

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Elizabeth Luciana Marinho Miguel

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Salacia elliptica* (Mart.) G.Don
(CELASTRACEAE), SÍNTESE DE DERIVADOS DO LUPEOL E
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

Belo Horizonte

2024

UFMG/ICEX/DQ. 1.597
T.727

Elizabeth Luciana Marinho Miguel

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Salacia elliptica* (Mart.) G.Don
(CELASTRACEAE), SÍNTESE DE DERIVADOS DO LUPEOL E
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

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

Orientador: Diogo Montes Vidal

Coorientadora: Grasiely Faria de Sousa

Belo Horizonte
2024

Ficha Catalográfica

M636e
2024
T Miguel, Elizabeth Luciana Marinho.
Estudo fitoquímico de *Salacia elliptica* (Mart.) G. don (Celastraceae), síntese de derivados do lupeol e avaliação de atividades biológicas [manuscrito] / Elizabeth Luciana Marinho Miguel. 2024.
244 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Diogo Montes Vidal.
Coorientadora: Grasiely Faria de Sousa.

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

Bibliografia: f. 143-155.
Apêndices: f. 156-244.

1. Química orgânica – Teses. 2. Química vegetal – Teses. 3. Celastraceae – Teses. 4. Triterpenos – Teses. 5. Ésteres – Síntese – Teses. 6. Essências e óleos essenciais – Teses. 7. Cromatografia em camada fina – Teses. 8. Cromatografia líquida – Teses. 9. Espectrometria de massas – Teses. 10. Espectroscopia de infravermelho – Teses. I. Vidal, Diogo Montes, Orientador. II. Sousa, Grasiely Faria de, Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Estudo Fitoquímico de *Salacia elliptica* (Mart.) G.Don (Celastraceae), Síntese de Derivados do Lupeol e Avaliação de Atividades Biológicas"

Elizabeth Luciana Marinho Miguel

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Diogo Montes Vidal - Orientador
UFMG

Profa. Grasiely Faria de Sousa - Coorientadora
UFMG

Profa. Cássia Gonçalves Magalhães
UEPG

Profa. Dâmaris Silveira
UnB

Profa. Lúcia Pinheiro Santos Pimenta
UFMG

Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas
UFMG

Belo Horizonte, 23 de fevereiro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Diogo Montes Vidal, Professor do Magistério Superior**, em 24/02/2024, às 09:36, 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 **Grasiely Faria de Sousa, Professora do Magistério Superior**, em 24/02/2024, às 16:44, 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 **Damaris Silveira, Usuária Externa**, em 25/02/2024, às 13:03, 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 **Lucia Pinheiro Santos Pimenta, Professora do Magistério Superior**, em 25/02/2024, às 17:47, 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 26/02/2024, às 08:16, 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 **Cassia Gonçalves Magalhaes, Usuário Externo**, em 27/02/2024, às 10:50, 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 **3047576** e o código CRC **7612852B**.

AGRADECIMENTOS

Encontrava-me serenamente abrigada quando, com reverência, perguntei a Deus sobre a possibilidade de realizar o doutorado. As folhas no caminho caíram ao amor de Sua permissão. Minha decisão foi tomada, e agora me encontro a tecer minha gratidão por escrito, embora aquela que reside no coração já seja perene. “Acaso não sabeis que sou da Imaculada”.

Minha decisão recebeu o apoio caloroso dos meus pais. Deixei para trás uma situação aparentemente estável, lançando-me rumo ao desconhecido. Agradeço profundamente por me incentivarem e aconselharem a seguir em frente, mesmo diante do medo. Meus irmãos têm sido uma presença constante ao longo deste caminho. À Eliane, dedico minha gratidão por seu apoio incondicional, por cada delicadeza, detalhe e zelo que dedicou a mim. Você me proporcionou uma vida confortavelmente extraordinária. Meu cotidiano foi marcado por uma leveza maior devido aos seus cuidados. A Fernando, expressei meu agradecimento pela constância de seu apoio, pela presença, pelos seus atos de serviços e pelos gestos cuidadosos que permearam nessa jornada. Aos meus sobrinhos Isadora, Benício e Laís por todo o carinho, cada sorriso. Os abraços de vocês enchem meu coração de alegria e amor. Eu valorizo cada momento que compartilhamos. Sou privilegiada por ter uma família presente de Deus, amo cada um de vocês. “A felicidade só é real quando compartilhada”. Expresso minha gratidão a toda minha família, em especial à minha avó Lourdes, cujas orações foram um alicerce valioso. Agradeço também aos meus tios, primos e ao meu cunhado Rodolfo por torcerem para que tudo desse certo. Obrigada a cada um de vocês pelas palavras de apoio.

Agradeço aos meus amigos, que de modo especial, mesmo distantes, estão presentes na minha vida. Às minhas amigas de república Bárbara, Calink, Carla, Elisa, Hegne, Leiriana e Xênia, fico contente todas as vezes que conversamos. Ao meu amigo de república, Thales, agradeço por me “obrigar” a fazer o processo seletivo para o doutorado. Vocês tornaram a minha vida acadêmica mais feliz. Aos meus amigos de longa data, Adriele, Gustavo, Lilian, Larissa e Solange, muito obrigada pelo incentivo nessa jornada.

Quero expressar meu agradecimento ao Professor Doutor Diogo pela confiança que depositou em mim ao aceitar ser meu orientador. Aprecio profundamente cada

sugestão, ensinamento e ponderação que você compartilhou durante essa jornada. Diogo, muito obrigada pelos diversos momentos de conversas e entretenimentos, você é uma pessoa amigável.

Expresso minha gratidão à Professora Doutora Grasiely por compartilhar seus conhecimentos e por aceitar ser minha coorientadora. Agradeço sinceramente pela paciência e por me acompanhar ao longo deste processo. Grasi, sou grata pelo seu apoio, cuidado, disponibilidade e apreço, você é uma pessoa admirável.

Aos colaboradores deste estudo, Professor Doutor Daniel Cristian Ferreira Soares, Professora Doutora Susana Johann, e aos alunos Luiz Felipe de Andrade Santana e Kamila Thomaz Oliveira, responsáveis pelos ensaios biológicos, os meus sinceros agradecimentos. Expresso meu profundo agradecimento também às Professoras Doutoras Maria Olívia Mercadantes-Simões e Yule Roberta Ferreira Nunes pela coleta e identificação do material vegetal.

Aos membros da banca de qualificação, Professoras Doutoras Lúcia, Rossimiriam e Jacqueline, expresso minha gratidão pela valiosa contribuição ao desenvolvimento deste estudo. Às professoras Rossimiriam e Lúcia, renovo meu agradecimento pela contribuição que estruturou ainda mais o trabalho, desde o aceite para integrarem a pré-banca e banca. Agradeço também às Professoras Doutoras Adriana, Cássia, Dâmaris e Jacqueline por aceitarem ser membros da banca e por contribuírem significativamente para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Minha gratidão a todas as pessoas do NEPLAM, fico muito contente em dizer que somos uma família. Primeiramente, agradeço à Professora Doutora Lucienir pelo carinho e amparo nos momentos de ansiedade. Lu, muito obrigada pela sua disponibilidade para conversas e direcionamentos. Você é um modelo a ser admirado. Sou grata à Karen por te me acolhido e por me fazer pertencente ao laboratório. Karen, muito obrigada pelo zelo, inclusive nos momentos de pandemia, levando-me diariamente à portaria porque já havia escurecido, pois era perigo eu voltar sozinha. Agradeço à Leila que desde o início foi minha companheira vizinha de bancada. Leila, muito obrigada pelo compartilhamento de vitórias e derrotas e claro, pela trilha sonora. Ao Lucas, que além de ser meu companheiro de trabalho, é também meu amigo de república, minha gratidão. Lucas, agradeço imensamente por ser meu confidente, por compartilharmos lágrimas e sorrisos, tanto como amigo na jornada acadêmica quanto

na vida. Sinto-me grata pela sua colaboração nesta trajetória. Agradeço ao Hiago pela contribuição e dedicação na parte da síntese como aluno de iniciação científica. Hiago, muito obrigada pelo convívio, por ouvir minhas aflições, por me atentar a cuidar da minha saúde, pelo compartilhamento de tempo. Em sua companhia, descobri uma amizade singular para mim. À Sabrina, pela cooperação e empenho na parte de fitoquímica como aluna de iniciação científica, expresse meus agradecimentos. Sabrina, agradeço imensamente pela sua dedicação, disposição, pelas inúmeras prosas divertidas, pelo companheirismo e apreço, mesmo nos dias em que precisávamos sair tarde e correr várias vezes atrás do ônibus. Àqueles que estiveram presentes em grande parte da minha trajetória, Ana, Dionathas, Laura e Sandy agradeço sinceramente por compartilharem tempo, conhecimento e estima no laboratório, almoços e cafés, sempre com grandes risadas. Aos membros, Daiane, Matheus, Rafael e Sabrina Cruz, que estavam presentes em partes da minha trajetória, mas que são igualmente relevantes no compartilhamento de ótimos momentos, agradeço de coração pelas discussões de ideias e conversas com café. Ao Cayke, Marcos, Maria e Samuel, desejo que desfrutem de momentos tão gratificantes no NEPLAM quanto eu tive.

Um agradecimento especial para Mariana, integrante do NEPLAM, que fez total diferença no meu percurso do doutorado. Mari, minha gratidão percorre cada início, meio e fim desse caminho. Mari, você simplesmente estendeu-me a mão e nunca mais a soltou. Sou grata pela sua ajuda, que se manifestou presencialmente, por ligação, mensagem escrita e áudio. Você é uma pessoa amiga, animada; sou grata pelos nossos momentos de descontrações. Nesse caminho chamado doutorado, Mari, você foi a minha luz. Agradecimentos com lágrimas de alegria.

Às pessoas de outros grupos de pesquisa que conheci na UFMG, agradeço profundamente por compartilharmos momentos incríveis dentro e fora da universidade. São inúmeras pessoas amigáveis; peço desculpas por não mencionar individualmente, mas a gratidão é imensa.

Aos docentes do Departamento de Química da UFMG, minha gratidão pelo tempo dedicado para compartilhar seus conhecimentos. Expresso minha gratidão ao LAREMAR por disponibilizar a infraestrutura para os experimentos de RMN. Também agradeço aos técnicos e a todos os profissionais que dedicam seu trabalho diário para assegurar o pleno funcionamento do departamento.

Por fim, agradeço à UFMG e às agências de fomento, FAPEMIG e em especial ao CNPQ por conceder minha bolsa de doutorado.

RESUMO

Neste trabalho apresenta-se o estudo fitoquímico e de atividades biológicas de constituintes das raízes de *Salacia elliptica* (Celastraceae), a obtenção e caracterização dos óleos essenciais das folhas e galhos dessa espécie, além da síntese e avaliação de atividades biológicas de ésteres derivados do lupeol. O estudo fitoquímico das raízes resultou na identificação de dez constituintes. Dentre eles foram identificados oito triterpenos pentacíclicos de esqueleto friedelano: friedelan-3-ona (**SE01**), friedelan-3 β -ol (**SE02**), mistura de friedelan-3 β -ol (**SE02**) e friedelano-1,3-diona (**SE03**), friedelano-3,15-diona (**SE05**), 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SE06**), 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona (**SE08**), 26-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SE09**), e 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona (**SE10**). Também foi identificado o esteroide espinasterol (**SE07**) e uma mistura de ácidos graxos (**SE04**). O triterpeno pentacíclico **SE10** é inédito na literatura. Os extratos acetato etílico e metanólico foram analisados por UHPLC-ESI-MS/MS, nos quais foram identificados putativamente 14 compostos, predominantemente polifenóis, como flavonoides (chalcona, flavanona e flavona). Obteve-se o óleo essencial das folhas e foram realizadas as proposições estruturais para 17 compostos, sendo que os principais constituintes foram o pentadecanal, hexan-1-ol e (Z)-hex-3-en-1-ol. No caso do óleo essencial dos galhos, foram feitas as proposições estruturais para 13 compostos, sendo os principais constituintes o óxido de cariofileno, 10-*epi*-junenol e oleamida. Os derivados do lupeol foram sintetizados por meio da esterificação de Steglich, obtendo 20 ésteres. Dentre os ésteres sintetizados, 17 são inéditos: 4-bromobenzoato de lupeila (**EL01**), 2-bromobenzoato de lupeila (**EL02**), naproxenoato de lupeila (**EL03**), 3-iodobenzoato de lupeila (**EL04**), 10-undecinoato de lupeila (**EL05**), 4-pentionato de lupeila (**EL06**), 3-tiofenoato de lupeila (**EL07**), 2-indolato de lupeila (**EL08**), α -metilcinamato de lupeila (**EL09**), 2,4-difluorobenzoato de lupeila (**EL10**), 1-naftoato de lupeila (**EL11**), 5-clorosalicilato de lupeila (**EL12**), 4-metiltiazol-5-ato de lupeila (**EL15**), 2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL16**), 3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila (**EL17**), 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL18**) e 2,4-diclorofenoxiacetato de lupeila (**EL19**); e três conhecidos na literatura: 4-nitrobenzoato de lupeila (**EL13**), nicotinato de lupeila (**EL14**) e benzoato de lupeila (**EL20**). Os rendimentos variaram entre 83% e 4%. O estudo de atividades biológicas consistiu na avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, **SE09** e dos ésteres **EL01**, **EL02**, **EL04** e **EL07** contra células de câncer de pulmão A549 analisados por citometria de fluxo. Todos os compostos apresentaram uma atividade citotóxica significativa, semelhante àquela exibida pelo triterpeno lupeol (IC₅₀ = 19,92). Além disso, os compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, os extratos clorofórmico, acetato etílico e metanólico e os ésteres **EL01**, **EL02**, **EL03**, **EL04**, **EL05**, **EL06**, **EL07** e **EL08** foram testados quanto à atividade antifúngica *in vitro* contra cepas de *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix*. Contudo, todos os compostos e extratos não mostraram atividade nas concentrações testadas.

Palavras-chave: Celastraceae; *Salacia elliptica*; citotoxicidade; triterpeno.

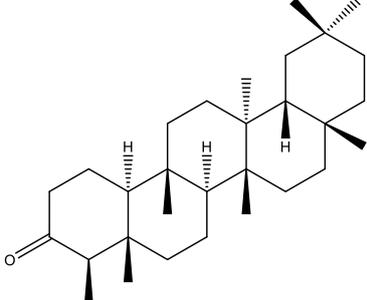
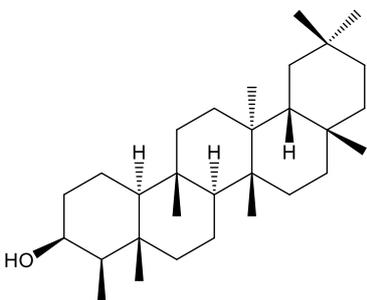
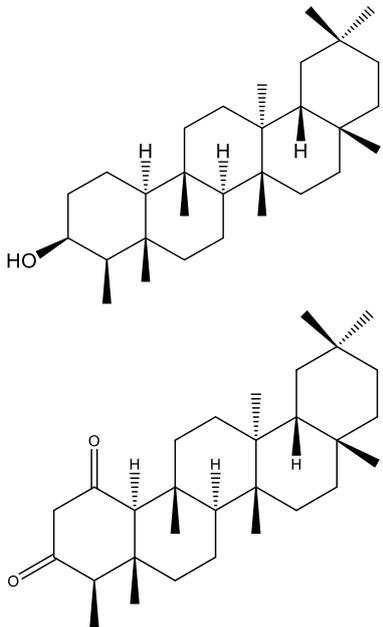
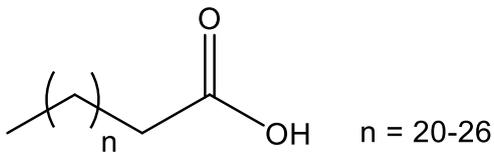
ABSTRACT

In this study, the phytochemical and biological investigation of the roots of *Salacia elliptica* (Celastraceae) is presented. This includes the extraction and characterization of essential oils from the leaves and branches of the same species, as well as the synthesis and evaluation of biological activities of lupeol-derived esters. The phytochemical analysis of the roots led to the identification of ten constituents, among which eight were identified as friedelane-type pentacyclic triterpenes: friedelan-3-one (**SE01**), friedelan-3 β -ol (**SE02**), a mixture of friedelan-3 β -ol (**SE02**) and friedelan-1,3-dione (**SE03**), friedelan-3,15-dione (**SE05**), 15 α -hydroxyfriedelan-3-one (**SE06**), 15 α ,26-di-hydroxyfriedelan-3-one (**SE08**), 26-hydroxyfriedelan-3,15-dione (**SE09**), and 7 α ,15 α -di-hydroxyfriedelan-3-one (**SE10**). Additionally, a steroid, spinasterol (**SE07**), and a mixture of fatty acids (**SE04**) were identified. The pentacyclic triterpene **SE10** is novel in the literature. The ethyl acetate and methanol extracts were analyzed by UHPLC-ESI-MS/MS, revealing the putative identification of 14 compounds, predominantly polyphenols such as flavonoids (chalcone, flavanone, flavone, and flavonoid benzoquinone). The essential oil from the leaves was obtained, and structural propositions for 17 compounds were made, with the main constituents being pentadecane, hexan-1-ol, and (*Z*)-hex-3-en-1-ol. Similarly, structural propositions for 13 compounds were made for the essential oil from the branches, with the main constituents being caryophyllene oxide, 10-*epi*-junenol, and oleamide. Lupeol derivatives were synthesized through Steglich esterification, resulting in 20 lupeol esters. Seventeen of these are novel, including lupeol 4-bromobenzoate (**EL01**), lupeol 2-bromobenzoate (**EL02**), lupeol naproxenate (**EL03**), lupeol 3-iodobenzoate (**EL04**), lupeol 10-undecenoate (**EL05**), lupeol 4-pentynoate (**EL06**), lupeol 3-thiophenoate (**EL07**), lupeol 2-indolate (**EL08**), lupeol α -methylcinnamate (**EL09**), lupeol 2,4-difluorobenzoate (**EL10**), lupeol naphthoate (**EL11**), lupeol 5-chlorosalicylate (**EL12**), lupeol 4-methylthiazole-5-ate (**EL15**), lupeol 2-bromo-5-methoxybenzoate (**EL16**), lupeol 3,5-bis(trifluoromethyl)benzoate (**EL17**), lupeol 2-hydroxy-5-methoxybenzoate (**EL18**), and lupeol 2,4-dichlorophenoxyacetate (**EL19**). Additionally, three compounds known in the literature were obtained: lupeol 4-nitrobenzoate (**EL13**), lupeol nicotinate (**EL14**), and lupeol benzoate (**EL20**). Yields varied between 83% and 4%. The biological testing involved the evaluation of cytotoxicity of isolated compounds **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, **SE09**, and esters **EL01**, **EL02**, **EL04**, and **EL07** against the A549 lung cancer cell model analyzed through flow cytometry. All exhibited significant cytotoxic activity, comparable to that exhibited by the triterpene lupeol (IC₅₀ = 19,92). Additionally, compounds **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, chloroform, ethyl acetate, and methanol extracts, and esters **EL01**, **EL02**, **EL03**, **EL04**, **EL05**, **EL06**, **EL07**, and **EL08** were tested for *in vitro* antifungal activity against strains of *Candida*, *Cryptococcus*, and *Sporothrix*. However, none of the compounds or extracts showed activity at the tested concentrations.

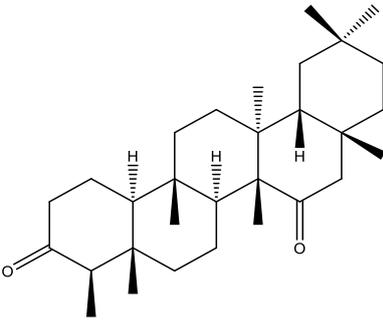
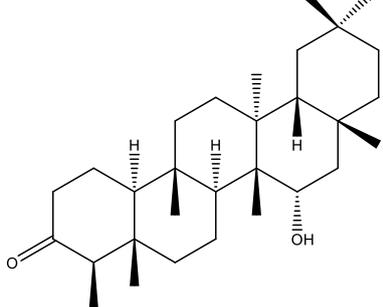
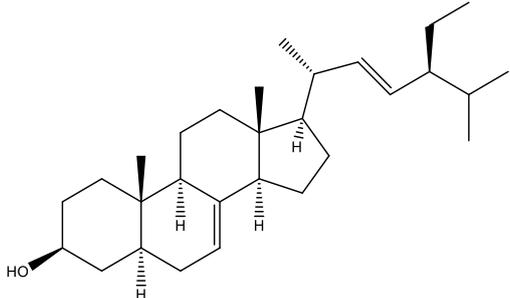
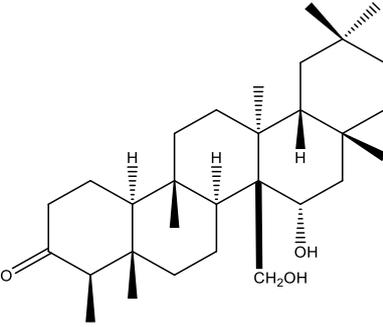
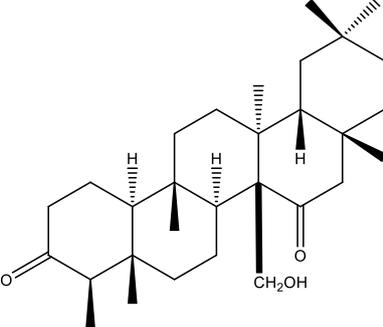
Key-words: Celastraceae; *Salacia elliptica*; cytotoxicity; triterpene.

LISTA DE COMPOSTOS ISOLADOS

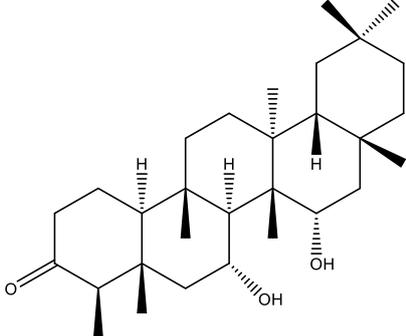
LISTA DE COMPOSTOS ISOLADOS

Código	Nome	Estrutura	Pág.
SE01	friedelan-3-ona		58
SE02	friedelan-3 β -ol		60
SE02 + SE03	mistura de friedelan-3 β -ol e friedelano-1,3-diona		62
SE04	mistura de ácidos graxos		64

LISTA DE COMPOSTOS ISOLADOS

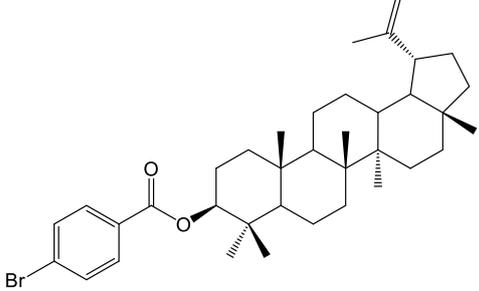
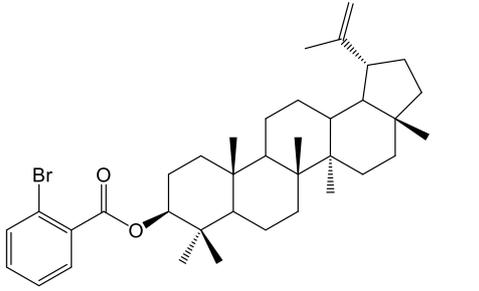
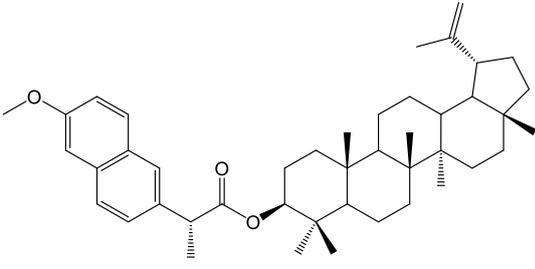
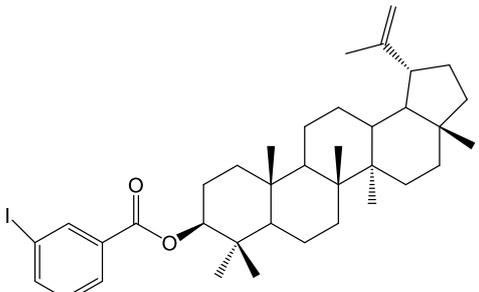
Código	Nome	Estrutura	Pág.
SE05	friedelano-3,15-diona		67
SE06	15 α -hidroxifriedelan-3-ona		69
SE07	espinasterol		70
SE08	15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona		72
SE09	26-hidroxifriedelano-3,15-diona		73

LISTA DE COMPOSTOS ISOLADOS

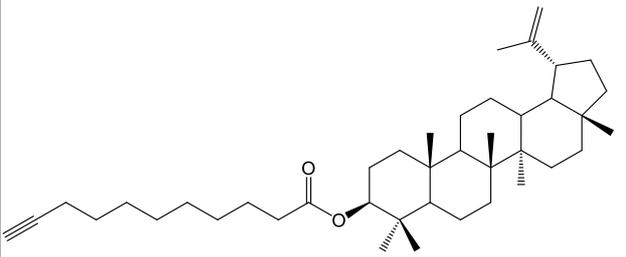
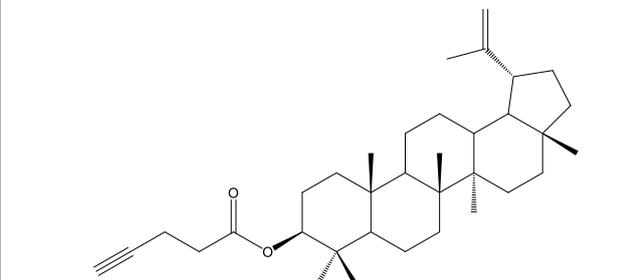
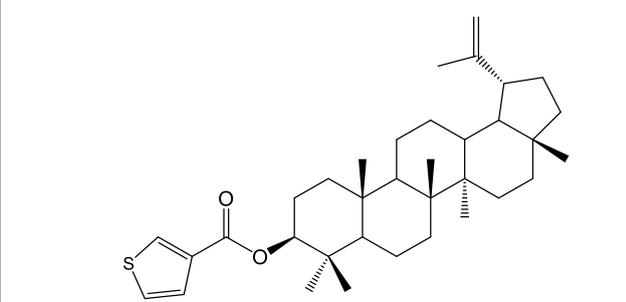
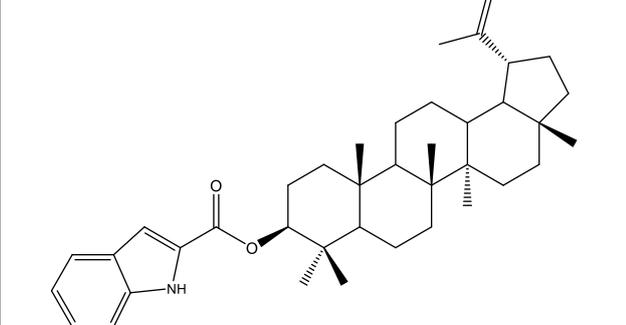
Código	Nome	Estrutura	Pág.
SE10	7 α ,15 α -di-hidroxfriedelan-3-ona	 <p>The image shows the chemical structure of 7α,15α-dihydrofriedelan-3-one. It is a complex polycyclic steroid with a five-ring core. The structure features a ketone group at C-3, a methyl group at C-10, and two hydroxyl groups at C-7 and C-15. The stereochemistry is indicated with wedges and dashes: the methyl group at C-10 is wedged, the hydroxyl group at C-7 is dashed, the hydroxyl group at C-15 is dashed, and the methyl group at C-13 is wedged. The hydrogen at C-14 is also shown with a dashed bond.</p>	75

LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

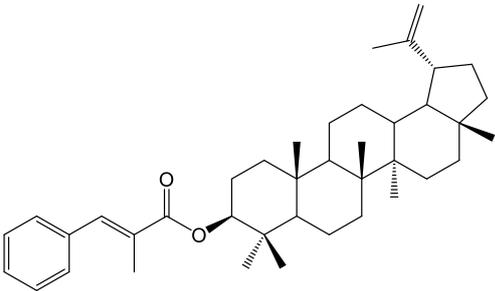
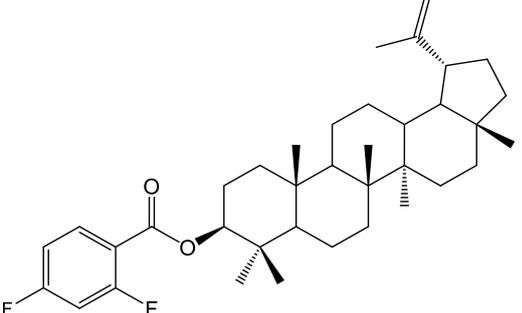
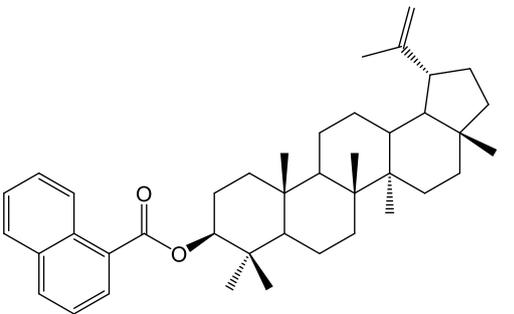
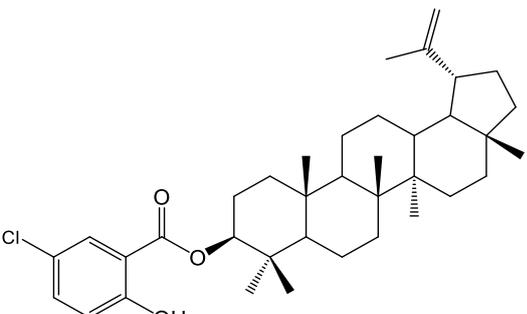
LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

Código	Nome	Estrutura	Pág.
EL01	4-bromobenzoato de lupeila		108
EL02	2-bromobenzoato de lupeila		109
EL03	naproxenoato de lupeila		110
EL04	3-iodobenzoato de lupeila		111

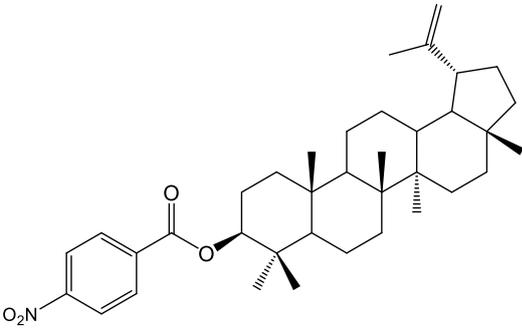
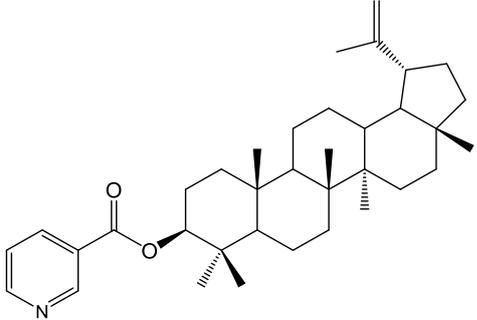
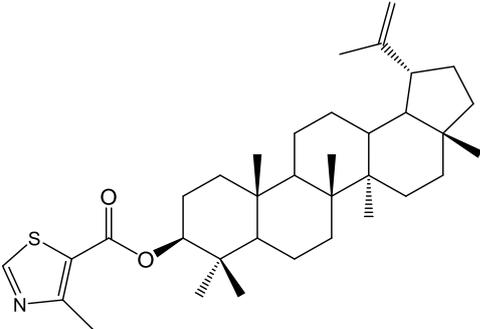
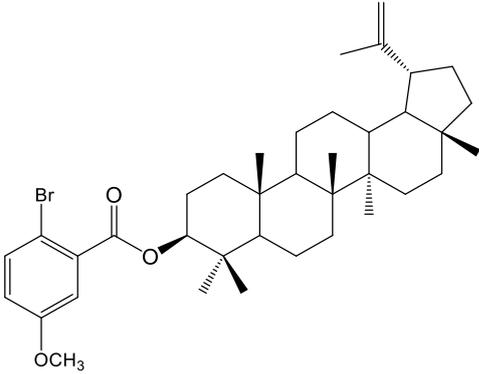
LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

Código	Nome	Estrutura	Pág.
EL05	10-undecinoato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with a long undecynoate chain (11 carbons, including the terminal alkyne) attached to the 10th carbon of the lupeol core.</p>	112
EL06	4-pentinoato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with a pentynoate chain (5 carbons, including the terminal alkyne) attached to the 4th carbon of the lupeol core.</p>	113
EL07	3-tiofenoato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with a thiophene ring attached to the 3rd carbon of the lupeol core via an ester linkage.</p>	114
EL08	2-indolato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with an indole ring attached to the 2nd carbon of the lupeol core via an ester linkage.</p>	115

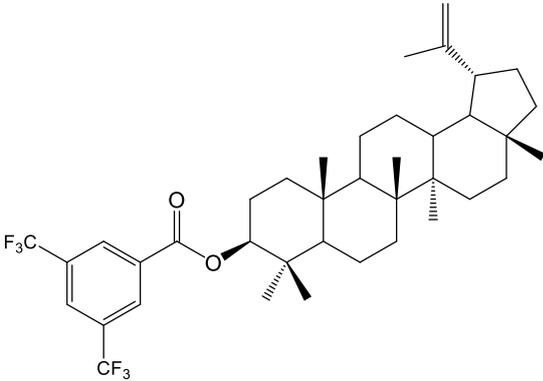
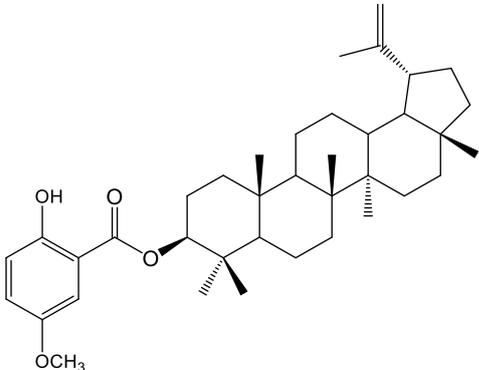
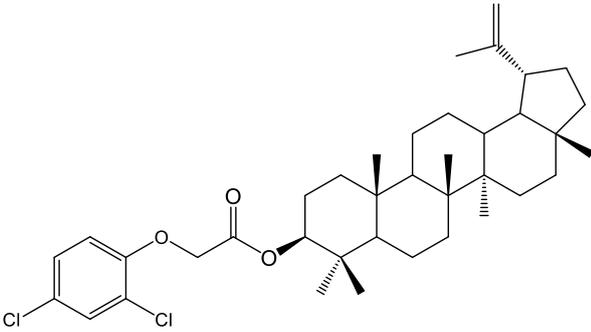
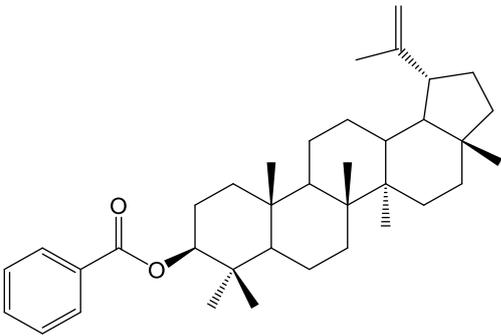
LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

Código	Nome	Estrutura	Pág.
EL09	α -metilcinamato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton (a pentacyclic triterpene) with an ester group at the 3-position. The ester group is derived from alpha-methylcinnamic acid, consisting of a propenoic acid chain with a phenyl ring at the alpha position and a methyl group at the beta position.</p>	116
EL10	2,4-difluorobenzoato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with an ester group at the 3-position. The ester group is derived from 2,4-difluorobenzoic acid, consisting of a benzene ring with fluorine atoms at the 2 and 4 positions and a carboxylic acid group at the 1 position.</p>	117
EL11	1-naftoato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with an ester group at the 3-position. The ester group is derived from 1-naphthoic acid, consisting of a naphthalene ring system with a carboxylic acid group at the 1 position.</p>	118
EL12	5-clorosalicilato de lupeila	 <p>The structure shows the lupeol skeleton with an ester group at the 3-position. The ester group is derived from 5-chlorosalicylic acid, consisting of a benzene ring with a hydroxyl group at the 2 position, a chlorine atom at the 5 position, and a carboxylic acid group at the 1 position.</p>	119

LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

Código	Nome	Estrutura	Pág.
EL13	4-nitrobenzoato de lupeila		120
EL14	nicotinato de lupeila		121
EL15	4-metiltiazol-5-ato de lupeila		122
EL16	2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila		123

LISTA DE DERIVADOS DO LUPEOL

Código	Nome	Estrutura	Pág.
EL17	3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila		124
EL18	2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila		125
EL19	2,4-diclorofenoxiacetato de lupeila		126
EL20	benzoato de lupeila		127

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

δ	Deslocamento químico
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
APCI	<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLMP	Cromatografia Líquida de média pressão
COSY	<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
EI	Ionização por impacto eletrônico
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy</i>
HRMS	<i>High-resolution mass spectrometry</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy</i>
IC ₅₀	Concentração Inibitória
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LAREMAR	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução
NOESY	<i>Two Dimensional Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
NP-PEG	Difenilboriloxietilamina/Polietilenoglicol
OE	Óleo essencial
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PNs	Produtos naturais
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
TMS	Tetrametilsilano

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

TTPC	Triterpeno pentacíclico
UHPLC-	<i>Ultra-High performance liquid chromatography-electrospray</i>
ESI-MS/MS	<i>tandem mass spectrometry</i>
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Estudo fitoquímico de <i>Salacia elliptica</i>	24
1.1 INTRODUÇÃO	24
1.1.1 Produtos naturais obtidos a partir de plantas	24
1.1.2 Triterpenos pentacíclicos	25
1.1.3 Família Celastraceae	27
1.1.4 Gênero <i>Salacia</i>	28
1.1.5 <i>Salacia elliptica</i>	28
1.1.6 Óleos essenciais	32
1.1.7. Avaliação de citotoxicidade	35
1.1.8 Atividade antifúngica	37
1.2 OBJETIVOS	39
1.2.1 Objetivo geral	39
1.2.2 Objetivos específicos	39
1.3 METODOLOGIA.....	40
1.3.1 Métodos gerais.....	40
1.3.1.1 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	40
1.3.1.2 Cromatografia em coluna (CC)	40
1.3.1.3 Cromatografia líquida de média pressão (CLMP)	41
1.3.1.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	41
1.3.1.5 Espectrometria de massas	41
1.3.1.6 Espectroscopia no infravermelho (IV).....	43
1.3.2 Coleta e identificação dos materiais vegetais	43
1.3.3 Preparação dos extratos das raízes de <i>Salacia elliptica</i>	44
1.3.4 Fracionamento do EH	45
1.3.5 Fracionamento do EC	50
1.3.6 Fracionamento do EA	52
1.3.7 Fracionamento do EM.....	53
1.3.8 Extração dos óleos essenciais (OEs) das folhas e galhos de <i>Salacia elliptica</i>	55
1.3.9 Análise dos extratos acetato etílico e metanólico das raízes por UHPLC-HRMS	55
1.3.10 Avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados das raízes de <i>S. elliptica</i>	55

SUMÁRIO

1.3.11 Atividade antifúngica de compostos isolados das raízes de <i>S. elliptica</i>	56
1.3.11.1 Cepas microbianas e preparação de inóculo	57
1.3.11.2 Determinação da concentração inibitória mínima	57
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
1.4.1 Determinação estrutural dos constituintes das raízes da <i>S. elliptica</i>	58
1.4.1.1 SE01: friedelan-3-ona (friedelina)	58
1.4.1.2 SE02: friedelan-3 β -ol (friedelinol)	60
1.4.1.3 SE02+SE03: mistura de friedelan-3 β -ol e friedelan-1,3-diona	62
1.4.1.4 SE04: Mistura de ácidos graxos	64
1.4.1.5 SE05: friedelan-3,15-diona	67
1.4.1.6 SE06: 15 α -hidroxifriedelan-3-ona	69
1.4.1.7 SE07: espinasterol	70
1.4.1.8 SE08: 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona	72
1.4.1.9 SE09: 26-hidroxifriedelan-3,15-diona	73
1.4.1.10 SE10: 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona	75
1.4.2 Análise dos extratos acetato etílico e metanólico por UHPLC-ESI-MS/MS ..	81
1.4.2.1 Análise do extrato acetato etílico (EA) por UHPLC-ESI-MS/MS	82
1.4.2.2 Análise do extrato metanólico (EM) por UHPLC-ESI-MS/MS	86
1.4.3 Avaliação do teor e caracterização química dos óleos essenciais (OEs) das folhas e galhos de <i>S. elliptica</i>	86
1.4.3.1 Avaliação do teor e caracterização química do óleo essencial (OE) das folhas de <i>S. elliptica</i>	87
1.4.3.2 Avaliação do teor e caracterização química do OE dos galhos de <i>S.</i> <i>elliptica</i>	91
1.4.4 Atividade citotóxica dos compostos isolados das raízes de <i>S. elliptica</i>	96
1.4.5 Atividade antifúngica de compostos isolados das raízes de <i>S. elliptica</i>	97
1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O ESTUDO FITOQUÍMICO	98
CAPÍTULO 2 – Síntese de ésteres derivados do lupeol	100
2.1 INTRODUÇÃO	100
2.1.1 Lupeol	100
2.1.2 Síntese de derivados do lupeol	101
2.1.3 Ésteres derivados do lupeol	104
2.2 OBJETIVOS	106
2.2.1 Objetivo geral	106
2.2.2 Objetivos específicos	106
2.3 METODOLOGIA	107

SUMÁRIO

2.3.1 Procedimento geral para a preparação dos ésteres derivados de lupeol ...	107
2.3.1.1 Preparação do 4-bromobenzoato de lupeila (EL01)	108
2.3.1.2 Preparação do 2-bromobenzoato de lupeila (EL02)	109
2.3.1.3 Preparação do naproxenoato de lupeila (EL03)	110
2.3.1.4 Preparação do 3-iodobenzoato de lupeila (EL04).....	111
2.3.1.5 Preparação do 10-undecinoato de lupeila (EL05).....	112
2.3.1.6 Preparação do 4-pentionato de lupeila (EL06)	113
2.3.1.7 Preparação do 3-tiofenoato de lupeila (EL07)	114
2.3.1.8 Preparação do 2-indolato de lupeila (EL08).....	115
2.3.1.9 Preparação do α -metilcinamato de lupeila (EL09)	116
2.3.1.10 Preparação do 2,4-difluorobenzoato de lupeila (EL10).....	117
2.3.1.11 Preparação do 1-naftoato de lupeila (EL11)	118
2.3.1.12 Preparação do 5-clorosalicilato de lupeila (EL12).....	119
2.3.1.13 Preparação do 4-nitrobenzoato de lupeila (EL13).....	120
2.3.1.14 Preparação do nicotinato de lupeila (EL14)	121
2.3.1.15 Preparação do 4-metiltiazol-5-ato de lupeila (EL15).....	122
2.3.1.16 Preparação do 2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila (EL16)	123
2.3.1.17 Preparação do 3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila (EL17)	124
2.3.1.18 Preparação do 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (EL18)	125
2.3.1.19 Preparação do 2,4-diclorofenoxiacetato de lupeila (EL19)	126
2.3.1.20 Preparação do benzoato de lupeila (EL20).....	127
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	128
2.4.1 Caracterização dos ésteres sintetizados.....	128
2.4.2 Citotoxicidade dos ésteres derivados do lupeol	138
2.4.3 Atividade antifúngica dos ésteres derivados de lupeol.....	139
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS COM RELAÇÃO À SÍNTESE DOS ÉSTERES DERIVADOS DO LUPEOL.....	139
CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
REFERÊNCIAS.....	143
APÊNDICE A – CAPÍTULO 1 - ESPECTROS DE RMN, CROMATOGRAMAS, ESPECTROS DE MASSAS, ESPECTROS NO UV E ESPECTROS NO IV	156
APÊNDICE B – CAPÍTULO 2 - ESPECTROS DE RMN, ESPECTROS DE MASSAS E ESPECTROS NO IV	202
APÊNDICE C – ARTIGOS PUBLICADOS	244

CAPÍTULO 1. Estudo fitoquímico de *Salacia elliptica*

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 Produtos naturais obtidos a partir de plantas

Os produtos naturais (PNs) têm sido reconhecidos como agentes terapêuticos ao longo da história. Desde tempos antigos, encontram-se registros de plantas que foram utilizadas para fins medicinais, por meio da obtenção de extratos, óleos e formulações, que frequentemente foram bem aceitos pelo organismo dos pacientes. Com o avanço da ciência e o desenvolvimento de técnicas de separação e caracterização, tornou-se possível identificar os constituintes ativos presentes nos PNs (GURNANI et al., 2014).

Os PNs e seus derivados possuem uma atuação significativa na produção de medicamentos. No início de 1900, aproximadamente 80% de todos os fármacos eram de origem vegetal obtidos a partir de raízes, cascas e folhas. Com o passar das décadas, além das plantas, vários outros tipos de seres vivos contribuíram para a obtenção de compostos ativos empregados na terapêutica. Ademais, as indústrias farmacêuticas desenvolveram métodos sintéticos e computacionais para a obtenção de novos fármacos (MCCHESENEY et al., 2007). Atualmente, os PNs ainda desempenham um papel fundamental na pesquisa de fármacos de diversas classes terapêuticas, como antibacterianos, antifúngicos e anticâncer (ATANASOV, et al., 2021).

Um marco importante na descoberta de fármacos a partir de PNs de plantas foi o isolamento da morfina e o seu uso como analgésico em 1806. Por conseguinte, as pesquisas foram intensificadas em busca de uma gama de outros fármacos, principalmente alcaloides, como a codeína e a capsaicina, que também possuem uso medicinal como analgésicos (BERNARDINI et al., 2017). Existem outros exemplos, como os flavonoides rutina, que possui efeito anti-inflamatório (YOO et al., 2014). e amentoflavona, que apresenta atividade antiviral (MA et al., 2001).

No Brasil, o uso de plantas medicinais ainda é difundido e, em algumas comunidades tradicionais, elas continuam sendo frequentemente o principal recurso terapêutico. Além disso, o território brasileiro dispõe de uma grande diversidade de flora e, conseqüentemente, favorece o consumo e o estudo de plantas medicinais

(COSTA et al., 2023). O estudo fitoquímico dessas plantas, incluindo o isolamento, a caracterização de suas estruturas químicas e a avaliação de propriedades físico-químicas e biológicas dos constituintes, proporciona um melhor direcionamento no desenvolvimento de fármacos (MACIEL et al., 2002).

Em um estudo fitoquímico, várias abordagens de seleção da espécie vegetal para a pesquisa podem ser adotadas. É possível utilizar uma abordagem randômica, na qual o fator predominante é a disponibilidade da planta; uma abordagem etnofarmacológica, que leva em consideração o uso terapêutico da planta por parte de alguma comunidade; uma abordagem quimiotaxonômica, na qual se seleciona uma espécie de um determinado gênero ou família devido à presença de determinadas classes de substâncias bioativas (MACIEL et al., 2002).

Dentre as diferentes classes de PNs oriundos de plantas destaca-se os terpenos devido à sua abundância e diversidade. Os terpenos são derivados de unidades C_5 de isopreno (C_5H_8) e classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (C_5)_n presentes em suas estruturas. Assim, os monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}) e triterpenos (C_{30}) são derivados da junção de duas, três, quatro, cinco e seis unidades de isopreno, respectivamente (GHOSH, 2016).

1.1.2 Triterpenos pentacíclicos

Os triterpenos constituem um dos maiores grupos de terpenos, com aproximadamente 20.000 compostos identificados. A grande maioria da diversidade de triterpenos é encontrada em vegetais, embora outros organismos também os produzam (THIMMAPPA et al., 2014). Na natureza, os triterpenos são encontrados de maneira mais frequente como estruturas tetracíclicas ou pentacíclicas (FURTADO et al., 2017).

Os triterpenos pentacíclicos (TTPCs), em relação ao esqueleto carbônico, podem ser divididos em subgrupos, os mais comuns são: friedelano, oleanano, lupano e ursano (Figura 1, Pág. 26). Estruturalmente, os TTPCs possuem quatro anéis de seis membros (A, B, C e D) e um de cinco ou de seis membros (E) (CAMARGO et al., 2022). Diversos desses TTPCs são biologicamente ativos e apresentam uma gama

de atividades, como: anti-inflamatória, antiulcerogênica, antitumoral, anti-hepatotóxica e anti-hipertensiva (GHANTE et al., 2019).

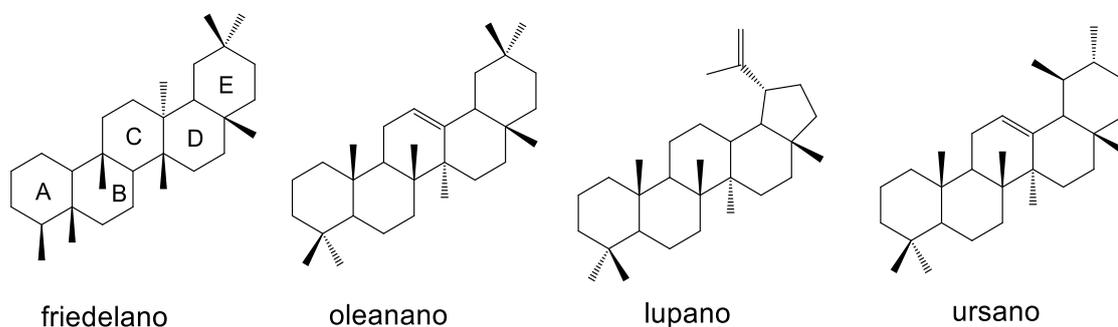


Figura 1: Estrutura química básica dos TTPCs de esqueleto friedelano, oleanano, lupano e ursano.

Devido às diversas atividades biológicas promissoras, vários TTPCs isolados de plantas têm sido estudados ao longo dos anos (Figura 2), como: o ácido maslínico (oleanano), que apresentou atividade citotóxica em células B16-F10 (melanoma murino), HT29 (carcinoma de cólon) e Hep G2 (carcinoma hepatocelular) (PARRA et al., 2014); o ácido ursólico (ursano) que possui atividade antitumoral amplamente descrita (SALVADOR et al., 2017); o ácido betulínico (lupano) que possui atividades anti-inflamatória (ALQAHTANI et al., 2013), antiviral, antibacteriana e antitumoral (AMIRI et al., 2020); o ácido 7β -hidroxi-3-oxo-friedelan-28-oico e $7\beta,29$ -di-hidroxi-friedelan-3-oxo (friedelanos) que apresentaram aumento da sinalização mediada por insulina em células hepáticas Huh7 (ARDILES et. al, 2012).

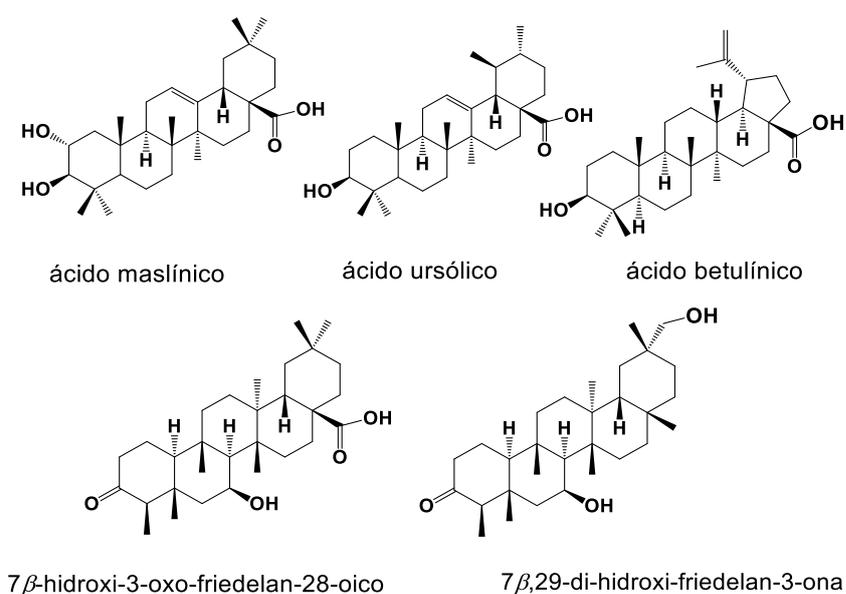


Figura 2: Exemplos de TTPCs que possuem atividades biológicas promissoras.

1.1.3 Família Celastraceae

As plantas da família Celastraceae são estudadas com finalidades terapêuticas e são ricas em TTPCs (FERREIRA et al., 2017). Essa família está presente nas regiões tropicais e subtropicais. Suas espécies, em geral, são árvores pequenas, arbustos ou lianas e têm caules e folhas resinosas (SPIVEY et al., 2001). Celastraceae é composta por cerca de 88 gêneros e 1300 espécies de plantas, e alguns desses gêneros comumente estudados são: *Maytenus*, *Euonymus*, *Celastrus* e *Salacia* (ALVARENGA e FERRO, 2006; DAI e SPIVEY, 2023).

A título de exemplo de constituintes isolados da Celastraceae que possuem atividades biológicas mencionam-se o lupano 11 α -hidroxilup-20(29)-en-3-ona e os friedelanos 29-hidroxifriedelan-3-ona e friedelano-3,7-diona que tiveram propriedade de inibição da acetilcolinesterase (promissor no tratamento da doença de Alzheimer) (RODRIGUES, 2014); a friedelan-3-ona que apresenta potente atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética (ANTONISAMY et al. 2011).

Além disso, outros importantes metabólitos secundários isolados de plantas da família Celastraceae são os quinonametídeos, que são considerados marcadores quimiotaxonômicos da família. Desde o isolamento do celastrol (Figura 3), em 1936, uma diversidade de quinonametídeos foi encontrada e estudos relacionados às atividades biológicas foram realizados mostrando uma ampla gama de efeitos farmacológicos (ALVARENGA, FERRO, 2006). Como exemplos desses efeitos, têm-se as propriedades anti-inflamatória e neuroprotetora do celastrol (SHAN et al., 2013); as propriedades antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana da pristimerina (LI et al., 2019) e a atividade antimicrobiana da tingenona (VELOSO, et al. 2017) (Figura 3).

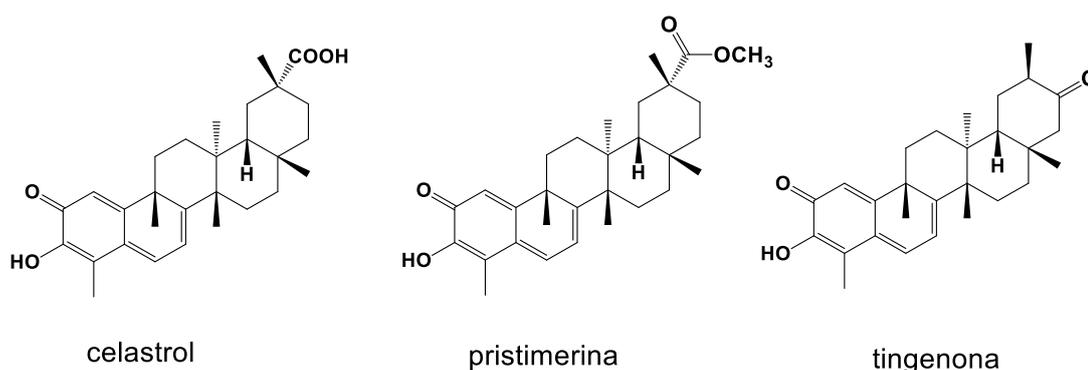


Figura 3: Exemplos de quinonametídeos que possuem bioatividades promissoras.

1.1.4 Gênero *Salacia*

O gênero *Salacia*, pertencente à família Celastraceae, possui aproximadamente 200 espécies e está distribuído pelas áreas tropicais, incluindo regiões asiáticas, como Índia, Sri Lanka, Tailândia e Indonésia; e sul-americanas, como Brasil (SANTOS et al., 2020). Devido à grande diversidade do gênero, diversas pesquisas foram realizadas para a obtenção de compostos bioativos, buscando a produção de novos fármacos (PRIYA et al., 2019).

Espécies do gênero *Salacia* são utilizadas na medicina popular, sendo que raízes e galhos, por exemplo, são empregados no tratamento de reumatismo, doenças de pele e tratamento de diabetes (MORIKAWA, 2021). Essas plantas medicinais são compostas por vários metabólitos secundários, como alcaloides, flavonoides e terpenos. Portanto, há ampla possibilidade de apresentarem interessantes bioatividades (PRIYA et al., 2019).

Bagnazari e colaboradores (2017) realizaram um estudo de revisão sobre os constituintes, as propriedades farmacológicas e estratégias biotecnológicas para a conservação e avaliação de segurança de plantas do gênero *Salacia*. No que diz respeito aos constituintes, foram isolados diversos metabólitos secundários, destacando-se os TTPCs encontrados em várias espécies, como *S. chineses*, *S. beddomei*, *S. prenoides*, *S. verrucosa* e *S. reticulata*. Em relação à perspectiva farmacológica, o estudo mostrou promissoras atividades de extratos e compostos isolados dessas espécies, por exemplo: antitumoral (*S. chineses*, *S. leptoclada*), antidiabética (*S. chineses*, *S. oblonga*, *S. reticulata*), antimicrobiana (*S. chineses*), antimalárica (*S. longipes*), antioxidante (*S. oblonga*) e antibacteriana (*S. oblonga*) (BAGNAZARI et al., 2017).

1.1.5 *Salacia elliptica*

A espécie *Salacia elliptica* é encontrada como árvore ou liana com tamanho médio entre quatro e cinco metros, apresentando folhas arredondas ou ligeiramente elípticas, além de grande quantidade de sementes com o formato elipsoide, de aproximadamente 2 cm. A espécie é encontrada em partes do continente sul-americano, nos países: Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, Paraguai, Peru e

Venezuela (CASTILLO-CAMPOS et al., 2020). No Brasil, *S. elliptica* é naturalmente encontrada nas regiões de cerrado (DUARTE et al., 2010).

Um estudo realizado por Espindola e colaboradores (2018), referente ao perfil metabólico de espécies da família Celastraceae, avaliou extratos acetato etílico e etanólico das folhas, bem como o extrato acetato etílico das raízes de *S. elliptica*. As análises foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas com o intuito de verificar a distribuição de TTPCs em diferentes partes das plantas, e buscas direcionadas a quinonametídeos. No extrato acetato etílico das raízes de *Salacia elliptica* detectaram-se os quinonametídeos: pristimerina, 6-oxopristimerol, vitideasina, salaquinona A e 11 β -hidroxipristimerina (Figura 4, Pág. 30). Dentre os extratos estudados, somente os das raízes de *S. elliptica* e *S. crassifolia* apresentaram atividade citotóxica frente às células tumorais MOLT-4 (leucêmica) e T-47D (mamária). Os extratos das duas espécies apresentaram maior abundância de pristimerina (Figura 4, Pág. 30) e os autores concluíram que a atividade pode estar relacionada a esse composto (ESPINDOLA et al., 2018). Outro estudo, realizado por Cortelo e colaboradores (2021), relacionado à triagem de extratos de plantas do cerrado brasileiro contra células de câncer, incluiu também o extrato acetato etílico das raízes de *S. elliptica*. Os resultados dos testes biológicos mostraram atividade frente às células tumorais MOLT-4 (leucêmica) e U031 (renal) (CORTELO et al., 2021).

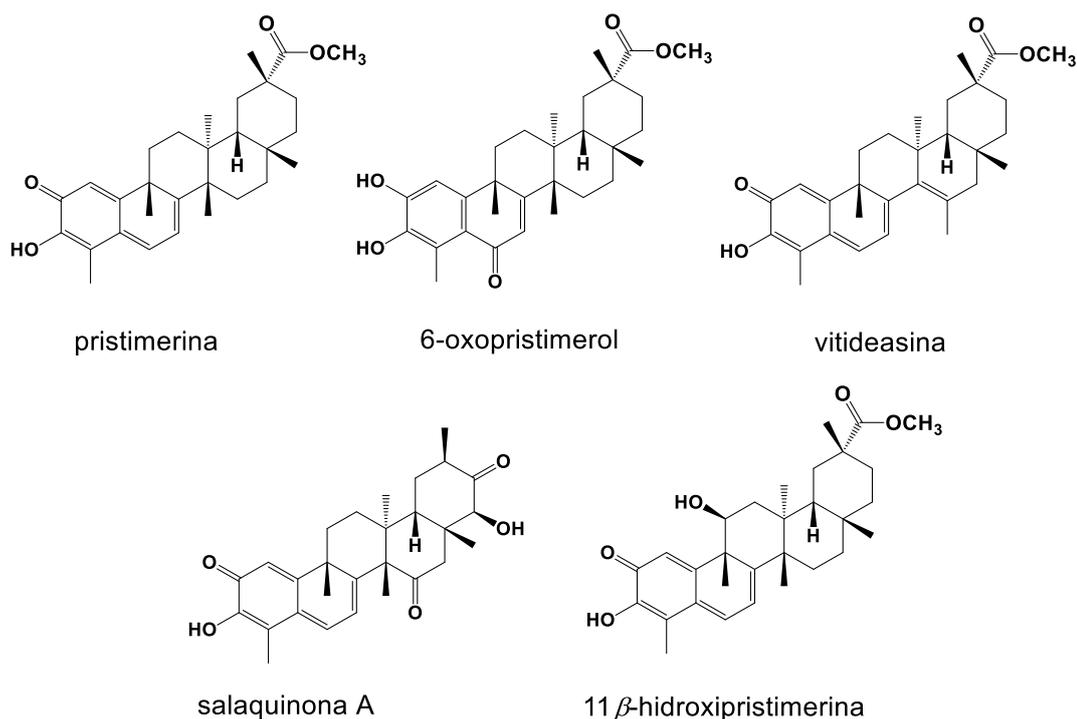


Figura 4: Exemplos de quinonametídeos presentes no extrato acetato etílico das raízes de *Salacia elliptica*.

Na literatura, encontra-se um estudo fitoquímico de folhas e galhos de *S. elliptica*, em que 20 constituintes foram isolados, sendo: dois polióis, uma xantona, uma mistura de hidrocarbonetos de cadeia longa, um ácido carboxílico, um polímero, dois esteroides, um éster aromático e 11 TTPCs. Os constituintes isolados em maior abundância foram os TTPCs (Figura 5, Pág. 31) (DUARTE et al., 2010).

Apesar das pesquisas descritas em relação à *S. elliptica*, não há relatos de isolamento de constituintes das raízes (Figura 6, Pág. 32) dessa espécie na literatura. Portanto, a continuidade do estudo da espécie pode levar à descoberta de novos compostos bioativos das raízes e, além disso, contribuir para o estudo quimiotaxonômico da família Celastraceae.

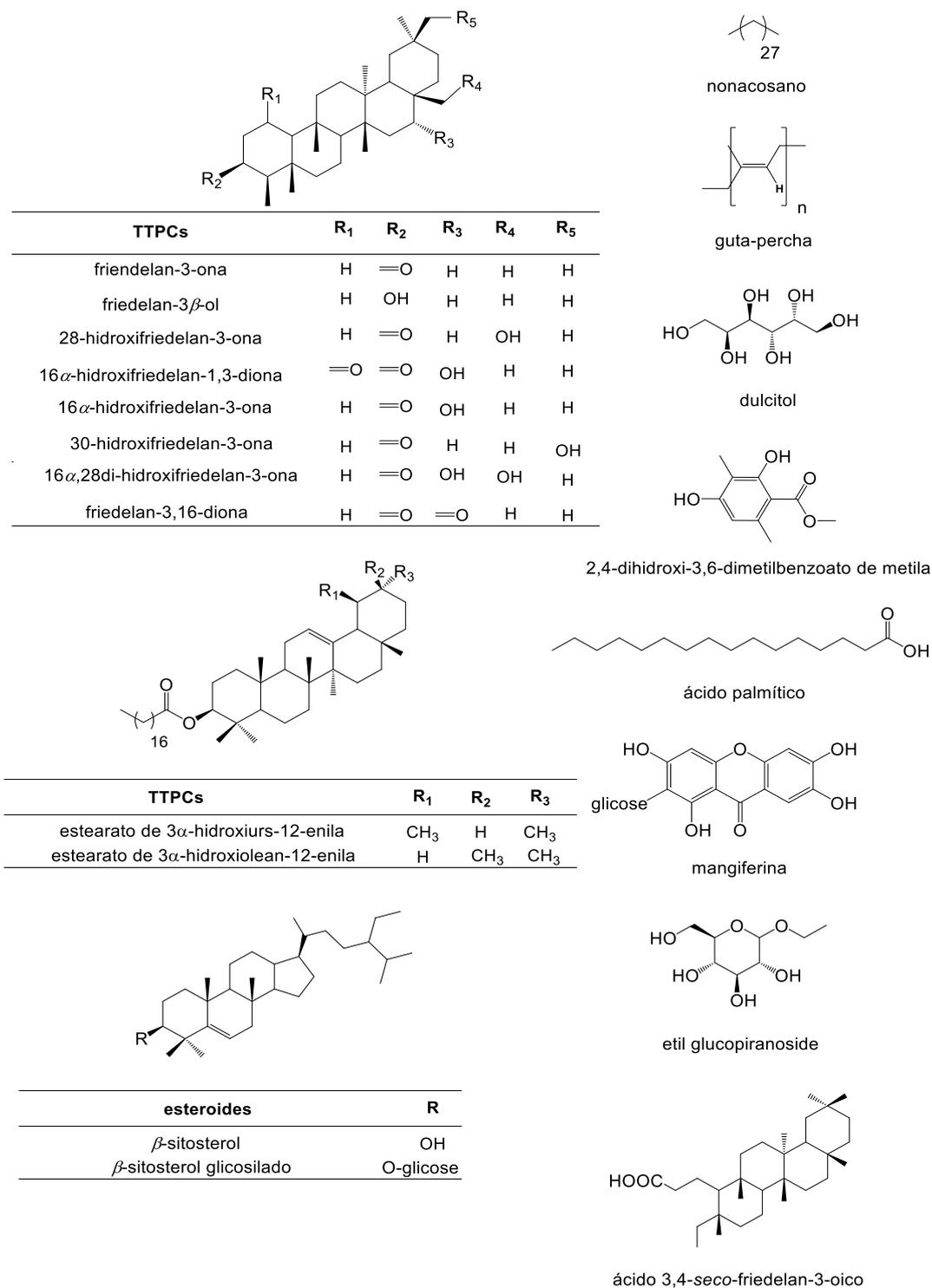


Figura 5: Estruturas químicas dos constituintes isolados das folhas e galhos da *S. elliptica* (DUARTE et al., 2010).



Figura 6: Imagem das raízes coletadas da espécie *Salacia elliptica*.

1.1.6 Óleos essenciais

Óleos essenciais (OEs) são definidos, segundo a *International Organization for Standardization* (ISO), como produtos obtidos a partir de partes de plantas por processos de destilação usando água (hidrodestilação), vapor (destilação por arraste com vapor d'água), ou mais raro, a seco. No caso específico, quando se trata do pericarpo de frutos cítricos, os produtos são obtidos por meio de processos mecânicos. Essa é a definição seguida pelas indústrias, comunidades científicas e regulatórias desse setor. Comumente, esses óleos são misturas complexas de substâncias voláteis e lipofílicas, geralmente apresentando aromas intensos (SIMÕES et al., 2007; BIZZO et al., 2022).

A composição química dos OEs pode consistir em inúmeros constituintes, com concentrações bastante diversas. Geralmente, são caracterizados por dois ou três compostos principais presentes em concentrações elevadas em comparação com os demais. Os constituintes que podem ser identificados nos OEs são comumente terpenos (mono e sesquiterpenos), além de compostos com uma ampla variedade de funções orgânicas, como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis, éteres e ésteres (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017 e BAPTISTA-SILVA et al, 2020).

A composição do óleo extraído de uma determinada espécie pode variar de acordo com diversos fatores, tais como o clima, a composição do solo, a parte da planta, a idade e o estágio do ciclo vegetativo. Portanto, para se obter a mesma composição de OEs, é necessário extraí-los nas mesmas condições, ou seja, da

mesma parte da planta, cultivada no mesmo solo e sob as mesmas condições climáticas, sendo essa parte da planta colhida na mesma estação do ano. Para a comercialização dos OEs, eles são submetidos à quimiotipagem por cromatografia em fase gasosa e análise por espectrometria de massa (CG/EM), com o objetivo de determinar sua composição química principal. Apesar de se tratar da mesma espécie de planta, é necessário analisar se a variação da composição é tão significativa a ponto de afetar a aplicação biológica dos OEs (BAPTISTA-SILVA et al, 2020).

Os OEs encontram aplicações na indústria cosmética, que os utiliza como fonte natural de compostos fragrantes; na indústria alimentícia, onde são empregados como antimicrobianos e antioxidantes em alimentos; e na área agrônômica, onde desempenham um papel fundamental na composição de inseticidas (SAEED et al., 2022; SHARMEEN et al., 2021; RAO et al, 2019; ISMAN, 2019).

Em relação aos OEs de espécies da família Celastraceae, é possível destacar o trabalho realizado por Camargo e colaboradores. Nesse estudo foram listados 17 OEs de nove espécies de Celastraceae, incluindo a *S. elliptica*, obtidos por meio do processo de hidrodestilação e analisados por CG/EM. As principais proposições estruturais dos compostos no OE das folhas da *S. elliptica* foram: ácido hexadecanoico (24,97%), ácido mirístico (4,73%), linalol (3,80%), óxido de *cis*-linalol (2,28%), 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona (1,69%), óxido de *trans*-linalol (1,28%), α -ionona (0,52%), nerilacetona (0,50%), cubebol (0,31%), decanal (0,15%) e (5*E*,9*E*)-farnesil acetona (0,15%) (Figura 7, Pág. 34) (CAMARGO et al, 2020).

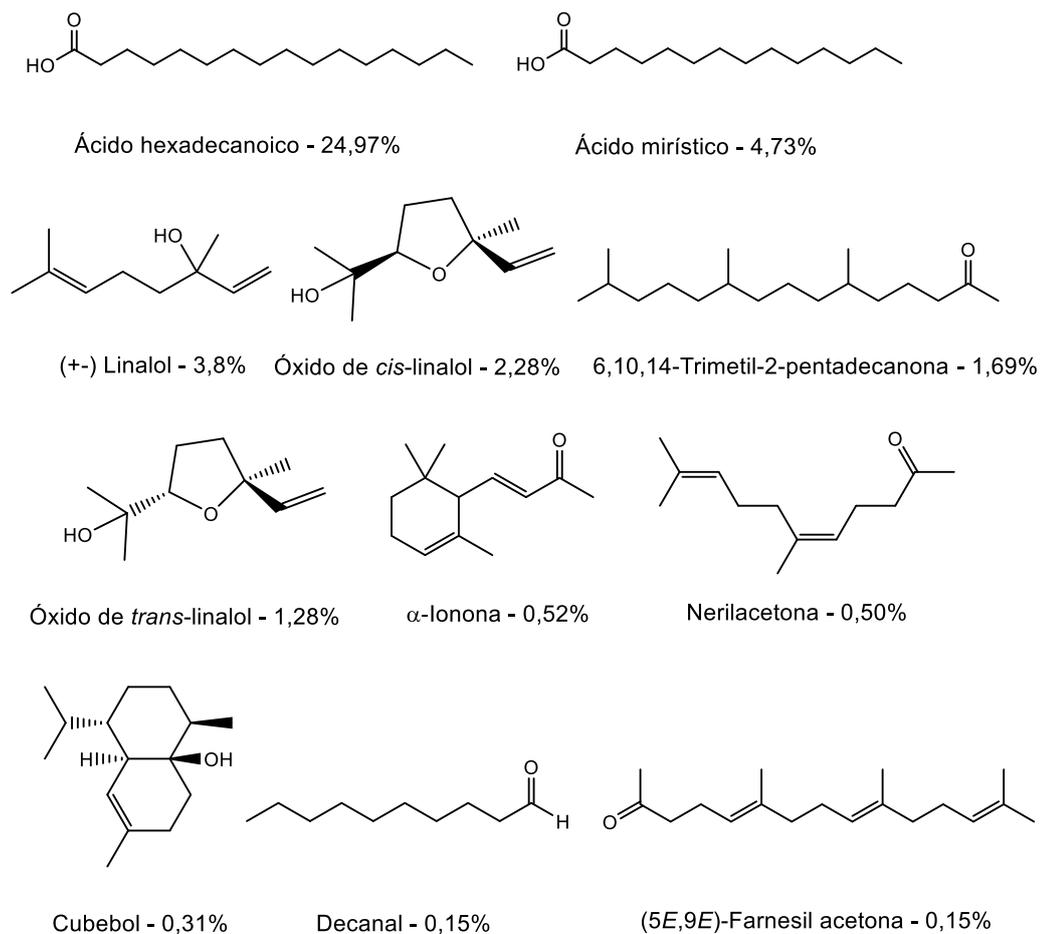


Figura 7: Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial das folhas de *S. elliptica*.

O trabalho descrito em relação ao OE das folhas de *S. elliptica* foi realizado com folhas que estavam armazenadas por um período de tempo; portanto, não há estudos sobre o OE das folhas da espécie recém-coletadas. Além disso, não há relatos na literatura sobre o OE dos galhos de *S. elliptica* (Figura 8, Pág 35).



Figura 8: Folhas e galhos da espécie *Salacia elliptica*.

1.1.7. Avaliação de citotoxicidade

Entre diversas atividades biológicas estudadas, a atividade citotóxica tem um destaque notável devido à emergência na descoberta de compostos com potencial anticâncer, uma vez que o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo (HULVAT, 2020). Nos tratamentos convencionais do câncer são considerados a radioterapia, cirurgia e quimioterapia. A radiação e a quimioterapia desencadeiam a morte das células cancerígenas por meio de vários mecanismos. Apesar de diversos tratamentos terem sido desenvolvidos, ainda apresentam vários efeitos adversos e resistência medicamentosa (SUNG et al, 2010).

Diante disso, destaca-se a importância de buscar novas estratégias terapêuticas que sejam menos prejudiciais ao organismo. Um exemplo dessas investigações é o estudo de candidatos a fármacos a partir de PNs, como os TTPCs (GILL et al, 2016). Como citado anteriormente, diversos TTPCs são biologicamente

ativos e apresentam uma gama de atividades, incluindo a antitumoral (GHANTE et al., 2019).

Entre as mortes causadas pelo câncer, o câncer de pulmão é a causa mais comum, seguido pelos cânceres de fígado e estômago (FERLAY et al., 2021). Desse modo, destacando o câncer de pulmão, é possível encontrar na literatura estudos de TTPCs como candidatos a fármacos. Um estudo realizado por Shi e colaboradores (2014) avaliou o efeito citotóxico de triterpenos da casca da raiz de *Hibiscus syriacus*, no qual os ensaios biológicos foram realizados em células de câncer de pulmão A549. Entre os constituintes isolados e testados, a 3-cafeato de betulina (Figura 9, Pág. 36) apresentou significativa redução na viabilidade celular, constatando a necessidade de dar continuidade aos estudos visando o potencial anticâncer de TTPCs (SHI et al., 2014).

Além disso, derivados de TTPCs foram sintetizados com o objetivo de aprimorar a sua bioatividade, especificamente para aumentar a atividade anticâncer. Por exemplo, Liby e colaboradores (2007) conduziram um estudo de síntese de derivados do TTPC ácido 2-ciano-3,12-dioxooleanano-1,9(11)-dien-28-oico, produzindo um éster metílico e uma amida etílica (Figura 9). Esses derivados foram testados em camundongos fêmeas e observou-se que a gravidade dos carcinomas pulmonares foi marcadamente reduzida (LIBY et al, 2007).

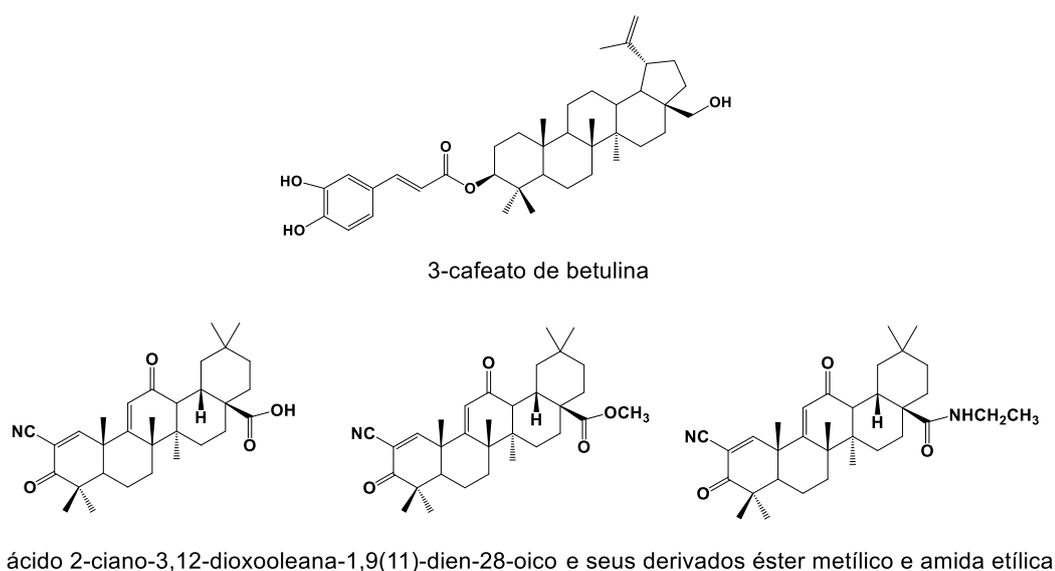


Figura 9: TTPCs testados em ensaios de citotoxicidade contra células de câncer de pulmão.

A partir desse cenário, estabelecer como objetivo a realização de ensaios de citotoxicidade com os TTPCs isolados da espécie *S. elliptica* representa uma contribuição significativa para a triagem de potenciais fármacos citotóxicos frente à linhagem celular humana de câncer pulmonar. Além disso, realizar ensaio de citotoxicidade com os derivados sintéticos do TTPC lupeol (estudo discutido no Capítulo 2) é igualmente promissor para a obtenção de novos compostos úteis no tratamento do câncer.

1.1.8 Atividade antifúngica

Os fungos do gênero *Candida* abrangem cerca de 150 espécies, sendo que algumas têm a capacidade de causar infecções em seres humanos. Em condições normais, a maioria não prejudica o hospedeiro; no entanto, podem apresentar características patogênicas se houver um desequilíbrio na interação entre o fungo e o hospedeiro. Dentre as espécies desse gênero, a *C. albicans* é o patógeno mais comum nas candidíases cutâneas e da orofaringe (CROCCO et al., 2004; CIUERA et al., 2020).

As espécies não *albicans* têm crescido nos últimos anos, sendo patógenos causadores de infecções fúngicas hospitalares, como *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *Candida auris*. A fungemia devido a essas espécies representa uma preocupação importante quanto ao grau de patogenicidade, especialmente em hospedeiros imunocomprometidos, resultando em mortalidade significativa. Além disso, há a preocupação com a ocorrência de resistência aos antifúngicos atualmente disponíveis, o que limita as opções terapêuticas (JEFFERY-SMITH, et al. 2018; TAEI, et al. 2019).

Os fungos do gênero *Cryptococcus* compreendem cerca de 37 espécies conhecidas. Entre esses fungos, apenas *Cryptococcus gatti* e *C. neoformans* comumente causam doenças, principalmente em organismos imunocomprometidos. Em humanos, esses fungos manifestam-se de várias maneiras, mas na maioria dos casos resultam em doença pulmonar ou do sistema nervoso central. A capacidade da levedura de produzir doenças é complexa e, além disso, possui uma adaptabilidade

dinâmica, o que prejudica as opções terapêuticas (LI et al, 2010; MONTOYA et al, 2021).

Os fungos do gênero *Sporothrix* compreendem pelo menos 53 espécies e têm a capacidade de infectar humanos e animais. Entre as espécies que mais infectam mamíferos, destacam-se *S. brasiliensis* e *S. schenkii*. A doença é conhecida como esporotricose, uma infecção subaguda ou crônica da pele, tecido subcutâneo e vasos linfáticos adjacentes. O tratamento convencional em humanos e animais é comumente conduzido com agentes antifúngicos. No entanto, o organismo imunocomprometido dificulta a eficácia da terapia. Além disso, há relatos que indicam o surgimento de cepas de espécies de *Sporothrix* resistentes os medicamentos atualmente disponíveis (CARVALHO et al., 2021; WALLER et al., 2021).

Diante disso, torna-se importante buscar novas estratégias terapêuticas devido às limitações dos antifúngicos. Um exemplo dessas pesquisas são os candidatos a fármacos a partir de PNs, como os TTPCs (GILL et al, 2016).

O estudo realizado por Bisoli e colaboradores (2008) exemplifica a busca por antifúngicos a partir de TTPCs. Metabólitos secundários isolados dos caules de *Combretum laxum* foram avaliados em ensaios *in vitro* contra cepas padrão de *Candida albicans*, *C. krusei* e *Cryptococcus*. O ácido arjunólico, Figura 10, um TTPCs de esqueleto oleanano foi destacado por ser o mais ativo contra as três cepas fúngicas (CIM = 50 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$), revelando-se um potencial antifúngico para futuras investigações (BISOLI et al., 2018).

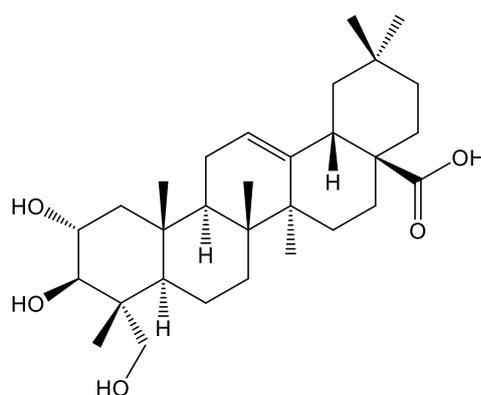


Figura 10: Estrutura química do ácido arjunólico

A resistência das espécies do gênero *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix* aos antifúngicos representa um grande desafio para futuras estratégias terapêuticas e profiláticas, tornando-se necessário o desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos. Diante disso, a condução de ensaios antifúngicos com os TTPCs isolados da espécie *S. elliptica* representa uma contribuição significativa para a triagem de potenciais fármacos. Além disso, realizar ensaios antifúngicos com os derivados sintéticos do TTPC lupeol (estudo discutido no Capítulo 2) é igualmente promissor.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Realizar o estudo fitoquímico das raízes de *Salacia elliptica*, pertencente à família Celastraceae, a fim de isolar e identificar constituintes e realizar testes biológicos. Conjuntamente, extrair óleos essenciais das folhas e galhos da espécie e realizar propostas estruturais dos constituintes.

1.2.2 Objetivos específicos

- Isolar os constituintes.
- Determinar as estruturas químicas dos constituintes isolados.
- Identificar putativamente os constituintes dos extratos acetato etílico e metanólico.
- Avaliar atividades biológicas dos compostos isolados e extratos.
- Obter o óleo essencial das folhas e dos galhos, separadamente.
- Realizar proposições estruturais acerca dos constituintes presentes nos óleos essenciais obtidos.

1.3 METODOLOGIA

1.3.1 Métodos gerais

1.3.1.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As cromatoplasmas para as cromatografias em camada delgada (CCD) foram preparadas utilizando, aproximadamente, 7,0 g de sílica gel 60G para cada 15 mL de água destilada, formando uma camada de 0,25 mm sobre o suporte de vidro. As cromatoplasmas secaram parcialmente em temperatura ambiente e, em seguida, foram ativadas em uma estufa a 100 °C, por no mínimo 30 minutos. Os reveladores utilizados, por meio da pulverização, foram: uma solução de proporção 1:1 v/v de vanilina (1 % m/v em etanol) e ácido perclórico (3 % v/v em água destilada), seguido de aquecimento em estufa a 100 °C; a solução de Dragendorff, composta por uma solução estoque formada pelas soluções I (0,85 g de nitrato de bismuto (III), 10 mL de ácido acético glacial e 40 mL de água) e solução II (8 g de iodeto de potássio e 30 mL de água), na proporção de 1:1 v/v das soluções I e II, seguida da diluição de 1 mL da solução estoque em 2 mL de ácido acético glacial e 10 mL de água. Também se empregou como revelador a solução NP-PEG (composta pela solução de difenilboriloxietilamina a 2% em metanol, NP, e pela suspensão em etanol de polietilenoglicol-4000 a 5%, PEG), com observação sob luz UV a 254 e 365 nm (utilizando o equipamento CHROMATO-UVE da Ultra-Violet Products).

1.3.1.2 Cromatografia em coluna (CC)

As cromatografias em coluna (CC) foram preparadas utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (70-230 ou 230-400 mesh) ou Sephadex LH-20 (previamente suspensa em metanol). Empregaram-se nas colunas os seguintes solventes, isolados ou em misturas, em ordem crescente de polaridade, como fase móvel: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Quando foi necessário reutilizar as misturas de solventes, procedeu-se à correção das proporções utilizando o refratômetro modelo Biobrix. Isso foi feito ao comparar os índices de refração da mistura com os da solução de interesse.

1.3.1.3 Cromatografia líquida de média pressão (CLMP)

A cromatografia líquida de média pressão foi realizada com o uso do equipamento Isolera One (Biotage®) equipado com detector UV/VIS. As colunas empregadas foram de sílica SNAP Ultra® e os eluentes foram clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados ou em misturas, em ordem crescente de polaridade.

1.3.1.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram adquiridos utilizando espectrômetros Bruker Avance III NanoBay (400 MHz) e Avance NEO Ascend (600 MHz) do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (LAREMAR). Foram registrados os deslocamentos químicos (δ) em ppm, usando como padrão de referência interna o tetrametilsilano (TMS) e as constantes de acoplamento (J) expressas em Hz. Utilizou-se o TMS para a calibração dos espectros, mas, em certos casos, os sinais residuais do solvente (CHCl_3 , δ_{H} 7,26 e δ_{C} 77,16) foram empregados. O solvente utilizado nas análises foi clorofórmio deuterado.

1.3.1.5 Espectrometria de massas

Empregou-se cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) para a análise de mistura de ácidos graxos. As análises em CG-EM foram realizadas em um espectrômetro Shimadzu QP2010 Plus, que opera no modo de ionização por impacto eletrônico (70 eV), acoplado à um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010. As amostras foram eluídas em uma coluna capilar DB-5 (30 m X 0,25 mm d.i.; 0,25 μm J & W Scientific), sob um fluxo de 0,88 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A temperatura inicial da coluna foi de 100 °C. Em seguida, a temperatura sofreu acréscimos de 10 °C/min até alcançar 325 °C, mantendo-se nesse valor por 20 minutos. Utilizou-se uma mistura padrão de n-alcanos (C_9 – C_{40}) para verificar o desempenho do sistema CG-EM (operando nas mesmas condições citadas anteriormente) e calcular os índices de retenção (cálculo realizado pelo *software* GCMS solution 4.20, Shimadzu Corporation).

Foi realizada derivatização levando-se à esterificação da amostra que apresentava ácidos graxos. Nesse método, pesou-se 1,0 mg da amostra e transferiu-se para um *vial*. Adicionaram-se 50 μL de metanol e 100 μL de BF_3 -MeOH a 12,5 % $_{\text{m/v}}$,

seguido de aquecimento por 30 minutos a 70 °C. Após esse processo, adicionaram-se 100 μL de água destilada, realizou-se agitação utilizando Vortex e acrescentaram-se 150 μL de diclorometano. Os ésteres metílicos formados foram removidos na fase orgânica e transferidos para um outro *vial*, a fim de serem injetados e analisados por CG-EM.

As análises por CG-EM dos óleos essenciais também foram sucedidas empregando-se espectrômetro Shimadzu QP2010 Ultra, que opera no modo de ionização por impacto eletrônico (70 eV), acoplado a um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010. As amostras foram eluídas em uma coluna capilar Equity™-5 (30 m X 0,25 mm d.i.; 0,25 μm), sob fluxo de 1,50 mL.min⁻¹. A temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, em seguida, a temperatura sofreu acréscimos de 3 °C/min até alcançar 250 °C, prosseguindo no tempo total de 85 minutos. Utilizou-se uma mistura padrão de n-alcanos (C₁₀ –C₂₆) para se verificar o desempenho do sistema CG-EM (operando nas mesmas condições citadas anteriormente) e calcular os índices de retenção (cálculo realizado pelo *software* GCMS solution 4.20, Shimadzu Corporation).

Espectros de massa de alta resolução foram adquiridos utilizando-se um espectrômetro de massas Q-Exactive (ThermoScientific), com fonte de ionização APCI operando no modo positivo, da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Para analisar os extratos acetato etílico e metanólico foram obtidos os espectros de massas utilizando-se cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-HRMS). As análises foram realizadas no Instituto René Rachou, Fiocruz Minas, no setor de Química de Produtos Naturais Bioativos (QPNB) sob a supervisão do Dr. Markus Kohlhoff. O sistema utilizado foi de UHPLC da Shimadzu acoplado a um HRMS (ESI/Q/TOF) maXis ETD da Bruker. Empregou-se o *software* Compass 1.5 da Bruker. As amostras, solubilizadas previamente em metanol a uma concentração de 5 mgmL⁻¹, foram injetadas (frações de 20 μL) em uma coluna Shim-Pack XR-ODS III da Shimadzu (C18, 2,2 μm , 2,2 x 200 mm) a 40 °C, com um fluxo de 200 μL min⁻¹. O branco consistiu apenas de metanol. A eluição da coluna foi realizada utilizando uma solução I composta por 0,1% de ácido fórmico em água e uma solução II de acetonitrila. O gradiente de eluição começou com uma concentração de II de 5% nos primeiros 5 minutos, seguido de um aumento linear até atingir 100% de II ao longo de 45 minutos, e uma retenção final por 5 minutos com a solução contendo 100% de II. Os espectros

de massa foram adquiridos no modo positivo a uma taxa de espectros de 5 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram configurados para deslocamento da placa final de 500 V, voltagem capilar de 4.500 V, pressão do nebulizador de 2,0 bar e fluxo de gás de 8,0 Lmin⁻¹ e temperatura de 200 °C. A fragmentação do precursor foi realizada com energias de colisão de 40 eV. Os cromatogramas obtidos foram monitorados por UV a 214 e 254 nm. A análise foi conduzida no modo positivo de ionização por electrospray (ESI), com varreduras de 100 a 1500 *m/z*.

1.3.1.6 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos usando o equipamento da Shimadzu IR-408 (Shimadzu, Singapura), com amostras preparadas em discos KBr.

1.3.2 Coleta e identificação dos materiais vegetais

A coleta e a identificação das raízes de *Salacia elliptica* (Celastraceae) foram realizadas no município de Montes Claros, em Minas Gerais, pela Professora Dra. Maria Olívia Mercadante-Simões, da Universidade Estadual de Montes Claros. Uma exsicata com o código MCMG 6792 encontra-se depositada no Herbário Montes Claros de Minas Gerais. Foi realizado o cadastro do material vegetal junto ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) obtendo o número de registro AF3DD83.

A coleta e a identificação das folhas e galhos de *Salacia elliptica* (Celastraceae) foram realizadas no município de Montes Claros, em Minas Gerais, pela Professora Dra. Yule Roberta Ferreira Nunes da Universidade Estadual de Montes Claros. Uma exsicata com o código MCMG 6792 encontra-se depositada no Herbário Montes Claros de Minas Gerais. Foi realizado o cadastro do material vegetal junto ao SisGen com o registro AA18685.

1.3.3 Preparação dos extratos das raízes de *Salacia elliptica*

O material vegetal coletado, seco e armazenado em temperatura ambiente, foi pulverizado em moinho de martelos e obtiveram-se 2,04 kg de raízes moídas. Prepararam-se os extratos das raízes pulverizadas por meio da extração exaustiva por maceração a temperatura ambiente. Foram usados, em sequência, hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Posteriormente, foi realizada filtração simples com cada extrato e a remoção do solvente por meio de evaporador rotativo, sob pressão reduzida. Cada processo de maceração foi realizado com o mesmo solvente por quatro vezes e os extratos foram agrupados.

Os extratos obtidos receberam a seguinte nomenclatura: letra E referente à inicial de extrato e segunda letra referente ao solvente extrator (H para hexano, C para clorofórmio, A para acetato de etila e M para metanol). O esquema das extrações está apresentado na Figura 11.

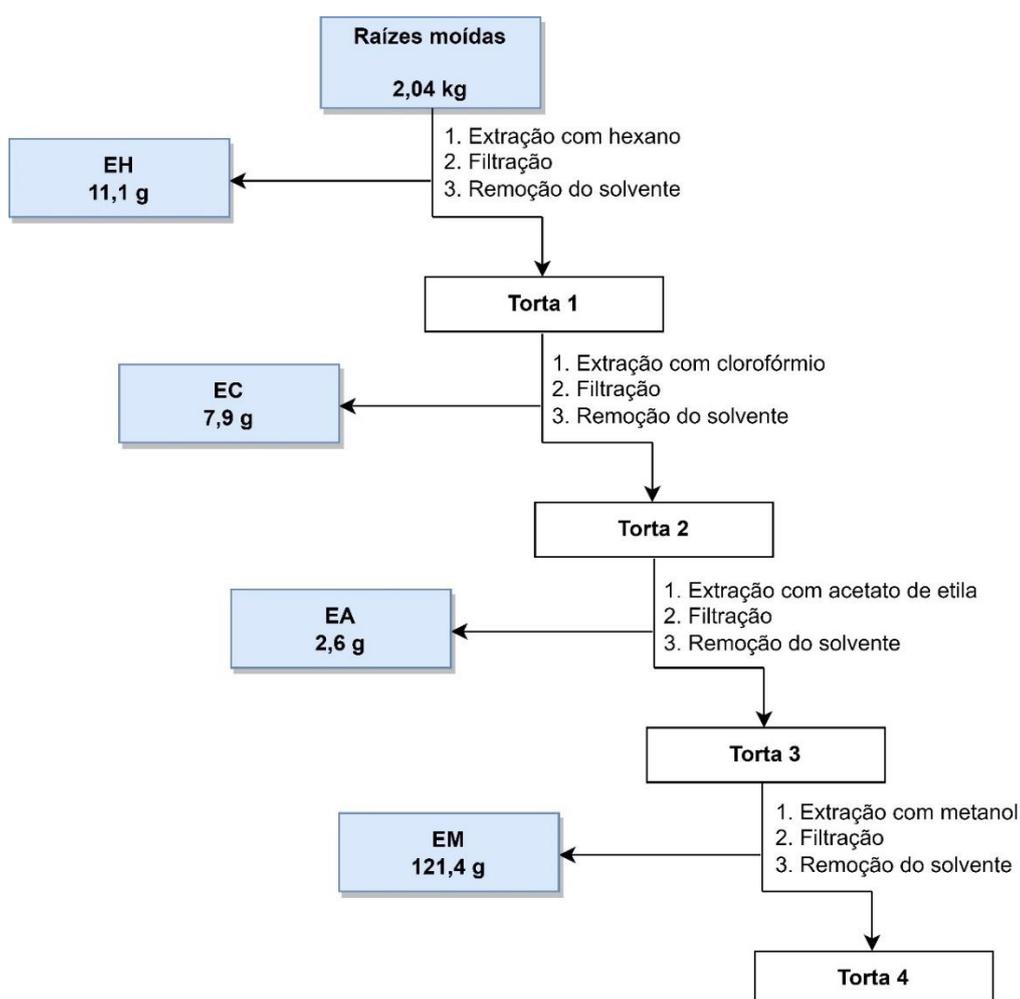


Figura 11: Esquema da obtenção dos extratos de raízes de *Salacia elliptica*.

1.3.4 Fracionamento do EH

Foram obtidos 11,1 g do EH com aspecto pastoso de cor vermelha intensa. O extrato foi submetido à CC (coluna A), em que se utilizaram 330,0 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e empregaram-se como eluentes, em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas. Foram coletadas 84 frações de aproximadamente 200 mL cada (Tabela 1). A partir das similaridades dos perfis cromatográficos analisados em CCD reuniram-se essas frações obtidas em 19 grupos.

Tabela 1. Eluentes usados na coluna A do EH e frações obtidas.

Eluentes	Frações
Hexano	1-5
Hex:AcOEt 9,5: 0,5	6-15
Hex:AcOEt 9: 10	16-26
Hex:AcOEt 8:2	27-32
Hex:AcOEt 7:3	33-37
Hex:AcOEt 6:4	38-52
Hex:AcOEt 1:1	53-62
Hex:AcOEt 4:6	63-67
Hex:AcOEt 3:7	68-72
Hex:AcOEt 2:8	73-75
Hex:AcOEt 1:9	76-77
Acetato de etila	78-79
Metanol	80-84

Alguns grupos não foram trabalhados por serem considerados menos promissores em comparação com os demais, uma vez que continham pouca massa e apresentaram diversas manchas na análise por CCD. O esquema que representa o fracionamento do EH está apresentado na Figura 12, Pág. 49.

Grupo EHA1 (frações 12-14): Foi obtido (2,98 g) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. Após adição de propanona ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA1P (518,4 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Fez-se análise de **EHA1P** por

CCD e foi possível observar várias manchas, então o material foi submetido à CC (coluna B) utilizando-se 50,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, clorofórmio e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 80 frações de aproximadamente 20 mL cada. O **grupo EHB1P (frações 25-29; Hex:CHCl₃ 3:7; 81,2 mg)** foi obtido como um sólido branco, que foi submetido a análises de RMN de ¹H e de ¹³C e identificado como friedelan-3-ona (**SE01**).

Grupo EHA2 (frações 17-19): Foi obtido (543,8 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. Após adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA2P (139,6 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Fez-se análise de **EHA2P** por CCD e observou-se uma única mancha. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C permitiram identificar o composto como friedelan-3β-ol (**SE02**).

Grupo EHA3 (fração 20): Obteve-se um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo com massa total de 142,7 mg. Após a adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA3P (33,5 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Em seguida, o sólido foi submetido a uma CC (coluna C) utilizando-se 2,5 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Coletaram-se 35 frações de aproximadamente 10 mL cada. O **grupo EHC1P (frações 1-15; CHCl₃; 7,3 mg)** foi obtido como um sólido branco, que foi submetido a análises de RMN de ¹H e de ¹³C e identificado como uma mistura de friedelan-3β-ol (**SE02**) e friedelano-1,3-diona (**SE03**).

Grupo EHA4 (frações 21-29): Foi obtido como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo (750,4 mg). Após adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA4P (225,6 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com a pipeta de Pasteur. Em seguida, o sólido branco foi submetido à CC (coluna D) utilizando-se 23,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 65 frações de aproximadamente 20 mL cada. O grupo **EHD1P (frações 24-32; Hex:AcOEt 8,5:1,5; 69,5 mg)** foi obtido como um sólido branco que foi submetido a análises de RMN de ¹H e de ¹³C que caracterizaram a presença de ácidos graxos. Para determinar o tamanho exato da cadeia carbônica ou

se a amostra é uma mistura de ácidos graxos foi realizada a análise por CG-EM. Nessa análise, foi possível identificar uma mistura de sete ácidos graxos (**SE04**) e realizar as seguintes proposições estruturais: **a-** ácido docosanoico, **b-** ácido tricosanoico, **c-** ácido tetracosanoico, **d-** ácido pentacosanoico, **e-** ácido hexacosanoico, **f-** ácido heptacosanoico e **g-** ácido octacosanoico.

