



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**FRANCISCO ERIVALDO FREITAS DA SILVA**

**DERIVATIZAÇÃO DOS ESTEROIDES FUCOSTEROL E CAMPESTEROL E**  
**AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DOS SEUS DERIVADOS**

**FORTALEZA**

**2019**

FRANCISCO ERIVALDO FREITAS DA SILVA

DERIVATIZAÇÃO DOS ESTEROIDES FUCOSTEROL E CAMPESTEROL E  
AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DOS SEUS DERIVADOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S58d Silva, Francisco Erivaldo Freitas da.  
Derivatização dos esteroides fucosterol e campesterol e avaliação biológica dos seus derivados /  
Francisco Erivaldo Freitas da Silva. – 2019.  
270 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-  
Graduação em Química, Fortaleza, 2019.  
Orientação: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.
1. Fucosterol. 2. Campesterol. 3. *Lobophora variegata*. 4. *Palythoa caribaeorum*. 5. Atividade  
antibacteriana. I. Título.

CDD 540

---

FRANCISCO ERIVALDO FREITAS DA SILVA

DERIVATIZAÇÃO DOS ESTEROIDES FUCOSTEROL E CAMPESTEROL E  
AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DOS SEUS DERIVADOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 11 / 04 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que me guia, me inspira e me dá forças todos os dias, me ensinando a ver na dificuldade uma oportunidade de seguir em frente, sempre me ajudando na busca dos meus sonhos.

À minha querida mãe Maria Freitas da Silva e ao meu pai Miguel Alves da Silva (*In memoriam*) pela educação e incentivo durante toda a minha vida e aos meus irmãos Ivaneide, Erilda, Irineide, Eliane e Elieser que me apoiaram sempre em todos os momentos.

À professora Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago por ter me aceitado como orientando, pelo incentivo, pela confiança em mim depositada, pela paciência, pelos conhecimentos repassados sem nenhuma vaidade e pela oportunidade a mim cedida em participar desse trabalho, me proporcionando todas as condições para o meu desenvolvimento intelectual e profissional. Por todos esses anos de convivência, meu muito obrigado.

Aos professores Dr. Marcos Carlos de Mattos e Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa, membros da banca examinadora, por gentilmente aceitarem o convite para avaliar e contribuir de maneira significativa com este trabalho. Vale mencionar, ainda, a profa. Otília Deusdênia Loiola Pessoa pelo fornecimento dos esteroides fucosterol e campesterol, pela parceria, dedicação e empenho.

À professora Dra. Selma Elaine Mazzeto e à Viviane Gomes pelos ensinamentos, amizade e apoio.

À Angélica pelo incentivo, apoio e por ter despertado em mim o desejo de voltar a estudar, o meu muito obrigado.

A todos os colegas de laboratório de produtos naturais (LSO): Nicaely, Horlando, Ítalo, Dilailson, Luís, Leôncio, Roberto, Aurélio e Ana Maria, por toda a força e ajuda nos momentos que precisei. O apoio de vocês foi muito importante durante a realização deste trabalho. Vale mencionar a Nicaely novamente pelos testes de atividade larvicida.

Aos meus inesquecíveis amigos e colegas do Pró-Técnico Phillippo, Felipe, Álisson, Isadora, Patrícia, Rodrigo e em especial, à Rejane e à Rebeca por toda a amizade, carinho e apoio, vocês são tão importante em minha vida.

Ao Alison pela obtenção dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e RMN  $^1\text{H}$ , e por toda a ajuda durante a elaboração deste trabalho.

Ao Fábio pelas análises físicas realizadas e pela valiosa ajuda nos momentos que mais precisei.

Ao Francisco das Chagas pelo fornecimento de material para este trabalho e pelo conhecimento compartilhado.

À Aurideia pela obtenção dos espectros de IV, o meu agradecimento com muito carinho.

Ao Ricardo pelas reações de hidrogenação e por toda a sua disponibilidade. Sua ajuda foi de extrema importância.

Ao Lucas pelas análises físicas de ponto de fusão.

Ao João pelas análises de CG/EM.

Aos colegas da minha turma de graduação Aldênia, Aislânia, Giamwemberg, Emerson e Mayara, por todo apoio, ensinamentos, força e amizade.

Não tenho palavras para agradecer o imenso carinho, amizade e compreensão da Priscila neste momento.

Ao prof. Dr. José Galberto Martins da Costa (URCA) pelas análises de atividade antibacteriana, bem como à profa. Dra. Gardênia Carmen Gadelha Militão (UFPE) pelos ensaios de atividade citotóxica.

A todos os professores da UFC, em destaque, os professores Jair, Geraldo, Ângela, Nilce, Wladiana, Gisele, Nágila e Telma Leda, pela força e inspiração no magistério.

Aos funcionários Viviane Agostinho, Nadia, Célia e Orlando pela acessibilidade.

Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro, aos laboratórios LABIO, LBPN, LABS, LAFIPLAM II e ao CENAUREMN e NUVET por todo o apoio técnico cedido.

Enfim, sou grato a todos os demais que de alguma forma contribuíram para a minha formação e a realização deste trabalho.

**“Estude,** enquanto eles dormem. **Trabalhe** enquanto eles se divertem. **Lute** enquanto eles descansam. Depois viva o que eles **sempre sonharam.**” (Provébio Japonês)

## RESUMO

Os esteroides fucosterol (**F**) e campesterol (**C**) foram isolados de *Lobophora variegata* e *Palythoa caribaeorum*, respectivamente. Com o objetivo de avaliar as atividades dos esteroides **F** e **C** e de seus derivados **F-1** a **F-12** e **C-1** a **C-12**, visando estabelecer uma relação estrutura-atividade, o presente trabalho descreve as modificações estruturais dos esteroides **F** e **C**, assim como a avaliação das atividades: antibacteriana, sobre cepas de bactérias *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Streptococcus mutans* (ATCC 0046) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), sobre larvas do *Aedes aegypti*, bem como frente às linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal). Vale ressaltar que a partir do fucosterol foram obtidos doze derivados: (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**) e (3 $\beta$ ,20R)-estigmastan-3-ol (**F-12**), sendo os derivados **F-3**, **F-5** e **F-7** a **F-11** inéditos na literatura. Adicionalmente, a partir do campesterol foram obtidos os derivados: (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxiergost-5-eno (**C-1**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-butoxiergost-5-eno (**C-2**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexanoxiergost-5-eno (**C-3**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-benzoxiergost-5-eno (**C-4**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-succinoxiergost-5-eno (**C-5**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexadecanoxiergost-5-eno (**C-6**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**), (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**) e (3 $\beta$ ,20R,24R)-ergostan-3-ol (**C-12**), sendo os derivados **C-7** a **C-9** e **C-11** inéditos na literatura. Os derivados foram purificados através de cromatografia em gel de sílica e foram obtidos em bons rendimentos (68-98%). As estruturas dessas substâncias foram caracterizadas através de métodos espectroscópicos (IV, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C) e espectrométrico (EM). Campesterol (**C**) e seus derivados semissintéticos **C-1** a **C-12** foram submetidos a bioensaios sobre larvas de *Aedes aegypti*, porém não exibiram resultados satisfatórios. A atividade citotóxica dos esteroides **F** e

C e de seus derivados foi investigada, através do método do MTT, no entanto, nenhuma amostra apresentou inibição. A atividade antibacteriana dos derivados foi avaliada por meio do método de microdiluição e com exceção do derivado **F-11**, todas as amostras apresentaram atividade frente às bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *S. mutans*) ou Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*), ou frente aos dois tipos celulares (*S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*). Vale ressaltar que os derivados **F-12**, **C-7** e **C-9** apresentaram moderada atividade.

