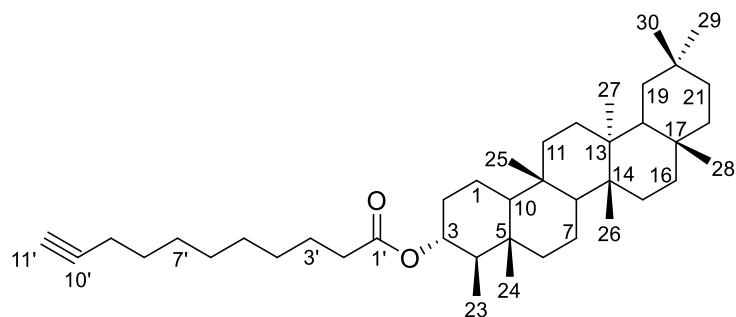
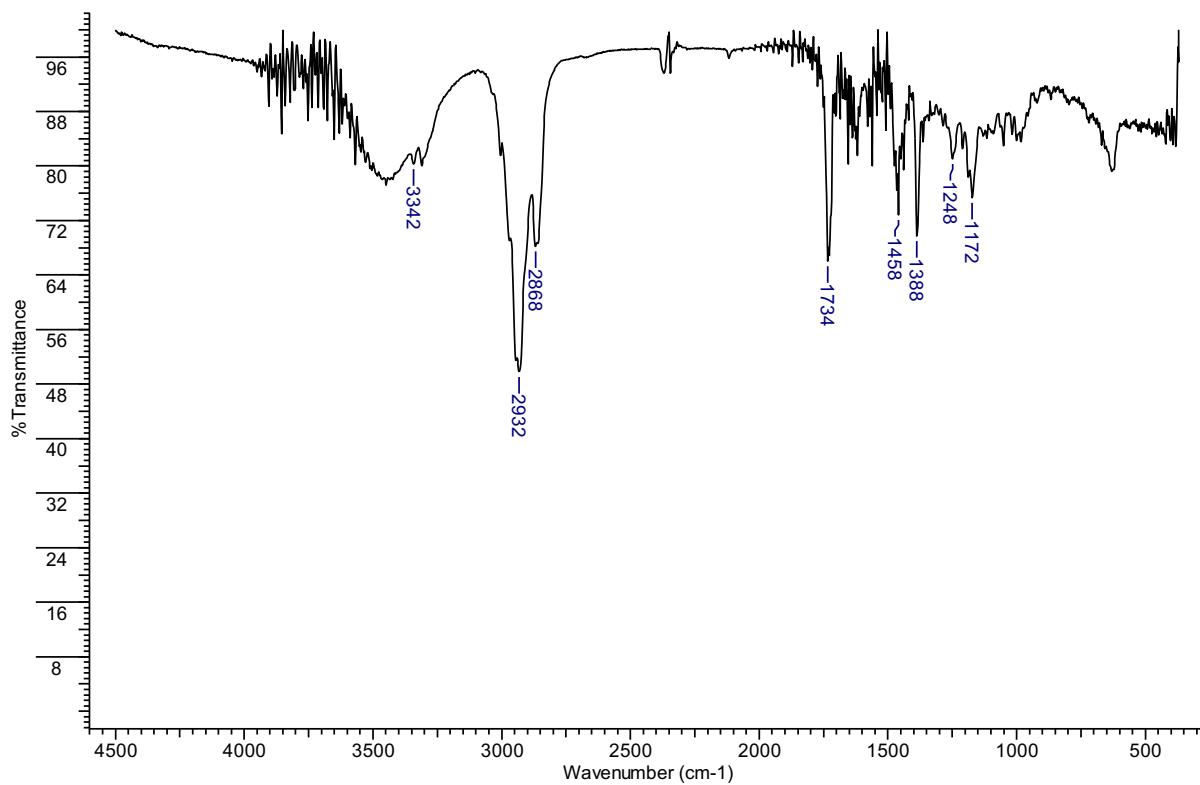
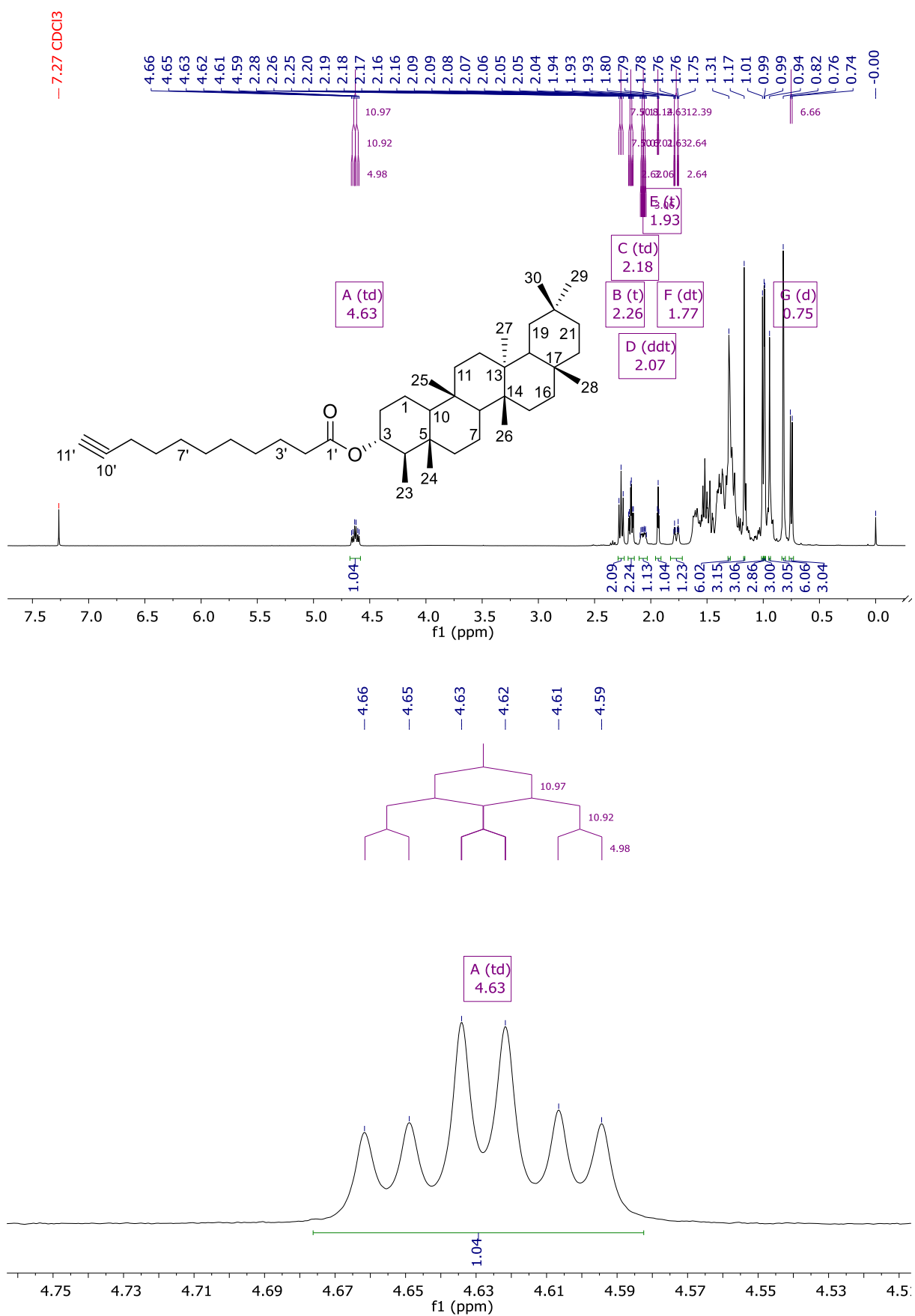