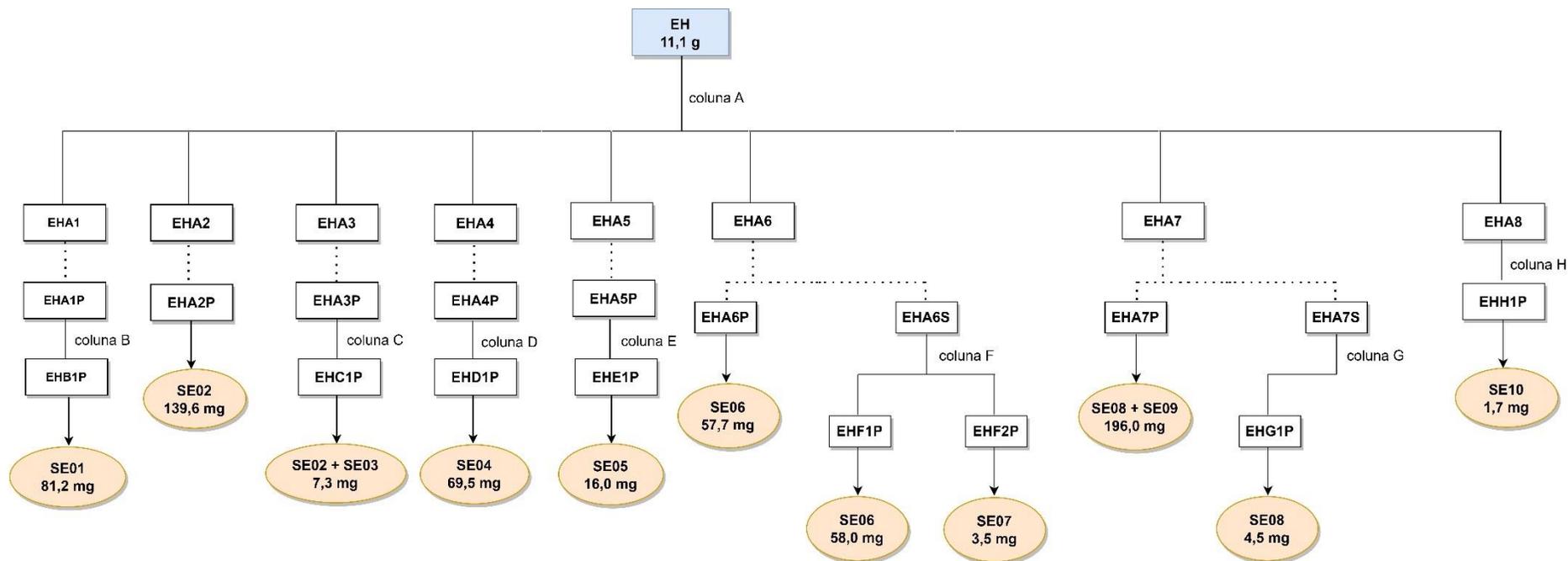
Grupo EHA5 (frações 30-37): Foi obtido (994,8 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo. Após adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA5P (287,8 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com a pipeta de Pasteur. Logo após, o material foi submetido à CC (coluna E) utilizando-se 28,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 70 frações de aproximadamente 10 mL cada. O **grupo EHE1P (frações 29-30; hex:AcOEt 9:1; 16,0 mg)** foi obtido como um sólido branco, que foi submetido a análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e identificado como friedelano-3,15-diona (**SE05**), contaminado com ácido graxo.

Grupo EHA6 (frações 40-43): Foi obtido um sólido branco juntamente com um sólido ceroso de cor marrom, com massa total de 571,5 mg. Após a adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA6P (57,7 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com a pipeta de Pasteur. Fez-se análise de **EHA6P** por CCD e foi possível observar uma única mancha. A análise dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C possibilitaram a identificação do composto como 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SE06**). Posteriormente, o sobrenadante **EHA6S (509,2 mg)** foi submetido à CC (coluna F) utilizando-se 50,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 83 frações de aproximadamente 20 mL cada. O **grupo EHF1P (frações 39-40; hex:AcOEt 8,5:1,5; 58,0 mg)** foi obtido como um sólido branco identificado como o composto já isolado **SE06**. O outro grupo **EHF2P (frações 47-49; hex:AcOEt 8:2; 3,5 mg)** foi obtido como um sólido branco que foi submetido a análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e identificado como espinasterol (**SE07**).

Grupo EHA7 (frações 47-55): Obteve-se um sólido branco juntamente com um sólido ceroso de cor marrom intensa (1,84 g). Após a adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EHA7P (196,0 mg)**, que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Foi realizada análise de **EHA7P**

por CCD e foi possível observar uma única mancha. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C possibilitaram a identificação da mistura dos compostos 15 α ,26-dihidroxfriedelan-3-ona (**SE08**) e 26-hidroxfriedelano-3,15-diona (**SE09**). Posteriormente, o sobrenadante **EHA7S (1,64 g)** foi submetido à CC (coluna G) utilizando-se 164,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 100 frações de aproximadamente 20 mL cada. O **grupo EHG1P (frações 90-91; CHCl_3 : AcOEt 1:1; 4,5 mg)** foi obtido como um sólido branco identificado por RMN de ^1H e de ^{13}C como 15 α ,26-dihidroxfriedelan-3-ona (**SE08**).

Grupo EHA8 (frações 60-67): Obteve-se um sólido ceroso (428,4 mg) de cor vermelha escura que foi submetido à CC (coluna H) utilizando-se 42,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 77 frações de aproximadamente 20 mL cada. O **grupo EHH1P (frações 41-44; CHCl_3 : AcOEt 7:3; 1,7mg)** foi obtido como um sólido branco, que apresentou uma única mancha em CCD. A amostra foi submetida a análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e RMN 2D e identificada como 7 α ,15 α -dihidroxfriedelan-3-ona (**SE10**).



SE01: friedelan-3-ona

SE02: friedelan-3 β -ol

SE02 + SE03: friedelan-3 β -ol + friedelano-1,3-diona

SE04: mistura de ácidos graxos

SE05: friedelano-3,15-diona

SE06: 15 α -hidroxifriedelan-3-ona

SE07: espinasterol

SE08: 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona

SE08 + SE09: 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona +
26-hidroxifriedelano-3,15-diona

SE10: 7 α ,15 α -dihidroxifriedelan-3-ona

Figura 12: Esquema de fracionamento do extrato hexânico das raízes de *Salacia elliptica*.

1.3.5 Fracionamento do EC

EC (7,9 g) apresentou um aspecto pastoso de cor vermelha escura. O extrato foi submetido à CC (coluna I), em que se utilizaram 365,0 g de sílica gel 60 (70-230 mesh) e foram empregados como eluentes, em ordem crescente de polaridade, isolados e em misturas: hexano, acetato de etila e metanol. Coletaram-se 24 frações (aproximadamente 250 mL cada), Tabela 2. As frações foram reunidas em 12 grupos, de acordo com as similaridades dos perfis cromatográficos apresentados nas CCDs.

Tabela 2. Eluentes usados na coluna I do EC e frações obtidas.

Eluentes	Frações
Hexano	1
Hex:AcOEt 9:1	2-5
Hex:AcOEt 8,5:1,5	6-7
Hex:AcOEt 8:2	8,9
Hex:AcOEt 7,5:2,5	10,11
Hex:AcOEt 7:3	12,13
Hex:AcOEt 6,5:3,5	14,15
Hex:AcOEt 6:4	16,17
Hex:AcOEt 5,5:4,5	18,19
Hex:AcOEt 1:1	20,21
Hex:AcOEt 3:7	22
Acetato de etila	23
Metanol	24

Todos os 12 grupos foram trabalhados, porém apenas 4 grupos foram promissores, uma vez que os demais continham quantidade pequena de massa e apresentaram diversas manchas na análise por CCD. O esquema que mostra o fracionamento do EC está apresentado na Figura 13, Pág. 52.

Grupo EC11 (fração 8): Foi obtido (42,4 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. Após adição de propanona, ocorreu a precipitação de um sólido branco **EC11P (10,1 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Foi realizada a análise por CCD de **EC11P** e

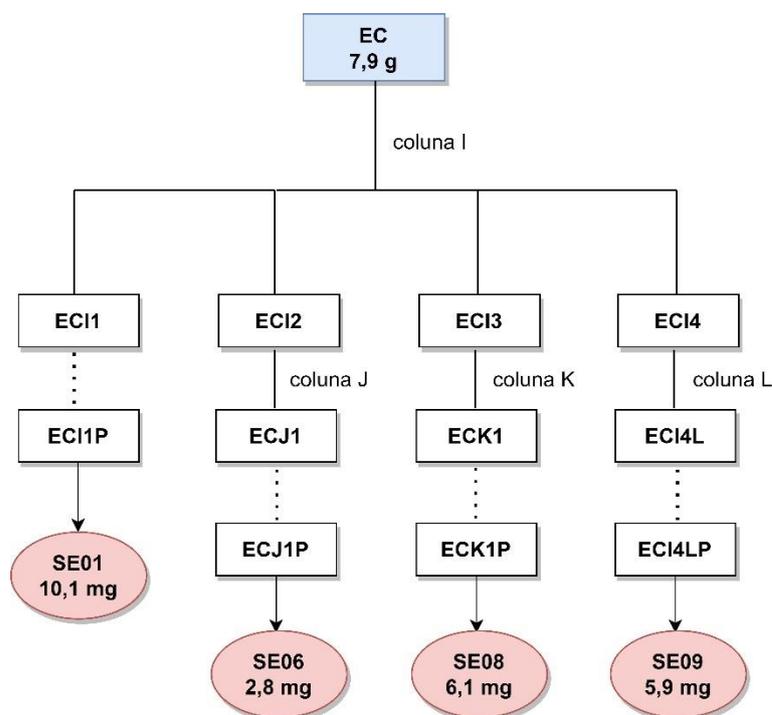
foi observada uma única mancha. A interpretação dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C permitiram identificar o composto como **SE01**.

Grupo ECI2 (fração 11): Foi obtido (267,2 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. O material foi submetido à CC (coluna J) utilizando-se 27,1 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 109 frações de aproximadamente 10 mL cada. O **grupo ECJ1 (frações 72-73; CHCl_3 :AcOEt 9:1; 69,8 mg)** foi obtido como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. Após adição de propanona ocorreu a precipitação de um sólido branco **ECJ1P (2,8 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Foi realizada a análise por CCD de **ECJ1P** e foi observada uma única mancha. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C permitiram identificar o composto como **SE06**.

Grupo ECI3 (fração 13): Foi obtido (178,0 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso alaranjado. O material foi submetido à CC (coluna K) utilizando-se aproximadamente 377,0 mL de volume de Sephadex LH-20. O eluente foi a mistura de hex: CHCl_3 :MeOH (2:1:1 v/v). Foram coletadas 83 frações de aproximadamente 10 mL cada. O **grupo ECK1 (frações 33-41; 45,5 mg)** foi obtido como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso alaranjado. Após adição de propanona ocorreu a precipitação de um sólido branco **ECK1P (6,1 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Foi realizada a análise por CCD de **ECK1P** e foi observada uma única mancha. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C permitiram identificar o composto como **SE08**.

Grupo ECI4 (fração 14): Foi obtido (344,5 mg) como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. O material foi submetido à CC (coluna L) utilizando-se 33,4 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes foram hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, isolados e em misturas, em gradiente de polaridade. Foram coletadas 200 frações de aproximadamente 10 mL cada. O **grupo ECL1 (frações 71-78; hex: CHCl_3 1:9; 42,5 mg)** foi obtido como um sólido branco juntamente com um sólido ceroso amarelo alaranjado. Após adição de propanona ocorreu a precipitação de um sólido branco **ECL1P (5,9 mg)** que foi obtido a partir da retirada do sobrenadante com pipeta de Pasteur. Foi realizada a análise

por CCD de **ECL1P** e foi observada uma única mancha. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C permitiram identificar o composto como **SE09**.



SE01: friedelan-3-ona

SE06: 15α -hidroxifriedelan-3-ona

SE08: $15\alpha,26$ -di-hidroxifriedelan-3-ona

SE09: 26-hidroxifriedelano-3,15-diona

Figura 13: Esquema do fracionamento do extrato clorofórmio.

1.3.6 Fracionamento do EA

EA (2,7 g) apresentou um aspecto pastoso de cor vermelha intensa. O extrato foi submetido à CLMP, utilizando-se o equipamento Isolera One. Foi utilizada uma coluna de sílica SNAP® Ultra 100 g, empacotada com clorofórmio, na vazão de 50 mLmin⁻¹. A detecção por UV foi utilizada nos comprimentos de onda 254 nm e 420 nm. Foram coletadas 130 frações de aproximadamente 15 mL, as quais foram reunidas em 42 grupos de acordo com o perfil apresentado nas CCDs.

Os grupos menos promissores não foram trabalhados, uma vez que continham uma quantidade pequena de massa e apresentaram diversas manchas na análise por

CCD. Foram trabalhados 17 grupos, cada um deles apresentou uma única mancha em CCD e foi analisado por RMN de ^1H . Para todos os grupos identificou-se uma mistura de ácidos graxos, semelhante ao **SE04**.

1.3.7 Fracionamento do EM

O EM (121,4 g) foi obtido como um sólido de cor vermelha escura. O extrato foi submetido à extração por marcha química (metodologia adaptada de Maldoni, 1991, e Cannell, 1998) para o isolamento de alcaloides. Adicionaram-se 500 mL de uma solução ácida de HCl 5% (v/v) ao extrato, que foi mantido sob agitação magnética por aproximadamente 4 horas. Parte do extrato não solubilizou e realizou-se a filtração. O sólido retido no papel de filtro foi armazenado. A solução aquosa (filtrado), na qual os alcaloides, se presentes, estariam na forma de sais, foi particionada com clorofórmio (3 x 200 mL). O solvente da fração orgânica ácida foi removido utilizando evaporador rotativo. A fração aquosa ácida foi alcalinizada com hidróxido de amônio até atingir um pH entre 9 e 10. Dessa forma, caso houvesse alcaloides, esses estariam na forma de base livre. Em seguida, essa solução foi particionada com clorofórmio (3 x 200 mL), resultando na obtenção da fração aquosa básica e da fração orgânica básica. Após a remoção do solvente da fração orgânica básica, obteve-se a fração (64,6 mg) com a possível presença de alcaloides (Figura 14, Pág. 54).

A CCD foi empregada para verificar o perfil cromatográfico da fração orgânica básica, utilizando o reagente de Dragendorff como revelador. Nenhuma mancha foi observada na cromatoplaça, o que indica a possível ausência de alcaloides. Portanto, a continuação do trabalho não foi considerada promissora.

Apesar de a marcha química ser direcionada para o estudo de alcaloides, também se verificou o perfil cromatográfico das outras frações e do sólido. Entre eles, a fração orgânica ácida mostrou-se mais promissora. Essa fração apresentou diversas manchas na CCD, revelada com o reagente NP-PEG, e foi observada sob luz UV a 254 nm. Foi possível identificar manchas que indicam a presença de flavonoides.

A fração orgânica ácida (249,7 mg) foi submetida à CC utilizando 25,0 g de sílica gel 60 (230-400 mesh). Os eluentes usados foram clorofórmio e metanol, tanto separadamente como em misturas, com um gradiente de polaridade. Foram coletadas

67 frações de aproximadamente 10 mL cada. As frações 27-30 (CHCl_3 :MeOH 9,2:0,8; 97 mg) apresentaram várias manchas de coloração azul e verde na cromatoplaça, utilizando como revelador NP-PEG, e observadas sob luz UV a 254 nm. Devido à quantidade de manchas e à pequena massa das frações, optou-se por não prosseguir com o isolamento dos constituintes, embora seja possível a presença de flavonoides.

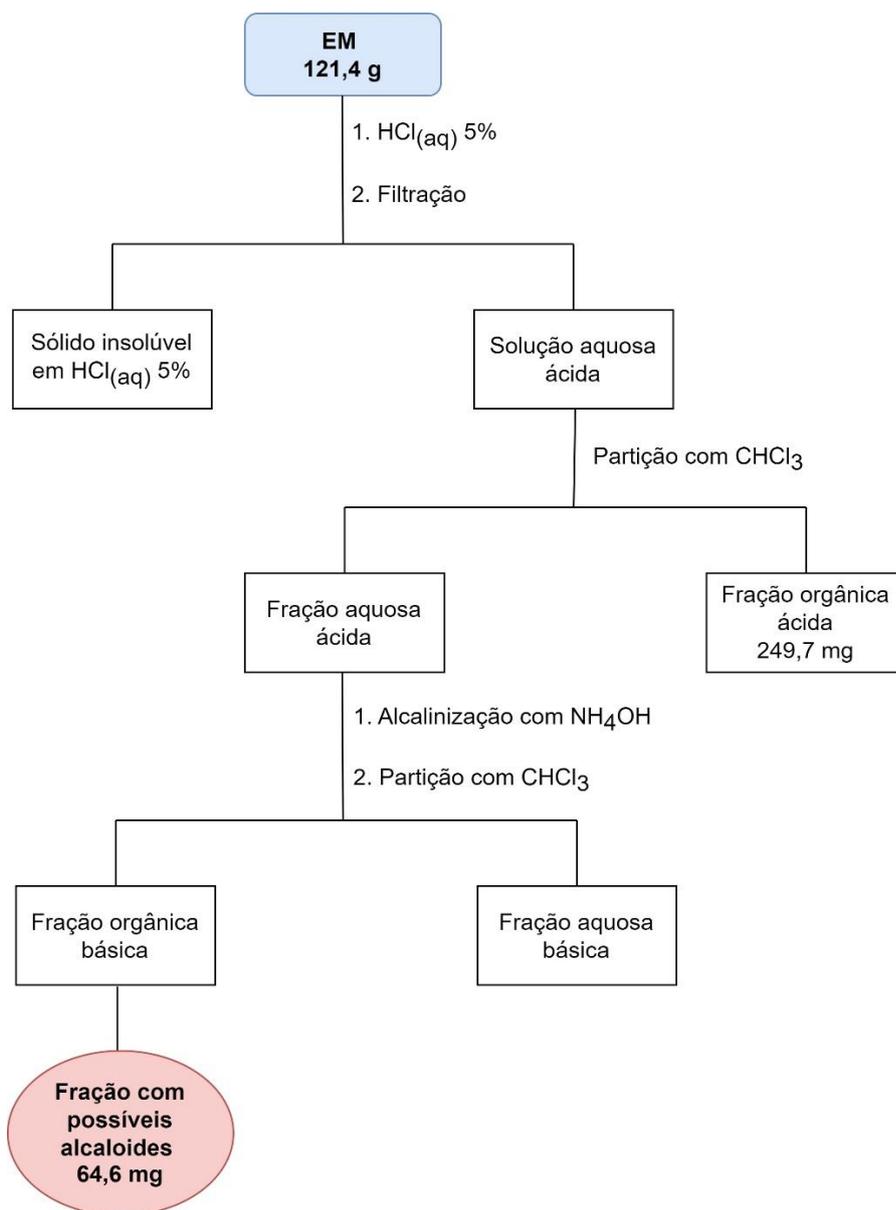


Figura 14: Esquema da marcha química para o extrato metanólico das raízes.

1.3.8 Extração dos óleos essenciais (OEs) das folhas e galhos de *Salacia elliptica*

Os óleos essenciais (OEs) foram extraídos a partir do material vegetal pulverizado em moinho de martelos. O processo de hidrodestilação foi empregado utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado, por 2 horas. O hidrolato (mistura de água e OE) obtido foi submetido à partição líquido-líquido com diclorometano (três repetições de 50 mL). O solvente foi removido da fase orgânica usando-se um evaporador rotatório na temperatura de 30 °C. Os OEs obtidos foram armazenados na geladeira e protegidos de luz.

Os teores de OE foram determinados a partir do material vegetal parcialmente seco, sendo expressos como porcentagem (% m/m).

O processo de extração foi executado de maneira idêntica tanto para as folhas quanto para os galhos, separadamente.

1.3.9 Análise dos extratos acetato etílico e metanólico das raízes por UHPLC-HRMS

Os extratos acetato etílico e metanólico (5 mg) foram dissolvidos em 1 mL de metanol grau HPLC, filtrados através de filtros de 0,2 μm e injetados em frações de 20 μL em um cromatógrafo UHPLC da Shimadzu acoplado a um HRMS. As condições estão descritas na seção **1.3.1.5 Espectrometria de massas**.

1.3.10 Avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados das raízes de *S. elliptica*

O ensaio de citotoxicidade foi realizado com o objetivo de avaliar a atividade dos compostos contra a linhagem de células de câncer de pulmão A549, utilizando a citometria de fluxo. Esse teste foi conduzido em parceria com o Professor Dr. Daniel Crístian Ferreira Soares, Laboratório de Bioengenharia, Universidade Federal de Itajubá.

A linhagem celular humana (A549-ATCC® CCL-185 - modelo celular de adenocarcinoma de pulmão) foi empregada para investigar o perfil de citotoxicidade dos compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, **SE09** e lupeol. As células foram cultivadas em frascos de cultura celular de 50 mL, empregando meio de cultura Eagle (Sigma–

Aldrich, São Paulo, Brasil) modificado por Dulbecco (DMEM) (4500 mg·L⁻¹ glicose; 4 M glutamina; 11 mg·L⁻¹ piruvato de sódio; 3,7 g·L⁻¹ bicarbonato de sódio) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de estreptomicina.

As células foram incubadas a 37 °C em uma incubadora de CO₂ (modelo 311, Thermo Fisher Scientific, Asheville, NC, EUA) com atmosfera controlada de 95% O₂ e 5% CO₂, mantendo níveis adequados de umidade. Ao atingir uma confluência adequada, aproximadamente 1,0 × 10⁸ células foram transferidas para placas de cultura celular com 12 poços, deixadas aderir ao fundo da placa, permanecendo por 24 horas. As amostras foram dispersas em solução de PBS e incubadas nos poços da placa de cultura.

Os grupos experimentais consistiram nos seguintes (n = 3/grupo): (I) solução estéril de NaCl (0,9% (p/v)) como controle negativo, (II) solução de DMSO (20%) como controle positivo, (III) compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, **SE09** e lupeol nas concentrações de 2, 10, 15 e 20 µg·mL⁻¹, dissolvidos em DMSO.

Todos os experimentos de cultura celular e ensaios de citometria de fluxo seguiram os padrões de biossegurança descritos na ISO 10993-5 (2009). Os materiais foram previamente esterilizados e os processos de manipulação celular foram realizados em uma cabine de segurança biológica BIOSEG 12, Classe II tipo A1 (Grupo Veco, São Paulo, Brasil).

As análises de citometria de fluxo foram conduzidas utilizando o kit de reagentes Fixable Viability Stain® 450 (V450, BD Biosciences, São Paulo, Brasil), permitindo a discriminação entre células vivas e células mortas. Trinta mil eventos foram adquiridos para cada amostra para o tratamento estatístico adequado. Os dados de IC₅₀ e análise estatística foram calculados no GraphPad Prism, versão 8.0 (San Diego, Estados Unidos).

1.3.11 Atividade antifúngica de compostos isolados das raízes de *S. elliptica*

O ensaio *in vitro* de atividade antifúngica foi realizado com o objetivo de identificar compostos que demonstrassem atividade contra os fungos *Candida auris*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus gatti*, *C.*

neoformans, *Sporothrix brasiliensis* e *S. schenkii*. Esse teste foi conduzido em parceria com a Professora Dra. Susana Johann, do Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

1.3.11.1 Cepas microbianas e preparação de inóculo

Os fungos analisados foram *Candida auris* (COLO 01), *C. albicans* (SC 5314), *C. krusei* (ATCC20298), *C. tropicalis* (ATCC750), *C. parapsilosis* (ATCC22019), *C. glabrata* (ATCC2001), *C. neoformans* (H99), *C. gatti* (L27/01), *Sporothrix brasiliensis* (ATCC189) e *S. schenkii* (ATCC 32286). Todas as cepas de fungos foram preservadas à temperatura de -80°C. Antes de se realizar os experimentos, as cepas foram cultivadas em ágar Sabouraud dextrose (HiMedia, Mumbai, Índia) a 35 ° C para assegurar sua viabilidade e pureza. A preparação do inóculo seguiu as orientações descritas em M-27-A3 (CLSI, 2008).

1.3.11.2 Determinação da concentração inibitória mínima

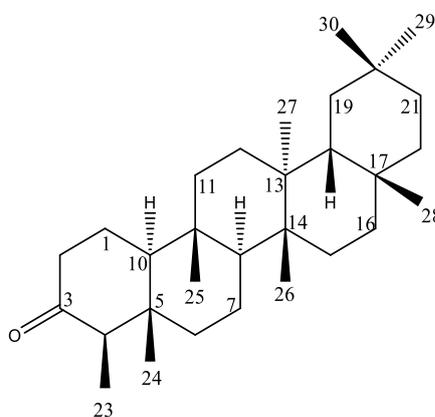
As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) foram determinadas por meio do método de microdiluição em caldo (CLSI, 2008) em microplacas estéreis de 96 poços com fundo plano (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA). Os compostos **SE01**, **SE02**, **SE06** e **SE08** foram solubilizados em DMSO (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e depois submetidos à diluição dupla em meio de teste RPMI1645, abrangendo uma faixa de concentração de 0,25 a 250,0 μM . Apenas RPMI-1645 foi utilizado como controle estéril. Para controles positivos antifúngicos comparativos foram incluídos fluconazol (0,41–209 μM), itraconazol (0,04–22,7 μM) e anfotericina B (0,016–8,7 μM). As microplacas foram inoculadas com as respectivas cepas e incubadas a 35 °C por 48 a 72 horas para *Cryptococcus spp.* e *Sporothrix spp.*; e 24 a 48 horas, no caso de *Candida spp.* Os *endpoints* foram determinados visualmente, comparando-se o crescimento fúngico nos poços sem os compostos candidatos a antifúngico. Cada ensaio foi realizado em triplicata com uma réplica biológica. A CIM foi definida como a concentração mais baixa (μM) que resultou em 100% de inibição do crescimento.

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Determinação estrutural dos constituintes das raízes da *S. elliptica*

Todos os TTPCs obtidos das raízes da espécie *S. elliptica*, apresentaram o esqueleto friedelano (Figura 1, Pág. 26). Alguns sinais nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C são característicos desse tipo de esqueleto. No espectro de RMN de ^1H , é possível observar sete simpletos relativos a sete grupos metila, quando não há oxidação de nenhuma das metilas, juntamente com um duplete característico da metila C-23 (KLASS et al., 1992). No espectro de RMN de ^{13}C , é possível observar 30 sinais. Uma característica importante é observada quando C-3 é um carbono carbonílico, nesse caso, a metila C-23 torna-se mais blindada, e seu sinal aparece em torno de δ_c 6-8, por se encontrar em uma região de cone de proteção, gerado pelos elétrons π da carbonila C-3, devido ao efeito de anisotropia magnética (MAHATO E KUNDU, 1994).

1.4.1.1 SE01: friedelan-3-ona (friedelina)



SE01 foi obtido como um sólido branco. O espectro de RMN de ^1H do composto (Figura A1, Pág. 156) apresentou sete simpletos relativos a sete grupos metila: δ_H 0,73; 0,87; 0,95; 1,00; 1,01; 1,05 e 1,18; além de um duplete em δ_H 0,89 (sobreposto ao sinal em δ_H 0,87) característico da metila C-23 de um triterpeno de esqueleto friedelano.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura A2, Pág. 156) de **SE01** apresentou 30 sinais. O sinal em δ_c 213,4 foi atribuído a um carbono carbonílico e o sinal em δ_c 7,0 a uma metila, sendo que esses sinais são característicos da carbonila em C-3 e metila em

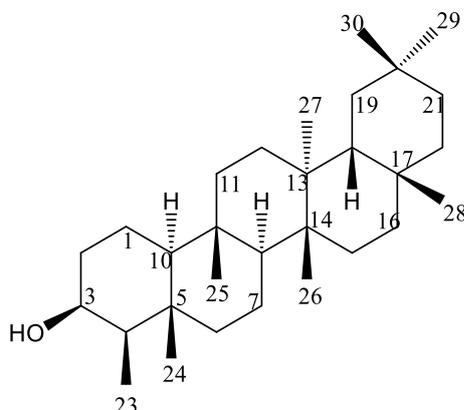
C-23 de esqueleto friedelano. A partir da análise do espectro DEPT-135 (Figura A3, Pág. 157) os carbonos foram classificados como: metílicos (8 carbonos), metilênicos (11), metínicos (4) e carbonos não hidrogenados (7). Os dados de RMN de ^{13}C obtidos foram comparados com os da literatura (MAHATO E KUNDU, 1994) (Tabela 3) e permitiram a identificação do composto **SE01** como friedelan-3-ona.

Tabela 3. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE01** com os dados da literatura para friedelan-3-ona.

C	Tipo	δ_{C}		C	Tipo	δ_{C}	
		SE01	friedelan-3-ona*			SE01	friedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,4	22,3	16	CH ₂	36,2	36,0
2	CH ₂	41,7	41,5	17	C	30,1	30,0
3	C	213,4	213,2	18	CH	42,9	42,8
4	CH	58,4	58,2	19	CH ₂	35,5	35,3
5	C	42,3	42,1	20	C	28,3	28,1
6	CH ₂	41,4	41,3	21	CH ₂	32,6	32,7
7	CH ₂	18,4	18,2	22	CH ₂	39,4	39,2
8	CH	53,2	53,1	23	CH ₃	7,0	6,8
9	C	37,6	37,4	24	CH ₃	14,8	14,6
10	CH	59,6	59,4	25	CH ₃	18,1	17,9
11	CH ₂	35,8	35,6	26	CH ₃	20,4	20,2
12	CH ₂	30,6	30,5	27	CH ₃	18,8	18,6
13	C	39,8	39,7	28	CH ₃	32,2	32,1
14	C	38,4	38,3	29	CH ₃	35,2	35,0
15	CH ₂	32,9	32,4	30	CH ₃	31,9	31,8

*CDCl₃, MAHATO E KUNDU, 1994

1.4.1.2 SE02: friedelan-3 β -ol (friedelinol)



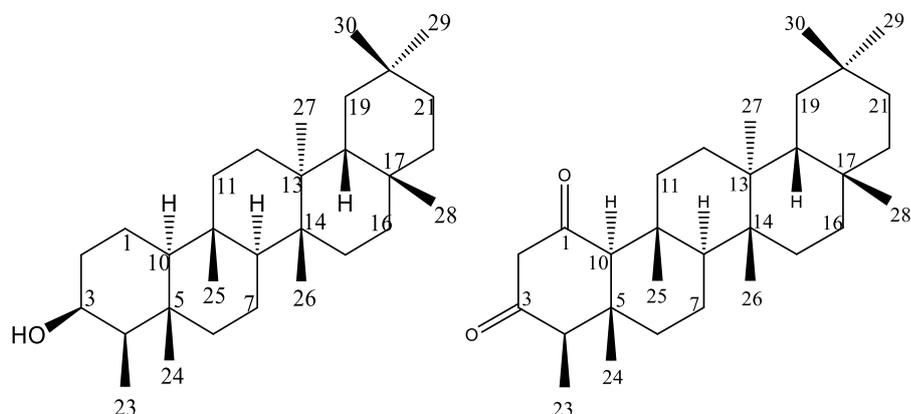
SE02 foi obtido como um sólido branco. A partir da análise dos espectros de RMN de ^1H (Figura A4, Pág. 157) observaram-se os sinais de simpletos em δ_{H} 0,86; 0,94; 0,96; 0,99; 1,00; 1,01; e 1,17, que foram atribuídos a sete grupos metila. Também se observaram um duplete em δ_{H} 0,93 (sobreposto ao sinal em δ_{H} 0,94) característico da metila C-23 de friedelano, e um sinal em δ_{H} 3,73, característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C de **SE02** (Figura A5, Pág. 158) indicou a presença de 30 sinais de carbono, entre eles o sinal em δ_{C} 72,8, característico de carbono hidroxilado. O espectro DEPT-135 (Figura A6, Pág. 158) possibilitou a classificação dos átomos de carbono como não hidrogenados (6 carbonos), metínicos (5), metilênicos (11) e metílicos (8). A comparação dos dados de RMN de ^{13}C encontrados com os da literatura (SOUSA et al., 2012) (Tabela 4, Pág. 61) proporcionou a identificação do **SE02** como friedelan-3 β -ol.

Tabela 4. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE02** com os dados da literatura para friedelan- 3β -ol.

C	Tipo	δ_{C} SE02	δ_{C} friedelan-3β-ol*	C	Tipo	δ_{C} SE02	δ_{C} friedelan-3β-ol*
1	CH ₂	15,8	15,8	16	CH ₂	35,6	35,5
2	CH ₂	36,1	36,1	17	C	30,0	30,0
3	CH	72,8	72,8	18	CH	42,8	42,8
4	CH	49,2	49,1	19	CH ₂	35,2	35,2
5	C	37,8	37,8	20	C	28,2	28,2
6	CH ₂	41,7	41,7	21	CH ₂	32,8	32,8
7	CH ₂	17,5	17,5	22	CH ₂	39,3	39,3
8	CH	53,2	53,2	23	CH ₃	11,6	11,6
9	C	37,1	37,1	24	CH ₃	16,4	16,4
10	CH	61,3	61,3	25	CH ₃	18,2	18,2
11	CH ₂	35,3	35,3	26	CH ₃	20,1	20,1
12	CH ₂	30,6	30,6	27	CH ₃	18,7	18,6
13	C	38,4	38,4	28	CH ₃	32,1	32,1
14	C	39,7	39,7	29	CH ₃	35,0	35,0
15	CH ₂	32,3	32,3	30	CH ₃	31,8	31,8

* CDCl₃, SOUSA et al., 2012

1.4.1.3 SE02+SE03: mistura de friedelan-3 β -ol e friedelano-1,3-diona

A mistura de **SE02** e **SE03** foi obtida como um sólido branco. A partir da análise do espectro de RMN de ^1H (Figura A7, Pág. 159) foi possível observar uma grande quantidade de sinais referentes a hidrogênios metílicos na região entre δ_{H} 0,70 e δ_{H} 1,20, sugerindo que a amostra consistia de uma mistura. Nos espectros de RMN de ^{13}C (Figura A8, Pág. 159) e DEPT-135 (Figura A9, Pág. 160) observaram-se 56 sinais de carbono, e alguns deles com intensidade maior que os demais. Os valores dos sinais menos intensos foram comparados com a literatura (SOUSA et al., 2012) (Tabela 5, Pág. 63) e apresentaram similaridade aos encontrados para o composto **SE02**, permitindo identificá-lo. Entre os sinais de maior intensidade foram observados dois referentes a carbonos carbonílicos, δ_{C} 203,0 e δ_{C} 204,4; além do sinal de carbono metílico em δ_{C} 7,4 característico da metila C-23 de friedelano contendo carbonila na posição C-3.

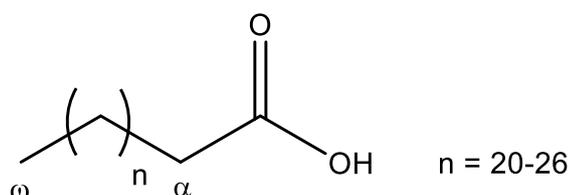
A comparação dos dados de RMN de ^{13}C com os da literatura (KLASS et al., 1992) (Tabela 5, Pág. 63) proporcionou a identificação do **SE03** como friedelano-1,3-diona.

Tabela 5: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE02 + SE03** com os dados da literatura para friedelan-3 β -ol e friedelano-1,3-diona.

C	Tipo SE02	δ_c SE02	δ_c friedelan-3 β -ol*	Tipo SE03	δ_c SE03	δ_c friedelano-1,3-diona**
1	CH ₂	15,9	15,8	C	203,0	202,8
2	CH ₂	36,1	36,1	CH ₂	60,8	60,6
3	CH	72,9	72,8	C	204,4	204,2
4	CH	49,3	49,1	CH	59,2	59,1
5	C	37,3	37,8	C	38,0	37,8
6	CH ₂	41,7	41,7	CH ₂	40,7	40,6
7	CH ₂	17,7	17,5	CH ₂	18,2	18,1
8	CH	53,3	53,2	CH	52,3	52,2
9	C	37,2	37,1	C	37,2	37,2
10	CH	61,4	61,3	CH	72,0	71,9
11	CH ₂	35,4	35,3	CH ₂	34,7	34,6
12	CH ₂	30,8	30,6	CH ₂	30,3	30,2
13	C	38,4	38,4	C	39,6	39,5
14	C	39,8	39,7	C	38,3	38,3
15	CH ₂	32,4	32,3	CH ₂	32,5	32,4
16	CH ₂	35,5	35,5	CH ₂	36,0	35,9
17	C	30,1	30,0	C	30,1	30,0
18	CH	42,9	42,8	CH	42,8	42,7
19	CH ₂	35,3	35,2	CH ₂	35,4	35,3
20	C	28,3	28,2	C	28,3	28,2
21	CH ₂	32,9	32,8	CH ₂	32,9	32,8
22	CH ₂	39,5	39,3	CH ₂	39,4	39,3
23	CH ₃	11,8	11,6	CH ₃	7,4	7,3
24	CH ₃	16,5	16,4	CH ₃	16,1	16,0
25	CH ₃	18,4	18,2	CH ₃	18,2	18,0
26	CH ₃	20,3	20,1	CH ₃	20,5	20,3
27	CH ₃	18,8	18,6	CH ₃	18,9	18,8
28	CH ₃	32,2	32,1	CH ₃	32,2	32,0
29	CH ₃	35,2	35,0	CH ₃	31,9	31,8
30	CH ₃	31,9	31,8	CH ₃	35,2	35,0

*CDCl₃, SOUSA et al., 2012 **CDCl₃ - KLASS et al., 1992

1.4.1.4 SE04: Mistura de ácidos graxos



SE04 foi obtido como um sólido branco. Foi possível observar no espectro de RMN de ^1H obtido para o composto (Figura A10, Pág. 160) dois tripletos em δ_{H} 2,35 (t, 7,5 Hz, 2H) (H- α) e δ_{H} 0,87 (t, 6,8 Hz, 3H) (H- ω); além de um simpleto, em δ_{H} 1,25. Ao se analisar os espectros de RMN de ^{13}C (Figura A11, Pág. 161) e DEPT-135 (Figura A12, Pág. 161), notou-se a presença de numerosos sinais de grupos metilênicos entre δ_{C} 22,9-32,1, e um sinal de carbono em δ_{C} 179,4, evidenciando um provável carbono carbonílico de ácido carboxílico. A partir dessas análises, foi possível sugerir que **SE04** pertencente à classe dos ácidos graxos. Na Tabela 6, estão listados os valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C para **SE04** comparados com os valores encontrados na literatura (COUPERUS; CLAGUE; VAN DONGEN, 1978) para o ácido palmítico ($\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$).

Tabela 6: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE04** com os dados da literatura para o ácido palmítico.

Átomos	Tipo	δ_{C} SE04	δ_{C} ácido palmítico*
COOH	C	179,4	180,7
α	CH ₂	34,1	34,2
N	CH ₂	22,8-32,1	22,8-32,0
Ω	CH ₃	14,3	14,1

* CDCl_3 , COUPERUS; CLAGUE; VAN DONGEN, 1978

A partir dessas informações, identificou-se **SE04** como pertencente à classe dos ácidos graxos, contudo não foi possível a completa elucidação. Para verificar o tamanho exato da cadeia ou se a amostra se trata de uma mistura de ácidos graxos, foi realizada a análise por CG-EM após a derivatização de **SE04** com metanol (Figura 15, Pág 65).

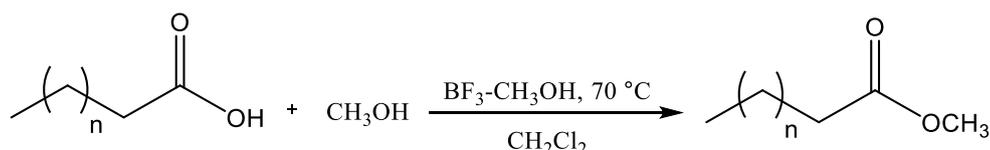


Figura 15: Esquema de derivatização de **SE04** com metanol formando ésteres metílicos.

Foi possível observar no cromatograma obtido (Figura A13, Pág. 161) a presença de sete compostos na amostra. A partir da comparação dos índices de retenção e dos espectros de massas com os dados encontrados em bibliotecas de referências (FFNSC2.lib, Library.fames e NIST) identificaram-se a presença de sete ésteres metílicos. Na Tabela 7 (Pág. 66), são apresentados a fórmula molecular, o nome, a porcentagem relativa, índice de retenção calculado (IR_{cal}) e o da literatura (IR_{lit}) para cada um desses ésteres.

Pode-se observar também nos espectros de massas (Figura A14, Pág. 162) de todos os ésteres o pico base com m/z 74. Esse pico é um indício da presença de éster metílico, chamado de íon de McLafferty, devido ao rearranjo sendo induzido pelo hidrogênio em posição γ (NIBBERING, 2004).

A partir da análise do cromatograma e dos espectros de massas foi possível verificar que **SE04** trata-se de uma mistura de sete ácidos graxos de cadeia longa saturada. Esses ácidos graxos correspondem aos ésteres detectados devido à derivatização, para os quais foram feitas as seguintes proposições estruturais: **a-** ácido docosanoico (C22:0), **b-** ácido tricosanoico (C23:0), **c-** ácido tetracosanoico (C24:0), **d-** ácido pentacosanoico (C25:0), **e-** ácido hexacosanoico (C26:0), **f-** ácido heptacosanoico (C27:0) e **g-** ácido octacosanoico (C28:0).

Tabela 7: Dados dos ésteres propostos na análise por CG-EM de **SE04** após a derivatização.

Éster	Fórmula molecular	Nome	%relativa	IR _{cal}	IR _{lit}
a	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	docosanoato de metila	7,9	2536	2531 ^a
b	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	tricosanoato de metila	5,7	2637	2632 ^a
c	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	tetracosanoato de metila	28,6	2737	2737 ^b
d	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	pentacosanoato de metila	10,5	2838	2830 ^c
e	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	hexacosanoato de metila	32,7	2939	2940 ^b
f	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	heptacosanoato de metila	3,0	3041	3032 ^c
g	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	octacosanoato de metila	11,6	3140	3138 ^c

^a ROSTAD e PEREIRA, 1986; ^b KOWALSKI, 2004; ^c SUTTON e ROWLAND, 2012.

Outros grupos que apresentaram espectro de RMN de ¹H semelhantes ao **SE04** foram aqueles identificados no extrato EA das raízes de *S. elliptica*. Na Figura 16, Pág. 67, é possível observar o espectro de RMN de ¹H de um desses grupos que possui sinais semelhantes aos do **SE04**, como um multipletto em δ_{H} 2,35 (H- α), um tripleto em δ_{H} 0,88 (t, 6,6 Hz) (H- ω) e um simpleto, em δ_{H} 1,25. Todos os demais grupos trabalhados desse extrato possuem espectros de ¹H com sinais semelhantes. Desse modo, todos os 17 grupos foram identificados como pertencentes à classe dos ácidos graxos. Contudo, não foi realizada uma elucidação completa.

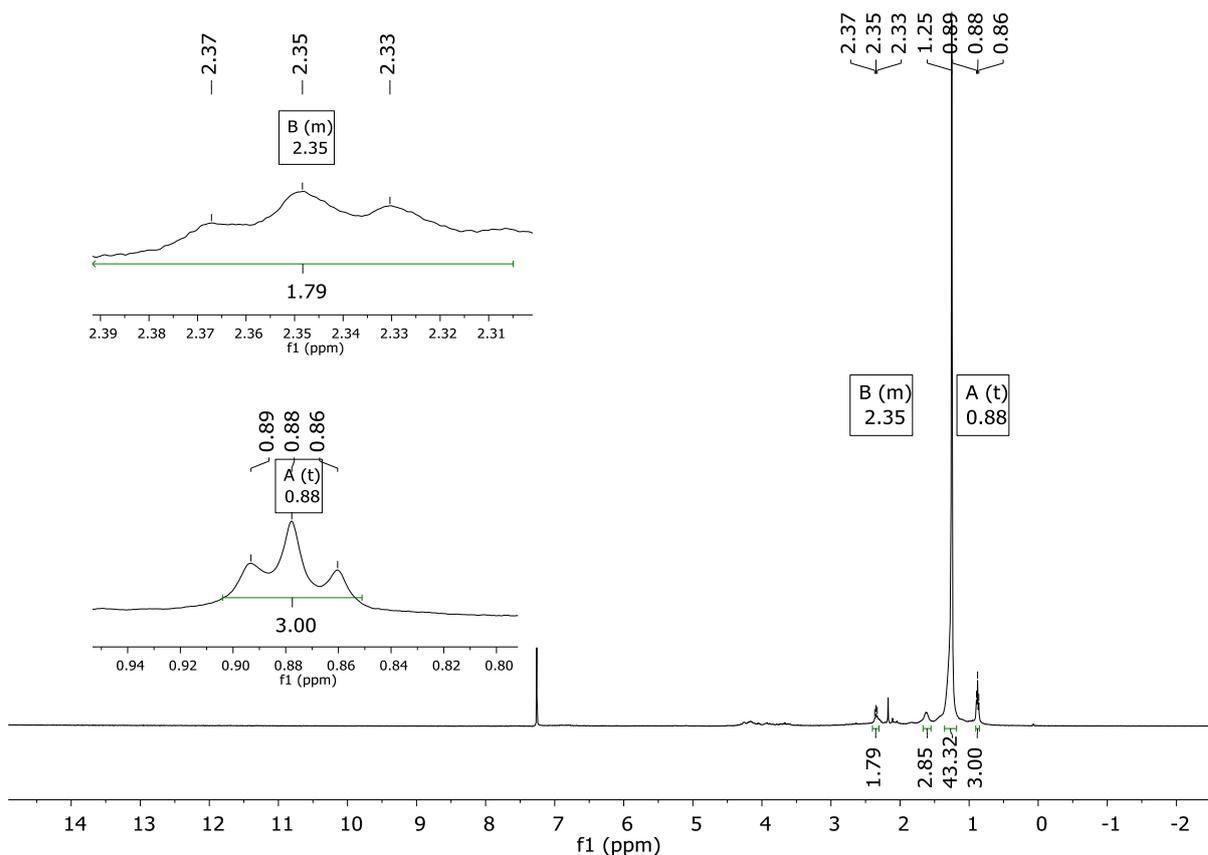
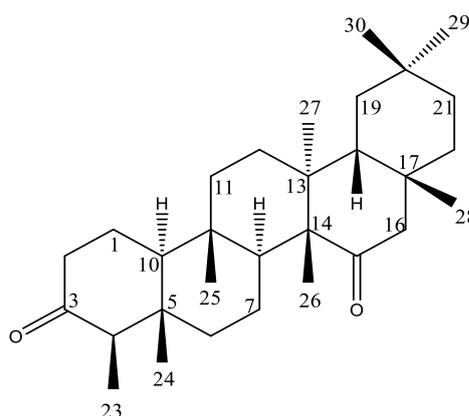


Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de um grupo pertencente ao extrato acetato etílico (mistura de ácidos graxos).

1.4.1.5 SE05: friedelano-3,15-diona



SE05 foi obtido como um sólido branco. O espectro de RMN de ^1H de **SE05** (Figura A15, Pág. 163) apresentou sete simpletos relativos a sete grupos metila: δ_{H} 0,74; 0,90; 0,93; 0,96; 1,02; 1,23 e 1,33; além de um duplete em δ_{H} 1,00 (sobreposto ao sinal em δ_{H} 1,02) característico da metila C-23 de friedelano.

A partir dos espectros de RMN de ^{13}C (Figura A16, Pág. 163) e DEPT-135 (Figura A17, Pág. 164) observaram-se os sinais em δ_{C} 213,3 e δ_{C} 214,4, atribuídos a carbonos carbonílicos, e o sinal em δ_{C} 7,0, característico da metila C-23 de friedelano contendo carbonila na posição C-3. A comparação dos dados de RMN de ^{13}C encontrados com os da literatura (KLASS et al., 1992) (Tabela 8) possibilitou a identificação do **SE05** como friedelano-3,15-diona.

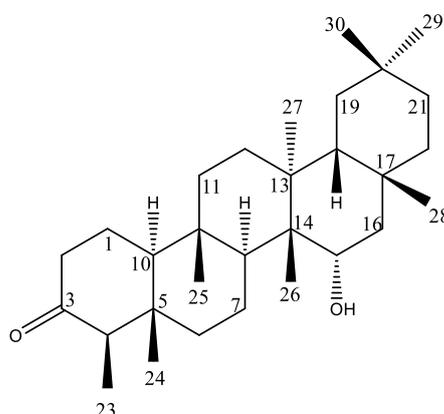
Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dessa amostra foi possível observar sinais referentes a impurezas. No espectro de RMN de ^{13}C foram identificados os sinais em δ_{C} 178,7, 34,5; 14,3 e vários sinais entre δ_{C} 22,8 e δ_{C} 32,1 que são semelhantes aos observados para a mistura de ácidos graxos **SE04**. Portanto, **SE05** está contaminado com um ou mais ácidos graxos.

Tabela 8: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE05** com dados da literatura para friedelan-3,15-diona.

C	Tipo	δ_{C} SE05	δ_{C} friedelano-3,15- ona *	C	Tipo	δ_{C} SE05	δ_{C} friedelano-3,15- ona *
1	CH ₂	22,4	22,2	16	CH ₂	54,1	54,0
2	CH ₂	41,5	41,4	17	C	33,6	33,5
3	C	213,3	213,1	18	CH	44,1	44,0
4	CH	58,4	58,2	19	CH ₂	35,1	34,9
5	C	42,2	42,0	20	C	28,0	27,9
6	CH ₂	40,6	40,4	21	CH ₂	33,9	33,8
7	CH ₂	21,4	21,3	22	CH ₂	38,8	38,6
8	CH	45,4	45,3	23	CH ₃	7,0	6,8
9	C	37,3	37,2	24	CH ₃	15,1	15,0
10	CH	59,4	59,3	25	CH ₃	17,5	17,4
11	CH ₂	34,5	34,4	26	CH ₃	14,8	14,7
12	CH ₂	29,6	29,4	27	CH ₃	19,1	18,9
13	C	42,5	42,4	28	CH ₃	32,3	32,2
14	C	54,4	54,2	29	CH ₃	33,4	33,3
15	C	214,4	214,1	30	CH ₃	33,5	33,4

*CDCl₃, KLASS et al., 1992

1.4.1.6 SE06: 15 α -hidroxifriedelan-3-ona

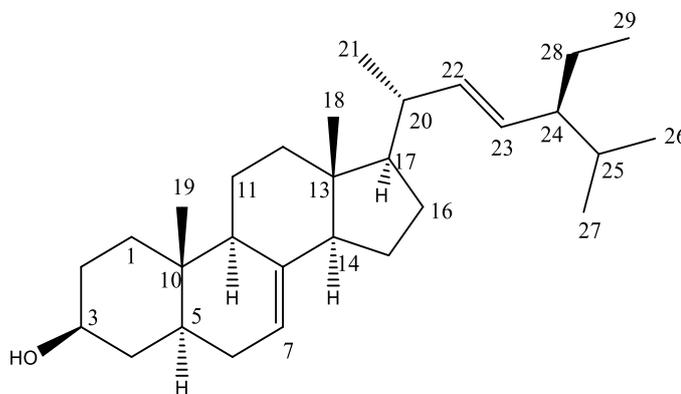


SE06 foi obtido como um sólido branco. O espectro de RMN de ^1H de **SE06** (Figura A18, Pág. 164) apresentou sete simpletos relativos a sete grupos metila: δ_{H} 0,73; 0,89; 0,95; 1,00; 1,02; 1,07 e 1,30. Apresentou, ainda, um duplete em δ_{H} 0,87 (sobrepuesto ao sinal em δ_{H} 0,89) característico da metila C-23 de um esqueleto friedelano, além de um duplete em δ_{H} 3,73 ($J = 7,9$ Hz) característico de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado.

A partir dos espectros de RMN de ^{13}C (Figura A19, Pág. 165) e DEPT-135 (Figura A20, Pág. 165) observaram-se oito sinais de carbono metílico, 10 sinais de carbono metilênico, cinco sinais de carbono metínico e sete sinais de carbono não hidrogenado, totalizando 30 sinais. Observou-se, ainda, o sinal em δ_{C} 213,3 característico de carbono carbonílico, e o sinal de carbono metílico em δ_{C} 6,9. Também foi possível observar o sinal de carbono metínico em δ_{C} 74,8, que está relacionado com a presença de uma hidroxila. Foi feita a comparação dos dados de RMN de ^{13}C encontrados com os da literatura (CAMARGO et al., 2022) (Tabela 9, Pág. 70). Além disso, para atribuir que H-15 estava na posição beta e o grupo OH ligado a C-15 encontrava-se na posição alfa δ_{H} 3,73 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H-15 β) foi realizada a comparação dos dados de RMN de ^1H com os da literatura δ_{H} 3,73 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-15 β) (HISHAM et al., 1995). Assim, possibilitou a identificação do **SE06** como 15 α -hidroxifriedelan-3-ona.

Tabela 9: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE06** com os da literatura para 15 α -hidroxifriedelan-3-ona.

C	Tipo	δ_{C} SE06	δ_{C} 15 α -hidroxi friedelan-3-ona *	C	Tipo	δ_{C} SE06	δ_{C} 15 α -hidroxi friedelan-3-ona *
1	CH ₂	22,5	22,3	16	CH ₂	48,5	48,4
2	CH ₂	41,6	41,5	17	C	30,3	30,2
3	C	213,3	213,0	18	CH	41,7	41,6
4	CH	58,3	58,2	19	CH ₂	35,7	35,6
5	C	42,2	42,0	20	C	28,3	28,1
6	CH ₂	41,4	41,3	21	CH ₂	32,0	31,9
7	CH ₂	20,1	20,0	22	CH ₂	39,0	38,7
8	CH	53,6	53,5	23	CH ₃	6,9	6,8
9	C	37,9	37,8	24	CH ₃	14,6	14,5
10	CH	59,5	59,4	25	CH ₃	18,1	17,9
11	CH ₂	35,9	35,6	26	CH ₃	14,2	14,0
12	CH ₂	31,3	31,2	27	CH ₃	18,9	18,7
13	C	40,7	40,6	28	CH ₃	32,8	32,6
14	C	44,2	44,1	29	CH ₃	31,1	30,9
15	CH	74,8	74,6	30	CH ₃	35,8	35,6

* CDCl₃, CAMARGO et al., 2022**1.4.1.7 SE07: espinasterol**

SE07 foi obtido como um sólido branco. No espectro de RMN de ^1H de **SE07** (Figura A21, Pág. 166), o multipletto centrado em δ_{H} 5,16 (m, 2H) e o duplo dupletto em δ_{H} 5,03 (dd, 15,1; 8,8 Hz, 1H) são característicos de hidrogênios olefínicos. Além

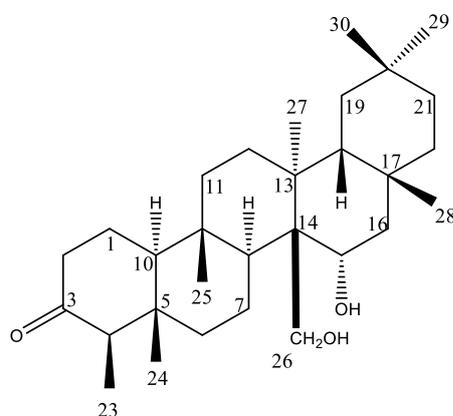
disso, o espectro apresentou o tripleto triplo em δ_H 3,60 (tt, 10,8; 4,4 Hz; 1 H), sinal típico de um átomo de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado. Esse sinal é característico de esteroide 3β hidroxilado vizinho a dois grupos metilênicos. Na região entre δ_H 0,5-2,0 foram observados vários sinais.

Nos espectros de RMN de ^{13}C (Figura A22, Pág. 166) e DEPT-135 (Figura A23, Pág. 167) observaram-se sinais de átomos de carbono olefínico em δ_C 139,6 (C), δ_C 138,2 (CH), δ_C 129,5 (CH) e δ_C 117,5 (CH) além de um sinal de carbono metínico hidroxilado em δ_C 71,1. Ao se comparar os dados de RMN de ^{13}C encontrados com os da literatura (ZHANG et al., 2005) (Tabela 10) **SE07** foi identificado como o esteroide espinasterol.

Tabela 10: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE07** com os dados da literatura para espinasterol.

C	Tipo	δ_C SE07	δ_C espinasterol *	C	Tipo	δ_C SE07	δ_C espinasterol *
1	CH ₂	37,2	37,1	16	CH ₂	28,5	28,5
2	CH ₂	31,5	31,5	17	CH	55,9	55,9
3	CH	71,1	71,1	18	CH ₃	12,1	12,0
4	CH ₂	38,0	38,0	19	CH ₃	13,1	13,0
5	CH	40,3	40,2	20	CH	40,8	40,8
6	CH ₂	29,7	29,7	21	CH ₃	21,1	21,4
7	CH	117,5	117,5	22	CH	138,2	138,2
8	C	139,6	139,6	23	CH	129,5	129,4
9	CH	49,5	49,4	24	CH	51,3	51,2
10	C	34,2	34,2	25	CH	31,9	31,9
11	CH ₂	21,6	21,5	26	CH ₃	19,0	19,0
12	CH ₂	39,5	39,4	27	CH ₃	21,4	21,1
13	C	43,3	43,3	28	CH ₂	25,4	25,4
14	CH	55,2	55,1	29	CH ₃	12,3	12,2
15	CH ₂	23,0	23,0				

* CDCl₃, ZHANG et al., 2005

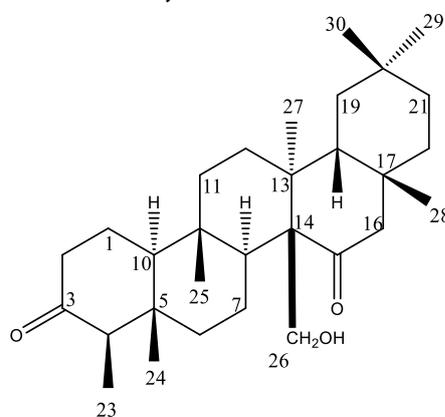
1.4.1.8 SE08: 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona

SE08 foi obtido como um sólido branco. O espectro de RMN de ^1H (Figura A24, Pág. 167) apresentou seis simpletos relativos a seis grupos metila: δ_{H} 0,77; 0,94; 1,00; 1,01; 1,15 e 1,39. Apresentou, ainda, um duplete em δ_{H} 0,88 (d; 6,7 Hz; 3H) relativo a outra metila e um duplete em δ_{H} 4,00 (d, 7,4 Hz) possivelmente relacionado a um sinal de hidrogênio ligado a carbono carbinólico. Também há dois dupletos em δ_{H} 4,06 e δ_{H} 4,59 (ambos d, 12,1 Hz).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura A25, Pág. 168) de **SE08** foram observados 30 sinais. O sinal em δ_{C} 213,4 foi atribuído a um carbono carbonílico e o sinal em δ_{C} 7,0 a uma metila. Além disso, foram detectados os sinais em δ_{C} 76,6 e δ_{C} 66,0 que estão, possivelmente, relacionados com a presença de carbonos hidroxilados. A partir da análise do espectro DEPT-135 (Figura A26, Pág. 168) os carbonos foram classificados como: metílicos (7 carbonos), metilênicos (11), metínicos (5) e carbonos não hidrogenados (7). Dessa maneira, os dados de RMN de ^{13}C obtidos foram comparados com os da literatura (KISHI et al., 2003) (Tabela 11, Pág. 73). Além disso, para atribuir que H-15 estava na posição beta e o grupo OH ligado a C-15 encontrava-se na posição alfa δ_{H} 4,00 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, H-15 β) foi realizada a comparação dos dados de RMN de ^1H com os da literatura δ_{H} 4,22 (1H, d, $J = 7,3$ Hz, H-15 β) (KISHI et al., 2003). Assim, possibilitou a identificação do **SE08** como 15 α , 26-di-hidroxifriedelan-3-ona.

Tabela 11: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE08** com os dados da literatura para 15α , 26-di-hidroxifriedelan-3-ona.

C	Tipo	δ_{C} SE08*	δ_{C} 15α , 26-di- hidroxifriedelan- 3-ona **	C	Tipo	δ_{C} SE08*	δ_{C} 15α , 26-di- hidroxifriedelan- 3-ona **
1	CH ₂	22,7	22,8	16	CH ₂	48,9	48,4
2	CH ₂	42,8	42,7	17	C	30,7	30,9
3	C	213,4	211,9	18	CH	42,1	42,6
4	CH	58,2	57,8	19	CH ₂	31,9	32,2
5	C	42,5	42,4	20	C	28,3	28,4
6	CH ₂	41,7	41,7	21	CH ₂	36,0	36,2
7	CH ₂	22,5	22,7	22	CH ₂	39,2	39,5
8	CH	54,0	54,4	23	CH ₃	7,0	7,2
9	C	37,9	38,0	24	CH ₃	14,4	14,4
10	CH	60,1	59,8	25	CH ₃	16,7	16,9
11	CH ₂	36,8	37,1	26	CH ₂	66,0	65,8
12	CH ₂	31,3	31,6	27	CH ₃	19,7	19,7
13	C	41,0	41,0	28	CH ₃	32,6	32,7
14	C	47,0	46,8	29	CH ₃	35,7	35,7
15	CH	76,6	75,5	30	CH ₃	31,0	31,0

*CDCl₃** piridina-d₅, KISHI *et al.*, 2003**1.4.1.9 SE09: 26-hidroxifriedelano-3,15-diona**

SE09 foi obtido como um sólido branco. No espectro de RMN de ^1H (Figura A27, Pág. 169) foram visualizados seis simpletos relativos a seis grupos metila: δ_{H}

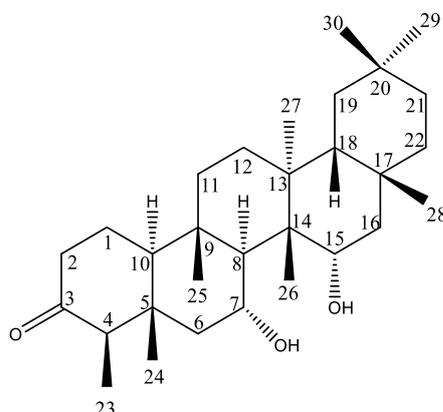
0,77; 0,88; 0,97; 1,00; 1,05 e 1,38; além de um duplete em δ_H 0,89 (sobrepuesto ao sinal em δ_H 0,88) característico da metila C-23 de friedelano com carbonila em C-3. Também houve dois dupletos em δ_H 4,17 e δ_H 4,41 (ambos d, $J = 12,0$ Hz) possivelmente relacionados a sinais de hidrogênios ligados a carbono hidroxilado.

A partir dos espectros de RMN de ^{13}C (Figura A28, Pág. 169) e DEPT-135 (Figura A29, Pág. 170) observaram-se os sinais em δ_C 212,2 e δ_C 213,0, que foram atribuídos a carbonos carbonílicos, e o sinal em δ_C 7,0, característico da metila C-23 de friedelano contendo carbonila na posição C-3. A comparação dos dados de RMN de ^{13}C encontrados e com os da literatura (MORIKAWA et al., 2003) (Tabela 12) possibilitou a identificação do **SE09** como 26-hidroxifriedelano-3,15-diona.

Tabela 12: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de **SE09** com os dados da literatura para 26-hidroxifriedelano-3,15-diona.

C	Tipo	δ_C	δ_C 26-hidroxifriedelano- 3,15-diona*	C	Tipo	δ_C SE09	δ_C 26-hidroxifriedelano- 3,15-diona *
1	CH ₂	22,4	22,2	16	CH ₂	54,6	54,3
2	CH ₂	41,5	41,3	17	C	32,6	32,6
3	C	212,2	212,4	18	CH	44,3	44,1
4	CH	58,3	58,1	19	CH ₂	36,0	35,7
5	C	42,1	41,9	20	C	28,2	28,0
6	CH ₂	41,0	40,8	21	CH ₂	33,1	32,9
7	CH ₂	21,5	21,4	22	CH ₂	39,5	39,3
8	CH	45,5	45,3	23	CH ₃	7,0	6,8
9	C	37,6	37,4	24	CH ₃	15,2	15,0
10	CH	59,5	59,2	25	CH ₃	17,7	17,6
11	CH ₂	34,2	34,0	26	CH ₂	60,8	60,9
12	CH ₂	31,1	30,9	27	CH ₃	20,0	20,1
13	C	42,6	42,4	28	CH ₃	32,6	32,5
14	C	59,7	59,8	29	CH ₃	34,8	34,6
15	C	213,0	211,6	30	CH ₃	31,7	31,5

* CDCl₃, MORIKAWA et al., 2003

1.4.1.10 SE10: 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona

SE10 foi obtido como um sólido branco. A fórmula molecular de **SE10** foi determinada como $C_{30}H_{50}O_3$, baseada nos dados obtidos no espectro de massas por APCI-MS em modo positivo. Verificou-se um íon $[M+H]^+$ em m/z 459,38327 (calc. 459,38382). O espectro de massas pode ser visualizado na Figura A30, Pág. 170.

No espectro no IV de **SE10** foi possível observar uma banda intensa em 1714 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de ligação C=O. Observou-se também uma banda em 3446 cm^{-1} , atribuída ao estiramento de ligação O-H. O espectro no IV pode ser visualizado na Figura A31, Pág. 171.

No espectro de RMN de ^1H de **SE10** (Figura A32, Pág. 171) observaram-se sete simpletos relativos a sete grupos metila: δ_{H} 0,81; 0,92; 0,96; 1,02; 1,03; 1,20 e 1,32; além de um duplete em δ_{H} 0,93 (sobrepuesto ao sinal em δ_{H} 0,92) característico da metila C-23 de TTPC de esqueleto friedelano (MAHATO e KUNDU, 1994). Foi possível observar também um duplete em δ_{H} 4,08 (1H, d, 7,8 Hz), o que permitiu relacionar a um possível sinal de hidrogênio ligado a carbono carbinólico. Outro sinal observado foi um duplete triplo em δ_{H} 4,05 (1H, dt, 10,4; 3,6 Hz), o que permitiu inferir a presença de outra hidroxila.

No espectro de RMN de ^{13}C de **SE10** (Figura A33, Pág. 172) foram detectados 30 sinais. O sinal em δ_{C} 212,4 foi atribuído a um carbono carbonílico e o sinal em δ_{C} 6,9 a uma metila, característica da metila C-23 de TTPC de esqueleto friedelano com carbonila em C-3 (MAHATO E KUNDU, 1994). Além disso, o espectro apresentou os sinais em δ_{C} 66,3 e δ_{C} 73,9 que estão condizentes com o deslocamento químico de

carbonos hidroxilados. A partir da análise do espectro DEPT-135 de **SE10** (Figura A34, Pág. 172) os carbonos foram classificados como: metílicos (8 carbonos), metilênicos (9), metínicos (6) e carbonos não hidrogenados (7).

Os sinais de RMN de ^{13}C de **SE10** foram comparados com os da literatura para 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (CAMARGO et al., 2022) e foi possível observar similaridades para a maior parte dos sinais e grande diferença de valores para os deslocamentos dos átomos de carbono 6, 7 e 8 (Tabela 13, Pág. 81). A fim de confirmar a estrutura de **SE10** foi realizada a análise detalhada dos mapas de contornos HSQC, HMBC, COSY e NOESY.

A análise do mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) de **SE10** permitiu correlacionar o sinal de carbono em δ_{C} 6,9 com o hidrogênio em δ_{H} 0,93. A fim de atribuir os demais sinais aos átomos de carbono e hidrogênio do composto, foi realizada, também, a análise do mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176).

No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se correlações do sinal em δ_{H} 0,93 (H-23) com os sinais em δ_{C} 212,4 (C); 58,2 (CH) e 42,1 (C). Esses sinais foram atribuídos, respectivamente, a C-3, que corresponde ao carbono carbonílico, C-4 e C-5. No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) foi possível correlacionar o sinal do carbono C-4 em δ_{C} 58,2 com H-4 em δ_{H} 2,28. No mapa de contornos HMBC observaram-se as correlações do sinal em δ_{H} 2,28 (H-4) com os sinais em C-3, C-5, C-23 e com o sinal em δ_{H} 15,7 (CH₃), atribuído a C-24.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação entre C-24 e H-24 (δ_{H} 0,81). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações de H-24 com os sinais de C-4, C-5 e com os sinais em 51,1 (CH₂) e 58,7 (CH), atribuídos a C-6 e C-10, respectivamente. O mapa de contornos HSQC permitiu correlacionar o sinal de C-10 com H-10 em δ_{H} 1,56. No mapa de contornos HMBC foi possível observar a correlação de H-10 com o sinal em δ_{C} 22,1 (CH₂), que foi atribuído a C-1.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observaram-se as correlações entre C-1 e os sinais em δ_{H} 1,68 (H-1a) e δ_{H} 2,00 (H-1b). No mapa de contornos COSY (Figura A37, Pág. 177) foi possível observar a correlação entre H-10 e o sinal em δ_{H} 1,68, correspondente a H-1a. Também observaram-se as correlações

de H-1a e H-1b com os sinais em δ_{H} 2,31 e 2,42, atribuídos aos hidrogênios ligados ao C-2. No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observaram-se as correlações dos sinais em δ_{H} 2,31 (H-2a) e 2,42 (H-2b) com o sinal de C-2 em δ_{C} 41,2. No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações dos sinais de H-2a e H-2b com C-3.

A partir dessas análises foi possível atribuir os seis membros do anel A do TTPC de esqueleto friedelano (C-1 a C-5, C-10), duas metilas (C-23 e C-24), e a presença de um carbono carbonílico na posição C-3 (Figura 17, Pág. 80).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observaram-se correlações entre C-6 (δ_{C} 51,1) e os hidrogênios em δ_{H} 1,40 (H-6a) e 2,07 (H-6b). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações dos sinais H-6a com os sinais em δ_{C} 42,1 (C-5); 15,7 (C-24); 66,3 (CH). O último sinal foi atribuído a C-7 (correspondente a um carbono hidroxilado). No mapa de contornos HSQC observou-se a correlação entre C-7 e H-7 (δ_{H} 4,05). No mapa de contornos COSY (Figura A37, Pág. 177) foi possível observar a correlação entre H-7 e o sinal em δ_{H} 1,56, atribuído a H-8.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação entre C-8 (δ_{C} 58,4) e H-8. No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observou-se a correlação de H-8 com os sinais em δ_{C} 51,1 (C-6), 66,3 (C-7), 38,9 (C-9), 44,9 (C-14), 19,2 (C-25) e 15,1 (C-26).

A partir dessas análises foi possível atribuir os seis membros do anel B do TTPC de esqueleto friedelano (C-5 a C-10) que contém uma hidroxila na posição C-7 (Figura 17, Pág. 80).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação de C-26 com H-26 (δ_{H} 1,20). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176), observaram-se as correlações de H-26 com os sinais de C-8, C-14 e com os sinais em δ_{C} 40,6 (C); e 73,9 (CH), atribuídos, respectivamente, a C-13 e C-15 (que corresponde a um carbono hidroxilado).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação de C-15 com H-15 (δ_{H} 4,08). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176)

observaram-se as correlações de H-15 com C-14 e os sinais em δ_c 47,3 (CH₂), 29,6 (C) e 15,1 (CH₃), atribuídos a C-16, C-17 e C-26, respectivamente.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação de C-25 com H-25 (δ_H 0,93). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações de H-25 com C-8, C-9, C-10 e com o sinal em δ_c 36,1 (CH₂), atribuído a C-11.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação de C-11 com os hidrogênios em δ_H 1,33 (H-11a) e 1,46 (H-11b). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações dos sinais de H-11 com o sinal em δ_c 30,9 (CH₂), atribuído a C-12. No mapa de contornos HSQC observou-se a correlação de C-12 com os hidrogênios em δ_H 1,40 (H-12a) e 1,47 (H-12b).

A partir dessas análises foi possível atribuir os seis membros do anel C do TTPC de esqueleto friedelano (C-8, C-9, C-11 a C-14) e duas metilas (C-25 e C-26) (Figura 17, Pág. 80).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observaram-se as correlações de C-16 em δ_c 47,3 com os hidrogênios em δ_H 1,30 (C-16a) e 2,22 (C-16b). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações do sinal em δ_H 1,30 (C-16a) com C-14, C-15, C-17 e com os sinais em δ_c 41,5 (CH) e 32,0 (CH₃), atribuídos a C-18 e C-28, respectivamente. Também foi possível observar as correlações do sinal em δ_H 2,22 (C-16b) com C-17, C-22 (δ_c 38,8; CH₂) e C-28. No mapa de contornos COSY (Figura A37, Pág. 177) foi possível observar a correlação do sinal em δ_H 4,08 (H-15) com o sinal em δ_H 2,22 (H-16b).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação do sinal em δ_c 19,1 (CH₃) com o sinal em δ_H 1,02. No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações do sinal em δ_H 1,02 com C-12, C-13, C-14 e com o sinal em δ_c 41,5 (CH), atribuído a C-18. Desse modo, pôde-se atribuir o sinal do carbono em 19,1 (CH₃) a C-27.

A partir dessas análises foi possível atribuir os seis membros do anel D do TTPC de esqueleto friedelano (C-13 a C-18), uma metila (C-27), além de uma hidroxila na posição C-15 (Figura 17, Pág. 80).

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação entre C-28 em δ_C 32,0 e H-28 em δ_H 1,33. No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se as correlações de H-28 com C-16, C-17, C-18 e com o sinal em δ_C 38,8 (CH₂) atribuído a C-22.

No mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) observou-se a correlação de C-22 com os hidrogênios em δ_H 1,02 (H-22a) e 1,33 (H-22b). No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observou-se a correlação de H-22a com o sinal em δ_C 28,2 (C), atribuído a C-20. Também foram observadas as correlações de H-22b com C-16, C-17 e C-18. No mapa de contornos HSQC observou-se a correlação de C-18 em δ_C 41,5 com H-18 em δ_H 1,61. No mapa de contornos COSY (Figura A37, Pág. 177) foi possível observar as correlações de H-18 com os sinais em δ_H 1,17 e 1,30, atribuídos aos hidrogênios ligados ao C-19. No mapa de contornos HSQC C-19 foi atribuído ao sinal em δ_C 35,7.

No mapa de contornos HMBC (Figura A36, Pág. 176) observaram-se correlações dos sinais em δ_H 0,96 (H-30) e 1,03 (H-29) com os sinais de C-19, C-20 e com o sinal em δ_C 31,7, atribuído a C-21. No mapa de contornos HSQC observou-se a correlação de C-21 com os hidrogênios em δ_H 1,30 (H-21a) e 1,47 (H-21b). Os sinais de carbonos metílicos C-29 e C-30 foram atribuídos em δ_C 30,8 e 35,8, respectivamente, a partir das correlações desses sinais no mapa de contornos HSQC (Figura A35, Pág. 174) e comparações dos deslocamentos de ¹³C (Figura A33, Pág. 172) com os valores da literatura (CAMARGO et al., 2022).

A partir dessas análises foi possível atribuir os seis membros do anel E do TTPC de esqueleto friedelano (C-17 a C-22) e três metilas (C-28 a C-30) (Figura 17, Pág. 80).

No mapa de contornos NOESY (Figura A38, Pág. 178) foi possível observar correlações do sinal em δ_H 4,05 (H-7) com o sinal em δ_H 0,81 (H-24) e 0,93 (H-25). Concluiu-se que H-7 está na posição beta e o grupo OH ligado a C-7 encontra-se na posição alfa. O sinal de H-7 apresenta-se como um duplete triplo em δ_H 4,05 (dt, 10,4; 10,4 e 3,6 Hz), (Figura A32, Pág. 171) com duas constantes de acoplamento (10,4 e 10,4 Hz) característica de interação entre átomos de hidrogênio na posição axial (H-

7β com H-6 α e H-8); além da constante de 3,6 Hz, característica de interação entre átomos de hidrogênio axial e equatorial (H-7 β com H-6 β).

No mapa de contornos NOESY (Figura A38, Pág. 178) foi possível observar as correlações do sinal em δ_H 4,08 (H-15) com o sinal em δ_H 1,20 (H-26). Concluiu-se que H-15 está na posição beta e o grupo OH ligado a C-15 encontra-se na posição alfa. O sinal de H-15 (Figura A32, Pág. 171) apresenta-se como um duplete em δ_H 4,08 (d, 7,8 Hz), confirmando a posição beta do H-15.

No mapa de contornos NOESY (Figura A38, Pág. 178) foi possível observar também as correlações do sinal em δ_H 1,61 (H-18) com o sinal em δ_H 1,20 (H-26); do sinal em δ_H 0,96 (H-30) com o sinal em δ_H 1,33 (H-28); do sinal em δ_H 1,20 (H-26) com o sinal em δ_H 0,93 (H-25); do sinal em δ_H 0,93 (H-25) com o sinal em δ_H 0,81 (H-24) (Figura 17).

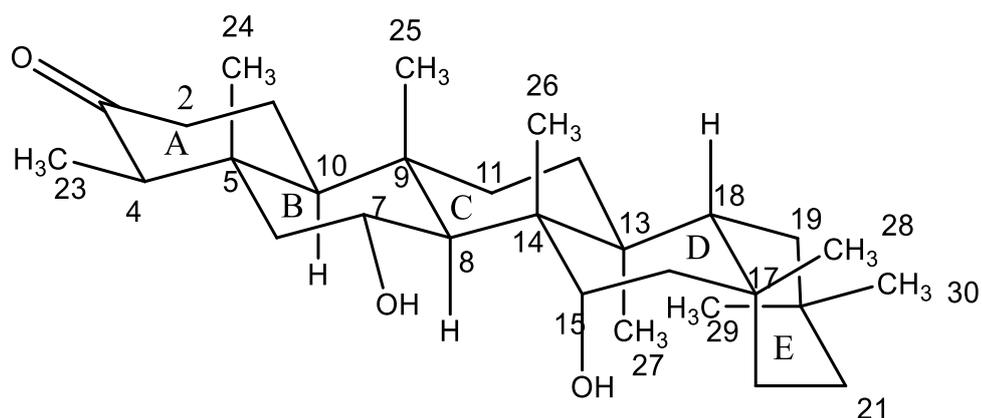


Figura 17: Estrutura tridimensional de **SE10**.

As atribuições realizadas por meio da análise completa dos espectros de RMN e os valores comparados com um friedelano similar da literatura (CAMARGO et al., 2022) estão apresentadas na Tabela 13, Pág. 81. Após a análise detalhada dos espectros 1D e 2D, **SE10** pôde ser confirmado como 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona, sendo inédito na literatura.

Tabela 13: Dados de RMN 1D e 2D (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**.

C	Tipo	δ_c SE10	δ_H SE10	HMBC	COSY	NOESY	δ_c 15 α -hidroxi friedelan-3-ona*
1	CH ₂	22,1	1,68 2,00		2,10 2		22,4
2	CH ₂	41,2	2,31 2,42	3 3	1 1		41,5
3	C	212,4					213,1
4	CH	58,2	2,28	3, 5, 23, 24			58,2
5	C	42,1	-				42,0
6	CH ₂	51,1	1,40 2,07	5, 7, 24			41,3
7	CH	66,3	4,05 β ; dt; $J = 10,4$; 10,4 e 3,6		8	24, 25	20,0 (CH ₂)
8	CH	58,4	1,56	6, 7, 9, 14, 26	7		53,5
9	C	38,9	-				37,8
10	CH	58,7	1,56	1	1		59,4
11	CH ₂	36,1	1,33 1,46	12 12			35,8
12	CH ₂	30,9	1,40 1,47				31,2
13	C	40,6	-				40,6
14	C	44,9	-				44,1
15	CH	73,9	4,08 β ; d; $J = 7,8$	14, 16, 17, 26	16	26	74,6
16	CH ₂	47,3	1,30 2,22	14, 15, 17, 18, 28 17, 22, 28	15		48,4
17	C	29,6	-				30,2
18	CH	41,5	1,61		19		41,6
19	CH ₂	35,7	1,17 1,30		18		35,6
20	C	28,2	-				28,2
21	CH ₂	31,7	1,30 1,47				31,9
22	CH ₂	38,8	1,02 1,33	20 16, 17, 18			38,9
23	CH ₃	6,9	0,93	3, 4, 5			6,8
24	CH ₃	15,7	0,81	4, 5, 6, 10		7, 25	14,5
25	CH ₃	19,2	0,93	8, 9, 10, 11		7, 24, 26	18,0
26	CH ₃	15,1	1,20	8, 13, 14, 15		15, 25	14,1
27	CH ₃	19,1	1,02	12, 13, 14, 18			18,8
28	CH ₃	32,0	1,33	16, 17, 18, 22			32,6
29	CH ₃	30,8	1,03	19, 20, 21, 30			30,9
30	CH ₃	35,8	0,96	19, 20, 21, 29			35,7

* CDCl₃ / (CAMARGO et al., 2022)

1.4.2 Análise dos extratos acetato etílico e metanólico por UHPLC-ESI-MS/MS

Com o objetivo de detectar e realizar propostas estruturais dos compostos presentes nos extratos acetato etílico e metanólico, realizaram-se análises por UHPLC-ESI-MS/MS. Os dados de espectrometria de massas foram analisados comparando as relações m/z com um banco de dados que continha compostos

padrões devidamente caracterizados do Instituto René Rachou (CPqRR), o banco de dados público Mass Bank, o banco de dados *Massbank of North America* (MoNA) e o banco de dados *Universal Natural Products Database-In Silico spectral DataBase* (UNPD-ISDB). Vários compostos foram detectados por esta técnica. No entanto, foram selecionados para identificação putativa apenas os compostos correspondentes aos picos em que os dados de m/z obtidos experimentalmente, quando comparados com as razões m/z teóricas, para os cátions $[M+H]^+$ dos compostos disponíveis no banco de dados, apresentassem um erro de massa (Δppm) menor que 20. Os picos que não apresentaram qualquer correspondência com os bancos de dados foram excluídos. O cromatograma obtido de cada extrato, os espectros de massas correspondentes aos compostos identificados putativamente nos extratos estão apresentados no Apêndice A, Figura A39-Figura A78 (Pág. 179-192).

1.4.2.1 Análise do extrato acetato etílico (EA) por UHPLC-ESI-MS/MS

A partir da análise dos dados obtidos para o EA, 14 compostos foram selecionados. Na Tabela 14 (Pág. 83) têm-se os compostos identificados putativamente para o EA. Nessa tabela estão apresentados o tempo de retenção (TR), o nome do composto, fórmula molecular, razão m/z experimental e calculada para o íon $[M+H]^+$ e o erro de massa Δppm obtidos para cada composto selecionado. Na Figura 18 (Pág. 84) estão representadas as estruturas químicas dos compostos propostos e presentes no EA.

Devido às limitações da técnica utilizada, em alguns TR, o espectro de massas apresentou valores de m/z e dados de fragmentação compatíveis com dois isômeros, tornando impossível a distinção entre eles. Isso ocorreu em TR igual a 25,6 minutos, com dois isômeros: apigenina (**C04**) e emodina (**C05**). Em TR igual a 25,9 minutos, foram detectados dois isômeros: buteína (**C06**) e naringenina (**C07**). Em TR igual a 26,2 minutos, foram detectados dois isômeros: parietina (**C10**) e acacetina (**C11**). Em TR igual a 27,0 minutos foram detectados dois isômeros: **C04** e **C05**. Em TR igual a 28,6 minutos, foram detectados dois isômeros **C06** e **C07**. Em TR igual 29,0 minutos, foram detectados novamente os isômeros **C04** e **C05**.

Na análise cromatográfica, compostos concentrados podem gastar um tempo maior para percorrer a coluna e serem identificados em intervalos de retenção

próximos, como ocorreu com os compostos: ácido isoferúlico (**C03**) com TR de 24,3 e 24,4 minutos; falacinol (**C08**) com TR de 26,0 e 26,1 minutos; e costunolida (**C15**) com TR de 38,4 minutos e 38,5 minutos.

Tabela 14: Compostos identificados putativamente por UHPLC-ESI-MS/MS no extrato acetato etílico das raízes de *Salacia elliptica*.

Código	TR (min)	Composto	Fórmula molecular	m/z [M+H] ⁺		Δppm
				Experimental	Calculado	
C01	21,9	ácido vanílico ^[1]	C ₈ H ₈ O ₄	169,0501	169,0501	0
C02	22,5	umbeliferona ^[1]	C ₉ H ₆ O ₃	163,0394	163,0395	1
C03	24,3	ácido isoferúlico ^[1]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	195,0656	195,0657	1
C03	24,4	ácido isoferúlico ^[1]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	195,0657	195,0657	0
C04	25,6	apigenina ^[1]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271,0605	271,0606	0
C05		emodina ^[1]				
C06	25,9	buteína ^[1]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273,0762	273,0763	0
C07		naringenina ^[1]				
C08	26,0	falacinol ^[2]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301,0712	301,0712	0
C08	26,1	falacinol ^[2]	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301,0711	301,0712	0
C09	26,2	parietina ^[1]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285,0763	285,0763	0
C10		acacetina ^[1]				
C11	26,3	tricina ^[1]	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	331,0816	331,0818	1
C04	27,0	apigenina ^[1]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271,0605	271,0606	0
C05		emodina ^[1]				
C06	28,6	buteína ^[1]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273,0759	273,0763	1
C07		naringenina ^[1]				
C04	29,0	apigenina ^[1]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271,0605	271,0606	0
C05		emodina ^[1]				
C12	30,2	liquiritigenina ^[2]	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	257,0812	257,0814	1
C13	30,7	claussequinona ^[1]	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	287,0916	287,0919	1
C14	38,4	costunolida ^[2]	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233,1533	233,1542	4
C14	38,5	costunolida ^[2]	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	233,1534	233,1542	3

Dados da biblioteca: ^[1] CPqRR ^[2] MoNA

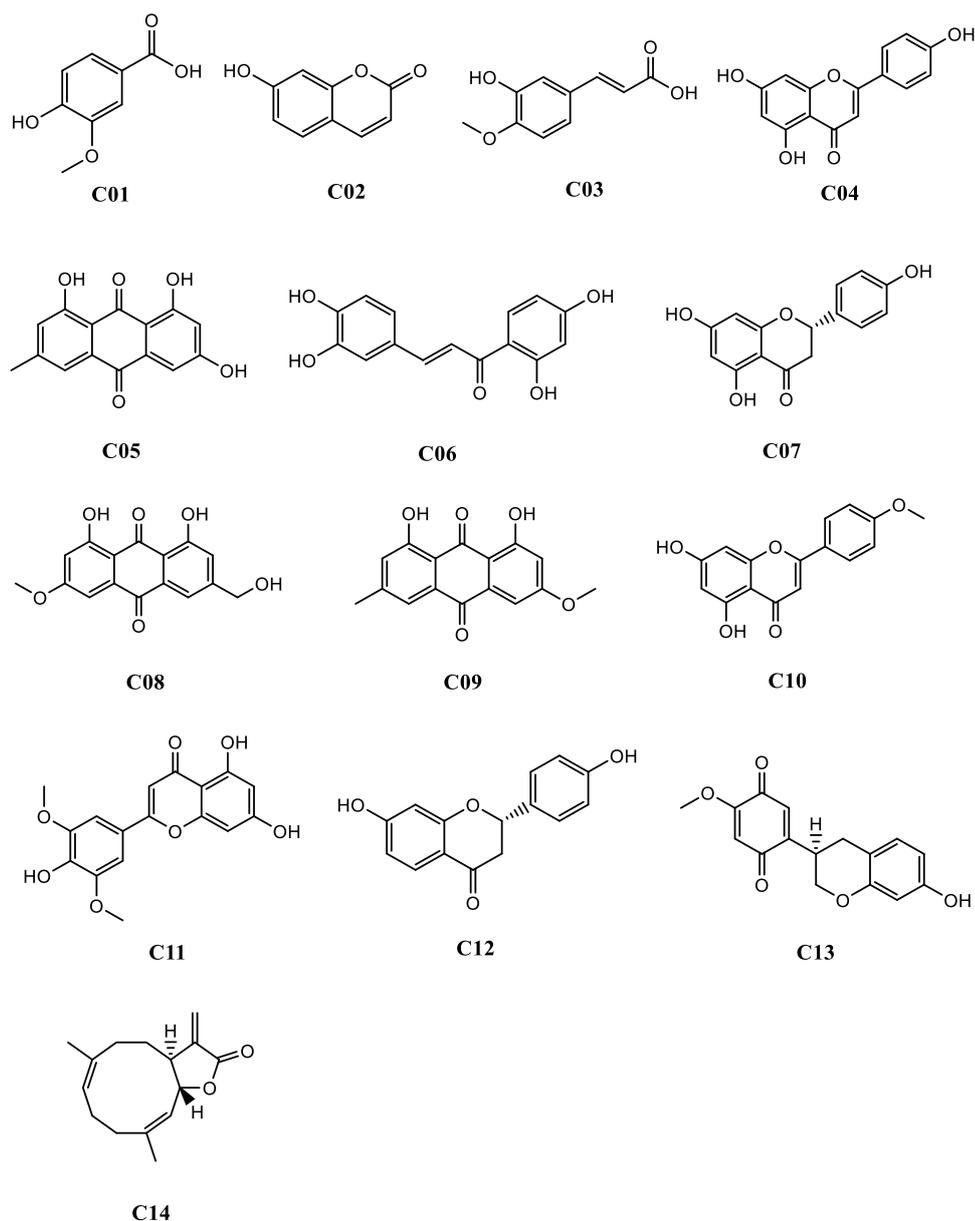


Figura 18: Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente presentes no extrato acetato etílico e metanólico.

Entre os compostos identificados putativamente, apenas cinco foram relatados na literatura como constituintes da família Celastraceae (**C01**, **C02**, **C07**, **C09** e **C12**). Na Tabela 15, Pág. 85 são apresentados alguns exemplos de espécies pertencentes à família Celastraceae para quais também foram identificados tais compostos.

Os compostos identificados putativamente foram majoritariamente polifenóis, como flavonoides (chalcona, flavanona, flavona, flavonoide) e antraquinonas. Identificou-se apenas um composto sesquiterpênico (**C14**). A classe correspondente a cada composto encontra-se na Tabela 15, Pág. 85.

Todos os compostos identificados são produtos naturais que passaram por ensaios biológicos, descritos na literatura, nos quais demonstraram resultados promissores em atividades biológicas específicas. Algumas dessas atividades estão apresentadas na Tabela 15, destacam-se as ações antioxidante e anti-inflamatória relacionadas para os compostos fenólicos identificados.

Tabela 15. Classe, exemplos de espécies da família Celastraceae e atividades biológicas dos compostos identificados putativamente no extrato acetato etílico.

Composto	Classe	Espécie (Celastraceae)	Atividades biológicas
ácido vanílico (C01)	fenólico	<i>Maytenus phyllanthoides</i> ^a	anti-inflamatória ^b
umbeliferona (C02)	cumarina fenólico	<i>Elaeodendron buchananii</i> ^c	antifúngica ^c antioxidante ^d
ácido isoferúlico (C03)	fenólico	-	antioxidante ^e
apigenina (C04)	flavona	-	antidiabética ^f
emodina (C05)	antraquinona	-	anti-inflamatória, antioxidante ^g
buteína (C06)	chalcona	-	antioxidante, anti- inflamatória, antidiabética ^h
naringenina (C07)	flavanona	<i>Elaeodendron croceum</i> ⁱ <i>Euonymus alatus</i> ^j	antioxidante, antitumoral ^k
falacínol (C08)	antraquinona	-	leishmanicida ^l
parietina (C09)	antraquinona	<i>Celastrus monospermus</i> ^m	antifúngica ⁿ
acacetina (C10)	flavona	-	antitumoral, anti- inflamatória ^o
tricina (C11)	flavona	-	anti-inflamatória, antioxidante, antiviral ^p
liquiritigenina (C12)	flavanona	<i>Tripterygium wilfordii</i> ^q	anti-inflamatória ^r
claussequinona (C13)	isoflavanquinona	-	leishmanicida ^s
costunólida (C14)	lactona sesquiterpênica	-	antioxidante, anti- inflamatória, antitumoral ^t

^a MOO-PUC et al., 2014; ^b SHARMA et al., 2020; ^c ODAK et al., 2018; ^d SINGH et al., 2010; ^e WANG et al., 2011; ^f SALEHI et al., 2019; ^g DONG et al., 2016; ^h PADMAVATHI et al., 2017; ⁱ YELANI et al., 2009; ^j CHOI et al., 2015; ^k JOSHI et al., 2018; ^l GROVER et al., 2012; ^m WANG et al., 2014; ⁿ AGARWAL et al., 2000; ^o SINGH et al., 2020; ^p LI et al., 2016; ^q MA et al., 2019; ^r KIM et al., 2008; ^s ARAÚJO et al., 2022; ^t KIM et al., 2019.

1.4.2.2 Análise do extrato metanólico (EM) por UHPLC-ESI-MS/MS

A partir da análise dos dados obtidos para o EM, e utilizando-se os mesmos critérios citados para o extrato acetato de etila, foram selecionados quatro compostos. Na Tabela 16 são apresentados os compostos identificados putativamente para o EM, incluindo informações como tempo de retenção (TR), nome do composto, fórmula molecular, razão m/z experimental e calculada para o íon $[M+H]^+$ e o erro de massa Δ ppm obtidos para cada composto selecionado. Na Figura 18 (Pág. 84) estão representadas as estruturas químicas propostas para os compostos presentes no EM.

Tabela 16. Compostos identificados putativamente por UHPLC-ESI-MS/MS no extrato metanólico das raízes de *Salacia elliptica*.

Código	TR (min)	Composto	Fórmula molecular	m/z $[M+H]^+$		Δ ppm
				Experimental	Calculado	
C9 C10	25,8	parietina ^[1] acacetina ^[1]	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285,0757	285,0763	2
C04 C05	26,7	apigenina ^[1] emodina ^[1]	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271,0601	271,0606	2

Dados da biblioteca: ^[1] CPqRR

Os quatro compostos identificados no EM também foram encontrados no extrato EA das raízes de *S. elliptica* (Figura 18, Pág. 84). Foram identificados duas antraquinonas (**C05** e **C09**) e duas flavonas (**C04** e **C10**).

1.4.3 Avaliação do teor e caracterização química dos óleos essenciais (OEs) das folhas e galhos de *S. elliptica*

A partir das análises conduzidas por CG-EM, foi possível propor as estruturas dos compostos presentes nos óleos essenciais (OEs) extraídos das folhas e galhos de *S. elliptica*. As proposições das estruturas foram realizadas por meio da comparação do índice de retenção, assim como da análise do espectro de massas, verificando se eles estavam em concordância com os dados disponíveis nos bancos de dados FFNSC2.lib, Library.fames e NIST. Os compostos identificados foram aqueles correspondentes aos picos que apresentaram as maiores concentrações relativas, excluindo os valores menores que 1,0% da área relativa.

1.4.3.1 Avaliação do teor e caracterização química do óleo essencial (OE) das folhas de *S. elliptica*

Os teores de OEs são comumente inferiores a 1%, raramente atingindo 15%. Assim, algumas plantas são chamadas de aromáticas mesmo apresentando quantidades pequenas de OE, pelo menos 0,1 a 0,2%, o que resulta em um odor perceptível ou torna seu emprego economicamente viável (BUTNARIU, et al 2018).

A extração do OE das folhas de *S. elliptica* pelo processo de hidrodestilação resultou em um teor de 0,0029% (m/m), valor considerado muito baixo. Contudo, a composição do OE exibiu uma notável variedade, em termos qualitativos, podendo conter constituintes com bioatividades interessantes.

Foram selecionados 22 picos presentes no cromatograma do OE obtido das folhas de *S. elliptica* e realizaram-se as proposições estruturais dos compostos correspondentes, dentre os quais cinco não foram identificados por não apresentarem correlação com os compostos dos bancos de dados utilizados. O cromatograma, Figura A79 (Pág. 192), e os espectros de massas, Figura A80 (Pág. 192) a Figura A101 (Pág. 196) podem ser observados no Apêndice A. Na Tabela 17 (Pág. 88) encontram-se os nomes de cada um dos compostos identificados, os índices de retenção experimental (IR_{exp}), os índices de retenção da literatura (IR_{lit}) e a área relativa em %. Na Figura 19 (Pág. 89) são apresentadas as propostas das estruturas químicas dos compostos identificados no OE das folhas.

Tabela 17. Dados dos compostos identificados na análise por CG-EM do OE das folhas de *Salacia elliptica*.

	Compostos	IR_{exp}	IR_{lit}	Área relativa (%)
1	(<i>E</i>)-hex-3-en-1-ol	845	846 ^[a]	3,0
2	(<i>Z</i>)-hex-3-en-1-ol	848	849 ^[a]	8,9
3	hex-2-enol	856	858 ^[b]	2,6
4	hexan-1-ol	858	859 ^[c]	10,6
5	β -damascenona	1416	1412 ^[d]	1,1
6	α -ionona	1430	1426 ^[e]	2,2
7	(<i>E</i>)-hexen-2-oato de hexila	1440	1436 ^[f]	1,1
8	Nerialacetona	1454	1452 ^[g]	2,1
9	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	1465	1460 ^[h]	1,0
10	n. i.	1489		15,8
11	n. i.	1500		1,5
12	n. i.	1528		2,5
13	benzoato de hexila	1579	1577 ^[i]	1,7
14	Tetradecanal	1612	1618 ^[j]	2,0
15	Pentadecanal	1716	1714 ^[k]	21,6
16	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	1845	1847 ^[l]	2,3
17	n. i.	1887		2,9
18	n. i.	1893		5,9
19	heptadecanal	1918	1922 ^[m]	2,5
20	hexadecanoato de isopropila	2026	2027 ^[n]	2,0
21	Fitol	2115	2114 ^[o]	4,9
22	oleamida	2359	2375 ^[p]	1,9

* n. i. (não identificado)

^a RUTHER, 2000; ^b GÓMEZ, LEDBETTER e HARTSELL, 1993; ^c MOIO, PIOMBINO e ADDEO, 2000; ^d SENATORE et al., 2004; ^e TELASCREA et al., 2007; ^f DARRAGH et al., 2020; ^g MEVY et al., 2006; ^h MOREIRA et al., 2001; ⁱ ZHAO et al., 2006; ^j RAMARATHNAM, RUBIN e DIOSADY, 1993; ^k MORTEZA-SEMNAN, AKBARZADEH E CHANGIZI, 2006; ^l KOWALSKI, 2005; ^m TKACHEV et al., 2000; ⁿ LEFFINGWELL e ALFORD, 2005; ^o ZHAO et al., 2006; ^p ZHAO et al., 2008.