**Palavras-chave:** Fucosterol. Campesterol. *Lobophora variegata*. *Palythoa caribaeorum*. Atividade antibacteriana.

## ABSTRACT

The steroids fucosterol (**F**) and campesterol (**C**) were isolated from *Lobophora variegata* and *Palythoa caribaeorum*, respectively. The goal of this study was to evaluate the activities of the steroids **F** and **C**, and their derivatives **F-1** to **F-12**, and **C-1** to **C-12**, aiming to establish the structure-activity relationship. The present work describes the structural modifications of steroids **F** and **C**, as well as the antibacterial activity against the strains of *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Streptococcus mutans* (ATCC 0046) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), on *Aedes aegypti* larvae, as well as on the human cancer cell lines: MCF-7 human tumor cell lines (breast carcinoma), HL-60 (promyelocytic leukemia), and HCT-116 (colorectal cancer) of its derivatives. It is noteworthy that from the fucosterol twelve derivatives were obtained: (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-acetoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-1**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-butoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-2**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-hexanoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-3**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-benzoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-4**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-succinoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-5**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-hexadecanoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-6**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-fluorobenzoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-7**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-chlorobenzoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-8**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-bromobenzoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-9**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-nitrobenzoxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-10**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-formyloxystigmasta-5,24(28)-diene (**F-11**), and (3 $\beta$ ,20*R*)-stigmastan-3-ol (**F-12**). This is the first report on the **F-3**, **F-5**, and **F-7** to **F-11** derivatives. Additionally, derivatives from the campesterol were also prepared: (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-acetoxyergost-5-ene (**C-1**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-butoxyergost-5-ene (**C-2**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-benzoxyergost-5-ene (**C-4**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-succinoxyergost-5-ene (**C-5**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-hexadecanoxyergost-5-ene (**C-6**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-fluorobenzoxyergost-5-ene (**C-7**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-chlorobenzoxyergost-5-ene (**C-8**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-bromobenzoxyergost-5-ene (**C-9**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-nitrobenzoxyergost-5-ene (**C-10**), (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-formyloxyergost-5-ene (**C-11**), and (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-ergostan-3-ol (**C-12**). Derivatives **C-7**, **C-8**, **C-9** and **C-11** are being reported for the first time. The derivatives were purified by silica gel chromatography and were obtained in good yields (68-98%). The structures of these substances were characterized by spectroscopic (IR, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR) and spectrometric (MS) methods. Campesterol (**C**) and its semisynthetic derivatives **C-1** to **C-12** were submitted to bioassays on *Aedes aegypti* larvae, but did not show satisfactory results. The cytotoxic activity of the steroids **F** and **C** and its derivatives was investigated

using the MTT method, however, no sample showed inhibition. The antibacterial activity of all derivatives was evaluated by means of the microdilution method and with the exception of the **F-11** derivative, all the samples showed activity against Gram-positive (*S. aureus* e *S. mutans*) or Gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*), or against the two cell strains (*S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*). It is noteworthy that the **F-12**, **C-7** and **C-9** derivatives presented moderate activity.

**Keywords:** Fucosterol. Campesterol. *Lobophora variegata*. *Palythoa caribaeorum*. Antibacterial activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação esquemática de um exemplar de <i>Sargassum</i> . <b>a)</b> Desenho esquemático de uma planta adulta. <b>b)</b> Receptáculos masculinos. <b>c)</b> Receptáculos femininos. <b>d)</b> Vesículas flutuadoras. <b>e)</b> Aspecto do corte transversal do filoide.....	36
Figura 2	– Foto mostrando um espécime de <i>Lobophora variegata</i> .....	37
Figura 3	– Foto mostrando o aspecto da colônia de <i>Palythoa caribaeorum</i> sobre costão rochoso em Paracuru-Ce, Brasil.....	38
Figura 4	– <b>a)</b> Anel ciclopentanoperidrofenantênico; <b>b)</b> Estrutura básica de um esteroide.....	41
Figura 5	– Sistemas dos anéis básicos dos esteroides e as conformações $5\alpha$ e $5\beta$ .....	43
Figura 6	– Esquema da rota biossintética dos esteroides.....	45
Figura 7	– <b>(a)</b> Local de coleta – mapa indicando a posição do ponto de coleta, a praia de Paracuru relativa à capital (Fortaleza); <b>(b)</b> Fotografia do local de coleta durante a maré baixa; <b>(c)</b> Fotografia de um espécime de <i>Lobophora variegata</i> .....	73
Figura 8	– Reação de acilação do fucosterol ( <b>F</b> ) com diferentes anidridos de ácidos.....	74
Figura 9	– Reação de acilação do fucosterol ( <b>F</b> ) com anidrido succínico.....	76
Figura 10	– Reação de acilação do fucosterol ( <b>F</b> ) com cloreto de palmitoíla.....	77
Figura 11	– Reação de acilação do fucosterol ( <b>F</b> ) com diferentes ácidos carboxílicos.....	78
Figura 12	– Reação de acilação do fucosterol ( <b>F</b> ) com ácido fómico.....	80
Figura 13	– Reação de hidrogenação catalítica do fucosterol ( <b>F</b> ).....	81
Figura 14	– <b>(a)</b> Mapa mostrando a posição do ponto de coleta, a praia de Paracuru relativa à capital (Fortaleza); <b>(b)</b> Fotografia do local de coleta durante a maré baixa; <b>(c)</b> Fotografia de um espécime de <i>Palythoa caribaeorum</i> .....	83
Figura 15	– Reação de acilação do campesterol ( <b>C</b> ) com diferentes anidridos de	

ácidos.....	84
Figura 16 – Reação de acilação do campesterol ( <b>C</b> ) com anidrido succínico.....	86
Figura 17 – Reação de acilação do campesterol ( <b>C</b> ) com cloreto de palmitoíla.....	87
Figura 18 – Reação de acilação do campesterol ( <b>C</b> ) com diferentes ácidos carboxílicos.....	88
Figura 19 – Reação de acilação do campesterol ( <b>C</b> ) com ácido fórmico.....	90
Figura 20 – Reação de hidrogenação catalítica do campesterol ( <b>C</b> ).....	91
Figura 21 – Mecanismo geral da reação de acilação com anidridos de ácidos.....	92
Figura 22 – Mecanismo geral da reação de acilação com ácidos carboxílicos.....	93
Figura 23 – Mecanismo geral da reação de acilação com cloreto de palmitoíla.....	94
Figura 24 – Mecanismo da reação de acilação com ácido fórmico e ácido perclórico.....	95
Figura 25 – Mecanismo geral da reação de hidrogenação catalítica.....	96
Figura 26 – Esquema mostrando as principais fragmentações do fucosterol ( <b>F</b> ).....	98
Figura 27 – Estrutura química do fucosterol ( <b>F</b> ).....	99
Figura 28 – Espectro na região do infravermelho (ATR) do fucosterol ( <b>F</b> ).....	101
Figura 29 – Espectro de massas CG-EM do fucosterol ( <b>F</b> ).....	101
Figura 30 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do fucosterol ( <b>F</b> ).....	102
Figura 31 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do fucosterol ( <b>F</b> ) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	102
Figura 32 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do fucosterol ( <b>F</b> ).....	103
Figura 33 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do fucosterol ( <b>F</b> ).....	104
Figura 34 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20R,24E)-3- acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-1</b> ).....	105
Figura 35 – Estrutura química de (3β,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-1</b> ).....	106