Figura 91 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (400 MHz, CDCl_3) de L7

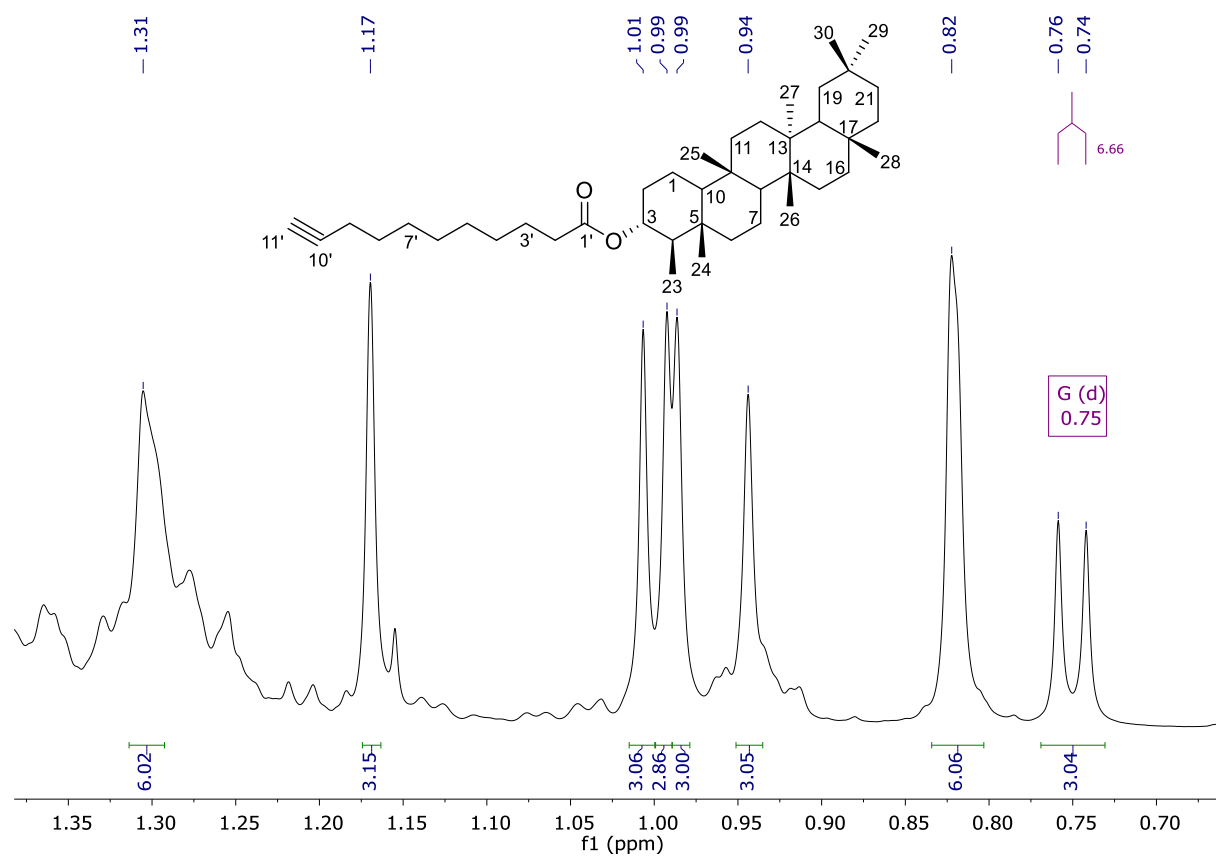