Tabela 18. Compostos identificados no óleo essencial das folhas de *S. elliptica* anteriormente descritos para espécies de Celastraceae.

Compostos	Espécies da família Celastraceae ^a
Nerilacetona	<i>Maytenus acanthophylla</i> , <i>M. distichophylla</i> , <i>M. imbricata</i> , <i>M. gonoclada</i> , <i>Austroplenckia populnea</i> , <i>Pristimera celastroides</i> , <i>Salacia elliptica</i> , <i>Tontelea micrantha</i>
α -ionona	<i>M. acanthophylla</i> , <i>M. distichophylla</i> , <i>M. imbricata</i> , <i>M. gonoclada</i> , <i>P. celastroides</i> , <i>Salacia crassifolia</i> , <i>S. elliptica</i> , <i>T. Micrantha</i>
6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	<i>M. imbricata</i> , <i>A. populnea</i> , <i>P. celastroides</i> , <i>S. elliptica</i> , <i>T. micrantha</i>
Pentadecanal	<i>A. populnea</i> , <i>T. Micrantha</i>
β -damascenona	<i>S. elliptica</i> , <i>T. Micrantha</i>
Tetradecanal	<i>S. elliptica</i>

^a CAMARGO et al., 2020

A nerilacetona é um sesquiterpeno que pode ser encontrado em várias plantas. É um constituinte presente em muitos óleos essenciais, por exemplo, da árvore kiri-japonês (*Paulownia tomentosa*) e do gengibre (*Zingiber officinale*), e exibe atividade antibacteriana. Esse composto desempenha diversos papéis nas interações entre plantas e insetos, incluindo sua função como repelente contra herbívoros (WRÓBLEWSKA-KURDYK, 2022).

A α -ionona e β -damascenona são *nor*-isoprenos encontrados em diversas plantas e são produtos resultantes da degradação de carotenoides. Esses compostos são de grande importância na indústria alimentícia, pois são utilizados na fabricação de aromatizantes (PLOTTO, 2006 e LANGEN, 2016).

Os compostos 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona, tetradecanal e pentadecanal desempenham um papel importante como semioquímicos, e podem representar uma alternativa viável, ou complemento, aos pesticidas sintéticos (PIUS, 2019; SINGLETON, 2022; KOMALA, 2021).

Os quatro principais constituintes do OE das folhas foram o pentadecanal, hexan-1-ol e (Z)-hex-3-en-1-ol e um composto não identificado, representando as maiores áreas relativas, com proporções de 21,6%, 10,6%, 8,9% e 15,8%, respectivamente. Essa quantidade relativamente alta em comparação aos demais compostos pode indicar alto significado ecológico. O pentadecanal, considerado um composto orgânico volátil, já foi identificado como um aleloquímico que demonstrou atividade contra a oviposição em mariposas (KURASHOV, 2016 e KOMALA, 2021). Os álcoois hexan-1-ol, (Z)-hex-3-en-1-ol foram anteriormente relatados como repelente de besouros. Esses álcoois podem ser encontrados em folhas verdes e, combinados entre si ou com outros álcoois, possuem efeito inibidor sobre certos besouros (GROOT, 1999).

1.4.3.2 Avaliação do teor e caracterização química do OE dos galhos de *S. elliptica*

A extração do OE dos galhos pelo processo de hidrodestilação resultou em um teor de 0,0018% (m/m). Ao se comparar os OEs das folhas e dos galhos foi possível observar que o teor do OE dos galhos foi muito menor. No entanto, a composição dos OEs difere de acordo com a parte da planta.

Foram selecionados 26 compostos presentes no OE obtido dos galhos de *S. elliptica* e realizaram-se as proposições estruturais. Entre os constituintes selecionados, 13 não foram identificados por não apresentarem correlação com os bancos de dados utilizados. O cromatograma, Figura A102 (Pág. 197) e os espectros de massas, Figura A103 (Pág. 197) a Figura A128 (Pág. 201), podem ser observados no Apêndice A. Na Tabela 19 (Pág. 92) encontram-se os nomes de cada um dos compostos identificados, os índices de retenção experimental (IR_{exp}), os índices de retenção da literatura (IR_{lit}) e a área relativa em %. Na Figura 20, Pág. 93 são apresentadas as estruturas químicas propostas dos compostos identificados no OE dos galhos.

Ao comparar esses compostos com os encontrados no OE das folhas de *S. elliptica*, foi possível observar que apenas três eram idênticos: 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona, hexadecanoato de isopropila e oleamida.

Tabela 19. Compostos identificados na análise por GC-MS do OE dos galhos de *Salacia elliptica*.

	Compostos	IR_{exp}	IR_{lit}	Área relativa (%)
1	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-decadienal	1319	1319 ^[a]	2,0
2	β -cariofileno	1424	1420 ^[b]	1,5
3	n. i.	1453		1,7
4	(<i>E</i>)-geranil acetona	1455	1455 ^[c]	1,4
5	n. i.	1546		2,3
6	espatulenol	1583	1582 ^[d]	2,0
7	10-epi-junenol	1586	1590 ^[e]	14,2
8	óxido de cariofileno	1588	1587 ^[f]	22,2
9	epóxido de humuleno II	1615	1614 ^[g]	4,0
10	epicubenol	1617	1617 ^[h]	1,5
11	n. i.	1631		3,1
12	n. i.	1638		1,8
13	cariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	1642	1637 ^[i]	1,8
14	n. i.	1660		1,7
15	n. i.	1677		5,4
16	n.i	1714		3,8
17	n. i.	1757		2,4
18	n. i.	1779		2,2
19	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	1846	1847 ^[j]	2,9
20	hexadecan-1-ol	1880	1879 ^[k]	1,3
21	n. i.	1889		1,7
22	n. i.	1963		2,6
23	n. i	1984		3,2
24	hexadecanoato de isopropila	2027	2027 ^[e]	3,5
25	n. i.	2343		1,2
26	oleamida	2349	2375 ^[l]	8,8

* n. i. (não identificado)

^a ADAMS, 1998; ^b KAHRIMAN et al., 2011; ^c NICKAVAR et al, 2002; ^d ZHAO et al., 2009; ^e RADULOVIĆ, ĐORĐEVIĆ e PALIĆ, 2010; ^f DEGHAN et al., 2007; ^g RADULOVIĆ et al., 2010; ^h SIANI et al., 2004; ⁱ KUÇUK et al., 2006; ^j KOWALSKI et al., 2005; ^k PINO et al., 2005; ^l ZHAO et al., 2008

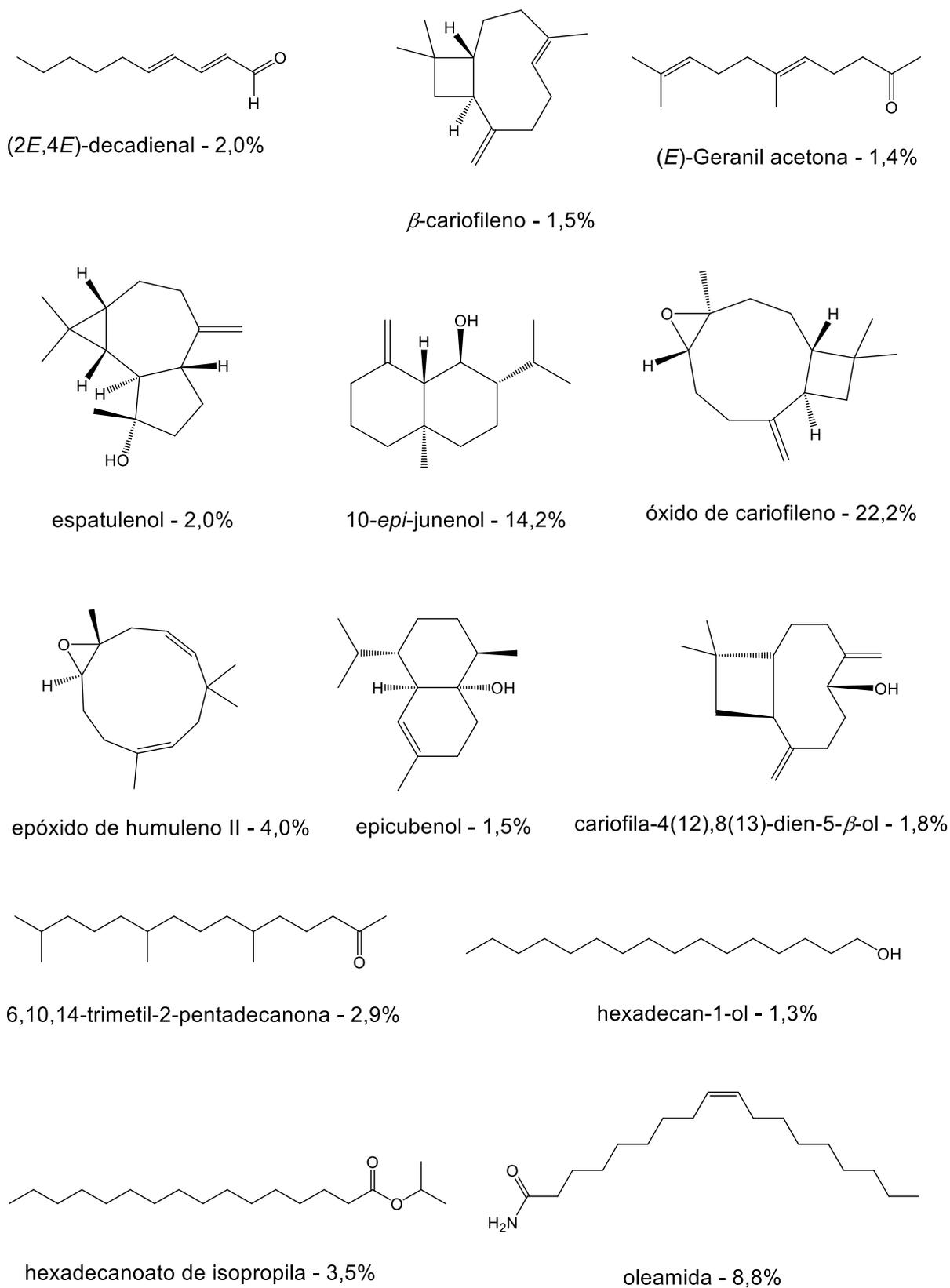


Figura 20: Estruturas químicas propostas dos constituintes do óleo essencial dos galhos da espécie *S. elliptica*.

Os compostos identificados no OE dos galhos, quando comparados com aqueles identificados no estudo sobre os óleos essenciais de espécies da família Celastraceae realizado por Camargo e colaboradores, são apresentados na Tabela 20 (CAMARGO et al., 2020). Entre os compostos identificados na espécie *S. elliptica*, apenas o 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona havia sido identificado no estudo anterior.

Tabela 20: Compostos identificados no óleo essencial dos galhos de *S. elliptica* anteriormente descritos para espécies de Celastraceae.

Compostos	Espécies da família Celastraceae ^a
(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-decadienal	<i>Monteverdia acanthophylla</i> , <i>Salacia crassifolia</i> , <i>Tonlelea micrantha</i>
β -cariofileno	<i>Monteverdia gonoclada</i> , <i>S. crassifolia</i> , <i>T. Micrantha</i>
óxido de cariofileno	<i>S. crassifolia</i>
epóxido de humuleno II	<i>S. crassifolia</i>
Epicubenol	<i>S. crassifolia</i>
6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	<i>M. imbricata</i> , <i>A. populnea</i> , <i>P. celastroides</i> , <i>S. elliptica</i> , <i>T. micrantha</i>

^a CAMARGO et al., 2020

O composto (2*E*,4*E*)-decadienal pertence à classe de aldeídos insaturados, os quais são conhecidos por serem produzidos em quantidades significativas nos tecidos das plantas em resposta a lesões e à subsequente atuação do sistema enzimático lipoxigenase, envolvendo a oxidação lipídica. Uma atividade biológica promissora desse composto é sua eficácia como nematicida evidenciada por ensaios biológicos contra o nematoide *Meloidogyne javanica*, uma praga que infesta plantações e prejudica a colheita de frutas e vegetais (CABONI et al., 2012).

O sesquiterpeno β -cariofileno é um metabólito secundário que ocorre principalmente como o isômero *E*, mas também pode apresentar o isômero *Z*, e seu derivado de oxidação, o óxido de cariofileno. O β -cariofileno e o óxido de cariofileno são considerados compostos orgânicos voláteis e foram identificados como aleloquímicos atrativos para determinadas espécies de besouro (ZHANG et al., 2021 e MAHAJAN et al, 2022). Além dos estudos de semioquímicos, o β -cariofileno é estudado para outras inúmeras propriedades biológicas, como anti-inflamatório, antitumoral e antibacteriano (FRANCOMANO et al, 2019).

O epóxido de humuleno II é um derivado de oxidação do sesquiterpeno humuleno. O humuleno foi isolado pela primeira vez da espécie *Humulus lupulus*, conhecida comumente como lúpulo e empregada na produção de cerveja. Com relação ao derivado epóxido de humuleno II, existem estudos com o objetivo de associar a sua presença como pontos característicos no aroma do óleo essencial do lúpulo (EYRES et al, 2009; TAN et al., 2020).

O epicubenol é um sesquiterpeno, que pode ser encontrado em óleos essenciais, sendo um dos compostos responsáveis pela atividade antibacteriana do óleo essencial de *Calendula arvensis* (SERVI et al., 2020). Além disso, existe um estudo que indica a atividade biológica promissora desse composto em imunoterapia baseada em células dendríticas (sistema imunológico), visando a tolerância pós-transplante, em doenças autoimunes ou alergias (TAKEI et al., 2005).

Os três principais constituintes do OE dos galhos foram o óxido de cariofileno, 10-epi-junenol e oleamida apresentando as maiores áreas relativas, com proporções de 22,2%, 14,2%, e 8,8%, respectivamente. A proporção relativamente elevada, em comparação com os demais compostos, pode sugerir uma importância ecológica significativa para o óxido de cariofileno, que também é encontrado no OE da espécie *Salacia crassifolia* e é conhecido por ser aleloquímico. O 10-epi-junenol é um sesquiterpeno que exibe diversas atividades farmacológicas, incluindo anti-inflamatória e antitumoral, porém sem o papel semioquímico muito bem determinado (GOU et al., 2016). A oleamida, uma amida de cadeia longa, também encontrada no OE das folhas de *S. elliptica*, é estudada para diversas atividades biológicas, como analgésico e vasodilatadora (CHENG et al, 2010). Em um estudo dos OEs de folhas e caules de *Bryophyllum pinnatum*, a oleamida estava presente como um dos principais constituintes, e esses OEs demonstraram uma atividade antioxidante promissora (ADIBE et al, 2019).

1.4.4 Atividade citotóxica dos compostos isolados das raízes de *S. elliptica*

A atividade citotóxica dos compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08** e **SE09** foi avaliada contra a linhagem celular humana A549 (modelo celular de adenocarcinoma de pulmão). A avaliação de citotoxicidade foi conduzida por meio da técnica de citometria de fluxo. As células foram tratadas com cada um dos compostos dissolvidos em DMSO em uma concentração de 2, 10, 15 e 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, por 48 horas. As células foram tratadas com solução salina estéril (0,9% m/m) como controle negativo e solução de DMSO (20%) como controle positivo.

Não foram identificadas diferenças significativas nos valores de IC_{50} entre os compostos **SE02**, **SE06**, **SE08** e **SE09**. Contudo, o composto **SE01** apresentou divergências estatisticamente significativas a um nível de $p < 0,05$. Portanto, foi considerado o mais ativo dentre eles. Os dados de IC_{50} para os compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08** e **SE09** estão apresentados na Tabela 21 (Pág.97).

Os resultados obtidos foram comparados com informações sobre o agente antitumoral doxorrubicina, reconhecido por sua ampla gama de atividade contra diversos tumores. No caso das células A549, a doxorrubicina apresentou um IC_{50} de $15,12 \pm 0,13 \mu\text{M}$ (LI et al, 2018).

Com o intuito de estabelecer um padrão comparativo entre os compostos isolados, a citotoxicidade do lupeol também foi avaliada. Em relação aos TTPCs, o lupeol tem sido um dos compostos mais extensivamente pesquisados recentemente, com diversos estudos biológicos disponíveis, destacando-se especialmente pela sua atividade antitumoral.

O IC_{50} do lupeol foi calculado como $19,92 \pm 2,34 \mu\text{M}$. A citotoxicidade exibida para o lupeol e os compostos **SE02**, **SE06**, **SE08** e **SE09** ($p > 0,05$) não apresentou diferenças significativas estatisticamente. No entanto, ao comparar com o composto **SE01**, um nível de significância de $p < 0,05$ foi observada. Assim, o composto **SE01** demonstrou uma atividade citotóxica significativa neste estudo, mesmo em comparação com o lupeol.

Tabela 21. Avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados das raízes de *Salacia elliptica* e lupeol contra células A549.

Compostos	IC ₅₀ (μM)*
SE01	18,77 ± 0,56 ^a
SE02	20,97 ± 0,51 ^b
SE06	20,44 ± 0,72 ^b
SE08	20,01 ± 0,81 ^b
SE09	21,63 ± 1,71 ^b
Lupeol	19,92 ± 2,34

[a,b] Letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível de $p < 0,05$.

*Células A549 foram tratadas com $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ por 48h.

Esses resultados demonstram o potencial dos TTPCs contra células A549. No entanto, tornam-se necessárias investigações adicionais, especialmente no que diz respeito ao mecanismo de morte celular.

1.4.5 Atividade antifúngica de compostos isolados das raízes de *S. elliptica*

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos compostos **SE01**, **SE02**, **SE06** e **SE08** foram determinados contra os fungos *Candida auris*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus gatti*, *C. neoformans*, *Sporothrix brasiliensis* and *S. schenkii*. Além dos compostos isolados, os extratos EC, EA e EM também foram incluídos nos ensaios. O Composto **SE08** não foi testado contra os fungos *Candida auris*, *C. albicans*, *Cryptococcus gatti* e *C. neoformans*, devido à pequena quantidade isolada.

Os TTPCs **SE09**, **SE10** e o esteroide **SE07** não foram incluídos nos ensaios devido à massa insuficiente. Além disso, os TTPCs em misturas (**SE03**, **SE05**) e a mistura de ácidos graxos (**SE04**) também não foram testados.

Nenhum dos compostos e extratos avaliados apresentou atividade na concentração máxima testada ($250 \mu\text{M}$) e, portanto, foram considerados inativos contra os fungos avaliados.

1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE O ESTUDO FITOQUÍMICO

O estudo fitoquímico das raízes de *Salacia elliptica* foi realizado para quatro extratos: hexânico, clorofórmico, acetato etílico e metanólico.

Dos extratos hexânico e clorofórmico foram obtidos dez constituintes. Dentre eles foram identificados oito triterpenos pentacíclicos de esqueleto friedelano: friedelan-3-ona (**SE01**), friedelan-3 β -ol (**SE02**), mistura de friedelan-3 β -ol (**SE02**) e friedelano-1,3-diona (**SE03**), friedelano-3,15-diona (**SE05**), 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SE06**), 15 α ,26-di-hidroxifriedelan-3-ona (**SE08**), 26-hidroxifriedelano-3,15-diona (**SE09**), e 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona (**SE10**). Além disso, foram identificados o esteroide espinasterol (**SE07**) e uma mistura de ácidos graxos (**SE04**). O triterpeno pentacíclico **SE10** é inédito na literatura.

Do extrato acetato etílico, foram obtidas várias misturas de ácidos graxos. No entanto, não se deu continuidade na identificação e isolamento.

A partir do extrato metanólico, não foi possível identificar alcaloides por meio da marcha química.

A partir da análise dos extratos acetato etílico e metanólico das raízes de *S. elliptica* por UHPLC-ESI-MS/MS, foi possível identificar putativamente 14 compostos, predominantemente polifenóis, tais como flavonoides (chalcona, flavanona, flavona). Vários desses compostos identificados apresentam atividades biológicas relatadas na literatura, destacando-se as ações antioxidante e anti-inflamatória.

OE das folhas foi extraído por meio do processo de hidrodestilação e resultou em uma quantidade muito pequena, 0,0029% (m/m), o que foi considerado como sendo um baixíssimo teor. Foram realizadas as proposições estruturais de 22 compostos, sendo que os principais constituintes foram o pentadecal, hexan-1-ol e (Z)-hex-3-en-1-ol. Quanto ao OE dos galhos, a extração também resultou em um teor muito baixo de 0,0018% (m/m). Foram feitas as proposições estruturais de 26 compostos, sendo os principais constituintes o óxido de cariofileno, 10-epi-junenol e oleamida.

Foi realizada a avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, **SE09** contra o modelo de células de câncer de pulmão A549 por

análise por citometria de fluxo, e os compostos apresentaram uma atividade antitumoral significativa, semelhante à exibida pelo triterpeno lupeol. O composto **SE01** apresentou um nível de significância de $p < 0,05$, demonstrando uma atividade citotóxica significativa neste estudo, mesmo em comparação com o lupeol.

Adicionalmente, foram avaliadas *in vitro* as atividades antifúngicas dos compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08**, assim como dos extratos clorofórmico, acetato etílico e metanólico das raízes contra cepas de *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix*. No entanto, todos os compostos e extratos foram inativos nas concentrações testadas.

CAPÍTULO 2 – Síntese de ésteres derivados do lupeol

2.1 INTRODUÇÃO

2.1.1 Lupeol

O triterpeno pentacíclico lupeol (Figura 21) pode ser encontrado em várias frutas, vegetais e plantas medicinais, tais como azeitona, manga, folha de *Aloe vera*, mamona e em várias espécies da família Celastraceae. Esse composto apresenta atividades biológicas promissoras, que incluem propriedades anti-inflamatória, antitumoral, antidiabética, cardioprotetora, antiprotozoária e antimicrobiana (LI et al., 2023; SHARMA et al., 2020 e SILVA et al., 2017).

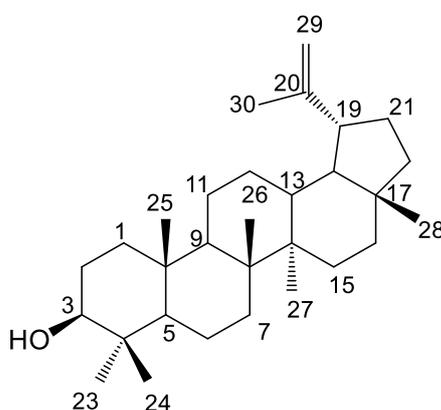


Figura 21: Estrutura do lupeol.

O lupeol tem sido relatado como um agente não tóxico que preserva as células saudáveis e não induz qualquer toxicidade sistêmica em animais, em doses que variam de 30 a 2000 mg/kg. Além disso, para avaliar sua eficácia terapêutica, o lupeol foi submetido a diversos testes que empregaram diferentes métodos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Nesses estudos foi demonstrado que o lupeol é farmacologicamente eficaz no tratamento de diversas enfermidades (LIU et al., 2021 e SIDDIQUE, 2011).

A título de exemplo desses estudos, Beserra e colaboradores (2019) conduziram um estudo investigando o potencial terapêutico do lupeol na cicatrização de feridas em ratos com hiperglicemia induzida por estreptozotocina (um agente particularmente tóxico para as células produtoras de insulina). Por meio dos resultados das análises macroscópicas e histológicas, observou-se que o lupeol apresenta potencial de cicatrização de feridas em condições hiperglicêmicas.

Portanto, pode ser benéfico para pacientes diabéticos em tratamento (BESERRA et al., 2019).

Apesar de apresentar eficácia farmacológica em vários testes, há interesse em desenvolver análogos sintéticos do lupeol com o objetivo de ampliar sua potência, biodisponibilidade e outras propriedades. A atividade biológica de um fármaco no organismo está intrinsecamente relacionada aos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção. Portanto, a obtenção de derivados do lupeol pode levar a compostos mais ativos e com melhores características farmacocinéticas (LIU et al., 2021).

2.1.2 Síntese de derivados do lupeol

Os análogos sintéticos do lupeol podem ser obtidos por meio da modificação estrutural na posição C-3 e/ou na posição da ligação dupla (C-20-C-29) (LIU et al., 2021 e SAINI et al., 2019). Diversas propostas sintéticas para obtenção de derivados do lupeol com modificação na posição C-3 são relatadas na literatura, tais como a formação de cetona, oxima e ésteres. No que diz respeito à modificação na ligação dupla, também são descritas algumas propostas tais como a formação de um epóxido e cetona (Figura 22, Pág. 103).

A título de exemplo, para a obtenção de cetona a partir da modificação na posição C-3, há relato da oxidação do álcool secundário com clorocromato de piridínio (PCC) em diclorometano (CH_2Cl_2), (Figura 22, a). Após a formação da lupenona (3-oxolup-20(29)-eno), uma outra síntese realizada foi a formação de uma oxima, utilizando cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) em piridina (Figura 22, b). Na literatura é relatada a obtenção destes dois compostos com elevado rendimento (SAINI et al., 2019). No estudo conduzido por Saini e colaboradores, a lupenona foi obtida com rendimento de 97%, enquanto para a oxima o rendimento foi de 91%. No trabalho de Khan e colaboradores (2014), a lupenona e a oxima foram sintetizadas com rendimentos de 93% e 90%, respectivamente. No estudo realizado por Mahapatra e colaboradores (2015), a lupenona apresentou rendimento de 90%, enquanto a oxima registrou 80%. Da mesma forma, no estudo conduzido por Rao e colaboradores (2017), a lupenona foi obtida com rendimento de 85%, e a oxima atingiu 80% (KHAN et al., 2014, MAHAPATRA et al., 2015 e RAO et al., 2017).

A partir do lupeol é possível, também, obter diferentes ésteres. A obtenção de ésteres é possível por meio da esterificação de Steglich, utilizando ácidos carboxílicos e *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC), juntamente com 4-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador, em CH_2Cl_2 (Figura 22, c).

Em relação à modificação na posição da ligação dupla (C-20 e C-29), encontram-se vários relatos de oxidação ou epoxidação. A oxidação da ligação dupla do lupeol por iodossilbenzeno (PhIO) em 1,2-dicloroetano ($\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$), catalisada por porfirinas de manganês, foi estudada e resultou em produtos com rendimentos baixos. Contudo, apresentou uma notável seletividade relacionada ao catalisador utilizado. Na reação em que foi selecionado o catalisador $\text{Mn(III)(Br}_8\text{T4CMPP)Cl}$, houve oxidação no C-20, formando o derivado 20-oxo-3 β -hidroxi-29-norlupeol (6% de rendimento). Além disso, foi possível recuperar grande parte do lupeol após a reação (Figura 22, d) (MARTINS et al., 2016). Em outro estudo, realizou-se a funcionalização da ligação dupla do lupeol mediante a uma epoxidação com o ácido metacloroperoxibenzoico (mCPBA), em diclorometano (Figura 22, e), com o rendimento de 44% (NICOLAS et al., 2012).

Além disso, na literatura, há relatos de síntese de derivados do lupeol com a obtenção de um novo grupo funcional ao se realizar uma modificação na posição do grupo metílico alílico em C-30. A reação ocorreu com o lupeol tratado segundo as condições da oxidação de Riley, com dióxido de selênio (SeO_2) sob refluxo em etanol para a obtenção de um aldeído alílico (Figura 22, f). Em seguida, ocorreu uma reação de redução com boro-hidreto de sódio (NaBH_4) em etanol para a obtenção do álcool alílico, com o grupo hidroxila inserido no C-30. Na literatura, é possível encontrar a síntese destes dois compostos com rendimento alto. No estudo realizado por Saini e colaboradores, o aldeído alílico foi obtido com rendimento de 95%, enquanto o álcool alílico alcançou rendimento de 91% (Figura 22, g) (SAINI et al., 2019).

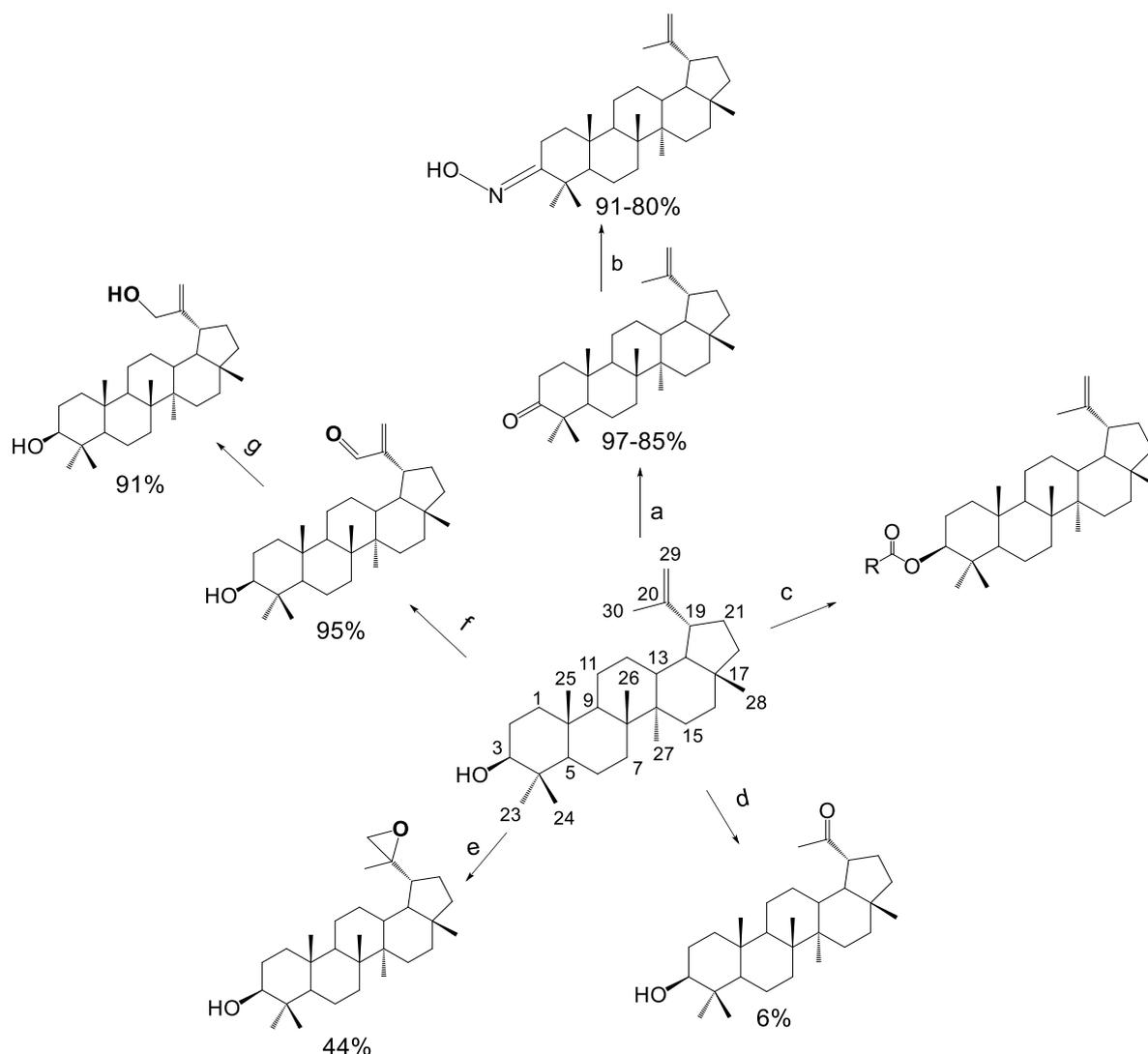


Figura 22: Esquema de síntese de diferentes derivados do lupeol e seus rendimentos. Reagentes: **a)** PCC, CH_2Cl_2 **b)** $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, piridina **c)** DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , RCOOH (R= grupo alquil, aril) **d)** PhIO , $\text{Mn(III)(Br}_8\text{T4CMPP)Cl}$, $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ **e)** mCPBA, CH_2Cl_2 **f)** SeO_2 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ **g)** NaBH_4 , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

Como citado anteriormente, na literatura encontram-se descritos vários estudos biológicos para o lupeol e seus derivados. Neste contexto, foram realizados ensaios biológicos *in vitro* nos quais o derivado **A** (lup-20(29)-en-3 β ,30-diol) (Figura 23, Pág. 104) apresentou a melhor atividade antitripanosoma ($\text{IC}_{50} = 12,48 \mu\text{g/mL}$) em relação ao lupeol ($\text{IC}_{50} = 19,30 \mu\text{g/mL}$). Adiante, Machado e outros colaboradores também realizaram um estudo *in vitro* para investigar a atividade antileucêmica (células K562) do lupeol e seus derivados. Os dados do ensaio mostraram que os derivados **A**, **B** (3 β -acetoxi-30-hidroxilup-20(29)-eno), **C** (3 β -hidroxilup-20(29)-en-30-al) e **D** (3 β -acetoxilup-20(29)-en-30-al) (Figura 23) apresentaram valores significativos IC_{50} (μM)

em comparação com o lupeol (85,20): **A** (19,52), **B** (20,98), **C** (44,11) e **D** (56,16) (MACHADO et al., 2018 e MACHADO et al., 2021).

Khan e colaboradores realizaram testes biológicos *in vitro* de atividade inibitória da proteína tirosina fosfatase-1B, com relação à diabetes Tipo 2, para vários derivados do lupeol e encontraram que os derivados **E** (3-imino-(*trans*-cinamoil)lup-20(29)-eno) e **F** (3-imino-(3,5-dimetoxibenzoil)lup-20(29)-eno) (Figura 23) foram os mais promissores (IC_{50} **E**=7,46 μ M; **F**=8,01 μ M) em comparação com o padrão fármaco antiparasitário suramina (IC_{50} = 8,51 μ M) (KHAN e MISHRA et al., 2014).

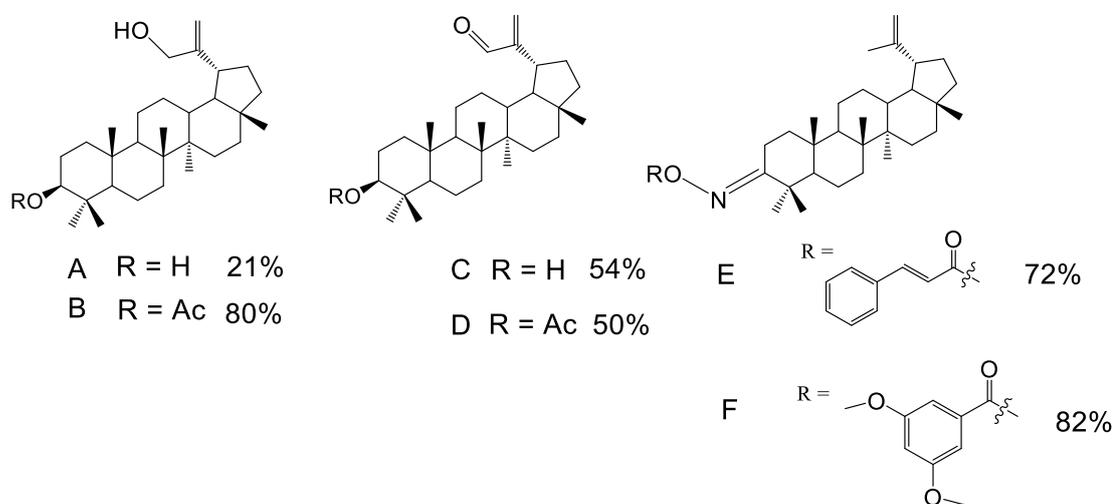


Figura 23: Exemplos de derivados do lupeol e seus rendimentos.

Esses vários exemplos de estudos motivam a realização de modificações estruturais no lupeol com o objetivo de obter derivados cada vez mais promissores para diversas atividades biológicas. Entre essas modificações, neste trabalho concentrou-se na obtenção de ésteres, uma vez que se trata de uma reação que ocorre em condições brandas, sendo possível obter diversos análogos utilizando o mesmo procedimento experimental.

2.1.3 Ésteres derivados do lupeol

Os ésteres derivados do lupeol são comumente obtidos por meio da esterificação de Steglich, pois é uma reação que ocorre em condições brandas e com reagentes menos tóxicos em relação às reações usando cloretos de ácido. O procedimento de esterificação adaptado foi relatado pela primeira vez, em 1978, por Wolfgang Steglich e Bernhard Neises, que empregaram o agente de acoplamento

N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e o catalisador 4-dimetilaminopiridina (DMAP), Além do DCC, outros agentes de acoplamento podem ser empregados, como *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC) (JORDAN et al., 2021).

Em relação à bioatividade apresentada por ésteres derivados do lupeol, é possível encontrar resultados promissores em ensaios biológicos. No estudo realizado por Somensi e colaboradores (2020) foram observados os efeitos antioxidante e inflamatório dos ésteres derivados de lupeol por meio de experimentos conduzidos com camundongos Swiss. Entre os ésteres, destacou-se o estearato de lupeila, que foi obtido com um rendimento de 86% (Figura 24, Pág. 106). Este éster, quando administrado via oral, reduziu a formação de úlceras gástricas, enquanto a administração intraperitoneal atuou como anti-ulcerogênico. Esses resultados sugeriram que a obtenção do estearato de lupeila aprimorou a atividade antiúlcera do lupeol e que esse composto deve exercer uma ação gastroprotetora devido a um mecanismo de ação diversificado (SOMENSI, et al., 2020).

Outro estudo, realizado por Malinowska e colaboradores, avaliou o efeito dos ésteres derivados de lupeol nas células da pele humana como potenciais agentes no tratamento da cicatrização de feridas. A atividade antioxidante desses compostos foi determinada utilizando métodos *in vitro*, como DPPH, ABTS e FRAP. De acordo com os resultados obtidos, o isonicotinato de lupeila (Figura 24, Pág. 106) mostrou-se eficaz na proteção das proteínas contra oxidação e foi o antioxidante mais eficaz na redução de radicais livres. O isonicotinato de lupeila foi obtido com um rendimento de 66% (MALINOWSKA et al., 2019, MALINOWSKA et al., 2021).

No estudo realizado por Sudhahar e colaboradores foi analisado o papel do lupeol e de seu derivado, o éster linoleato de lupeila (Figura 24, Pág. 106), nas anormalidades oxidativas e inflamatórias em condições hipercolesterolêmicas. Para o teste, a hipercolesterolemia foi induzida em ratos albinos machos da raça Wistar, alimentando-os com uma dieta rica em colesterol. O lupeol e o linoleato de lupeila foram suplementados (50 mg/kg de peso corporal por dia) durante 15 dias. Como resultado do teste, observou-se a diminuição do estresse oxidativo e a reversão do estresse nitrosativo para quase a normalidade com a suplementação desses triterpenos, demonstrando a melhoria das anormalidades oxidativas e inflamatórias nas condições hipercolesterolêmicas (SUDHAHAR et al., 2007).

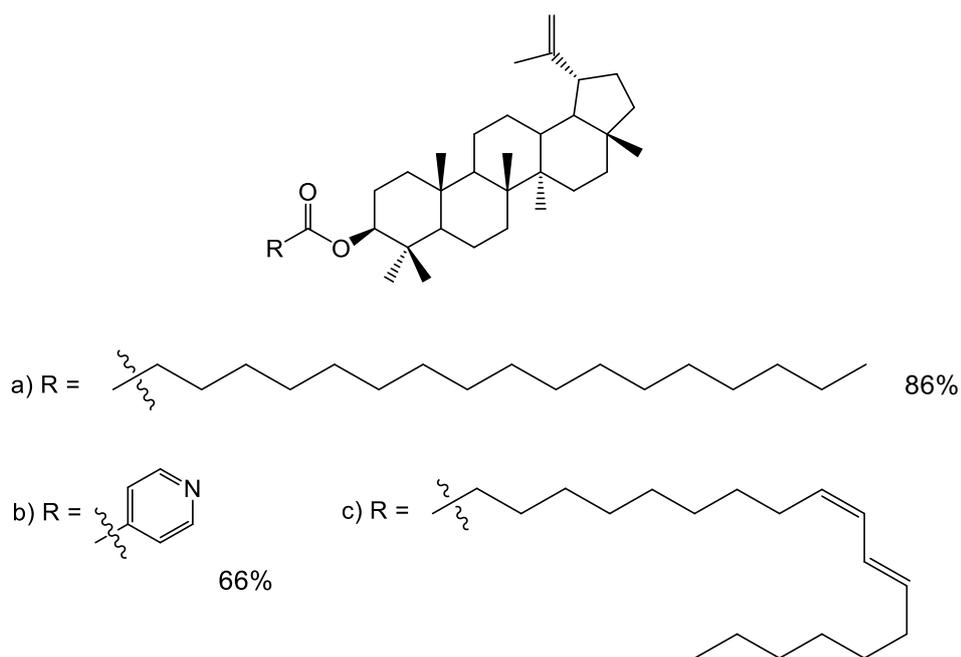


Figura 24: Estruturas dos ésteres derivados do lupeol e seus rendimentos: a) estearato de lupeila b) isonicotinato de lupeila e c) linoleato de lupeila

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Realizar a síntese de derivados do lupeol visando a obtenção de ésteres inéditos que possam ter uma maior atividade biológica com relação ao precursor.

2.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar os derivados do lupeol por meio da esterificação de Steglich.
- Isolar os ésteres derivados do lupeol utilizando a cromatografia em coluna.
- Caracterizar os ésteres derivados do lupeol através dos métodos espectroscópicos de RMN e IV.
- Direcionar os derivados do lupeol para os testes biológicos.

2.3 METODOLOGIA

Os métodos gerais, tais como a preparação de cromatografias em camada delgada (CCD) para o acompanhamento da reação, cromatografias em coluna (CC) para a purificação dos ésteres, e os métodos espectroscópicos de RMN e IV utilizados na caracterização dos ésteres sintetizados, estão descritos na seção **1.3.1 Métodos gerais** do **Capítulo 1**.

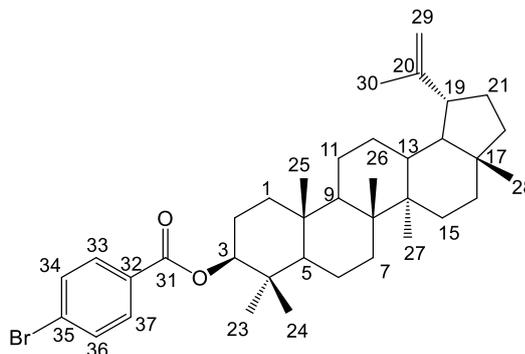
Além disso, os métodos para os ensaios biológicos de avaliação da atividade citotóxica e atividade antifúngica dos ésteres derivados do lupeol estão descritos nas seções **1.3.10 Avaliação de citotoxicidade dos compostos isolados das raízes de *S. elliptica*** e **1.3.11 Atividade antifúngica de compostos isolados das raízes de *S. elliptica*** do **Capítulo 1**.

2.3.1 Procedimento geral para a preparação dos ésteres derivados de lupeol

A um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados o lupeol (x mmol), ácido carboxílico (y mmol), DMAP (z mmol) e 10,0 mL de diclorometano. Após 10 minutos, adicionou-se DIC (w mol) ao meio reacional, à temperatura ambiente e sob agitação magnética, por 24, 48 ou 72 horas. A reação foi acompanhada por CCD. O éster foi purificado por CC utilizando clorofórmio como eluente. As quantidades x , y , z e w estão descritas, a seguir, para cada éster obtido.

2.3.1.1 Preparação do 4-bromobenzoato de lupeila (EL01)

A obtenção do éster **EL01** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (100,0 mg; 0,23 mmol), ácido 4-bromobenzoico (141,7 mg; 0,70 mmol), DMAP (7,40 mg; 0,06 mmol) e DIC (37 μ L; 0,24 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 72%.



EL01

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 226 – 230

Fórmula molecular: C₃₇H₅₃BrO₂

Massa molar (g/mol): 609,7330

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,89 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,57 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 4,71 (m, 2H); 4,57 (s, 1H); 2,35-2,42 (m, 1H); 1,87-1,98 (m, 1H); 1,70-1,78 (m, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,06-1,68 (m, 15H); 1,05 (s, 3H); 0,99-1,04 (m, 2H); 0,98 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,92-0,95 (m, 1H); 0,91 (s, 3H); 0,90 (s, 3H); 0,80-0,88 (m, 2H); 0,79 (s, 3H) (Figura B1, Pág. 202)

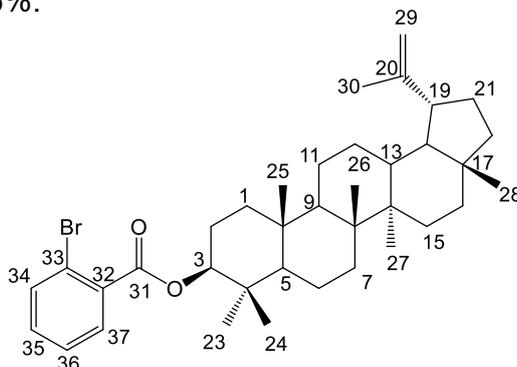
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 165,7; 151,1; 131,8; 131,2; 130,0; 127,9; 109,5; 82,2; 55,6; 50,5; 48,4; 48,2; 43,1; 43,0; 41,0; 40,1; 38,5; 38,3; 38,2; 37,3; 35,7; 34,3; 30,0; 28,3; 27,6; 25,2; 23,9; 21,1; 19,4; 18,4; 18,1; 16,9; 16,3; 16,1; 14,7 (Figura B2, Pág. 202)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B3, Pág. 203

IV (ν Max/cm⁻¹): 2946, 2862, 1718, 1640, 1592, 1456, 1390, 1276, 1112, 848 (Figura B4, Pág. 203)

2.3.1.2 Preparação do 2-bromobenzoato de lupeila (EL02)

A obtenção do éster **EL02** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (50,40 mg; 0,12 mmol), ácido 2-bromobenzoico (71,10 mg; 0,35 mmol), DMAP (3,60 mg; 0,03 mmol) e DIC (18 μL ; 0,12 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 76%.



EL02

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão ($^{\circ}\text{C}$): 187– 191

Fórmula molecular: $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{BrO}_2$

Massa molar (g/mol): 609,7330

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 7,68 (dd, $J = 7,6; 1,8$ Hz, 1H); 7,58 (m, 1H); 7,28 (dt, $J = 7,5; 1,4$ Hz, 1H), 7,23 (dt, $J = 7,6; 2,0$ Hz, 1H); 4,69 (dd, $J = 11,3; 4,9$ Hz, 1H); 4,62 (s, 1H); 4,50 (s, 1H); 2,28-2,35 (m, 1H); 1,63-1,87 (m, 5H); 1,62 (s, 3H); 0,98-1,61 (m, 18H); 0,97 (s, 3H); 0,89 (s, 6H); 0,87 (s, 3H); 0,82 (s, 3H); 0,73-0,81 (m, 1H); 0,72 (s, 3H) (Figura B5, Pág. 204)

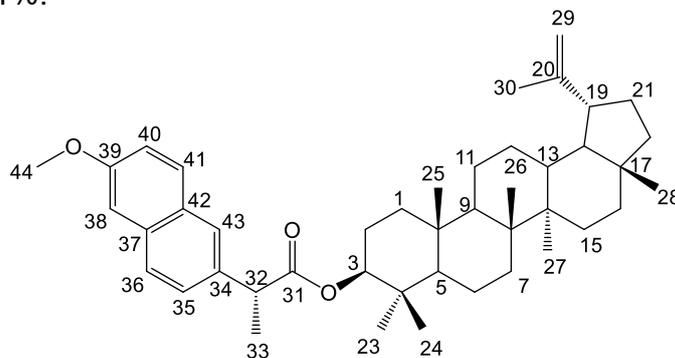
RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 166,3; 151,1; 134,4; 133,3; 132,4; 131,2; 127,3; 121,6; 109,5; 83,0; 55,6; 50,5; 48,4; 48,2; 43,1; 43,0; 41,0; 40,1; 38,6; 38,2; 38,2; 37,3; 35,7; 34,3; 30,0; 28,3; 27,6; 25,2; 23,8; 21,1; 19,4; 18,4; 18,1; 17,0; 16,3; 16,1; 14,7 (Figura B6, Pág. 204)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3): Figura B7, Pág. 205

IV (ν Max/ cm^{-1}): 2940, 2866, 1726, 1640, 1462, 1380, 1292, 1130, 968, 882, 742 (Figura B8, Pág. 205)

2.3.1.3 Preparação do naproxenoato de lupeila (EL03)

A obtenção do éster **EL03** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**, Quantidades utilizadas: lupeol (120,0 mg; 0,28 mmol), naproxeno (360,0 mg; 1,57 mmol), DMAP (8,60 mg; 0,07 mmol) e DIC (44 μ L; 0,28 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 61%.



EL03

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 220-221

Fórmula molecular: C₄₄H₆₂O₃

Massa molar (g/mol): 638,9770

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,70 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H); 7,67 (m, 2H); 7,41 (dd, *J* = 8,5, 1,7 Hz; 1H); 7,13 (dd; *J* = 8,8, 2,5 Hz; 1H); 7,10 (d, *J* = 2,1 Hz; 1H); 4,68 (s, 1H); 4,56 (s, 1H); 4,44 (dd, *J* = 10,4; 5,7 Hz; 1H); 3,91 (s, 3H); 3,83 (q, *J* = 7,1 Hz; 1H); 2,33-2,40 (m, 1H); 1,85-1,96 (m, 1H); 1,67 (s, 3H); 1,57 (d, *J* = 7,2 Hz; 3H); 1,01-1,55 (m, 26H); 1,00 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,81 (s, 3H); 0,77 (s, 3H); 0,69 (s, 3H); 0,55 (s, 3H) (Figura B9, Pág. 206)

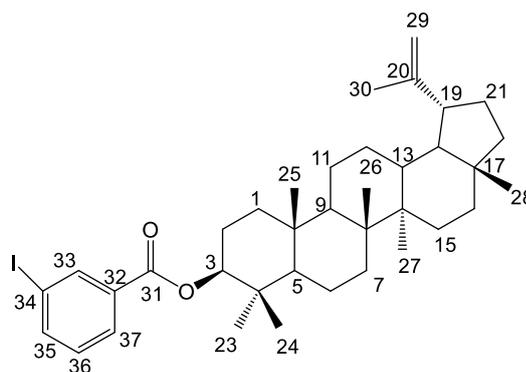
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 174,4; 157,7; 151,1; 136,2; 133,8; 129,4; 129,1; 127,1; 126,6; 126,1; 119,0; 109,5; 105,7; 81,3; 55,4; 55,4; 50,4; 48,4; 48,1; 46,1; 43,1; 43,0; 41,0; 40,1; 38,5; 38,2; 38,1; 37,2; 35,7; 34,3; 30,0; 27,7; 27,5; 25,2; 23,8; 21,1; 19,4; 18,3; 18,2; 18,1; 16,5; 16,3; 16,1; 14,6 (Figura B10, Pág. 206)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃):(Figura B11, Pág. 207)

IV (ν Max/cm⁻¹): 2936, 2872, 1726, 1636, 1606, 1456, 1384, 1192, 1028, 884, 812 (Figura B12, Pág. 207)

2.3.1.4 Preparação do 3-iodobenzoato de lupeila (EL04)

A obtenção do éster **EL04** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (39,9 mg; 0,09 mmol), ácido 3-iodobenzoico (69,7 mg; 0,28 mmol), DMAP (2,90 mg; 0,02 mmol) e DIC (15 μ L; 0,10 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 76%.



EL04

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão ($^{\circ}$ C): 221-224

Fórmula molecular: $C_{37}H_{53}IO_2$

Massa molar (g/mol): 656,7335

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 8,35 (s, 1H); 7,99 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,87 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,18 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H); 4,70 (m, 2H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,87 (m, 1H); 1,74 (m, 2H); 1,54-1,11 (m, 11H); 1,69 (s, 3H); 1,05 (s, 3H); 0,99 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,91 (s, 6H); 0,80 (s, 3H) (Figura B13, Pág. 208)

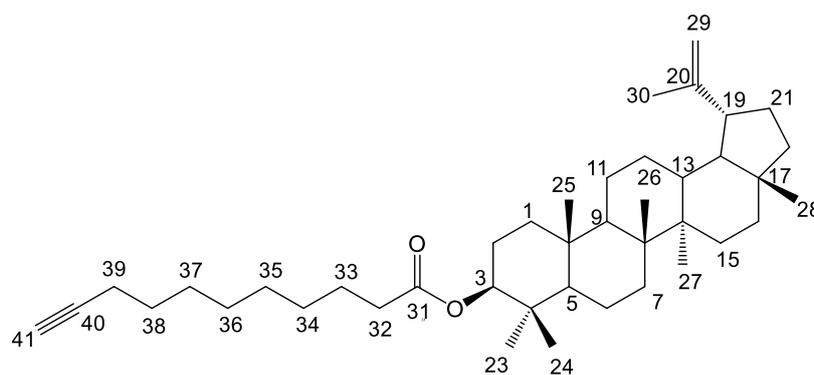
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 164,9; 151,1; 141,7; 138,6; 133,0; 130,2; 128,8; 109,5; 94,0; 82,3; 55,6; 50,5; 48,4; 48,1; 43,1; 43,0; 41,0; 40,1; 38,5; 38,3; 38,2; 37,3; 35,7; 34,3; 30,0; 28,3; 27,6; 25,2; 23,9; 21,1; 19,4; 18,4; 18,2; 16,9; 16,3; 16,1; 14,7 (Figura B14, Pág. 208)

DEPT-135 (100 MHz, $CDCl_3$): Figura B15, Pág. 209

IV (ν Max/ cm^{-1}): 3062, 2940, 2858, 1714, 1636, 1458, 1384, 1266, 1120, 966, 882, 744, 702 (Figura B16, Pág. 209)

2.3.1.5 Preparação do 10-undecinoato de lupeila (EL05)

A obtenção do éster **EL05** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (122,8 mg; 0,28 mmol), ácido 10-undecinoico (154,0 mg; 0,84 mmol), DMAP (8,80 mg; 0,07 mmol) e DIC (44 μ L; 0,28 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 80%.



EL05

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 91-92

Fórmula molecular: C₄₁H₆₆O₂

Massa molar (g/mol): 590,9770

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 4,68 (s, 1H); 4,57 (s, 1H); 4,47 (dd, *J* = 10,7; 5,5 Hz, 1H); 2,41-2,34 (m, 1H); 2,29 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 2,17 (dt, *J* = 7,1; 2,7 Hz, 2H); 1,93 (t, *J* = 2,7, 1H); 1,68 (s, 3H); 1,04-1,67 (m, 36H); 1,03 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,85 (s, 3H); 0,84 (s, 6H); 0,79 (s, 3H) (Figura B17, Pág. 210)

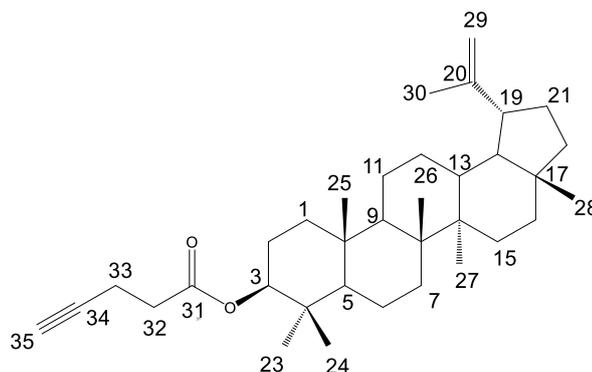
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 173,8; 151,1; 109,5; 84,8; 80,8; 68,2; 55,5; 50,5; 48,4; 48,1; 43,1; 43,0; 41,0; 40,1; 38,5; 38,2; 38,0; 37,2; 35,7; 34,9; 34,3; 30,0; 29,0; 29,2; 29,2; 28,8; 28,6; 28,1; 27,6; 25,3; 25,2; 23,9; 21,1; 19,4; 18,5; 18,3; 18,1; 16,7; 16,3; 16,1; 14,6 (Figura B18, Pág. 210)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B19, Pág. 211

IV (ν Max/cm⁻¹): 3310, 2936, 2858, 1730, 1642, 1458, 1382, 632 (Figura B20, Pág. 211)

2.3.1.6 Preparação do 4-pentionato de lupeila (EL06)

A obtenção do éster **EL06** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (40,0 mg, 0,09 mmol), ácido 4-pentinoico (28,3 mg, 0,28 mmol), DMAP (2,86 mg, 0,02 mmol) e DIC (15 μ L, 0,10 mol). Tempo: 48 horas. Rendimento: 14%.



EL06

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 124-126

Fórmula molecular: C₃₅H₅₄O₂

Massa molar (g/mol): 506,8150

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 4,68 (s, 1H); 4,57 (s, 1H); 4,51 (dd, *J* = 10,0; 6,1 Hz, 1H); 2,57-2,48 (m, 4H); 2,41-2,34 (m, 1H); 1,97 (t, *J* = 2,4 Hz; 1H); 1,68 (s, 3H); 1,67-1,02 (m, 24H); 1,03 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,85 (s, 6H); 0,84 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B21, Pág. 212)

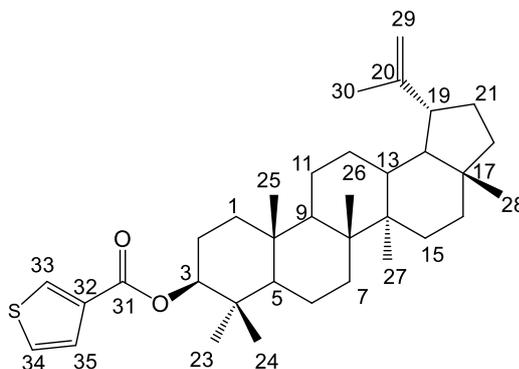
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 171,6; 151,1; 109,5; 82,8; 81,5; 69,1; 55,5; 50,4; 48,4; 48,1; 43,1; 42,9; 41,0; 40,1; 38,5; 38,2; 38,0; 37,2; 35,7; 34,3; 34,0; 29,9; 28,1; 27,6; 25,2; 23,8; 21,1; 19,4; 18,3; 18,1; 16,7; 16,3; 16,1; 14,7; 14,6 (Figura B22, Pág. 212)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B23, Pág. 213

IV (ν Max/cm⁻¹): 3308, 2936, 2860, 1732, 1640, 1458, 1380, 636 (Figura B24, Pág. 213)

2.3.1.7 Preparação do 3-tiofenoato de lupeila (EL07)

A obtenção do éster **EL07** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (40,0 mg, 0,09 mmol), ácido 3-tiofenoico (36,0 mg, 0,28 mmol), DMAP (2,9 mg, 0,02 mmol) e DIC (15 μ L, 0,10 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 71%.



EL07

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 234-240

Fórmula molecular: C₃₅H₅₂O₂S

Massa molar (g/mol): 536,8590

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,08 (s, 1H); 7,52 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H); 7,30 (m, 1H); 4,67 (m, 2H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,87(m, 1H); 1,75-1,72 (m, 2H); 1,67-1,10 (m, 21H); 1,69 (s, 3H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (s, 6H); 0,91 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B25, Pág. 214)

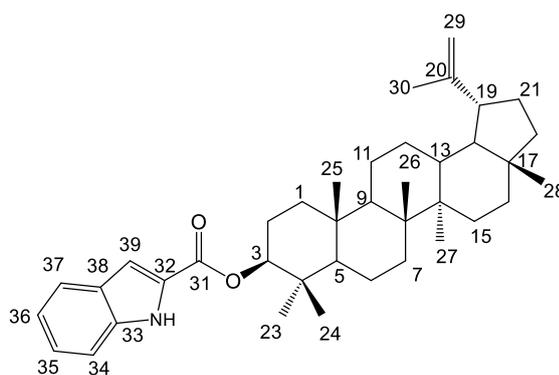
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 162,6; 151,0; 134,5; 132,3; 127,9; 125,9; 109,4; 81,3; 55,4; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,1; 38,1; 37,1; 35,6; 34,2; 29,9; 28,1; 27,5; 25,1; 23,8; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,5 (Figura B26, Pág. 214)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B27, Pág. 215

IV (ν Max/cm⁻¹): 2942, 2864, 1712, 1640, 1524, 1456, 1384, 1260, 1198, 1102, 972, 880, 748 (Figura B28, Pág. 215)

2.3.1.8 Preparação do 2-indolato de lupeila (EL08)

A obtenção do éster **EL08** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (120,1 mg; 0,28 mmol), ácido 2-indoloico (136,0 mg; 0,84 mmol), DMAP (8,60 mg; 0,07 mmol) e DIC (44 μ L; 0,28 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 38%.



EL08

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 266-269

Fórmula molecular: C₃₉H₅₅NO₂

Massa molar (g/mol): 569,8740

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,92 (s, 1H); 7,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 7,42 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); 7,31 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H); 7,20 (s, 1H); 7,15 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H); 4,72 (m, 2H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,87 (m, 1H); 1,78-1,76 (m, 3H); 1,70 (s, 3H); 1,71-1,05 (m, 20H); 1,06 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B29, Pág. 216)

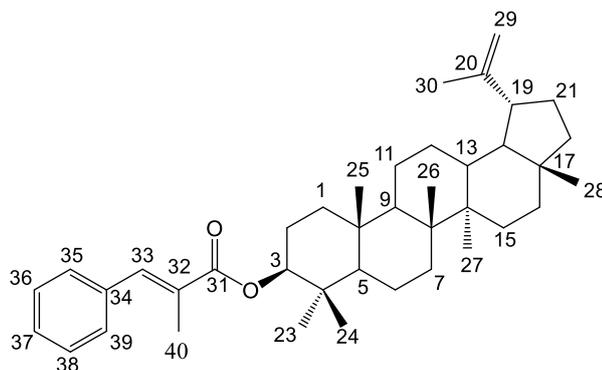
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 161,9; 151,0; 136,8; 128,0; 127,5; 125,3; 122,5; 120,8; 111,8; 109,4; 108,4; 81,8; 55,5; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,1; 37,1; 35,6; 34,2; 29,9; 28,1; 27,5; 25,1; 23,9; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,5 (Figura B30, Pág. 216)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B31, Pág. 217

IV (ν Max/cm⁻¹): 3456, 2944, 2862, 1706, 1640, 1534, 1454, 1382, 1238, 1190, 1104, 976, 882, 746 (Figura B32, Pág. 217)

2.3.1.9 Preparação do α -metilcinamato de lupeila (EL09)

A obtenção do éster **EL09** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (123,9 mg, 0,29 mmol), ácido α -metilcinâmico (136,8 mg, 0,84 mmol), DMAP (8,9 mg, 0,07 mmol) e DIC (44 μ L, 0,28 mol). Tempo: 48 horas. Rendimento: 26%.



EL09

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 209-212

Fórmula molecular: C₄₀H₅₈O₂

Massa molar (g/mol): 570,9020

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,67 (s, 1H); 7,39 (d, *J* = 4,4 Hz, 4H); 7,32 (qd, *J* = 8,7; 4,5 Hz, 1H); 4,69 (s, 1H); 4,59 (m, 2H); 2,42-2,35 (m, 1H); 2,11 (d, *J* = 1,4; 3H); 1,98-1,87 (m, 2H); 1,76-1,72 (m, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,67-1,07 (m, 19H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B33, Pág. 218)

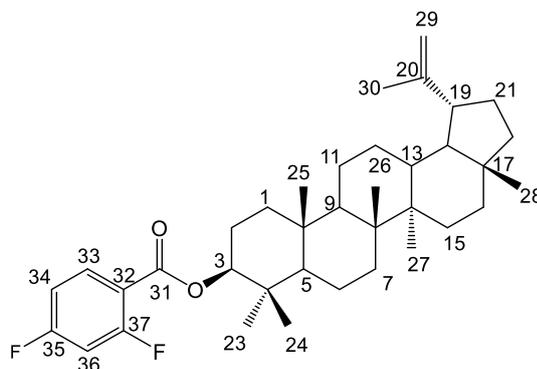
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 168,6; 151,1; 138,6; 136,2; 129,8; 129,3; 128,5; 128,3; 109,5; 81,7; 55,6; 50,5; 48,4; 48,2; 43,2; 43,0; 41,0; 40,2; 38,5; 38,3; 38,2; 37,3; 35,7; 34,4; 30,0; 28,3; 27,6; 25,3; 23,9; 21,1; 19,4; 18,4; 18,2; 16,9; 16,3; 16,1; 14,7; 14,2 (Figura B34, Pág. 218)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B35, Pág. 219

IV (ν Max/cm⁻¹): 2940, 2858, 1704, 1636, 1450, 1384, 1258, 1118, 970, 880, 764, 694 (Figura B36, Pág. 219)

2.3.1.10 Preparação do 2,4-difluorobenzoato de lupeila (EL10)

A obtenção do éster **EL10** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (50,8 mg, 0,12 mmol), ácido 2,4-difluorobenzoico (56,5 mg, 0,36 mmol), DMAP (3,6 mg, 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 79%.



EL10

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 238-239

Fórmula molecular: C₃₇H₅₂F₂O₂

Massa molar (g/mol): 566,8178

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,97 (q, *J* = 8,3 Hz, 1H); 6,92 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H); 6,86 (t, *J* = 9,8, 1H); 4,71 (m, 2H); 4,57 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,73 (m, 4H); 1,69 (s, 3H); 1,67-1,08 (m, 20H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (s, 6H); 0,93 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B37, Pág. 220)

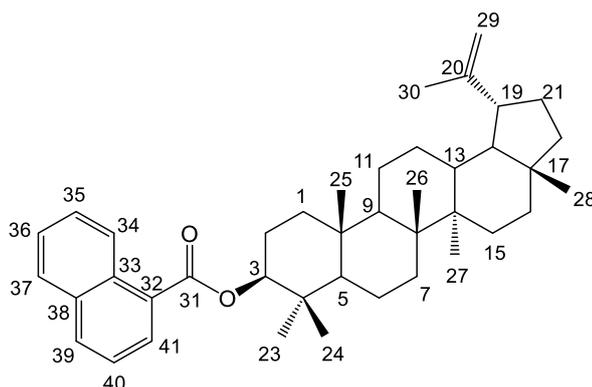
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 163,5; 151,0; 133,9; 133,9; 111,6; 111,6; 111,4; 111,4; 109,4; 105,5; 105,2; 104,9; 82,6; 55,4; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,1; 37,1; 35,6; 34,2; 29,8; 28,0; 27,5; 25,1; 23,7; 21,0; 19,3; 18,3; 18,0; 16,7; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B38, Pág. 220)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B39, Pág. 221

IV (ν Max/cm⁻¹): 3068, 2942, 2862, 1712, 1612, 1456, 1384, 1288, 1124, 970, 882, 768 (Figura B40, Pág. 221)

2.3.1.11 Preparação do 1-naftoato de lupeila (EL11)

A obtenção do éster **EL11** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (51,3 mg, 0,12 mmol), ácido naftoico (64,2 mg, 0,37 mmol), DMAP (3,67 mg; 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 48 horas. Rendimento: 30%.



EL11

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 214-216

Fórmula molecular: C₄₁H₅₆O₂

Massa molar (g/mol): 580,8970

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H); 8,17 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H); 8,00 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,87 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,60 (m, 1H); 7,51 (m, 2H); 4,85 (dd, $J = 11,4; 4,4$ Hz, 1H); 4,70 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,43-2,36 (m, 1H); 1,98-1,74 (m, 5H); 1,57-1,10 (m, 19H); 1,70 (s, 3H); 1,06 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,98 (s, 3H); 0,92 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B41, Pág. 222)

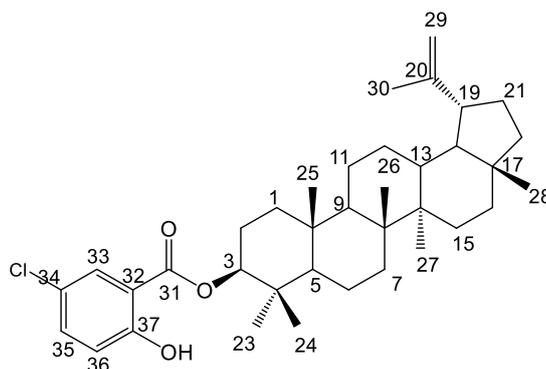
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 167,3; 151,0; 133,9; 133,1; 131,5; 129,8; 128,5; 128,0; 127,6; 126,1; 125,9; 124,5; 109,4; 81,8; 55,6; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,5; 38,2; 38,1; 37,2; 35,6; 34,2; 29,9; 28,2; 27,5; 25,1; 23,9; 21,0; 19,3; 18,3; 18,0; 17,0; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B42, Pág. 222)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B43, Pág. 223

IV (ν Max/cm⁻¹): 3066, 2940, 2868, 1710, 1640, 1454, 1380, 1278, 1246, 1196, 1134, 916, 882, 778 (Figura B44, Pág. 223)

2.3.1.12 Preparação do 5-clorosalicilato de lupeila (EL12)

A obtenção do éster **EL12** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (51,0 mg, 0,12 mmol), ácido 5-clorosalicílico (61,0 mg, 0,35 mmol), DMAP (3,65 mg; 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 72 horas. Rendimento: 15%.



EL12

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão ($^{\circ}$ C): 260-261

Fórmula molecular: $C_{37}H_{53}ClO_3$

Massa molar (g/mol): 581,2780

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 10,89 (s, 1H); 7,74 (s, 1H); 7,38 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); 6,93 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); 4,76 (dd, $J = 9,3; 6,4$ Hz; 1H); 4,69 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,95-1,74 (m, 5H); 1,58-1,19 (m, 19H); 1,69 (s, 3H); 1,06 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,92 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B45, Pág. 224)

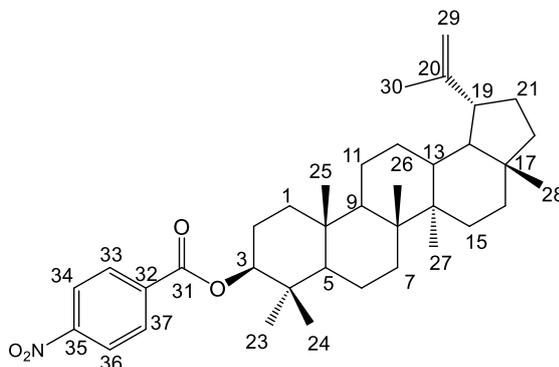
RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 169,0; 160,3; 151,0; 135,4; 129,0; 123,8; 119,2; 114,0; 109,4; 83,1; 55,5; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,0; 37,1; 35,6; 34,2; 29,9; 28,1; 27,5; 25,1; 23,7; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,5 (Figura B46, Pág. 224)

DEPT-135 (100 MHz, $CDCl_3$): Figura B47, Pág. 225

IV (ν Max/ cm^{-1}): 2942, 2860, 1670, 1610, 1472, 1358, 1288, 1206, 1104, 968, 884, 724 (Figura B48, Pág. 225)

2.3.1.13 Preparação do 4-nitrobenzoato de lupeila (EL13)

A obtenção do éster **EL13** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (50,8 mg, 0,12 mmol), ácido 4-nitrobenzoico (60,7 mg, 0,36 mmol), DMAP (3,63 mg, 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 69%.



EL13

Aspecto: sólido amarelado

Faixa de fusão (°C): 253-256

Fórmula molecular: C₃₇H₅₃NO₄

Massa molar (g/mol): 575,8340

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,28 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H); 8,20 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H); 4,76 (m, 1H); 4,70 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,74 (m, 5H); 1,69 (s, 3H); 1,68-1,05 (m, 19H); 1,06 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B49, Pág. 226)

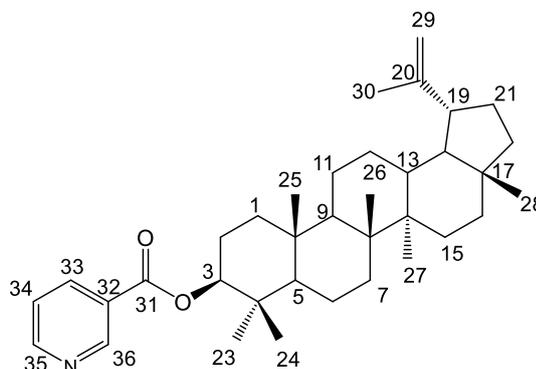
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 164,4; 151,0; 150,4; 136,4; 130,6; 123,5; 109,4; 83,0; 55,4; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,0; 37,1; 35,6; 34,2; 29,8; 28,2; 27,5; 25,1; 23,7; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,5 (Figura B50, Pág. 226)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): (Figura B51, Pág. 227)

IV (ν Max/cm⁻¹): 3070, 2938, 2868, 1720, 1640, 1524, 1454, 1382, 1280, 1118, 880 (Figura B52, Pág. 227)

2.3.1.14 Preparação do nicotinato de lupeila (EL14)

A obtenção do éster **EL14** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (120,1 mg, 0,28 mmol), ácido nicotínico (183,86 mg, 1,49 mmol), DMAP (8,59 mg, 0,07 mmol) e DIC (44 μ L; 0,28 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 83%.



EL14

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 259-262

Fórmula molecular: C₃₆H₅₃NO₂

Massa molar (g/mol): 531,8250

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 9,23 (s, 1H); 8,77 (m, 1H); 8,33 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,43 (m, 1H); 4,76 (m, 1H); 4,70 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,35 (m, 1H); 2,04-1,72 (m, 9H); 1,69 (s, 3H); 1,54-1,19 (m, 15H); 1,06 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B53, Pág. 228)

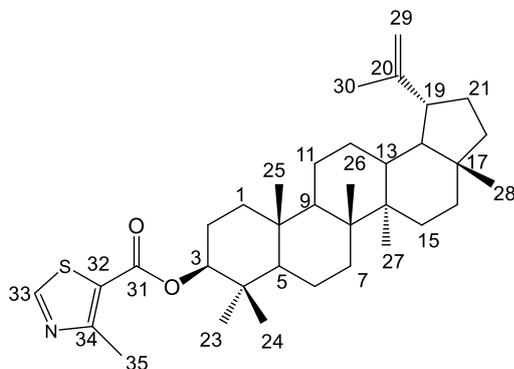
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 164,8; 152,7; 151,0; 150,4; 137,6; 127,1; 123,5; 109,4; 82,6; 55,5; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,1; 37,1; 35,6; 34,2; 29,9; 28,2; 27,5; 25,1; 23,8; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B54, Pág. 228)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): (Figura B55, Pág. 229)

IV (ν Max/cm⁻¹): 2938, 2868, 1716, 1640, 1454, 1382, 1284, 1196, 1122, 968, 882, 740 (Figura B56, Pág. 229)

2.3.1.15 Preparação do 4-metiltiazol-5-ato de lupeila (EL15)

A obtenção do éster **EL15** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**, Quantidades utilizadas: lupeol (41,6 mg, 0,10 mmol), ácido 4-metiltiazol-5-oico (40,7 mg, 0,28 mmol), DMAP (2,98 mg, 0,02 mmol) e DIC (15 μ L; 0,10 mol). Tempo: 72 horas. Rendimento: 8%.



EL15

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 219-222

Fórmula molecular: C₃₅H₅₃NO₂S

Massa molar (g/mol): 551,8740

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,76 (s, 1H); 4,67 (m, 2H); 4,57 (s, 1H); 2,78 (s, 3H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,73 (m, 5H); 1,59 (s, 3H); 1,53-1,07 (m, 19H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,94 (s, 3H); 0,92 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B57, Pág. 230)

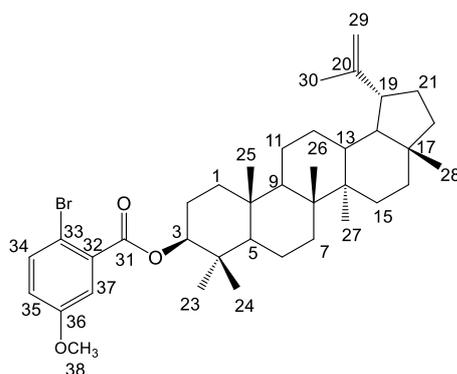
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 162,0; 160,1; 155,1; 154,8; 151,0; 109,4; 82,7; 55,4; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,1; 38,1; 37,1; 35,6; 34,2; 29,8; 28,1; 27,5; 25,1; 23,9; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 17,4; 16,8; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B58, Pág. 230)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B59, Pág. 231

IV (ν Max/cm⁻¹): 2938, 2856, 1716, 1638, 1458, 1374, 1276, 1228, 1086, 966, 878, 758 (Figura B60, Pág. 231)

2.3.1.16 Preparação do 2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila (EL16)

A obtenção do éster **EL16** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (50,5 mg, 0,12 mmol), ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico (81,3 mg, 0,35 mmol), DMAP (3,61 mg, 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 76%.



EL16

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 190-191

Fórmula molecular: C₃₈H₅₅BrO₃

Massa molar (g/mol): 639,7590

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,51 (d, J = 8,8 Hz, 1H); 7,29 (d, J = 3,1 Hz, 1H); 6,87 (dd, J = 8,8; 3,1 Hz, 1H); 4,75 (dd, J = 11,2; 4,9 Hz, 1H); 4,69 (s, 1H); 4,57 (s, 1H); 3,81 (s, 3H); 2,42-2,35 (m, 1H); 1,98-1,71 (m, 6H); 1,69 (s, 3H); 1,67-1,07 (m, 18H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (s, 6H); 0,94 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,79 (s, 3H) (Figura B61, Pág. 232)

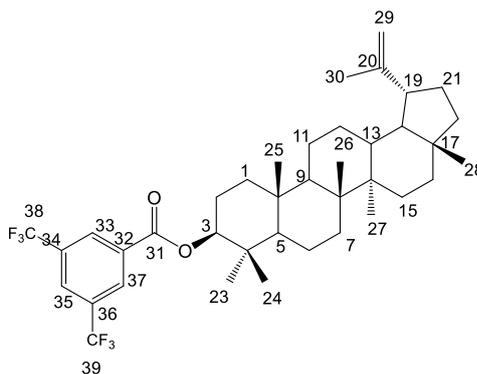
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 165,9; 158,5; 150,9; 135,0; 133,7; 118,4; 116,4; 111,7; 109,4; 83,0; 55,6; 55,5; 50,3; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,1; 38,0; 37,1; 35,6; 34,2; 29,8; 28,2; 27,4; 25,1; 23,7; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,9; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B62, Pág. 232)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B63, Pág. 233

IV (ν Max/cm⁻¹): 3068, 2940, 2872, 1726, 1698, 1464, 1386, 1284, 1140, 1110, 966, 886, 774 (Figura B64, Pág. 233)

2.3.1.17 Preparação do 3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila (EL17)

A obtenção do éster **EL17** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (53,0 mg, 0,12 mmol), ácido 3,5-bis(trifluorometil)benzoico (94,0 mg, 0,36 mmol), DMAP (3,79 mg, 0,03 mmol) e DIC (18 μ L; 0,12 mol). Tempo: 24 horas. Rendimento: 61%.



EL17

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 246-248

Fórmula molecular: C₃₉H₅₂F₆O₂

Massa molar (g/mol): 666,8334

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 8,46 (s, 2H); 8,05 (s, 1H); 4,80 (m, 1H); 4,70 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,42-2,36 (m, 1H); 1,98-1,74 (m, 5H); 1,70 (s, 3H); 1,70-1,05 (m, 19H); 1,06 (s, 3H); 1,01 (s, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,92 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B65, Pág. 234)

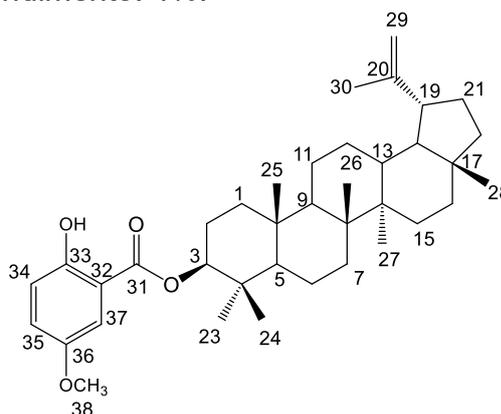
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 163,6; 151,0; 133,2; 132,7; 132,3; 132,0; 131,7; 129,6; 126,2; 124,3; 121,6; 109,4; 83,4; 55,4; 50,4; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,1; 37,2; 35,6; 34,2; 29,9; 28,2; 27,5; 25,1; 23,8; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,6 (Figura B66, Pág. 234)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B67, Pág. 235

IV (ν Max/cm⁻¹): 3078, 2948, 2870, 1730, 1624, 1458, 1386, 1278, 1176, 1148, 964, 882, 768 (Figura B68, Pág. 235)

2.3.1.18 Preparação do 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (EL18)

A obtenção do éster **EL18** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (40,0 mg, 0,09 mmol), ácido 2-hidroxi-5-metoxibenzoico (47,3 mg, 0,28 mmol), DMAP (2,86 mg, 0,02 mmol) e DIC (15 μ L; 0,10 mol). Tempo: 72 horas. Rendimento: 4%.



EL18

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 240-244

Fórmula molecular: C₃₈H₅₆O₄

Massa molar (g/mol): 576,8620

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 10,51 (s, 1H); 7,30 (s, 1H); 7,06 (m, 1H); 6,93 (m, 1H); 4,72 (m, 2H); 4,57 (s, 1H); 3,78 (s, 3H); 2,44-2,33 (m, 1H); 1,88-1,69 (m, 6H); 1,69 (s, 3H); 1,56-1,05 (m, 18H); 1,05 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,96 (s, 3H); 0,91 (s, 6H); 0,79 (s, 3H) (Figura B69, Pág. 236)

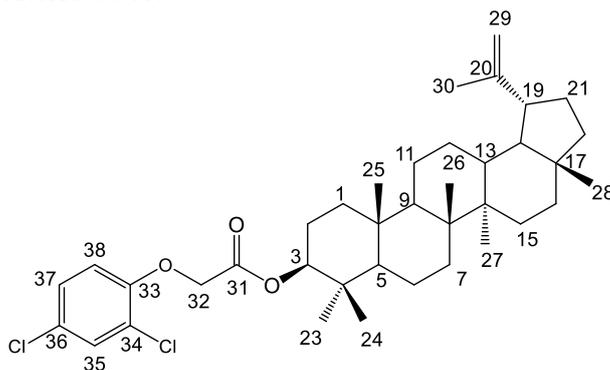
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 169,6; 156,1; 151,9; 151,0; 123,1; 118,4; 112,5; 109,4; 82,5; 55,8; 55,4; 50,35; 48,3; 48,0; 43,0; 42,9; 40,9; 40,0; 38,4; 38,2; 38,0; 37,1; 35,6; 34,2; 29,8; 28,2; 27,4; 25,1; 23,7; 21,0; 19,3; 18,2; 18,0; 16,8; 16,2; 16,0; 14,5 (Figura B70, Pág. 236)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B71, Pág. 237

IV (ν Max/cm⁻¹): 2938, 2864, 1676, 1618, 1456, 1380, 1282, 1230, 974, 890, 760 (Figura B72, Pág. 237)

2.3.1.19 Preparação do 2,4-diclorofenoxiacetato de lupeila (EL19)

A obtenção do éster **EL19** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (40,0 mg, 0,09 mmol), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (64,2 mg, 0,29 mmol), DMAP (2,86 mg, 0,02 mmol) e DIC (15 μ L; 0,10 mol). Tempo: 48 horas. Rendimento: 36%.



EL19

Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão (°C): 210-211

Fórmula molecular: C₃₈H₅₄Cl₂O₃

Massa molar (g/mol): 629,7470

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 7,39 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H); 7,16 (dd, *J* = 8,8; 2,5 Hz, 1H); 6,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 4,68 (m, 3H); 4,57 (m, 2H); 2,41-2,34 (m, 1H); 1,97-1,86 (m, 1H); 1,68 (s, 3H); 1,68-1,01 (m, 23H); 1,02 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,84 (s, 3H); 0,79 (s, 3H); 0,78 (s, 3H); 0,77 (s, 3H) (Figura B73, Pág. 238)

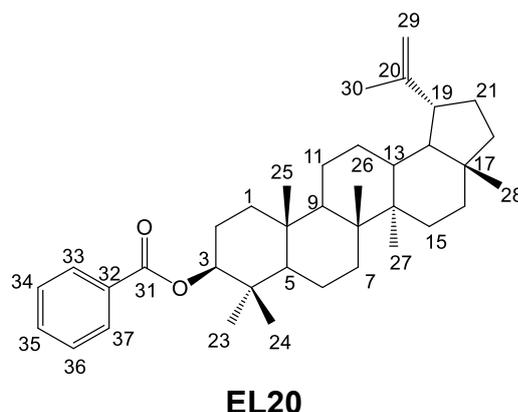
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ /ppm: 167,9; 152,4; 150,9; 130,3; 127,5; 126,8; 124,1; 114,2; 109,4; 82,9; 66,4; 55,3; 50,3; 48,3; 48,0; 43,0; 42,8; 40,8; 40,0; 38,3; 38,0; 37,8; 37,0; 35,6; 34,2; 29,8; 27,9; 27,4; 25,1; 23,6; 20,9; 19,3; 18,2; 18,0; 16,3; 16,1; 16,0; 14,5 (Figura B74, Pág. 238)

DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃): Figura B75, Pág. 239

IV (ν Max/cm⁻¹): 2946, 2862, 1748, 1640, 1478, 1288, 1206, 1382, 1080, 964, 880, 758 (Figura B76, Pág. 239)

2.3.1.20 Preparação do benzoato de lupeila (EL20)

A obtenção do éster **EL20** foi realizada seguindo o procedimento geral **2.3.1**. Quantidades utilizadas: lupeol (200,0 mg, 0,47 mmol), ácido benzoico (171 mg, 1,40 mmol), DMAP (14,31 mg, 0,12 mmol) e DIC (73 μ L; 0,47 mol). Tempo: 48 horas. Rendimento: 25%.



Aspecto: sólido branco

Faixa de fusão ($^{\circ}$ C): 242-245

Fórmula molecular: $C_{37}H_{54}O_2$

Massa molar (g/mol): 530,8370

RMN de 1H (600 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 8,04 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,54 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H); 7,43 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H); 4,72 (dd; $J = 11,4; 5,0$ Hz, 1H); 4,70 (s, 1H); 4,58 (s, 1H); 2,41-2,36 (m, 1H); 1,96-1,89 (m, 1H); 1,80-1,71 (m, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,67-1,08 (m,H); 1,05 (s, 3H); 1,00 (s, 3H); 0,97 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,80 (s, 3H) (Figura B77, Pág. 240)

RMN de ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$) δ /ppm: 166,31; 150,98; 132,69; 131,02; 129,53; 128,31; 109,37; 81,64; 55,46; 50,36; 48,30; 48,02; 43,01; 42,86; 40,89; 40,01; 38,41; 38,21; 38,06; 37,15; 35,59; 34,23; 29,85; 28,13; 27,46; 25,12; 23,77; 20,98; 19,30; 18,24; 18,02; 16,80; 16,21; 16,01; 14,56 (Figura B78, Pág. 240)

DEPT-135 (100 MHz, $CDCl_3$): Figura B79, Pág. 241

IV (ν Max/ cm^{-1}): 3070, 2942, 2862, 1712, 1452, 1384, 1280, 1110, 970, 708 (Figura B80, Pág. 241)

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Caracterização dos ésteres sintetizados

No preparo dos ésteres derivados do lupeol, foram empregados o catalisador DMAP juntamente com o agente de acoplamento DIC. A reação ocorreu a temperatura ambiente, e o diclorometano foi utilizado como solvente. A partir da disponibilidade, diferentes ácidos carboxílicos foram utilizados para a obtenção dos correspondentes ésteres derivados do lupeol (**EL01-EL20**), sendo os ácidos, respectivamente: ácido 4-bromobenzoico, ácido 2-bromobenzoico, naproxeno, ácido 3-iodobenzoico, ácido 10-undecinoico, ácido 4-pentinoico, ácido tiofeno-3-carboxílico, ácido indol-2-carboxílico, ácido α -metilcinâmico, ácido 2,4-difluorobenzoico, ácido 1-naftoico, ácido 5-clorosalicílico, ácido 4-nitrobenzoico, ácido nicotínico, ácido 4-metiltiazol-5-oico, ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico, ácido 3,5-bis(trifluorometil)benzoico, ácido 2-hidroxi-5-metoxibenzoico, ácido 2,4-diclorofenoxiacético e ácido benzoico (Figura 25, Pág. 129). Os produtos desejados foram obtidos com rendimentos que variaram entre 4 e 83%.

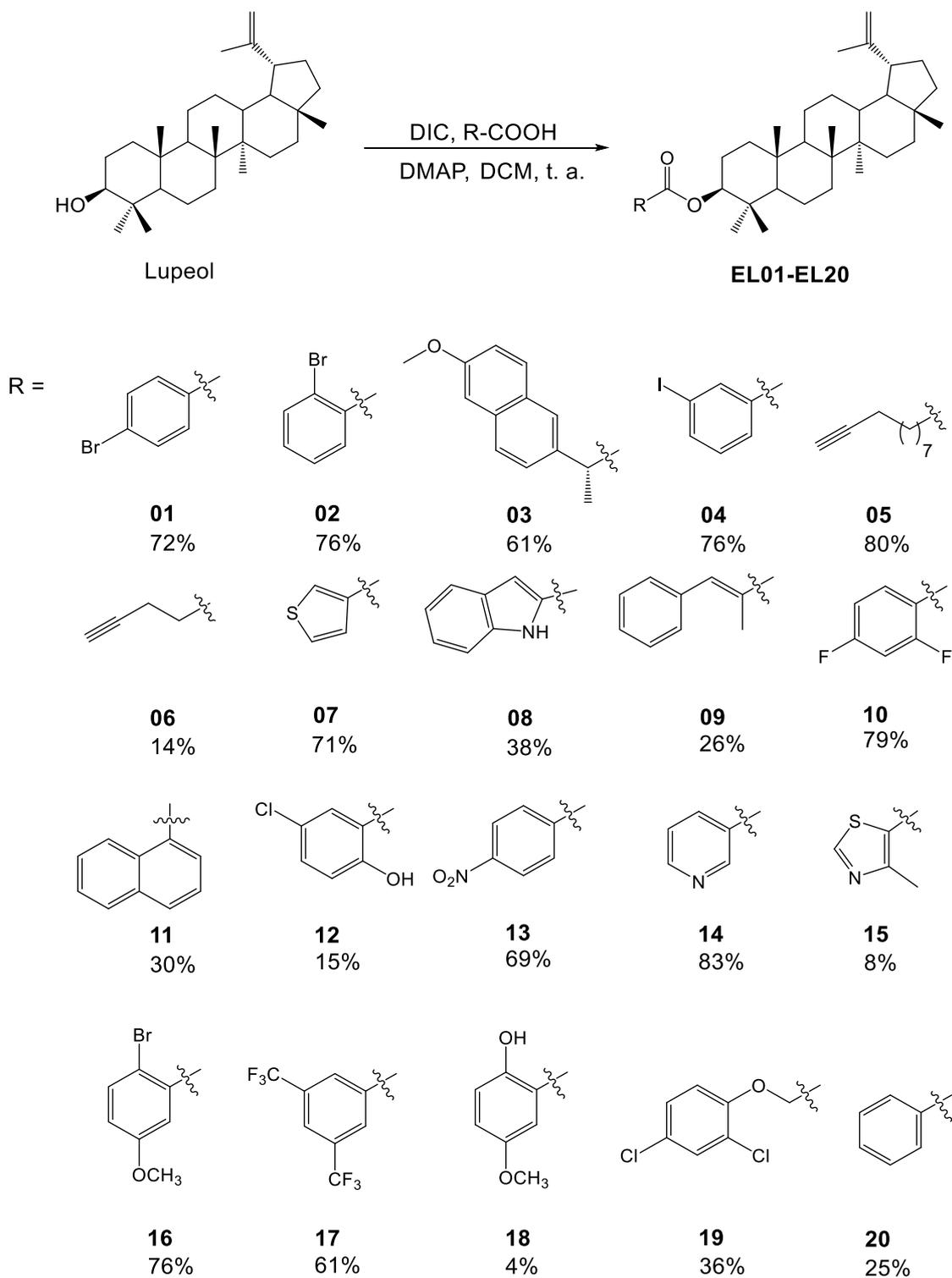


Figura 25: Esterificação de Steglich para obtenção de derivados do lupeol.

O mecanismo proposto para a esterificação de Steglich encontra-se na Figura 26. É possível observar no mecanismo que, na primeira etapa, ocorre uma reação ácido-base entre o ácido carboxílico e o DMAP, resultando na formação do ânion carboxilato. Esse ânion, em uma adição nucleofílica, reage com o DIC, formando o intermediário I (O-acilureia). Em seguida, esse intermediário, em uma adição nucleofílica, reage com o DMAP, formando um intermediário tetraédrico II, seguido da formação de uma amida intermediária III, juntamente com a eliminação do derivado de ureia. Essa amida reage com o álcool em uma adição nucleofílica, formando o éster e regenerando o DMAP (VALIULIN, 2020; HASSNER e ALEXANIAN, 1978; NEISES e STEGLICH, 1978).

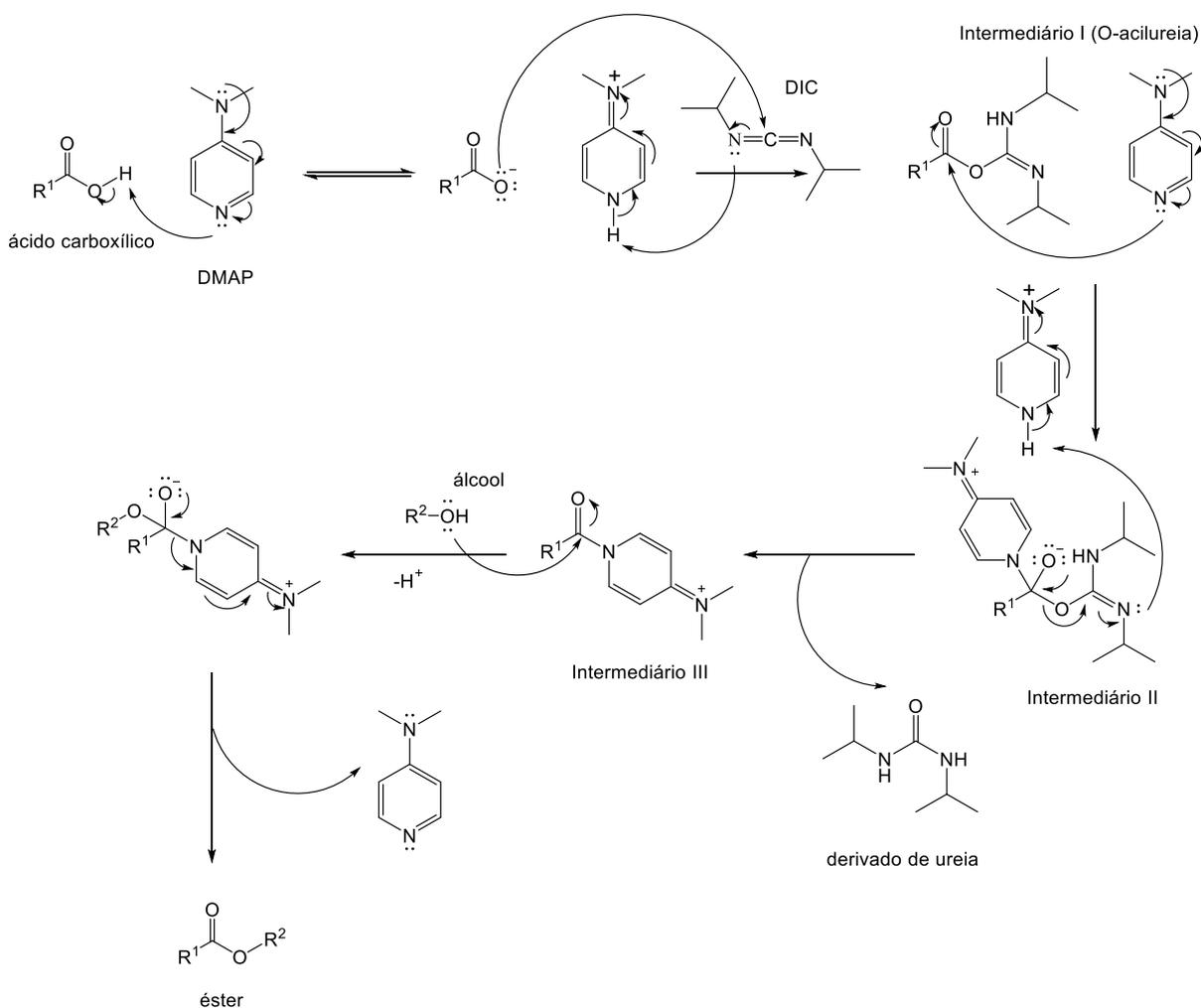


Figura 26: Mecanismo proposto para a esterificação de Steglich.

A presença do DIC é essencial para a ocorrência da reação, enquanto o DMAP contribui significativamente para o aumento do rendimento, pois promove um ataque nucleofílico à O-acilureia, inibindo assim a formação do composto *N*-acilureia. Esse

produto indesejado, *N*-acilureia, é um composto não reativo formado pela transferência acetílica devido à instabilidade da *O*-acilureia. Esse rearranjo lento ocorre na ausência do DMAP em solução (Figura 27). Desse modo, o DMAP, sendo um nucleófilo mais forte em comparação com o álcool (lupeol), reage com a *O*-acilureia para obter uma amida mais reativa, que não gera subproduto e reage rapidamente com o álcool, resultando no éster desejado (MONTALBETTI e FALQUE, 2005).

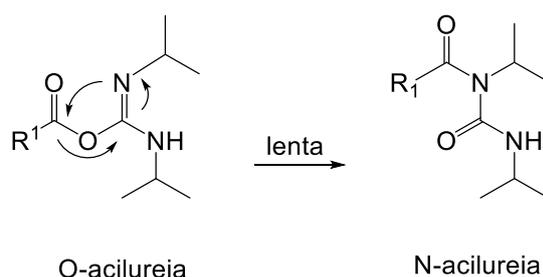


Figura 27: Esquema da reação secundária ocorrida na esterificação de Steglich a partir do *O*-acilureia, ocorrendo um rearranjo para a formação da *N*-acilureia.

Foram sintetizados 20 ésteres derivados do lupeol (**EL01-EL20**), sendo 17 inéditos e três conhecidos na literatura (**EL13**, **EL14** e **EL20**) (REDDY, et al., 2009 e KIM, et al., 1998). Observaram-se rendimentos variáveis devido ao fato de os ácidos carboxílicos apresentarem diferentes reatividades com relação ao grupo carbonila. Os efeitos eletrônicos devido à presença de grupos insaturados, como grupos arila ligados diretamente ao grupo carbonila alteram a reatividade. A natureza desse efeito está relacionada à doação de densidade eletrônica do anel aromático para o grupo carbonila, resultando na atenuação da deficiência eletrônica do carbono da carbonila, de modo a reduzir a reatividade.