Figura 36	– Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1).....	106
Figura 37	– Espectros de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1).....	107
Figura 38	– Espectros de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1).....	107
Figura 39	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	108
Figura 40	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1).....	109
Figura 41	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1).....	110
Figura 42	– Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	111
Figura 43	– Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	112
Figura 44	– Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	112
Figura 45	– Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	113
Figura 46	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	113
Figura 47	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2) na região de 0,5 – 3,0 ppm.....	114
Figura 48	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....	115
Figura 49	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-	

	3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-2</b> ).....	116
Figura 50	– Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	117
Figura 51	– Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	118
Figura 52	– Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	118
Figura 53	– Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	119
Figura 54	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	119
Figura 55	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ) na região de 0,5 – 2,5 ppm .....	120
Figura 56	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	121
Figura 57	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-3</b> ).....	122
Figura 58	– Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	123
Figura 59	– Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	124
Figura 60	– Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	124
Figura 61	– Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	125
Figura 62	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	125
Figura 63	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-	

	3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	126
Figura 64	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	127
Figura 65	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-4</b> ).....	128
Figura 66	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ).....	129
Figura 67	– Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ).....	129
Figura 68	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ).....	130
Figura 69	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ) na região de 0,5 – 3,0 ppm.....	130
Figura 70	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ).....	131
Figura 71	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-5</b> ).....	132
Figura 72	– Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	134
Figura 73	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	135
Figura 74	– Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	137
Figura 75	– Espectro de massas CG-EM de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	137
Figura 76	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	138

Figura 77	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	138
Figura 78	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	139
Figura 79	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-6</b> ).....	140
Figura 80	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ).....	141
Figura 81	– Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ).....	142
Figura 82	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ).....	142
Figura 83	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	143
Figura 84	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ).....	144
Figura 85	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-7</b> ).....	145
Figura 86	– Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	146
Figura 87	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	147
Figura 88	– Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	147
Figura 89	– Espectro de massas CG-EM de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	148
Figura 90	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-	

	clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	148
Figura 91	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	149
Figura 92	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	150
Figura 93	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-8</b> ).....	151
Figura 94	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ).....	152
Figura 95	– Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ).....	153
Figura 96	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ).....	153
Figura 97	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	154
Figura 98	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ).....	155
Figura 99	– Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-9</b> ).....	156
Figura 100	– Estrutura química de (3β,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ).....	157
Figura 101	– Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ).....	158
Figura 102	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ).....	158
Figura 103	– Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ) na região de 0,6 –	

2,6 ppm.....	159
Figura 104 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ).....	160
Figura 105 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-10</b> ).....	161
Figura 106 – Estrutura química de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ).....	162
Figura 107 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ).....	162
Figura 108 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ).....	163
Figura 109 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	163
Figura 110 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ).....	164
Figura 111 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> ,24 <i>E</i> )-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno ( <b>F-11</b> ).....	165
Figura 112 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	166
Figura 113 – Estrutura química de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	167
Figura 114 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	167
Figura 115 – Espectro de massas CG-EM de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	168
Figura 116 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	168
Figura 117 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	169

Figura 118 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	170
Figura 119 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> )-estigmastan-3-ol ( <b>F-12</b> ).....	171
Figura 120 – Esquema mostrando as principais fragmentações do campesterol ( <b>C</b> ).....	174
Figura 121 – Estrutura química do campesterol ( <b>C</b> ).....	175
Figura 122 – Espectro na região do infravermelho (KBr) do campesterol ( <b>C</b> ).....	177
Figura 123 – Espectro de massas CG-EM do campesterol ( <b>C</b> ).....	177
Figura 124 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol ( <b>C</b> ).....	178
Figura 125 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol ( <b>C</b> ) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	178
Figura 126 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol ( <b>C</b> ).....	179
Figura 127 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol ( <b>C</b> ).....	180
Figura 128 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	181
Figura 129 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	182
Figura 130 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	182
Figura 131 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	183
Figura 132 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	183
Figura 133 – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	184
Figura 134 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-acetoxiergost-5-eno ( <b>C-1</b> ).....	185
Figura 135 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-	

acetoxiergost-5-eno (C-1).....	186
Figura 136 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2).....	187
Figura 137 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2).....	187
Figura 138 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2).....	188
Figura 139 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	188
Figura 140 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2).....	189
Figura 141 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-butoxiergost-5-eno (C-2).....	190
Figura 142 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	191
Figura 143 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	192
Figura 144 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	192
Figura 145 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	193
Figura 146 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	193
Figura 147 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	194
Figura 148 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	195
Figura 149 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3).....	196

Figura 150 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4).....	197
Figura 151 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4).....	198
Figura 152 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4).....	198
Figura 153 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	199
Figura 154 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4).....	200
Figura 155 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-benzoxiergost-5-eno (C-4).....	201
Figura 156 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	202
Figura 157 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	203
Figura 158 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	203
Figura 159 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5) na região de 0,6 – 2,8 ppm.....	204
Figura 160 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	205
Figura 161 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	206
Figura 162 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas <sup>13</sup> C x <sup>1</sup> H-HMBC de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5).....	206
Figura 163 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	208
Figura 164 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6)....	209

Figura 165 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	211
Figura 166 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	211
Figura 167 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	212
Figura 168 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6) na região de 0,6 – 2,4 ppm.....	212
Figura 169 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	213
Figura 170 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6).....	214
Figura 171 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	215
Figura 172 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	216
Figura 173 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	217
Figura 174 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	217
Figura 175 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	218
Figura 176 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	218
Figura 177 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	219
Figura 178 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-	

fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7).....	220
Figura 179 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	221
Figura 180 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	222
Figura 181 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	222
Figura 182 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	223
Figura 183 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	223
Figura 184 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	224
Figura 185 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	225
Figura 186 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8).....	226
Figura 187 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	227
Figura 188 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	228
Figura 189 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	228
Figura 190 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	229
Figura 191 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	229
Figura 192 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do (3 $\beta$ ,20 <i>R</i> ,24 <i>R</i> )-	

(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	230
Figura 193 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	231
Figura 194 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9).....	232
Figura 195 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	233
Figura 196 – Estrutura química de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	234
Figura 197 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	234
Figura 198 – Espectro de massas CG-EM de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	235
Figura 199 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	235
Figura 200 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	236
Figura 201 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	237
Figura 202 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10).....	238
Figura 203 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	239
Figura 204 – Estrutura química de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	240
Figura 205 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	240
Figura 206 – Espectro de massas CG-EM de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno	