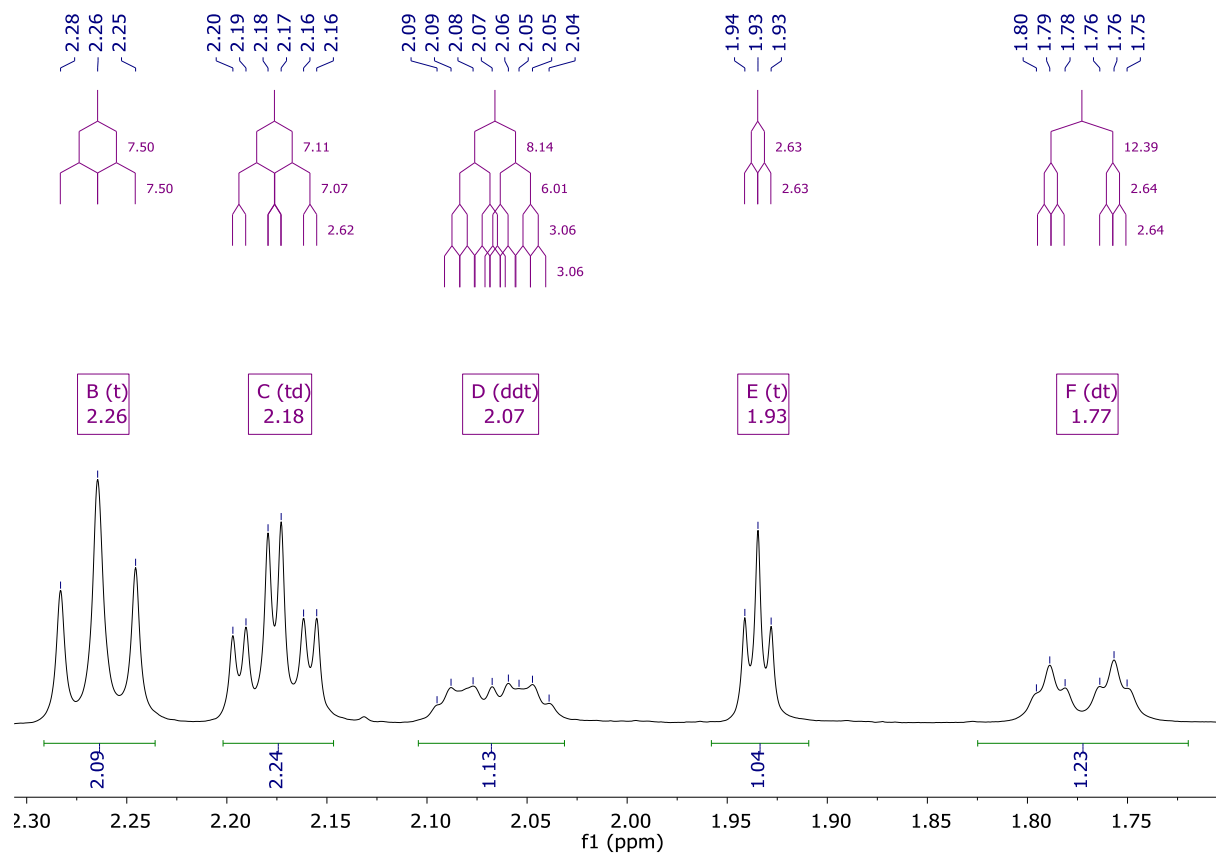


Figura 92 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L7

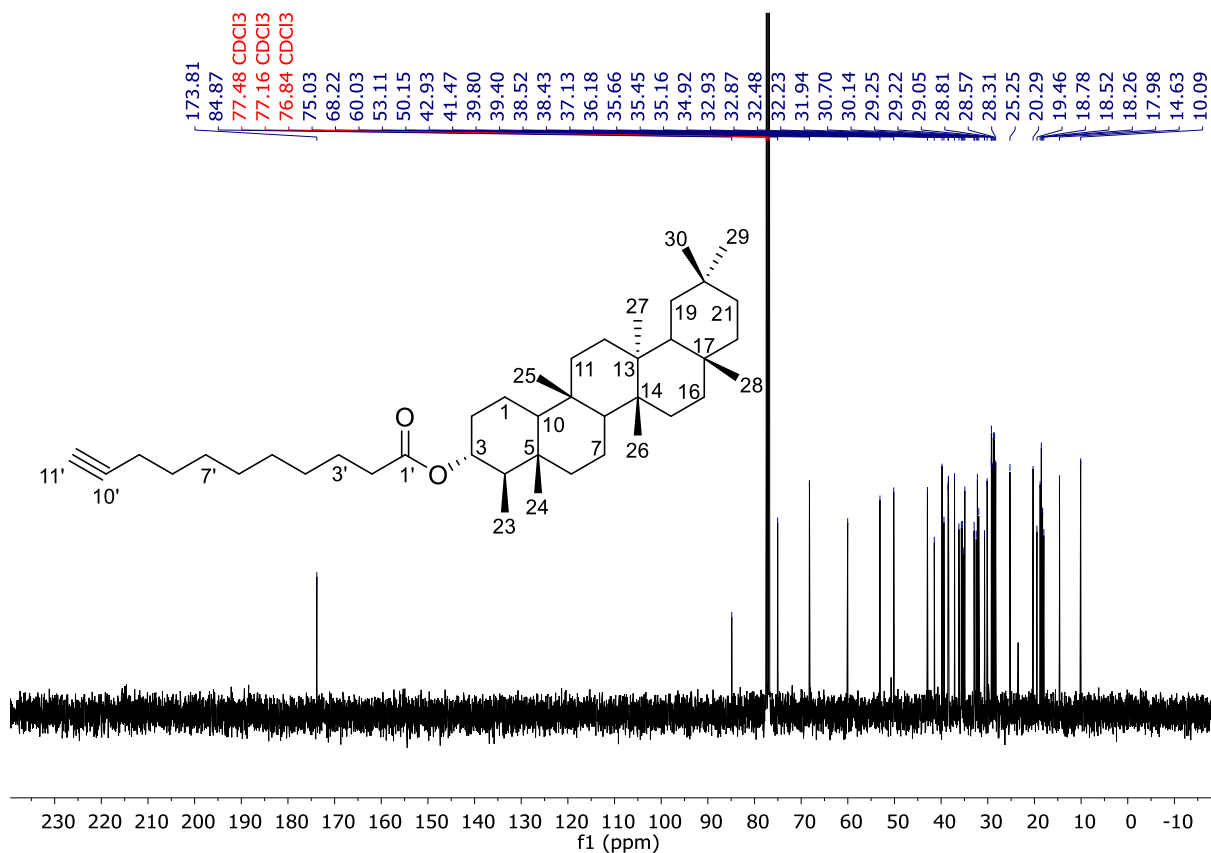