Outro parâmetro interessante relacionado à eletrofilicidade da carbonila diz respeito aos efeitos dos grupos substituintes. A presença de grupos doadores de elétrons, como, por exemplo, em um anel aromático substituinte da carbonila, pode diminuir a eletrofilicidade da carbonila, o que desfavorece a reatividade. Portanto, a alteração de substituintes no sistema aromático é um dos fatores que contribuíram para a variação dos rendimentos nas esterificações. Por exemplo, os ésteres **EL12** e **EL18**, que possuem o grupo doador de elétrons -OH na posição *orto*, apresentaram rendimentos mais baixos, sendo de 15 e 4%, respectivamente.

Além disso, outro fator importante para os rendimentos variáveis é com relação à solubilidade dos ácidos empregados. Os compostos com baixa solubilidade em diclorometano apresentaram menores rendimentos.

Foi possível comprovar a formação dos derivados e caracterizá-los a partir das análises dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , juntamente com o espectro no IV, Apêndice B, Pág. 202. O éster **EL12** (Figura 28) foi escolhido de modo arbitrário para apresentar a caracterização de uma maneira mais completa. Os outros ésteres apresentam a caracterização de modo semelhante e os dados de RMN e IV estão apresentados na parte experimental.

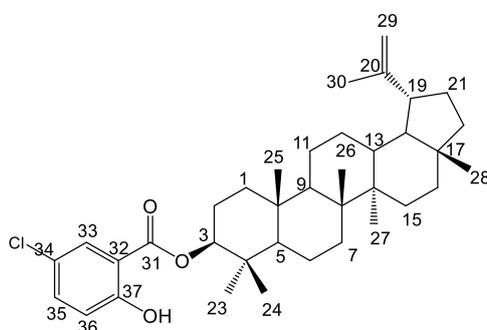


Figura 28: Estrutura do **EL12**.

Na expansão do espectro de RMN de ^1H de **EL12** foi possível observar sete simpletos, relativos a sete grupos metila: δ_{H} 0,80; 0,91; 0,92; 0,96; 1,00; 1,06 e 1,69. Foi possível observar também dois simpletos relativos aos hidrogênios vinílicos em δ_{H} 4,58 e 4,69 (Figura 29).

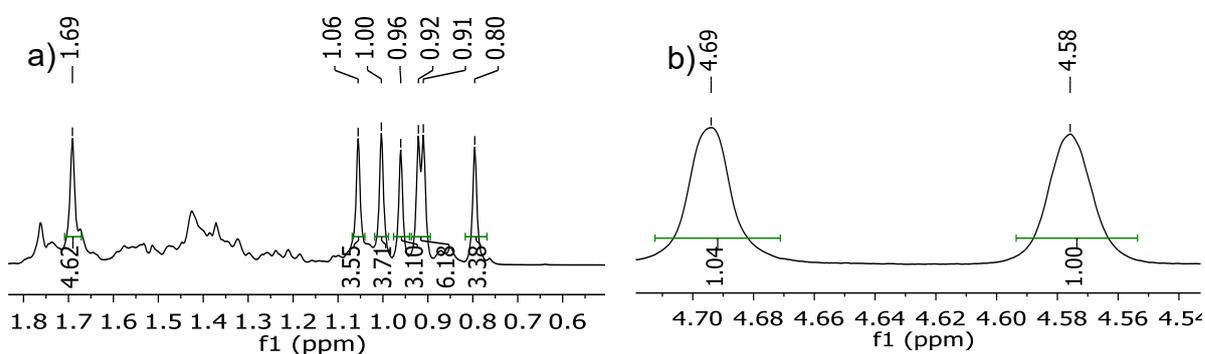


Figura 29. Expansões do espectro de RMN de ^1H de **EL12** a) δ_{H} 0,60-1,80 b) δ_{H} 4,56-4,70.

No espectro de RMN de ^{13}C de **EL12** foi possível observar 30 sinais referentes ao esqueleto lupano. Os sinais em δ_{C} 109,4 e δ_{C} 151,0 estão condizentes com a presença de carbonos vinílicos, C-29 e C-20, respectivamente (Figura 30).

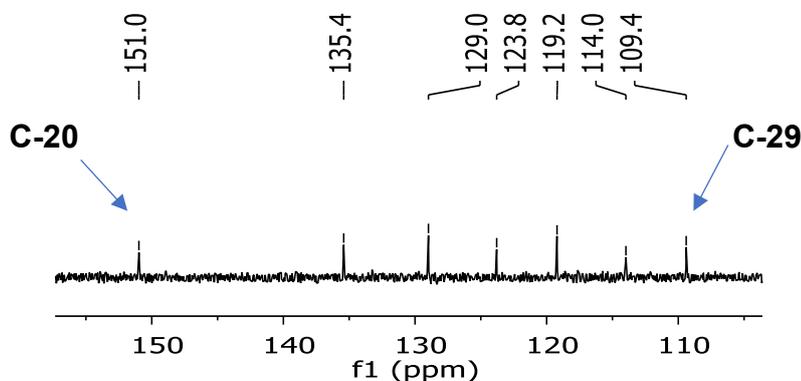


Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de **EL12** (δ_{H} 109-151).

A partir dessa análise, foi possível observar que não houve modificações significativas nos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **EL12** em relação à estrutura do esqueleto lupano, em comparação com o precursor lupeol (Figura B81, Pág. 242; Figura B82, Pág. 242; Figura B83, Pág. 243). Essa análise foi consistente em todos os outros ésteres derivados do lupeol obtidos.

Uma das principais evidências da formação do éster **EL12**, com relação ao espectro de RMN de ^1H , foi a mudança do valor de deslocamento químico do H-3. Para o lupeol, observou-se um duplo duplete em δ_{H} 3,19 (dd, $J = 11,1; 4,8$ Hz, 1H) relacionado ao sinal de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado. Para **EL12** houve um aumento no valor do deslocamento químico de H-3 quando o valor for comparado ao lupeol. Neste caso, este sinal apareceu em δ_{H} 4,76 (dd, $J = 9,3; 6,4$ Hz, 1H) (Figura 31, Pág. 134). Isso ocorre devido ao efeito da ressonância entre os átomos O-C-O do grupo éster, o que faz com que o oxigênio ligado ao C-3 adquira carga parcial positiva, desblindando assim o hidrogênio H-3. Essa observação de deslocamento químico maior foi possível, também, ser observada para os outros ésteres. Contudo, alguns compostos apresentaram o sinal referente ao H-3 sobreposto com sinal dos hidrogênios vinílicos. Os valores dos deslocamentos químicos do H-3 de todos os ésteres derivados do lupeol estão apresentados na Tabela 22 (Pág. 135).

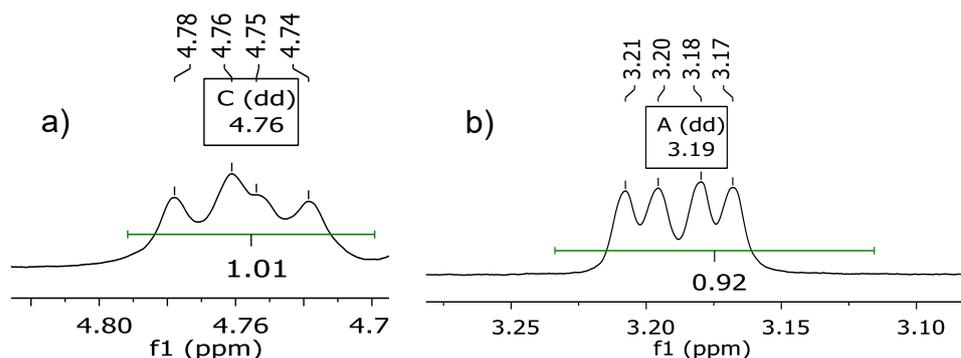


Figura 31. Expansões do espectro de RMN de ^1H a) **EL12** δ_{H} 4,70-4,80 b) **lupeol** δ_{H} 3,10-3,25.

Em relação ao espectro de RMN de ^{13}C , uma evidência de formação do **EL12** foi a diferença do valor de deslocamento químico de C-3. Para o lupeol, o carbono hidroxilado C-3 apresentou o sinal em δ_{C} 79,1, e para o éster, o valor do deslocamento químico do C-3 é maior, em δ_{C} 83,1. Isso também ocorre devido ao efeito da ressonância entre os átomos O-C-O do grupo éster. Uma outra evidência foi o aparecimento de um sinal correspondente ao carbono carbonílico de éster em δ_{C} 169,0 (Figura 32).

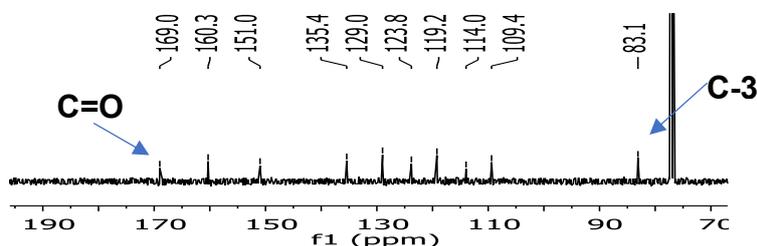


Figura 32. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de **EL12** (δ_{H} 70-190).

Também foi possível observar essas evidências para os outros derivados do lupeol obtidos. Os valores dos deslocamentos químicos do C-3 e C=O de todos os ésteres estão apresentados na Tabela 22 (Pág. 135).

Tabela 22: Dados de deslocamentos químicos de H-3, C-3 e C=O para os ésteres derivados do lupeol

Éster	δ_H (ppm) H-3	Multiplicidade H-3	δ_C (ppm) C-3	δ_C (ppm) C=O
EL01	4,71	Multipleteo	82,2	165,7
EL02	4,69	dd, $J = 11,3; 4,9$ Hz	83,0	166,3
EL03	4,44	dd, $J = 10,4; 5,7$ Hz	81,3	174,4
EL04	4,70	Multipleteo	82,3	164,9
EL05	4,47	dd, $J = 10,7; 5,5$ Hz	80,8	173,8
EL06	4,51	dd, $J = 10,0; 6,1$ Hz	81,5	171,6
EL07	4,67	Multipleteo	81,3	162,6
EL08	4,72	Multipleteo	81,8	161,9
EL09	4,59	Multipleteo	81,7	168,6
EL10	4,71	Multipleteo	82,6	163,5
EL11	4,85	dd, $J = 11,4; 4,4$ Hz	81,8	167,3
EL12	4,76	dd, $J = 9,3; 6,4$ Hz	83,1	169,0
EL13	4,76	Multipleteo	83,0	164,4
EL14	4,76	Multipleteo	82,6	164,8
EL15	4,67	Multipleteo	82,7	162,0
EL16	4,75	dd, $J = 11,2; 4,9$ Hz	83,0	165,9
EL17	4,80	Multipleteo	83,4	163,6
EL18	4,72	Multipleteo	82,5	167,7
EL19	4,68	Multipleteo	82,9	167,9
EL20	4,72	dd, $J = 11,4; 5,0$ Hz	81,6	166,3

Além disso, é relevante mencionar que nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **EL12** foi possível observar os sinais referentes à estrutura oriunda do ácido carboxílico correspondente, o ácido 5-clorosalicílico.

No espectro de RMN de ^1H de **EL12** foi possível observar três sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático, dois dupletos em δ_H 6,93 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H) e δ_H 7,38 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), e um simpleto em δ_H 7,74 (s, 1H). Foi possível observar também um sinal do hidrogênio do grupo fenólico em δ_H 10,89 (s, 1H), Figura 33 (Pág. 136).

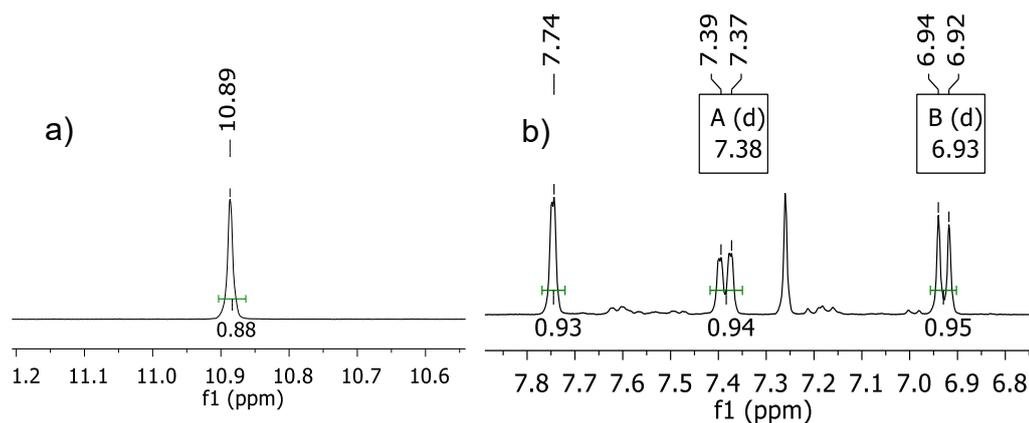


Figura 33. Expansões do espectro de RMN de ^1H de **EL12** a) δ_{H} 10,60-11,10 b) δ_{H} 6,80-7,80.

Além disso, é relevante mencionar que nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de todos os ésteres derivados de lupeol, foi possível observar os sinais referentes à estrutura oriunda do ácido carboxílico correspondente, o que evidencia que essa parte do reagente permaneceu inalterada. Nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , esses principais sinais foram observados na região aromática δ_{H} (6,5-8,0 ppm) e δ_{C} (110-175 ppm), exceto para os ésteres **EL05** e **EL06**.

No espectro no IV do **EL12** foram visualizadas as bandas características de éster, sendo uma banda forte referente ao estiramento da ligação da carbonila conjugada (1670 cm^{-1}) e outras duas relacionadas ao estiramento da ligação C-CO-O (1288 cm^{-1}) e da ligação O-C-C (1206 cm^{-1}) (Figura 34, Pág. 137).

Foi possível observar nos espectros no IV de todos os derivados do lupeol (**EL01-EL20**), Apêndice B (Pág. 203), essas bandas características de um éster, C=O ($1748\text{-}1670\text{ cm}^{-1}$); C-CO-O ($1292\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$) e O-C-C ($1184\text{-}1102\text{ cm}^{-1}$) (BARBOSA, 2013).

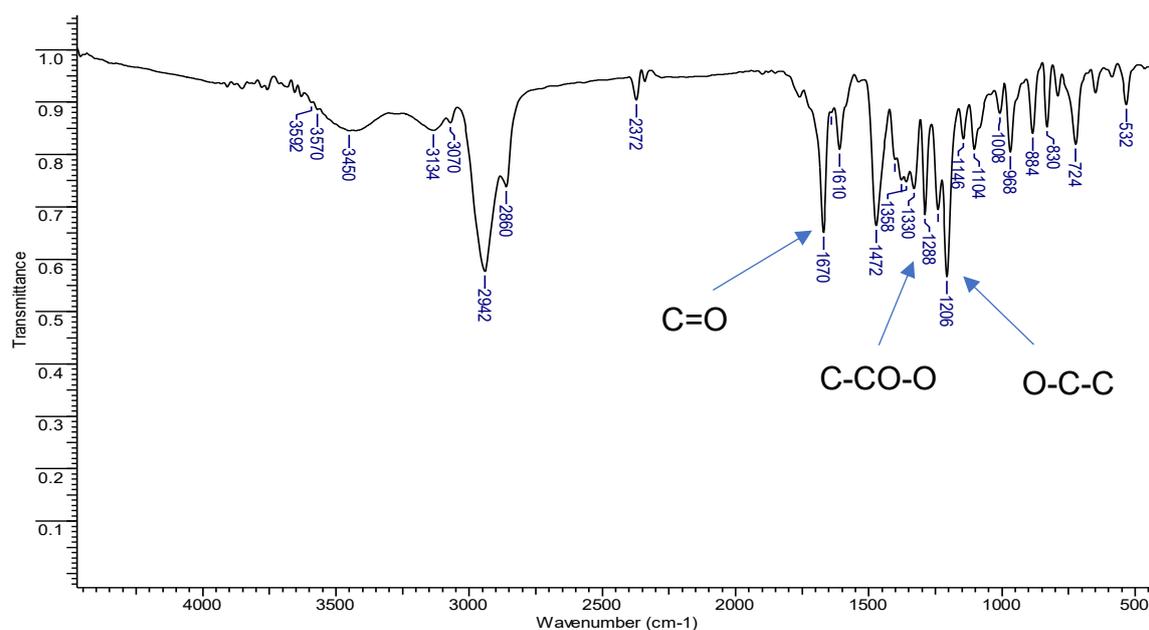


Figura 34: Espectro na região do IV de **EL12** (KBr).

Foi possível, também, indicar como evidência de formação dos ésteres, a ausência da banda larga e intensa em 3322 cm⁻¹, que indica a presença de uma função álcool. Essa banda é característica do precursor lupeol que apresenta a hidroxila no carbono 3.

Além disso, foram identificadas as bandas características de ligações C-H em alcanos e grupos alquila, bem como aromáticas (exceto nos ésteres **EL05** e **EL06**).

Portanto, a partir das análises dos espectros de RMN de ¹H e de ¹³C, bem como dos espectros no IV pode-se afirmar que foram obtidos todos os derivados propostos.

2.4.2 Citotoxicidade dos ésteres derivados do lupeol

A avaliação da atividade citotóxica do lupeol e dos ésteres derivados do lupeol, denominados **EL01**, **EL02**, **EL04** e **EL07** foi realizada em relação à linhagem celular humana A549, um modelo de adenocarcinoma de pulmão. Os demais ésteres não foram avaliados, uma vez que ainda não tinham sido sintetizados durante a realização dos ensaios. A citotoxicidade foi analisada utilizando a técnica de citometria de fluxo, com as células submetidas a cada um dos compostos dissolvidos em DMSO, em concentrações de 2, 10, 15 e 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, durante 48 horas. Como controle negativo, as células foram tratadas com solução salina estéril (0,9% m/m).

Não foram identificadas diferenças significativas nos valores de IC_{50} entre os compostos **EL01**, **EL02**, **EL04**. Esses resultados foram comparados com o IC_{50} do agente antitumoral doxorrubicina ($15,12 \pm 0,13 \mu\text{M}$) (LI et al, 2018). Os dados de IC_{50} para os compostos **EL01**, **EL02**, **EL04** e **EL07** estão apresentados na Tabela 23.

A fim de estabelecer um padrão comparativo entre os ésteres derivados do lupeol, também foi avaliada a citotoxicidade do lupeol. O IC_{50} do lupeol foi $19,92 \pm 2,34 \mu\text{M}$. Não houve diferença significativa entre a citotoxicidade do lupeol e do composto **EL07**. No entanto, ao comparar com os compostos **EL01**, **EL02** e **EL04**, um nível de significância foi observado, esses três compostos demonstraram atividade citotóxica um pouco maior do que a do lupeol.

Tabela 23. Citotoxicidade dos ésteres derivados do lupeol contra células A549.

Compostos	IC_{50} (μM)*
EL01	$14,76 \pm 0,25$
EL02	$15,30 \pm 0,26$
EL04	$14,07 \pm 0,50$
EL07	$17,62 \pm 0,28$
Lupeol	$19,92 \pm 2,34$

*Células A549 foram tratadas com $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ por 48h.

Esses resultados demonstram o potencial dos derivados do lupeol contra células A549. Contudo, investigações adicionais são necessárias, em particular no que se refere aos mecanismos de morte celular.

2.4.3 Atividade antifúngica dos ésteres derivados de lupeol

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos ésteres derivados de lupeol **EL01**, **EL02**, **EL03**, **EL04**, **EL05**, **EL06**, **EL07** e **EL08** foram determinadas contra os fungos *Candida auris*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus gatti*, *C. neoformans*, *Sporothrix brasiliensis* e *S. schenkii*. Os compostos **EL03** e **EL06** não foram testados contra os fungos *Candida auris*, *C. albicans*, *Cryptococcus gatti* e *C. neoformans*, devido à massa insuficiente.

Todos os compostos demonstraram inatividade contra os fungos avaliados na concentração utilizada (250 μM). Assim, sob as condições experimentais utilizadas no ensaio, nenhum dos compostos apresentou potencial para ser utilizado como agente antifúngico contra os fungos examinados.

Os ensaios não foram realizados para os ésteres **EL09**, **EL10**, **EL11**, **EL12**, **EL13**, **EL14**, **EL15**, **EL16**, **EL17**, **EL18**, **EL19** e **EL20**, pois não haviam sido sintetizados quando os testes foram realizados. Esses compostos podem ser incluídos em futuros ensaios.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS COM RELAÇÃO À SÍNTESE DOS ÉSTERES DERIVADOS DO LUPEOL

Os derivados de lupeol foram sintetizados por meio da esterificação de Steglich, empregando o catalisador DMAP juntamente com o agente de acoplamento DIC. Esta metodologia permitiu obter um conjunto diversificado de 20 ésteres derivados do lupeol. Após purificação, todos os ésteres foram devidamente caracterizados por meio de técnicas espectroscópicas, incluindo Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e infravermelho (IV). Os rendimentos foram variados, sendo o maior de 83%, relativo ao éster nicotinato de lupeila (**EL14**) e o menor de 4%, relativo ao 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL18**).

Dentre os ésteres sintetizados, 17 são inéditos: 4-bromobenzoato de lupeila (**EL01**), 2-bromobenzoato de lupeila (**EL02**), naproxenoato de lupeila (**EL03**), 3-iodobenzoato de lupeila (**EL04**), 10-undecinoato de lupeila (**EL05**), 4-pentionato de lupeila (**EL06**), 3-tiofenoato de lupeila (**EL07**), 2-indolato de lupeila (**EL08**), α -metilcinamato de lupeila (**EL09**), 2,4-difluorobenzoato de lupeila (**EL10**), 1-naftoato de lupeila (**EL11**), 5-clorosalicilato de lupeila (**EL12**), 4-metiltiazol-5-ato de lupeila (**EL15**), 2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL16**), 3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila (**EL17**), 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL18**) e 2,4-diclorofenoacetato de lupeila (**EL19**); e três conhecidos na literatura: 4-nitrobenzoato de lupeila (**EL13**), nicotinato de lupeila (**EL14**) e benzoato de lupeila (**EL20**).

Alguns dos ésteres sintetizados foram submetidos à avaliação de atividade citotóxica e antifúngica. No que se refere à citotoxicidade, os ésteres **EL01**, **EL02**, **EL04** e **EL07** foram testados em células de câncer de pulmão A549. A comparação com o precursor lupeol revelou que **EL01**, **EL02** e **EL04** apresentaram uma atividade citotóxica ligeiramente superior à do lupeol.

Adicionalmente, os ésteres **EL01**, **EL02**, **EL03**, **EL04**, **EL05**, **EL06**, **EL07** e **EL08** foram submetidos a testes *in vitro* para avaliação de atividade antifúngica contra cepas de *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix*. No entanto, todos os compostos mostraram-se inativos nas concentrações testadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho realizou-se o estudo fitoquímico das raízes de *Salacia elliptica* (Celastraceae), a análise por UHPLC-ESI-MS/MS dos extratos acetato etílico e metanólico, a extração e caracterização de óleos essenciais das folhas e galhos de *S. elliptica*, além da síntese de ésteres derivados do lupeol. Os extratos e alguns compostos isolados e sintetizados foram avaliados quanto à citotoxicidade contra células de câncer de pulmão A549 e atividade antifúngica.

O estudo fitoquímico das raízes de *Salacia elliptica* incluiu quatro extratos: hexânico, clorofórmico, acetato etílico e metanólico. Identificaram-se oito triterpenos pentacíclicos nos extratos hexânico e clorofórmico, friedelan-3-ona (**SE01**), friedelan-3 β -ol (**SE02**), mistura de friedelan-3 β -ol (**SE02**) e friedelan-1,3-diona (**SE03**), friedelan-3,15-diona (**SE05**), 15 α -hidroxifriedelan-3-ona (**SE06**), 15 α ,26-dihroxifriedelan-3-ona (**SE08**), 26-hidroxifriedelan-3,15-diona (**SE09**), e o inédito 7 α ,15 α -di-hidroxifriedelan-3-ona (**SE10**). Além disso, foram identificados o esteroide espinasterol (**SE07**) e uma mistura de ácidos graxos (**SE04**). No extrato acetato etílico encontraram-se misturas de ácidos graxos e, com relação ao extrato metanólico, não foi possível identificar alcaloides por meio da marcha química.

A partir da análise por UHPLC-ESI-MS/MS dos extratos acetato etílico e metanólico identificaram-se putativamente 14 compostos, predominantemente polifenóis, como flavonoides, com atividades antioxidante e anti-inflamatória.

OEs das folhas e galhos extraídos por meio do processo de hidrodestilação apresentaram baixos teores, 0,0029% e 0,0018% (m/m), respectivamente. Foram realizadas as proposições estruturais para 17 compostos do OE das folhas, sendo que os principais constituintes foram o pentadecal, hexan-1-ol e (Z)-hex-3-en-1-ol. Quanto ao OE dos galhos foram feitas as proposições estruturais para 13 compostos, sendo os principais constituintes o óxido de cariofileno, 10-*epi*-junenol e oleamida.

Na avaliação de citotoxicidade contra células de câncer de pulmão A549, os compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08** e **SE09** mostraram atividade citotóxica significativa, principalmente **SE01** em comparação com lupeol. Adicionalmente, os compostos **SE01**, **SE02**, **SE06**, **SE08** e extratos clorofórmico, acetato etílico e

metanólico das raízes foram inativos nas avaliações *in vitro* contra cepas de *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix*.

Os derivados de lupeol foram sintetizados por esterificação de Steglich, usando o catalisador DMAP e o agente de acoplamento DIC. Esta metodologia permitiu obter 20 ésteres derivados do lupeol, com rendimentos variados (4% a 83%). Todos os ésteres foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, como Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e infravermelho (IV).

Dentre os ésteres sintetizados, 17 são inéditos: 4-bromobenzoato de lupeila (**EL01**), 2-bromobenzoato de lupeila (**EL02**), naproxenoato de lupeila (**EL03**), 3-iodobenzoato de lupeila (**EL04**), 10-undecinoato de lupeila (**EL05**), 4-pentionato de lupeila (**EL06**), 3-tiofenoato de lupeila (**EL07**), 2-indolato de lupeila (**EL08**), α -metilcinamato de lupeila (**EL09**), 2,4-difluorobenzoato de lupeila (**EL10**), 1-naftoato de lupeila (**EL11**), 5-clorosalicilato de lupeila (**EL12**), 4-metiltiazol-5-ato de lupeila (**EL15**), 2-bromo-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL16**), 3,5-bis(trifluorometil)benzoato de lupeila (**EL17**), 2-hidroxi-5-metoxibenzoato de lupeila (**EL18**) e 2,4-diclorofenoxiacetato de lupeila (**EL19**); e três conhecidos na literatura: 4-nitrobenzoato de lupeila (**EL13**), nicotinato de lupeila (**EL14**) e benzoato de lupeila (**EL20**).

Avaliações de citotoxicidade revelaram que **EL01**, **EL02** e **EL04** (IC_{50} = 14,76; 15,30; 14,07, respectivamente) apresentaram atividade ligeiramente superior à do lupeol (19,92) contra células de câncer de pulmão A549. Além disso, os ésteres foram testados *in vitro* contra cepas de *Candida*, *Cryptococcus* e *Sporothrix*, mas todos mostraram inatividade nas concentrações testadas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. **Biochem. Syst. Ecol.**, 27(7), 709–725, 1999.
- ADIBE M. K.; IBOK, M. G.; ADENIYI-AKEE, M. A.; & AJALA, O. E. Chemical compositions and antioxidant activity of leaf and stem essential oils of *Bryophyllum pinnatum* (lam.) Kurz. **GSC Biol. Pharm. Sci.** 9(2), 057–064, 2019.
- AGARWAL, S. K.; SINGH, S. S., VERMA, S., & KUMAR, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. **J. Ethnopharmacol.** 72(1–2), 43–46, 2000.
- ALQAHTANI, A.; HAMID, K.; KAM, A.; WONG, K. H.; ABDELHAK, Z.; RAZMOVSKINAUMOVSKI, V.; CHAN, K.; LI, K. M.; GROUNDWATER, P. W.; LI, G. Q. The Pentacyclic Triterpenoids in Herbal Medicines and Their Pharmacological Activities in Diabetes and Diabetic Complications. **Curr. Med. Chem.**, 20, 7, 2013.
- ALVARENGA, N.; FERRO, E. A.; Bioactive triterpenes and related compounds from Celastraceae **Stud. Nat. Prod. Chem.**, 33, 239-307, 2006.
- AMIRI, S.; DASTGHAIB, S.; AHMADI, M.; MEHRBOD, P.; KHADEM, F.; BEHROUJ, H.; AGHANOORI, M-R.; MACHAJ, F.; GHAMSARI, M.; ROSIK, J.; HUDECKI, A.; AFKHAMI, A.; HASHEMI, M.; LOS, M. J.; MOKARRAM, P.; MADRAKIAN, T.; GHAVAMIA, S. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. **Biotechnol. Adv.**, 38, 107409, 2020.
- ANTONISAMY, P.; DURAI PANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraacantha* Lam. in mouse and rat models. **J. Pharm. Pharmacol.**, 63, 1070–1077, 2011
- ARAÚJO, I. A. C., DE PAULA, R. C., ALVES, C. L., FARIA, K. F., OLIVEIRA, M. M., TAKARADA, G. G. M., DIAS, E. M. F. A., OLIVEIRA, A. B. DE, SILVA, S. M. *In vitro* efficacy of isoflavonoids and terpenes against *Leishmania (Leishmania) infantum* and *L. amazonensis*. **Exp. Parasitol.**, 242, 108383, 2022.
- ARDILES, A. E.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A.; NÚÑEZ, M. J.; PERESTELO, N. R.; PARDO, V.; JIMÉNEZ, I. A.; VALVERDE, A. M.; BAZZOCCHI, I. L. Studies of naturally occurring friedelane triterpenoids as insulin sensitizers in the treatment type 2 diabetes mellitus. **Phytochemistry**, 84, 116–124, 2012.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; TASKFORCE; SUPURAN, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat. Ver. Drug Discov.**, 20, 200–216, 2021.
- BAGNAZARI, M.; MEHDI, S.; CHANDREGOWDA, M. M.; PRAKASH, H. S.; NAGARAJA, G. Phyto-constituents, Pharmacological Properties and Biotechnological Approaches for Conservation of the Anti-diabetic Functional Food Medicinal Plant *Salacia*: A Review Note. **Appl. Food Biotechnol.**, 4, 1, 2017.
- BAPTISTA-SILVA, S.; BORGES, S.; RAMOS, O. L.; PINTADO, M.; SARMENTO, B. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review **J. Essent. Oil Res.** 32, 279-295, 2020.

- BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos, 1. Editora UVF, 2013.
- BERNARDINI, S.; TIEZZI, A.; MASCI, V. L.; OVIDI, E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches **Nat. Prod. Res.** 32, 1926–1950, 2018.
- BESERRA, F. P.; VIEIRA, A. J.; GUSHIKEN, L. F. S.; SOUZA, E. O.; HUSSNI, M. F.; HUSSNI, C. A.; NÓBREGA, R. H.; MARTINEZ, E. R. M.; JACKSON, C. J.; MAIA, G. L. A.; ROZZA, A. L.; PELLIZZON, C. H. Lupeol, a Dietary Triterpene, Enhances Wound Healing in Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats with Modulatory Effects on Inflammation, Oxidative Stress, and Angiogenesis. **Oxid. Med. Cell. Longevity**, 1-20, 2019.
- BISOLI, E.; GARCEZ, W. S.; HAMERSKI, L.; TIEPPO, C; GARCEZ, F. R. Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum* **Molecules** 13, 2717-2728, 2008.
- BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década **Quim. Nova**, 45, 949-958, 2022.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quim. Nova**, 33, 229-239, 2010.
- BUTNARIU, M.; SARAC, I; Essential Oils from Plants **J. Biotech. Biom. Sci.** 1, 35-43, 2018.
- CABONI, P., NTALLI, N. G., AISSANI, N., CAVOSKI, I., & ANGIONI, A. Nematicidal Activity of (E,E)-2,4-Decadienal and (E)-2-Decenal from *Ailanthus altissima* against *Meloidogyne javanica*. **J. Agric. Food Chem.**, 60(4), 1146–1151, 2012.
- CAMARGO, K. C.; AGUILAR, M. G.; MORAES, A. R. A.; CASTRO, R. G.; SZCZERBOWSKI, D.; MIGUEL, E. L. M. M.; OLIVEIRA, L. R.; SOUSA, G. F.; VIDAL, D. M.; DUARTE, L. P. Pentacyclic triterpenoids isolated from Celastraceae: a focus in 2 the ¹³C NMR data. **Molecules** 27(3), 959, 2022.
- CAMARGO, K. C.; DUARTE, L. P.; VIDAL, D. M.; PEREIRA, H. V.; PEREIRA, R. C. G.; AGUILAR, M. G.; SOUSA, G. F.; VIEIRA FILHO, S. A.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; MESSIAS, M. C. T.; OLIVEIRA, D. M. Chemodiversity of essential oils from nine species of Celastraceae. **Chem. Biodiversity** 17, 2020.
- CANNELL, R. J. Natural Products Isolation, 4. Springer Science & Business Media, 1998.
- CARVALHO, J. A.; BEALE, M. A.; HAGEN, F.; FISHER, M. C.; KANO, R.; BONIFAZ, A.; TORIELLO, C.; NEGRONI, R.; REGO, R. S. M.; GREMI, I. D. F.; PEREIRA, S. A.; CAMARGO, Z. P.; RODRIGUES, A. M. Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species **Stud. Mycol.** 100, 2021.
- CASTILLO-CAMPOS, G.; PALACIOS-WASSENAAR, O. M.; MARTÍNEZ, M. L. *Salacia frutiplatensis* (Celastraceae, Salacioideae), a new species of the coastal sand dunes of Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. **Phytotaxa**, 440, 186-192, 2020.
- CHENG, M.-C.; KER, Y.-B.; YU, T.-H.; LIN, L.-Y.; PENG, R. Y.; PENG, C.-H. Chemical synthesis of 9(z)-octadecenamide and its hypolipidemic effect: A bioactive agent found

in the essential oil of mountain celery seeds. **J. of Agric. Food Chem.**, 58(3), 1502–1508, 2010.

CHOI, C.-I., LEE, S. R., & KIM, K. H. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of constituents from *Euonymus alatus* twigs. **Ind. Crops Prod.**, 76, 1055–1060, 2015.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives **Medicines**, 4, 58, 2017.

CIUREA, C. N.; KOSOVSKI, I-B; MARE, A. D.; TOMA, F.; PINTEA-SIMON, I. A.; MAN, A. *Candida* and candidiasis—opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits **Microorganisms**, 8, 857, 2020.

CORTELO, P. C.; DEMARQUE, D. P; DUSI, R. G.; ALBERNAZ, L. C.; BRAZ-FILHO, R.; GONCHAROVA, E. I.; BOKESCH, H. R.; GUSTAFSON, K. R.; BEUTLER, J. A.; ESPINDOLA, L. S. A Molecular Networking Strategy: High-Throughput Screening and Chemical Analysis of Brazilian Cerrado Plant Extracts against Cancer Cells. **Cells**, 10, 691, 2021.

COSTA, M. G., ARAÚJO, R. C. S., CARVALHO, A. DE S., BRITO, E. DA S., AGUIAR, J. V. C., OLIVEIRA, R. R., DA MATA, R. R., DE ALMEIDA, R. S., ROCHA, T. L. Impacts of the use of brazilian fauna and flora in food and medicinal use. **Revista de Gestão Social e Ambiental**, 18(1), 2023.

COUPERUS, P. A.; CLAGUE, A. D. H.; VAN DONGEN, J. P. C. M. Carbon-13 chemical shifts of some model carboxylic acids and esters. **Org. Magn. Reson.** 11, 590–597, 1978.

CROCCO, E. I.; MIMICA, L. M. J.; MURAMATU, L. H.; GARCIA, C.; VALÉRIA M. SOUZA, V. M.; RUIZ, L. R. B.; ZAITZ, C. Identification of *Candida* species and antifungal susceptibility in vitro: a study on 100 patients with superficial candidiasis **An. bras. Dermatol.**, 79, 689-697, 2004.

DAI, C.; SPIVEY, A. L. C. Celastraceae sesquiterpene pyridyl ligands **Org. Chem. Front.**, 10, 5296, 2023.

DARRAGH, K., MONTEJO-KOVACEVICH, G., KOZAK, K. M., MORRISON, C. R., FIGUEIREDO, C. M. E., READY, J. S., SALAZAR, C., LINARES, M., BYERS, K. J. R. P., MERRILL, R. M., MCMILLAN, W. O., SCHULZ, S., & JIGGINS, C. D. Species specificity and intraspecific variation in the chemical profiles of *Heliconius* butterflies across a large geographic range. **Ecol. Evol.**, 10(9), 3895–3918, 2020.

DEGHAN, G., SOLAIMANIAN, R., SHAHVERDI, A. R., AMIN, G., ABDOLLAHI, M., & SHAFIEE, A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana* D.C. **Flavour and Fragrance J.**, 22(3), 224–227, 2007.

DONG, X., FU, J., YIN, X., CAO, S., LI, X., LIN, L., & NI, J. Emodin: A Review of its Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics. **Phytotherapy Res.**, 30(8), 1207–1218, 2016.

DUARTE, L. P.; FIGUEREIDO, R. C.; SOUSA, G. F.; et al. Chemical constituents of *Salacia elliptica* (Celastraceae). **Quim. Nova**, 33, p. 900-903, 2010.

ESPINDOLA, L. S.; DUSI, R. G.; DEMARQUE, D. P.; BRAZ-FILHO, R.; YAN, P.; BOKESCH, H. R.; GUSTAFSON, K. R.; BEUTLER, J. A. Cytotoxic Triterpenes from

- Salacia crassifolia and Metabolite Profiling of Celastraceae. **Species Molecules**, 23, 1494, 2018.
- EYRES, G., DUFOUR, J. P. Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics. In *Beer in Health and Disease Prevention*, Elsevier, 239–254, 2009.
- FERLAY, J.; COLOMBET, M.; SOERJOMATARAM, I; PARKIN, D. M.; PIÑEROS, M.; ZNAOR, A.; BRAY, F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **Int. J. Cancer**. 149, 778–789, 2021
- FERREIRA, F. L.; RODRIGUES, V. G.; SILVA, F. C.; MATILDES, B. L. G.; TAKAHASHI, J. A.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, D. M.; FILHO, S. A. V. *Maytenus distichophylla* and *Salacia crassifolia*: source of products with potential acetylcholinesterase inhibition. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 27 471–474, 2017.
- FRANCOMANO, F., CARUSO, A., BARBAROSSA, A., FAZIO, A., LA TORRE, C., CERAMELLA, J., MALLAMACI, R., SATURNINO, C., IACOPETTA, D., SINICROPI, M. S. β -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. **Applied Sci.**, 9(24), 5420, 2019.
- FURTADO, N. A. J. C.; PIRSON, L.; EDELBERG, H.; MIRANDA, L. M.; LOIRAPASTORIZA, C.; PREAT, V.; LARONDELLE, Y.; ANDRÉ, C. M. Pentacyclic Triterpene Bioavailability: An Overview of In Vitro and In Vivo Studies. **Molecules: A J. of Synt. Chem. and Nat. Prod. Chem.**, 22, 400, 2017.
- GHANTE, M. H.; JAMKHANDE, P. G.; Role of Pentacyclic Triterpenoids in Chemoprevention and Anticancer Treatment: An Overview on Targets and Underling Mechanisms. **J. Pharmacopuncture**, 22(2), 055-067, 2019.
- GHOSH, S. Biosynthesis of Structurally Diverse Triterpenes in Plants: the Role of Oxidosqualene Cyclases. **Proc. Indian. Natn. Sci. Acad.**, 82, 1189-1210, 2016.
- GILL, B. S.; KUMAR, S.; NAVGEET Triterpenes in cancer: significance and their influence. **Mol. Biol. Rep.** 43,881–896, 2016
- GOMEZ, E.; LEDBETTER, C. A., HARTSELL, P. L. Volatile compounds in apricot, plum, and their interspecific hybrids. **J. Agric. Food Chem.**, 41(10), 1669–1676, 1993.
- GOU, J. B.; LI, Z. Q.; LI, C. F.; CHEN, F. F.; LV, S. Y.; ZHANG, Y. S. Molecular cloning and functional analysis of a 10-epi-junenol synthase from *Inula hupehensis*. **Plant Physiol. Biochem.**, 106, 288–294, 2016.
- GROOT, P., MACDONALD, L. M. Green leaf volatiles inhibit response of red pine cone beetle *Conophthorus resinosae* (Coleoptera: Scolytidae) to a sex pheromone. **Naturwissenschaften**, 86(2), 81–85, 1999.
- GROVER, A., KATIYAR, S. P., JEYAKANTHAN, J., DUBEY, V. K., & SUNDAR, D. Mechanistic insights into the dual inhibition strategy for checking Leishmaniasis. **J. Biomol. Struct. Dyn.**, 30(4), 474–487, 2012.
- GURNANI, N.; MEHTA, D.; GUPTA, M.; MEHTA, B. K. Natural Products: Source of Potential Drugs. **African J. Basic & Appl. Sci.**, 6, 171-186, 2014.
- HISHAM, A.; KUMAR, G. J.; FUJIMOTO, Y.; HARA, N. Salacianone and Salacianol, two triterpenes from *Salacia beddomei*. **Phytochemistry** 40, 1227-1231, 1995.

- HULVAT, M. C. Cancer Incidence and Trends. **Surg. Clin. N. Am.** 100, 469-481, 2020.
- ISMA, M. B. Commercial development of plant essential oils and their constituents as active ingredients in bioinsecticides. **Phytochem. Rev.**, 19, 235-241, 2020.
- JEFFERY-SMITH, A.; TAORI, S. K.; SCHELENZ, S.; JEFFERY, K.; JOHNSON, E. M.; BORMAN, A.; *CANDIDA AURIS* INCIDENT MANAGEMENT TEAM, MANUEL, R.; BROWNA, C. *Candida auris*: a Review of the Literature. **Clin. Microbiol. Rev.** 31, 2018.
- JORDAN, A., WHYMARK, K. D., SYDENHAM, J., & SNEDDON, H. F. A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids. **Green Chem.**, 23(17), 6405–6413, 2021.
- JOSHI, R., KULKARNI, Y. A., WAIRKAR, S. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. **Life Sci.**, 215, 43–56, 2018.
- KAHRIMAN, N.; TOSUN, G.; TERZIOĞLU, S.; KARAOĞLU, S. A.; YAYLI, N. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the Flower, Leaf, and Stem of *Senecio pandurifolius* **Rec. Nat. Prod.** 5, 82-91, 2011.
- KHAN, M. F.; MAURYA, C. K.; DEV, K.; ARH, D.; RAI, A. K.; TAMRAK, A. K.; MAURY, R. Design and synthesis of lupeol analogues and their glucose uptake stimulatory effect in L6 skeletal muscle cells. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 24, 2674-2679, 2014.
- KHAN, M. F.; MISHRA, D. P.; RAMAKRISHNA, E.; RAWAT, A. K.; MISHRA, A.; SRIVASTAVA, A. K.; MAURYA, R. Design and synthesis of lupeol analogues and their *in vitro* PTP-1B inhibitory activity. **Med. Chem. Res.**, 23(9), 4156-4166; 2014.
- KIM, D. Y., & CHOI, B. Y. Costunolide —A bioactive sesquiterpene lactone with diverse therapeutic potential. **Int. J. Mol. Sci.**, 20(12), 2926, 2019.
- KIM, Y. W., ZHAO, R. J., PARK, S. J., LEE, J. R., CHO, I. J., YANG, C. H., KIM, S. G., & KIM, S. C. Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF- κ B-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production. **Br. J. Pharmacol.**, 154(1), 165–173, 2008.
- KISHI, A.; MORIKAWA, T.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M. Structures of New Friedelane- and Norfriedelane-Type Triterpenes and Polyacylated Eudesmane-Type Sesquiterpene from *Salacia chinensis* LINN. (*S. prinoides* DC., Hippocrateaceae) and Radical Scavenging Activities of Principal Constituents. **Chem. Pharm. Bull.** 51(9), 1051-1055, 2003.
- KLASS, J.; TINTO, W. F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. Friedelane triterpenoids from *Peritassa compta*: Complete ^1H and ^{13}C assignments by 2D NMR spectroscopy. **J. Nat. Prod.**, 55, 1626–1630, 1992.
- KOMALA, G.; MANDA, R. R.; SERAM, D. Role of semiochemicals in integrated pest management **Int. J. Entomol. Res.** 6, 247-253, 2021.
- KOWALSKI, R. Analysis of lipophilic fraction from leaves, inflorescences and rhizomes of *Silphium perfoliatum* L. **ACTA Soc. Bot.Pol.** 74, 5-10, 2005.
- KURASHOV, E. A., FEDOROVA, E. V., KRYLOVA, J. V., & MITRUKOVA, G. G. Assessment of the potential biological activity of low molecular weight metabolites of freshwater macrophytes with QSAR. **Scientifica**, 1–9, 2016.

- KÜÇÜK, M., GÜLEÇ, C., YAŞAR, A., ÜÇÜNCÜ, O., YAYLI, N., COŞKUNÇELEBI, K., TERZIOĞLU, S., & YAYLI, N. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Teucrium chamaedrys*. subsp. *chamaedrys*., *T. orientale*. var. *puberulens*., and *T. chamaedrys*. subsp. *lydium*. **Pharm. Biol.**, 44(8), 592–599, 2006.
- LANGEN, J.; WEGMANN-HERR, P.; & SCHMARR, H.-G. Quantitative determination of α -ionone, β -ionone, and β -damascenone and enantiodifferentiation of α -ionone in wine for authenticity control using multidimensional gas chromatography with tandem mass spectrometric detection. **Anal. Bioanal. Chem.**, 408(23), 6483–6496, 2016.
- LEFFINGWELL, J. C.; ALFORD, E. D. volatile constituents of *Perique tobacco* **Electron. J. Environ., Agric. Food Chem.**, 4(2), 2005.
- LI, D.; ZAMAN, W.; LU, J.; NIU, Q.; ZHANG, X.; AYAZ, A.; SAQIB, S.; YANG, B.; ZHANG, J.; ZHAO, H.; & LÜ, S. Natural lupeol level variation among castor accessions and the upregulation of lupeol synthesis in response to light. **Ind. Crops and Prod.**, 192, 116090, 2023.
- LI, M., PU, Y., YOO, C. G., RAGAUSKAS, A. J. The occurrence of triclin and its derivatives in plants. **Green Chem.**, 18(6), 1439–1454, 2016.
- LI, J. J.; YAN, Y. Y.; SUN, H. M.; LIU, Y.; SU, C. Y.; CHEN, H. B.; ZHANG, J. Y. Anti-Cancer Effects of Pristimerin and the Mechanisms: A Critical Review. **Front. Pharmacol.**, 10, 746, 2019.
- LI, W.; XIAO, Y. Synthesis and in vitro antitumour activities of lupeol derivatives. **Nat. Prod. Res.**, 32(1), 48–53, 2018.
- LI, S. S.; MODY, C. H. Cryptococcus. **Proc. Am. Thorac. Soc.** 7, 2010
- LIBY, K.; ROYCE, D. B.; WILLIAMS, C. R.; RISINGSONG, R.; YORE, M. M.; HONDA, T.; GRIBBLE, G. W.; DMITROVSKY, E.; SPORN, T. A.; SPORN, M. B. The synthetic triterpenoids cddo-methyl ester and cddo-ethyl amide prevent lung cancer induced by vinyl carbamate in a/j mice **Cancer Res.** 67, 2007.
- LIU, K.; ZHANG, X.; XIE, L.; DENG, M.; CHEN, H.; SONG, J.; LONG, J.; LI, X.; LUO, J. Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: Molecular mechanisms and therapeutic efficacy. **Pharmacol. Res.**, 164, 105373, 2021.
- MA, B., LIU, X., LU, Y., MA, X., WU, X., WANG, X., JIA, M., SU, P., TONG, Y., GUAN, H., JIANG, Z., GAO, J., HUANG, L., & GAO, W. A specific UDP-glucosyltransferase catalyzes the formation of triptophenolide glucoside from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. **Phytochemistry**, 166, 112062, 2019.
- MA, S-C.; BUT, P. P-H.; OOI, V. E-C.; HE, Y-H.; LEE, S. H-S.; LEE, S-F; LIN, R-C. Antiviral Amentoflavone from *Selaginella sinensis*. **Biol. Pharm. Bull.**, 24(3), 311-312, 2001.
- MACHADO, V. R.; SANDJO, L. P.; PINHEIRO, G. L.; MORAES, M. H.; STEINDEL, M.; PIZZOLATTI, M. G.; BIAVATTI, M. W. Synthesis of lupeol derivatives and their antileishmanial and antitrypanosomal activities. **Nat. Prod. Res.**, 32, 275–281, 2018.
- MACHADO, V. R.; JACQUESB, A. V.; MARCELI, N. S.; BIAVATTI, M. W.; SANTOS-SILVA, M. C. Anti-leukemic activity of semisynthetic derivatives of lupeol. **Nat. Prod. Res.**, 35, 4494–4501, 2021.

- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, 25, 429-438, 2002.
- MAHAJAN, E., SINGH, S., DIKSHA, KAUR, S., & SOHAL, S. K. The genotoxic, cytotoxic and growth regulatory effects of plant secondary metabolite β -caryophyllene on polyphagous pest *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). **Toxicon**, 219, 106930, 2022.
- MAHAPATRA, A. SHAH, P.; JIVRAJANI, M.; NIVSARKAR, M.; Synthesis and Blastocyst Implantation Inhibition Potential of Lupeol Derivatives in Female Mice. **Rec. Nat. Prod.**, 9, 561-566, 2015.
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, 37, 1517-1575, 1994.
- MALDONI, B. Alkaloids: isolation and purification. **J. Chem. Educ.**, 68, 700-703, 1991.
- MALINOWSKA, M. A., SIKORA, E., STALIŃSKA, J., OGONOWSKI, J., & DRUKAŁA, J. The effect of the new lupeol derivatives on human skin cells as potential agents in the treatment of wound healing. **Biomolecules**, 11(6), 774, 2021.
- MALINOWSKA, M.; MIROSLAW, B.; SIKORA, E.; et al. New lupeol esters as active substances in the treatment of skin damage, **Plos one**, 14(3), 1-15, 2019
- MARTINS, D. C. S.; SILVA, F. C.; MEIRELES, A. M.; SOARES, E. A. R.; SILVA, G. D. F.; VIEIRA-FILHO, S. A.; DUARTE, L. P.; REBOUÇAS, J. S.; IDEMORI, Y. M. Selective oxidation of lupeol by iodosylbenzene catalyzed by manganese porphyrins Catalysis. **Communications**, 86 104-107, 2016.
- MEVY, J.-P., BESSIERE, J.-M., GREFF, S., ZOMBRE, G., & VIANO, J. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. **Biochem. Syst. Ecol.**, 34(7), 549-553, 2006.
- MCCHESENEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T. Plant natural products: Back to the future or into extinction? **Phytochemistry**, 68, 2015-2022, 2007.
- MOIO, L., PIOMBINO, P., & ADDEO, F. Odour-impact compounds of Gorgonzola cheese. **J. Dairy Res.** 67(2), 273-285, 2000.
- MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. **Tetrahedron** 61, 10827-10852, 2005.
- MONTOYA, M. C.; MAGWENE, P. M.; PERFECT, J. R. Associations between *Cryptococcus* Genotypes, Phenotypes, and Clinical Parameters of Human Disease: A Review. **J. Fungi** 7, 260, 2021.
- MOO-PUC, J. A., MARTÍN-QUINTAL, Z., MIRÓN-LÓPEZ, G., MOO-PUC, R. E., QUIJANO, L., MENA-REJÓN, G. J. Isolation and antitrichomonal activity of the chemical constituents of the leaves of *Maytenus phyllanthoides* Benth. (Celastraceae). **Quim. Nova**, 37(1), 85-88, 2014.
- MOREIRA, D. L., SOUZA, P. O., KAPLAN, M. A. C., PEREIRA, N. A., CARDOSO, G. L., & GUIMARÃES, E. F. Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C.DC. in mice behaviour. **Na. Acad. Bras. Ci.**, 73(1), 33-57, 2001.

- MORIKAWA, T.; KISHI, A.; PONGPIRIYADACHA, Y.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M. Structures of New Friedelane-Type Triterpenes and Eudesmane-Type Sesquiterpene and Aldose Reductase Inhibitors from *Salacia chinensis*. *J. Nat. Prod.*, v. 66, p. 1191-1196, 2003.
- MORIKAWA, T.; NINOMIYA, K.; TANABE, G.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M.; MURAOKA, O. A review of antidiabetic active thiosugar sulfoniums, salacinol and neokotalanol, from plants of the genus *Salacia*. *J. Nat. Med.*, 75, 449–466, 2021.
- MORTEZA-SEMNANI, K., AKBARZADEH, M., CHANGIZI, S. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia* and *S. laxa* from Iran. *Flavour and Fragrance J.*, 21(2), 300–303, 2006.
- NIBBERING, N. M. M. The McLafferty rearrangement: A personal recollection. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 15, 956–958, 2004.
- NICKAVAR, B., SALEHI-SORMAGI, M. H., AMIN, GH., & DANESHTALAB, M. Steam Volatiles of *Vaccinium arctostaphylos*. *Pharm. Biol.*, 40(6), 448–449, 2002.
- NICOLAS, F. G.; GORDILLO-ROMA, B.; OBERTI, J. C.; ESTEVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G.; JOSEPH-NATHAN, P. Synthesis and Anti-HIV Activity of Lupane and Olean-18-ene Derivatives. Absolute Configuration of 19,20-Epoxylupanes by VCD. *J. Nat. Prod.*, 75, 669–676, 2012.
- ODAK, J. A., MANGURO, L. O. A., & WONG, K.-C. New compounds with antimicrobial activities from *Elaeodendron buchananii* stem bark. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 20(6), 510–524, 2018.
- PADMAVATHI, G., RATHNAKARAM, S. R., MONISHA, J., BORDOLOI, D., ROY, N. K., KUNNUMAKKARA, A. B. Potential of butein, a tetrahydrochalcone to obliterate cancer. *Phytomedicine*, 22(13), 1163–1171, 2015.
- PARRA, A.; MARTIN-FONSECA, S.; RIVAS, F.; REYES-ZURITA, F. J.; MEDINA O'DONNELL, M.; RUFINO-PALOMARES, E. E.; MARTINEZ, A.; GARCIAGRANADOS, A.; LUPIAÑEZ, J. A.; ALBERICIO, F. Solid-Phase Library Synthesis of Bi-Functional Derivatives of Oleanolic and Maslinic Acids and Their Cytotoxicity on Three Cancer Cell Lines. *ACS Comb. Sci.*, 16(8), 428–447, 2014.
- PINO, J. A., MESA, J., MUÑOZ, Y., MARTÍ, M. P., & MARBOT, R. Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 53(6), 2213–2223, 2005.
- PIUS, G.; MGANI, Q. A. Synthesis of Semiochemicals and Related Fine Chemicals from Cashew Nut Shell Liquid *Tanzania J. Sci.* 45(3), 297-306, 2019.
- PLOTTO, A., BARNES, K. W., & GOODNER, K. L. Specific Anosmia Observed for β -Ionone, but not for α -Ionone: Significance for Flavor Research. *J. Food Sci.*, 71(5), 2006.
- PRIYA, G.; GOPALAKRISHNAN, M.; RAJESH, E.; SEKAR, T. Focus on Estimation and Antioxidant Studies of *Salacia* Species. *Int. J. Sci. Res. Biol. Sci.*, 6, 65-74, 2019.
- RADULOVIC, N., S., DJORDJEVIC, N., D., & PALIC, R., M. Volatiles of *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. (Apiaceae). *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(12), 1653–1660, 2010.

- RADULOVIĆ, N., ĐORĐEVIĆ, N., MARKOVIĆ, M., & PALIĆ, R. Volatile constituents of *Glechoma hirsute* Waldst. & Kit. and *G. hederacea* L. (Lamiaceae). **Bull. Chem. Soc. Ethiop.**, 24(1), 2010.
- RAMARATHNAM, NARASIMHAN., RUBIN, L. J., & DIOSADY, L. L. Studies on meat flavor. 3. A novel method for trapping volatile components from uncured and cured pork. **J. Agric. Food Chem.**, 41(6), 933–938, 1993.
- RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: mechanisms of action. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.** 10, 365, 2019
- RAO, S. D.; RAO, B. N.; DEVI, P. U.; RAO, A. K. Isolation of Lupeol, Design and Synthesis of Lupeol Derivatives and their Biological Activity. **Orient. J. Chem.**, 33(1), 173-180, 2017.
- REDDY, K.P.; SINGH, A. B.; PURI, A.; SRIVASTAVA, A. K.; NARENDER. T. Synthesis of novel triterpenoid (lupeol) derivatives and their in vivo antihyperglycemic and antidyslipidemic activity **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 19, 4463-4466, 2009.
- REX, J. H.; ALEXANDER, B. D.; ANDES, D.; ARTHINGTON-SKAGGS, B.; BROWN, S. D.; CHATURVEDI, V.; GHANNOUM, M. A. ESPINEL-INGROFF, A.; KNAPP, C. C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; PFALLER, M. A.; SHEEHAN, D. J.; WALSH, T. J. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard, 3 ed, 2008.
- RODRIGUES, V. G.; SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; TAKAHASHI, J. A.; MATILDES, B. L. G.; SILVA, G. D. F.; SILVA, R. R.; VIEIRA-FILHO, S. A. Pentacyclic triterpenes from *Maytenus* genus as acetylcholinesterase inhibitors. **Int. J. Pharm. Sci.**, 6, 2, 918-920, 2014.
- ROSTAD, C. E.; PEREIRA, W. E.; Kovats and lee retention indices determined by gas chromatography/mass spectrometry for organic compounds of environmental interest. **J.High Resol. Chromat. Chromat. Communic.** 9, 328-334, 1986.
- RUTHER, J. Retention index database for identification of general green leaf volatiles in plants by coupled capillary gas chromatography–mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, 890(2), 313–319, 2000.
- SAEED, K.; PASHA, I.; CHUGHTAI, M. F. J.; ALI, Z.; BUKHARI, H.; ZUHAIR, M. Application of essential oils in food industry: challenges and innovation **J. Essent. Oil Res.** 34, 97-110, 2022.
- SAINI, M.; KHAN, M. F.; SANGWAN, R.; KHAN, M. A.; KUMAR, A.; VERMA, R.; AHAMAD, T.; JAIN, S. Design, Synthesis and In-Vitro Antitumor Activity of Lupeol Derivatives via Modification at C-3 and C-30 Positions. **ChemistrySelect**, 4, 1800 – 1805, 2019.
- SALEHI, B., VENDITTI, A., SHARIFI-RAD, M., KRĘGIEL, D., SHARIFI-RAD, J., DURAZZO, A., LUCARINI, M., SANTINI, A., SOUTO, E., NOVELLINO, E., ANTOLAK, H., AZZINI, E., SETZER, W., MARTINS, N. The therapeutic potential of apigenin. **Int. J. Mol. Sci.**, 20(6), 1305, 2019.
- 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. **Eur. J. Med. Chem.**, 142, 95 e130, 2017.

SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, W. X. C.; VIEIRA-FILHO, S. A.; PEREIRA, R. C. G.; SOUZA, G. F.; GOUVEIA, V. A.; SABINO, A. 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). **Quim. Nova**, 43, 558-567, 2020.

SENATORE, F., LANDOLFI, S., CELIK, S., & BRUNO, M. Volatile components of *Centaurea calcitrapa* L. and *Centaurea sphaerocephala* L. ssp. *sphaerocephala*, two Asteraceae growing wild in Sicily. **Flavour Fragrance J.**, 21(2), 282–285, 2006.

SERVI, H., VATANSEVER, C., DOĞAN, A., & MAJEED, V. Antibacterial activity and essential oil composition of *Calendula arvensis* L. **Int. J. Sec. Metabolite**, 7(4), 229–236, 2020.

SHAN, W. G.; ZHANG, L. W.; XIANG, J. G.; ZHAN, Z. J. Natural Friedelanes. **Chem. & Biodiversity**, 10, 1392–1434, 2013.

SHARMA, N.; PALIA, P.; CHAUDHARY, A.; SHALINI; VERMA, K.; KUMAR, I. A Review on Pharmacological Activities of Lupeol and its Triterpene Derivatives. **J. Drug Delivery Ther.**, 10(5), 325-332, 2020.

SHARMA, N.; TIWARI, N.; VYAS, M.; KHURANA, N.; MUTHURAMAN, A.; UTREJA, P. An overview of therapeutic effects of vanillic acid **Plant Arch.** 20, 3053-3059, 2020.

SHARMEEN, J. B.; MAHOMOODALLY, F. M.; ZENGİN, G.; MAGGI, F. Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. **Molecules**, 26, 666, 2021.

SHI, L. S.; WU, C-H; YANG, T-C; YAO, C-W; LIN, H-C; CHANG, W-L Cytotoxic effect of triterpenoids from the root bark of *Hibiscus syriacus* **Fitoterapia** 97, 184-191, 2014.

SIANI, A. C., GARRIDO, I. S., MONTEIRO, S. S., CARVALHO, E. S., RAMOS, M. F. S. Protium icariba as a source of volatile essences. **Biochem. Syst. Ecol.**, 32(5), 477–489, 2004.

SIDDIQUE, H. R., & SALEEM, M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: A review of preclinical studies. **Life Sci.**, 88(7–8), 285–293, 2011.

SILVA, A. T. M.; MAGALHÃES, C. G.; DUARTE, L. P.; et al. A. Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. **Braz. J. Pharm. Sci.**, 3(3), 1-10, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. PALAZZO; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

SINGH, R., SINGH, B., SINGH, S., KUMAR, N., KUMAR, S., & ARORA, S. Umbelliferone – An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del. **Food Chem.**, 120(3), 825–830, 2010

SINGH, S., GUPTA, P., MEENA, A., & LUQMAN, S. Acacetin, a flavone with diverse therapeutic potential in cancer, inflammation, infections and other metabolic disorders. **Food Chem. Toxicol.**, 145, 2020.

- SINGLETON, K., GRIES, R., VAN HERK, W. G., ALAMSETTI, S. K., LEMKE, E., FURTADO, K., & GRIES, G. Identification of the Major Sex Pheromone Component of the Click Beetle *Agriotes ferrugineipennis*. **J. Chem. Ecol.**, 48(5–6), 491–501, 2022.
- SOMENSI, L. B.; COSTA, P.; BOEING, T.; MARIANO, L. N. B.; LONGO, B.; MAGALHÃES, C. G.; DUARTE, L. P.; MACIEL E SILVA, A. T.; SOUZA, P.; ANDRADE, S. F.; SILVA, L. M. Gastroprotective properties of Lupeol-derived ester: Pre-clinical evidences of Lupeol-stearate as a potent antiulcer agent. **Chem.-Biol. Interact.**, 321, 108964, 2020.
- SOUSA, G. F.; DUARTE, L. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; SILVA, G. D. F.; VIEIRA-FILHO, S. A.; SILVA, R. R.; OLIVEIRA, D. M.; TAKAHASHI, J. A. New triterpenes from *Maytenus robusta*: structural elucidation based on NMR experimental data and theoretical calculations. **Molecules**, 17, 13439–13456, 2012.
- SPIVEY, A. C.; WESTON, M.; WOODHEAD, S. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis. **The R. Soc. Chem.**, 31, 43-59, 2002.
- SUDHAHAR, V., KUMAR, S. A., MYTHILI, Y., & VARALAKSHMI, P. Remedial effect of lupeol and its ester derivative on hypercholesterolemia-induced oxidative and inflammatory stresses. **Nutrition Res.**, 27(12), 778–787, 2007.
- SUNG, B.; PARK, B.; YADAV, V. R.; AGGARWAL, B. B. Celastrol, a triterpene, enhances trail-induced apoptosis through the down-regulation of cell survival proteins and up-regulation of death receptors **J. Biol. Chim.**, 285, 11498-11507.
- SUTTON, P. A.; ROWLAND, S. J. High temperature gas chromatography–time-of-flight-mass spectrometry (HTGC–ToF-MS) for high-boiling compound. **J. Chromatogr. A** 1243, 69–80, 2012.
- TAEI, M.; CHADEGANIPOUR, M.; MOHAMMADI, R. An alarming rise of non-albicans *Candida* species and uncommon yeasts in the clinical samples; a combination of various molecular techniques for identification of etiologic agentes **BMC Res Notes** 12, 779, 2019
- TAKEI, M., UMEYAMA, A., & ARIHARA, S. Epicubenol and ferruginol induce DC from human monocytes and differentiate il-10-producing regulatory t cells *in vitro*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 337(2), 730–738, 2005.
- TAN, Y. P., AGNEW-FRANCIS, K. A., HOFMANN, J., SAVCHENKO, A. I., LAFONTAINE, S. R., BOYLE, G. M., BERNHARDT, P. V., FRASER, J. A., SHELLHAMMER, T. H., & WILLIAMS, C. M. Humulene diepoxides from the Australian arid zone herb dysphania: Assignment of aged hops constituents. **Chem. – A Euro. J.**, 26(7), 1653–1660, 2020.
- TELASCREA, M., DE ARAÚJO, C. C., MARQUES, M. O. M., FACANALI, R., DE MORAES, P. L. R., & CAVALHEIRO, A. J. Essential oil from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. **Biochem. Syst. Ecol.** 35(4), 222–232, 2007.
- THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene Biosynthesis in **Plants Annu. Rev. Plant. Biol.**, 65, 57, 2014.

- TKACHEV, A. V.; DOBROTVORSKY, A. K.; VJALKOV, A. I.; MOROZOV, S. V. Chemical composition of lipophylic compounds from the body surface of unfed adult *Ixodes persulcatus* ticks (Acari: Ixodidae). **Exp. Appl. Acarol.** 24, 145–158, 2000.
- VELOSO, C. C.; SOARES, G. L.; PEREZ, A. C.; RODRIGUES, V. G.; SILVA, F. C. Pharmacological potential of *Maytenus* species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 27, 533–540, 2017.
- WALLER, S. B.; LANA, D. F. D.; QUATRIN, P. M.; FERREIRA, M. R. A.; FUENTEFRIA, A. M.; MEZZARI, A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview **Braz. J. Microb.** 52,73–80, 2021.
- WANG, X., LI, X., CHEN, D. Evaluation of Antioxidant Activity of Isoferulic Acid in vitro. **Nat. Prod. Commun.**, 6(9), 2011.
- WANG, C.-H., WEI, P.-L., GUAN, B., JIN, H.-Z., & ZHANG, W.-D. Chemical Constituents from *Celastrus monospermus*. **Chem. Nat. Compd.**, 50(1), 142–143, 2014.
- WRÓBLEWSKA-KURDYK, A., DANCEWICZ, K., GLISZCZYŃSKA, A., & GABRYŚ, B. Antifeedant Potential of Geranylacetone and Nerylacetone and Their Epoxy-Derivatives against *Myzus persicae* (Sulz.). **Molecules**, 27(24), 8871, 2022.
- YELANI, T., HUSSEIN, A. A., & MEYER, J. J. M. Isolation and identification of poisonous triterpenoids from *Elaeodendron croceum*. **Nat. Prod. Res.**, 24(15), 1418–1425, 2010.
- YOO, H.; KU, S.-K.; BAEK, Y. D.; BAE, J.-S. Anti-inflammatory effects of rutin on HMGB1-induced inflammatory responses in vitro and in vivo. **Inflamm. Res.** 63, 197–206, 2014.
- ZHANG, M., CUI, Z., ZHANG, N., XIE, G., WANG, W., & CHEN, L. Electrophysiological and Behavioral Responses of *Holotrichia parallela* to Volatiles from Peanut. **Insects**, 12(2), 158, 2021.
- ZHANG, L.J.; YANG, X. D.; XU, L.Z.; ZOU, Z.M.; YANG, S.L. A new sterol glycoside from *Securidaca inappendiculata*. **J. Asian Nat. Prod. Res.** 7(4), 649–653, 2005.
- ZHAO, C., ZENG, Y., WAN, M., LI, R., LIANG, Y., LI, C., ZENG, Z., & CHAU, F. Comparative analysis of essential oils from eight herbal medicines with pungent flavor and cool nature by GC–MS and chemometric resolution methods. **J. Sep. Sci.**, 32(4), 660–670, 2009.
- ZHAO, Y., LI, J., XU, Y., DUAN, H., FAN, W., & ZHAO, G. Extraction, preparation and identification of volatile compounds in Changyu XO Brandy. **Chin. J. Chromatogr.**, 26(2), 212–222, 2008.

ZHAO, C., LI, X., LIANG, Y., FANG, H., HUANG, L.-F., & GUO, F. Comparative analysis of chemical components of essential oils from different samples of *Rhododendron* with the help of chemometrics methods. **Chemom. Intell. Lab. Syst.**, 82(1–2), 218–228, 2006.

ZHAO, Y., WANG, X., WANG, Z., LU, Y., FU, C., & CHEN, S. Essential oil of *Actinidia macrosperma*, a catnip response kiwi endemic to China. **J. Zhejiang Univ., Sci., B**, 7(9), 708–712, 2006.

APÊNDICE A – CAPÍTULO 1 - ESPECTROS DE RMN, CROMATOGRAMAS, ESPECTROS DE MASSAS, ESPECTROS NO UV E ESPECTROS NO IV

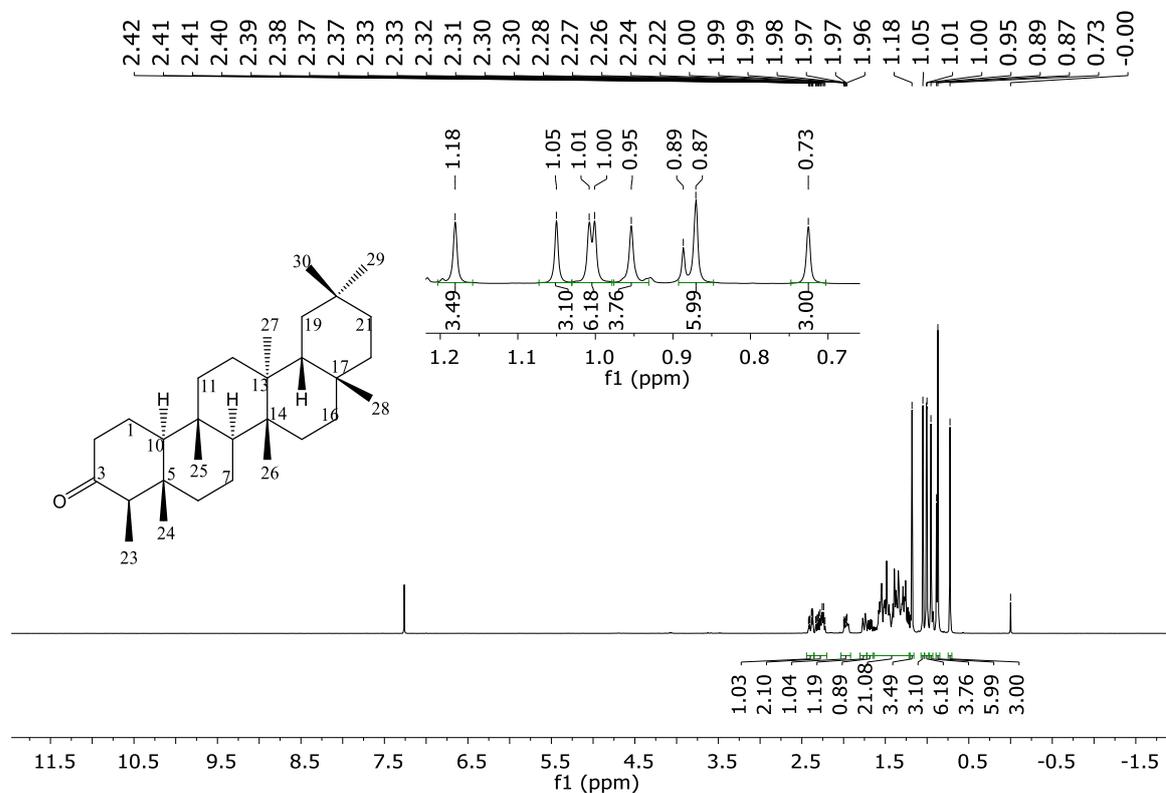


Figura A1: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SE01

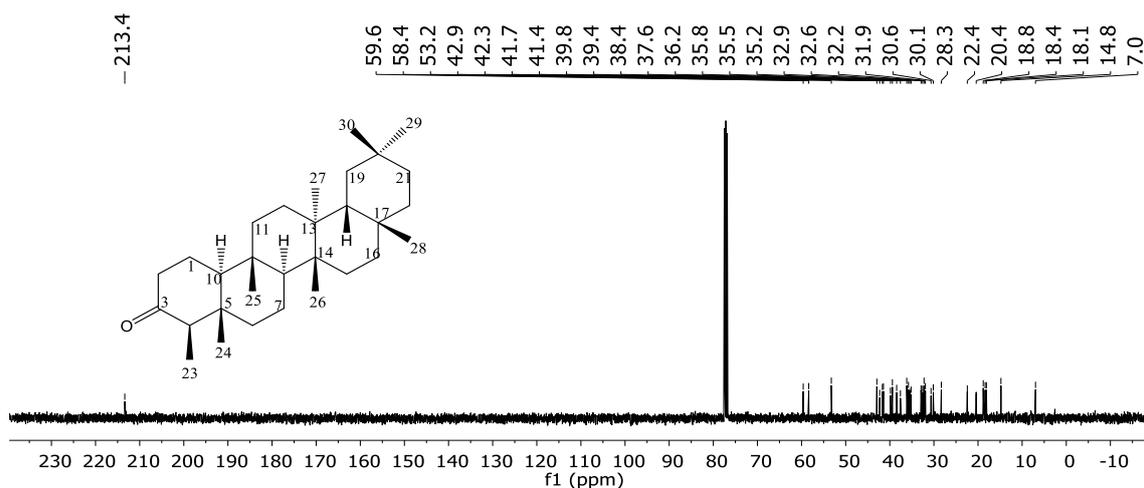


Figura A2: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SE01

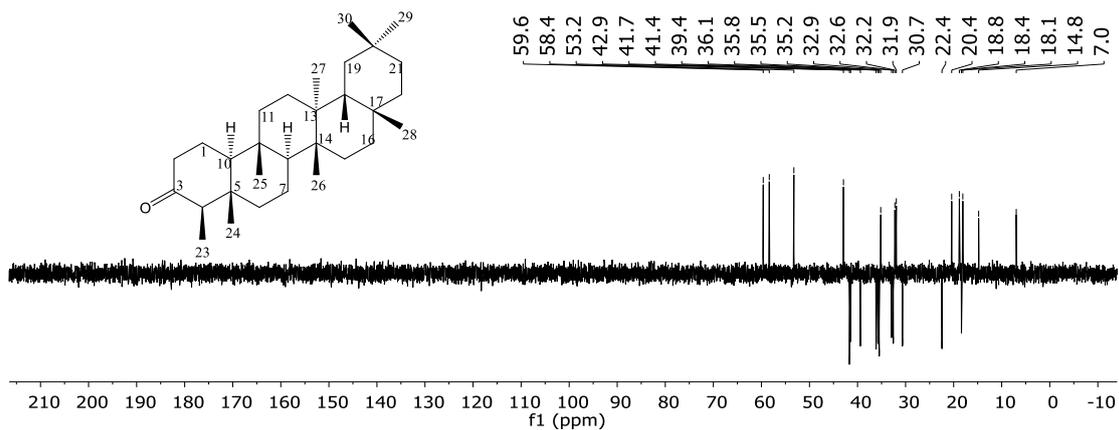


Figura A3: Espectro DEPT-135 (100 MHz, $CDCl_3$) de SE01

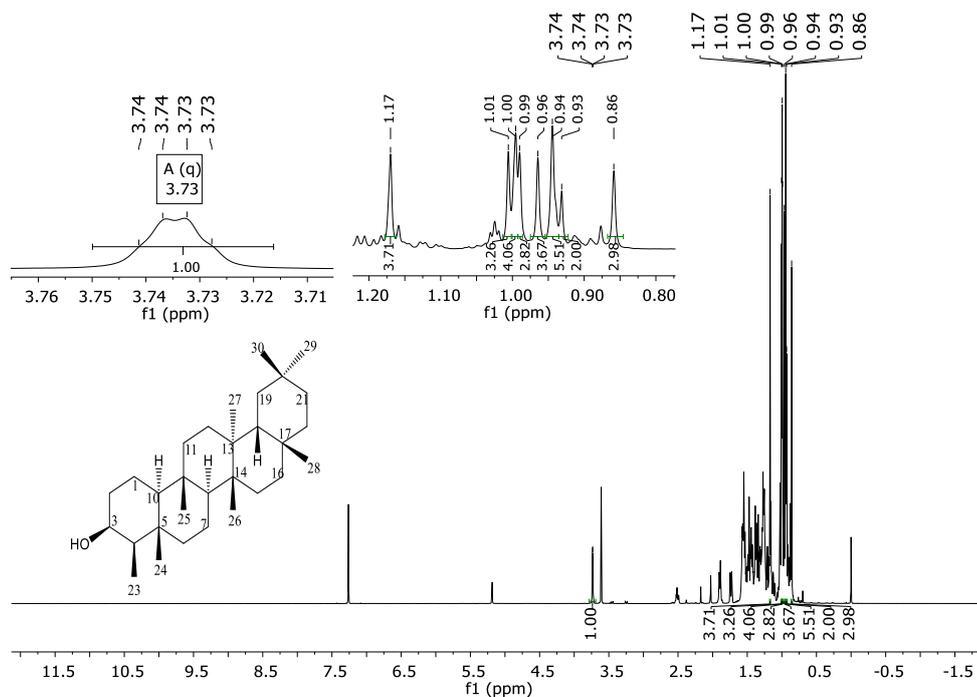


Figura A4: Espectro de RMN de 1H (600 MHz, $CDCl_3$) de SE02

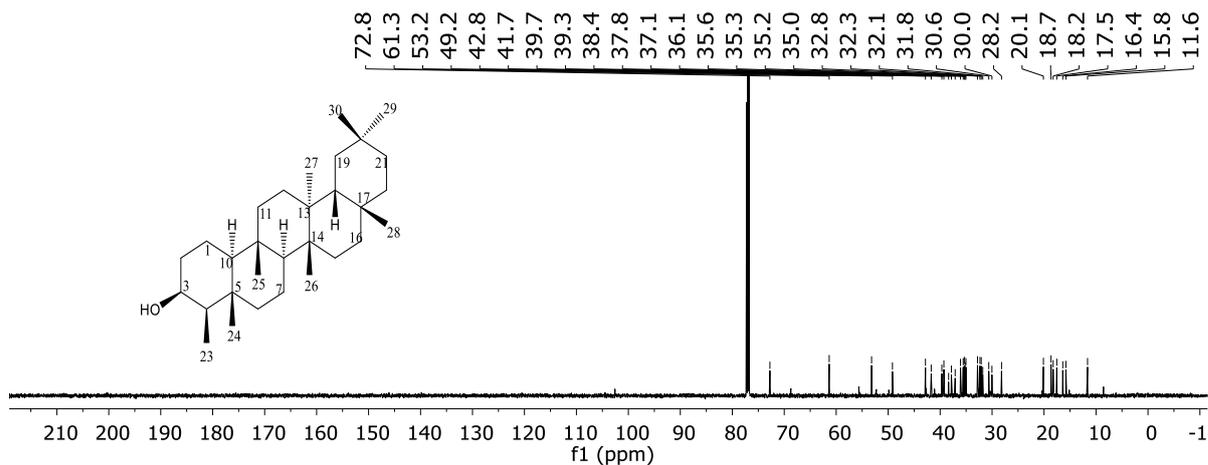


Figura A5: Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SE02

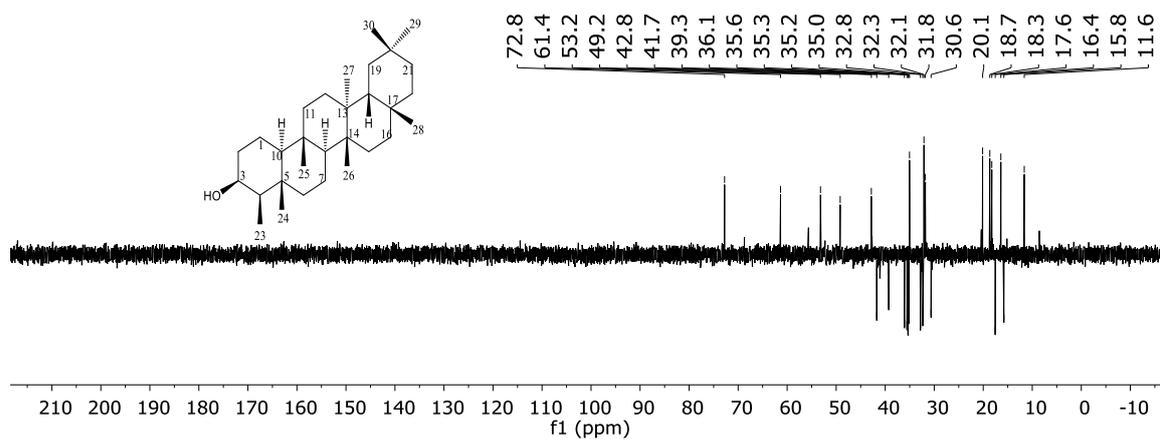


Figura A6: Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) de SE02

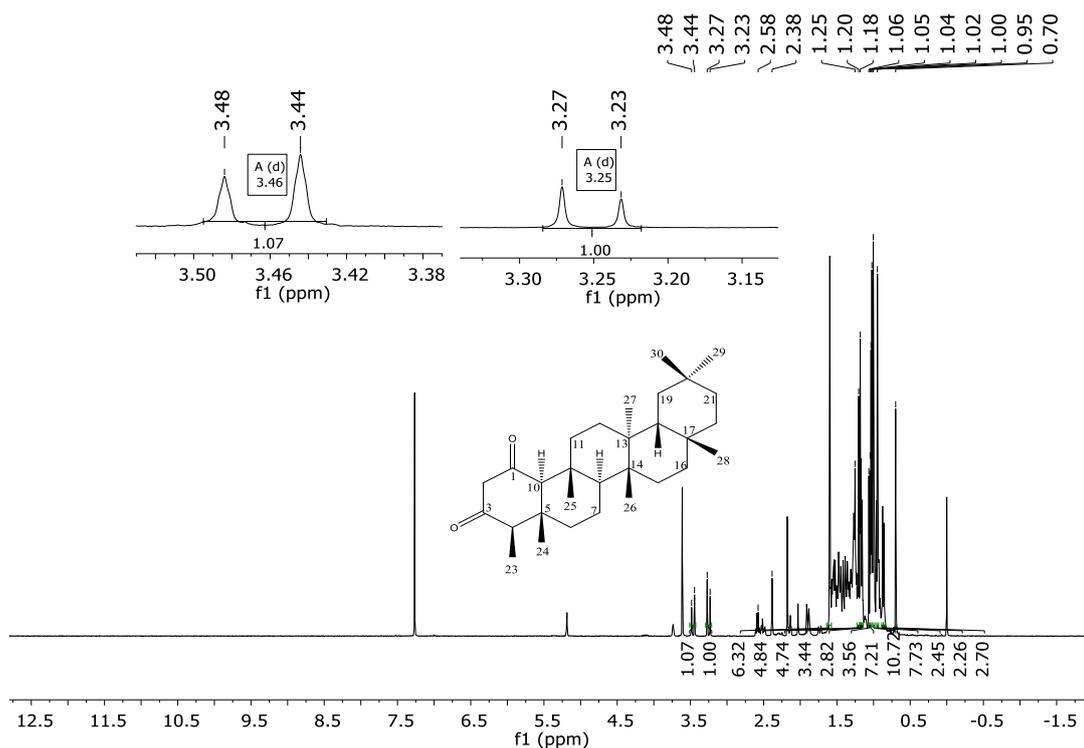


Figura A7: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura SE02 e SE03

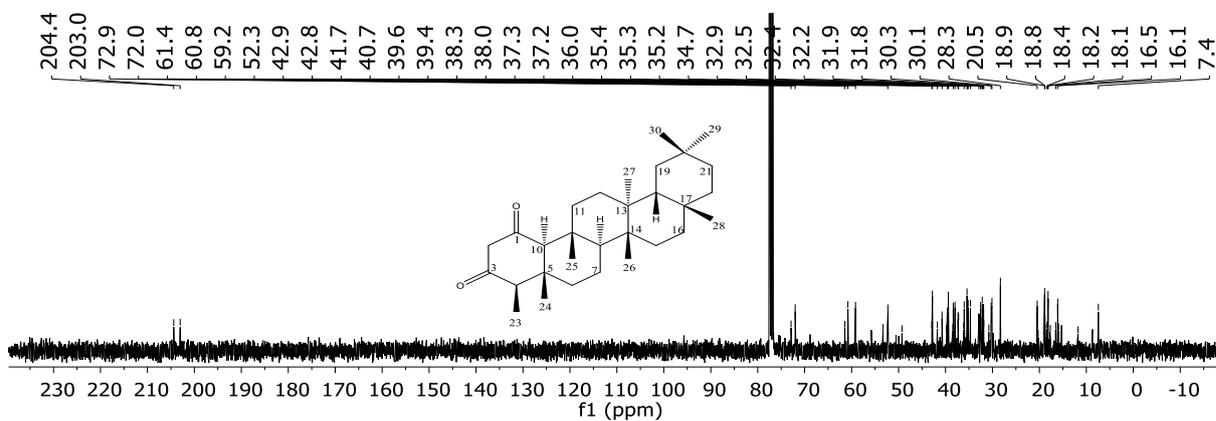


Figura A8: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da mistura SE02 e SE03

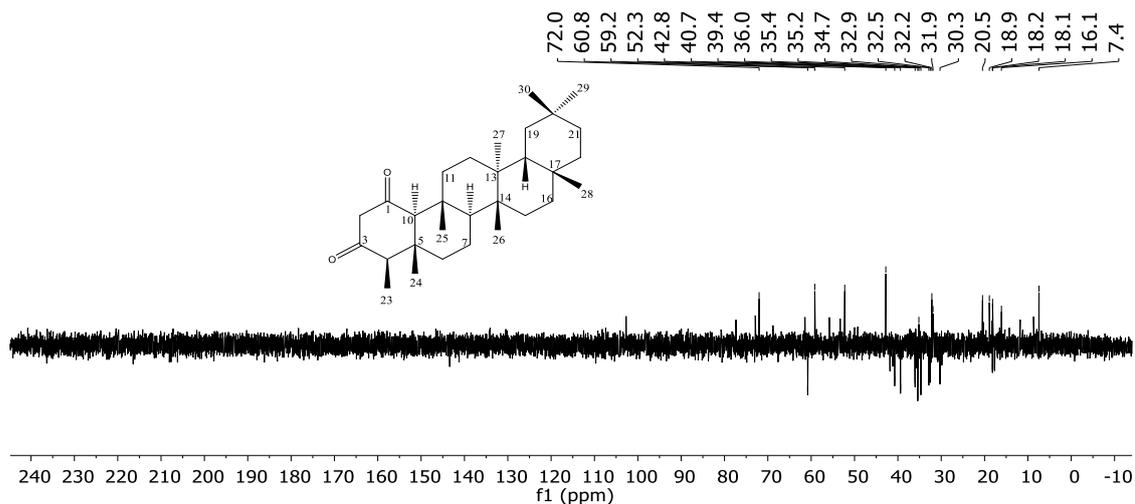


Figura A9: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) da mistura SE02 e SE03

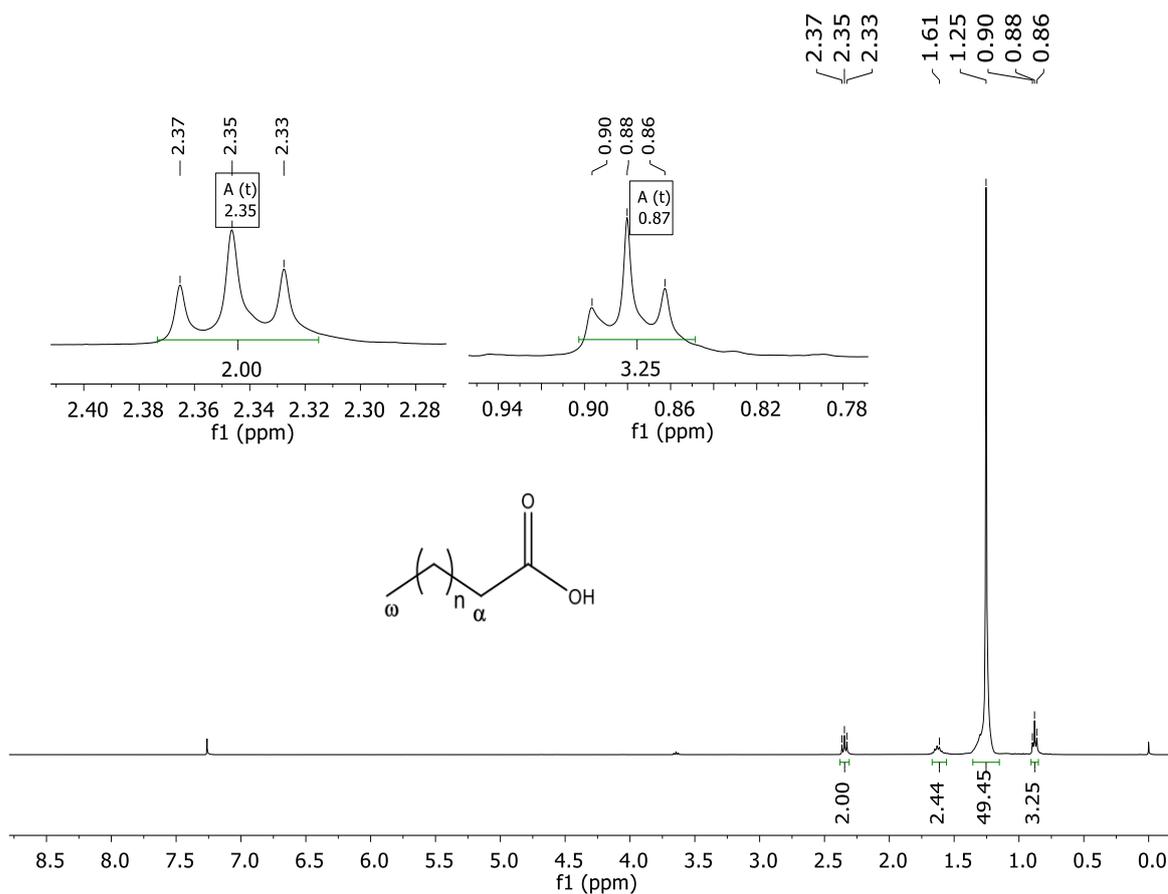


Figura A10: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de SE04

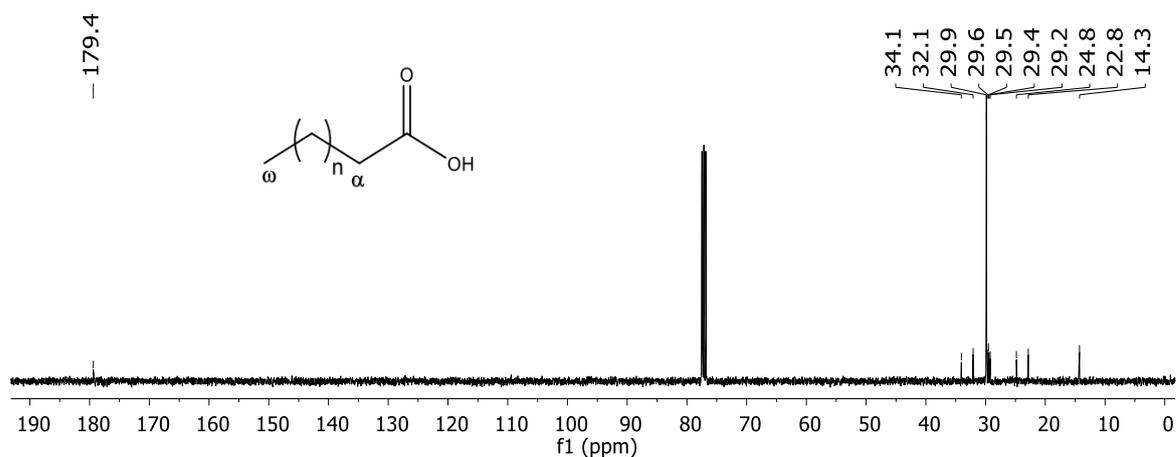


Figura A11: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **SE04**

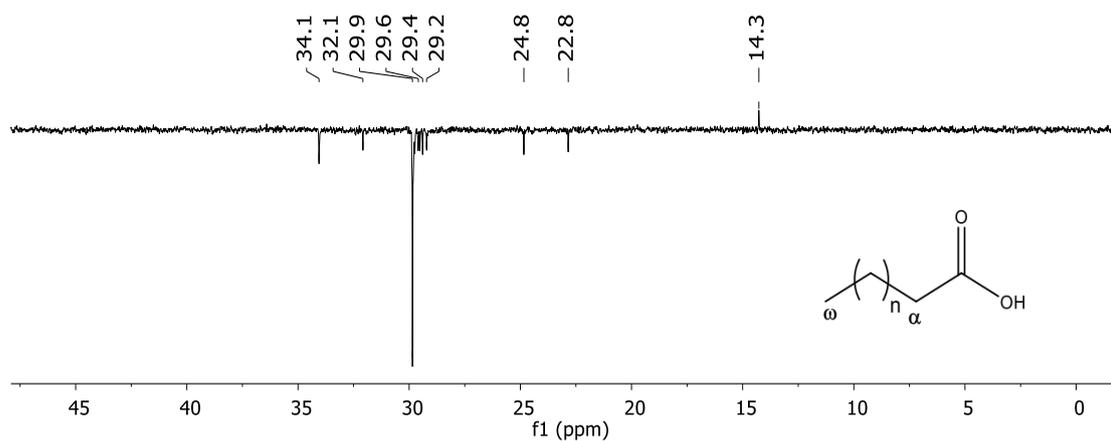


Figura A12: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de **SE04**

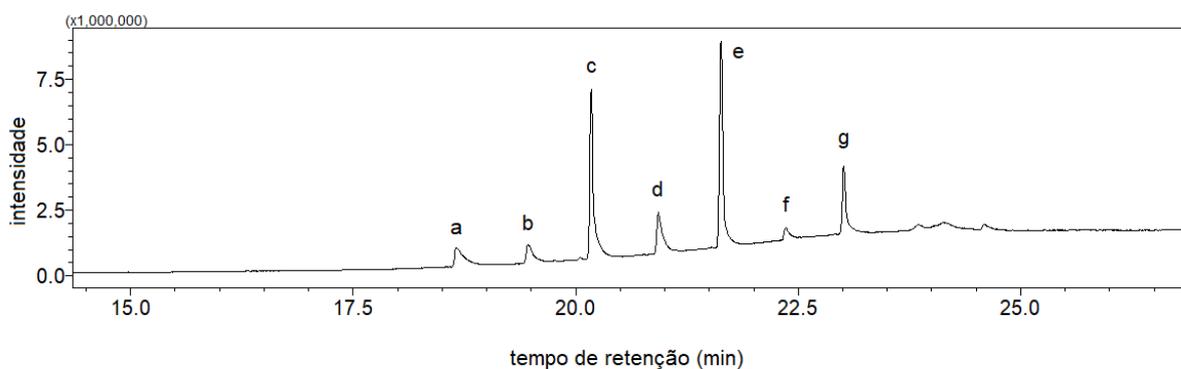


Figura A13: Cromatograma dos ésteres gerados da derivatização da mistura **SE04** obtido por CG. (Condições de análise: Capítulo 1, Pág. 39)

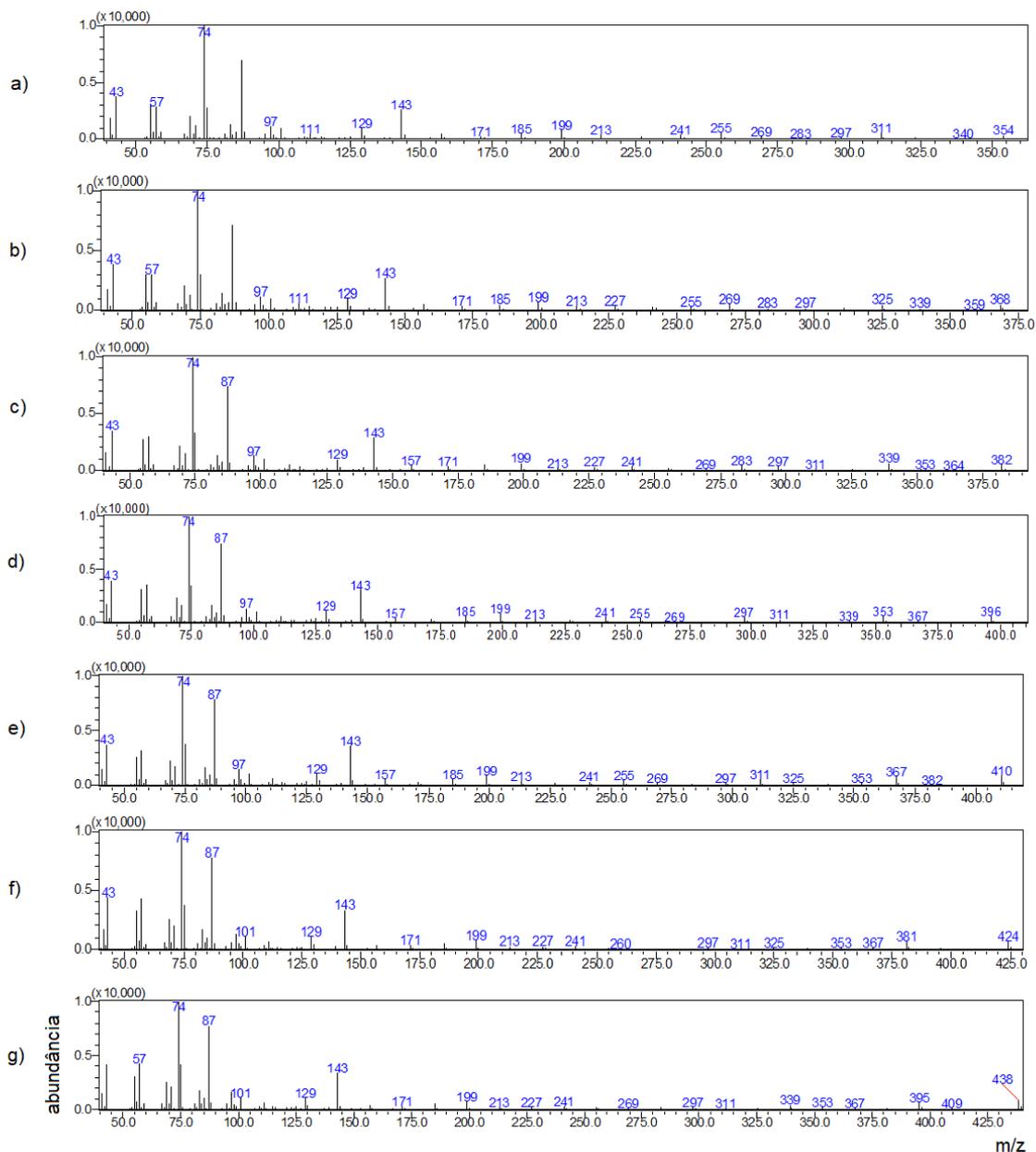


Figura A14: Espectros de massas dos ésteres gerados (a-g) da derivatização da mistura SE04