(C-11).....	241
Figura 207 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	241
Figura 208 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11) na região de 0,6 – 2,6 ppm.....	242
Figura 209 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	243
Figura 210 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11).....	244
Figura 211 – Estrutura química de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12).....	245
Figura 212 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12).....	246
Figura 213 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12).....	246
Figura 214 – Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12) na região de 0,5 – 2,1 ppm.....	247
Figura 215 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12).....	248
Figura 216 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de (3β,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12).....	249
Figura 217 – Estrutura química do Temephos®.....	251

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estrutura química dos principais grupos de esteróis e estanois.....	42
Tabela 2 – Derivados do fucosterol ( <b>F</b> ) e atividades biológicas de alguns derivados....	47
Tabela 3 – Derivados do campesterol ( <b>C</b> ) e atividades biológicas de alguns derivados.....	56
Tabela 4 – Padrão de hidrogenação dos carbonos do fucosterol ( <b>F</b> ).....	99
Tabela 5 – Deslocamento químico de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ do fucosterol ( <b>F</b> ) em $\text{CDCl}_3$ comparados com os descritos na literatura (KHANAVI <i>et al.</i> , 2012) em $\text{CDCl}_3$ .....	100
Tabela 6 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do fucosterol ( <b>F</b> ) e dos derivados <b>F-1</b> , <b>F-2</b> , <b>F-3</b> , <b>F-4</b> e <b>F-5</b> .....	133
Tabela 7 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do fucosterol ( <b>F</b> ) e do derivado <b>F-6</b> .....	136
Tabela 8 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do fucosterol ( <b>F</b> ) e dos derivados <b>F-7</b> , <b>F-8</b> , <b>F-9</b> , <b>F-10</b> , <b>F-11</b> e <b>F-12</b> .....	172
Tabela 9 – Padrão de hidrogenação dos carbonos do campesterol ( <b>C</b> ).....	175
Tabela 10 – Deslocamento químico de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ do campesterol ( <b>C</b> ) em $\text{CDCl}_3$ comparados com os descritos na literatura (ZHANG <i>et al.</i> , 2006) em $\text{CDCl}_3$ .....	176
Tabela 11 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do campesterol ( <b>C</b> ) e dos derivados <b>C-1</b> , <b>C-2</b> , <b>C-3</b> , <b>C-4</b> e <b>C-5</b> .....	207
Tabela 12 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do campesterol ( <b>C</b> ) e do derivado <b>C-6</b> .....	210
Tabela 13 – Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ do campesterol ( <b>C</b> ) e dos derivados <b>C-7</b> , <b>C-8</b> , <b>C-9</b> , <b>C-10</b> , <b>C-11</b> e <b>C-12</b> .....	250
Tabela 14 – Percentual de inibição em concentração única (25 $\mu\text{g/mL}$ ) do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu desvio padrão da média (SD).....	252
Tabela 15 – Concentração inibitória mínima (CIM) do fucosterol ( <b>F</b> ), campesterol ( <b>C</b> ) e dos derivados semissintéticos.....	255

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal Mediana
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DCC	Diciclo-hexilcarbodiimida
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimetilamino Piridina
EM	Espectromeria de Massas
EtOH	Etanol
g.mol <sup>-1</sup>	Gramas por Mol
Hex.	Hexano
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
IV	Infravermelho
MHz	Mega-hertz
mL	Mililitros
mol.L <sup>-1</sup>	Mol por Litro
p.f.	Ponto de Fusão
RDA	Retro Diels Alder
Rf	Fator de Retenção
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
UFC/mL	Unidade de Formação de Colônias por Mililitro

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$C$	Concentração (gramas por litro)
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$J$	Constante de Acoplamento
$\delta_C$	Deslocamento Químico de Carbono-13
$\delta_H$	Deslocamento Químico de Hidrogênio
®	Marca Registrada
$[\alpha]_D$	Rotação Óptica Específica
$m/z$	Relação Massa/Carga

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	34
2	CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPÉCIES MARINHAS.....	36
2.1	Gênero <i>Sargassum</i> .....	36
2.2	Alga marinha <i>Lobophora variegata</i> .....	37
2.3	Zoantídeos.....	38
2.4	<i>Palythoa caribaeorum</i> (Duchassaing & Michelloti, 1860).....	38
3	OBJETIVOS.....	40
3.1	Objetivo geral.....	40
3.2	Objetivos específicos.....	40
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	41
4.1	Esteroides.....	41
4.2	Fucoesterol (F).....	46
4.3	Derivados do fucoesterol (F).....	47
4.4	Campesterol (C).....	55
4.5	Derivados do campesterol (C).....	56
4.6	Atividades biológicas.....	65
4.6.1	Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i> .....	65
4.6.2	Atividade citotóxica.....	66
4.6.3	Atividade antibacteriana.....	67
5	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	68
5.1	Métodos espectroscópicos.....	68
5.1.1	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	68
5.1.2	Espectrometria de massas (EM).....	68
5.1.3	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).....	68
5.2	Solventes e reagentes.....	69
5.2.1	Solventes utilizados.....	69
5.2.2	Reagentes utilizados.....	69
5.2.3	Adsorventes utilizados.....	69
5.3	Métodos físicos.....	70
5.3.1	Ponto de fusão.....	70
5.3.2	Rotação óptica específica.....	70

5.4	<b>Atividades biológicas.....</b>	70
5.4.1	<i>Atividade larvicida sobre Aedes aegypti.....</i>	70
5.4.2	<i>Atividade citotóxica in vitro sobre linhagens de células tumorais humanas....</i>	71
5.4.3	<i>Atividade antibacteriana sobre linhagens de bactérias Gram (-) e Gram (+)...</i>	71
5.5	<b>Obtenção da alga <i>Lobophora variegata</i> e isolamento do fucosterol (F).....</b>	72
5.6	<b>Derivados semissintéticos do fucosterol (F).....</b>	73
5.6.1	<i>Procedimento geral de acilação do fucosterol (F) com os anidridos acético, butanoico, hexanoico e benzoico.....</i>	73
5.6.2	<i>Procedimento de acilação do fucosterol (F) com anidrido succínico.....</i>	76
5.6.3	<i>Procedimento de acilação do fucosterol (F) com cloreto de palmitoíla.....</i>	77
5.6.4	<i>Procedimento geral de acilação do fucosterol (F) com diferentes ácidos carboxílicos.....</i>	78
5.6.5	<i>Procedimento de acilação do fucosterol (F) com ácido fórmico.....</i>	80
5.6.6	<i>Procedimento de hidrogenação catalítica do fucosterol (F).....</i>	81
5.7	<b>Obtenção do zoantídeo <i>Palythoa caribaeorum</i> e isolamento do campesterol (C).....</b>	82
5.8	<b>Derivados semissintéticos do campesterol (C).....</b>	83
5.8.1	<i>Procedimento geral de acilação do campesterol (C) com os anidridos acético, butanoico, hexanoico e benzoico.....</i>	83
5.8.2	<i>Procedimento de acilação do campesterol (C) com anidrido succínico.....</i>	85
5.8.3	<i>Procedimento de acilação do campesterol (C) com cloreto de palmitoíla.....</i>	86
5.8.4	<i>Procedimento geral de acilação do campesterol (C) com diferentes ácidos carboxílicos.....</i>	87
5.8.5	<i>Procedimento de acilação do campesterol (C) com ácido fórmico.....</i>	89
5.8.6	<i>Procedimento de hidrogenação catalítica do campesterol (C).....</i>	90
6	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	92
6.1	<b>Modificações estruturais.....</b>	92
6.1.1	<i>Reação de acilação utilizando anidridos de ácidos.....</i>	92
6.1.2	<i>Reação de acilação utilizando ácidos carboxílicos.....</i>	93
6.1.3	<i>Reação de acilação utilizando cloreto de palmitoíla.....</i>	94
6.1.4	<i>Reação de acilação utilizando ácido fórmico, diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 4-N,N-dimetilamino piridina (DMAP).....</i>	95
6.1.5	<i>Reação de acilação utilizando ácido fórmico e ácido perclórico.....</i>	95