Figura 93 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de L7

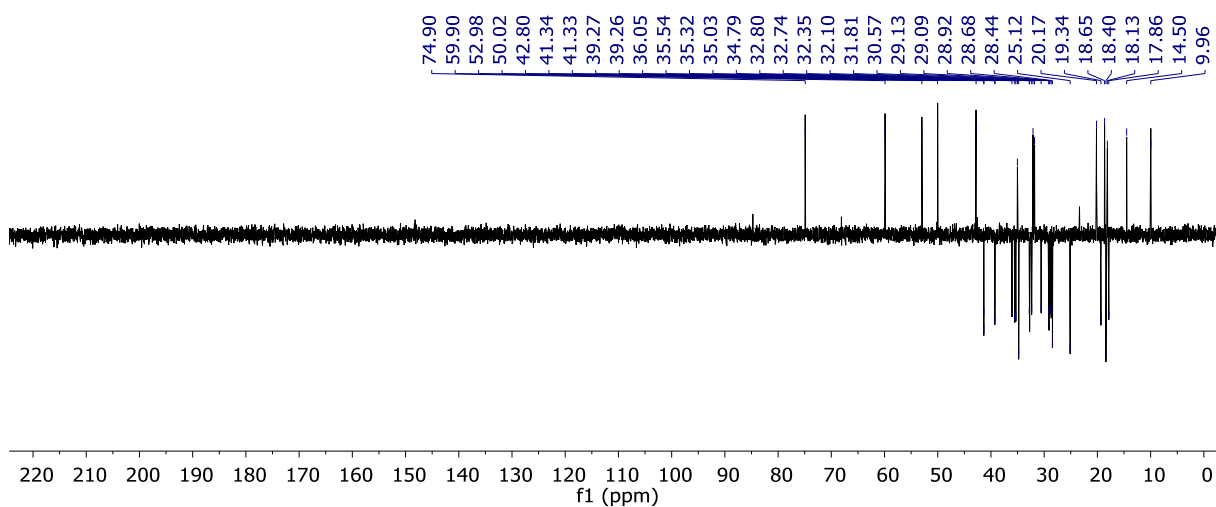