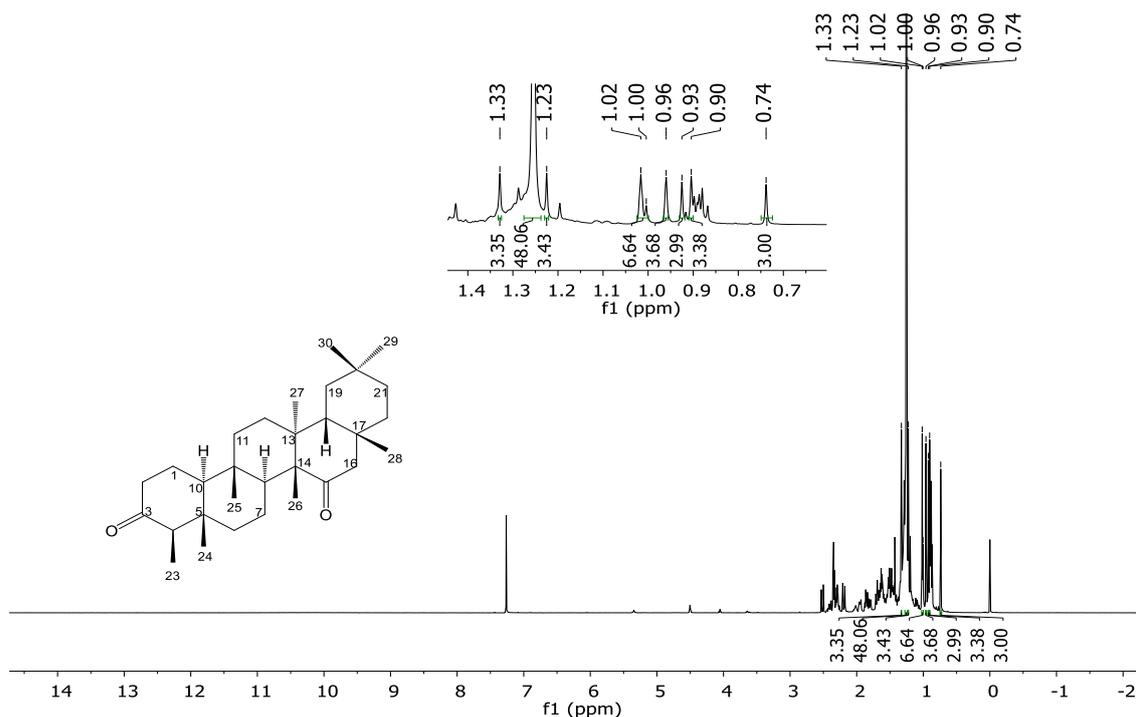


Figura A15: Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de **SE05**

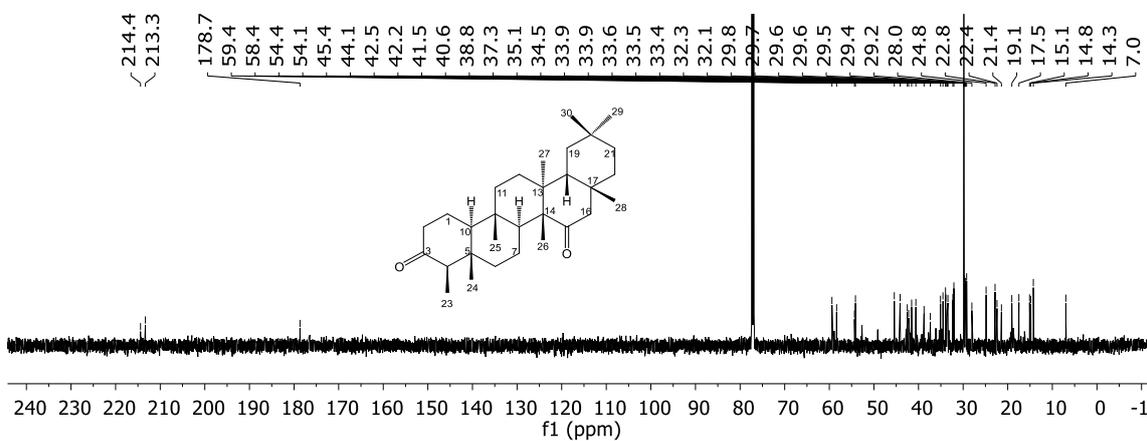


Figura A16: Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **SE05**

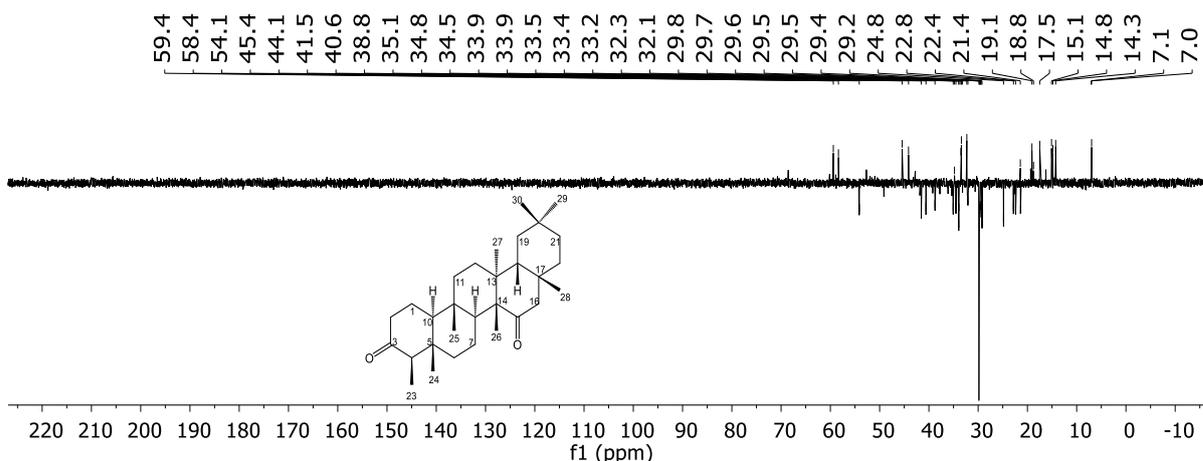


Figura A17: Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl₃) de SE05

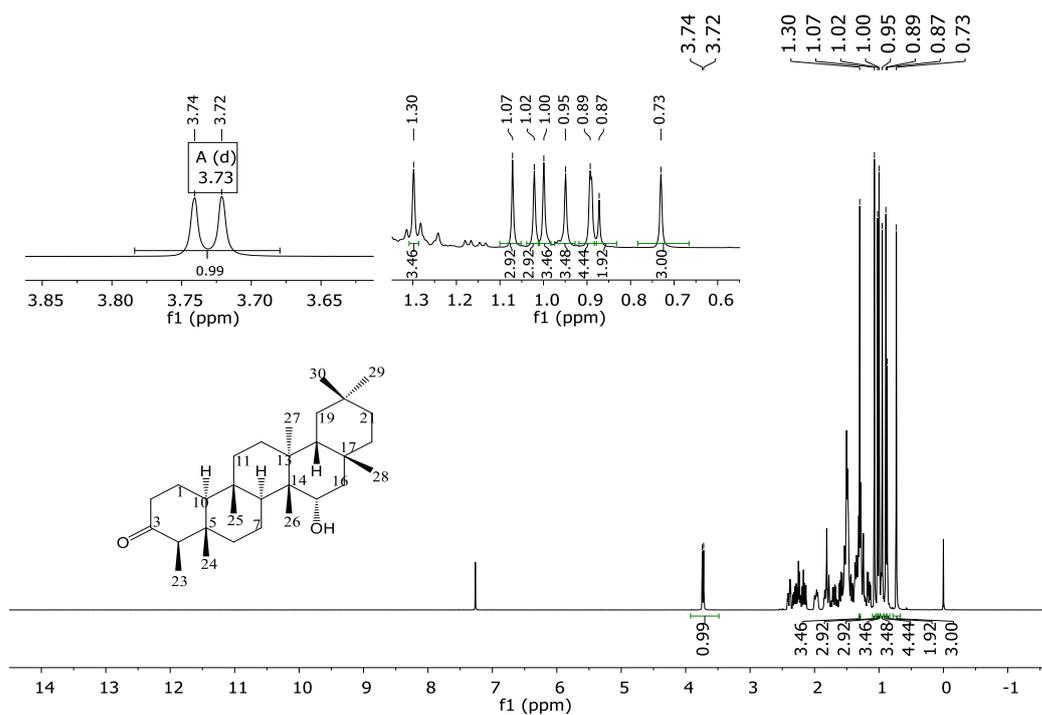


Figura A18: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de SE06

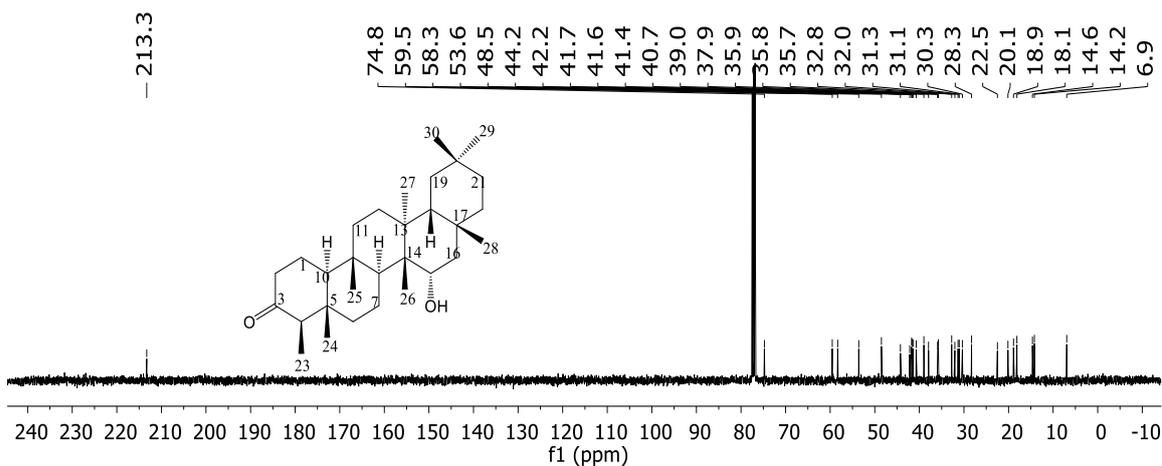


Figura A19: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SE06

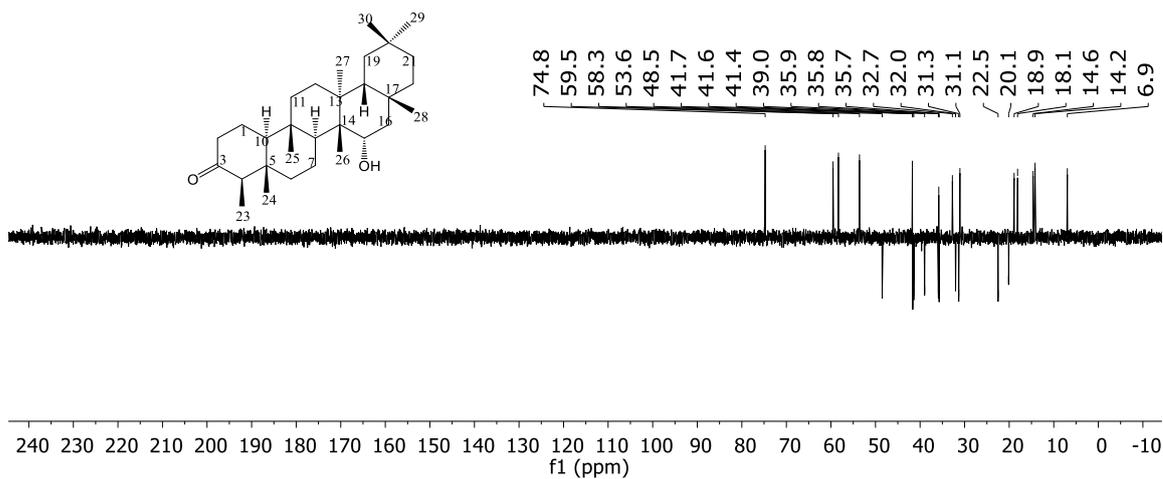


Figura A20: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de SE06

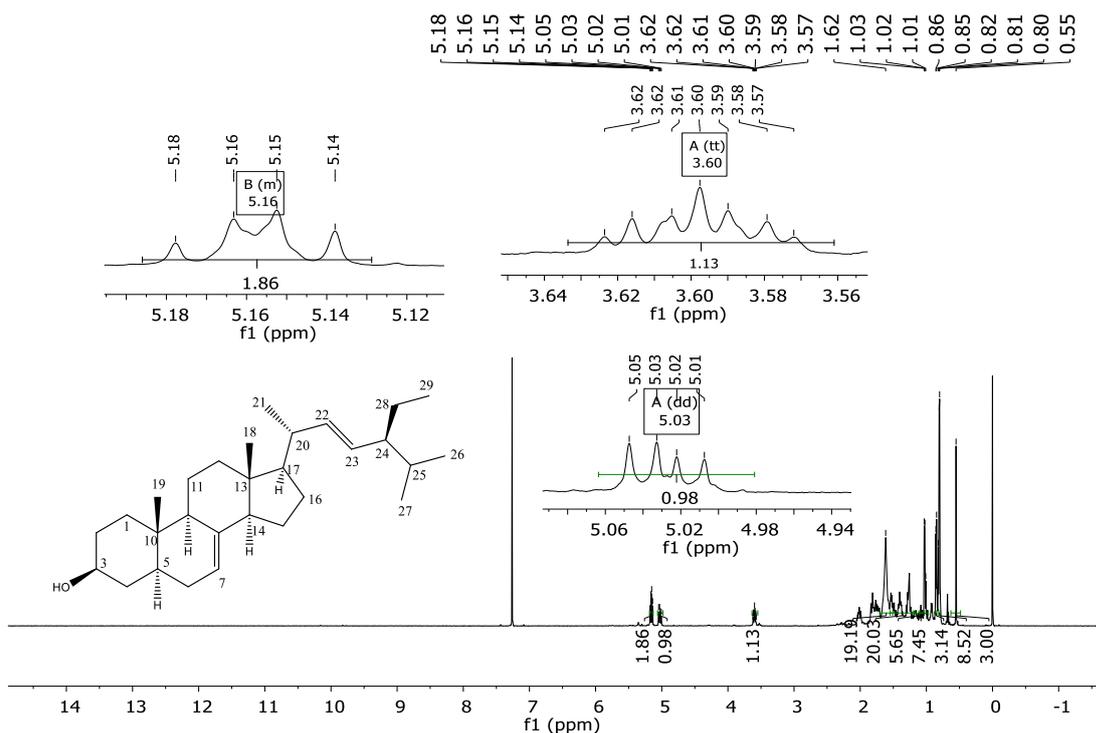


Figura A21: Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) de SE07

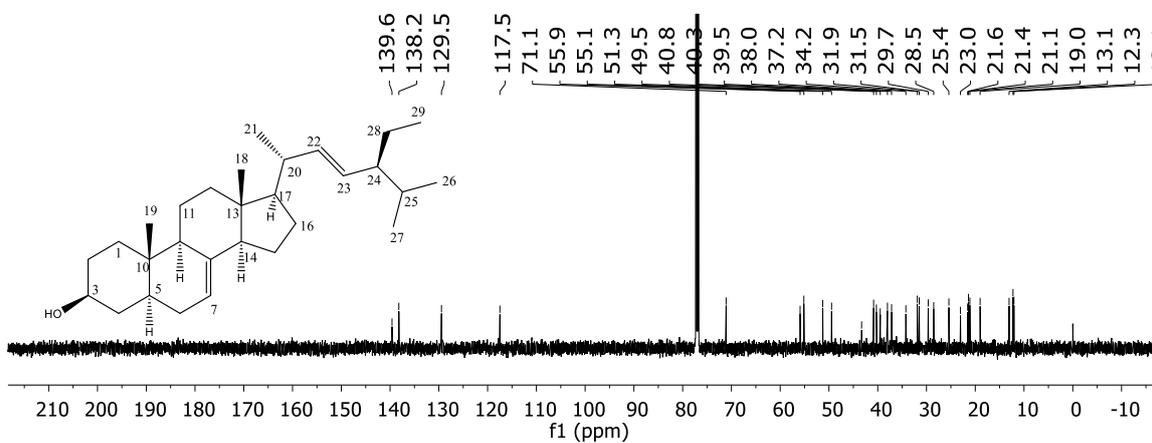


Figura A22: Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de SE07

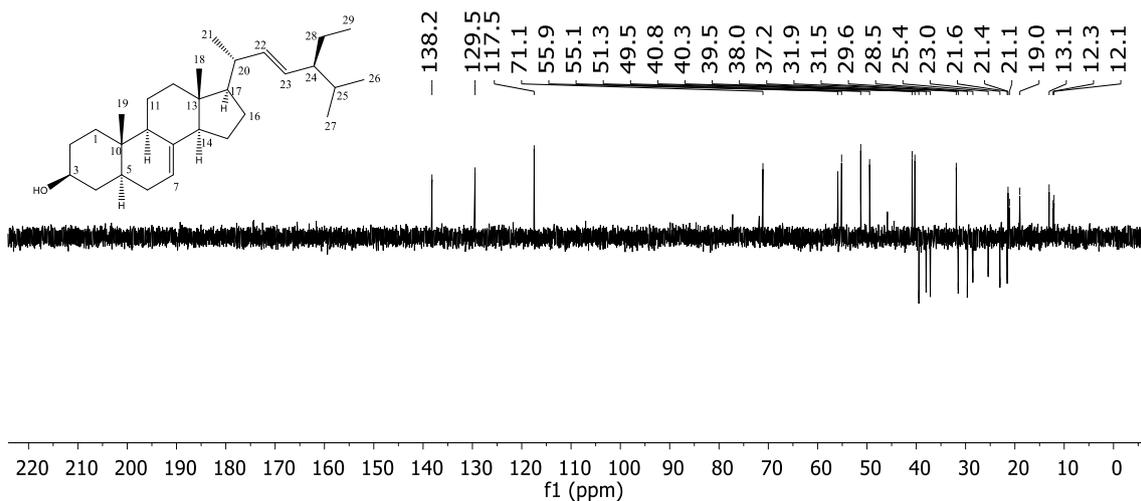


Figura A23: Espectro DEPT-135 (150 MHz, CDCl₃) de SE07

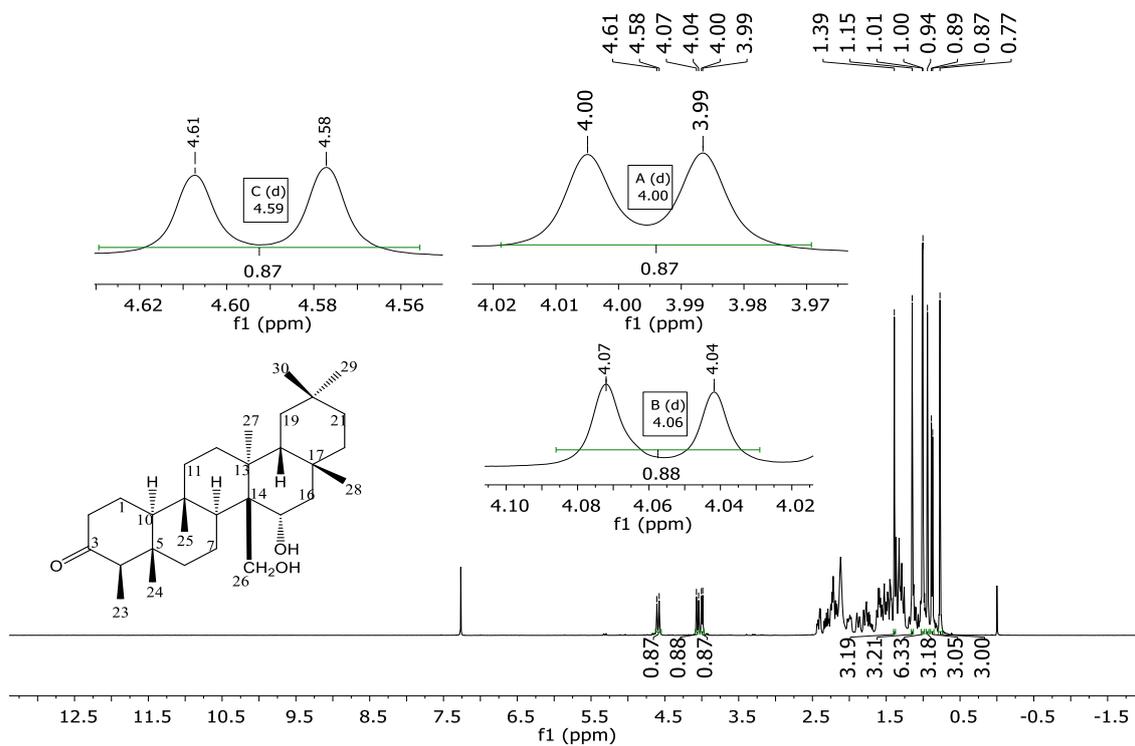


Figura A24: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de SE08

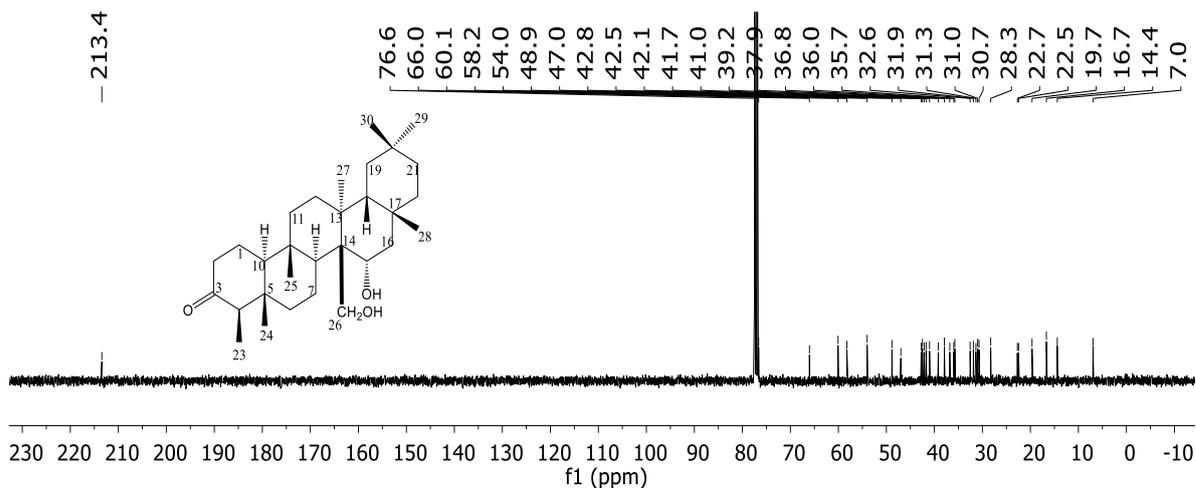


Figura A25: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SE08

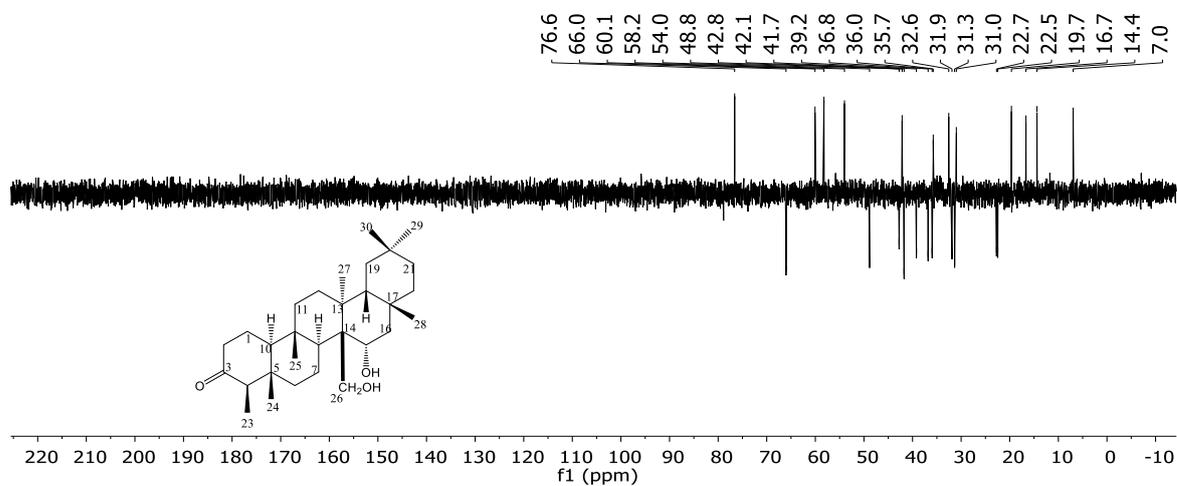


Figura A26: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de SE08

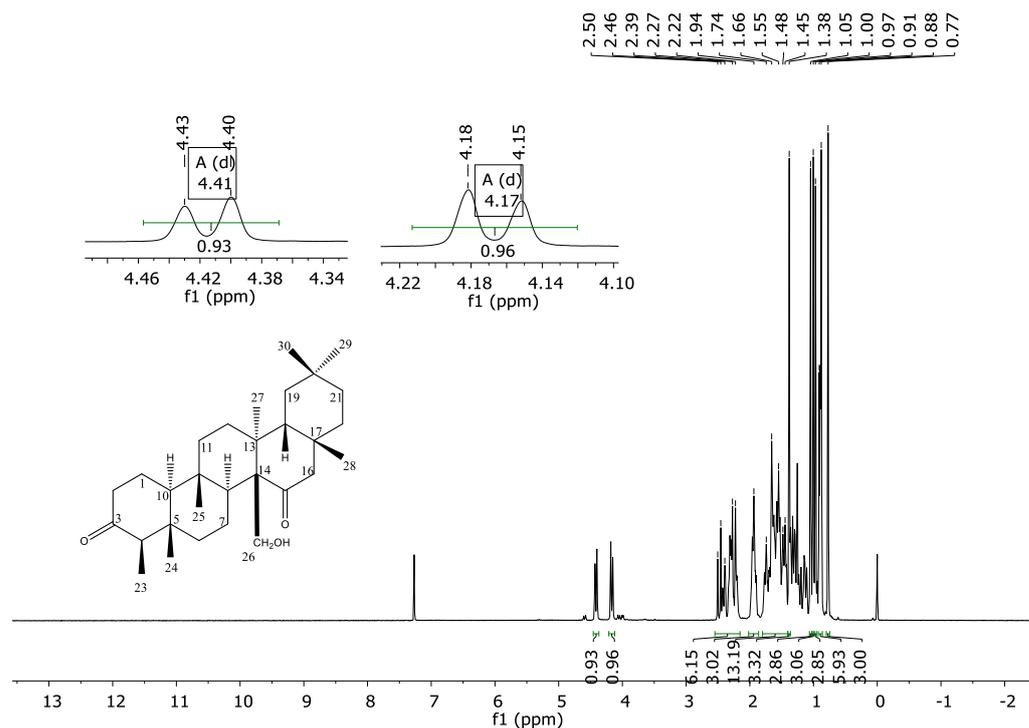


Figura A27: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SE09

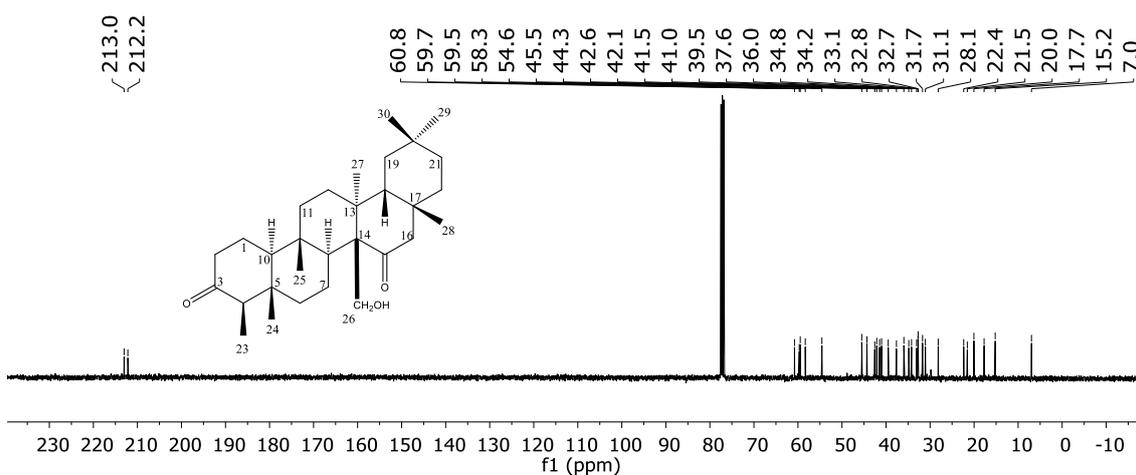


Figura A28: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SE09

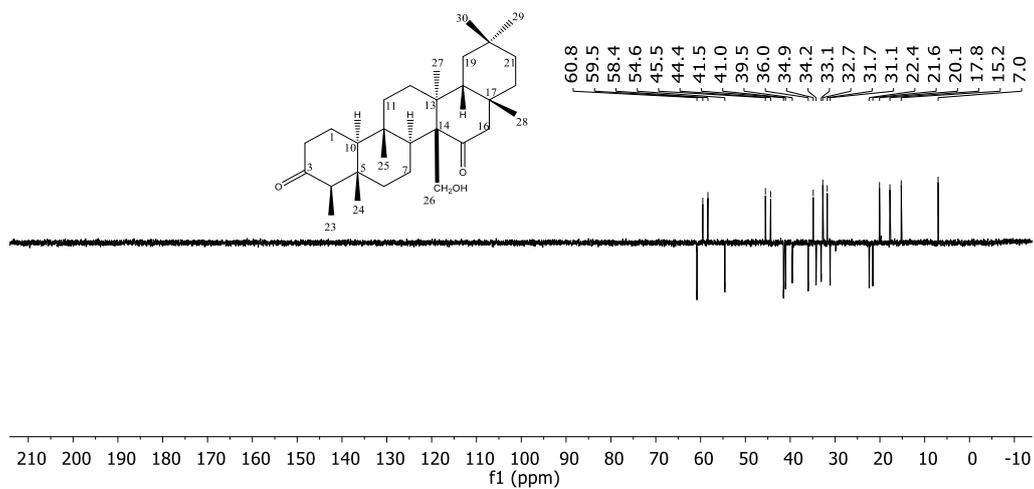


Figura A29: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de SE09

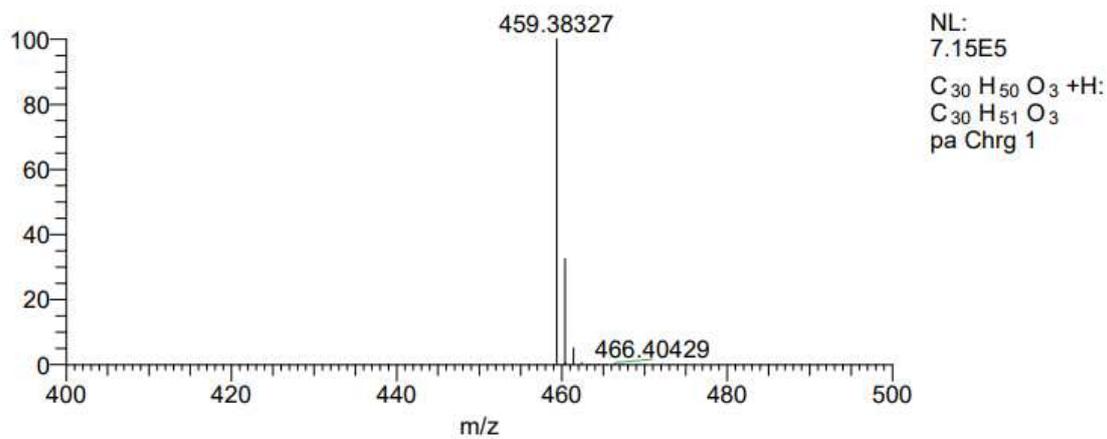


Figura A30: Espectro de HR-APCI-MS de SE10

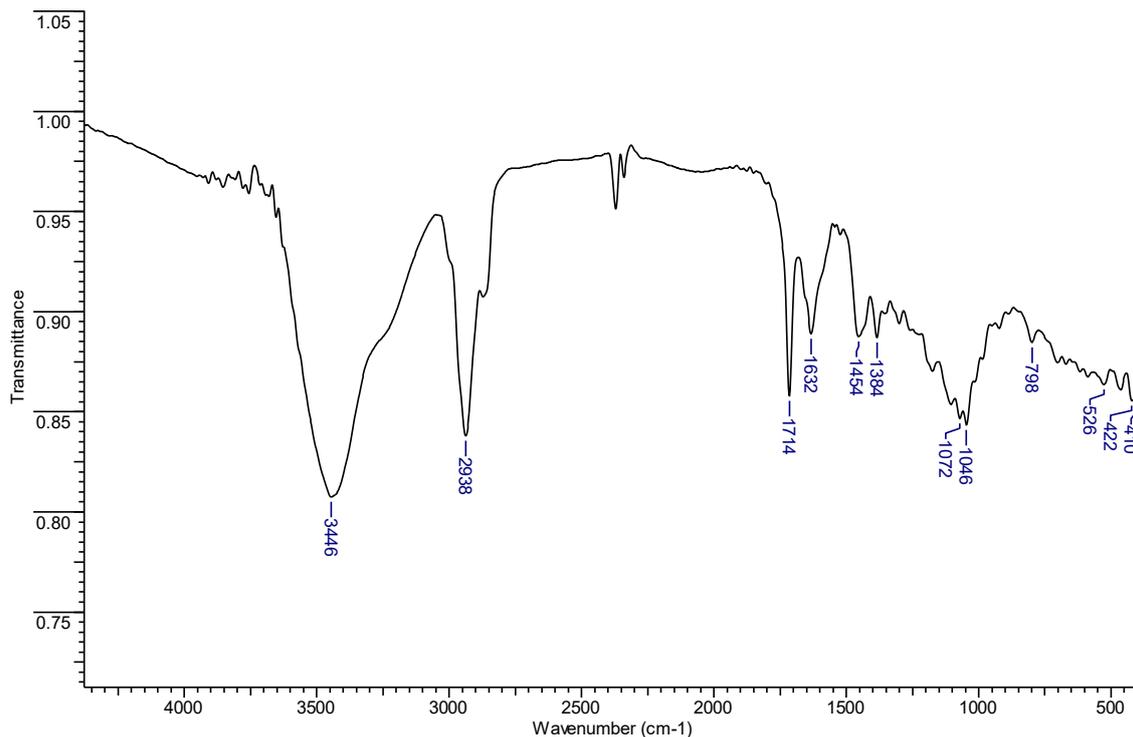


Figura A31: Espectro na região do IV de SE10

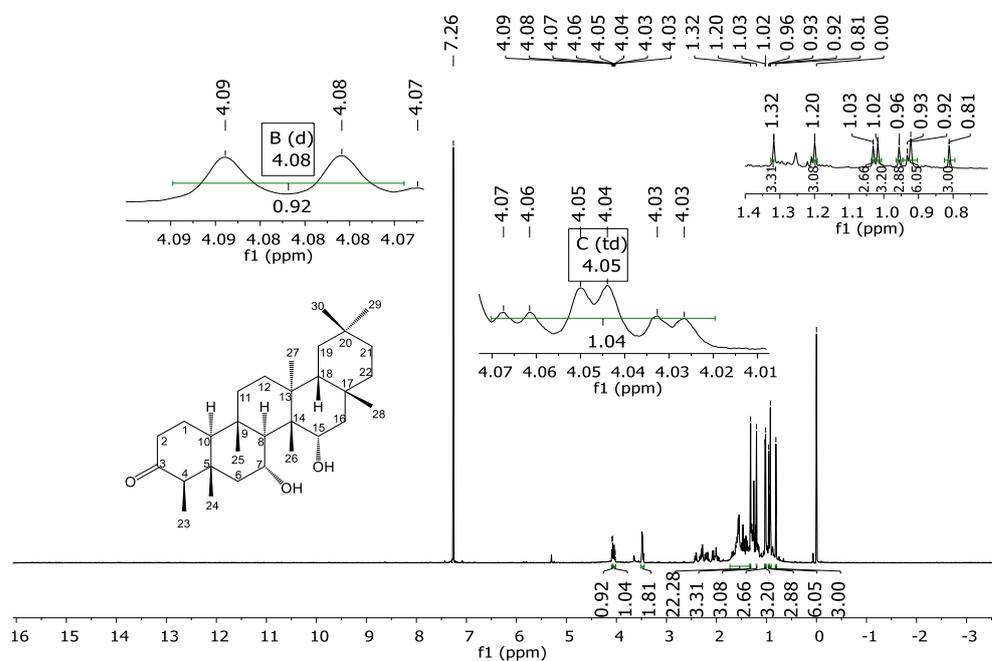


Figura A32: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de SE10

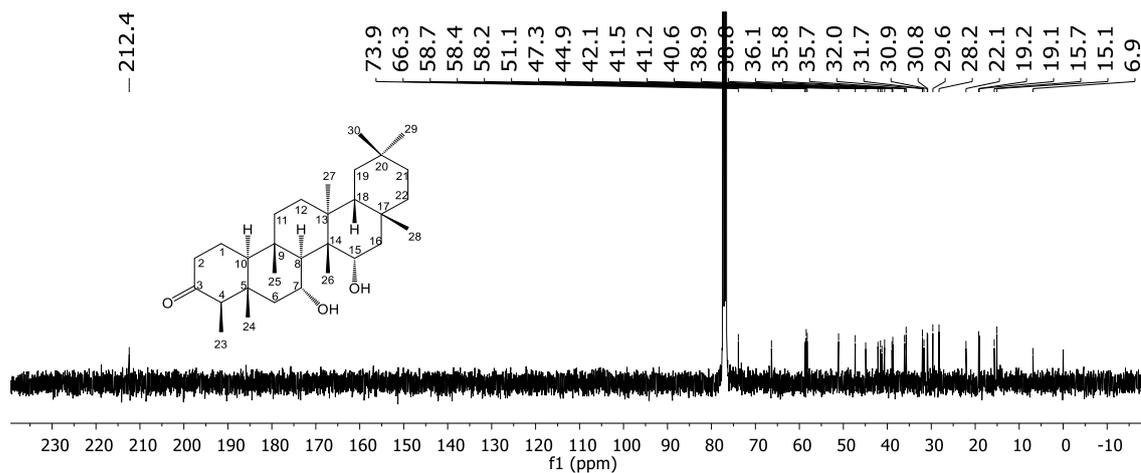


Figura A33: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de SE10

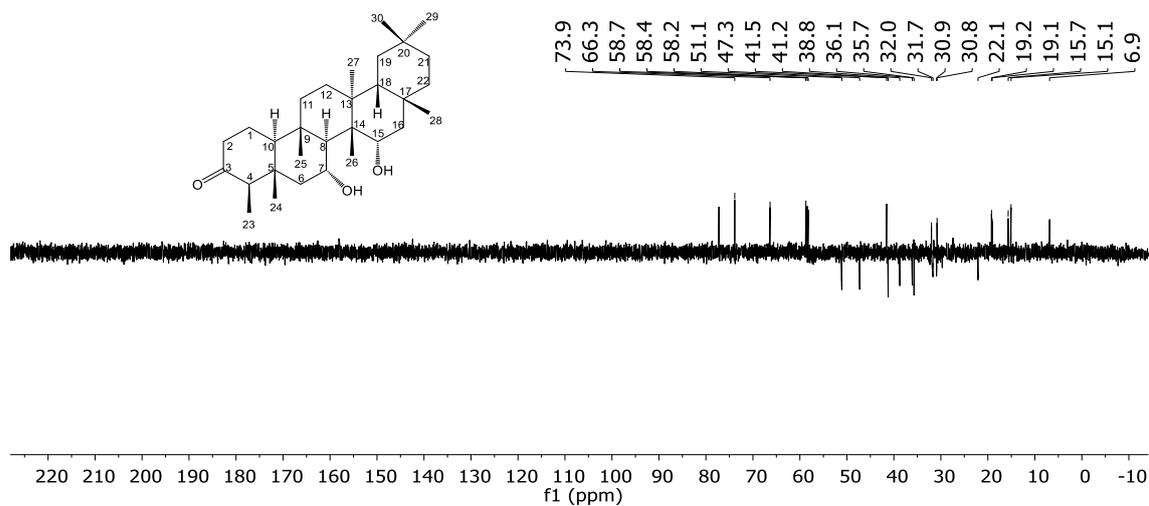
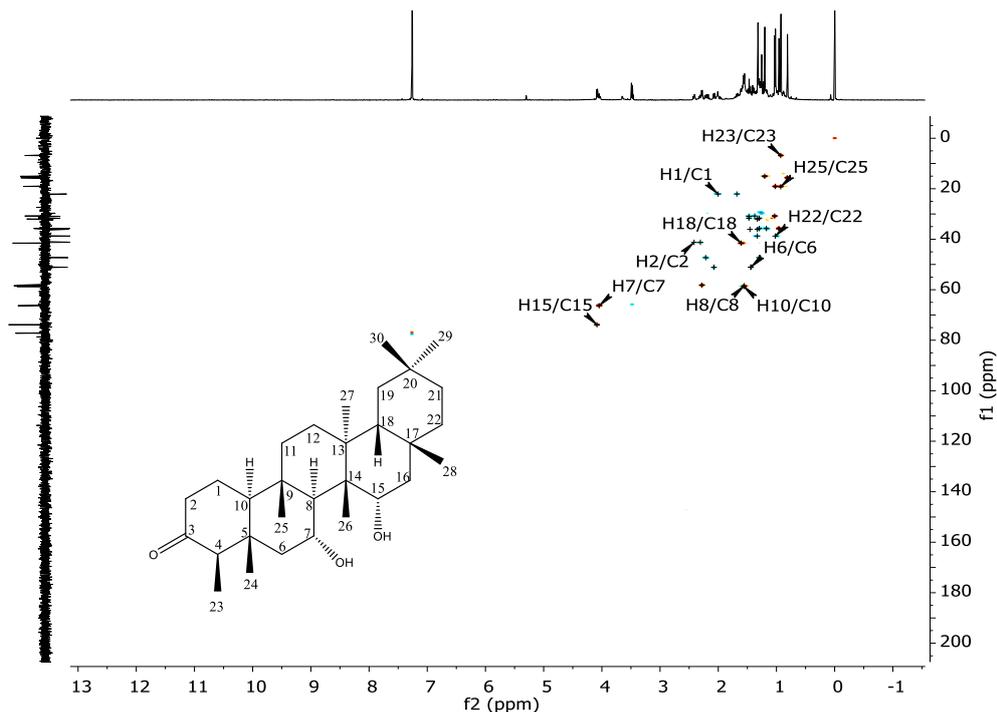
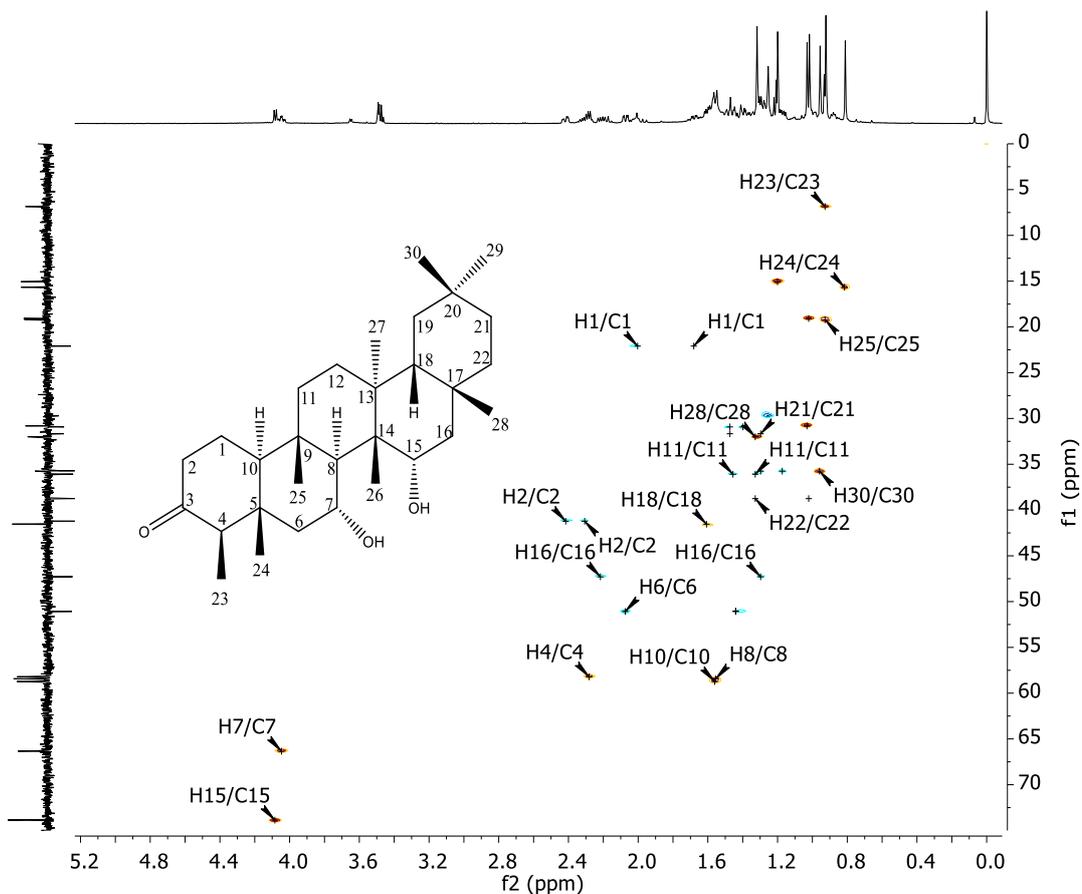


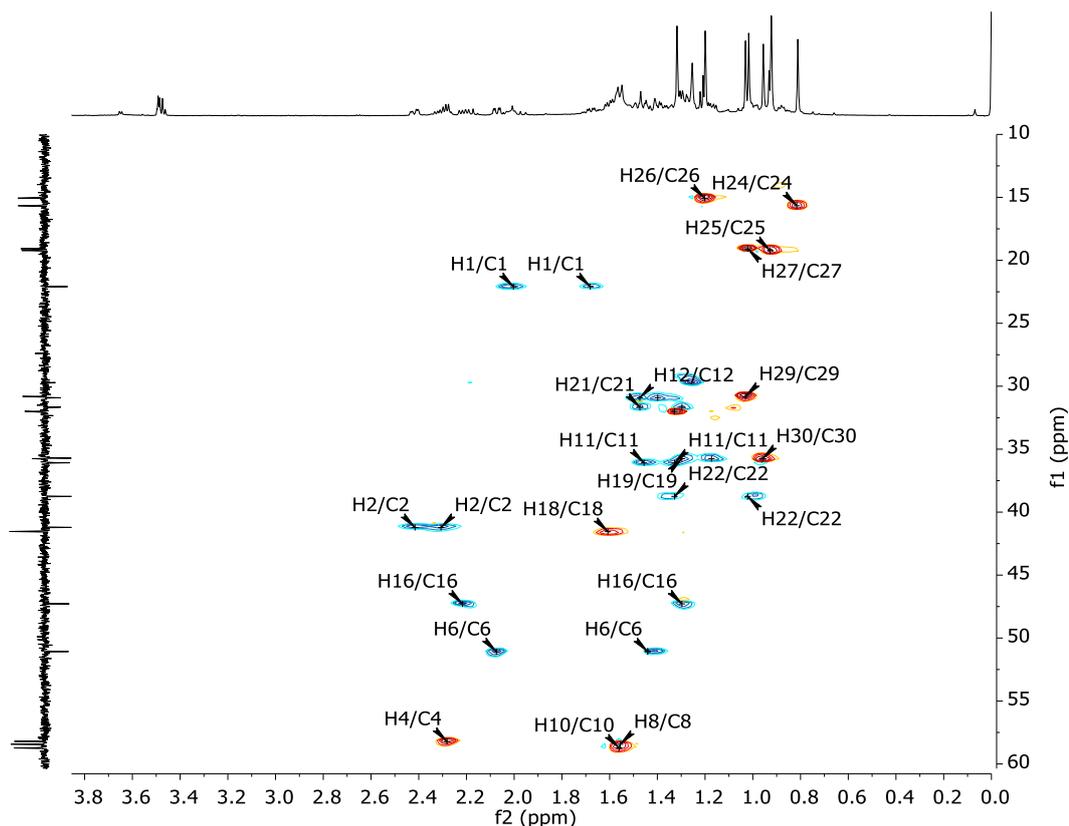
Figura A34: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de SE10



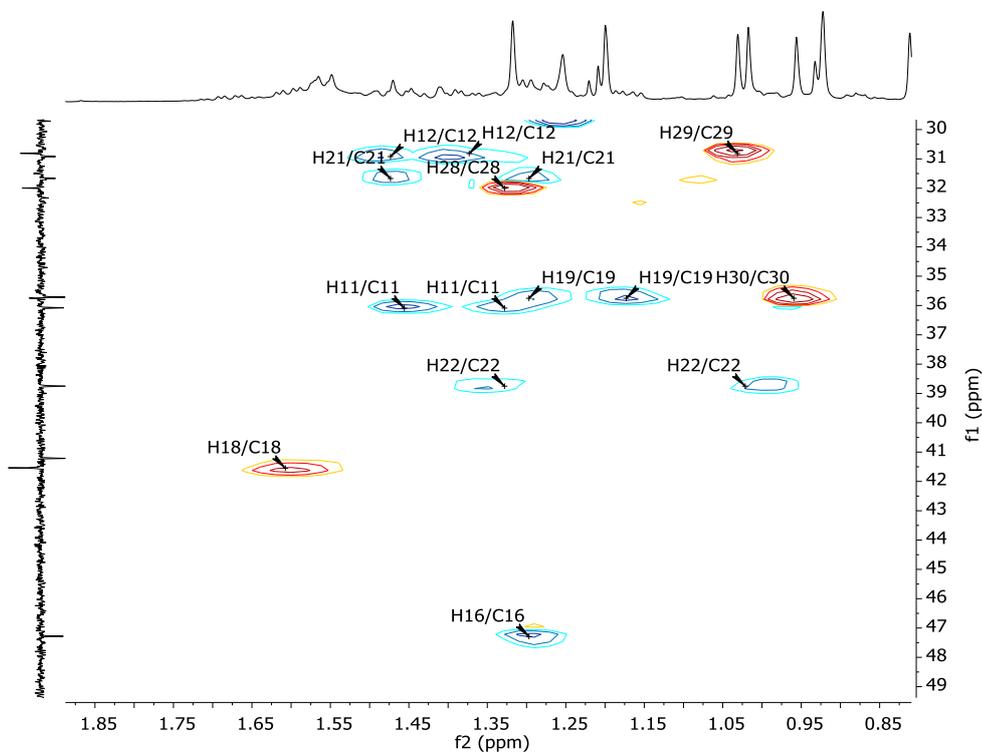
Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**



Expansão (1) – Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

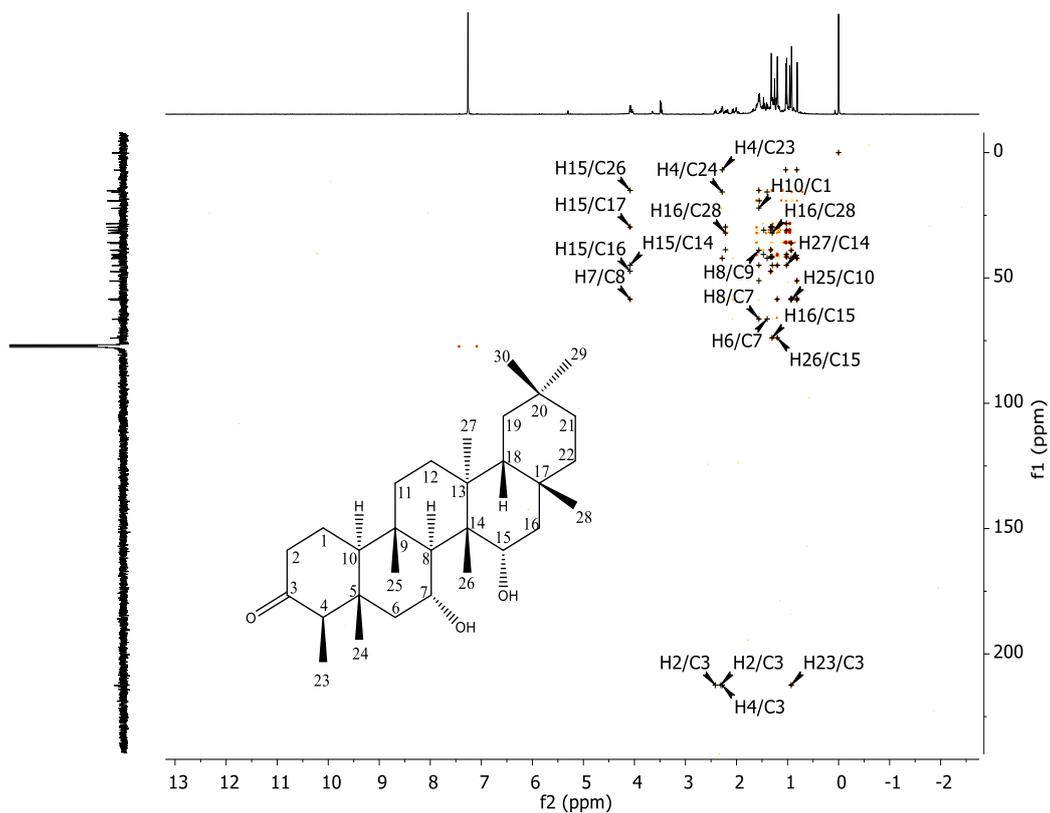


Expansão (2) – Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

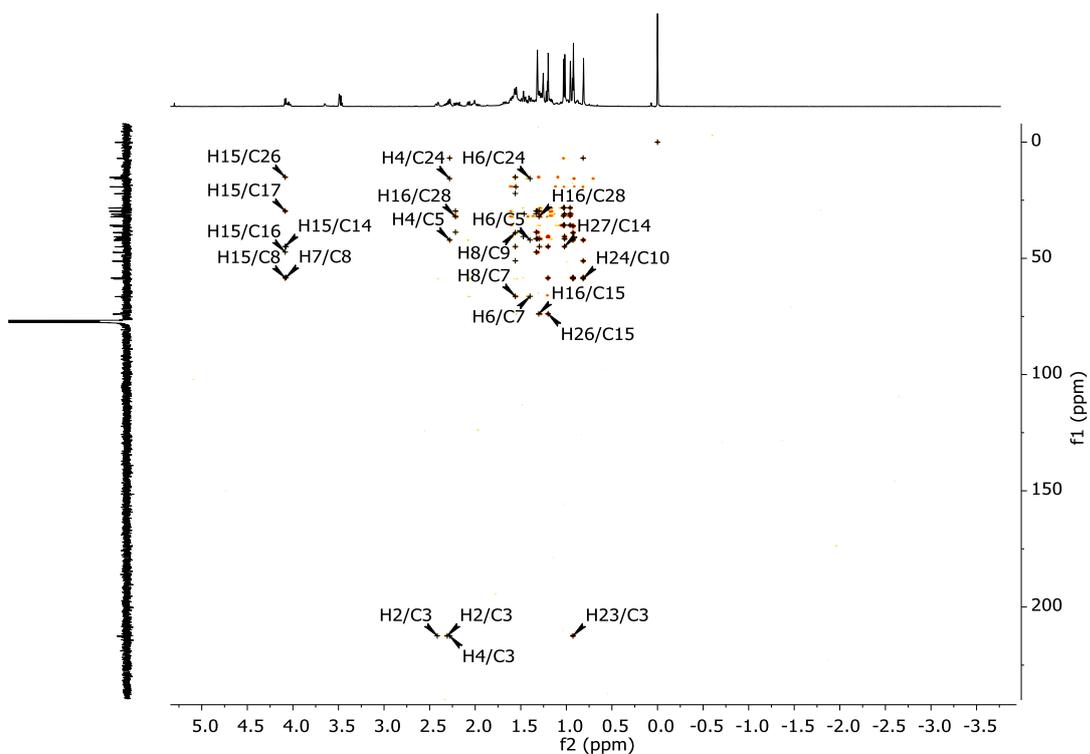


Expansão (3) – Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

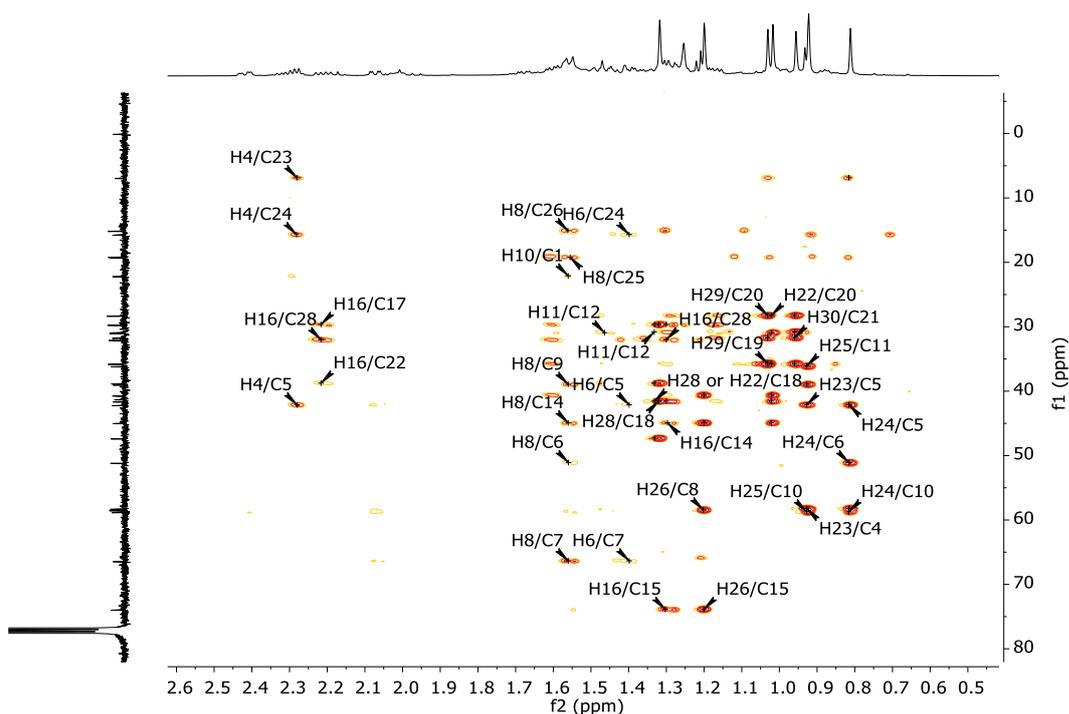
Figura A35: Mapa de contornos HSQC (600 MHz, CDCl₃) e expansão (1), (2) e (3) de **SE10**



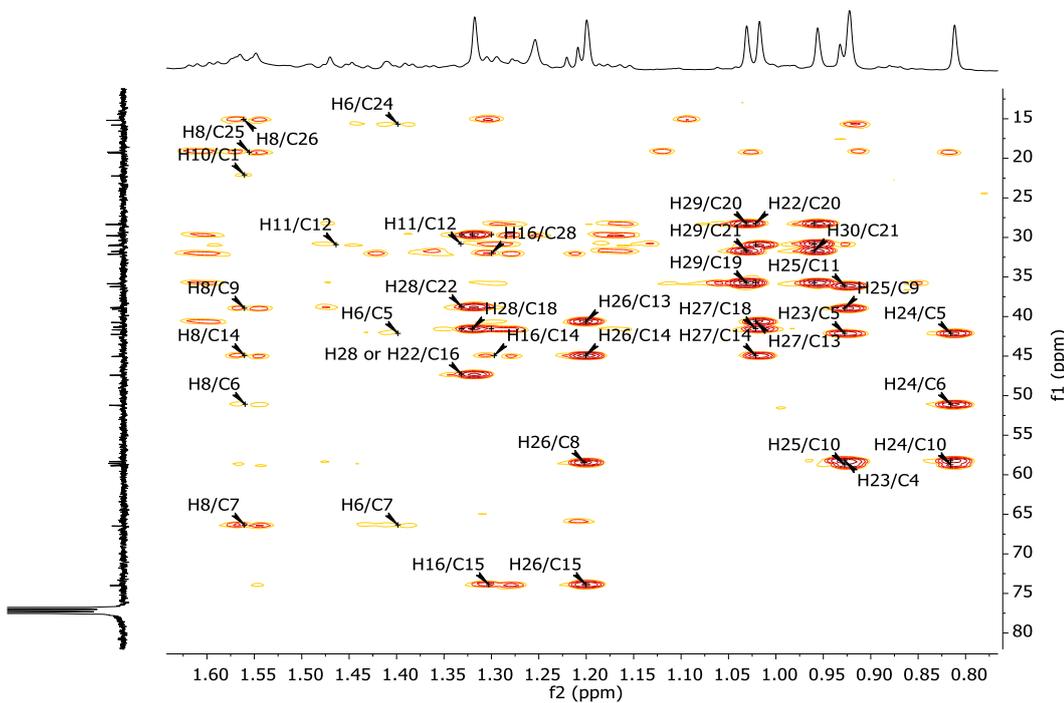
Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**



Expansão (1) – Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

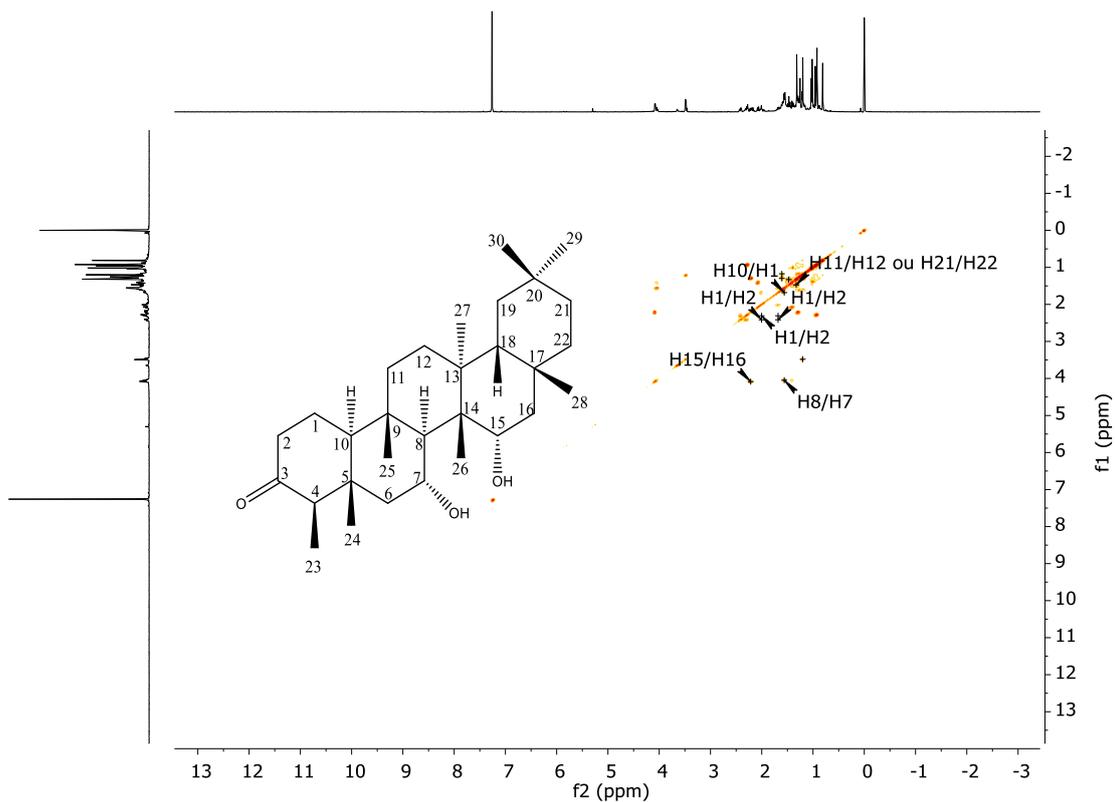


Expansão (2) – Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

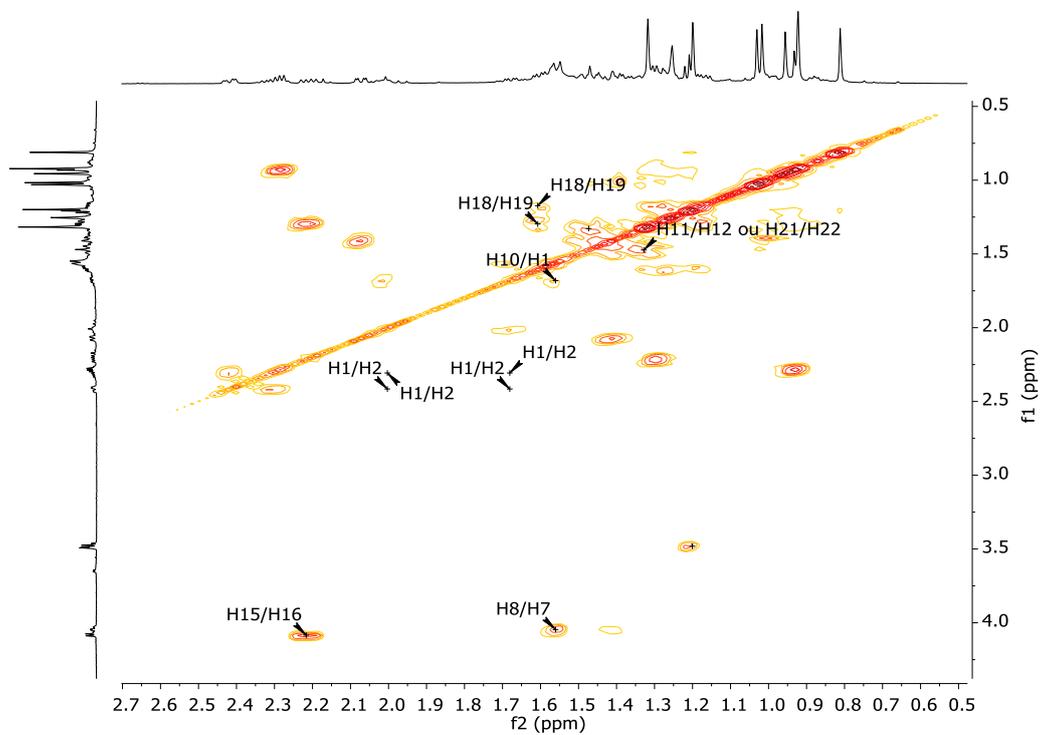


Expansão (3) – Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl₃) de **SE10**

Figura A36: Mapa de contornos HMBC (600 MHz, CDCl₃) e expansão (1), (2) e (3) de **SE10**



Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl₃) de SE10



Expansão (1) – Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl₃) de SE10

Figura A37: Mapa de contornos COSY (600 MHz, CDCl₃) e expansão (1) de SE10

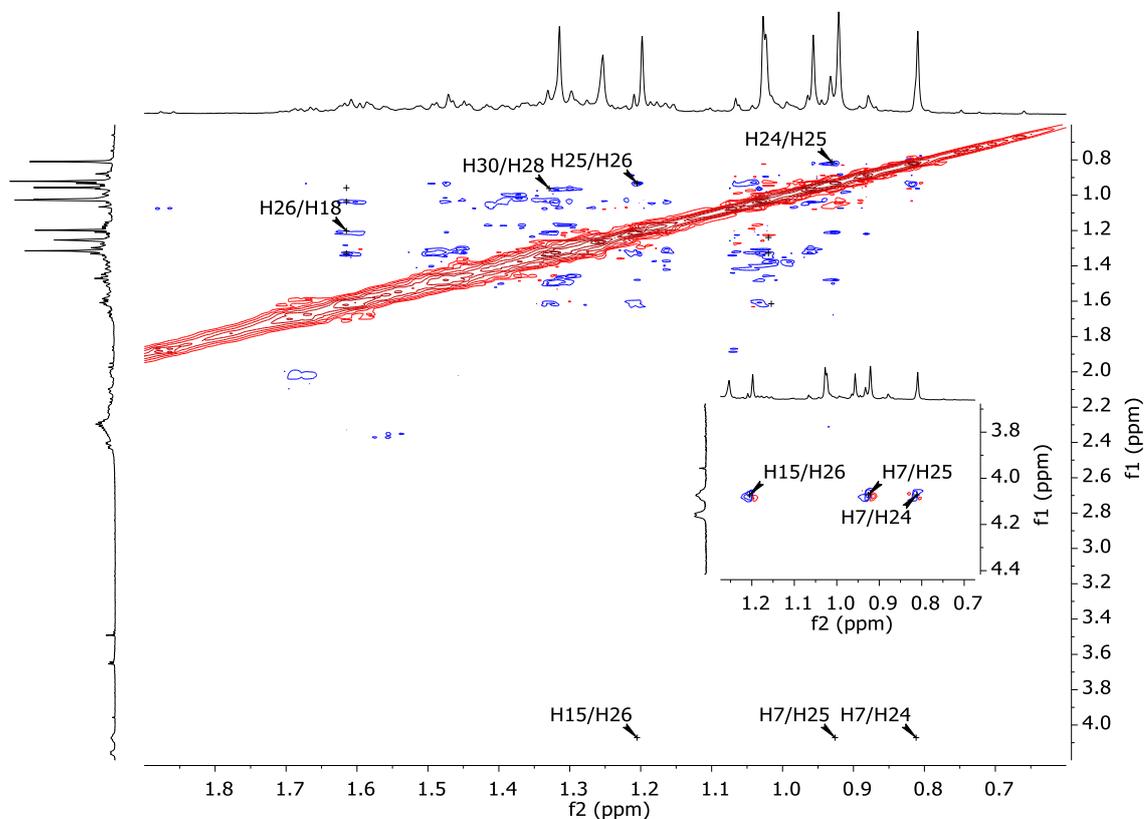
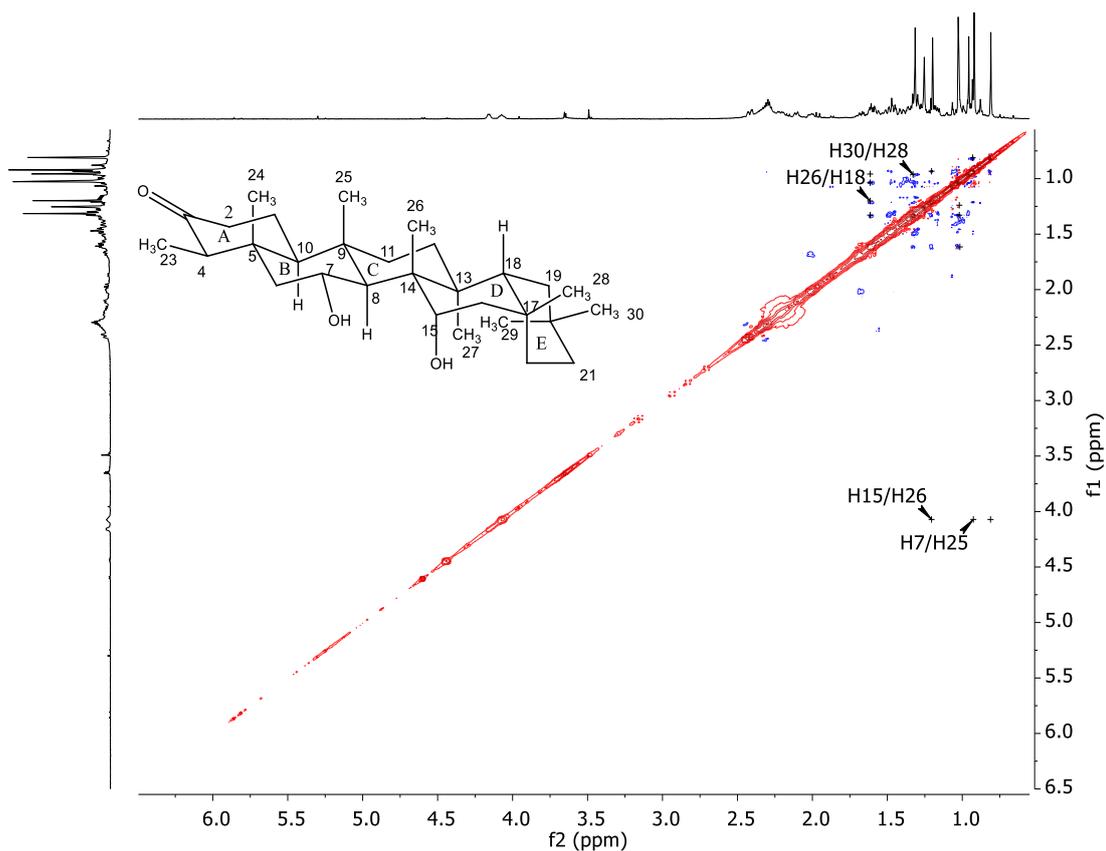


Figura A38: Mapa de contornos NOESY (600 MHz, CDCl₃) e expansão (1) de **SE10**

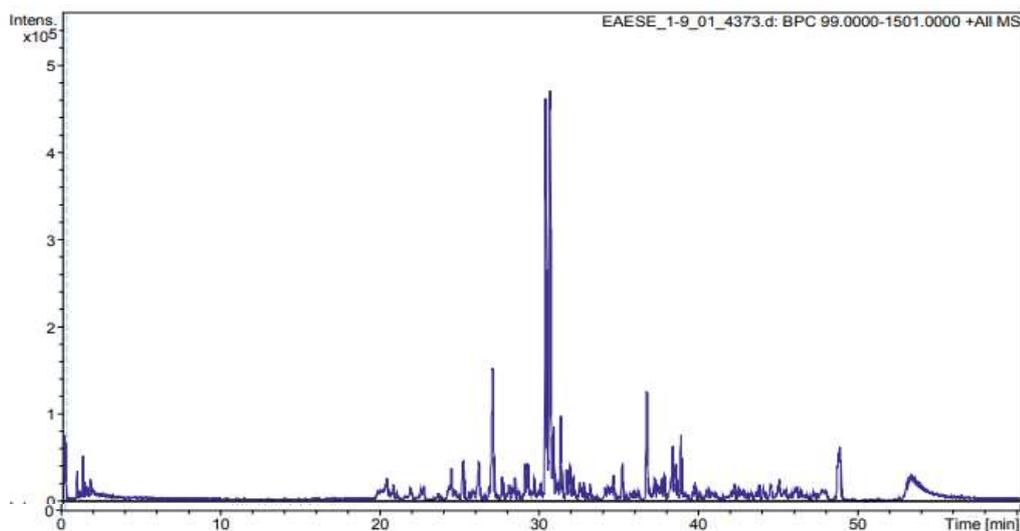


Figura A39: Cromatograma obtido por UHPLC–HRMS para o extrato acetato etílico. (Condições de análise: Capítulo 1, Pág. 42)

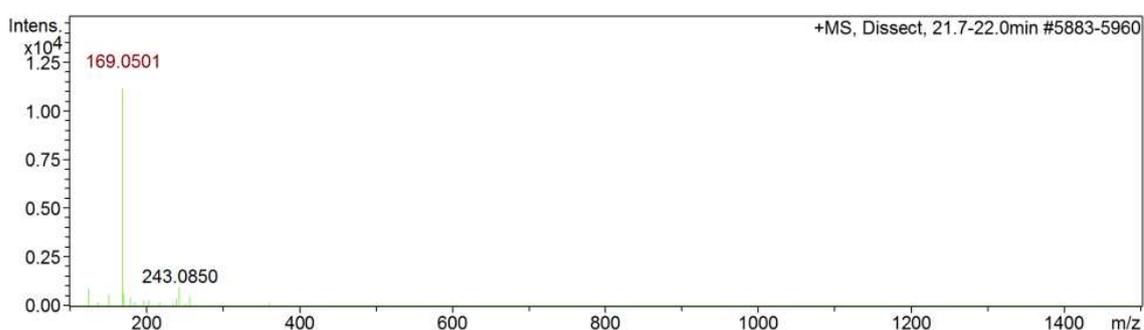


Figura A40: Espectro de massas do pico TR 21,9 min (HRMS-ESI, modo positivo) de ácido vanílico (C01) do extrato acetato etílico.

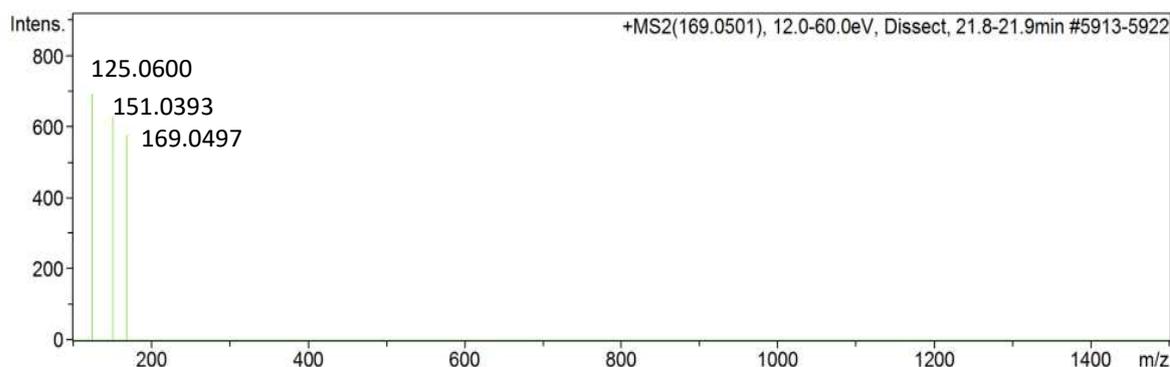


Figura A41: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 169,0501 *m/z* de ácido vanílico (C01) do extrato acetato etílico.

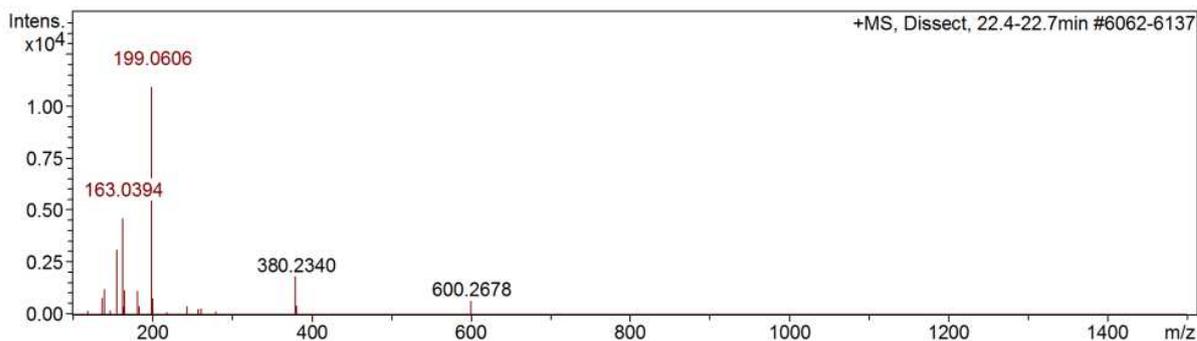


Figura A42: Espectro de massas do pico TR 22,5 min (HRMS-ESI, modo positivo) de umbeliferona (C02) do extrato acetato etílico.

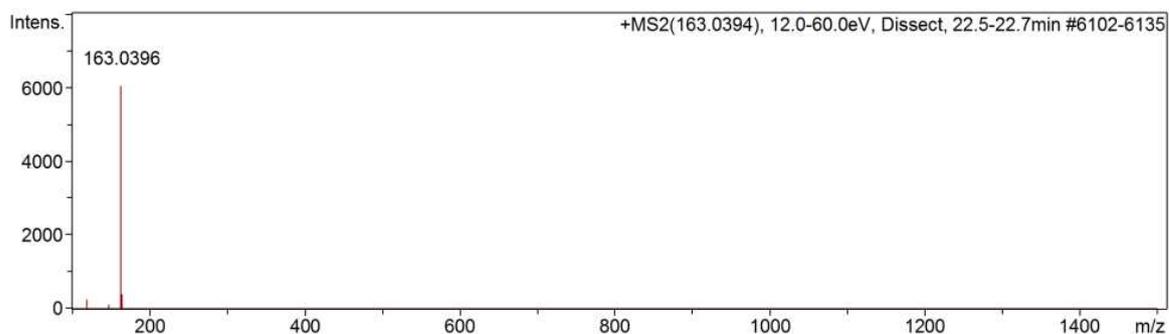


Figura A43: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 163,0394 m/z de umbeliferona (C02) do extrato acetato etílico.

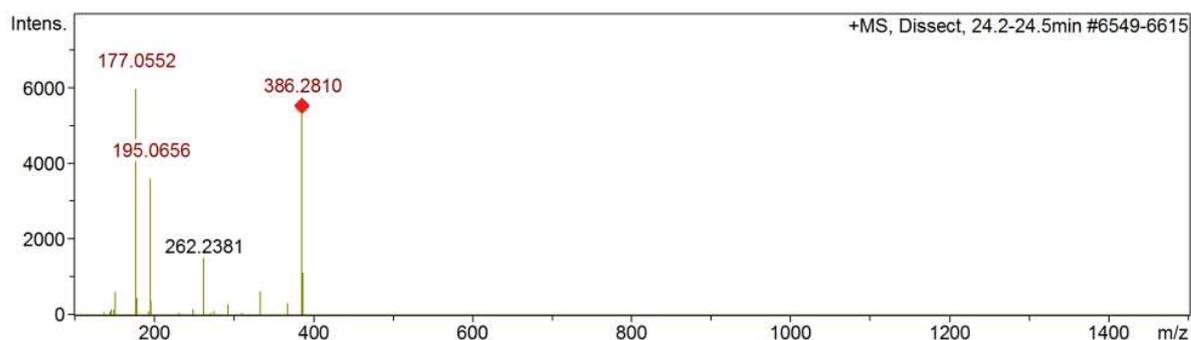


Figura A44: Espectro de massas do pico TR 24,3 min (HRMS-ESI, modo positivo) de ácido isoferúlico (C03) do extrato acetato etílico.

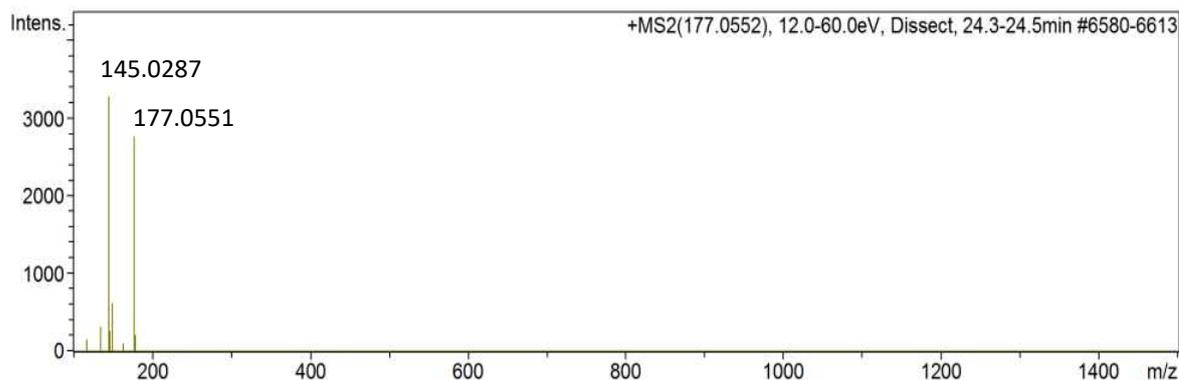


Figura A45: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 177,0552 *m/z* de ácido isoferúlico (**C03**) do extrato acetato etílico.

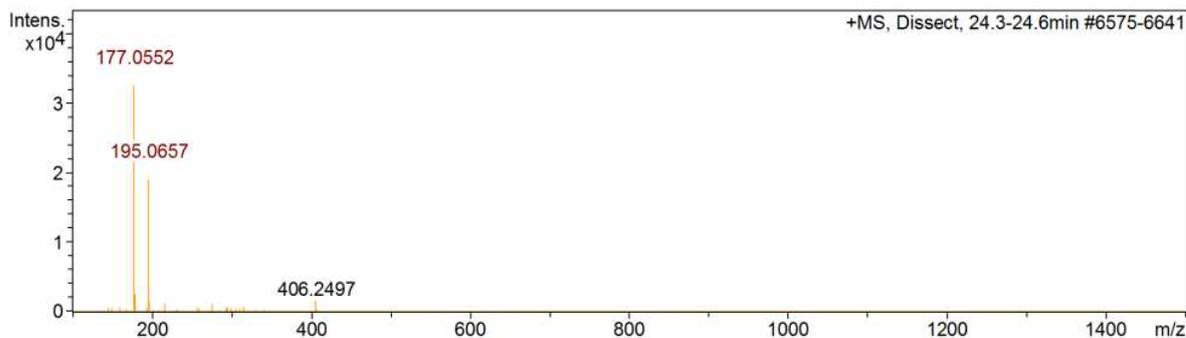


Figura A46: Espectro de massas do pico TR 24,4 min (HRMS-ESI, modo positivo) de ácido isoferúlico (**C03**) do extrato acetato etílico.

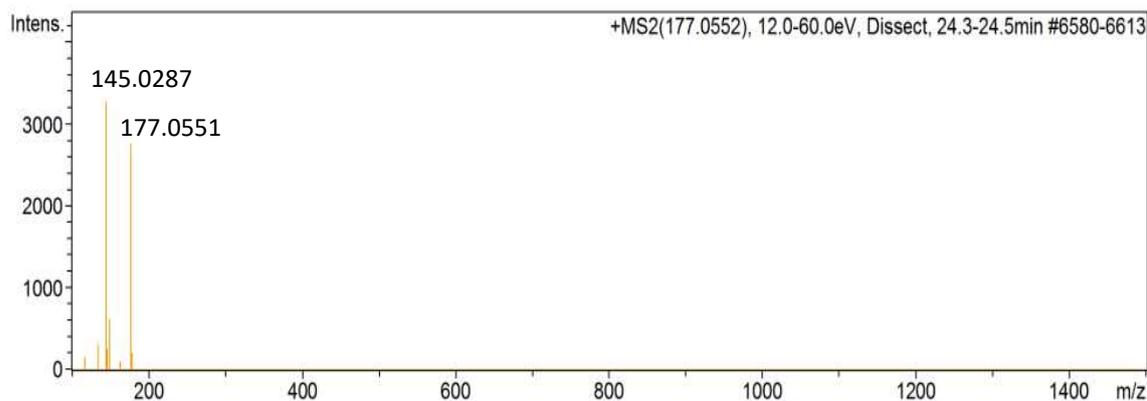


Figura A47: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 177,0552 *m/z* de ácido isoferúlico (**C03**) do extrato acetato etílico.

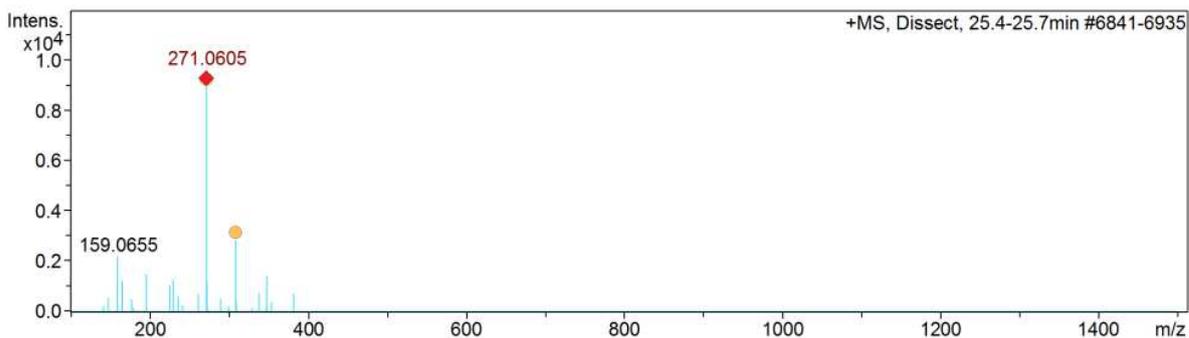


Figura A48: Espectro de massas do pico TR 25,6 min (HRMS-ESI, modo positivo) de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

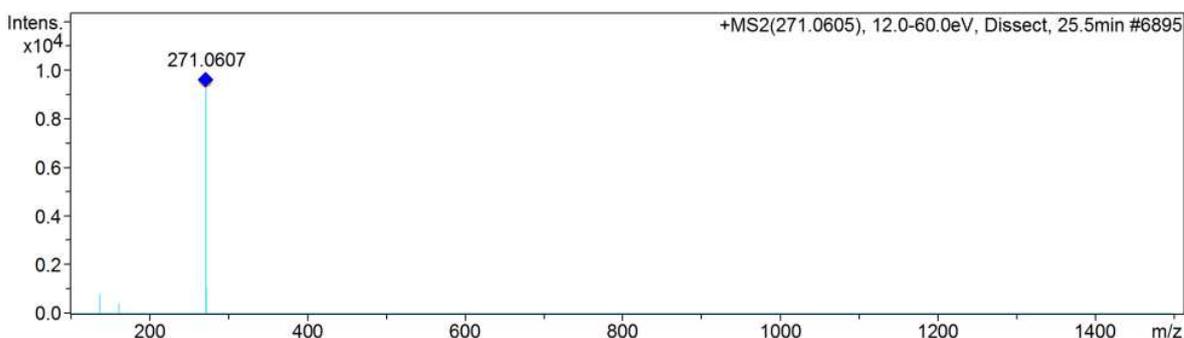


Figura A49: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 271,0605 m/z de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

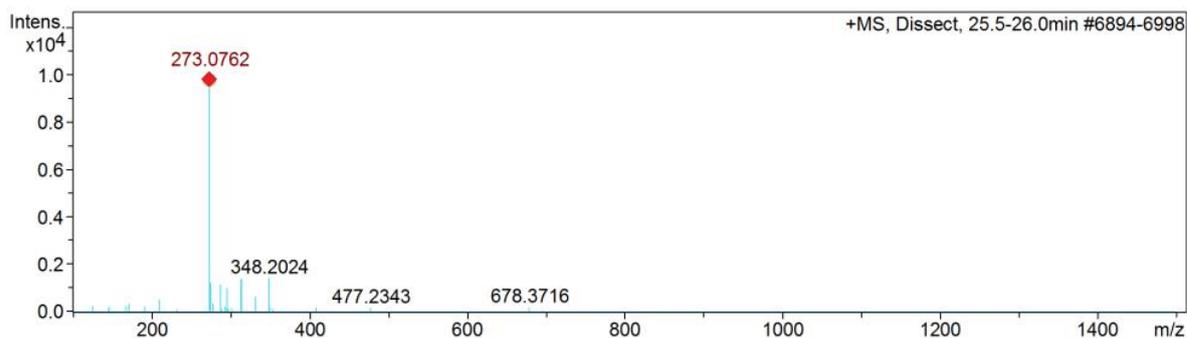


Figura A50: Espectro de massas do pico TR 25,9 min (HRMS-ESI, modo positivo) de buteína (C06) e naringenina (C07) do extrato acetato etílico.

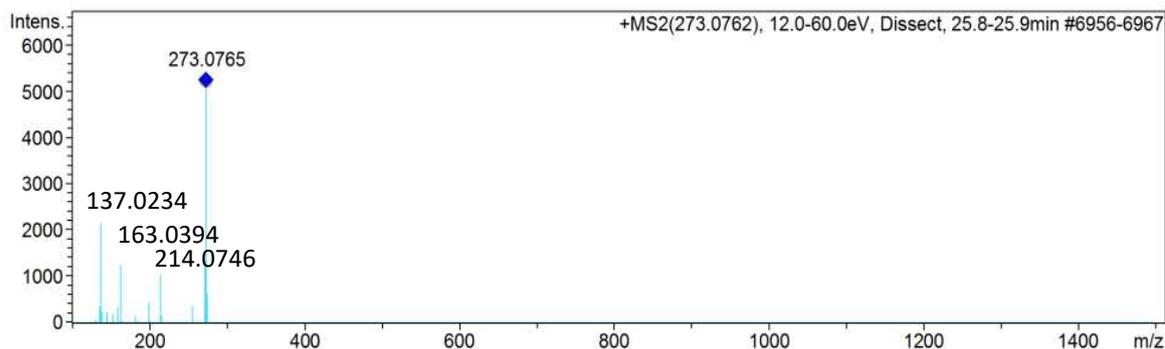


Figura A51: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 273,0762 *m/z* de buteína (C06) e naringenina (C07) do extrato acetato etílico.

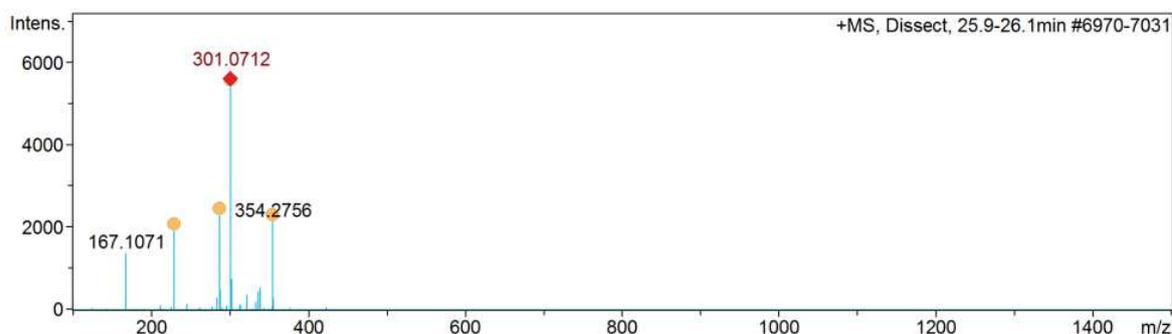


Figura A52: Espectro de massas do pico TR 26,0 min (HRMS-ESI, modo positivo) de falacinol (C08) do extrato acetato etílico.

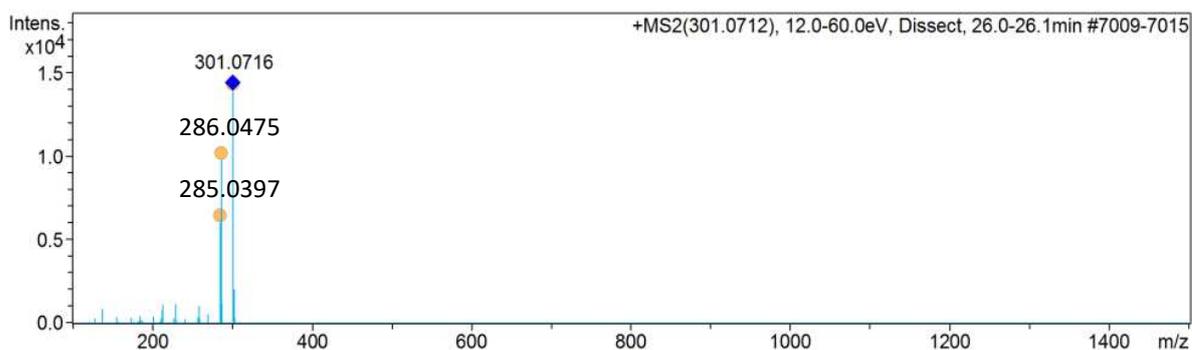


Figura A53: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 301,0712 *m/z* de falacinol (C08) do extrato acetato etílico.

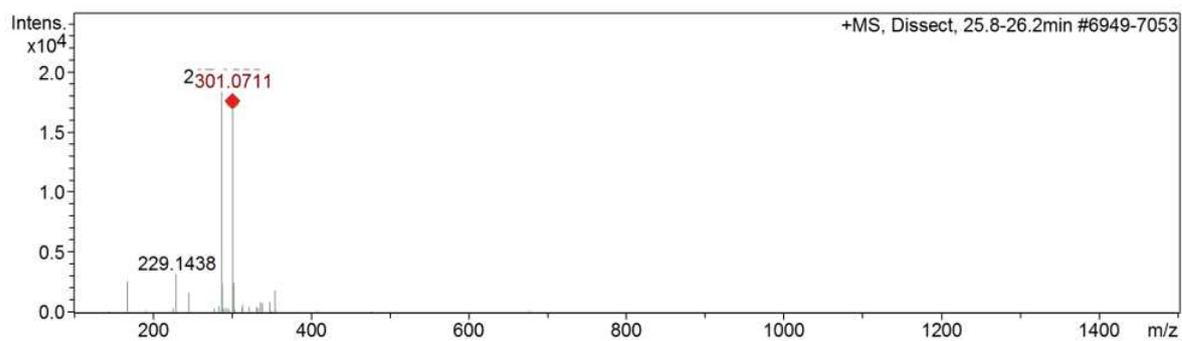


Figura A54: Espectro de massas do pico TR 26,1 min (HRMS-ESI, modo positivo) de falacinol (C08) do extrato acetato etílico.

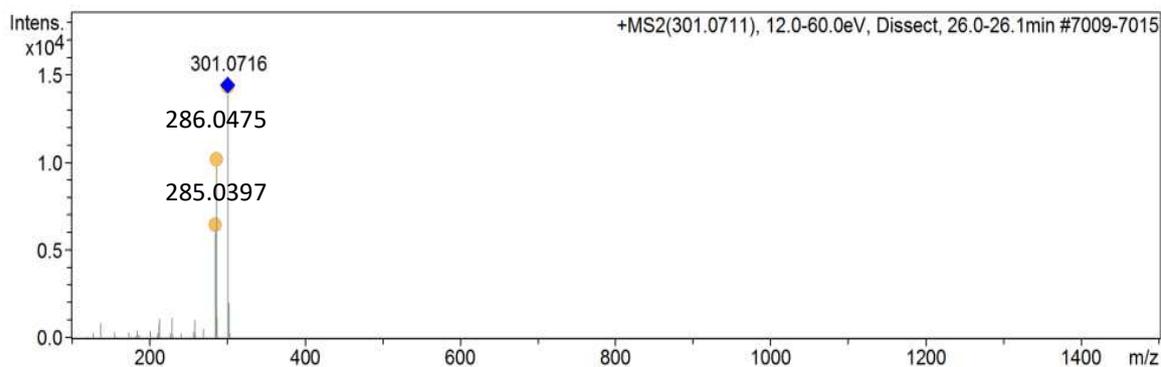


Figura A55: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 301,0711 m/z de falacinol (C08) do extrato acetato etílico.