6.1.6	<i>Reação de hidrogenação catalítica.....</i>	96
6.2	<b>Caracterização estrutural do fucosterol (F).....</b>	97
6.3	<b>Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos do fucosterol (F)..</b>	104
6.3.1	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1)....</i>	104
6.3.2	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2).....</i>	110
6.3.3	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-3).</i>	116
6.3.4	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-4)...</i>	122
6.3.5	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-5).....</i>	128
6.3.6	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-6).....</i>	134
6.3.7	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-7).....</i>	140
6.3.8	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-8).....</i>	145
6.3.9	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-9).....</i>	151
6.3.10	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-10).....</i>	156
6.3.11	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-II).....</i>	161
6.3.12	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R)-estigmasta-3-ol (F-12).....</i>	165
6.4	<b>Caracterização estrutural do campesterol (C).....</b>	173
6.5	<b>Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos do campesterol (C).....</b>	180
6.5.1	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-acetoxi ergost-5-eno (C-1).....</i>	180
6.5.2	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-butoxi ergost-5-eno (C-2).....</i>	186
6.5.3	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-hexanoxi ergost-5-eno (C-3).....</i>	190
6.5.4	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-benzoxi ergost-5-eno (C-4).....</i>	196
6.5.5	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-succinoxi ergost-5-eno (C-5).....</i>	201
6.5.6	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-hexadecanoxi ergost-5-eno (C-6).....</i>	208
6.5.7	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxi ergost-5-eno (C-7).....</i>	214
6.5.8	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxi ergost-5-eno (C-8).....</i>	220

6.5.9	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9)</i> .....	226
6.5.10	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10)</i> .....	232
6.5.11	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-3-formiloxi ergost-5-eno (C-11)</i> .....	238
6.5.12	<i>Caracterização de (3<math>\beta</math>,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12)</i> .....	244
6.6	<b>Ensaio de atividades biológicas</b> .....	251
6.6.1	<i>Avaliação da atividade larvicida do campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre Aedes aegypti</i> .....	251
6.6.2	<i>Avaliação da atividade citotóxica in vitro do fucosterol (F), campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre linhagens de células tumorais humanas</i> .....	251
6.6.3	<i>Avaliação da atividade antibacteriana do fucosterol (F), campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre linhagens de bactérias Gram (-) e Gram (+)</i> .....	254
7	<b>CONCLUSÃO</b> .....	257
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	258

## 1 INTRODUÇÃO

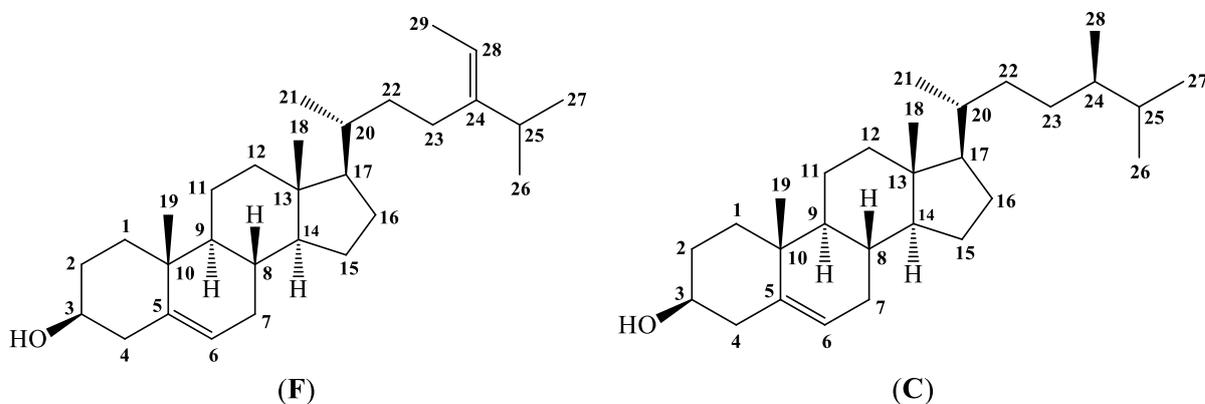
Modificações estruturais de compostos bioativos, cujas atividades são conhecidas, podem levar à identificação de novos protótipos, que podem atuar pelo mesmo mecanismo de ação, levando à descoberta de novos fármacos. Sendo assim, há uma imensa variedade de compostos naturais que podem ser aproveitados e, a partir de suas modificações estruturais, obter outras substâncias bioativas com mecanismos de ação similares ou diferentes daqueles já relatados na literatura (SANGI, 2016). Vale salientar que apesar da evolução da síntese orgânica, muitos compostos candidatos a fármacos continuam sendo obtidos a partir de organismos marinhos (SIMÕES *et al.*, 2017), bem como de espécies vegetais (NEWMAN; CRAGG, 2012; BROCKSON *et al.*, 2015).

As relações estrutura-atividade geralmente são determinadas fazendo-se algumas modificações na estrutura química do composto protótipo, seguidas da avaliação do efeito que tal modificação exerce sobre a sua atividade biológica. Essas modificações podem ser realizadas pela incorporação de novos grupamentos, podendo alterar as propriedades físico-químicas da molécula como a densidade eletrônica, hidrofobicidade, conformação estrutural e propriedades farmacocinéticas (GALLOWAY; ISIDRO-LLOBET; SPRING, 2010).

Os esteroides exibem diversas atividades biológicas, tais como anti-inflamatória, antifúngica, antidiabética, antibacteriana, inibitória da acetilcolinesterase, redutora do colesterol no sangue e preventiva de trombose dos vasos sanguíneos (LEE *et al.*, 2004; HOANG *et al.*, 2012; KHANAVI *et al.*, 2012; JUNG *et al.*, 2013; SOARES *et al.*, 2017; CHAKRABORTY; JOY; SALAS, 2019). Em função da importância dos esteroides, presentes em uma grande variedade de organismos vivos, as modificações estruturais e a preparação de análogos são táticas cruciais no estudo destas substâncias, contribuindo para o aumento do conhecimento de suas propriedades biológicas.