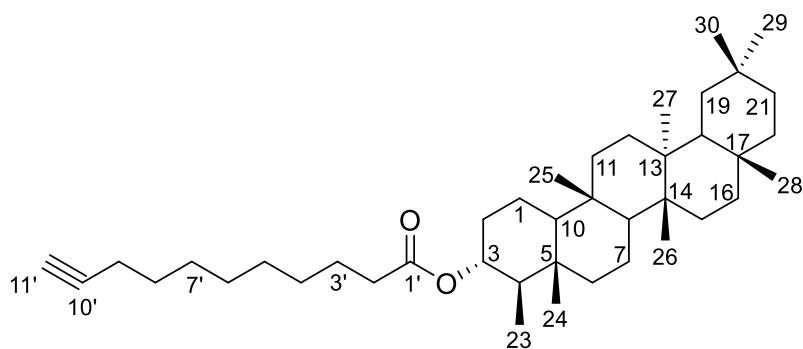
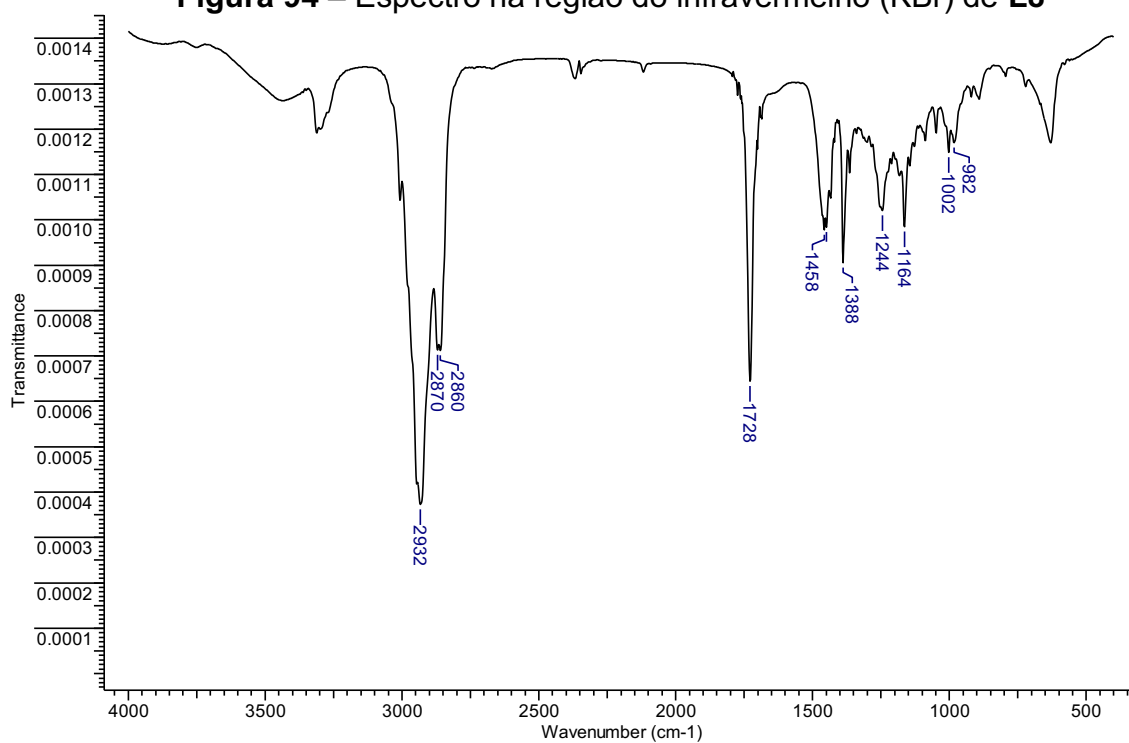
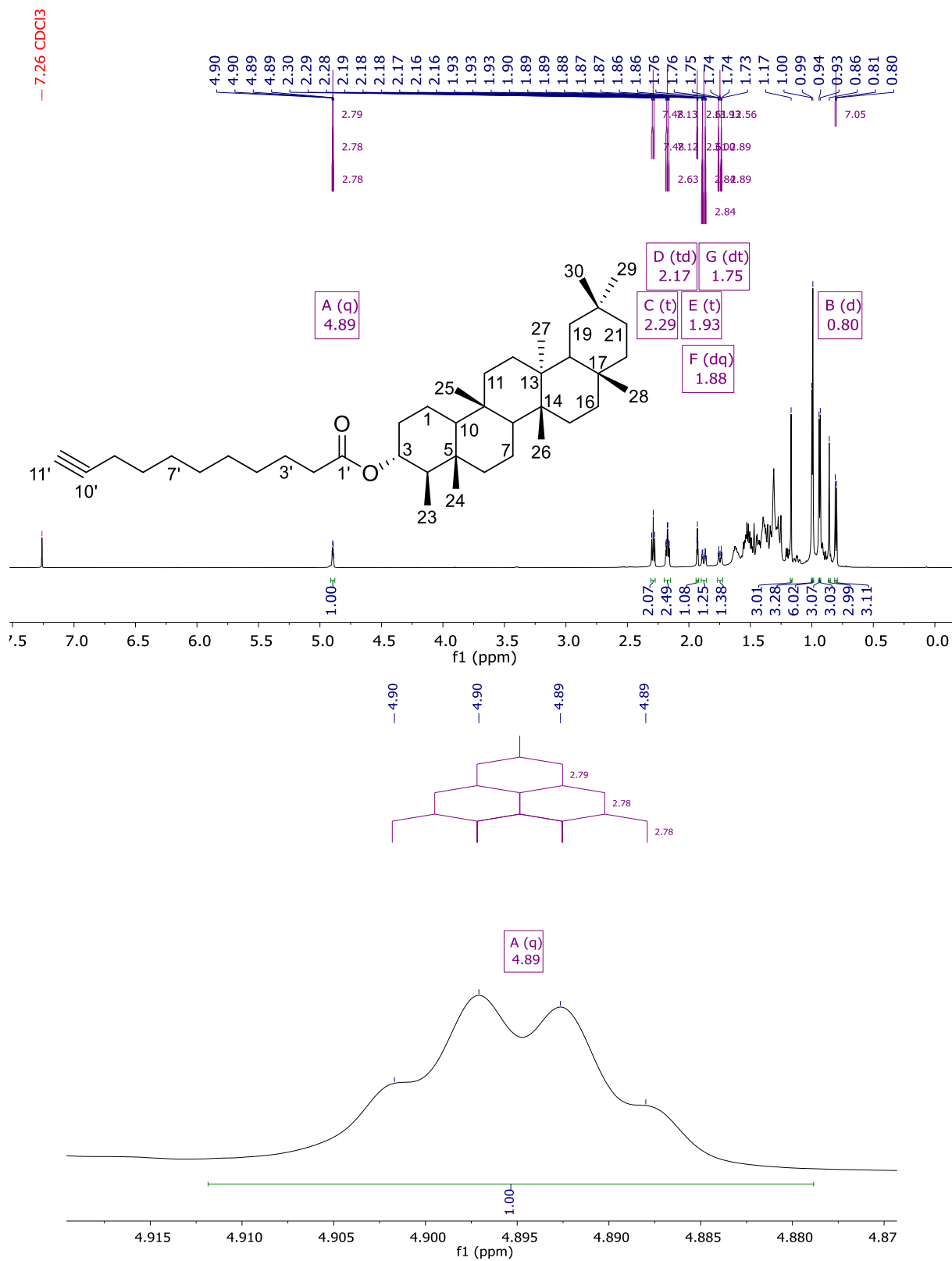