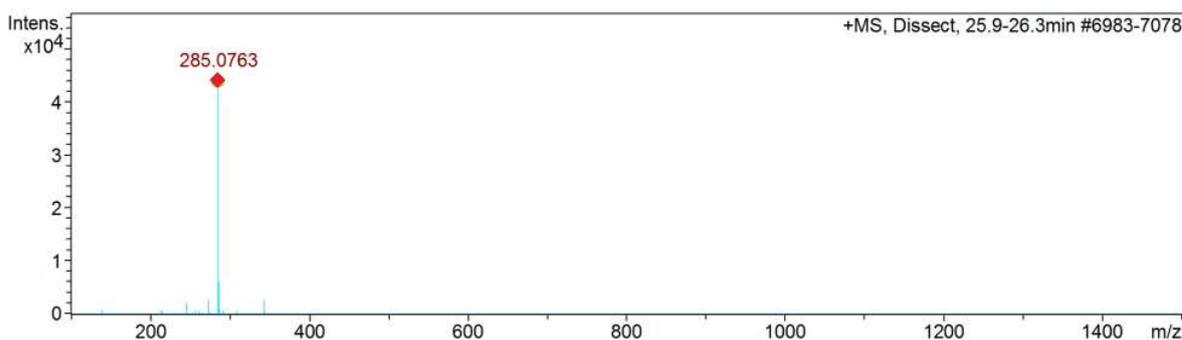


Figura A56: Espectro de massas do pico TR 26,2 min (HRMS-ESI, modo positivo) de parietina (C9) e acetina (C10) do extrato acetato etílico.

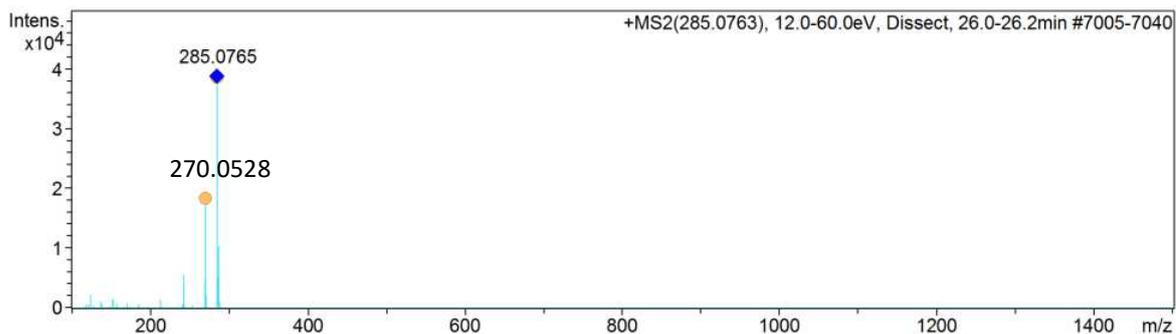


Figura A57: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 285,0763 *m/z* de parietina (C9) e acacetina (C10) do extrato acetato etílico.

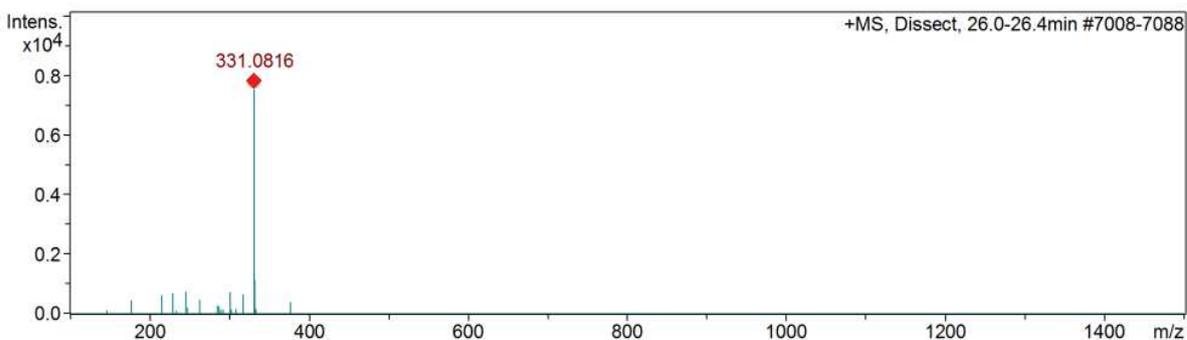


Figura A58: Espectro de massas do pico TR 26,3 min (HRMS-ESI, modo positivo) de tricina (C11) do extrato acetato etílico.

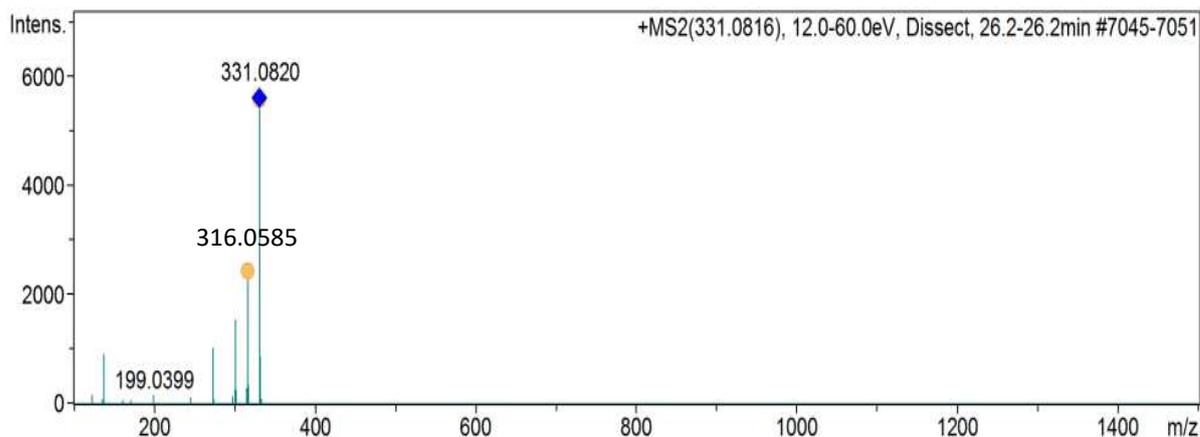


Figura A59: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 331,0816 *m/z* de tricina (C11) do extrato acetato etílico.

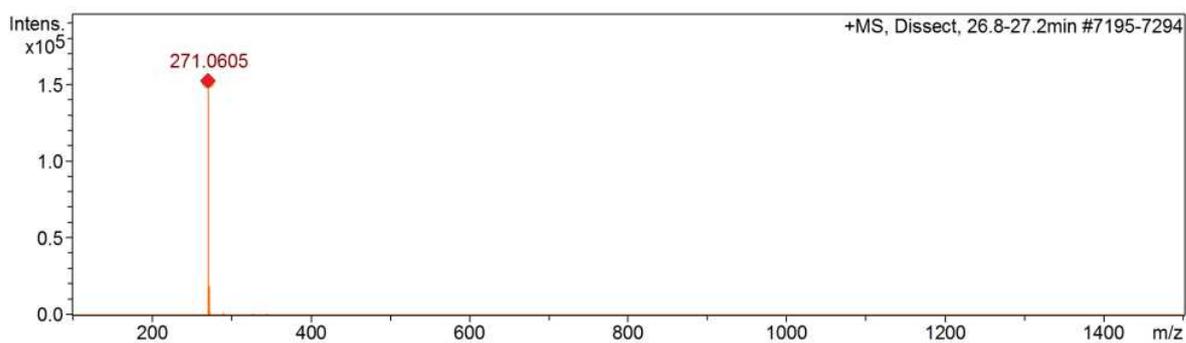


Figura A60: Espectro de massas do pico TR 27,0 min (HRMS-ESI, modo positivo) de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

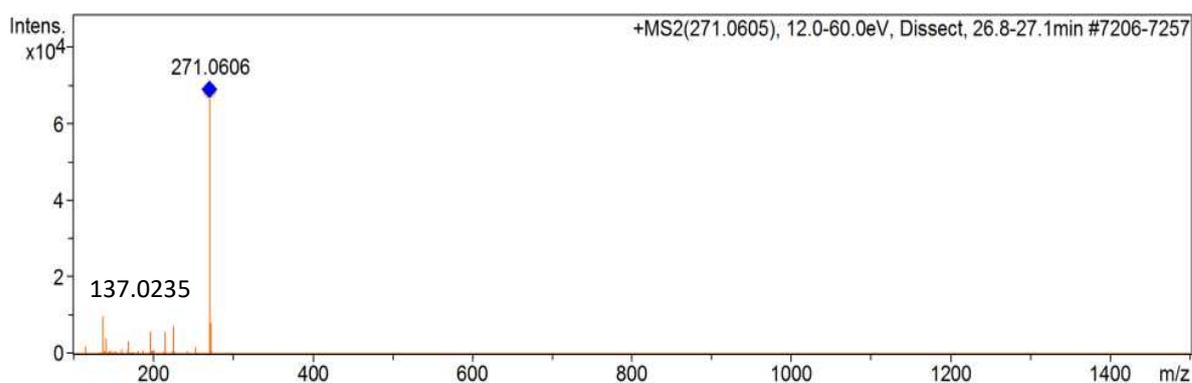


Figura A61: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 271,0605 m/z de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

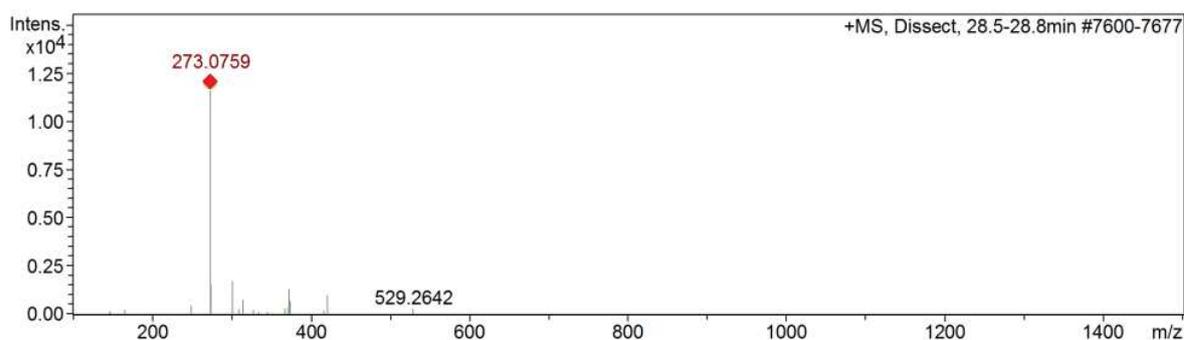


Figura A62: Espectro de massas do pico TR 28,6 min (HRMS-ESI, modo positivo) de buteína (C06) e naringenina (C07) do extrato acetato etílico.

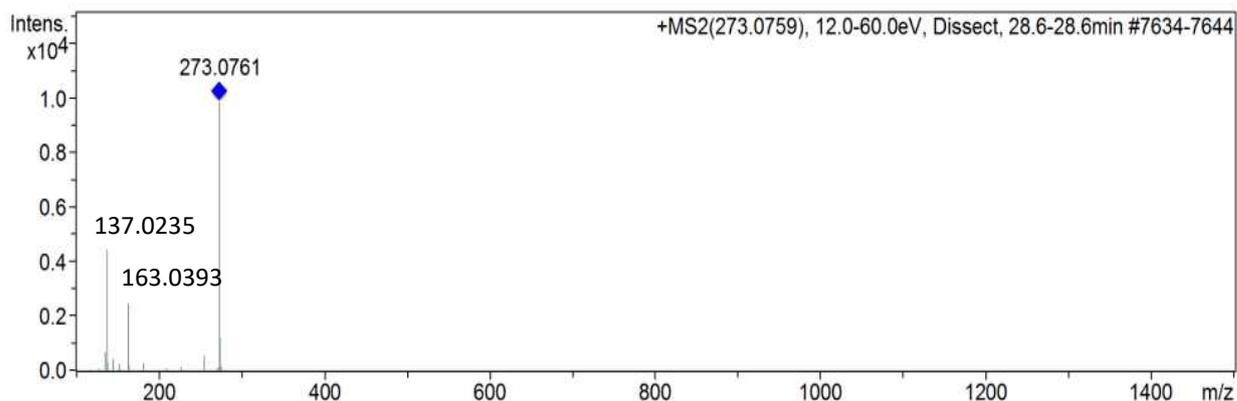


Figura A63: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 273,0759 *m/z* de buteína (C06) e naringenina (C07) do extrato acetato etílico.

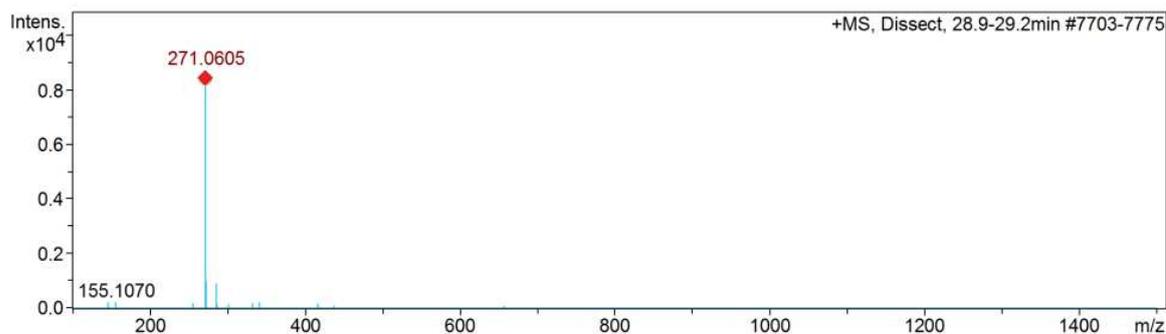


Figura A64: Espectro de massas do pico TR 29,0 min (HRMS-ESI, modo positivo) de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

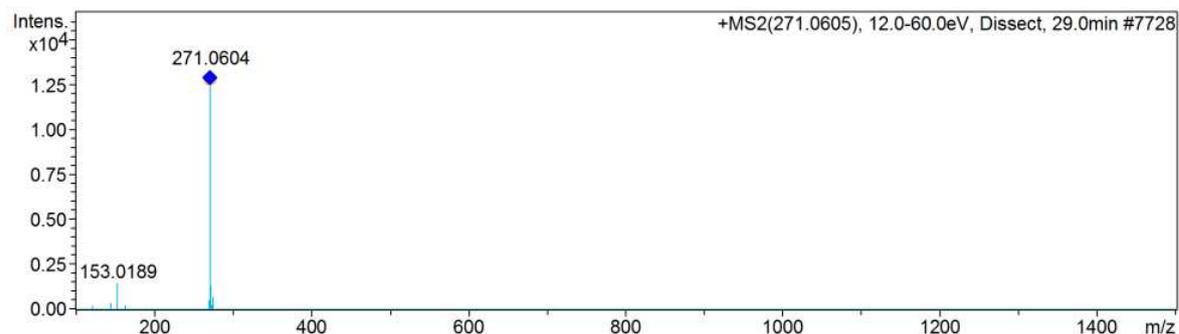


Figura A65: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 271,0605 *m/z* de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato acetato etílico.

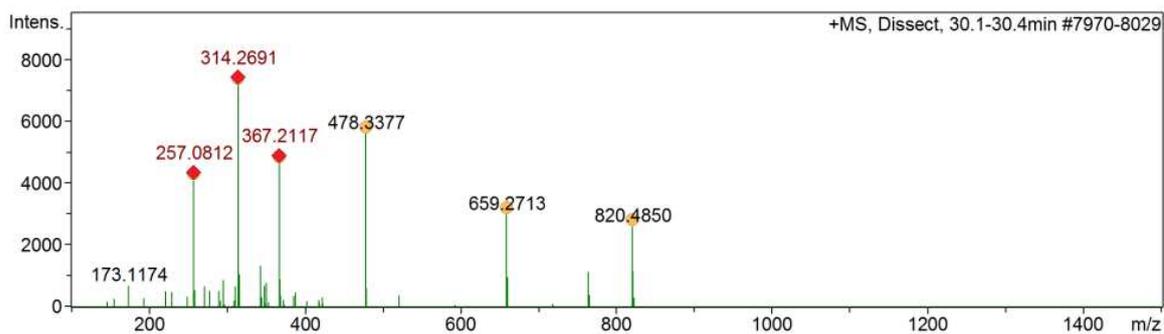


Figura A66: Espectro de massas do pico TR 30,2 min (HRMS-ESI, modo positivo) de liquiritigenina (C12) do extrato acetato etílico.

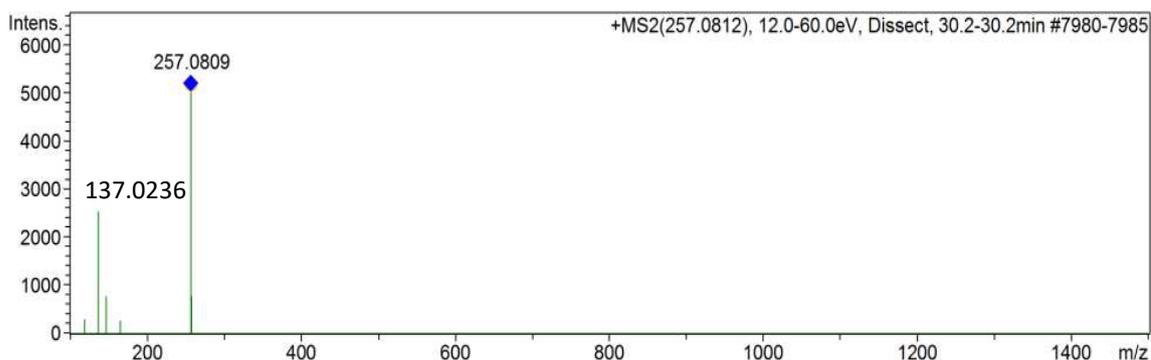


Figura A67: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 257,0812 m/z de liquiritigenina (C12) do extrato acetato etílico.

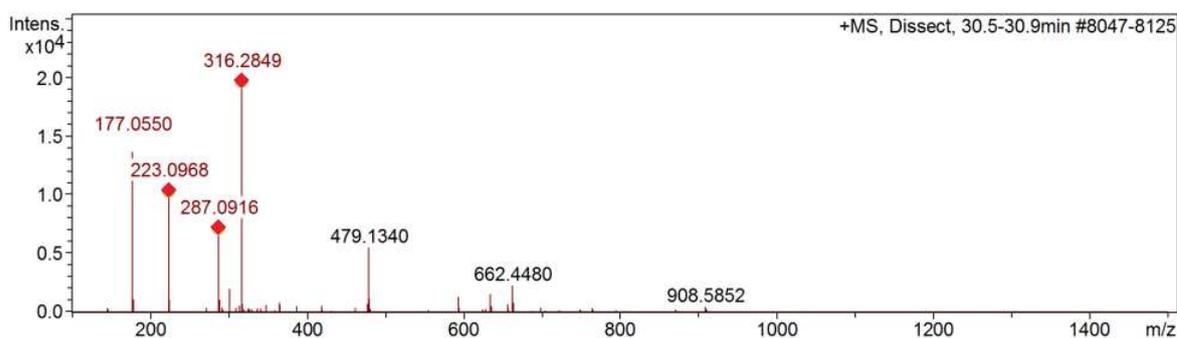


Figura A68: Espectro de massas do pico TR 30,7 min (HRMS-ESI, modo positivo) de claussequinona (C13) do extrato acetato etílico.

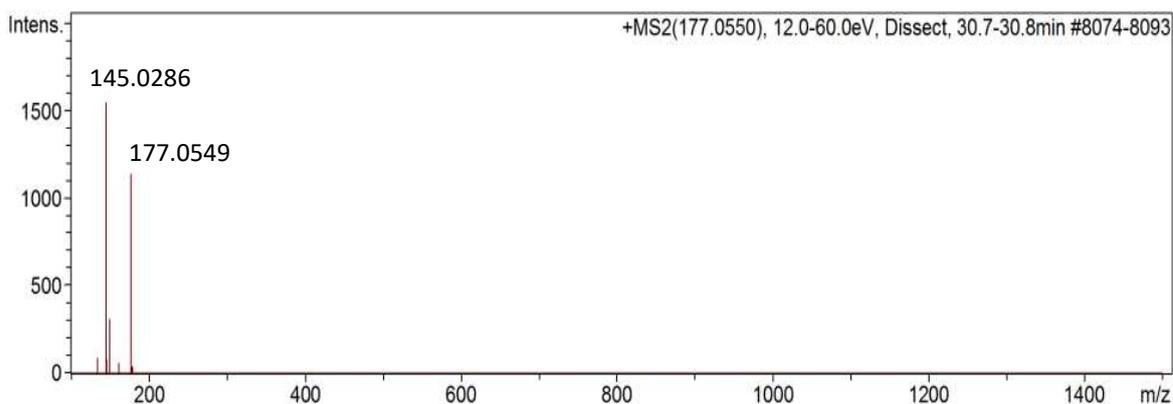


Figura A69: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 177,0550 m/z de claussequinona (C13) do extrato acetato etílico.

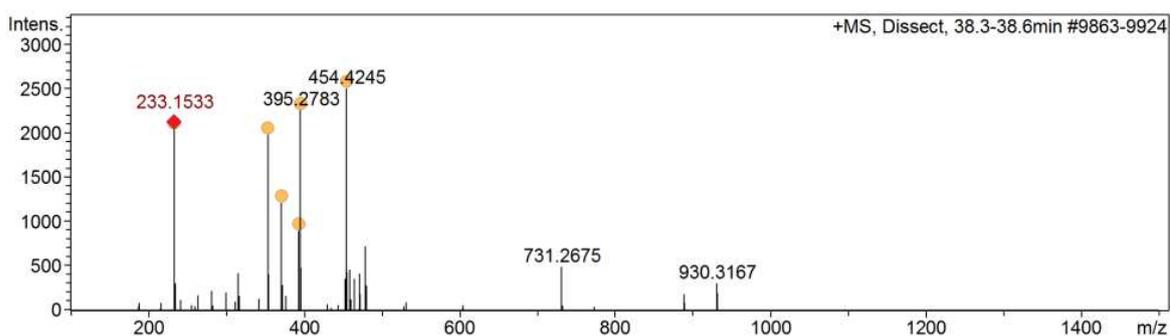


Figura A70: Espectro de massas do pico TR 38,4 min (HRMS-ESI, modo positivo) de costunolida (C14) do extrato acetato etílico.

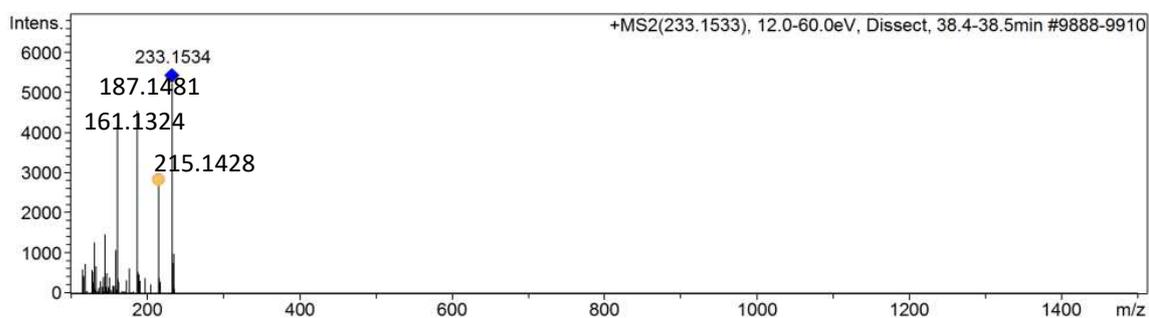


Figura A71: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 233,1533 m/z de costunolida (C14) do extrato acetato etílico.

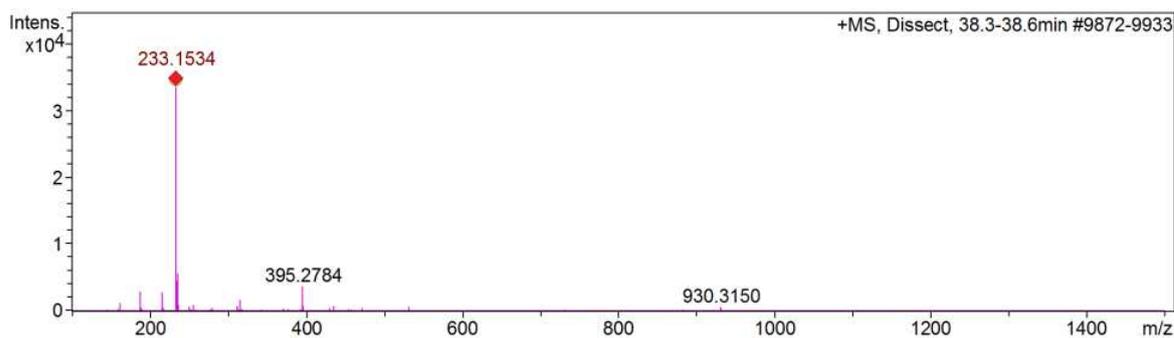


Figura A72: Espectro de massas do pico TR 38,5 min (HRMS-ESI, modo positivo) de costunolida (**C14**) do extrato acetato etílico.

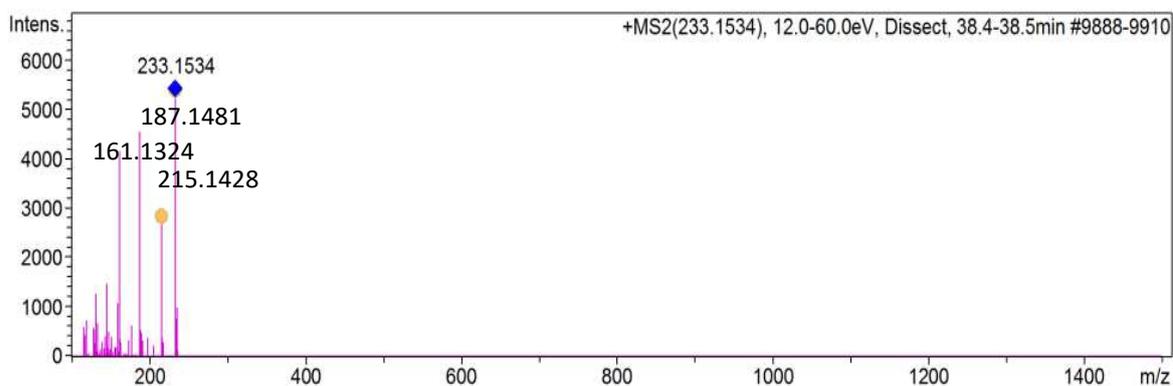


Figura A73: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 233,1534 *m/z* de costunolida (**C14**) do extrato acetato etílico.

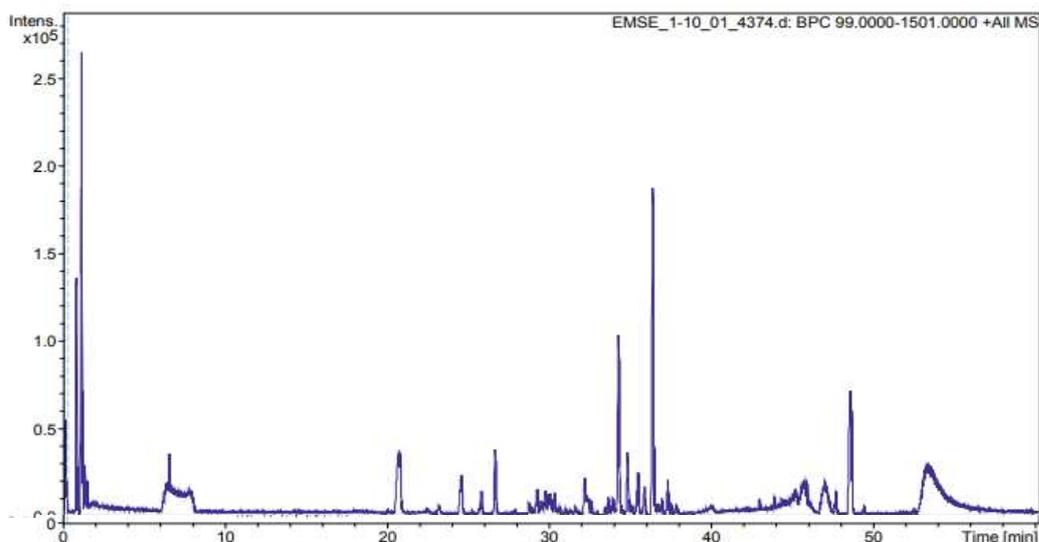


Figura A74: Cromatograma obtido por UHPLC–HRMS para o extrato metanólico. (Condições de análise: Capítulo 1, Pág. 42).

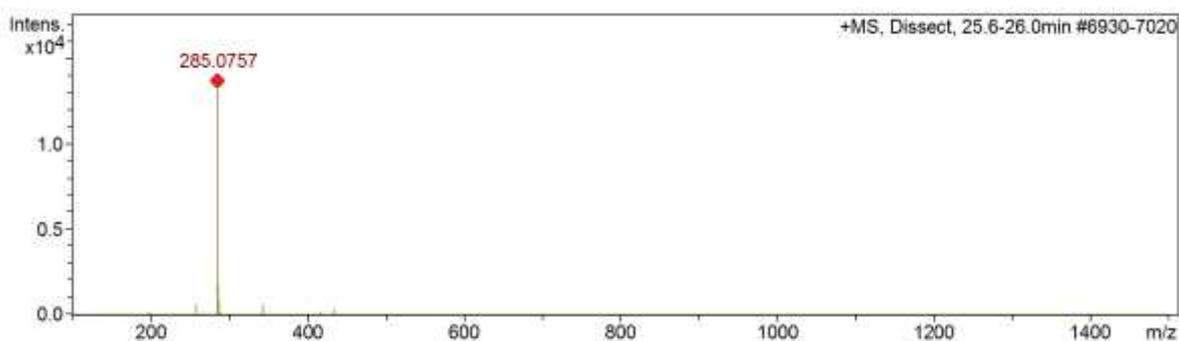


Figura A75: Espectro de massas do pico TR 25,8 min (HRMS-ESI, modo positivo) de parietina (C09) e acacetina (C10) do extrato metílico.

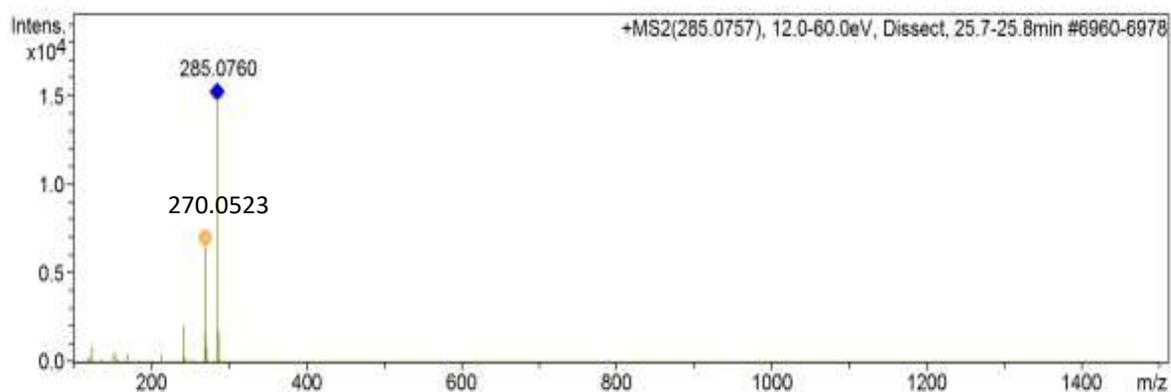


Figura A76: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 285,0757 m/z de parietina (C09) e acacetina (C10) do extrato metílico.

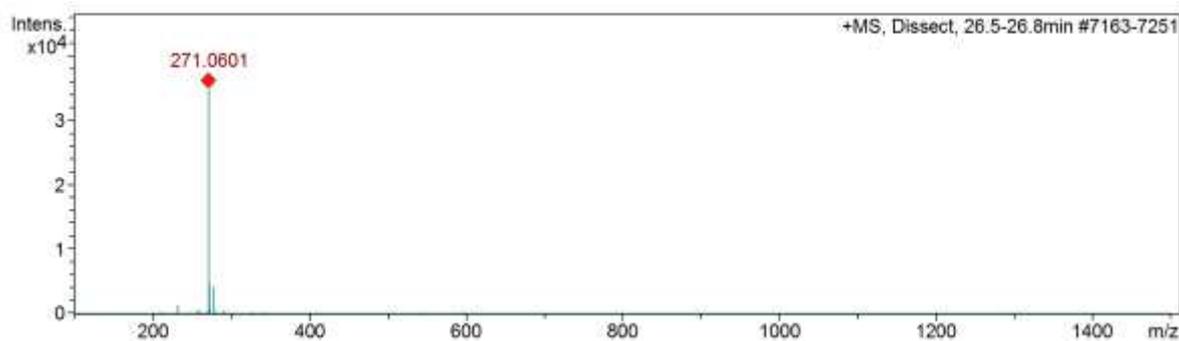


Figura A77: Espectro de massas do pico TR 26,7 min (HRMS-ESI, modo positivo) de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato metílico.

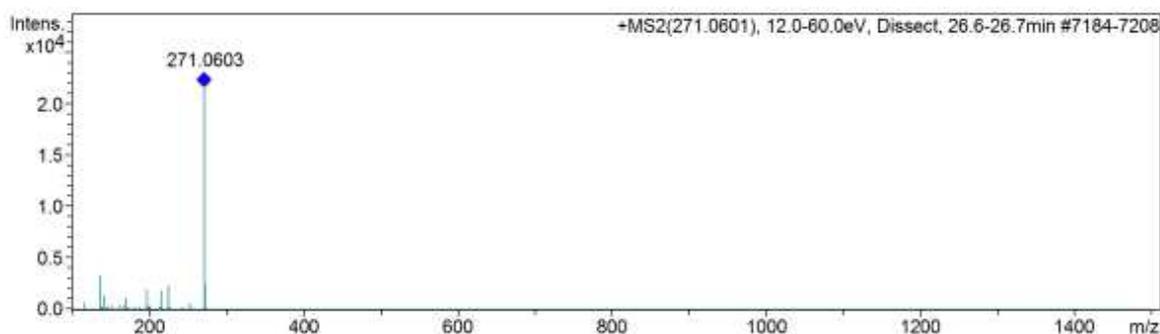


Figura A78: Espectro de massas MS² obtido a partir do íon 271,0601 m/z de apigenina (C04) e emodina (C05) do extrato metílico.

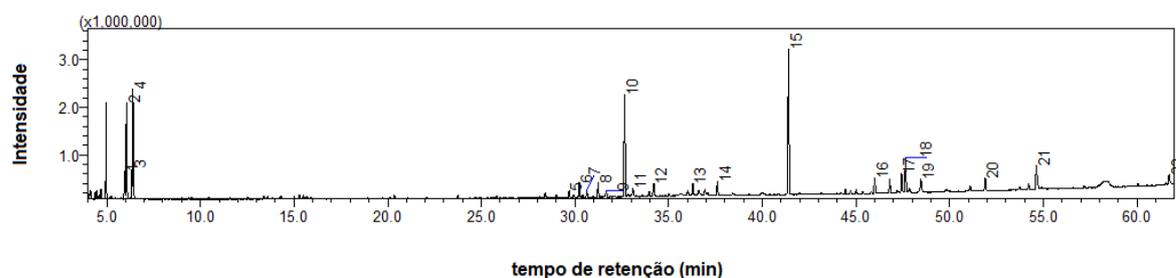


Figura A79: Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica* obtido por CG. (Condições de análise: Capítulo 1, Pág. 42)

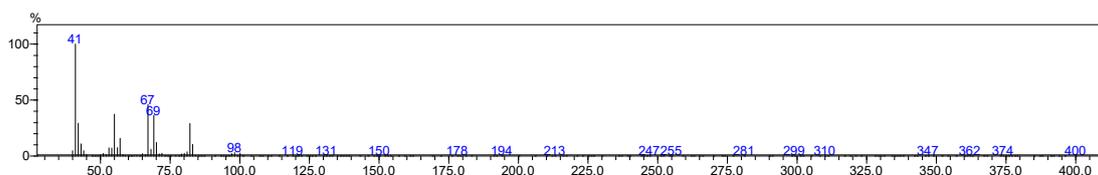


Figura A80: Espectro de massas do pico IR 846 de (*E*)-hex-3-en-1-ol (1) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

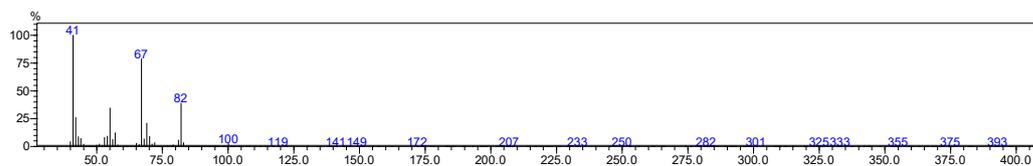


Figura A81: Espectro de massas do pico IR 849 de (*Z*)-hex-3-en-1-ol (2) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

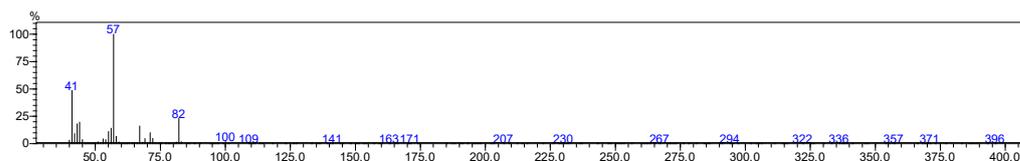


Figura A82: Espectro de massas do pico IR 858 de hex-2-enol (**3**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

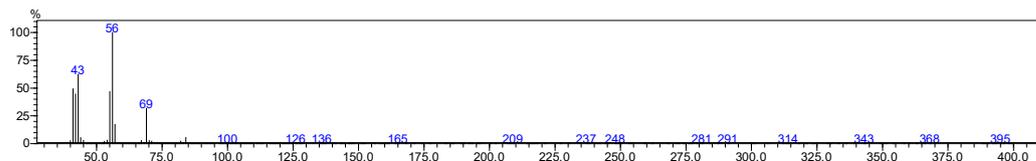


Figura A83: Espectro de massas do pico IR 859 de hexan-1-ol (**4**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

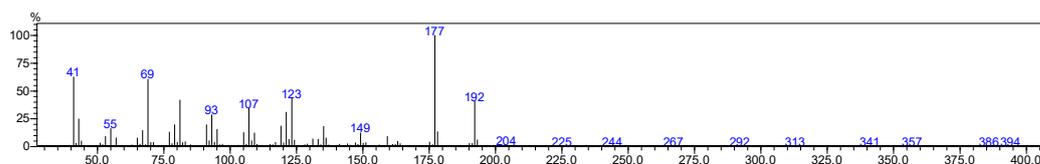


Figura A84: Espectro de massas do pico IR 1416 de β -damascenona (**5**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

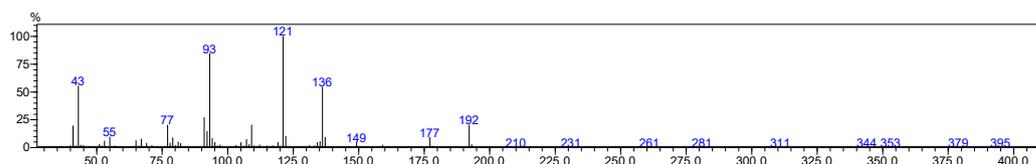


Figura A85: Espectro de massas do pico IR 1430 de α -ionona (**6**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

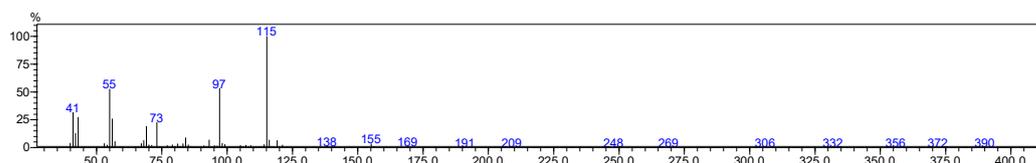


Figura A86: Espectro de massas do pico IR 1440 de (E)-hexen-2-oato de hexila (**7**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

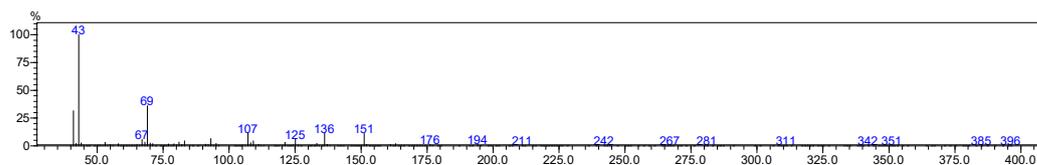


Figura A87: Espectro de massas do pico IR 1454 de neralacetona (**8**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

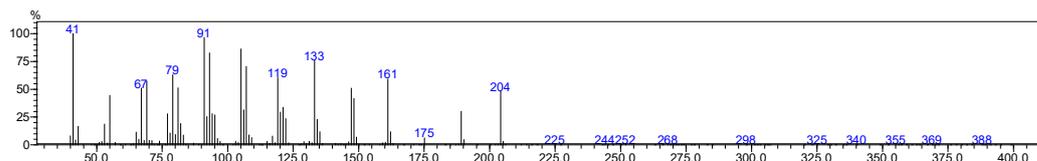


Figura A88: Espectro de massas do pico IR 1465 de 9-epi-(*E*)-cariofileno (**9**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

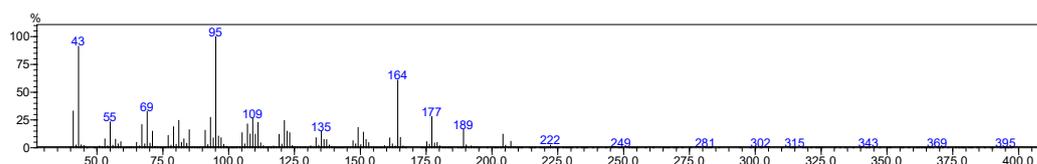


Figura A89: Espectro de massas do pico IR 1489 de n.i. (**10**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

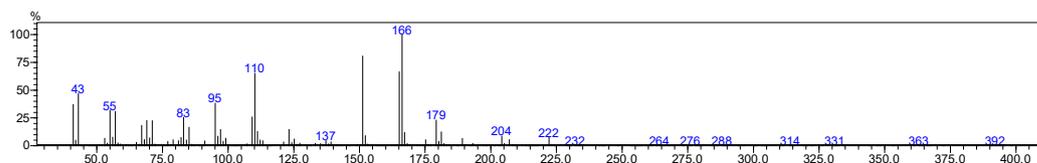


Figura A90: Espectro de massas do pico IR 1500 de n.i. (**11**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

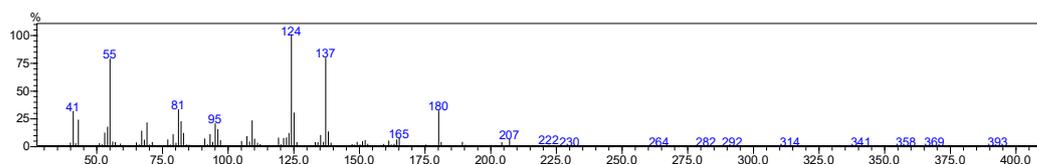


Figura A91: Espectro de massas do pico IR 1528 de n.i. (**12**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

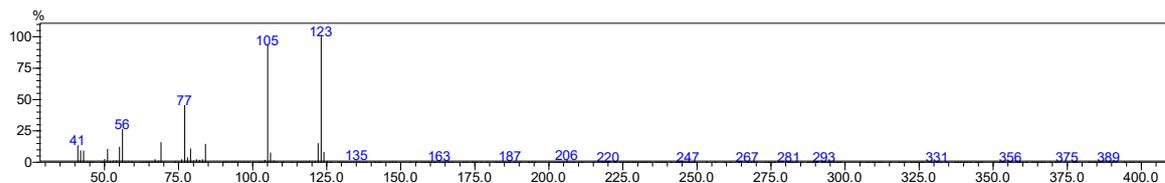


Figura A92: Espectro de massas do pico IR 1579 de benzoato de hexila (**13**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

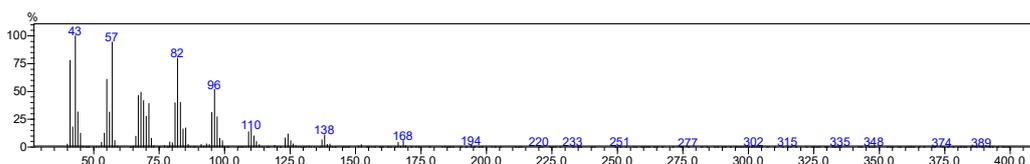


Figura A93: Espectro de massas do pico IR 1612 de tetradecanal (**14**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

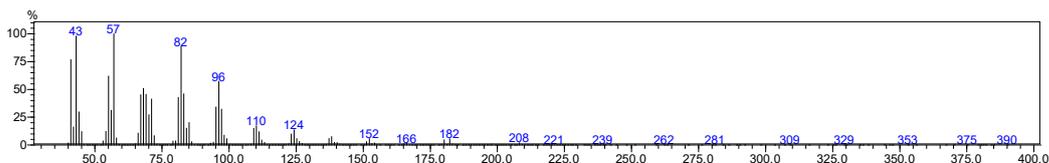


Figura A94: Espectro de massas do pico IR 1716 de pentadecanal (**15**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

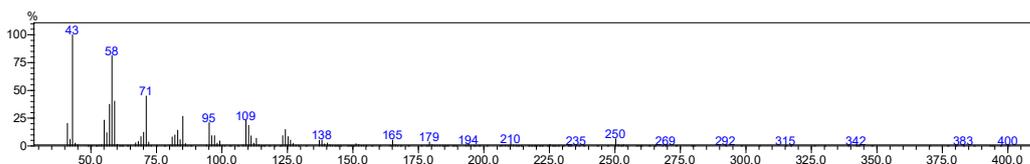


Figura A95: Espectro de massas do pico IR 1845 de 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona (**16**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

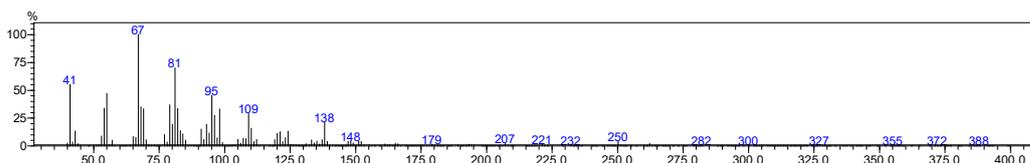


Figura A96: Espectro de massas do pico IR 1887 de n.i. (**17**) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

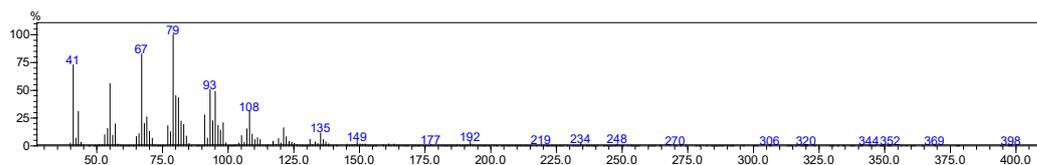


Figura A97: Espectro de massas do pico IR 1893 de n.i. (18) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

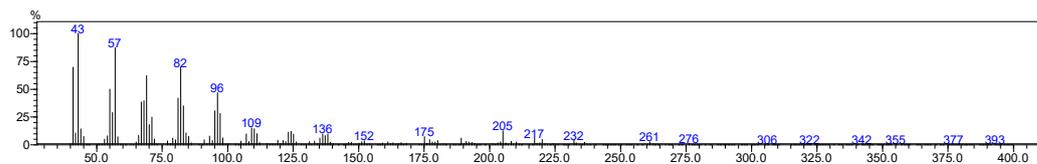


Figura A98: Espectro de massas do pico IR 1918 de heptadecanal (19) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

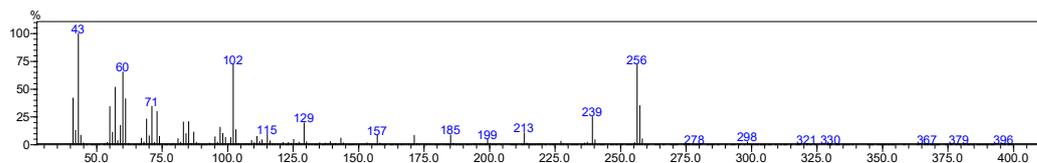


Figura A99: Espectro de massas do pico IR 2026 de hexadecanoato de isopropila (20) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

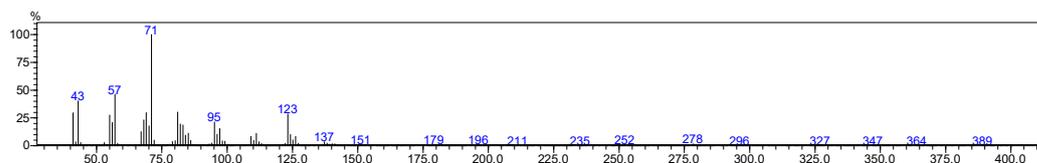


Figura A100: Espectro de massas do pico IR 2115 de fitol (21) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

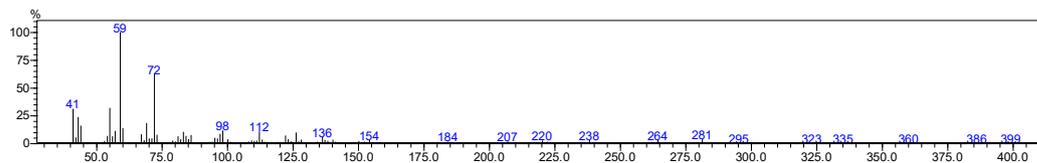


Figura A101: Espectro de massas do pico IR 2359 de oleamida (22) do óleo essencial das folhas de *Salacia elliptica*

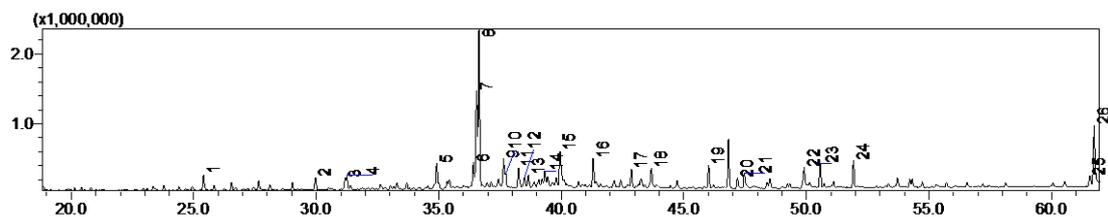


Figura A102: Cromatograma do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica* obtido por CG. (Condições de análise: Capítulo 1, Pág. 42)

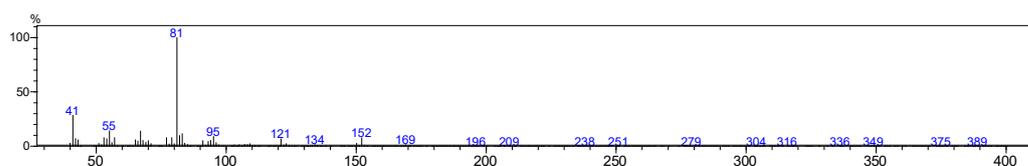


Figura A103: Espectro de massas do pico IR 1319 de (2E,4E)-decadienal (**1**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

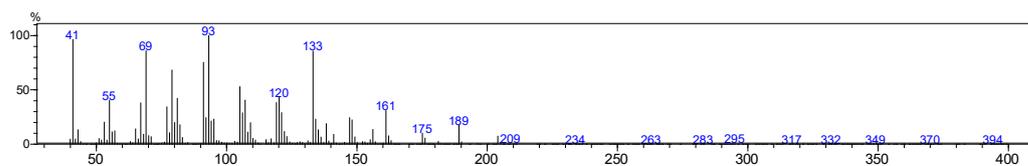


Figura A104: Espectro de massas do pico IR 1424 de β -cariofileno (**2**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

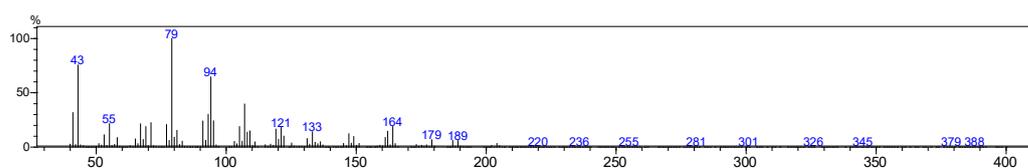


Figura A105: Espectro de massas do pico IR 1453 de n. i. (**3**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

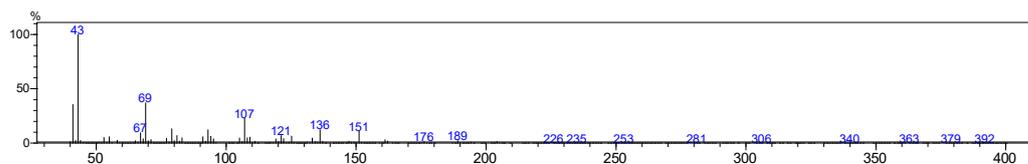


Figura A106: Espectro de massas do pico IR 1455 de (E)-geranyl acetona (**4**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

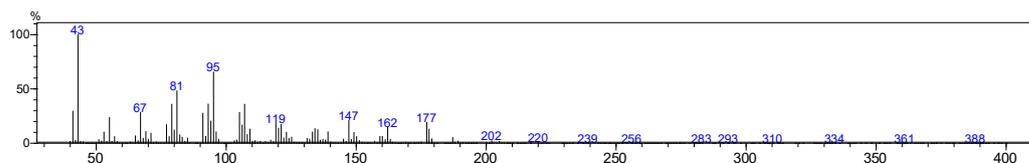


Figura A107: Espectro de massas do pico IR 1546 de n. i. (5) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

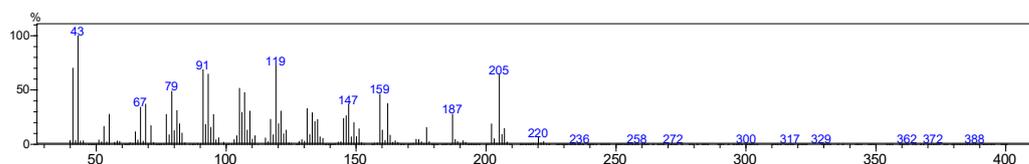


Figura A108: Espectro de massas do pico IR 1583 de espatulenol (6) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

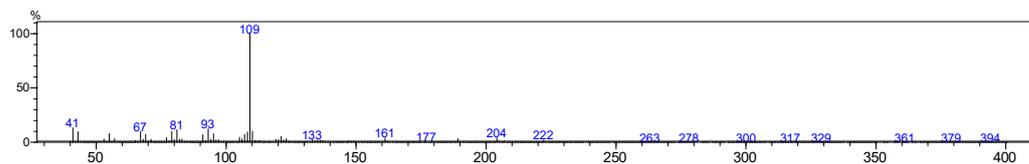


Figura A109: Espectro de massas do pico IR 1586 de 10-epi-junenol (7) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

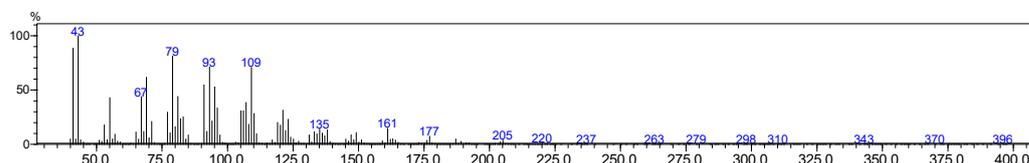


Figura A110: Espectro de massas do pico IR 1588 de óxido de cariofileno (8) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

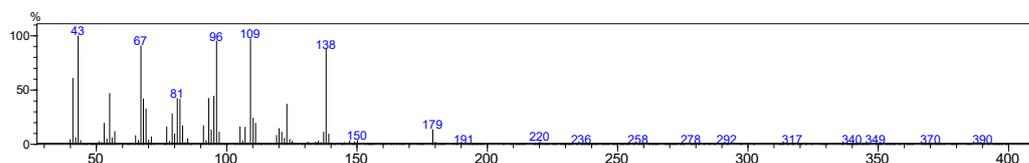


Figura A111: Espectro de massas do pico IR 1615 de epóxido de humuleno II (9) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

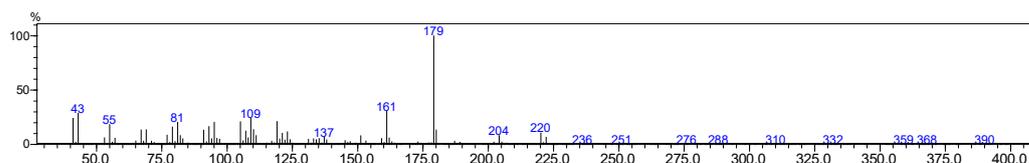


Figura A112: Espectro de massas do pico IR 1617 de epicubenol (10) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

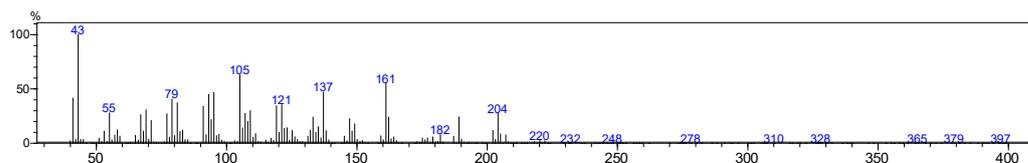


Figura A113: Espectro de massas do pico IR 1631 de n. i. (11) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

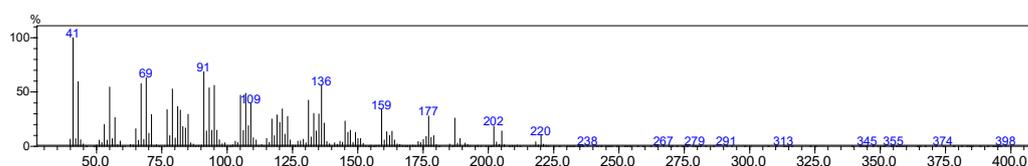


Figura A114: Espectro de massas do pico IR 1638 de n.i. (12) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

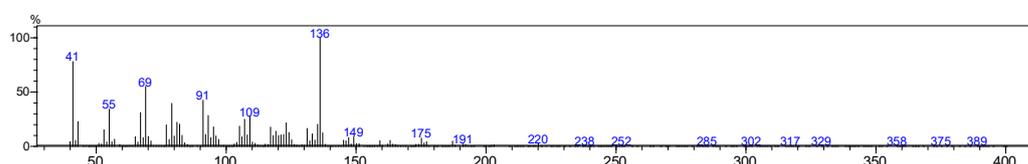


Figura A115: Espectro de massas do pico IR 1642 de cariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol (13) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

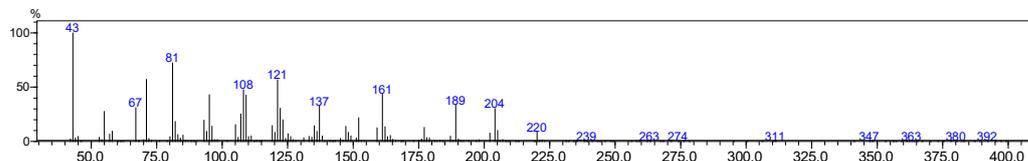


Figura A116: Espectro de massas do pico IR 1660 de n. i. (14) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

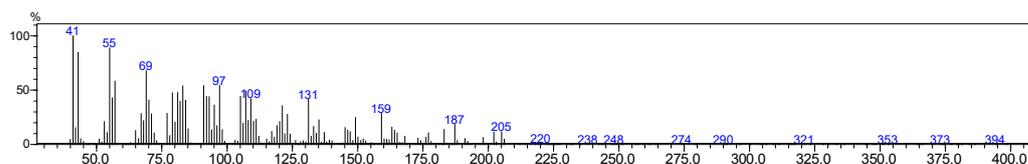


Figura A117: Espectro de massas do pico IR 1677 de n. i. (15) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

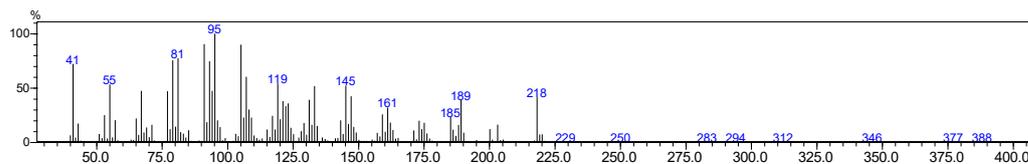


Figura A118: Espectro de massas do pico IR 1714 de (16) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

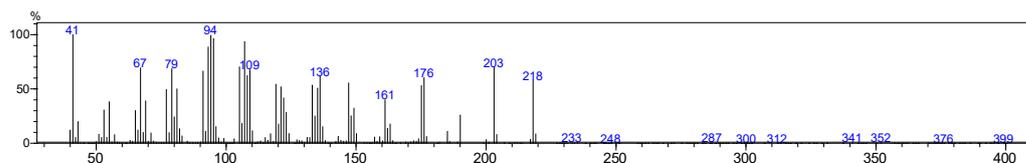


Figura A119: Espectro de massas do pico IR 1757 de n. i. (17) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

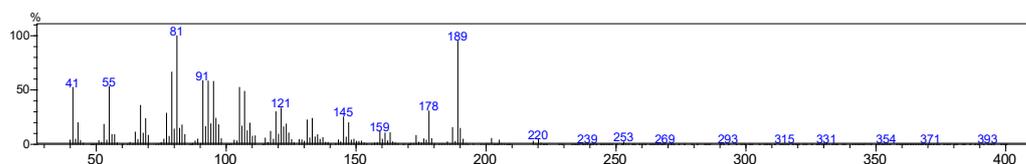


Figura A120: Espectro de massas do pico IR 1779 de n. i. (18) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

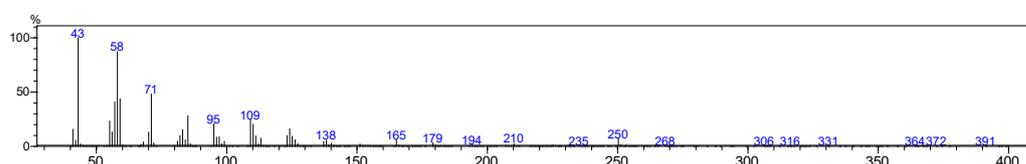


Figura A121: Espectro de massas do pico IR 1846 de 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona (19) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

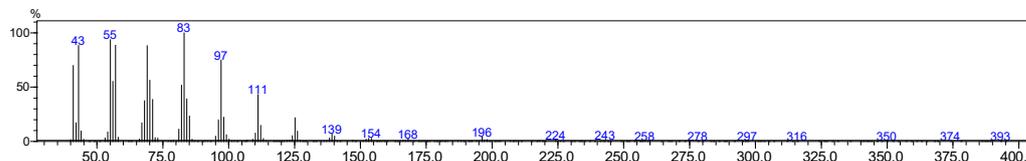


Figura A122: Espectro de massas do pico IR 1880 de hexadecan-1-ol (20) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

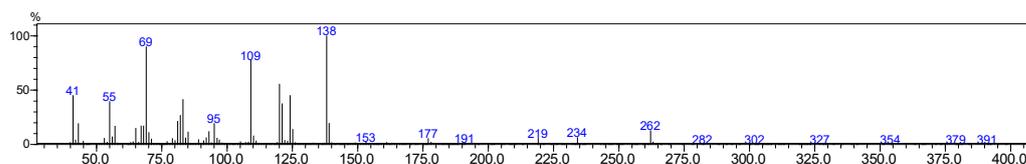


Figura A123: Espectro de massas do pico IR 1889 de n. i. (21) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

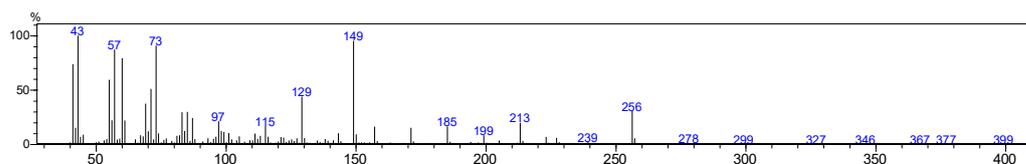


Figura A124: Espectro de massas do pico IR 1963 de n. i. (22) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

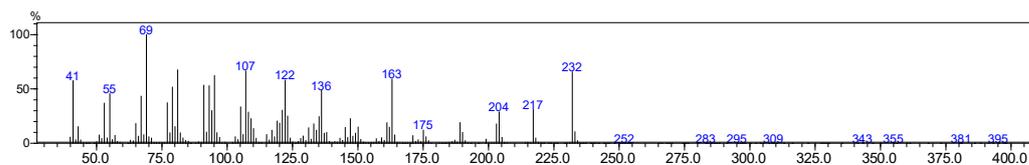


Figura A125: Espectro de massas do pico IR 1984 de n. i. (**23**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

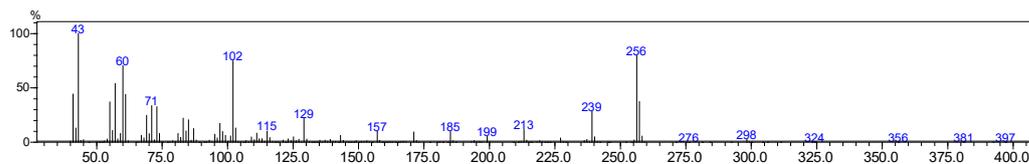


Figura A126: Espectro de massas do pico IR 2027 de hexadecanoato de isopropila (**24**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

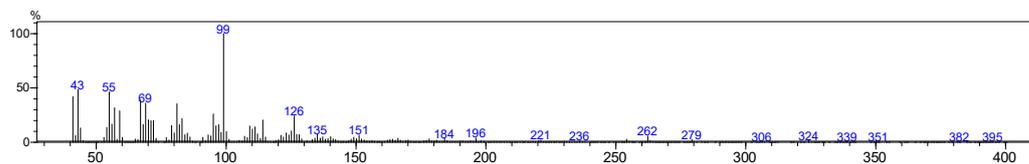


Figura A127: Espectro de massas do pico IR 2343 de n. i. (**25**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

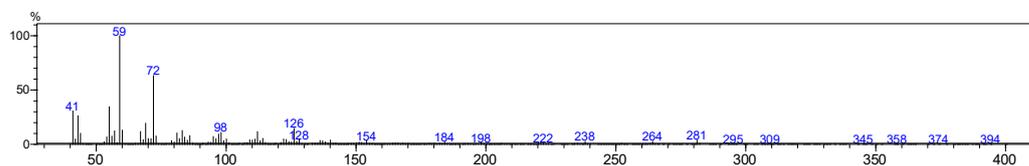


Figura A128: Espectro de massas do pico IR 2349 de oleamida (**26**) do óleo essencial dos galhos de *Salacia elliptica*