Os esteroides são compostos tetracíclicos isolados de plantas (VIL *et al.*, 2019), de algas (ÁVILA *et al.*, 2019) e também de organismos marinhos (TRINH *et al.*, 2018; XIE *et al.*, 2019), sendo os mais comuns fucosterol, campesterol, sitosterol e estigmasterol (GACHUMI; EL-ANEED, 2017). Em algas pardas, o principal esteroide é o fucosterol (F), cuja estrutura está mostrada abaixo, apresenta função análoga aos outros esteroides, mas diferencia-se pela presença de uma dupla ligação no carbono C-24(28) na cadeia lateral (ABDUL *et al.*, 2016). Este exibe diversas atividades biológicas, tais como anticancerígena (KHANAVI *et al.*, 2012), redutora do colesterol (HOANG *et al.*, 2012) e antidiabética (LEE *et al.*, 2004). Outro esteroide bastante conhecido em zoanfiteos particularmente no gênero

*Palythoa* é o campesterol (**C**), cuja estrutura está representada abaixo. Estudos com extrato vegetal contendo campesterol revelaram propriedades anti-inflamatórias (CONFORTI *et. al.*, 2009; ZHANG *et. al.*, 2017), podendo, portanto, esse esteroide ser benéfico para a artrite e doenças cardiovasculares, entre outros problemas de saúde. Vale ressaltar que estudos epidemiológicos e experimentais sugerem que esteroides, quando presentes na dieta humana podem oferecer proteção contra os tipos de câncer mais comuns, como câncer de cólon, de mama e de próstata (AWAD; FINK, 2000). Além disso, muitos esteroides oxigenados em C-11 são utilizados atualmente no tratamento de diversas enfermidades que variam da doença de Addison à asma e inflamações de pele (SOLOMONS; FRIHLE, 2011).



Em função das diversas propriedades biológicas relatadas na literatura para o fucosterol (**F**) e o campesterol (**C**), estes esteroides foram utilizados como material de partida para obtenção de derivados. Sendo assim, o trabalho desenvolvido trata-se das modificações estruturais sobre o grupo hidroxila em C-3 de **F** e **C**, através de reações de acilação com anídeos de cadeia linear, com ácidos benzoicos *p*-substituídos, com cloreto de palmitoíla e com ácido fórmico, além de hidrogenação catalítica nos carbonos C-5 e C-24(28). Nossa proposta consistiu, ainda, em avaliar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* do campesterol (**C**) e de seus derivados, assim como investigar a atividade citotóxica e antibacteriana dos dois esteroides e de seus derivados semissintéticos.

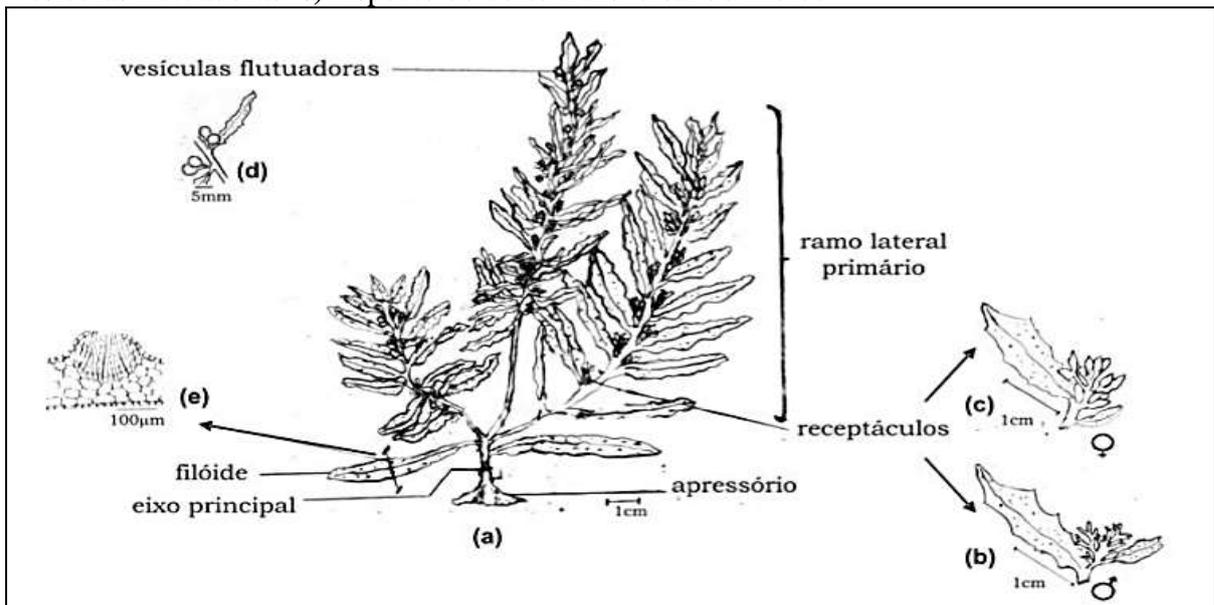
## 2. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ESPÉCIES MARINHAS

### 2.1 Gênero *Sargassum*

O gênero *Sargassum*, família Sargassaceae, representado pelas algas marrons constituindo um dos principais gêneros da ordem Fucales (Phaeophyceae, heterokntophyta), sendo representado por 485 espécies (GUIRY, 2019). Vale ressaltar que o gênero *Sargassum* se divide nos subgêneros: *Phyllotrichia*, *Sargassum* e *Bactroohycus* (STIGER *et al.*, 2003). As algas desse gênero se distribuem predominantemente em áreas costeiras, de substrato consolidado, nas regiões tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico, muitas vezes formando os chamados bancos de *Sargassum* (COIMBRA, 2006).

Os organismos adultos são formados por eixos principais e ramos laterais e fixados ao substrato por um apressório (Fig. 1). Na extremidade superior dos ramos principais são produzidos os ramos laterais primários de forma contínua e radialmente, apresentando crescimento indeterminado, se ramificam e receptáculos diferenciam em femininos e masculinos. Geralmente se tornam senescentes após o período de maturação (VELOZO; SZÉCHY, 2008).

Figura 1 – Representação esquemática de um exemplar de *Sargassum*. a) Desenho esquemático de uma planta adulta. b) Receptáculos masculinos. c) Receptáculos femininos. d) Vesículas flutuadoras. e) Aspecto do corte transversal do filóide



Fonte: Coimbra (2006).

## 2.2 Alga marinha *Lobophora variegata*

A macroalga marinha parda *Lobophora variegata* é classificada taxonomicamente no Reino Chromista, Filo Ochrophyta, Classe Phaeophyceae, Subclasse Dictyotophycidae, Ordem Dictyotales, Família Dictyotaceae e Gênero *Lobophora* (GUIRY, 2019). Essa espécie encontra-se amplamente distribuída em águas tropicais e subtropicais, em profundidades que podem variar de 1 m a 36 m, servindo muitas vezes de abrigo para diversas espécies de invertebrados e fazendo parte integrante dos recifes de corais (WOMERSLEY, 2003; GUIRY, 2019).

*L. variegata* (Fig. 2) é uma alga relativamente pequena, apresenta lâminas curtas e não alcançam grandes tamanhos. Essa alga possui estrutura levemente rígida quando comparada com outras espécies de algas pardas e apresenta manchas irregulares na superfície do talo foliáceo com coloração parda ou marrom escuro, motivo para o seu nome científico que vem do latim (*variegata*) e significa “mancha” (GUIRY, 2019).

Existem relativamente poucos estudos sobre a atividade de extratos brutos, frações e/ou compostos isolados de *L. variegata*. Entretanto, esses estudos apontam que essa espécie apresenta atividade biológica, revelando também seu potencial como fonte de substâncias bioativas (PAIVA *et al.*, 2011; BIANCO *et al.*, 2015).