Figura 94 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de L8

Figura 95 – Espectro de RMN de ^1H e expansões (600 MHz, CDCl_3) de **L8**



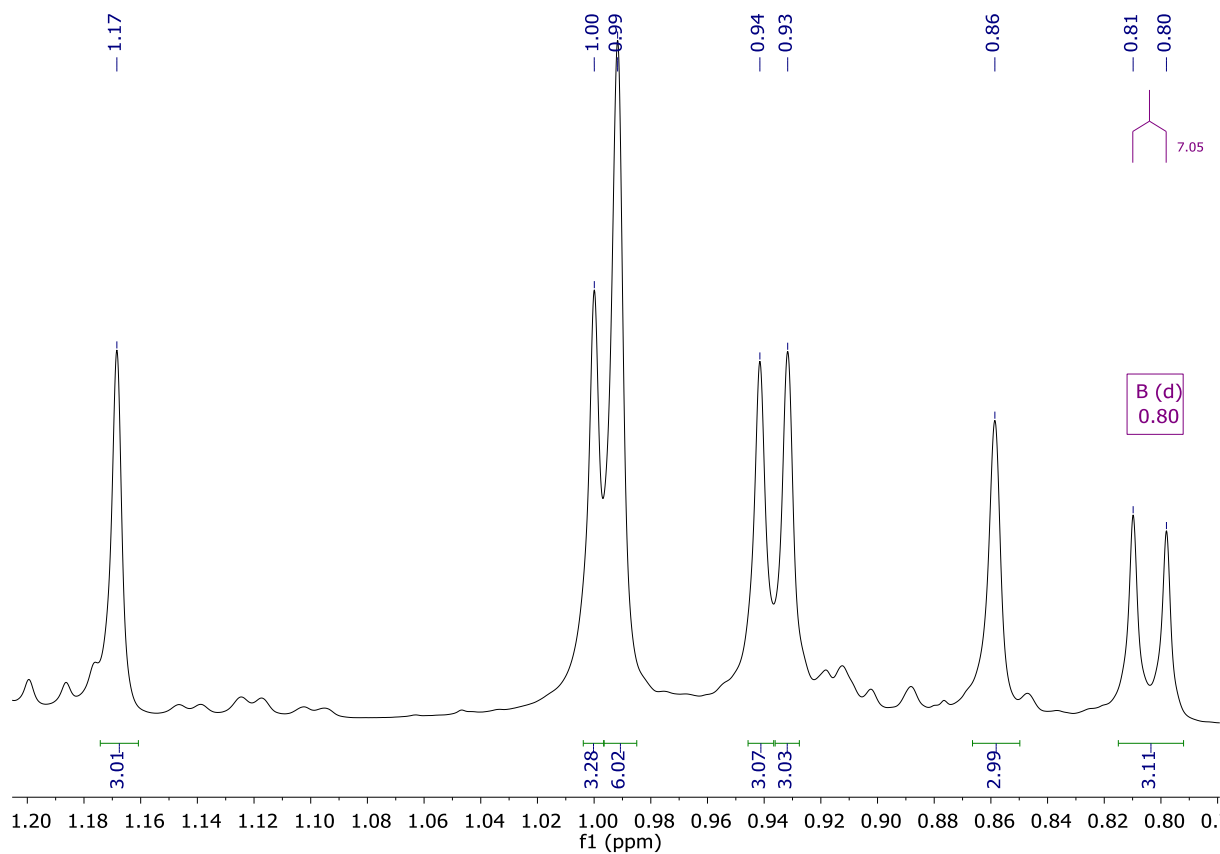


Figura 96 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de L8