APÊNDICE B – CAPÍTULO 2 - ESPECTROS DE RMN, ESPECTROS DE MASSAS E ESPECTROS NO IV

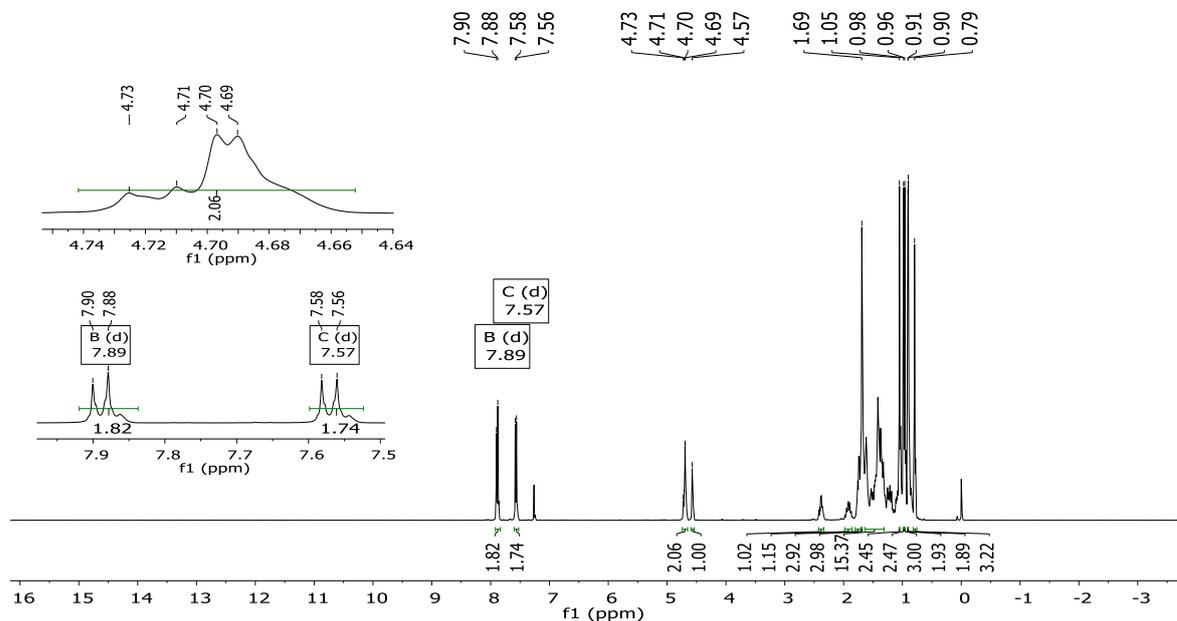


Figura B1: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL01

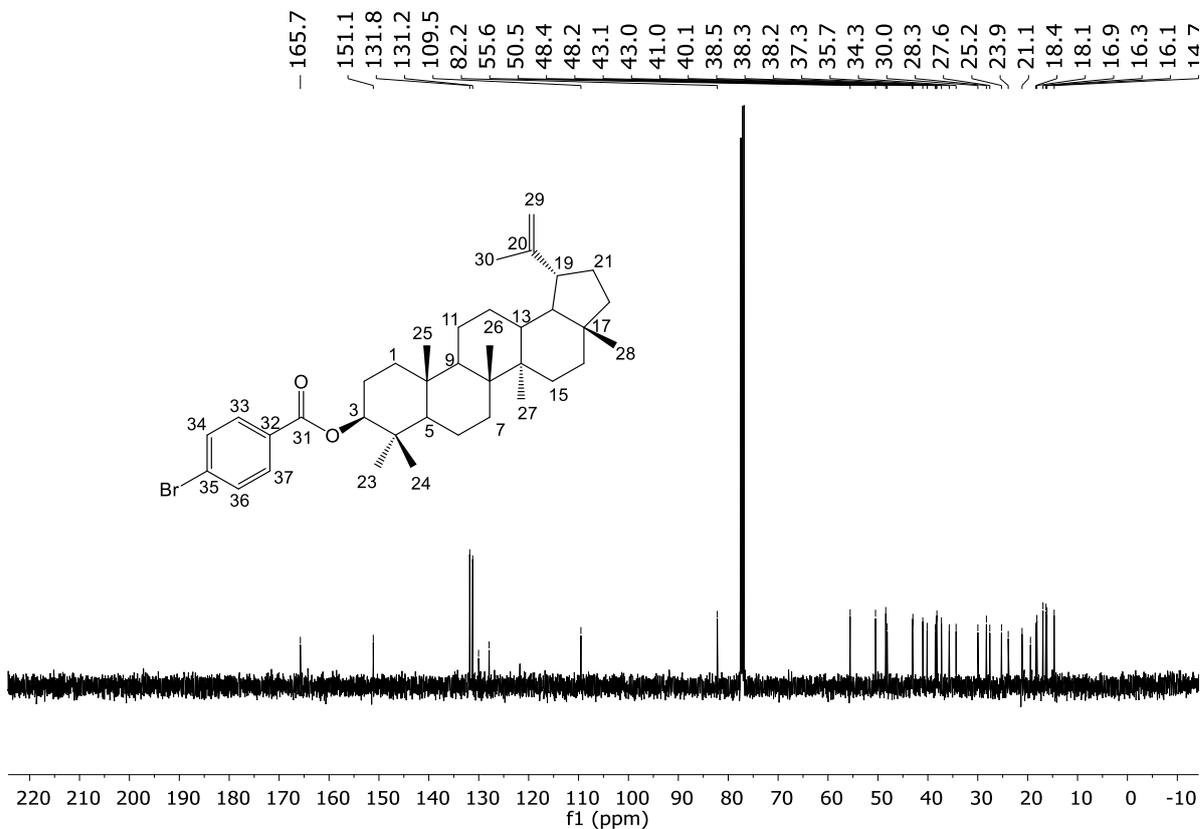


Figura B2: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL01

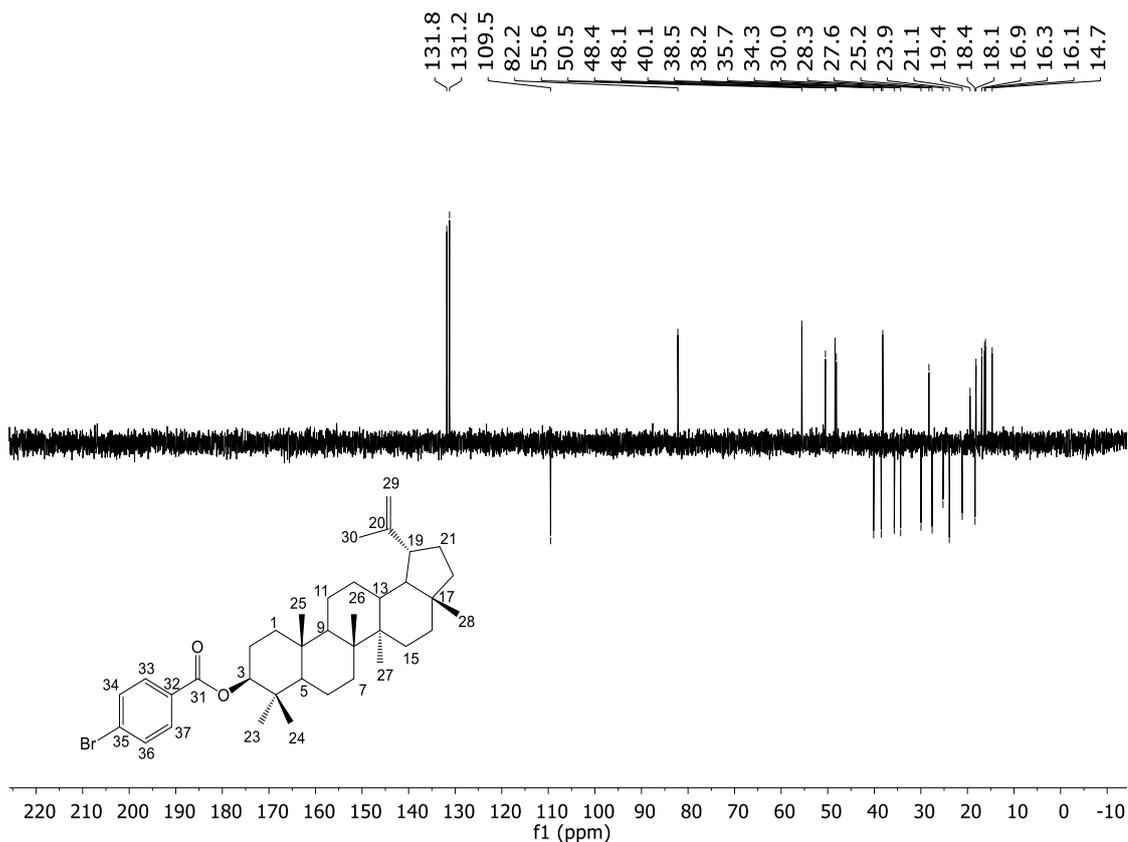


Figura B3: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL01

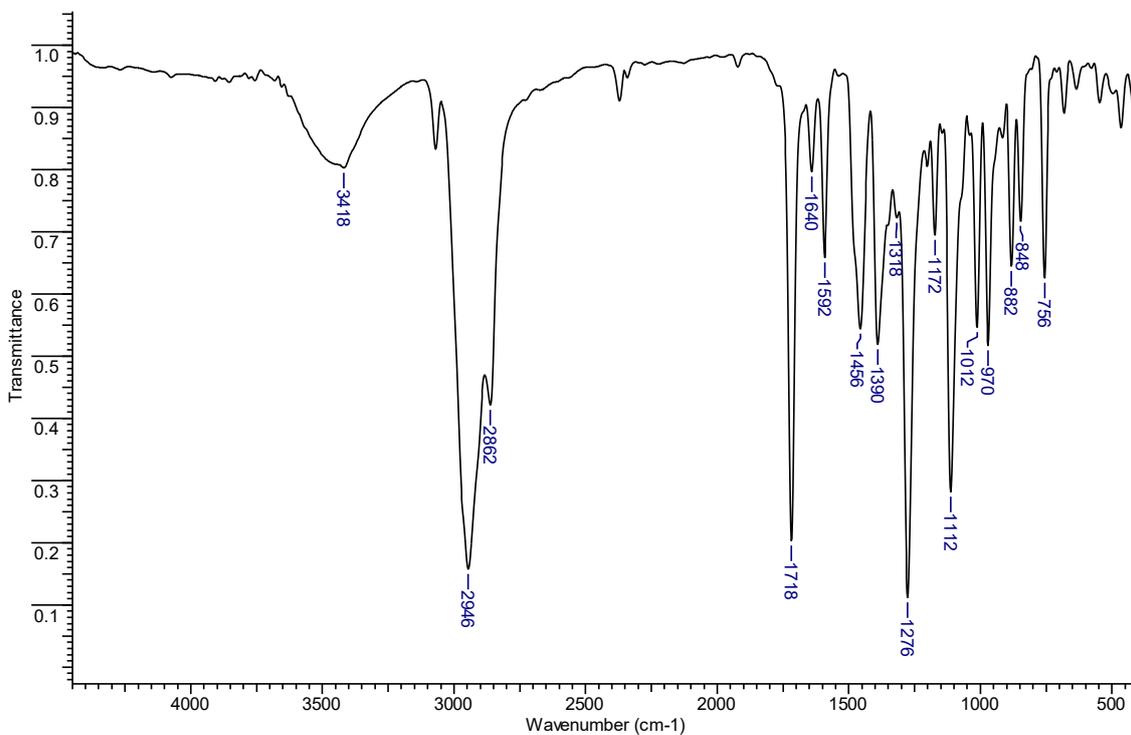


Figura B4: Espectro na região do IV de EL01

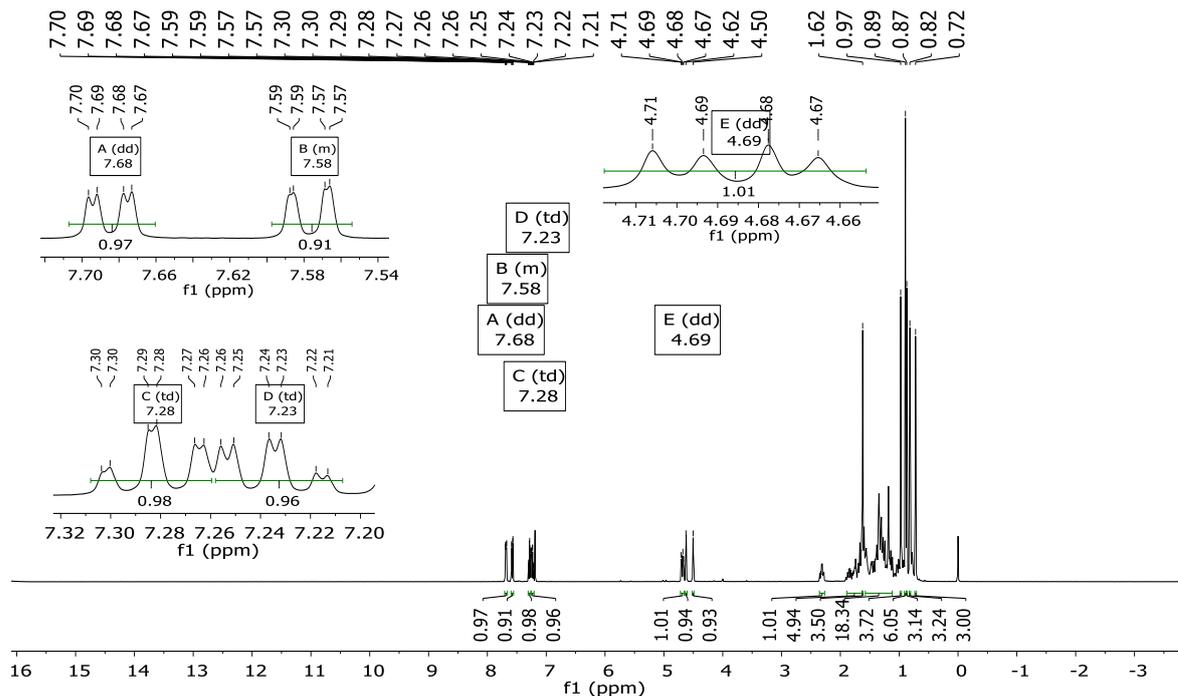


Figura B5: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL02

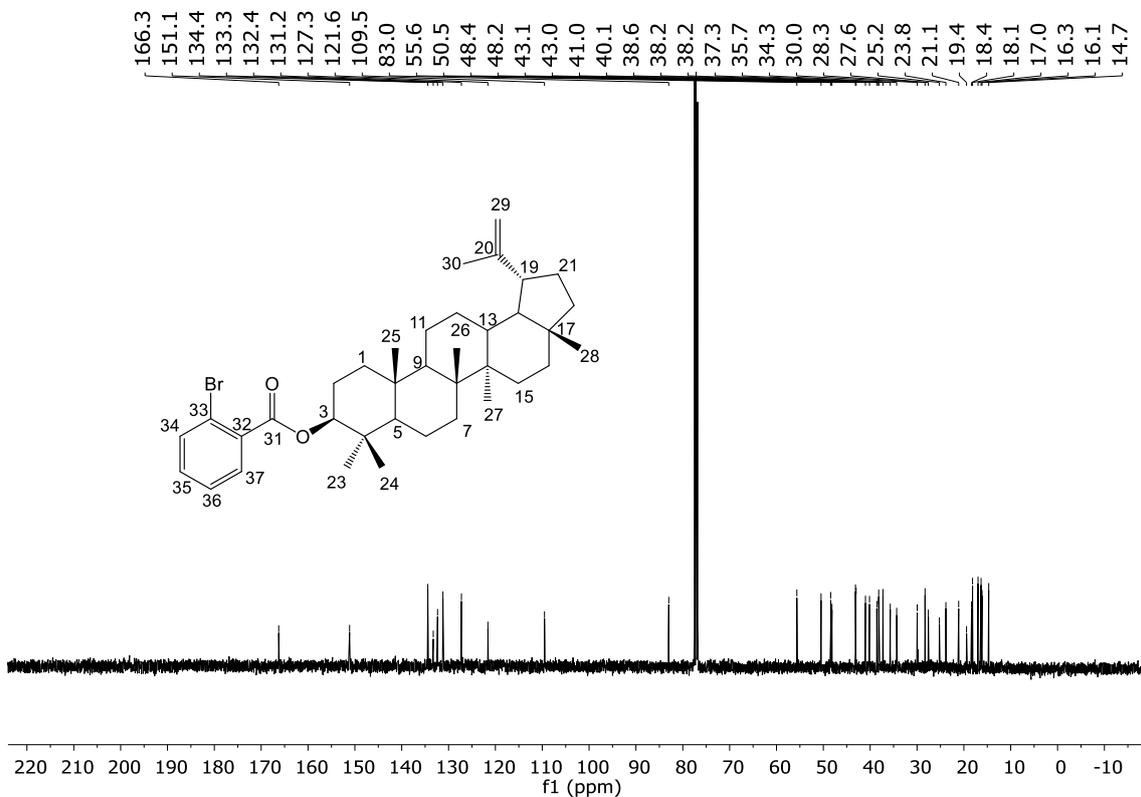


Figura B6: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL02

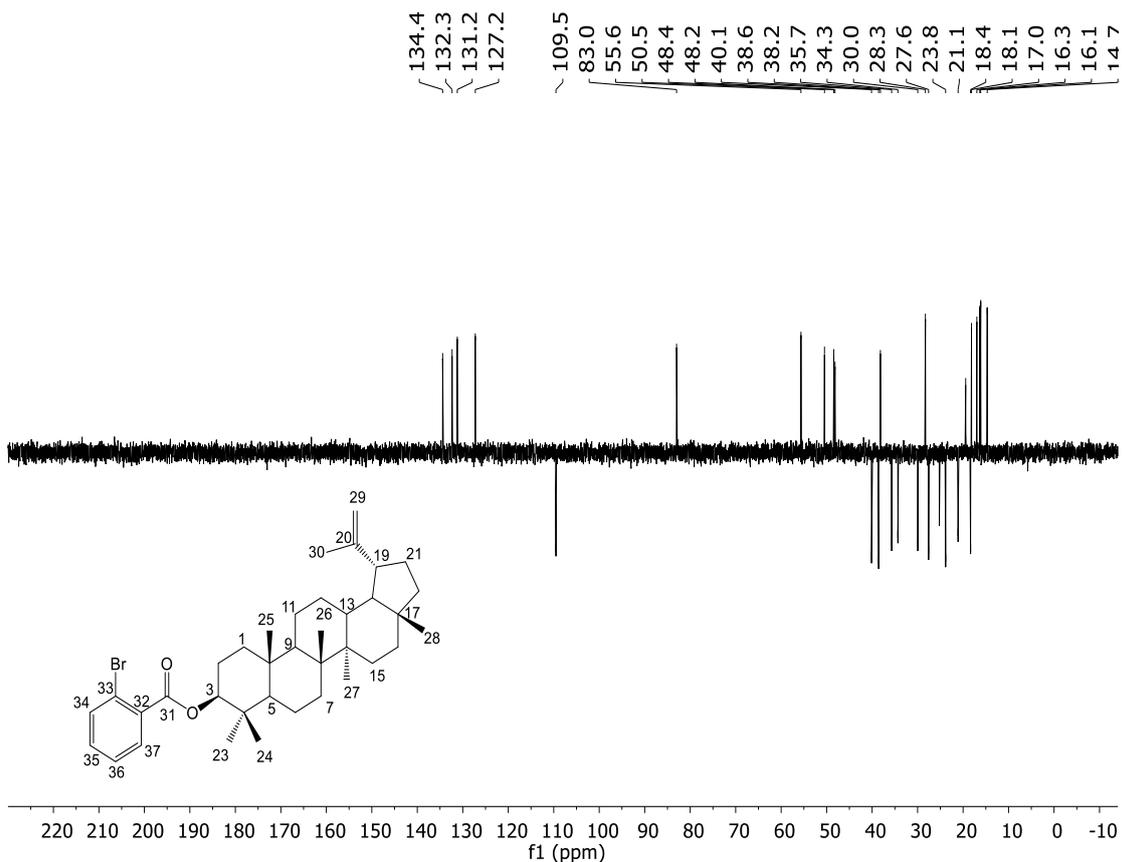


Figura B7: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL02

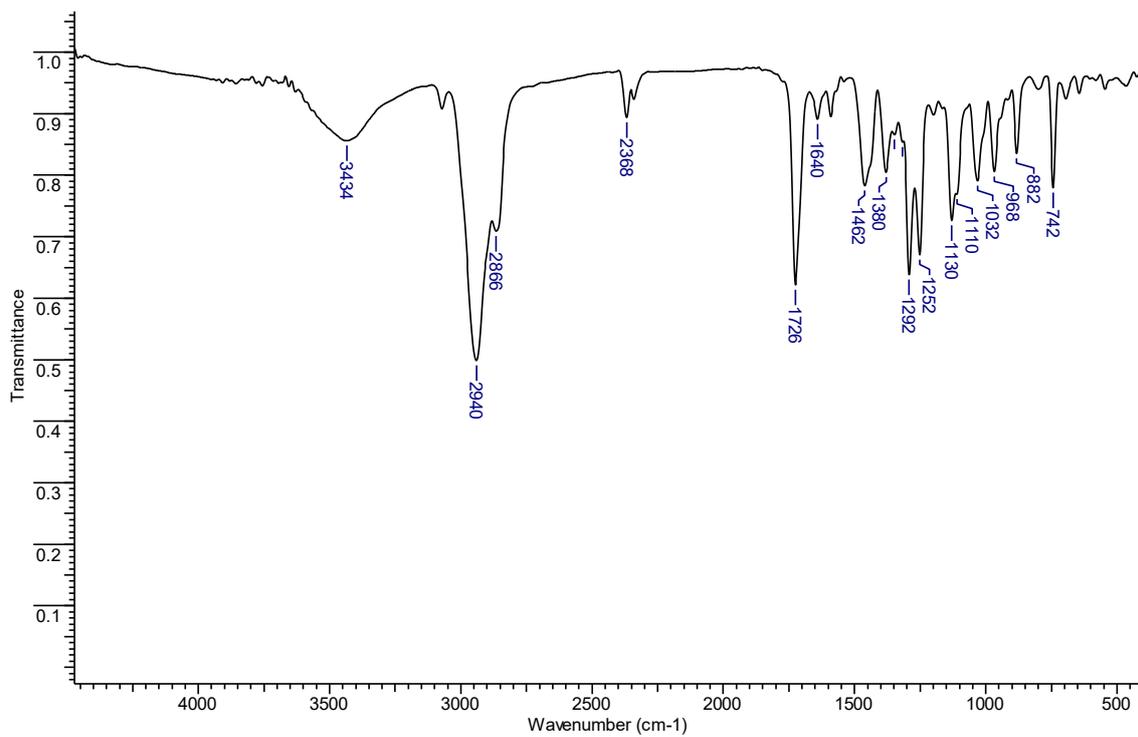


Figura B8: Espectro na região do IV de EL02

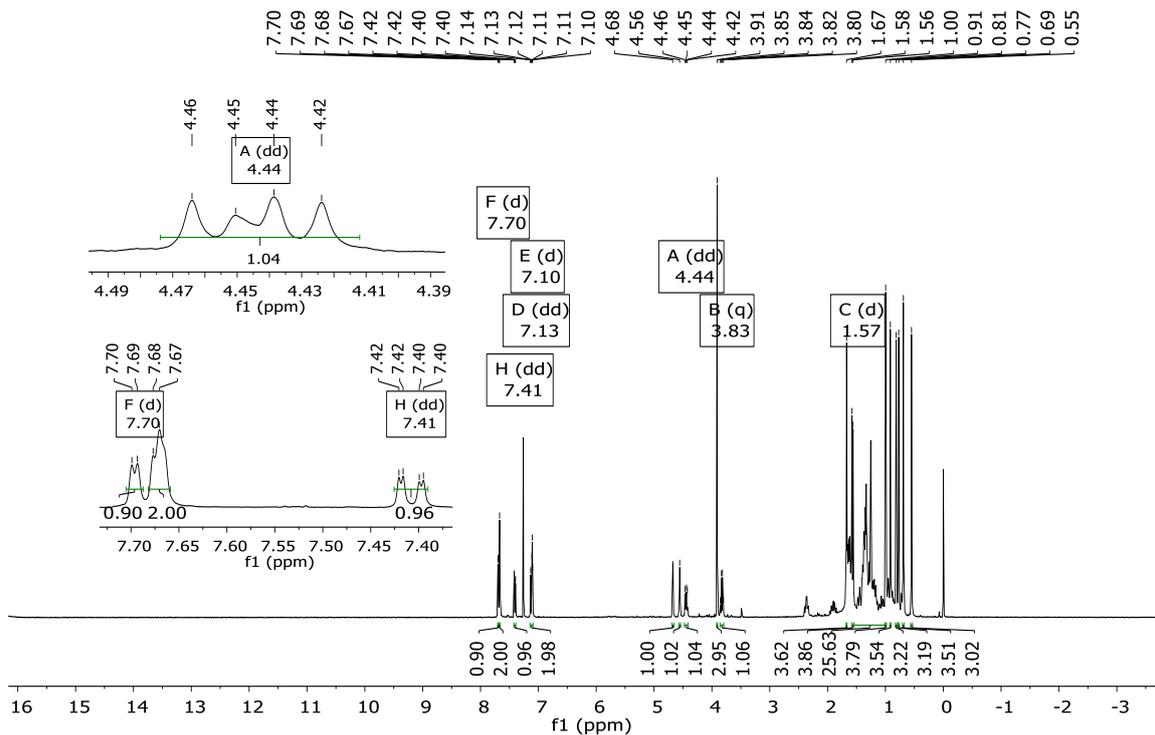


Figura B9: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL03

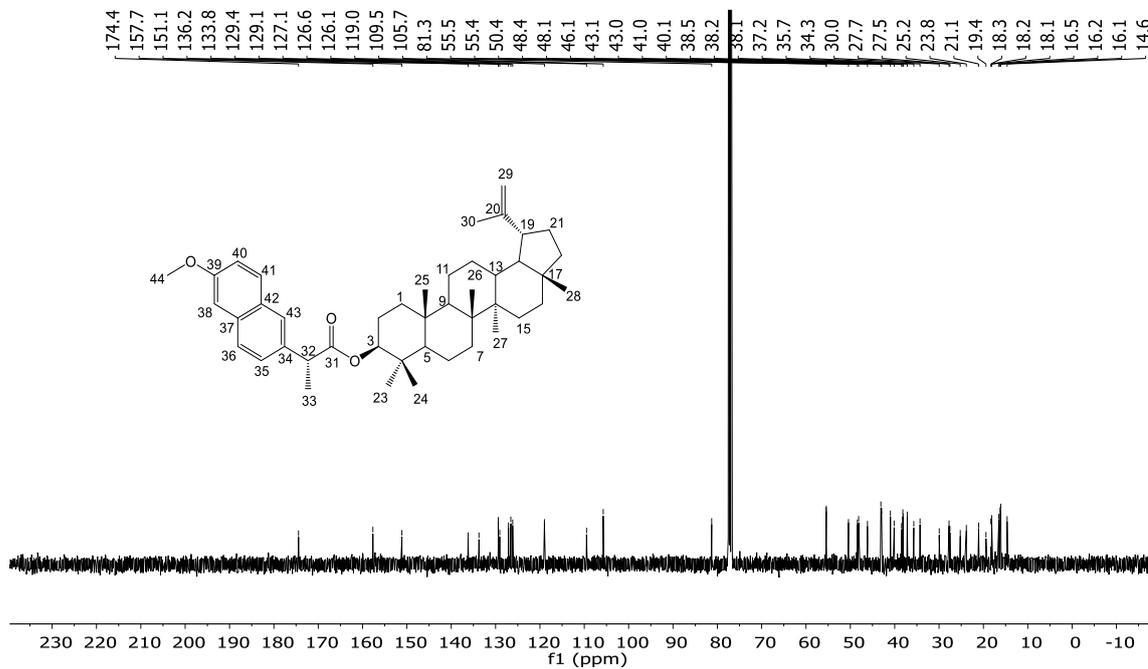


Figura B10: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL03

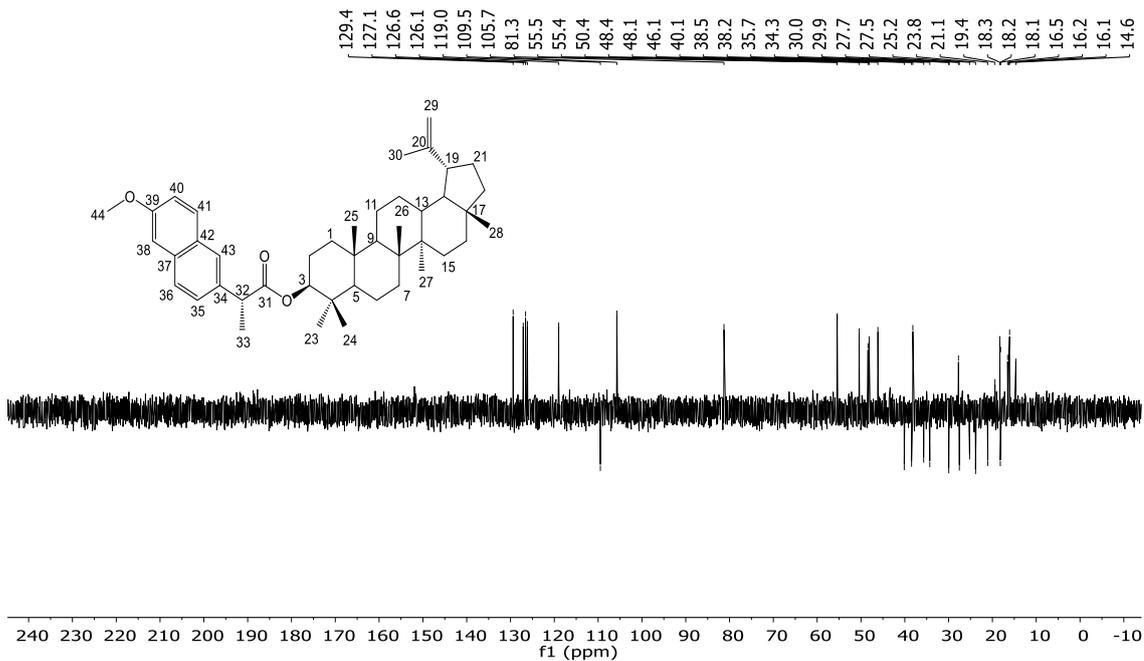


Figura B11: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL03

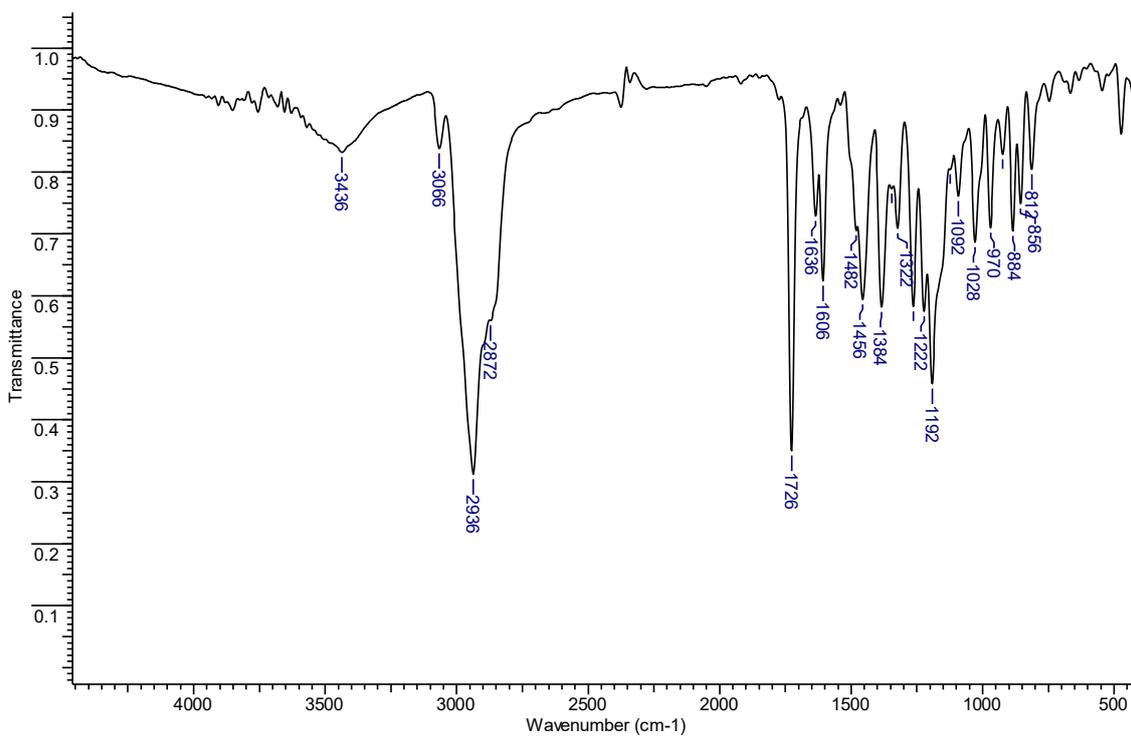


Figura B12: Espectro na região do IV de EL03

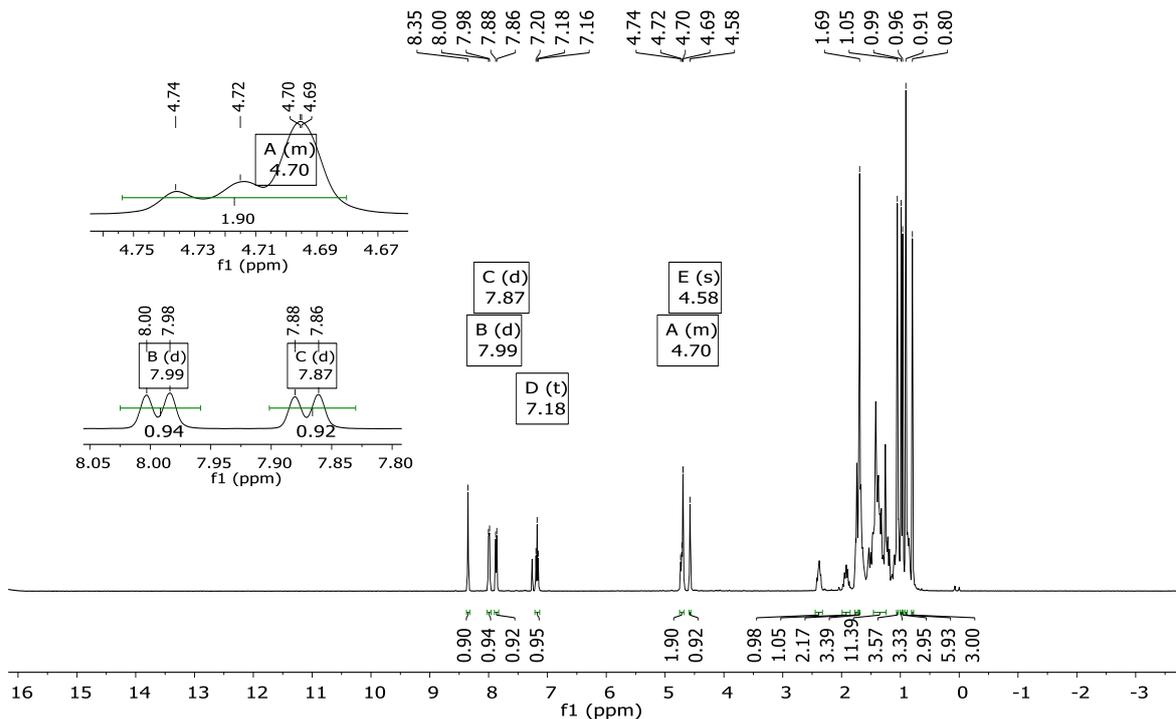


Figura B13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL04

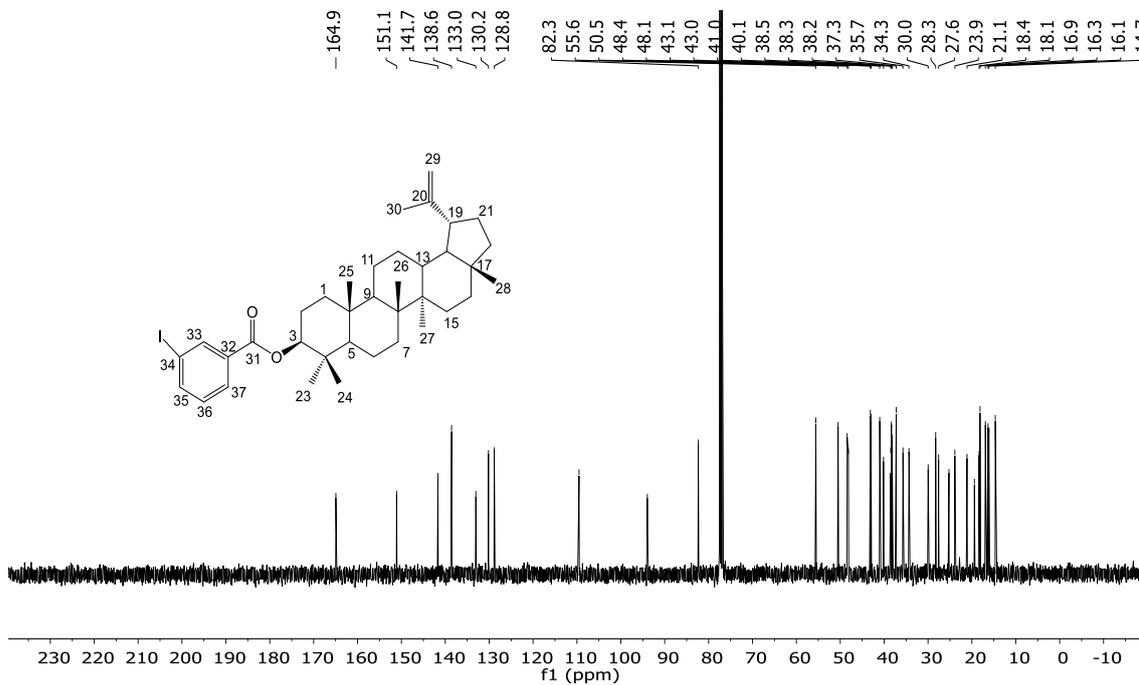


Figura B14: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL04

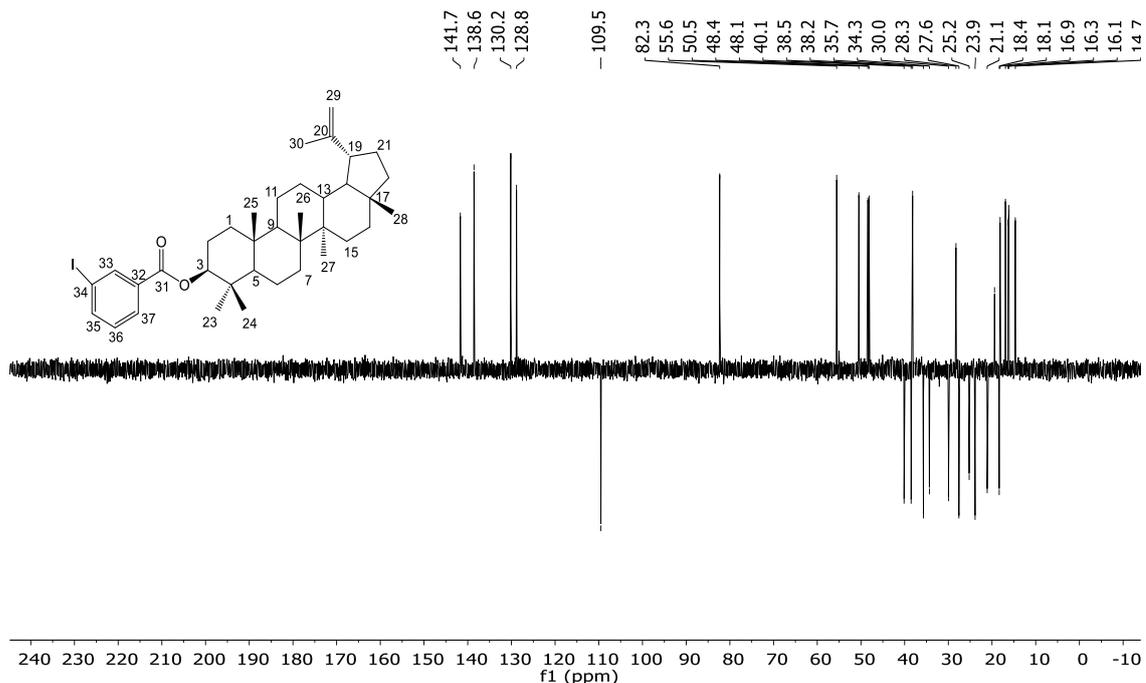


Figura B15: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL04

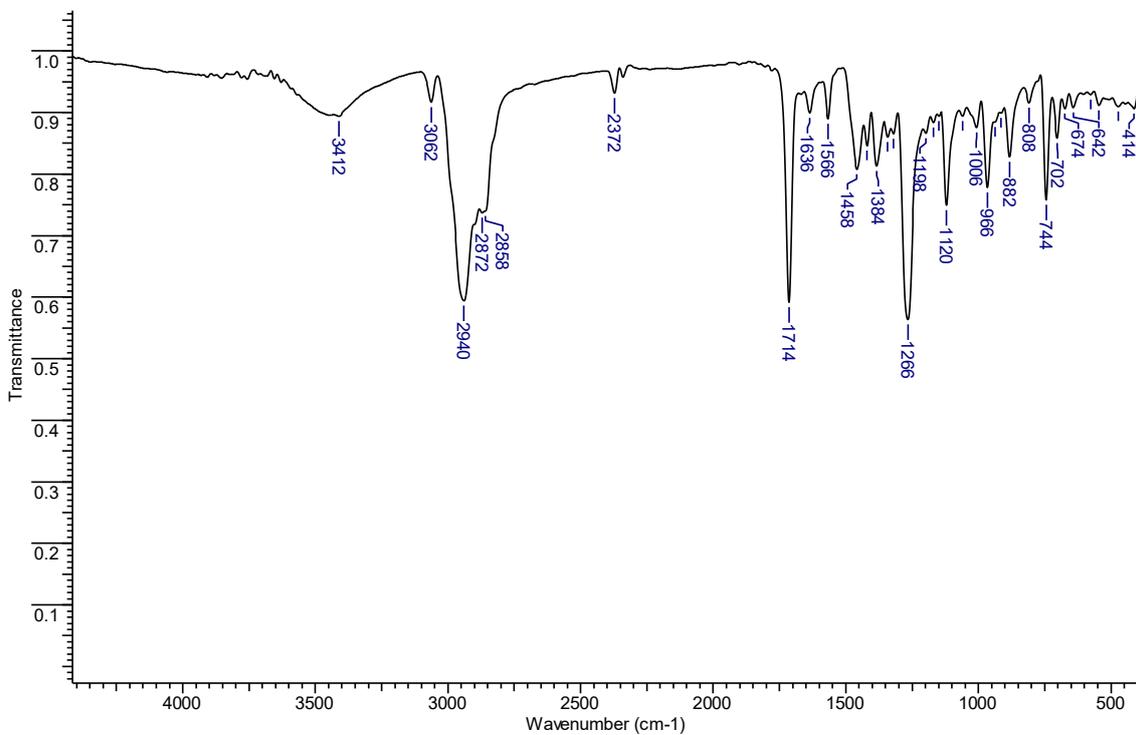


Figura B16: Espectro na região do IV de EL04

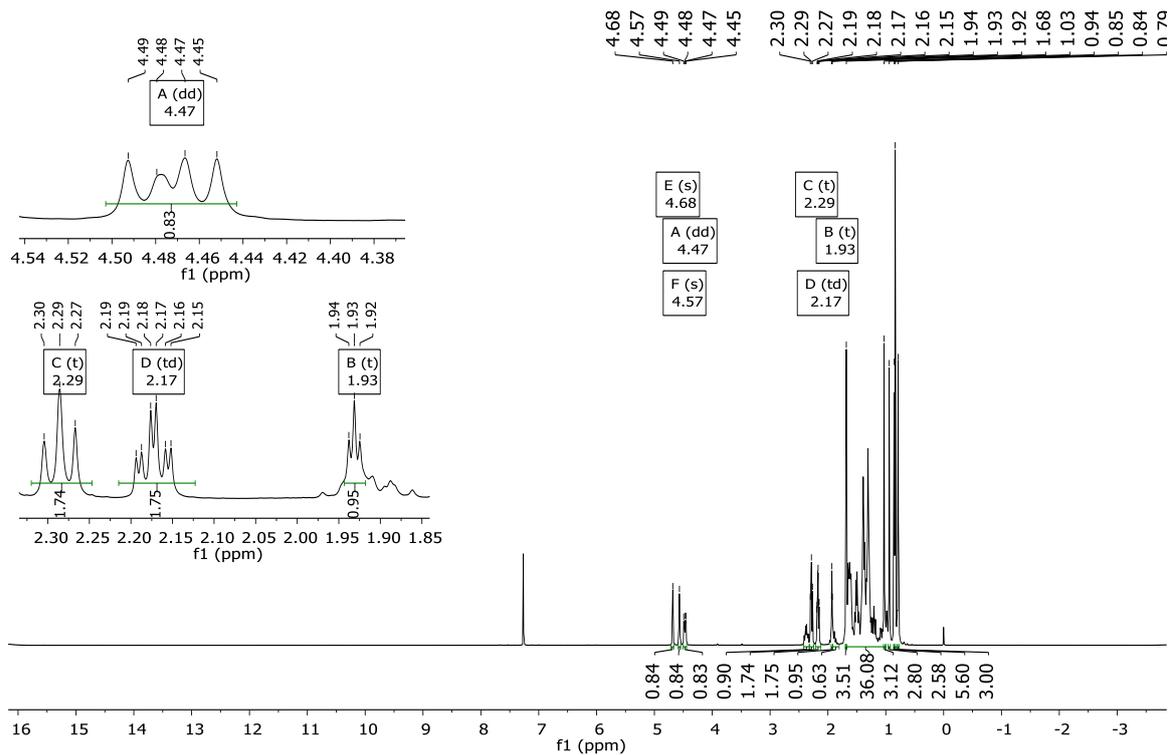


Figura B17: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de EL05

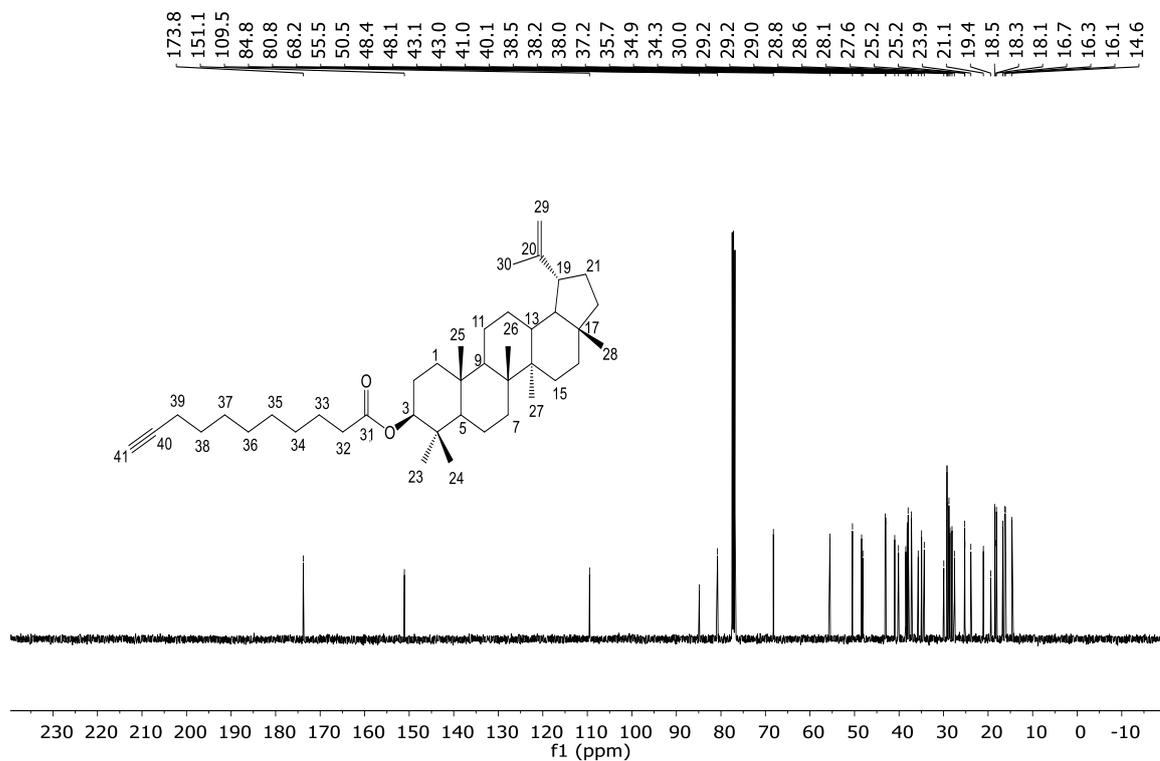


Figura B18: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de EL05

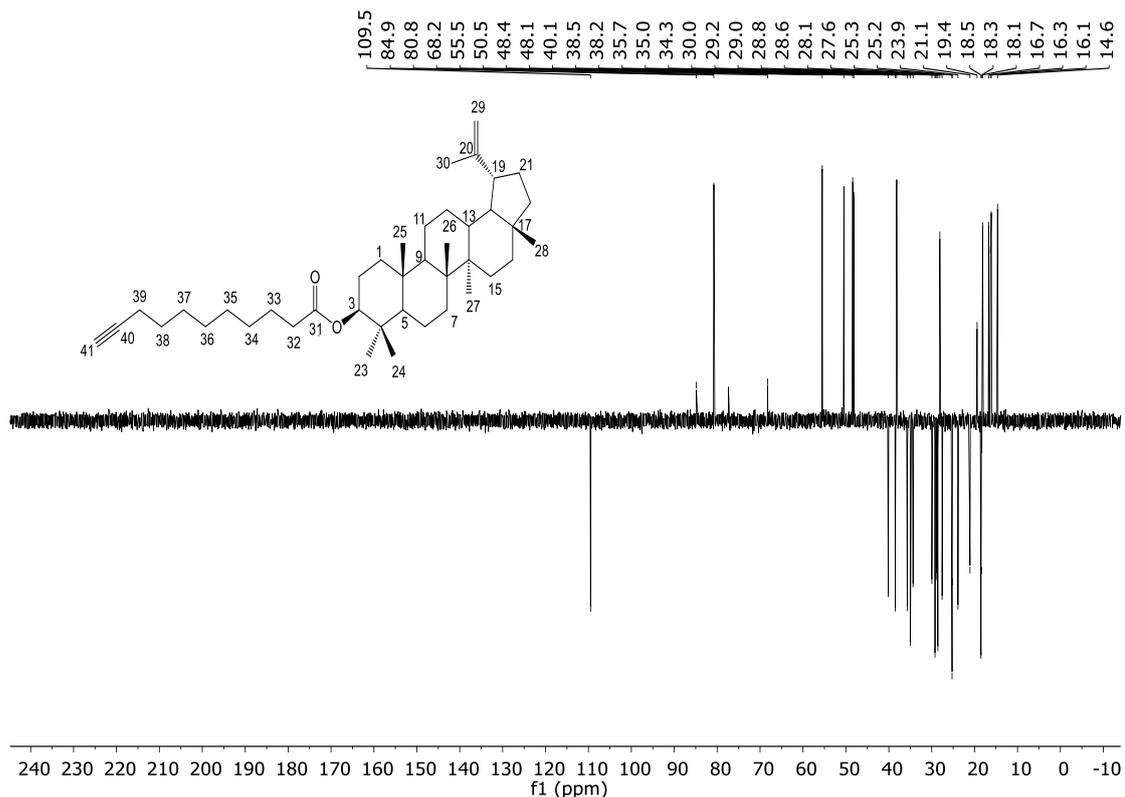


Figura B19: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL05

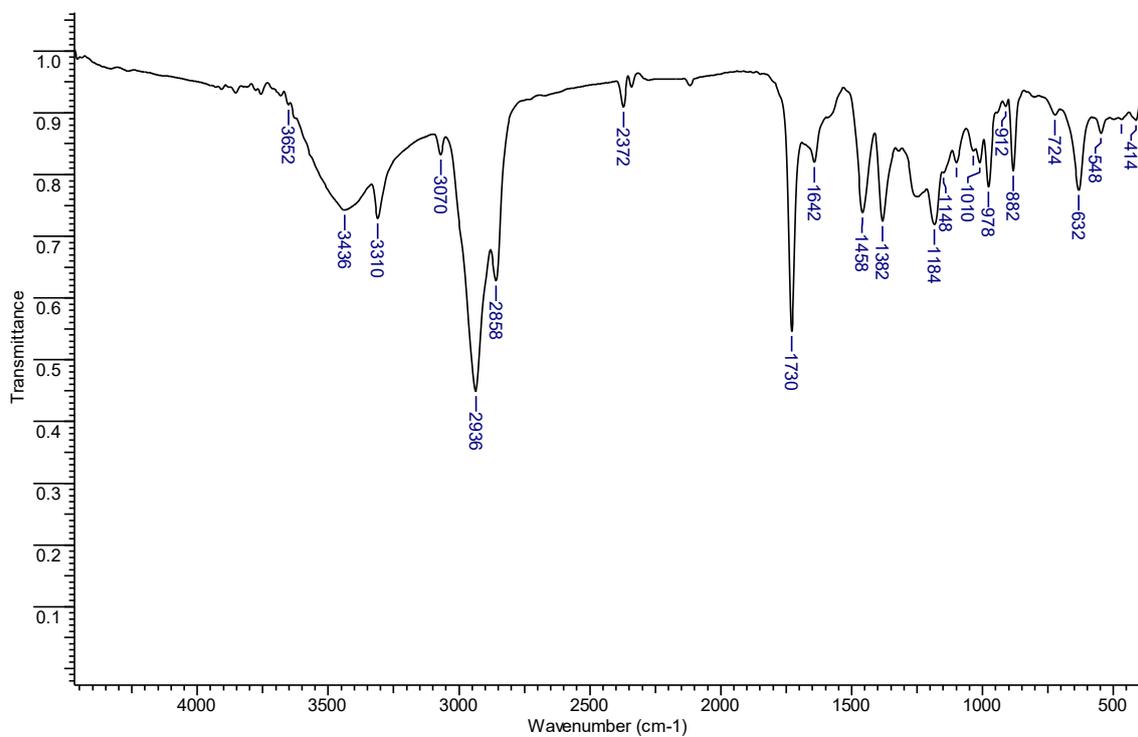


Figura B20: Espectro na região do IV de EL05

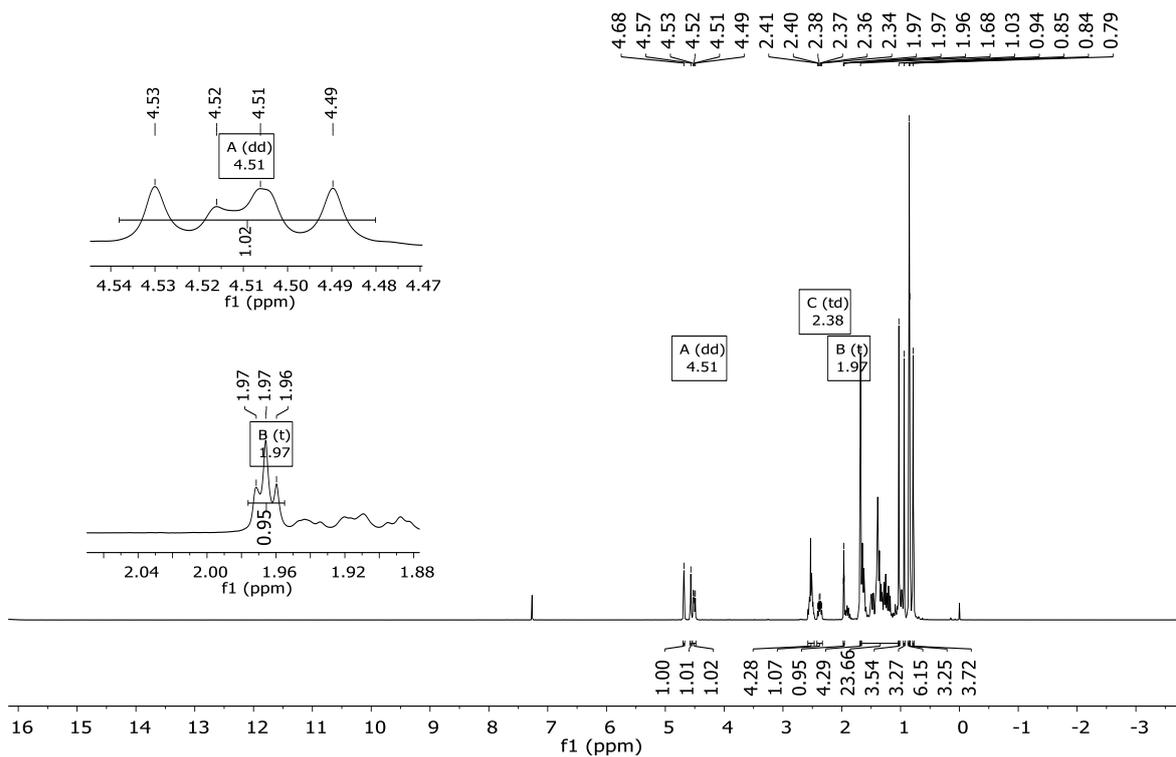


Figura B21: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL06

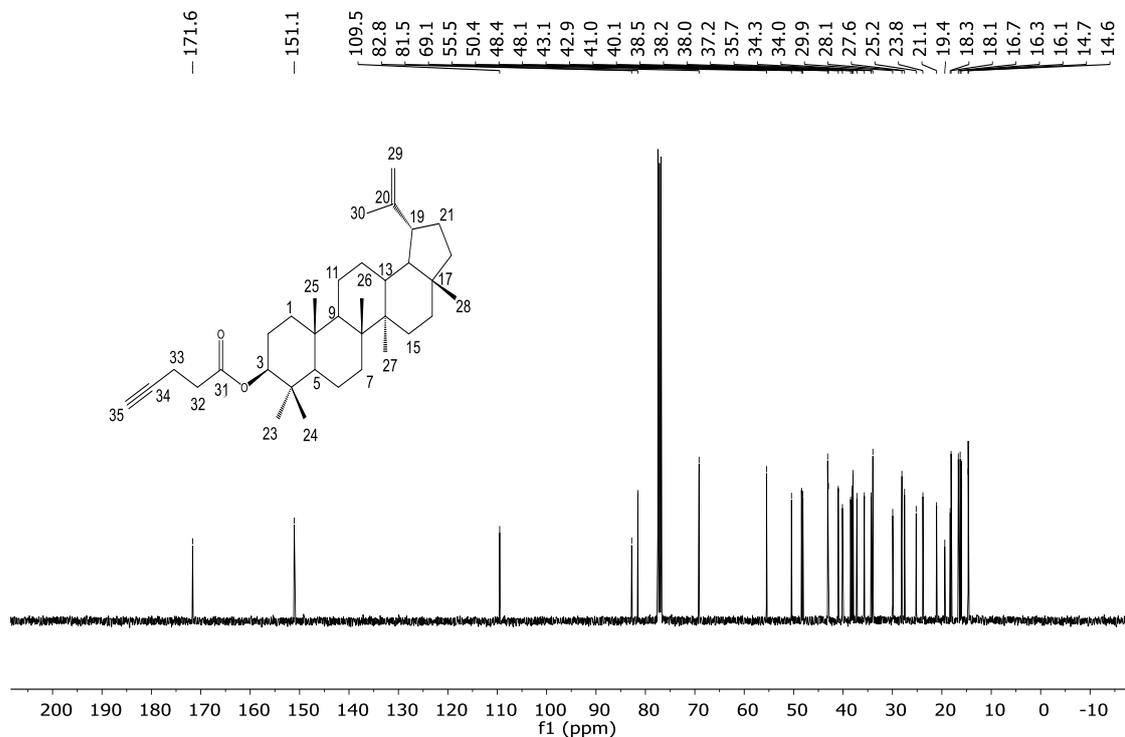


Figura B22: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL06

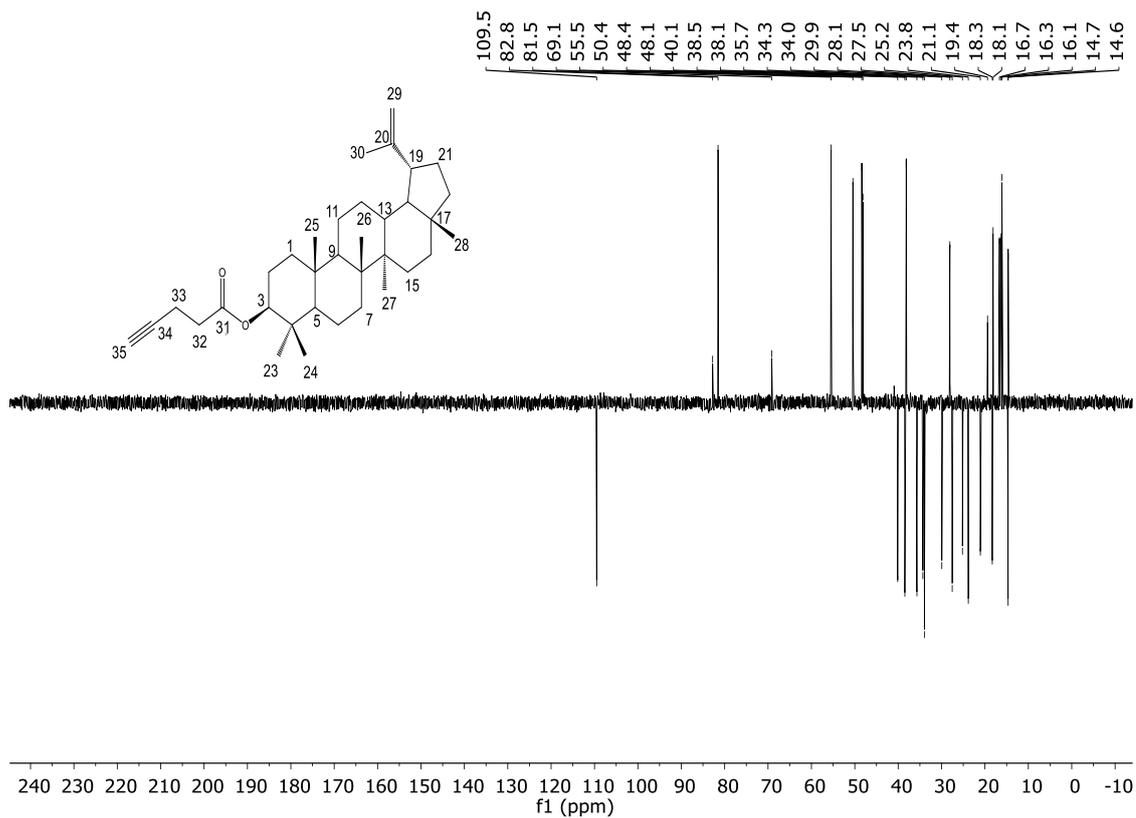


Figura B23: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL06

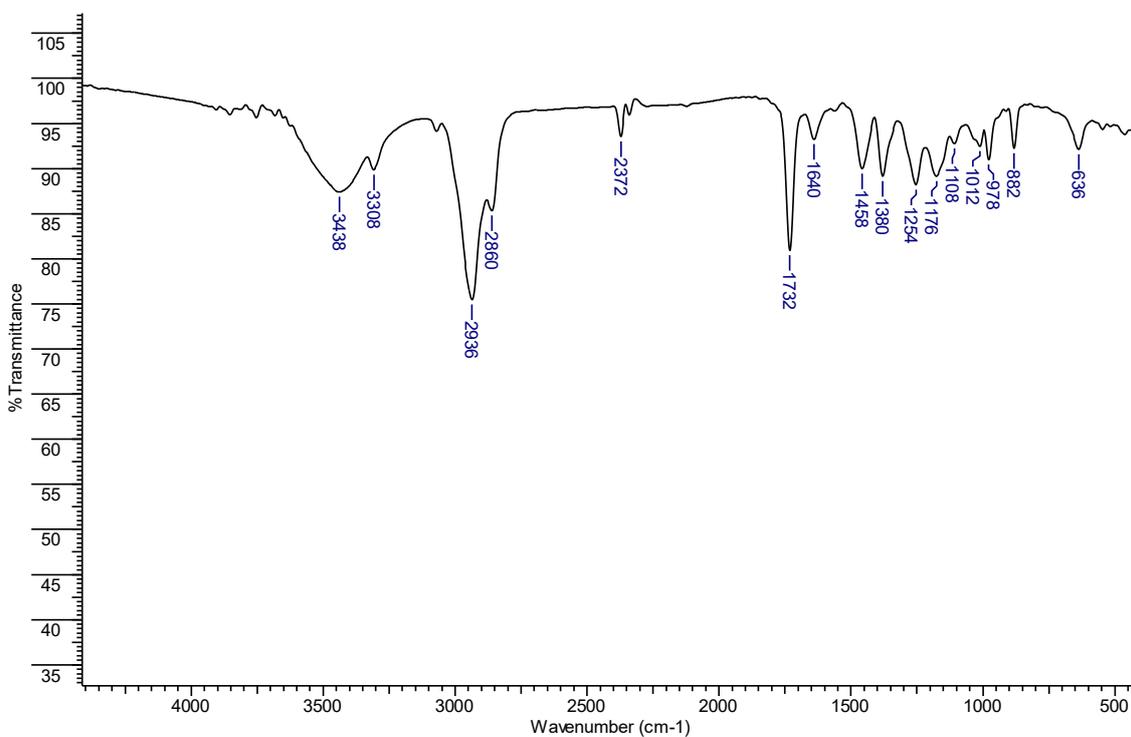


Figura B24: Espectro na região do IV de EL06

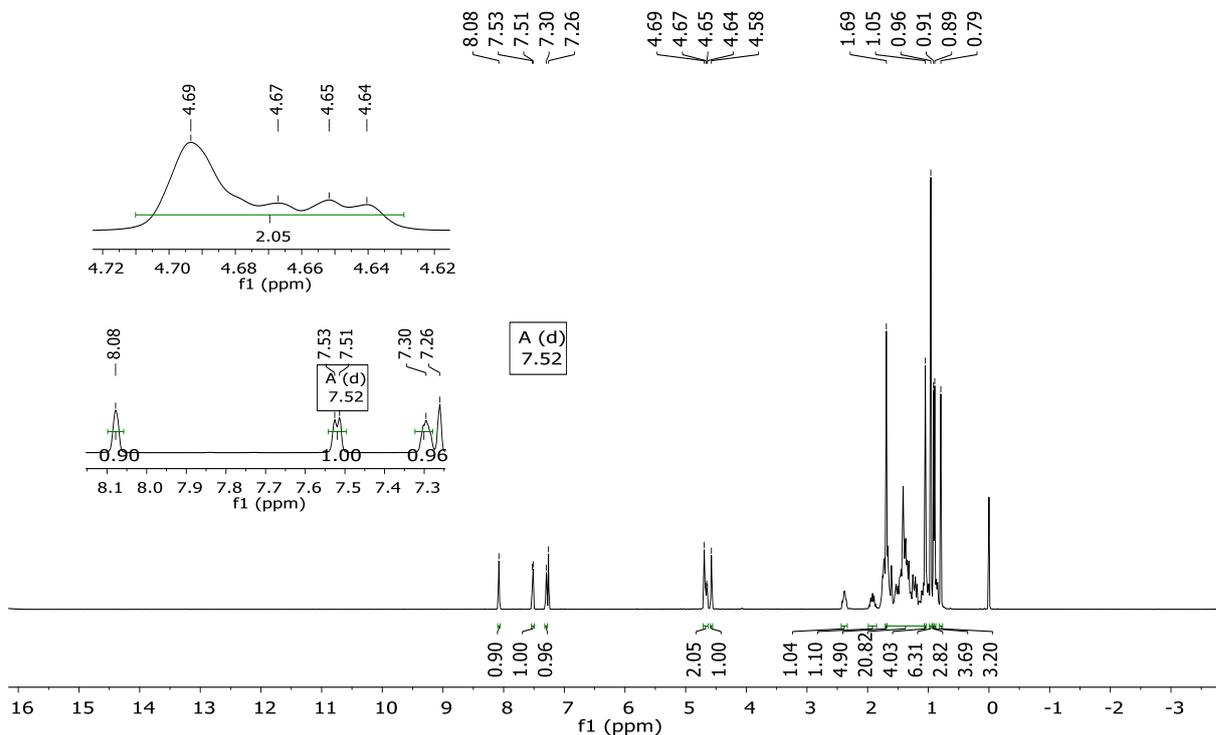


Figura B25: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **EL07**

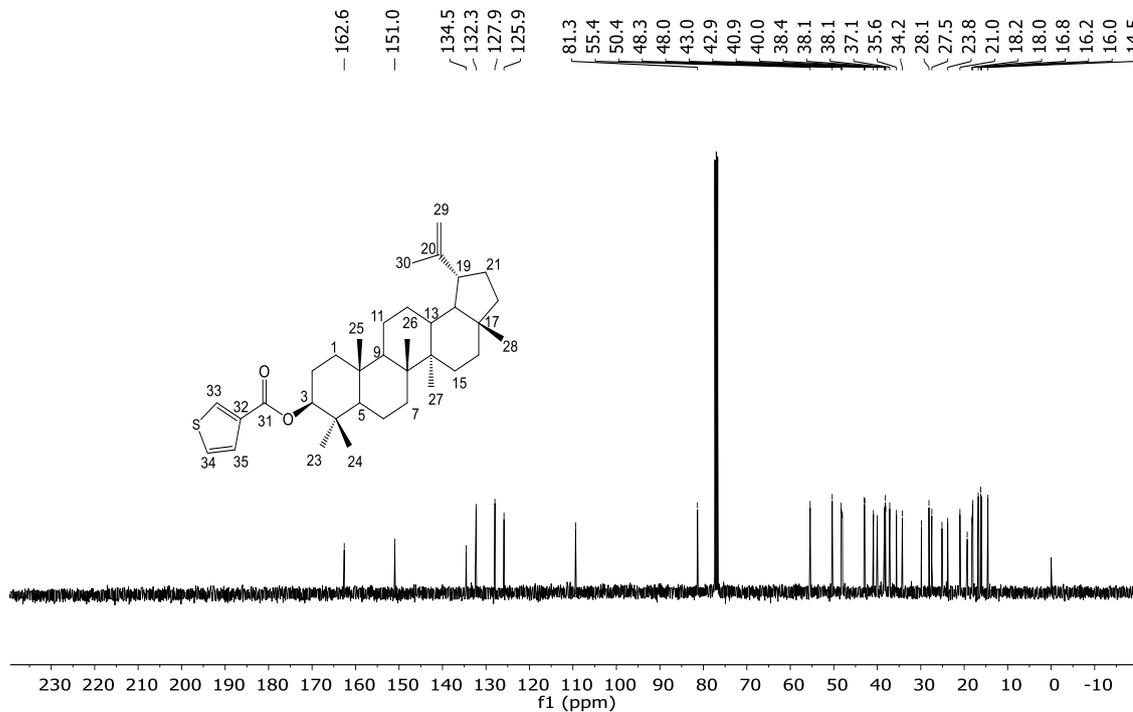


Figura B26: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **EL07**

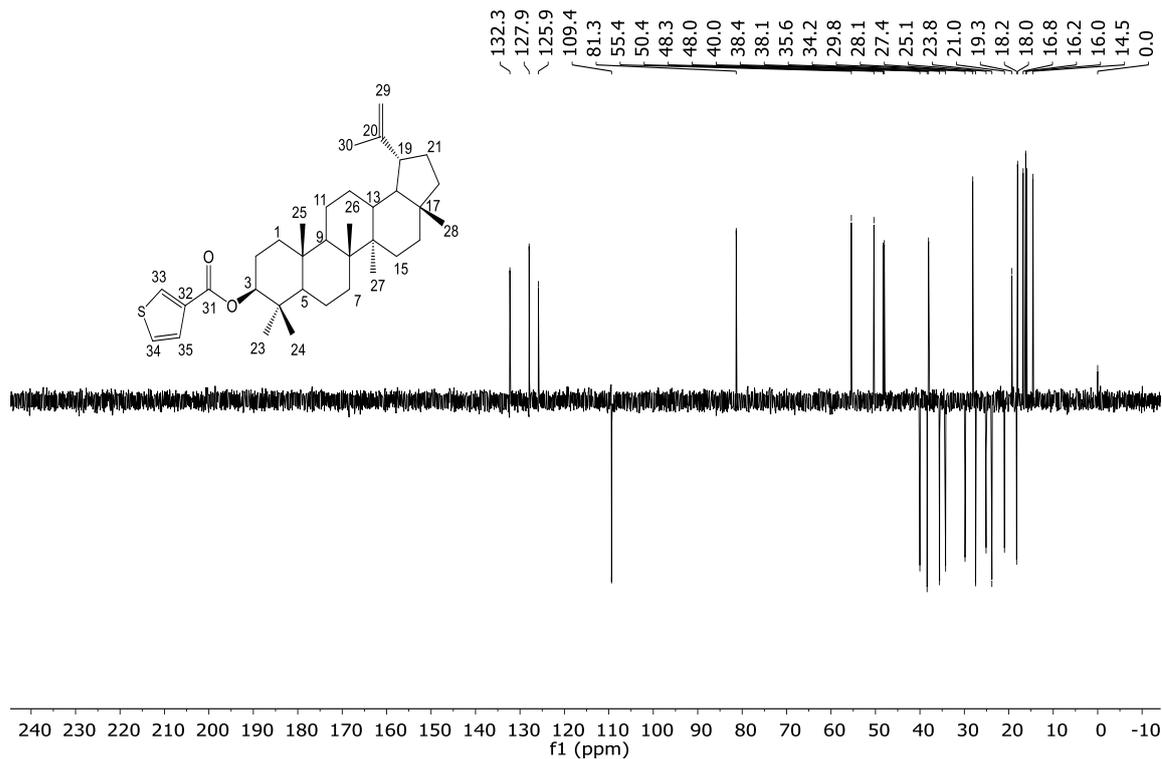


Figura B27: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL07

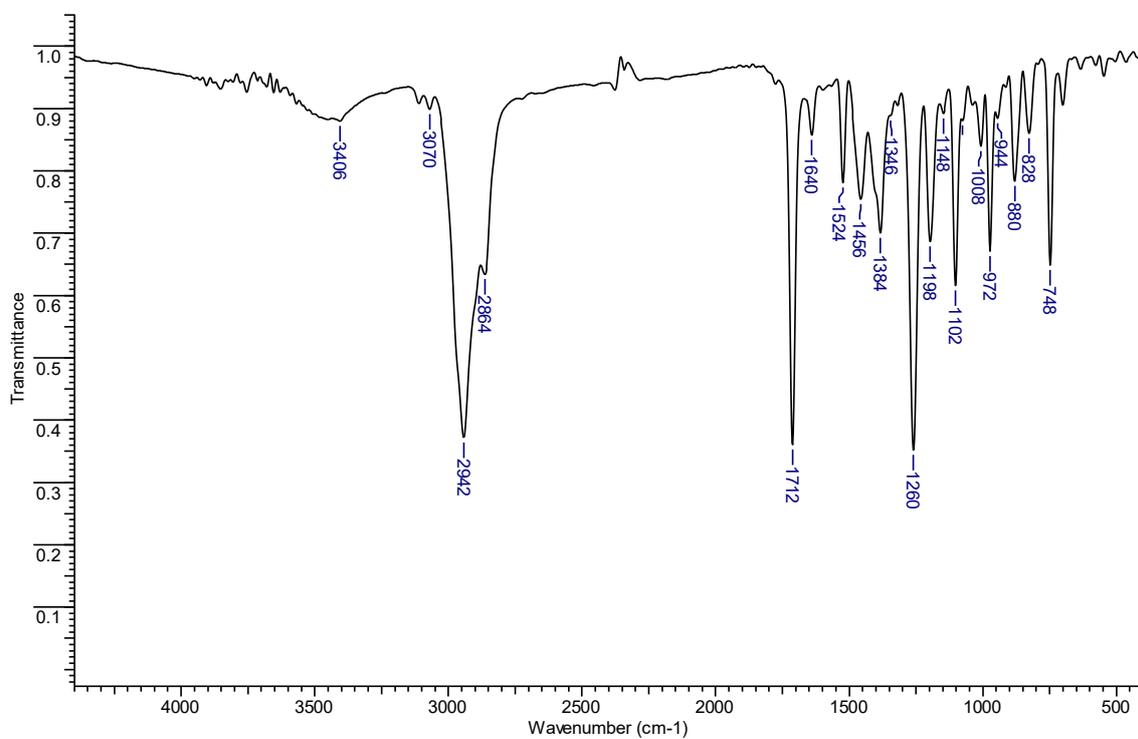


Figura B28: Espectro na região do IV de EL07

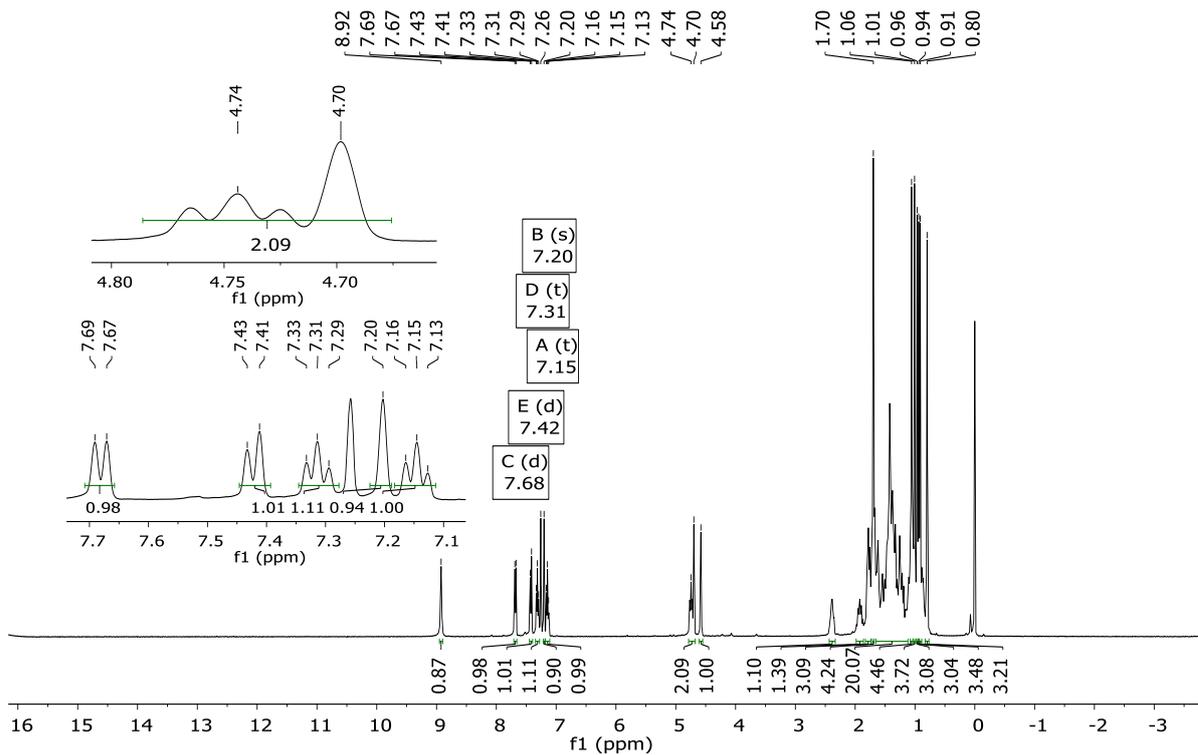


Figura B29: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL08

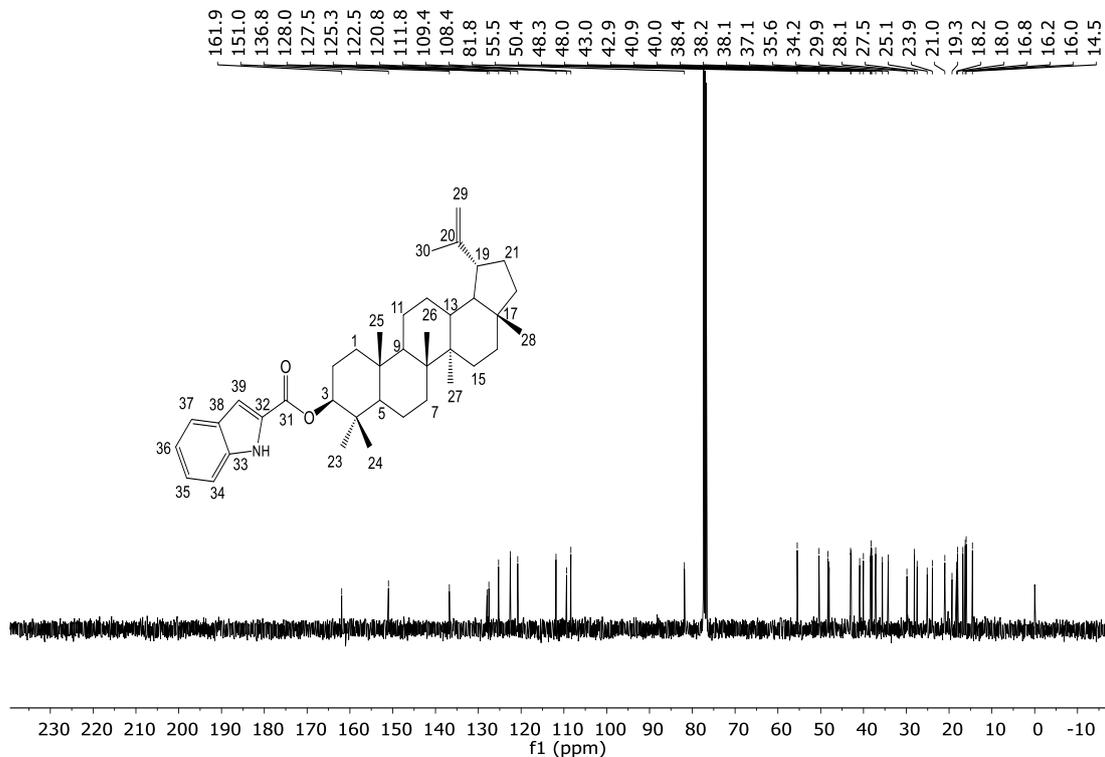


Figura B30: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL08

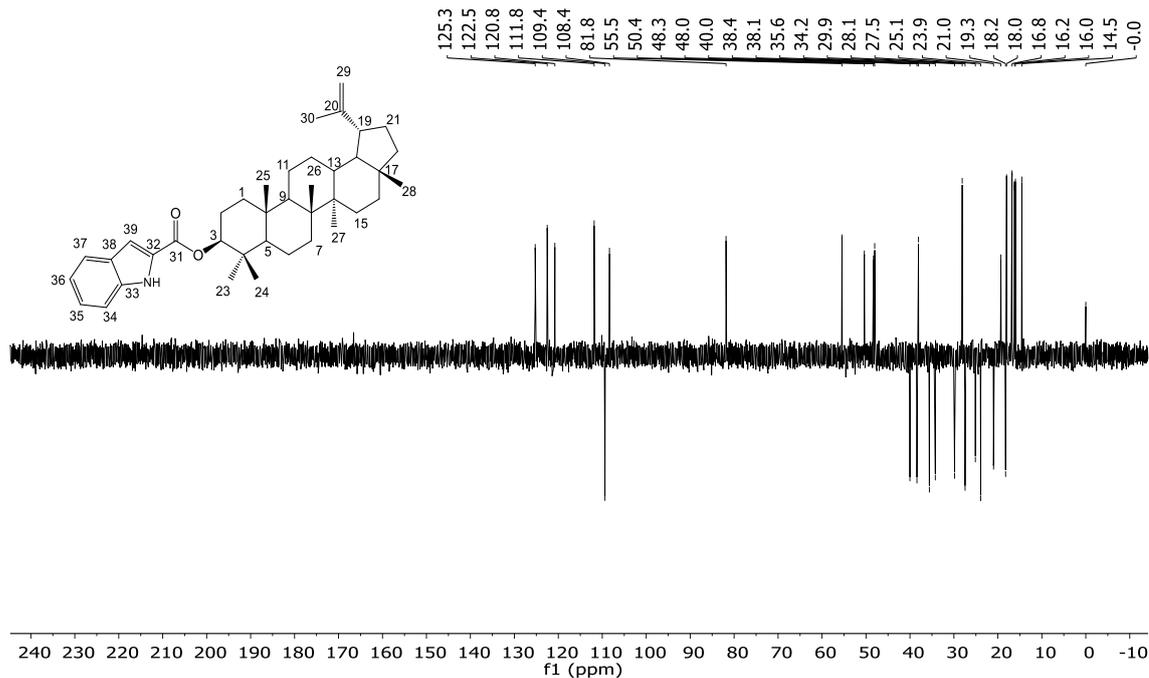


Figura B31: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL08

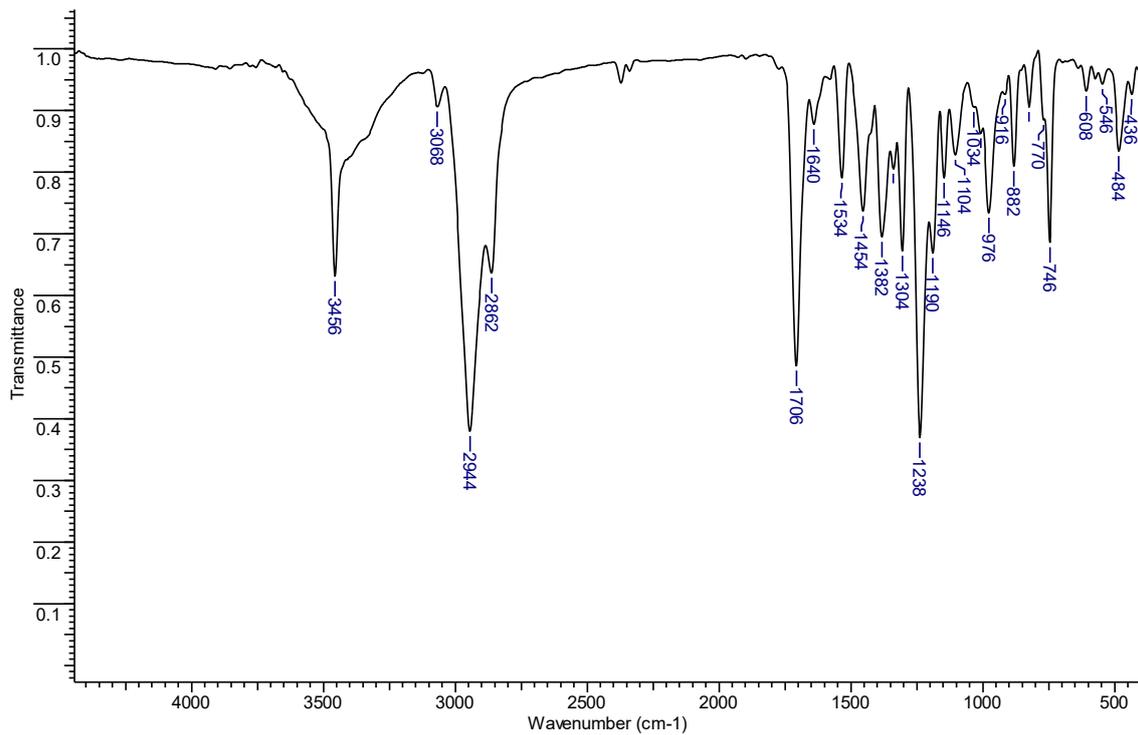


Figura B32: Espectro na região do IV de EL08

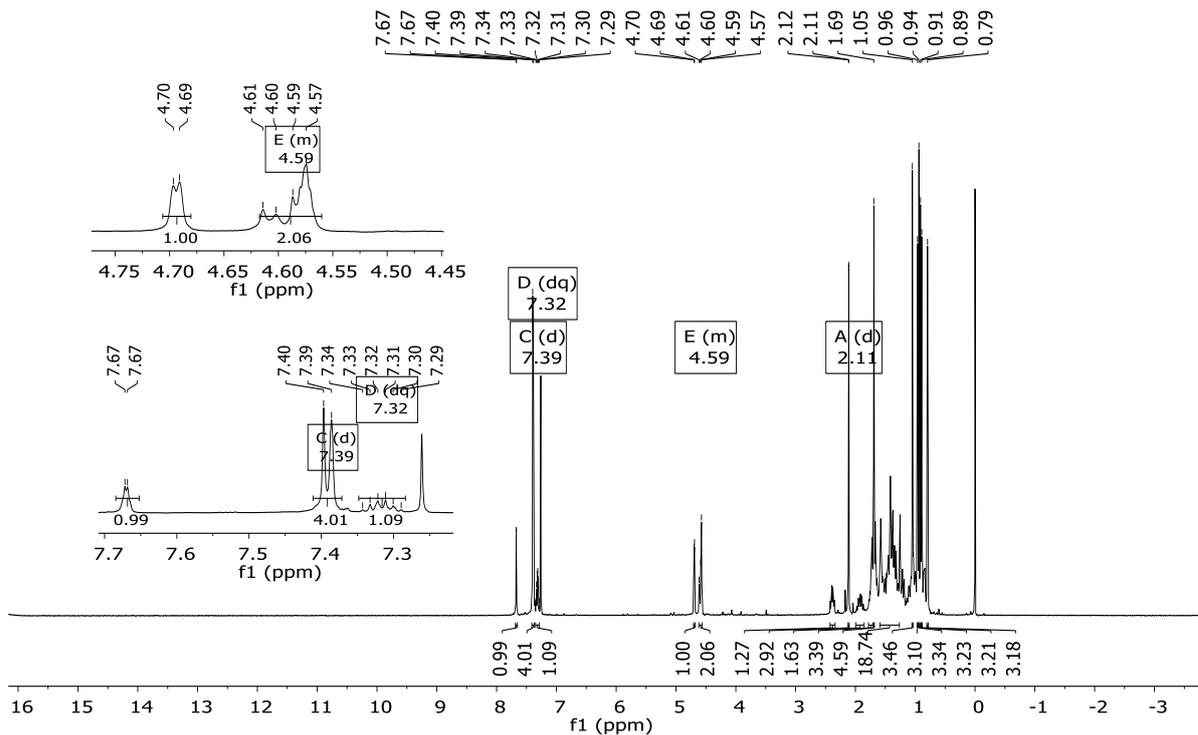


Figura B33: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL09

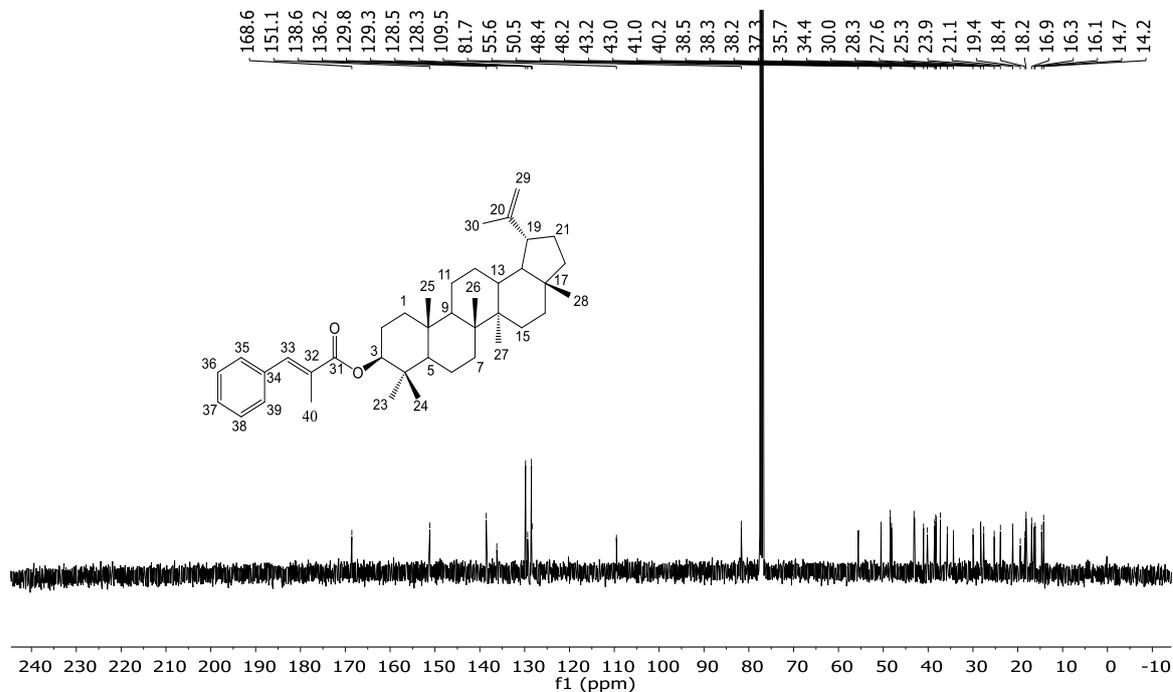


Figura B34: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL09

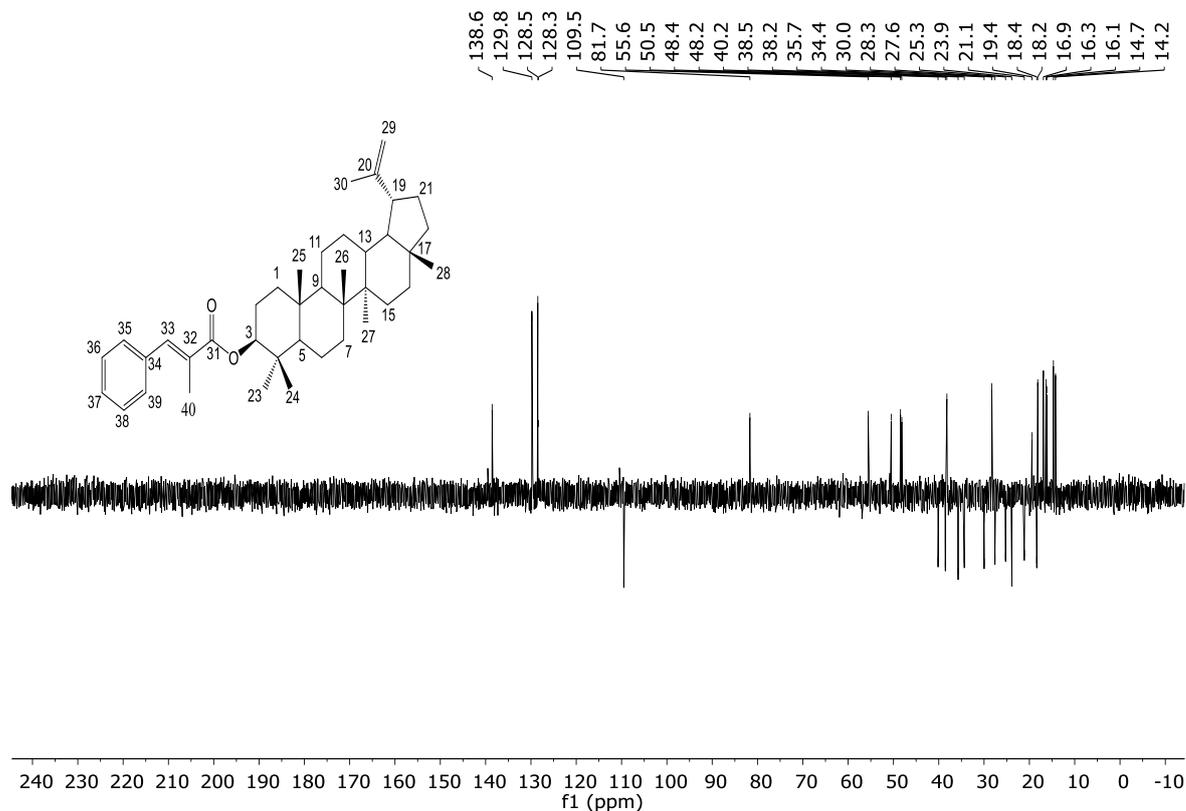


Figura B35: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de EL09

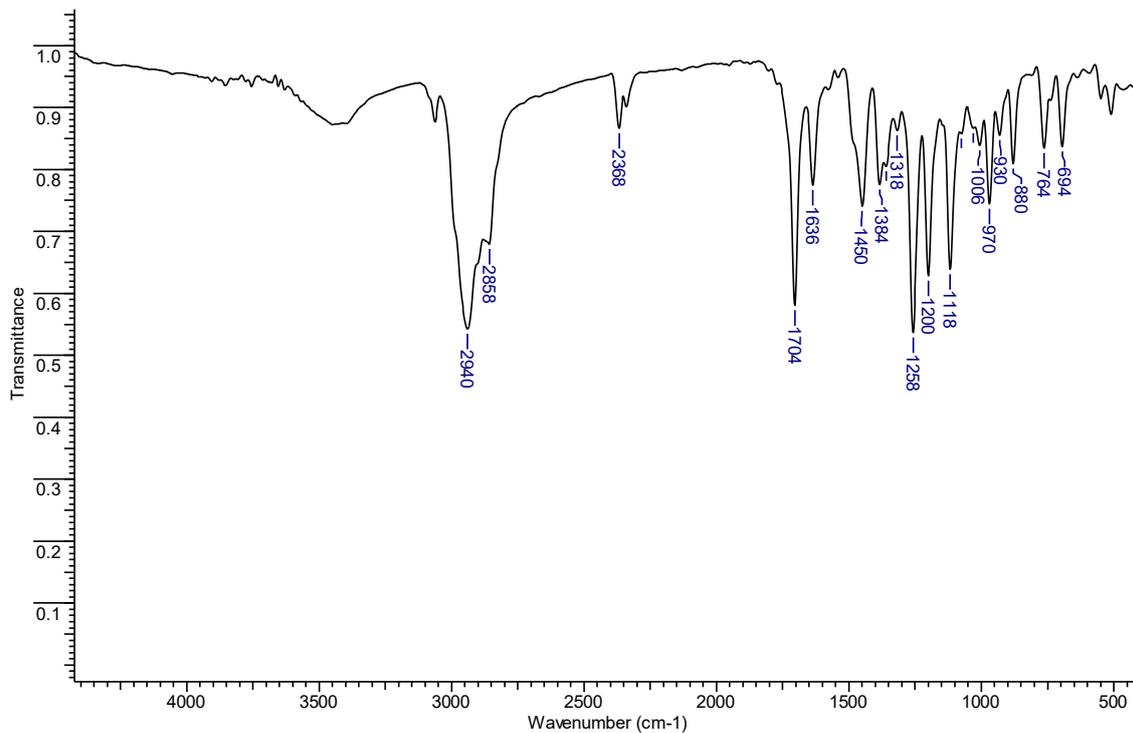


Figura B36: Espectro na região do IV de EL09

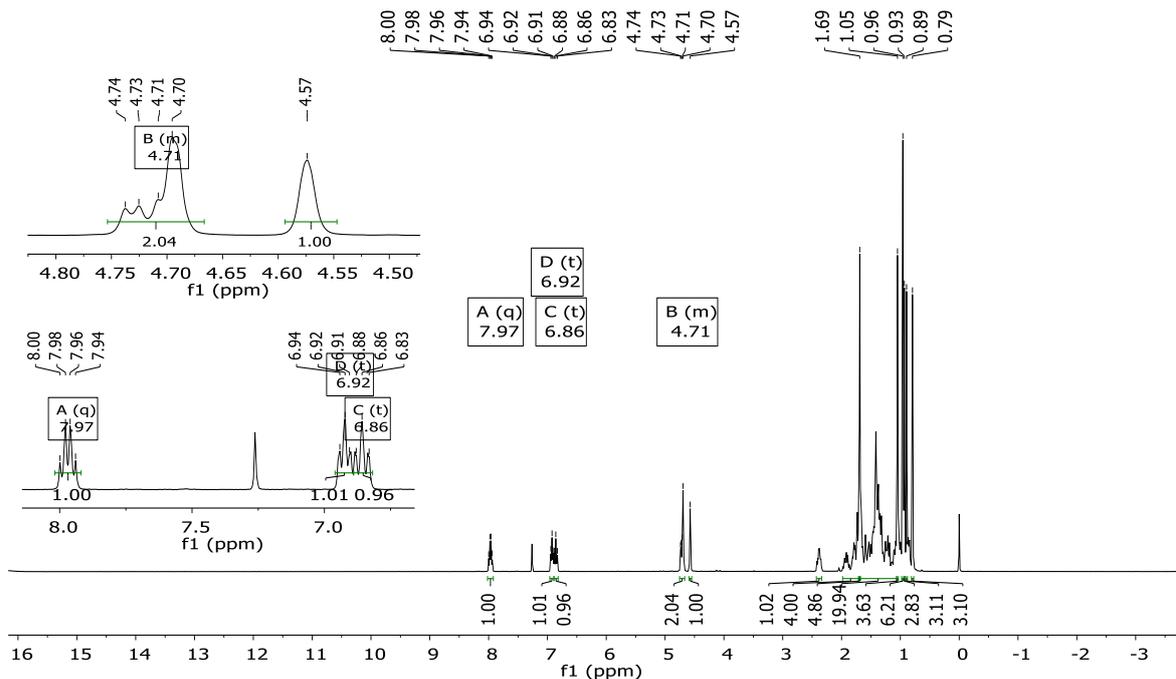


Figura B37: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL10

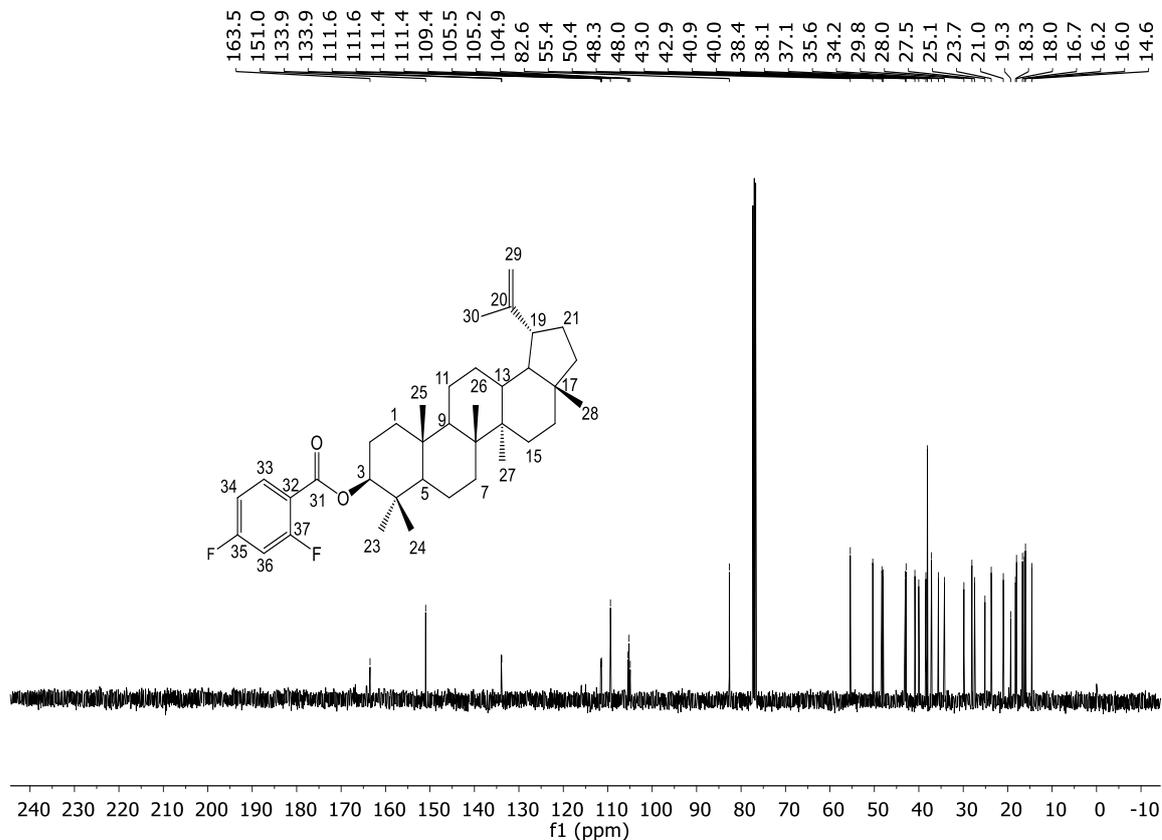


Figura B38: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL10

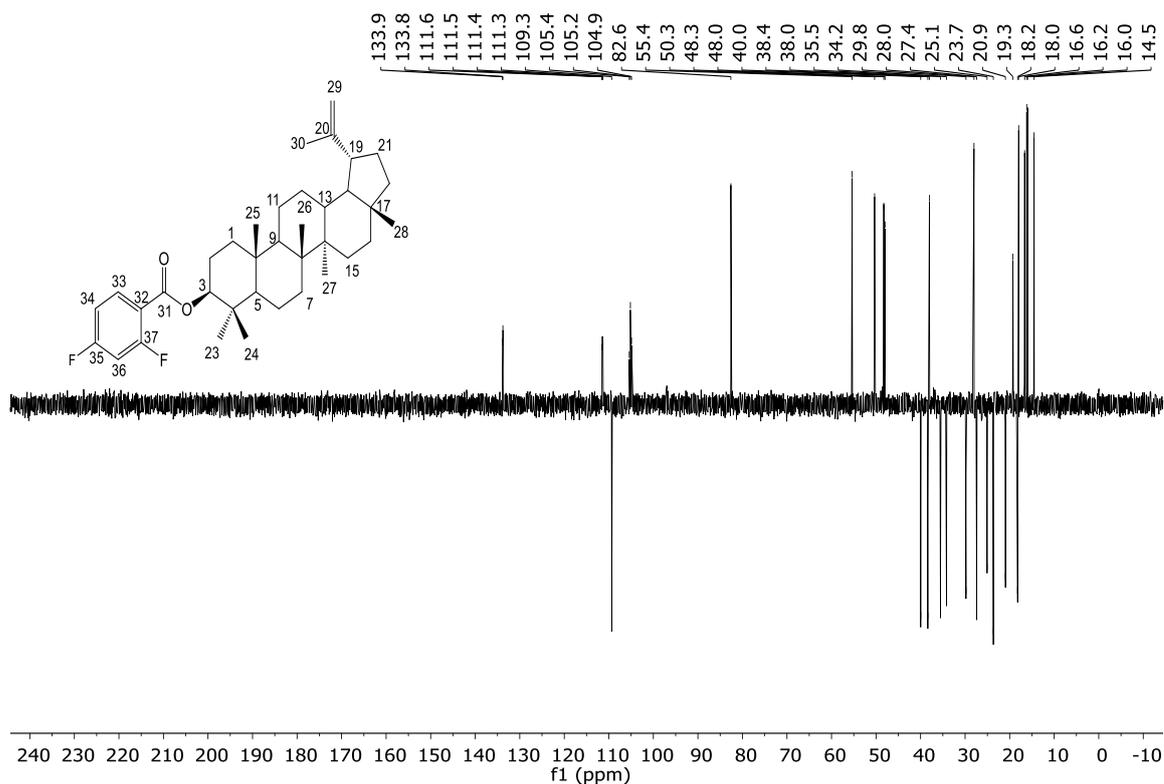


Figura B39: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL10

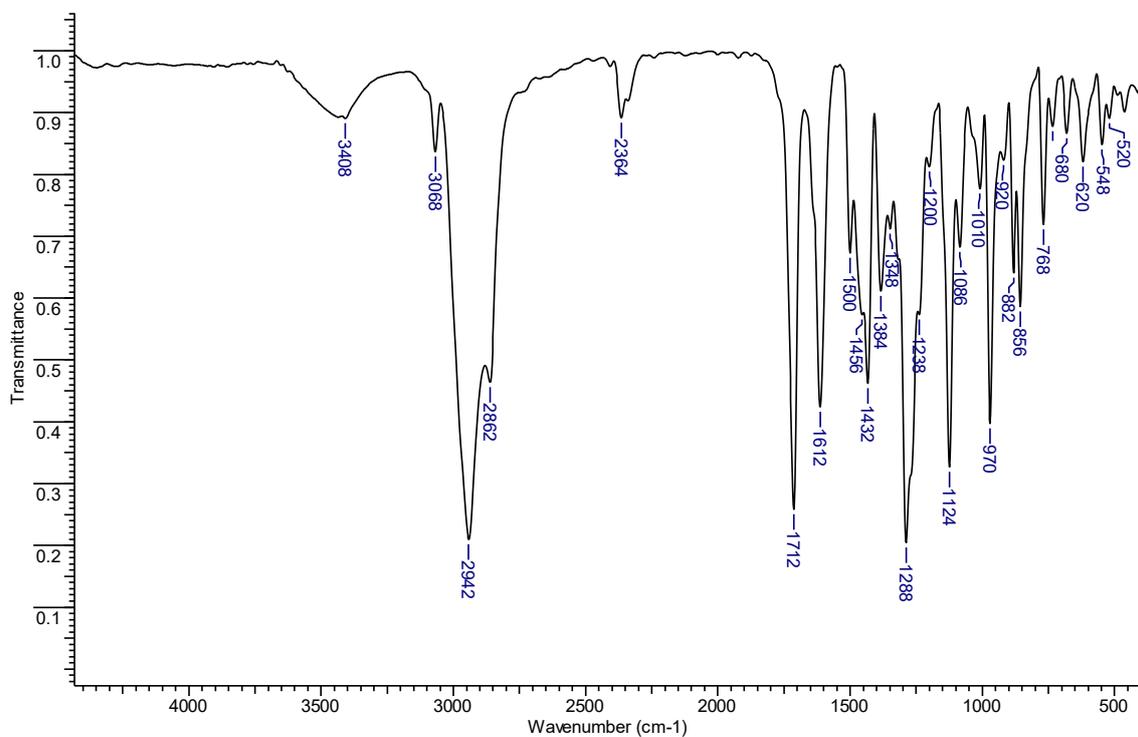


Figura B40: Espectro na região do IV de EL10

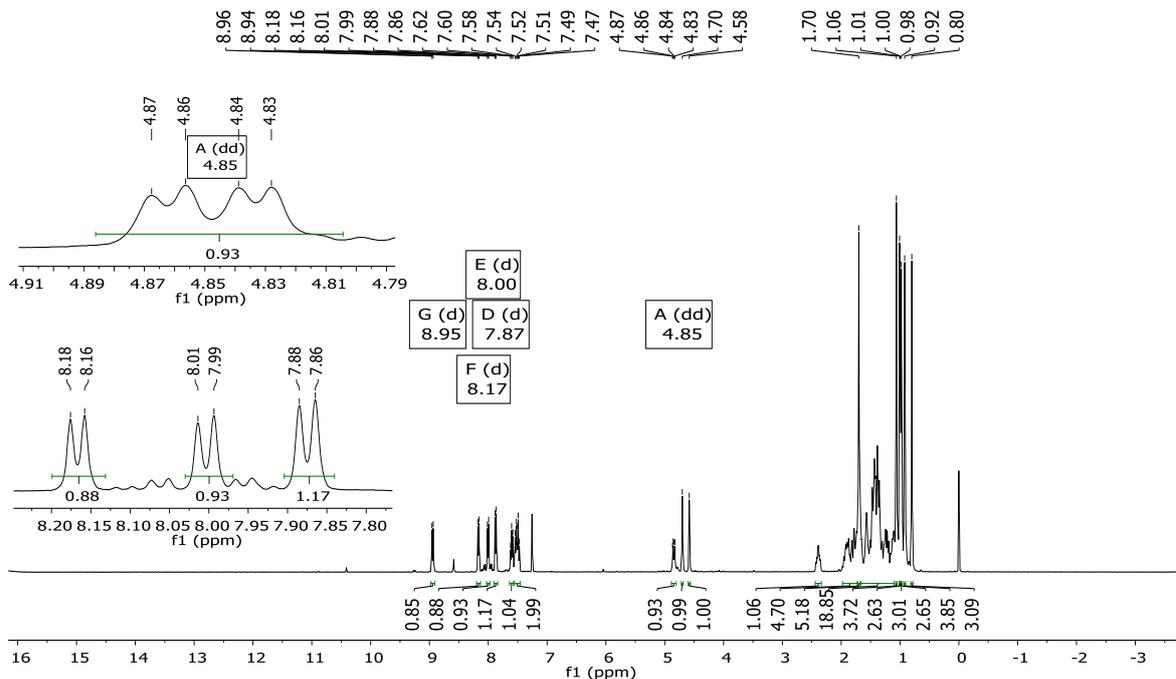


Figura B41: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL11

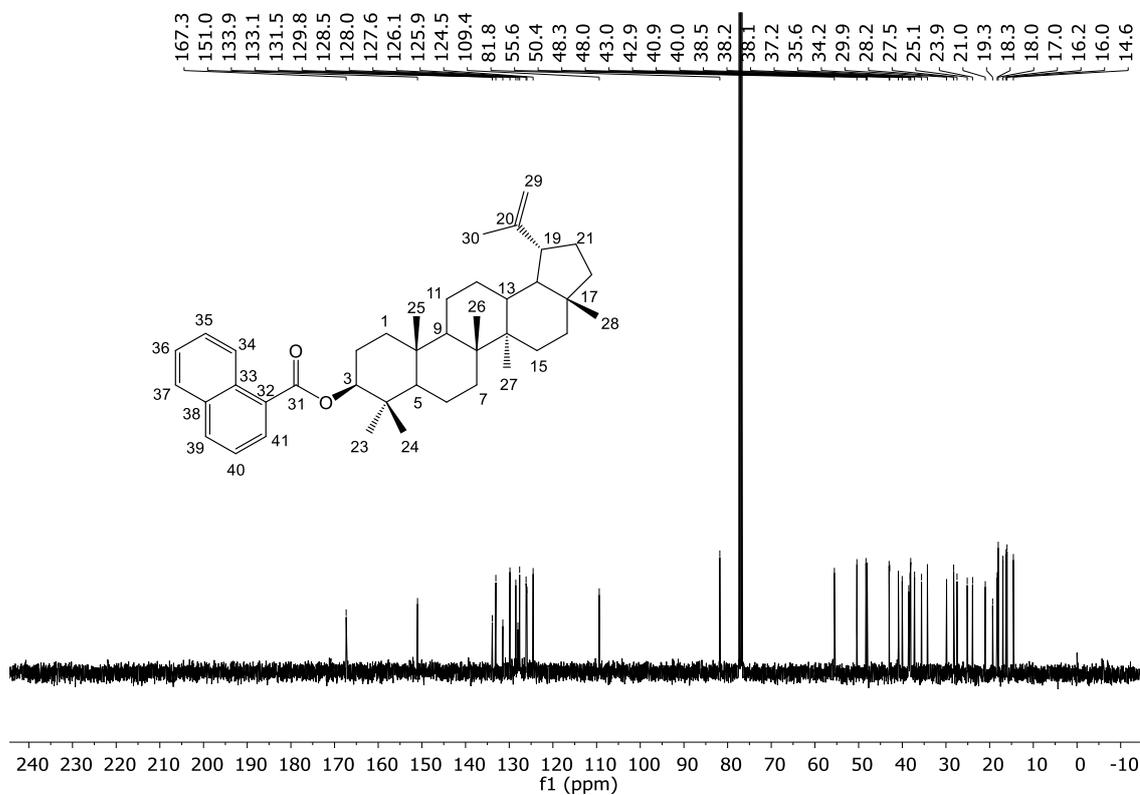


Figura B42: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL11

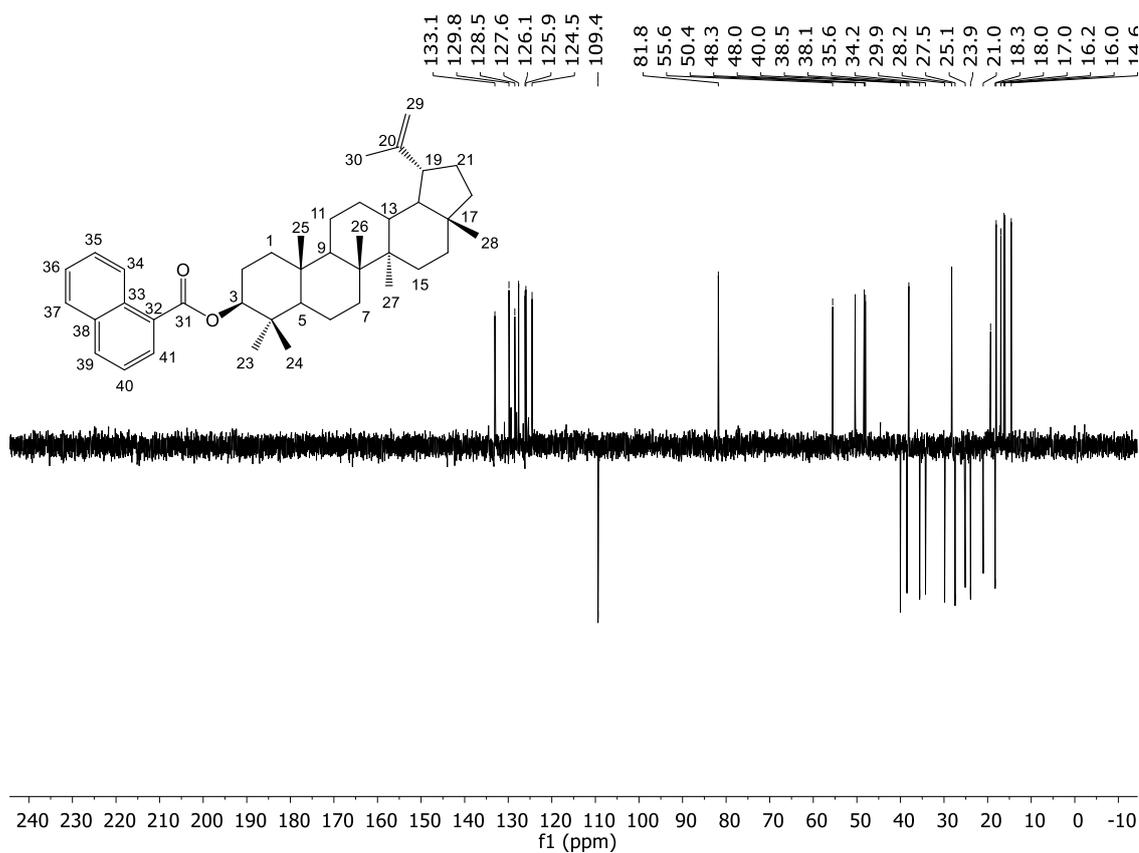


Figura B43: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de EL11

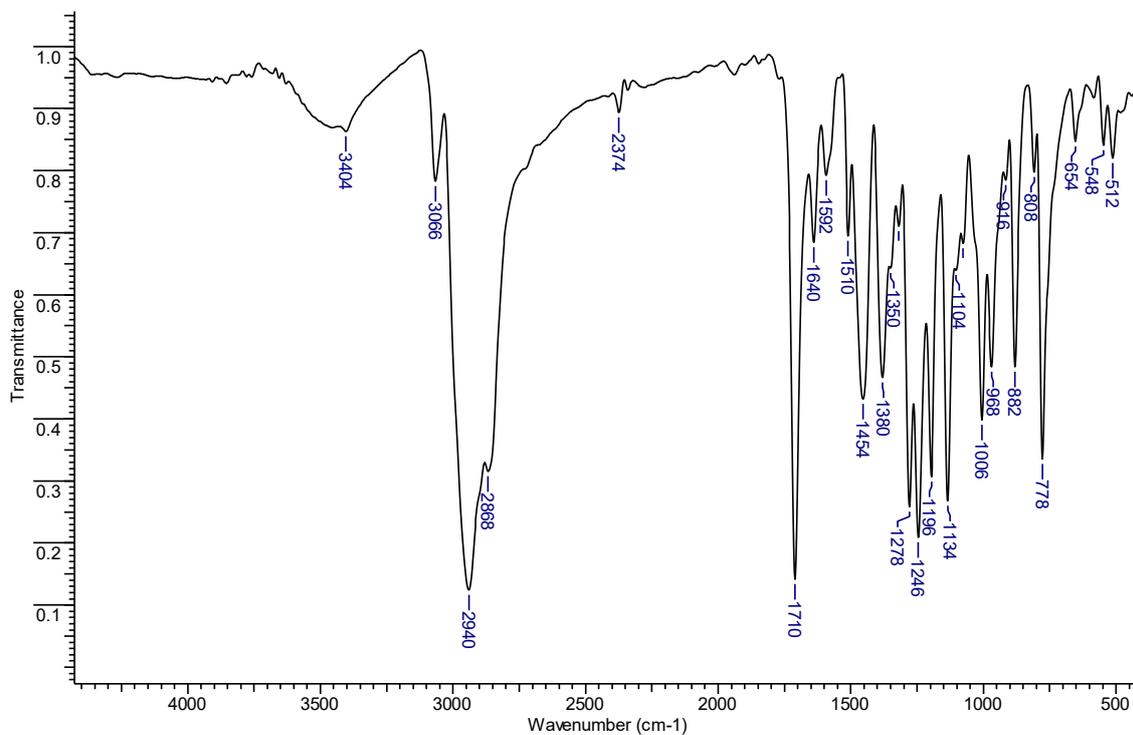


Figura B44: Espectro na região do IV de EL11

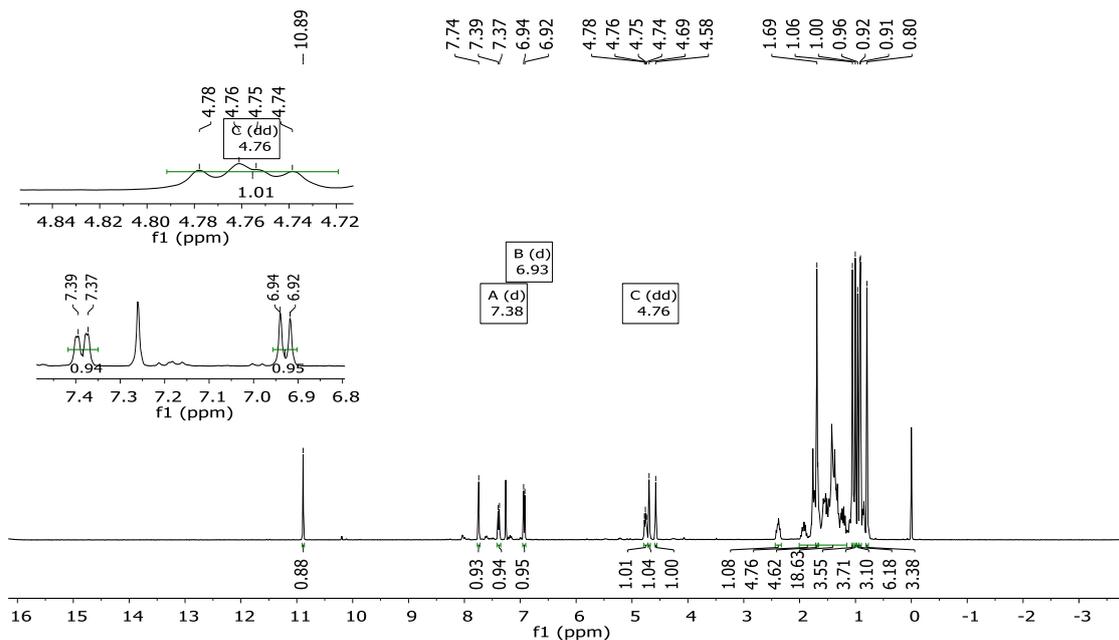


Figura B45: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) de EL12