Figura 2 – Foto mostrando um espécime de *Lobophoa variegata*



Fonte: Fotografia cedida pelo Fábio do Nascimento Ávila.

### 2.3 Zoantídeos

Os zoantídeos, pertencentes ao filo cnidário, são identificados principalmente por suas formas coloniais, ou seja, duas coroas de tentáculos e um sifonoglifo (SINNIGER *et al.*, 2005). Esses organismos têm tendência a formar colônias de pólipos e um arranjo bem distinto de septos radiais internos. Os septos por sua vez são pareados, e cada par possui um septo perfeito ou completo e um imperfeito ou incompleto (RYLAND; LANCASTER, 2003). Os zoantídeos podem se reproduzir de duas formas: assexuada, por fragmentação dos pólipos e sexuada por meio da fertilização externa (KARLSON, 1983; FADLALLAH; KARLSON; SEBENS, 1984; BOSCOLO; SILVEIRA, 2005). A família Zoanthidae (zoantideo) corresponde a um grupo de organismos sésseis abundantes nas regiões tropicais, particularmente em formações recifais, são cnidários polipoides marinhos e habitantes dos recifes costeiros. Vale salientar que esses organismos ficam sujeitos à subida e à descida da maré e com isso eles podem ficar muitas horas imersos (MUIRHEAD; RYLAND, 1985).

### 2.4 *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing & Michelloti, 1860)

A distribuição da espécie zoantídeo *Palythoa caribaeorum* (Fig. 3) nas diversas comunidades bentônicas é decorrente de alguns fatores ambientais, tais como: zona recifal, natureza do sedimento, hidrodinâmica, salinidade, temperatura e luminosidade. *P. caribaeorum* é um dos organismos mais conspícuo da comunidade bentônica em ambientes rasos, por quase toda a costa oeste do oceano Atlântico (KEMP *et al.*, 2006; BOUZON; BRANDINI; ROCHA, 2012).

Figura 3 – Foto mostrando o aspecto da colônia de *Palythoa caribaeorum* sobre costão rochoso em Paracuru-Ce, Brasil



Fonte: Fotografia cedida pelo Francisco das Chargas Lima Pinto.

As colônias de *P. caribaeorum* possuem cor bronze, marrom, e muitas vezes adquirem a coloração branca depois de perderem as zooxantelas (KEMP *et al.*, 2006; AMARAL *et al.*, 2009). Os pólipos de *P. caribaeorum* estão conectados por um espesso tecido chamado cenénquina, o qual também agrega partículas na sua superfície. Essas colônias são cobertas por um muco viscoso que, no Brasil, é conhecido pelo nome popular de “baba-de-boi” (PÉREZ; VILA-NOVA; SANTOS, 2005). O desenvolvimento deste zoantídeo ocorre sobre substratos consolidados, onde uma única colônia pode apresentar uma área que varia desde alguns centímetros até mais de 4 m<sup>2</sup> (ACOSTA, 2001). As colônias de *P. caribaeorum* frequentemente se dispõem em grandes agregações, como um “tapete”, localizados nas áreas submersas recobrando grandes extensões do substrato, mas quando estão expostos durante a maré baixa, seus pólipos produzem um muco que protege a colônia da dessecação (SEBENS, 1982; AMARAL *et al.*, 2009; MELO *et al.*, 2012).

No Nordeste do Brasil, existem certas comunidades de pescadores que utilizam o muco (“baba-de-boi”) como um agente analgésico e anti-inflamatório no tratamento de contusões e reumatismo (MELO *et al.*, 2012), sendo aplicado diretamente sobre as feridas e/ou pancadas, estimulando desta forma o estudo químico, farmacológico e toxicológico do zoantídeo *P. caribaeorum* (SOARES *et al.*, 2006).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

- Obter derivados semissintéticos a partir dos esteroides fucosterol (**F**) e campesterol (**C**) e avaliar quanto às suas atividades biológicas.

#### 3.2 Objetivos específicos

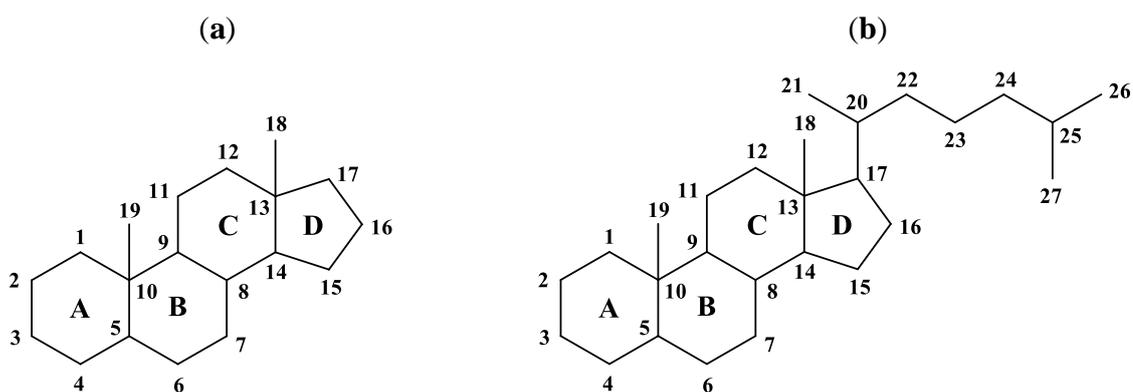
- Isolar o fucosterol (**F**) a partir do extrato em acetato de etila da alga marinha *Lobophora variegata*;
- Isolar o campesterol (**C**) a partir do extrato hexânico do zoantídeo *Palythoa caribaeorum*;
- Realizar modificações estruturais no fucosterol (**F**) e no campesterol (**C**) mediante reações de acilação e hidrogenação catalítica;
- Avaliar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* do campesterol (**C**) e dos seus derivados (**C-1** a **C-12**);
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* do fucosterol (**F**), campesterol (**C**) e dos seus derivados (**F-1** a **F-12**; **C-1** a **C-12**) nas linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal);
- Avaliar a atividade antibacterina do fucosterol (**F**), campesterol (**C**) e dos derivados (**F-1** a **F-12**; **C-1** a **C-12**) sobre *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442); *Streptococcus mutans* (ATCC 0046); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 10536).