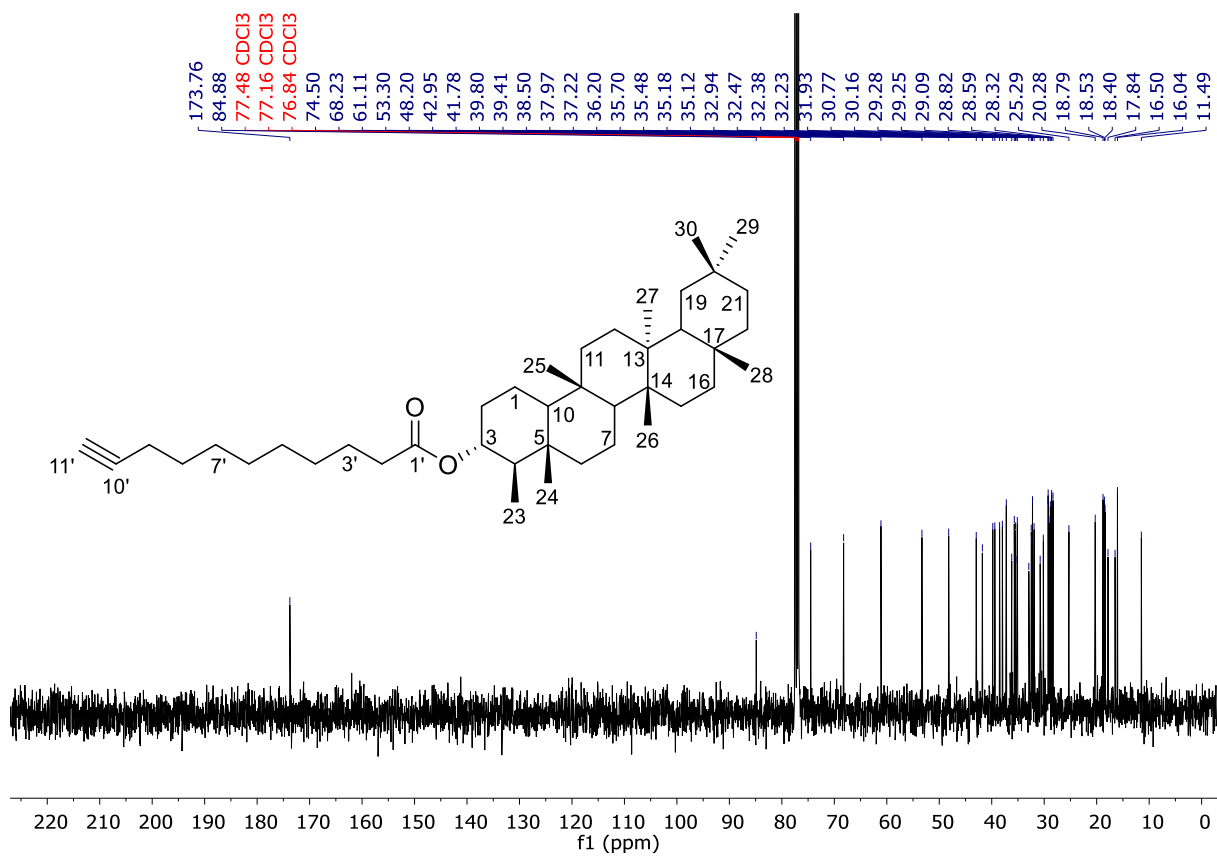


Figura 97 – Subespectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de L8