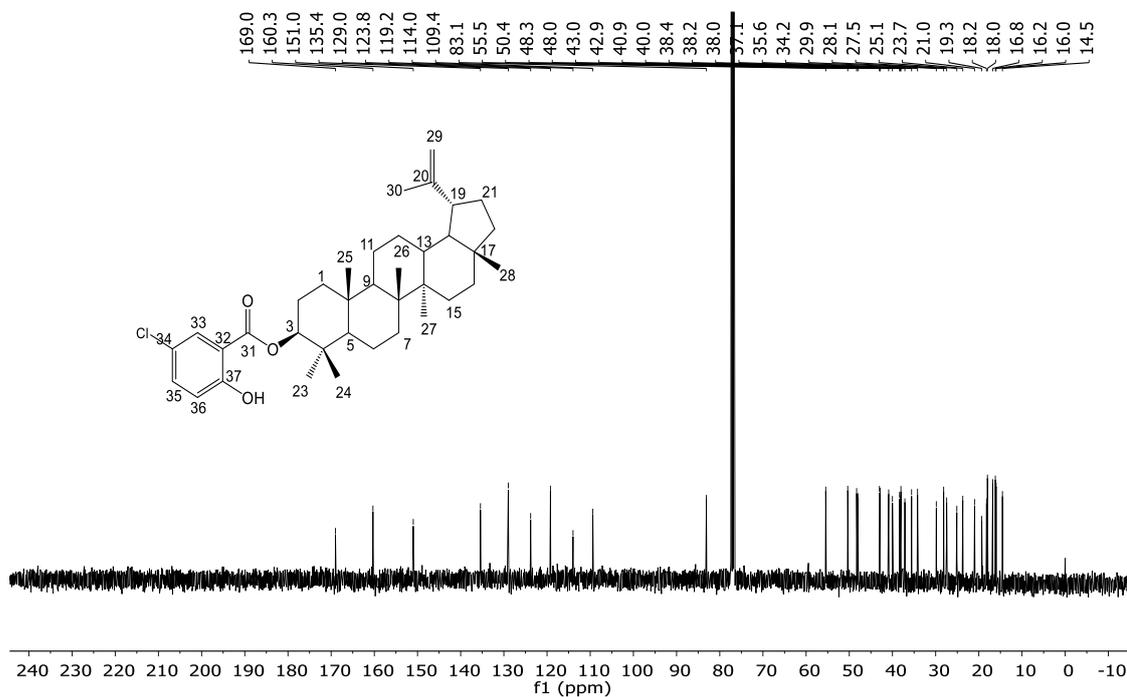


Figura B46: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de EL12

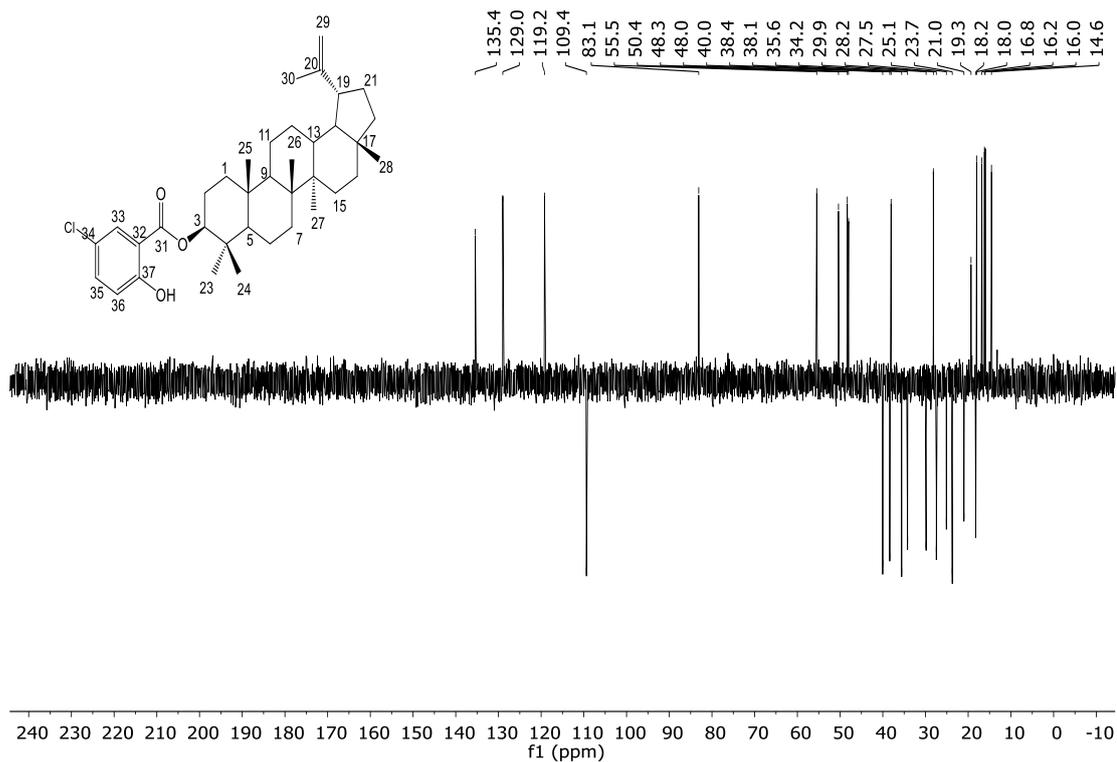


Figura B47: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL12

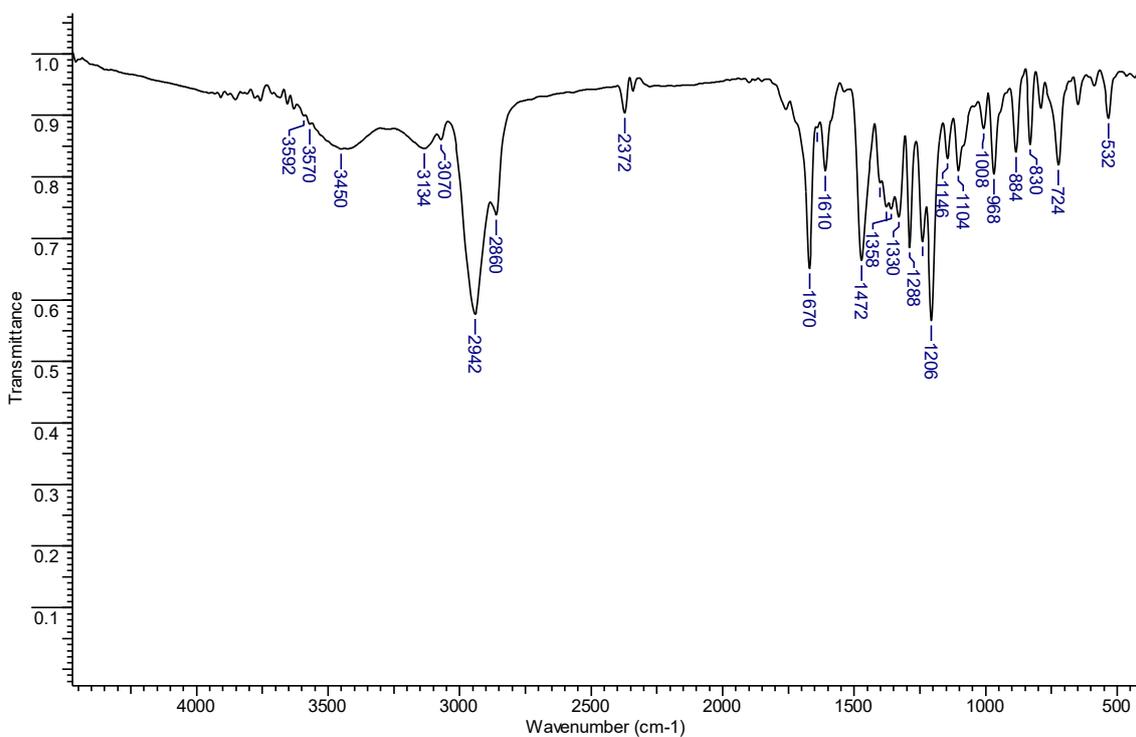


Figura B48: Espectro na região do IV de EL12

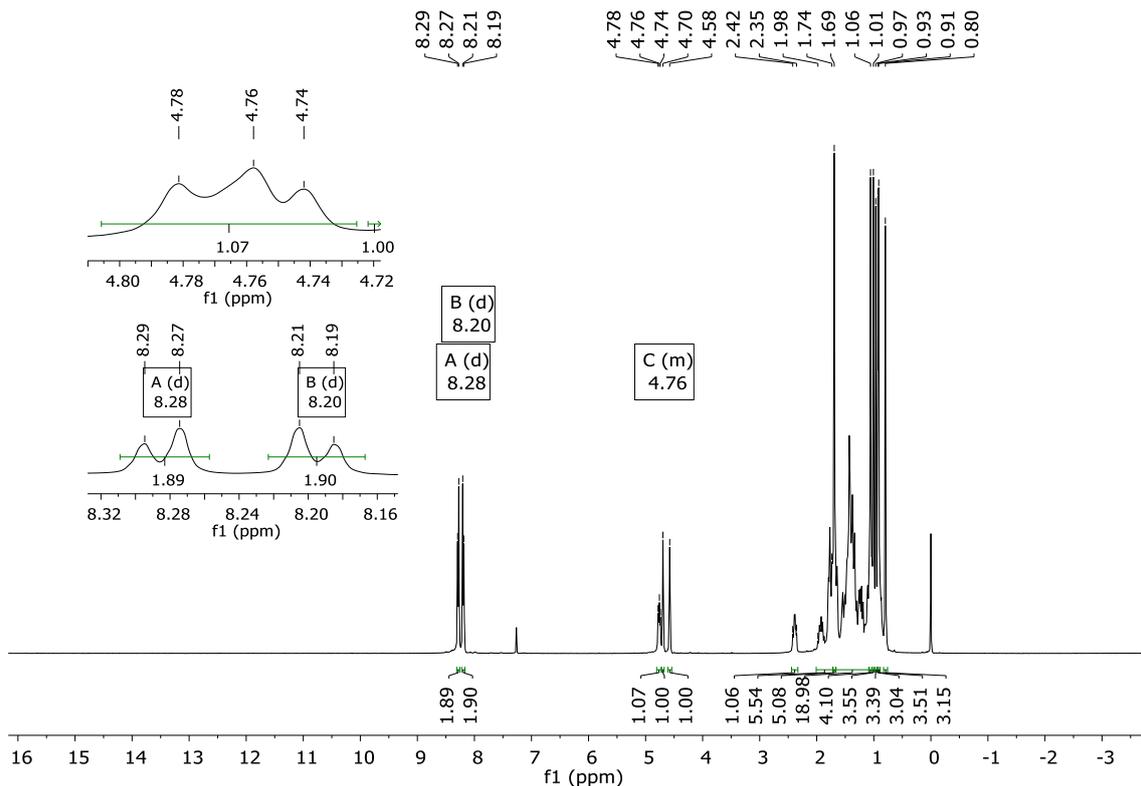


Figura B49: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL13

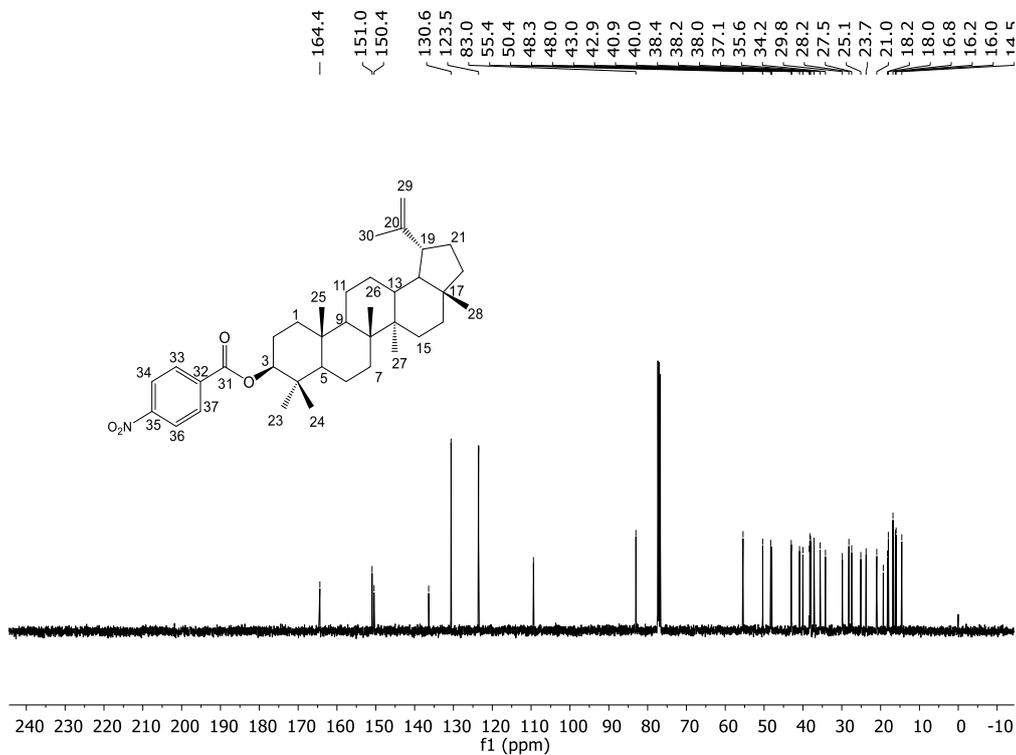


Figura B50: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL13

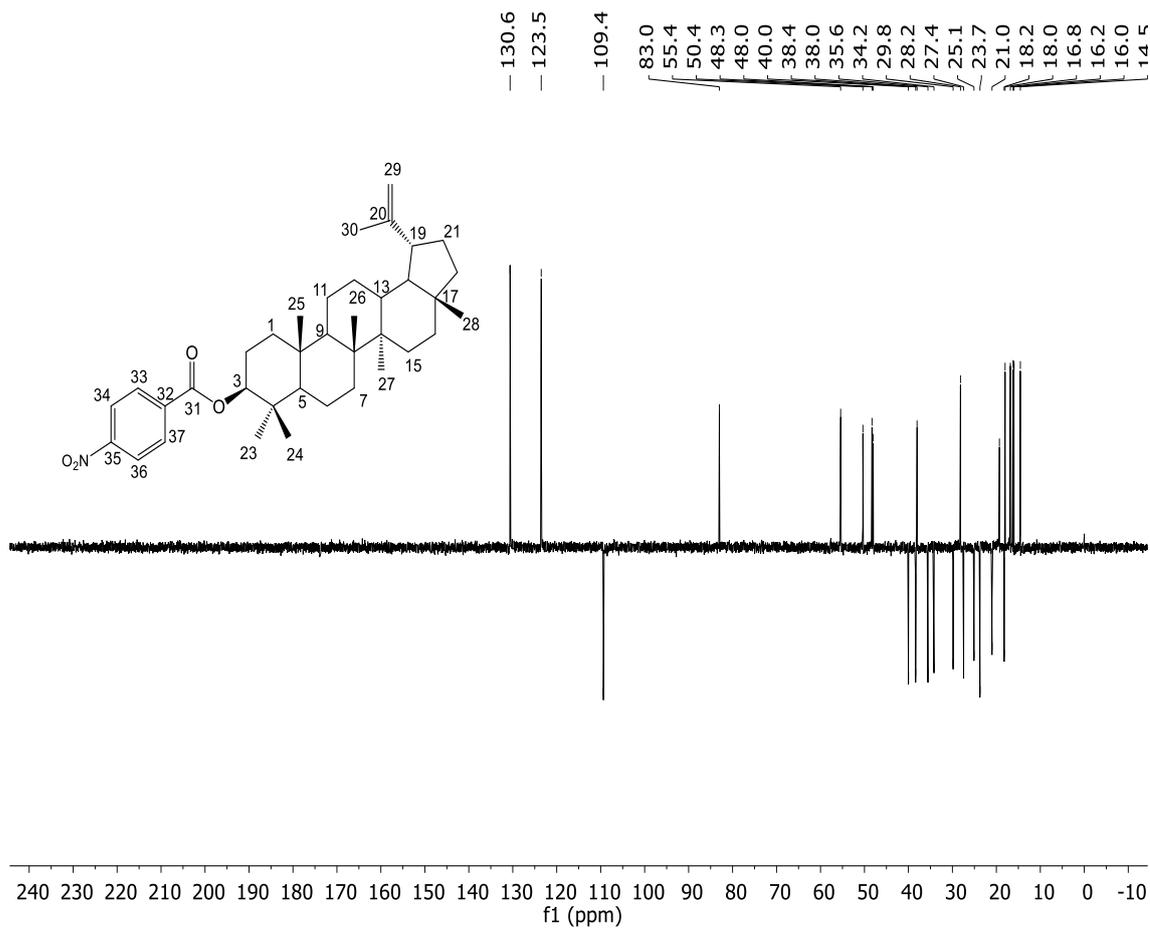


Figura B51: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL13

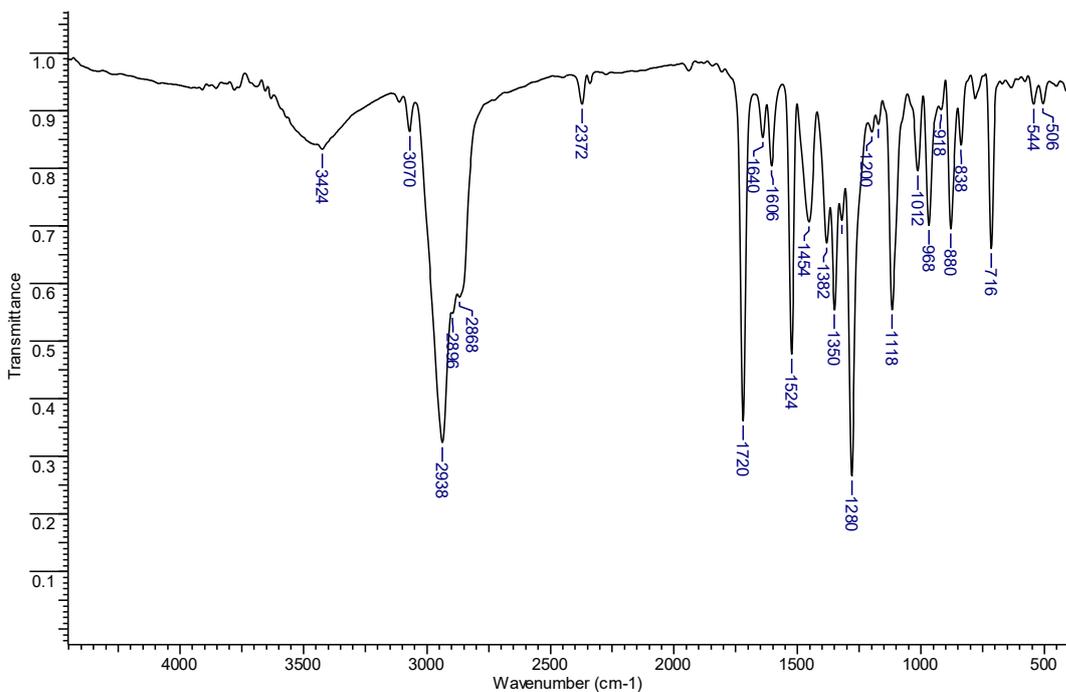


Figura B52: Espectro na região do IV de EL13

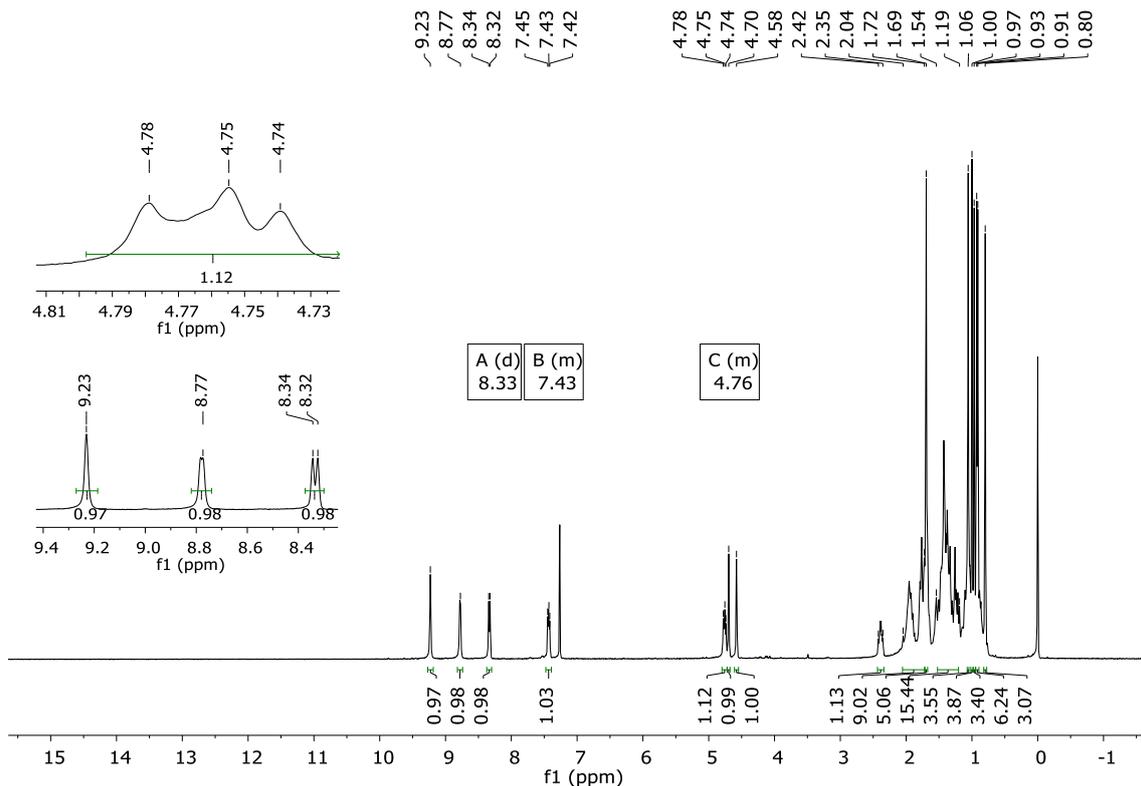


Figura B53: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL14

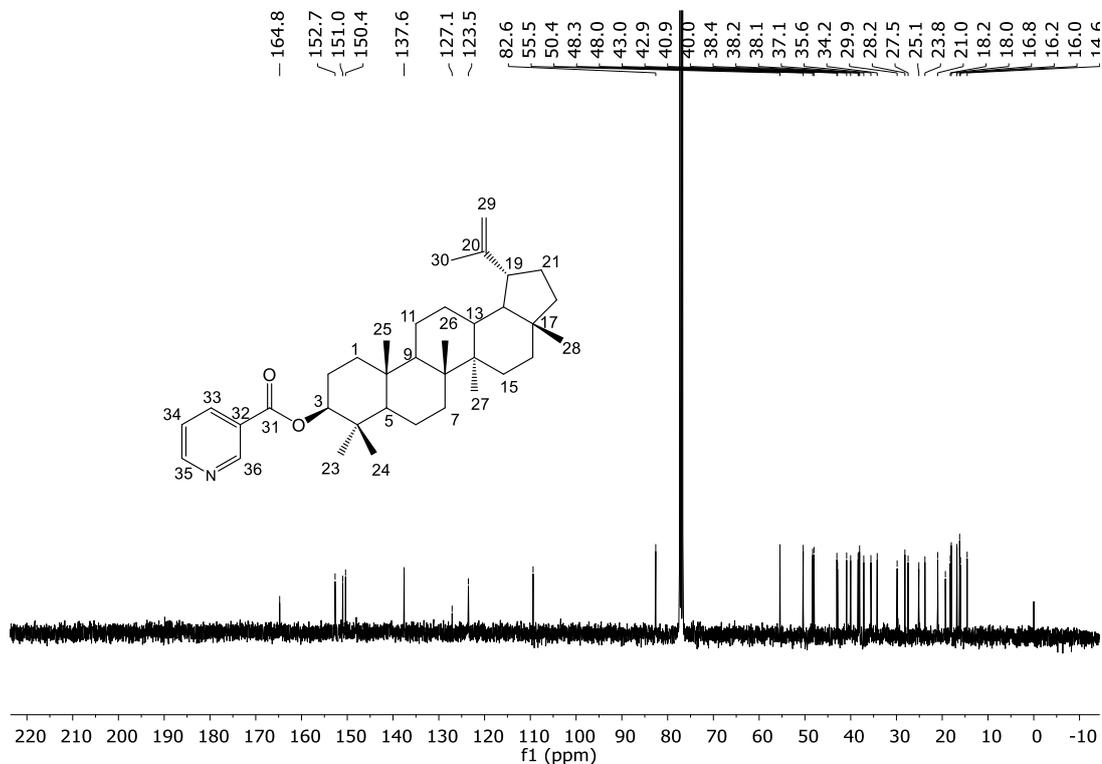


Figura B54: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL14

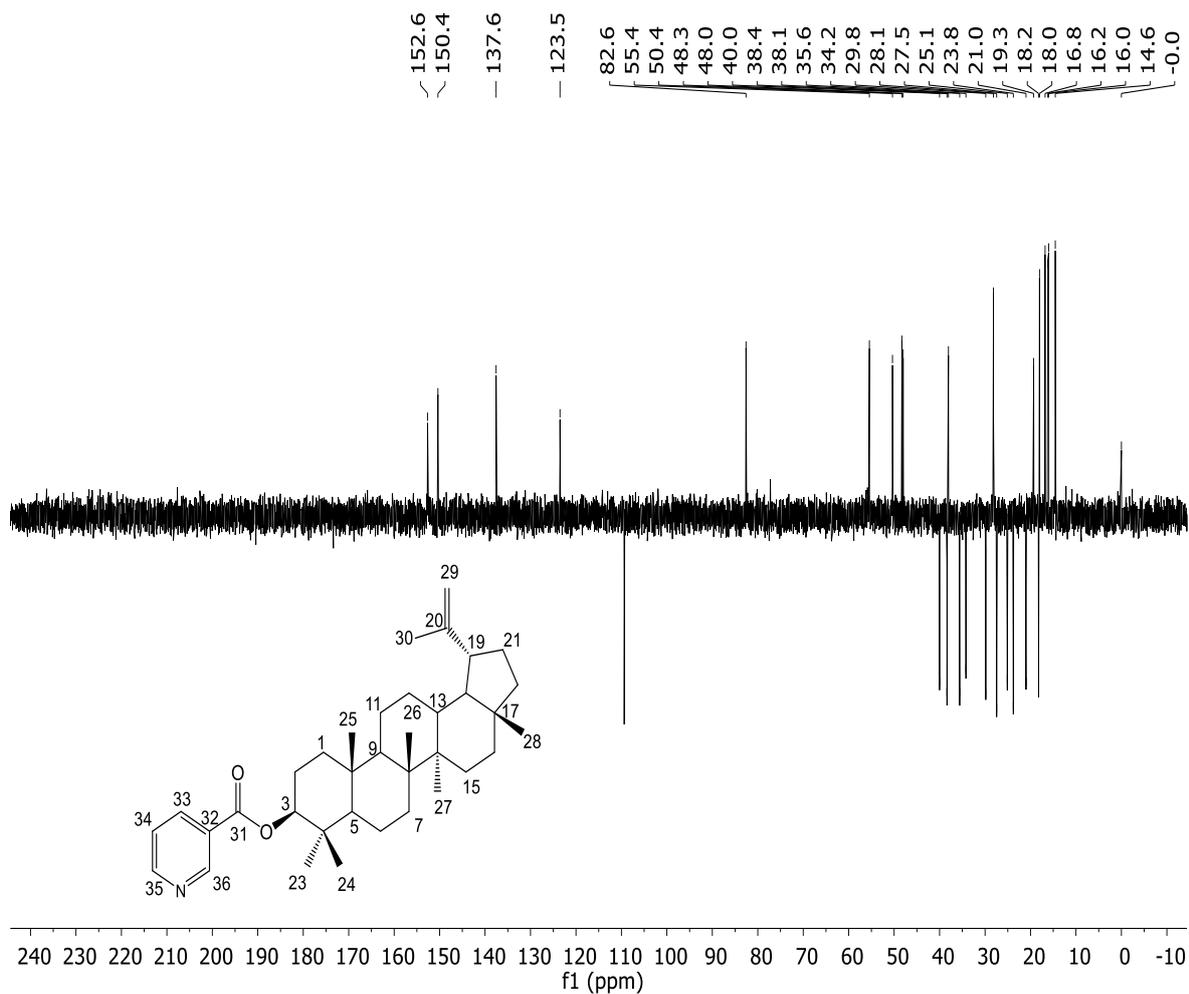


Figura B55: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL14

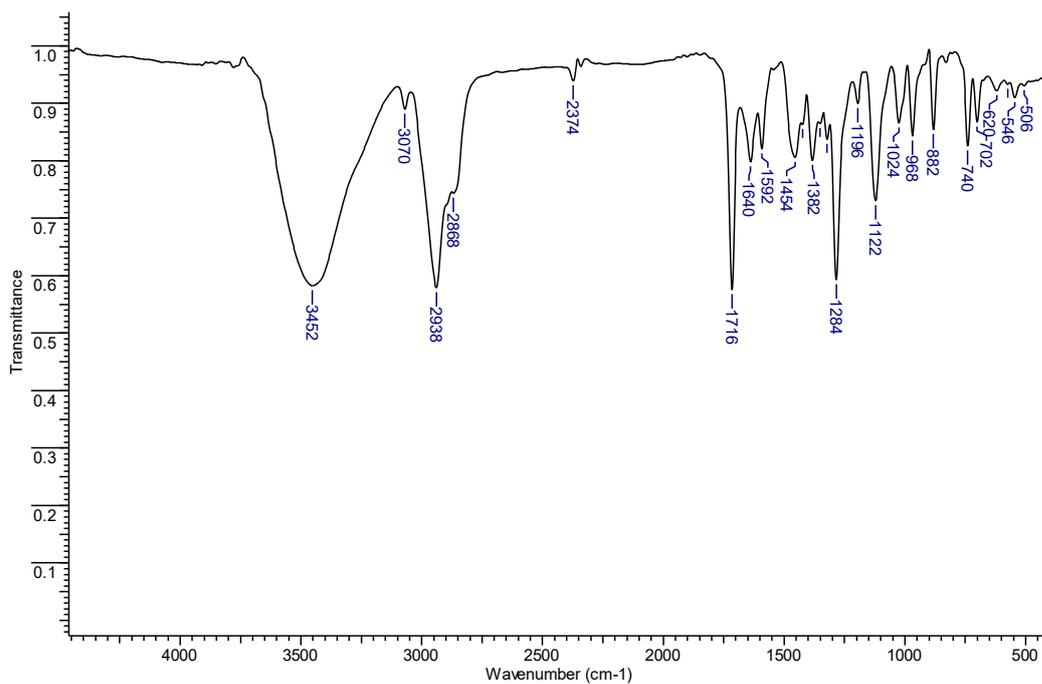


Figura B56: Espectro na região do IV de EL14

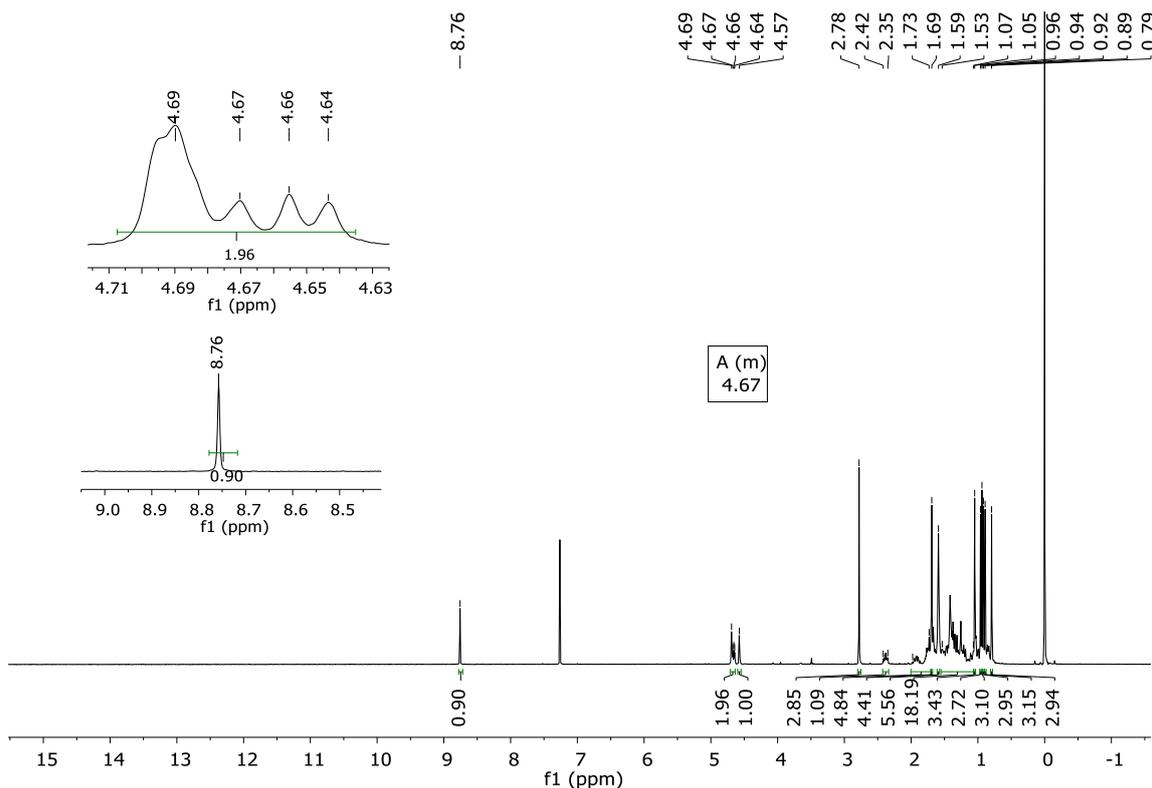


Figura B57: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL15

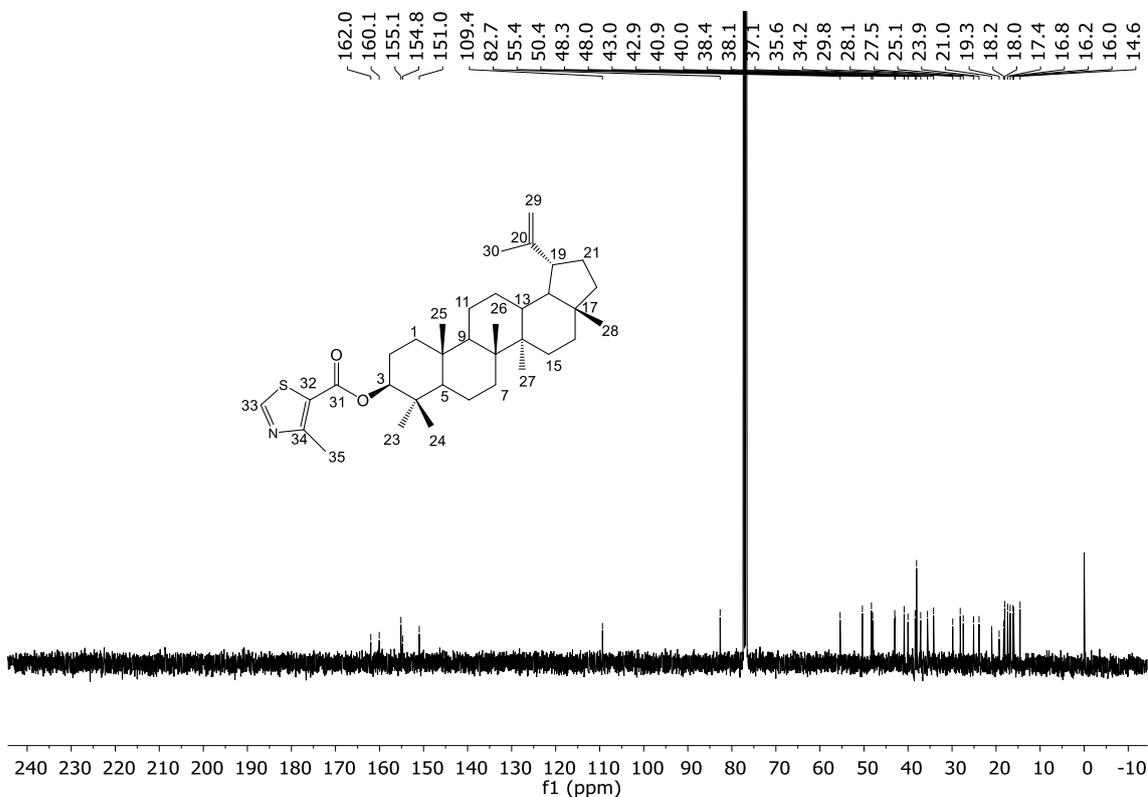


Figura B58: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL15

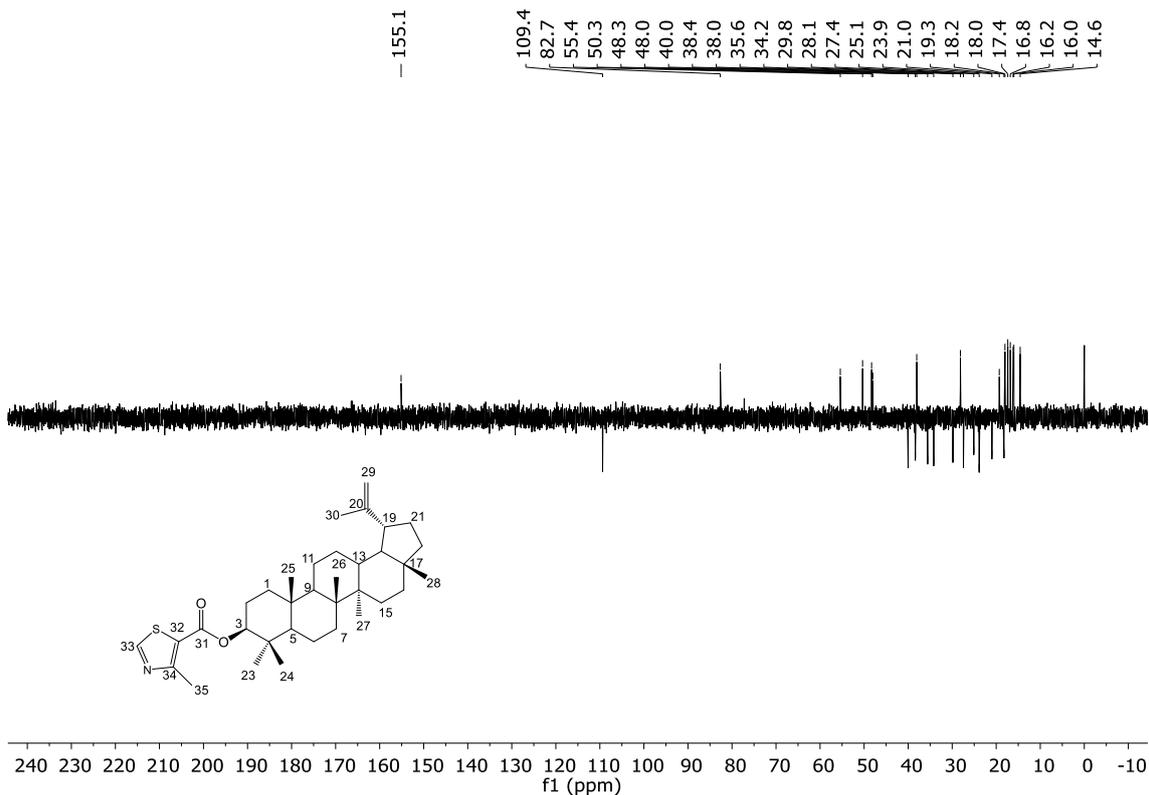


Figura B59: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de EL15

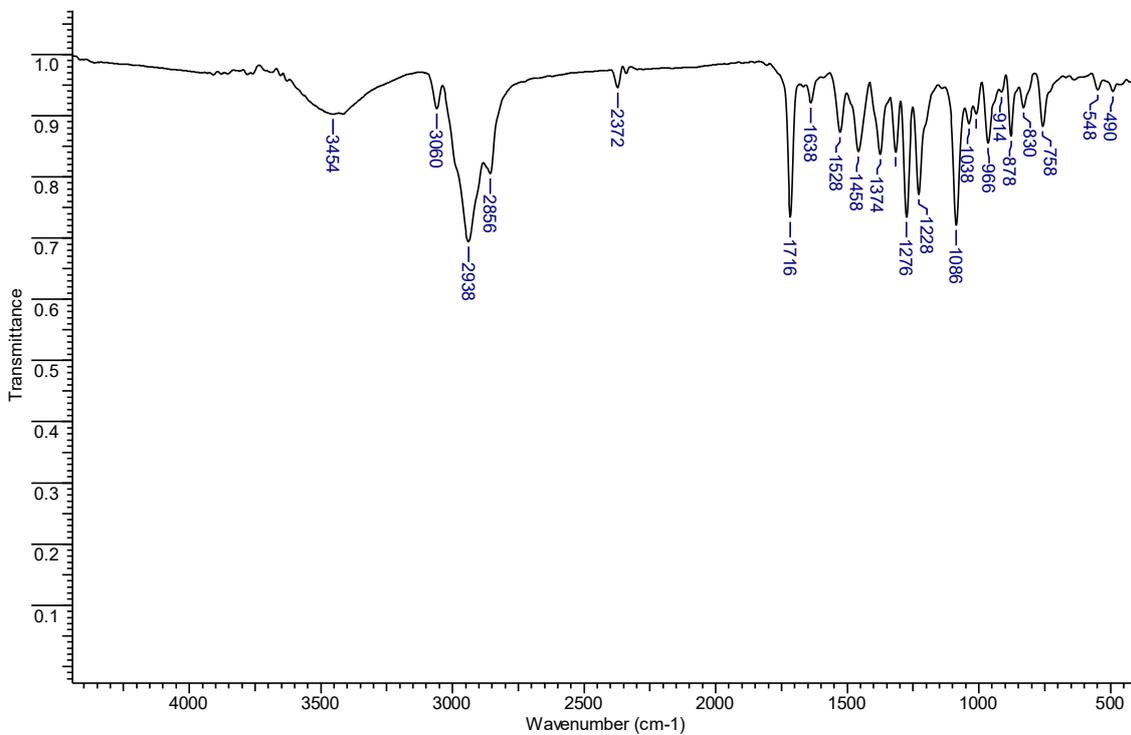


Figura B60: Espectro na região do IV de EL15

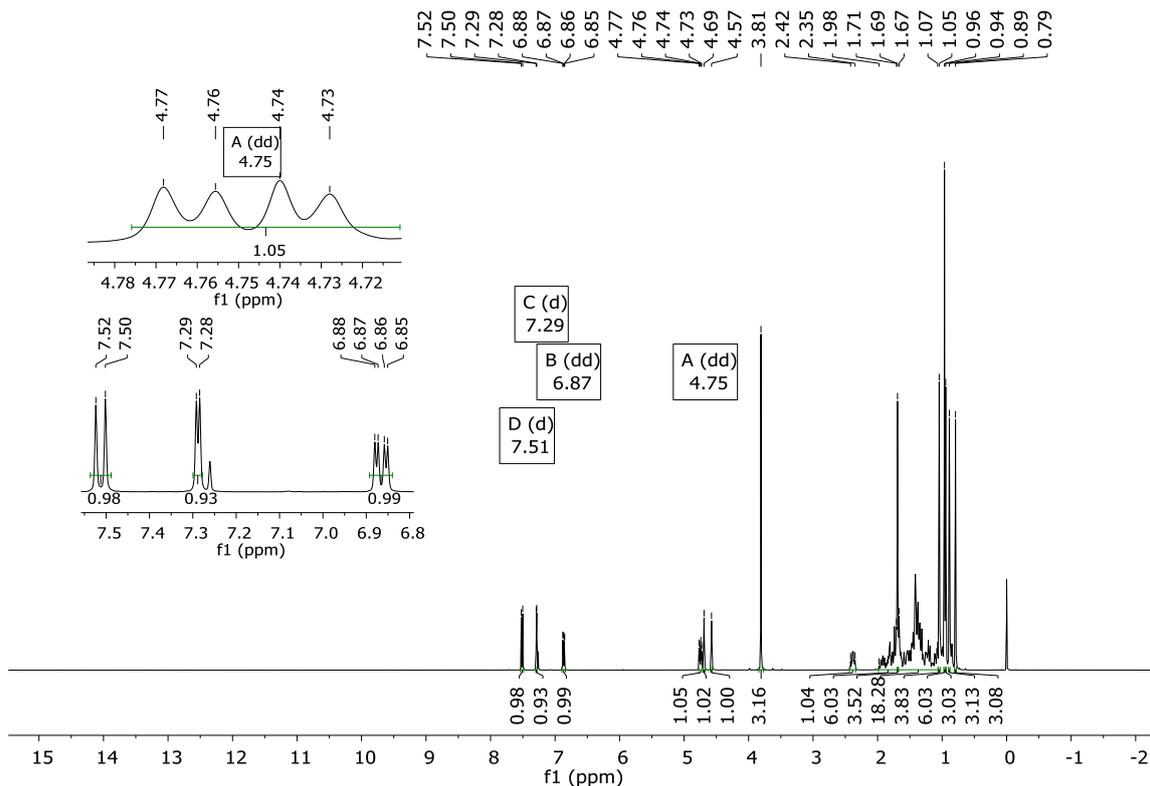


Figura B61: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL16

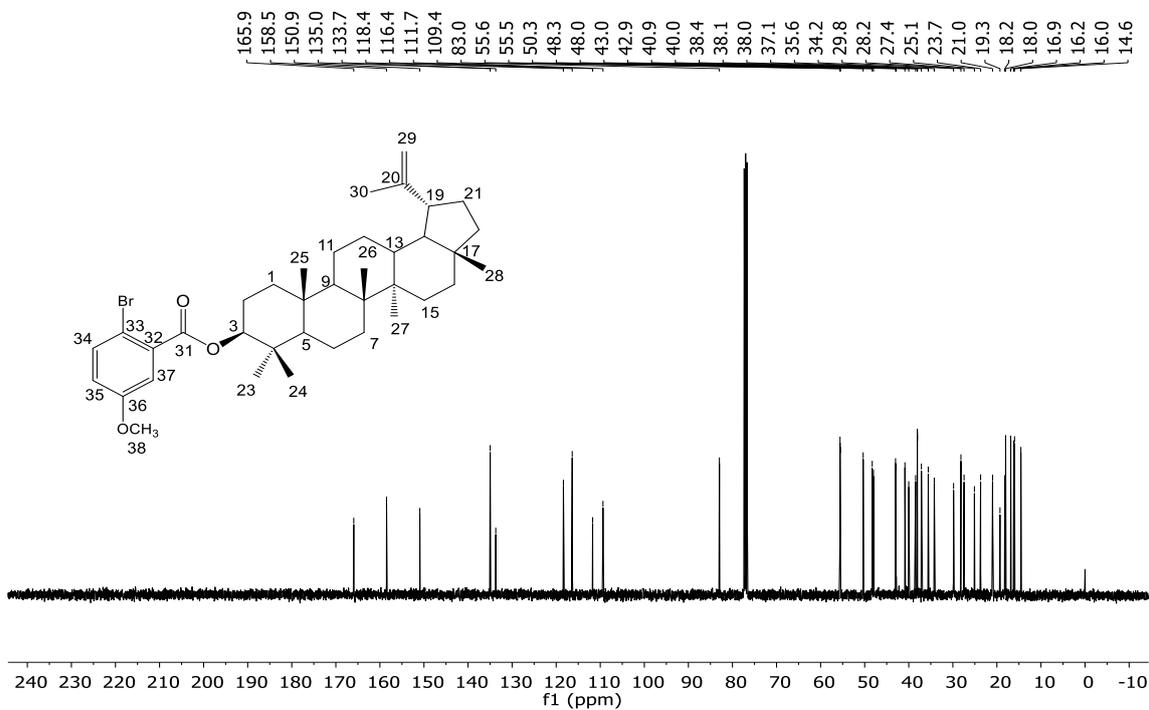


Figura B62: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL16

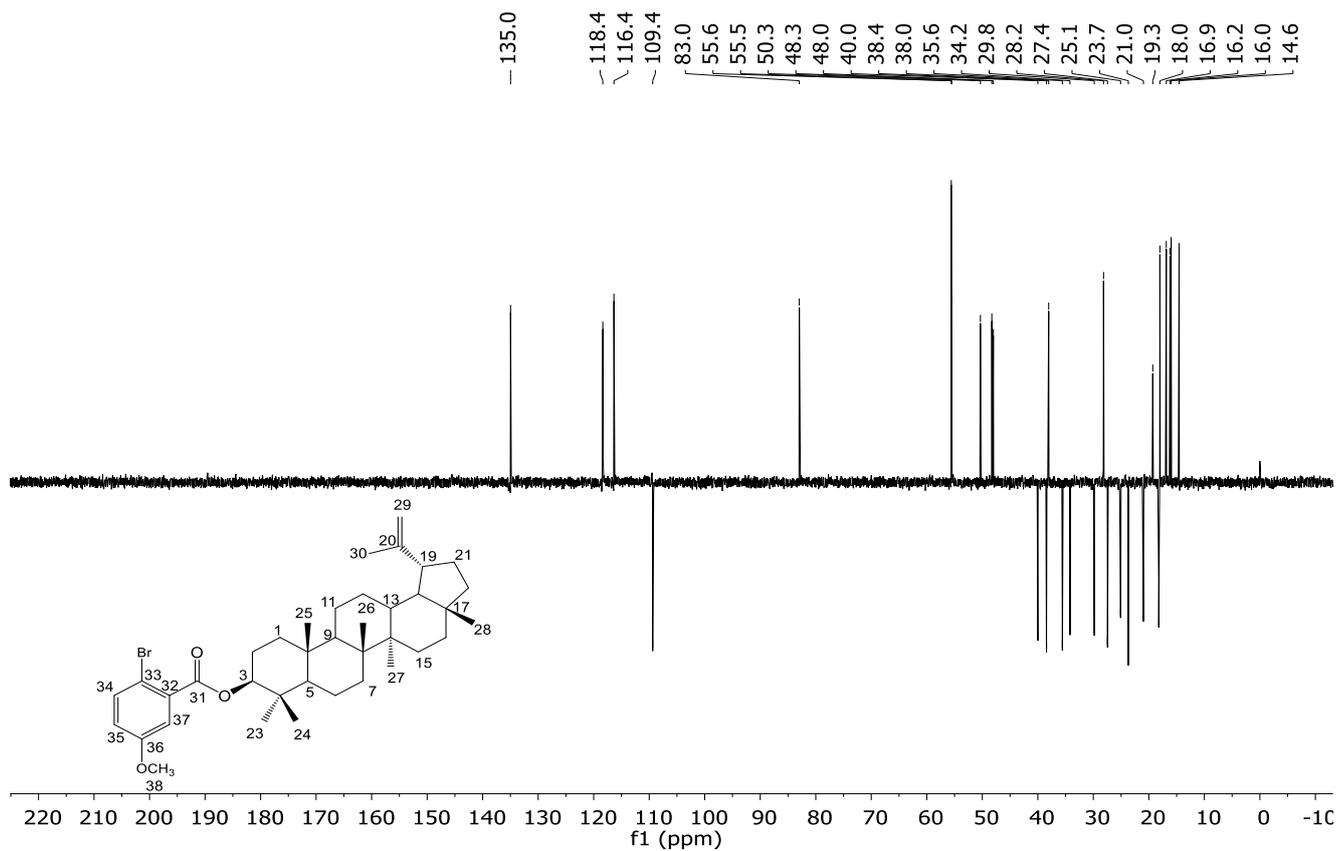


Figura B63: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL16

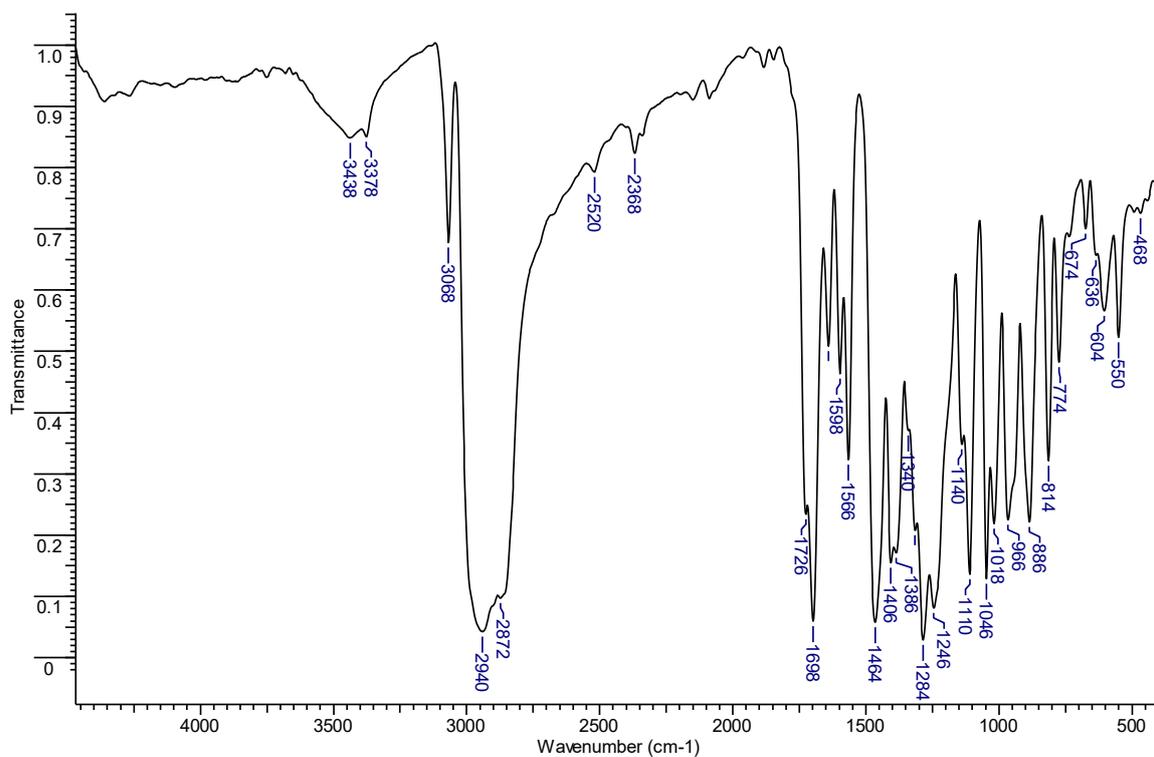


Figura B64: Espectro na região do IV de EL16

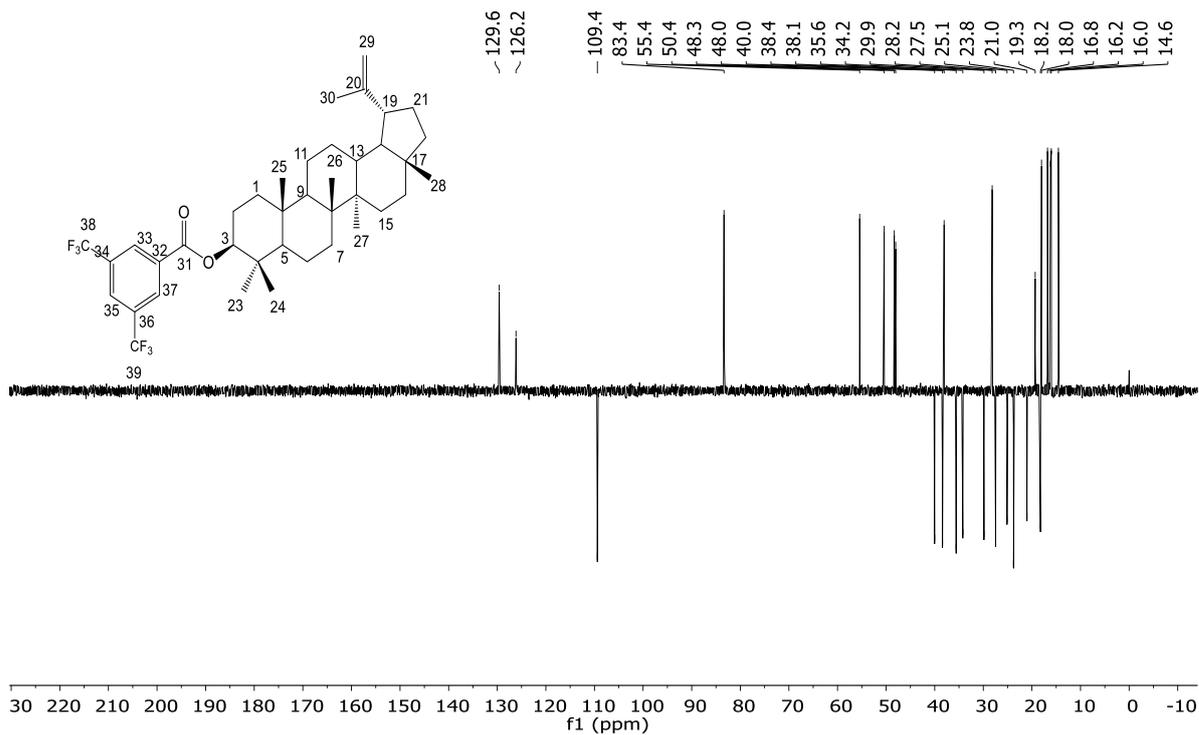


Figura B67: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL17

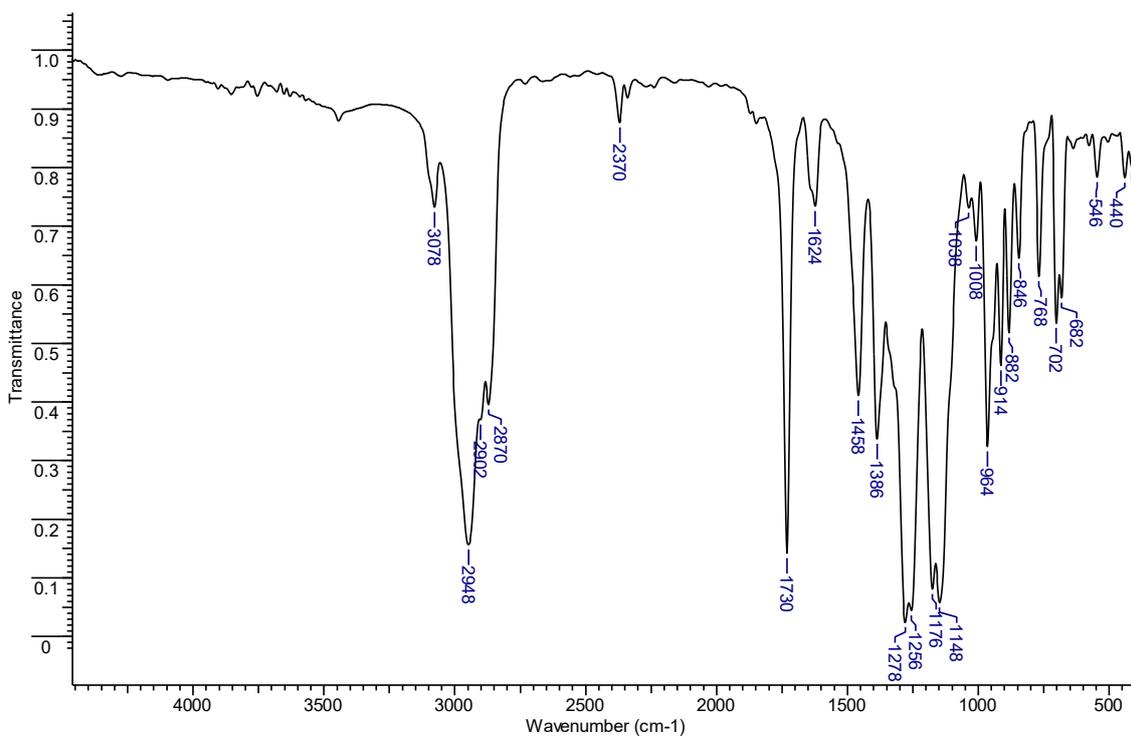


Figura B68: Espectro na região do IV de EL17

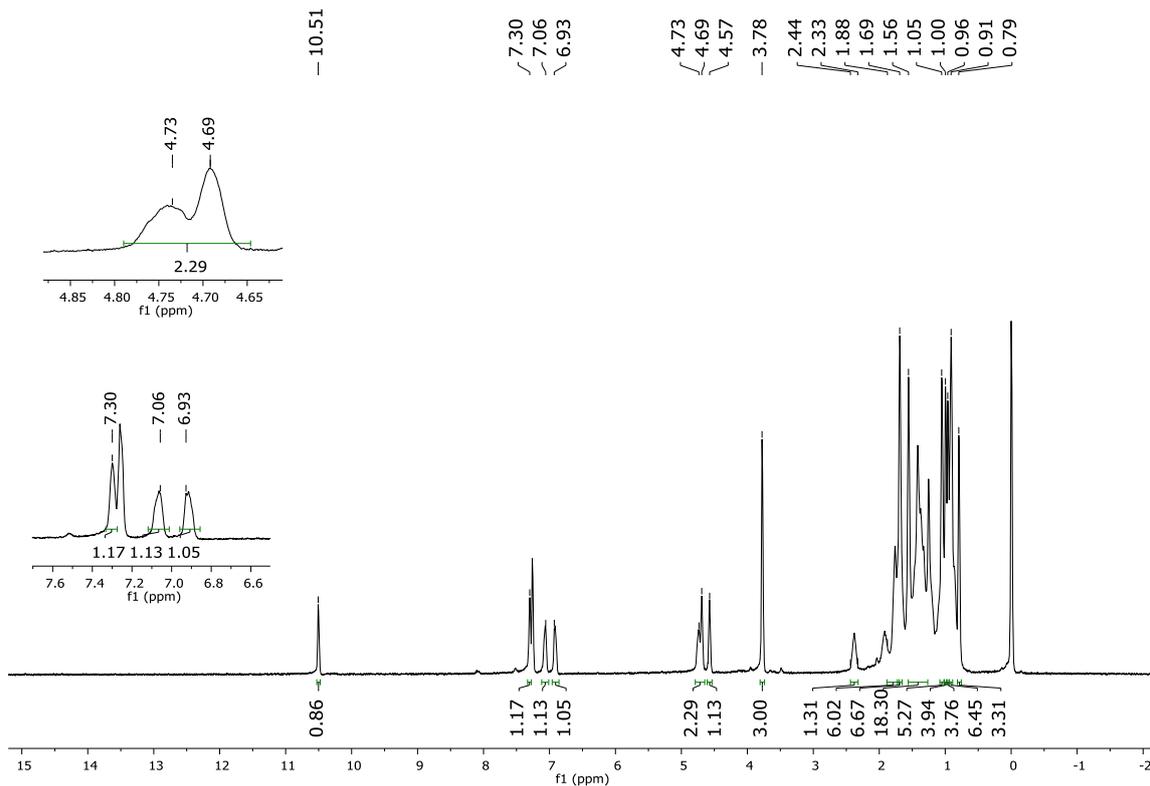


Figura B69: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL18

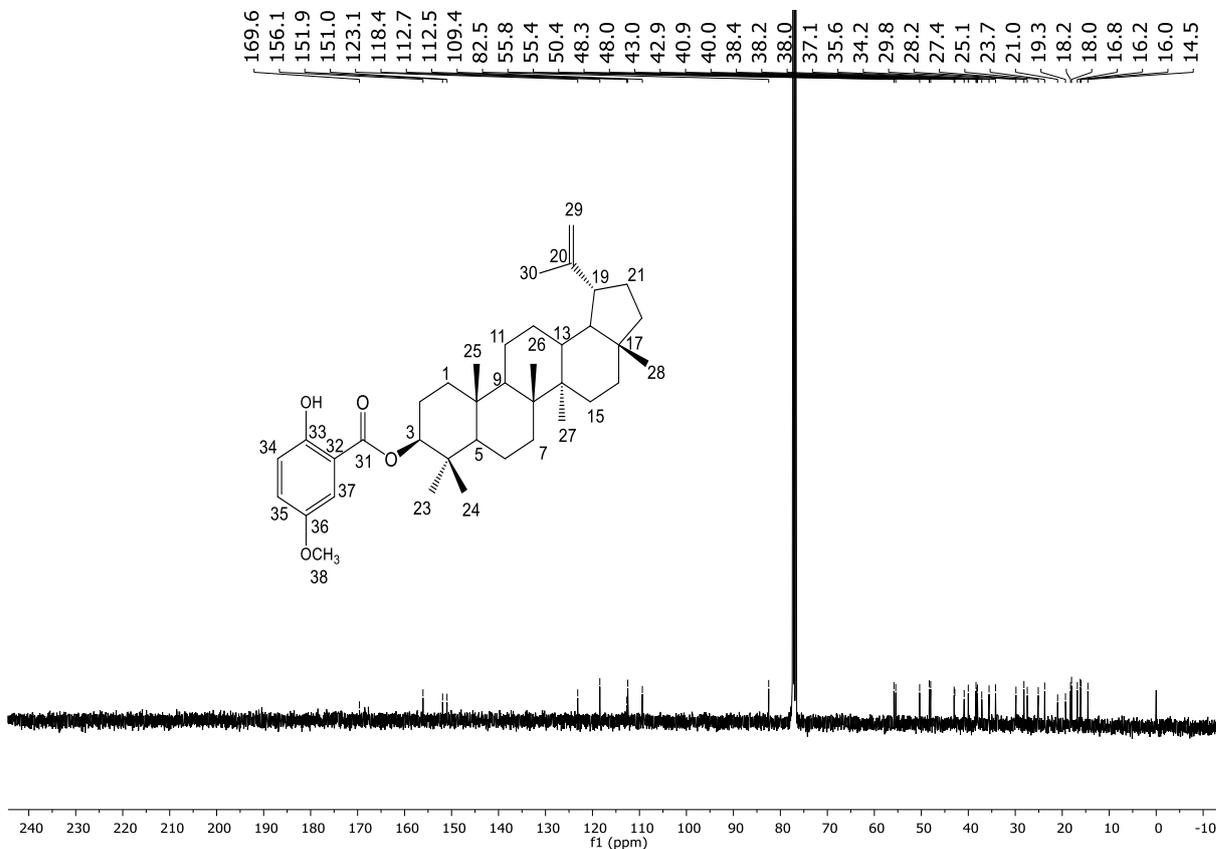


Figura B70: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL18

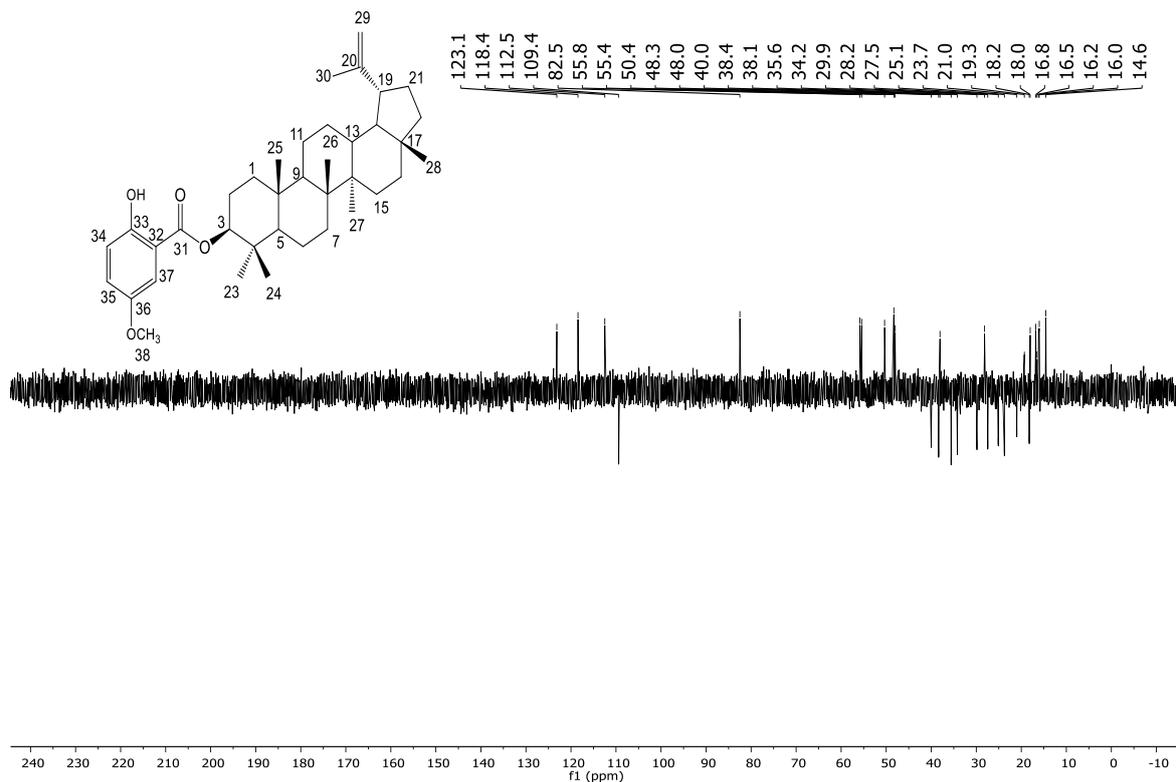


Figura B71: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3) de EL18

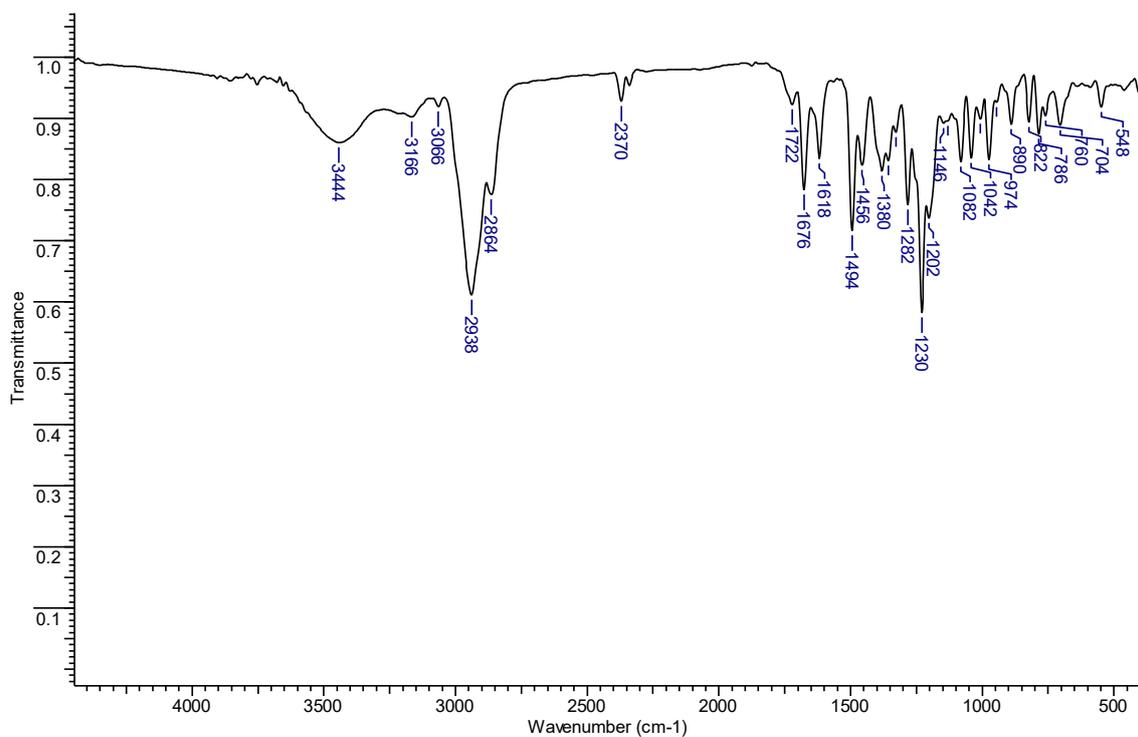


Figura B72: Espectro na região do IV de EL18

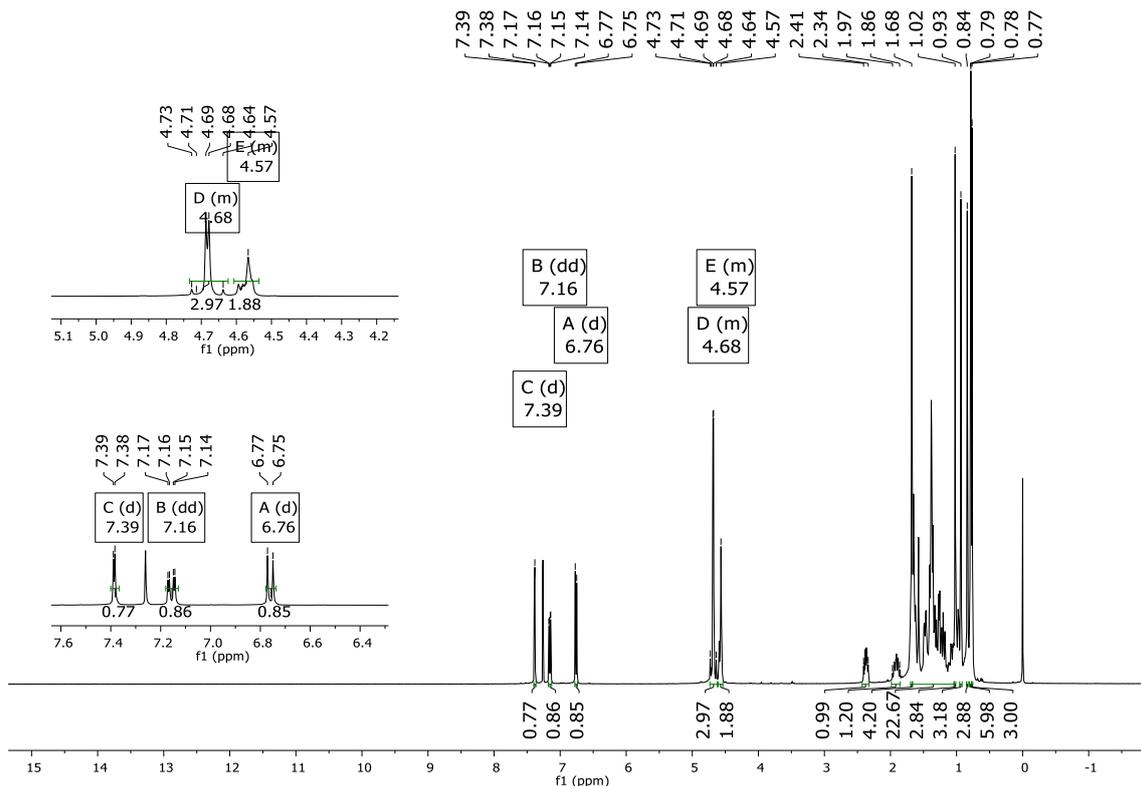


Figura B73: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL19

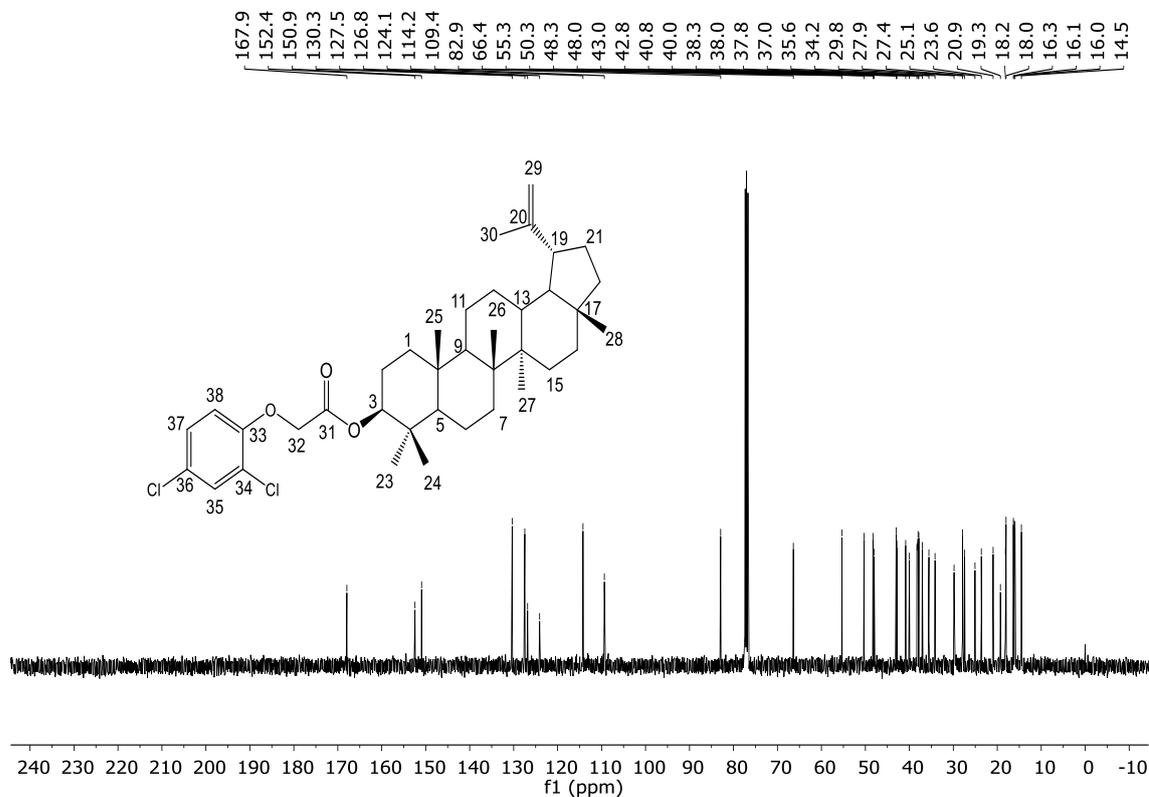


Figura B74: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL19

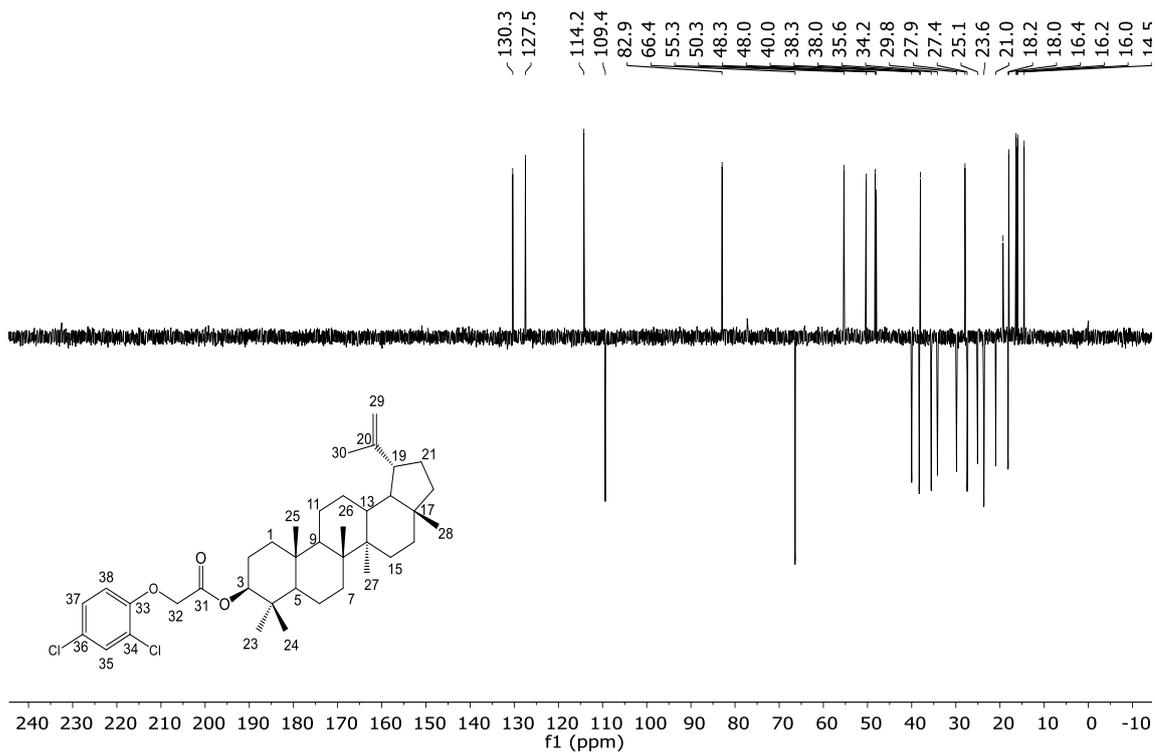


Figura B75: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL19

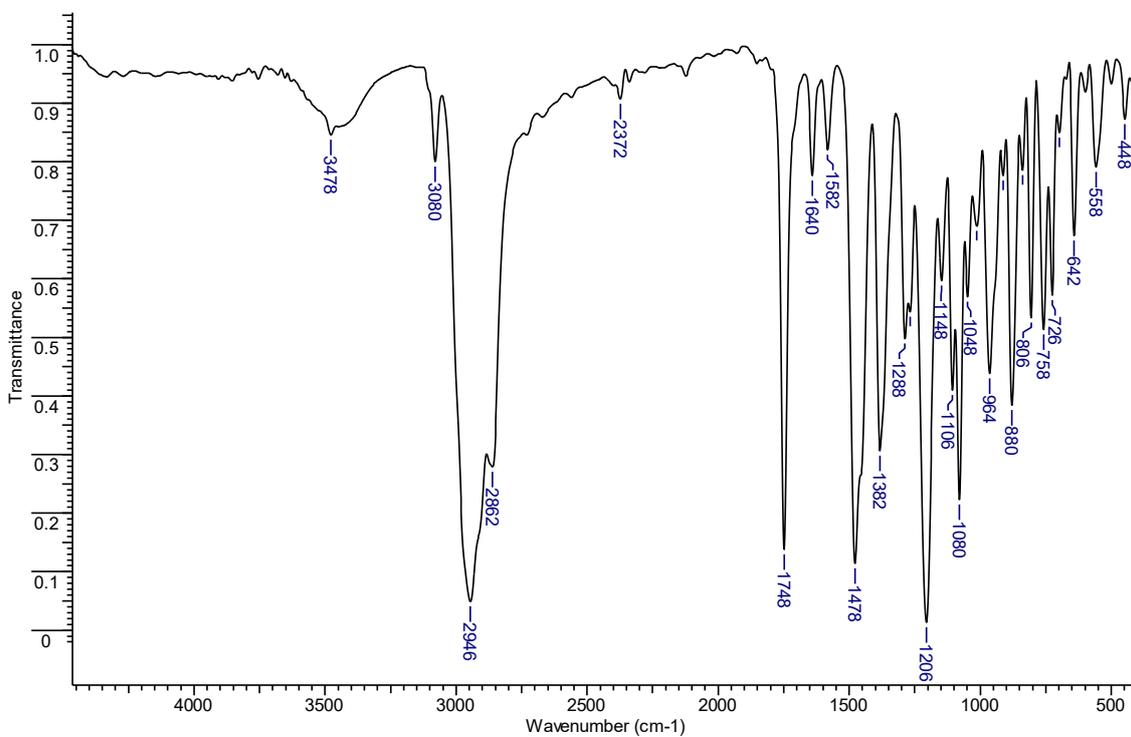


Figura B76: Espectro na região do IV de EL19

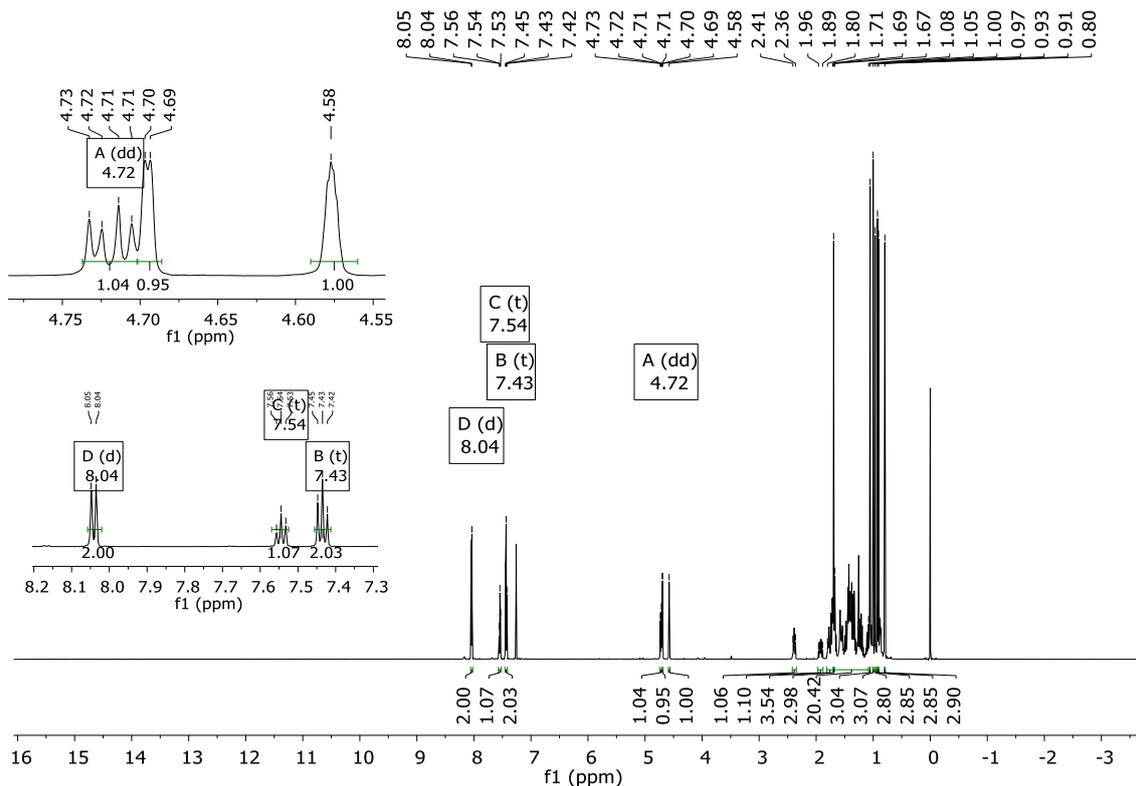


Figura B77: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de EL20

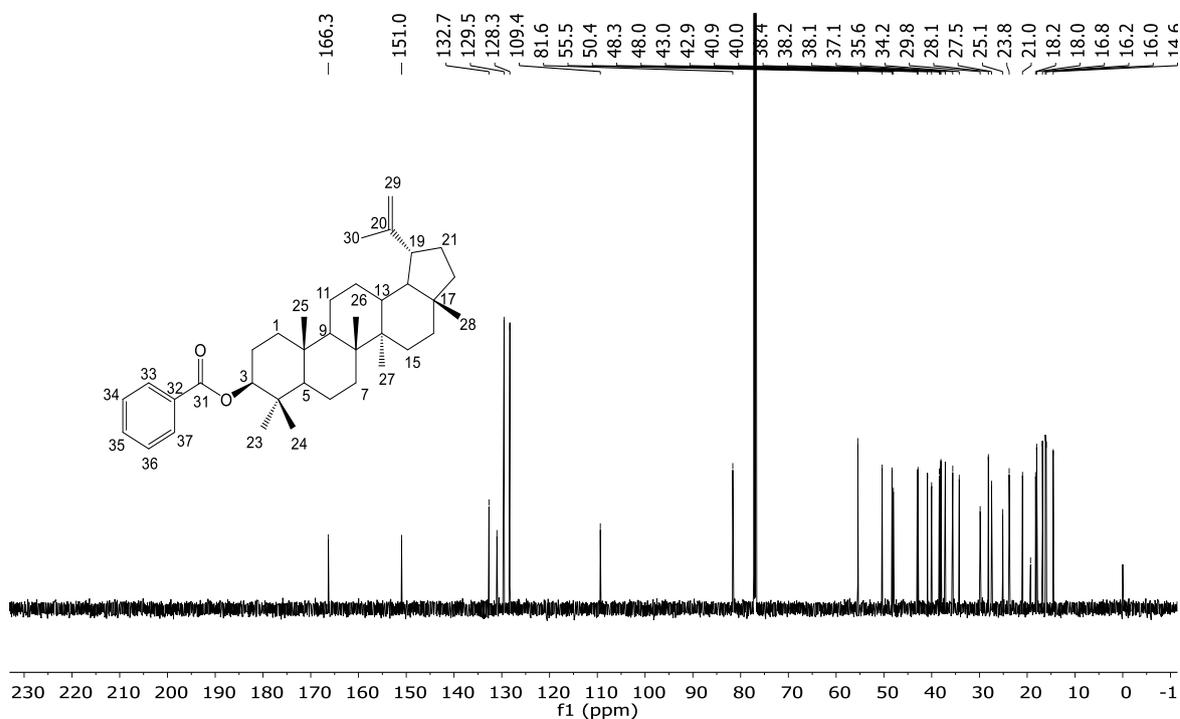


Figura B78: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de EL20

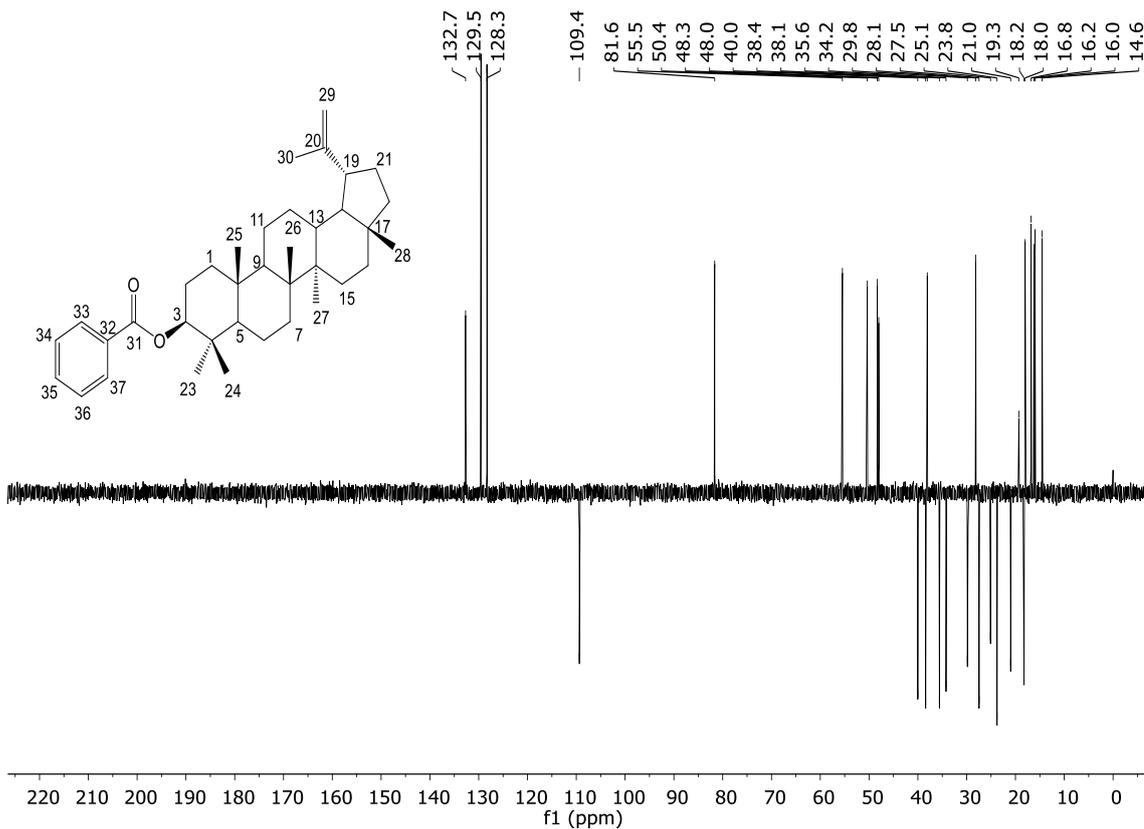


Figura B79: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de EL20

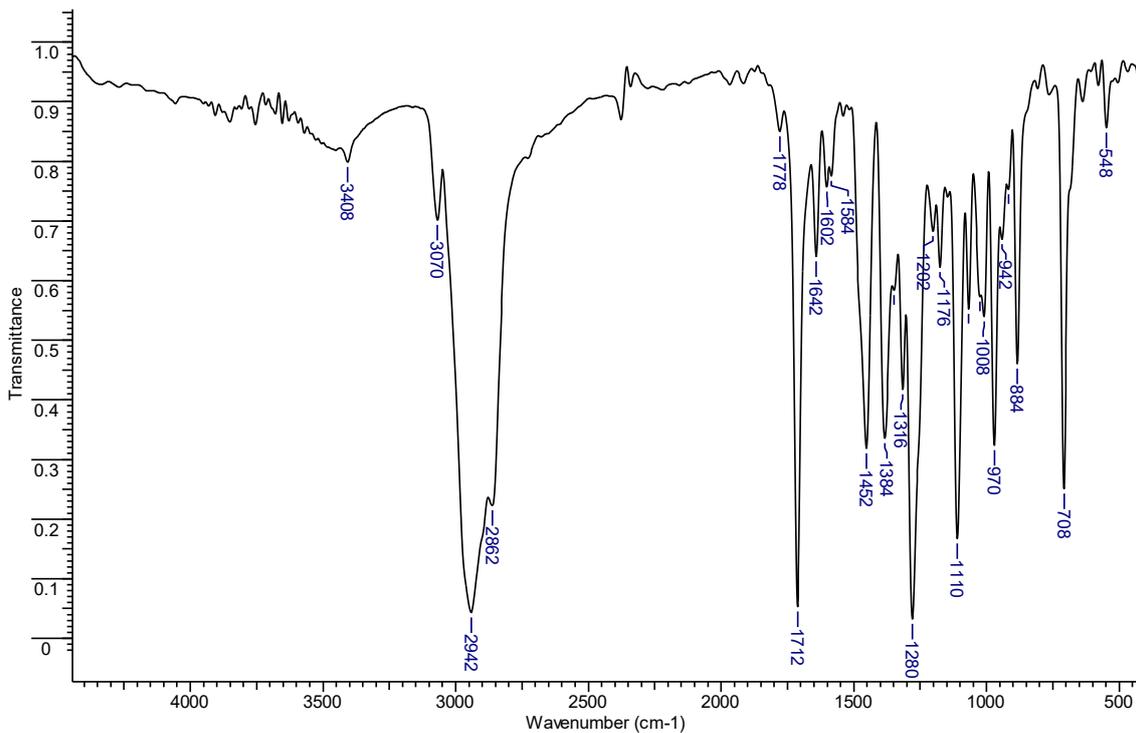


Figura B80: Espectro na região do IV de EL20

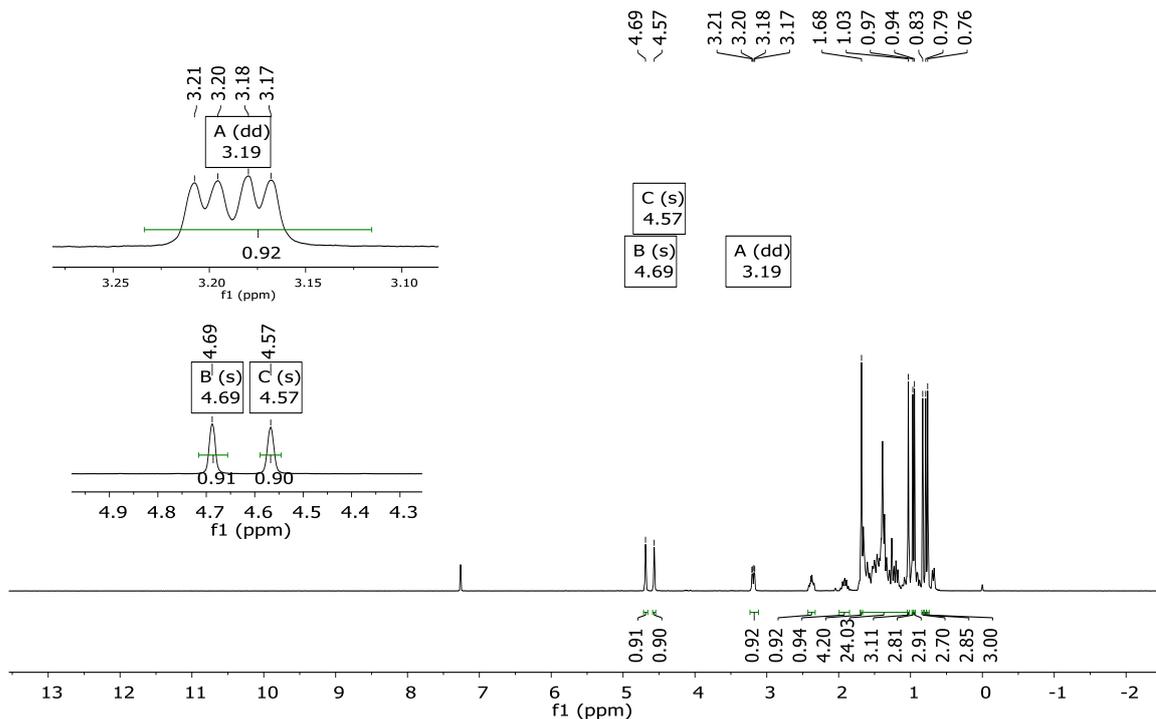


Figura B81: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de lupeol

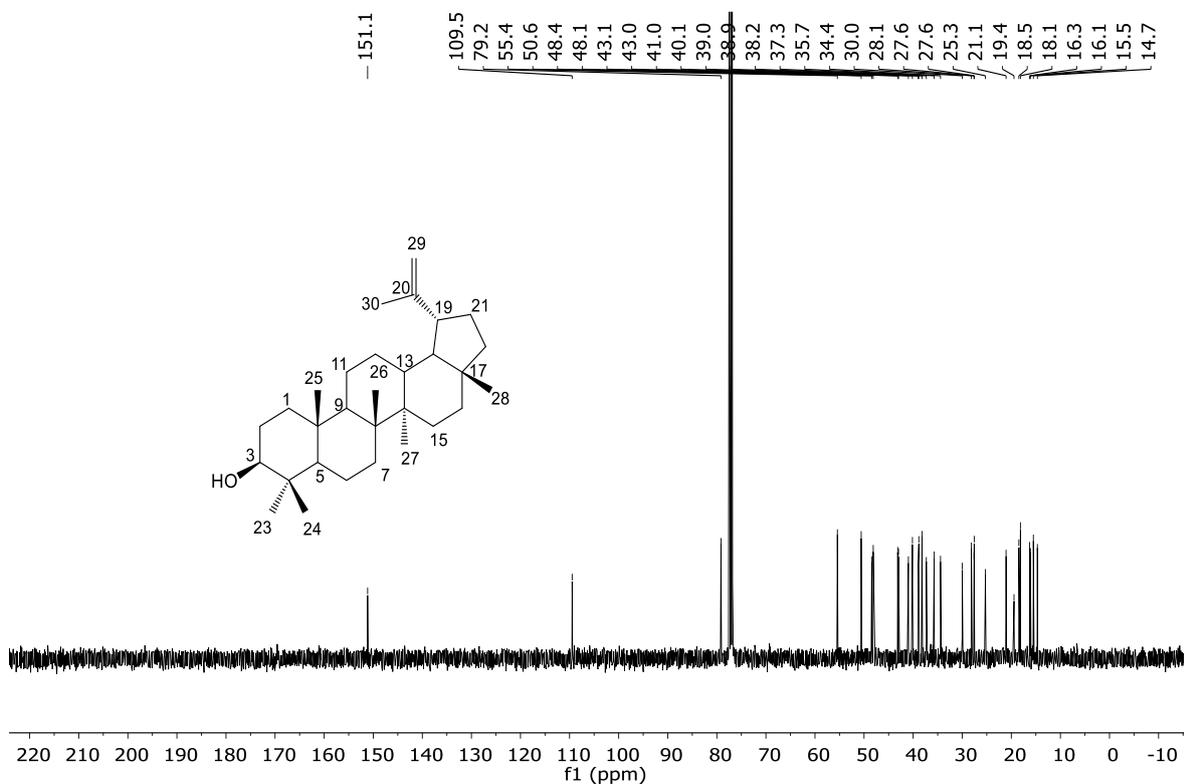


Figura B82: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de lupeol

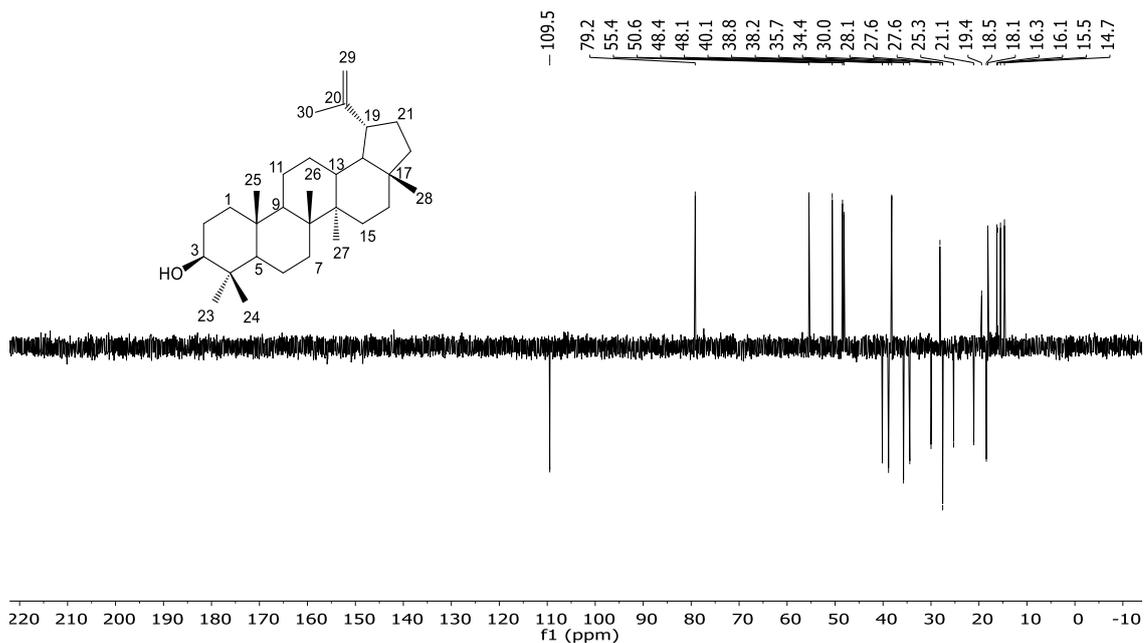


Figura B83: Espectro DEPT-135 (100 MHz, CDCl₃) de lupeol

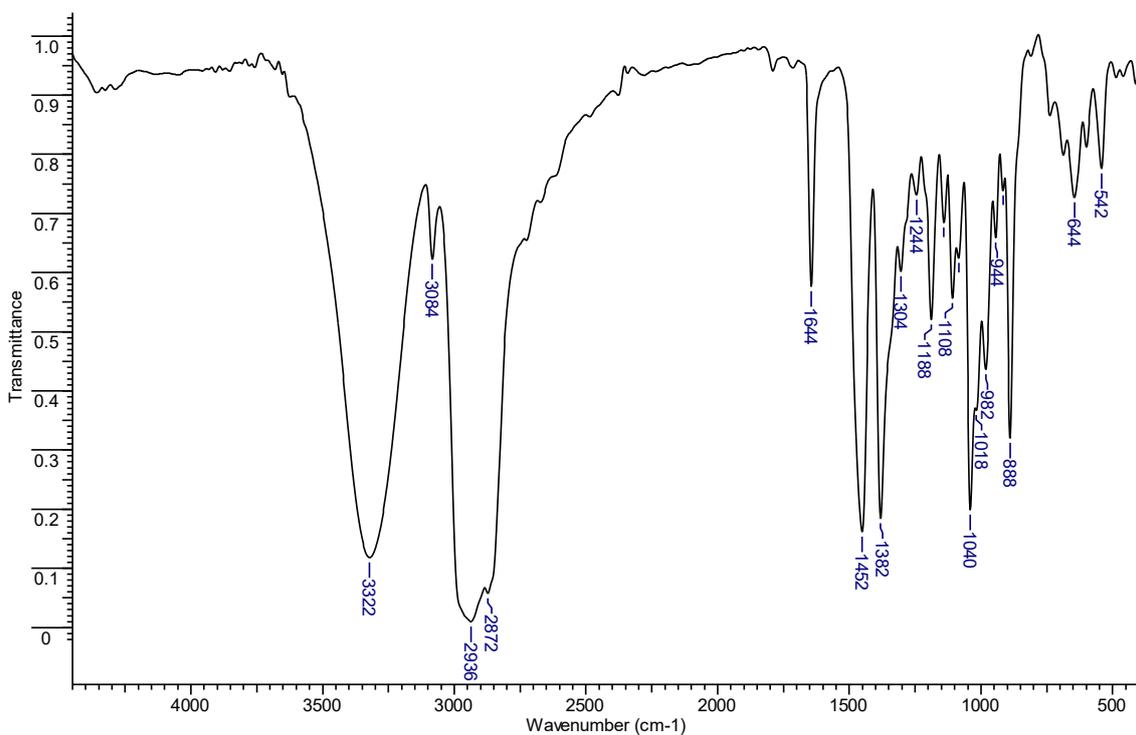


Figura B84: Espectro de IV de lupeol

APÊNDICE C – ARTIGOS PUBLICADOS

Evaluation of Cytotoxicity and Antifungal Activity of Friedelanes from *Salacia elliptica* Roots

Autores: Elizabeth Luciana Marinho Miguel, Grasiely Faria de Sousa, Lucienir Pains Duarte, Mariana Guerra de Aguiar, Sabrina França Silva, Daniel Cristian Ferreira Soares, Susana Johann, Luiz Felipe de Andrade Santana, Kamila Thomaz Oliveira, Diogo Montes Vidal

Revista: CHEMISTRY & BIODIVERSITY

DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301207>

Pentacyclic Triterpenoids Isolated from Celastraceae: A Focus in the ^{13}C -NMR Data

Autores: Karen Caroline Camargo, Mariana Guerra de Aguiar, Acácio Raphael Aguiar Moraes, Raquel Goes de Castro, Daiane Szczerbowski, Elizabeth Luciana Marinho Miguel, Leila Renan Oliveira, Grasiely Faria Sousa, Diogo Montes Vidal, Lucienir Pains Duarte

Revista: Molecules

DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27030959>