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Esteroides

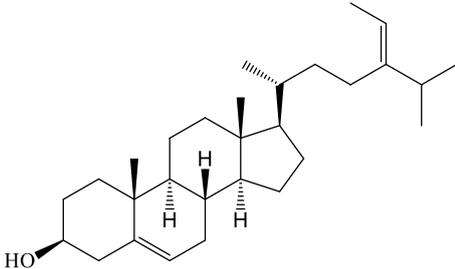
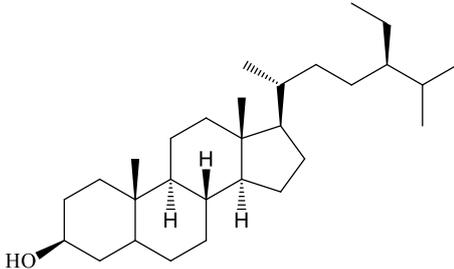
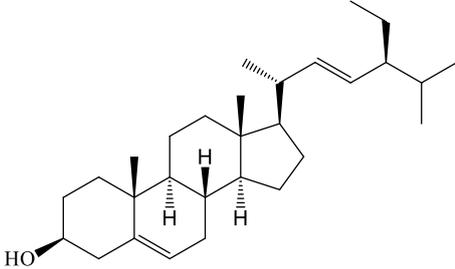
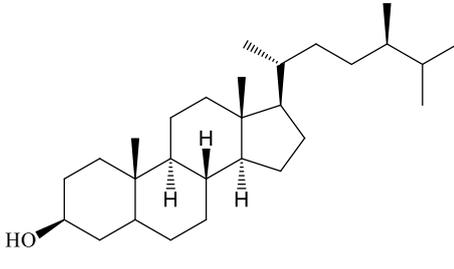
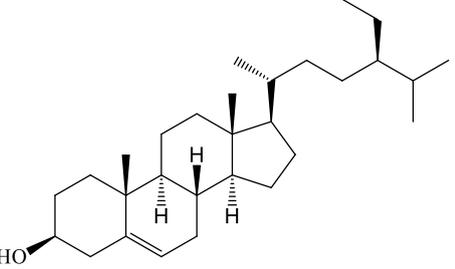
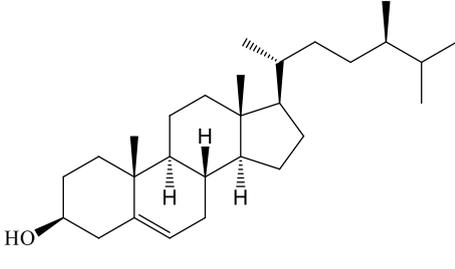
Os esteroides representam uma classe de substâncias com extensa distribuição na natureza, sendo, portanto, considerados importantes “reguladores biológicos” devido aos efeitos fisiológicos sobre os organismos vivos. Dentre esses compostos estão os hormônios sexuais femininos e masculinos, os hormônios adrenocorticoides e os ácidos biliares. Eles apresentam em sua estrutura básica um núcleo ciclopentanoperidrofenantrênico (Fig. 4), formado por quatro anéis condensados (A-D) e uma cadeia lateral ramificada, constituída de 7 a 11 átomos de carbono, que se liga ao carbono C-17 do núcleo esteroidal (SOLOMONS; FRIHLE, 2011). Sempre que os esteroides apresentarem ligação dupla no carbono C-5 e existir pelo menos uma hidroxila no carbono C-3, eles são conhecidos como esteróis e na sua forma saturada são denominados de estanois (GROS *et al.*, 1985; QUILEZ; GARCÍA-LORDA; SALAS-SALVADÓ, 2003). Na Tabela 1 (pág. 42) são apresentados alguns exemplos de esteróis e estanois, identificados pelo nome trivial.

Figura 4 – **a)** Anel ciclopentanoperidrofenantrênico; **b)** Estrutura básica de um esteroide



Fonte: o próprio autor.

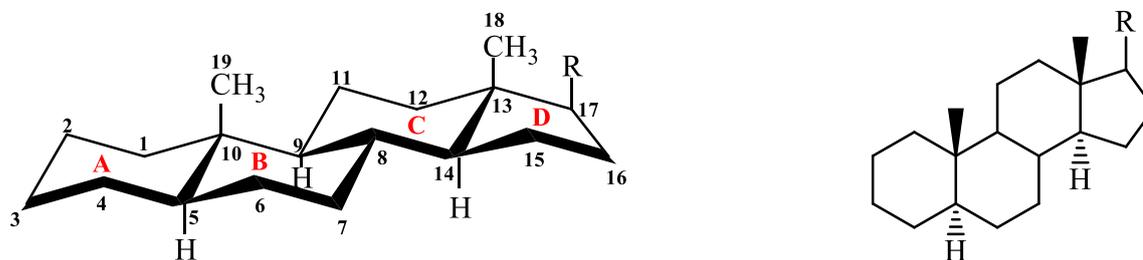
Tabela 1 – Estrutura química dos principais grupos de esteróis e estanois

Esteróis	Estanois
 <p data-bbox="469 667 604 696">Fucosterol</p>	 <p data-bbox="908 958 1362 994">Estigmastanol/Sitosterol/Fucostanol</p>
 <p data-bbox="437 1070 612 1099">Estigmasterol</p>	 <p data-bbox="1051 1397 1219 1426">Campestanol</p>
 <p data-bbox="453 1473 580 1503">Sitosterol</p>	 <p data-bbox="429 1794 588 1827">Campesterol</p>

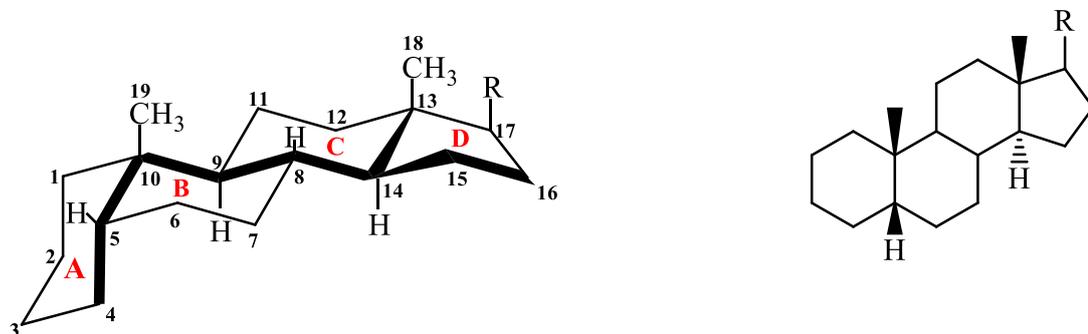
Fonte: o próprio autor.

Esteroides são classificados como  $\alpha$  ou  $\beta$  com relação ao átomo de hidrogênio na posição 5, de acordo com as conformações dos anéis A e B do núcleo ciclopentanoperidrofenantrênico que podem está na sua forma *cis* ou *trans* (Fig. 5). Deste modo, os grupos metilas referentes aos carbonos C-18 e C-19 que estão ligados nos pontos da junção dos anéis A, B e C, D são chamados de grupos metilas angulares, e eles atuam como importantes pontos de referência para as designações estereoquímicas dos esteroides. Os grupos metilas angulares projetam-se para cima do plano geral do sistema de anel e por convenção, outros grupos que se localizam do mesmo lado da molécula que os grupos metila angulares (do lado de cima) são designados substituintes  $\beta$ . Por outro lado, os grupos que se localizam na parte de baixo (são *trans* aos grupos metilas angulares) são designados substituintes  $\alpha$ . Quando as designações  $\alpha$  e  $\beta$  são aplicadas ao átomo de hidrogênio na posição 5, o sistema de anel no qual a junção de anel A,B é *trans* torna-se a série  $5\alpha$ ; o sistema de anel no qual a junção de anel A,B é *cis* torna-se a série  $5\beta$  (SOLOMONS; FRIHLE, 2011). Além disso, na maioria dos esteroides naturais o substituinte no carbono C-3 e a cadeia lateral no C-17 encontram-se na orientação  $\beta$  (GROS *et al.*, 1985).

Figura 5 – Sistemas dos anéis básicos dos esteroides e as conformações  $5\alpha$  e  $5\beta$



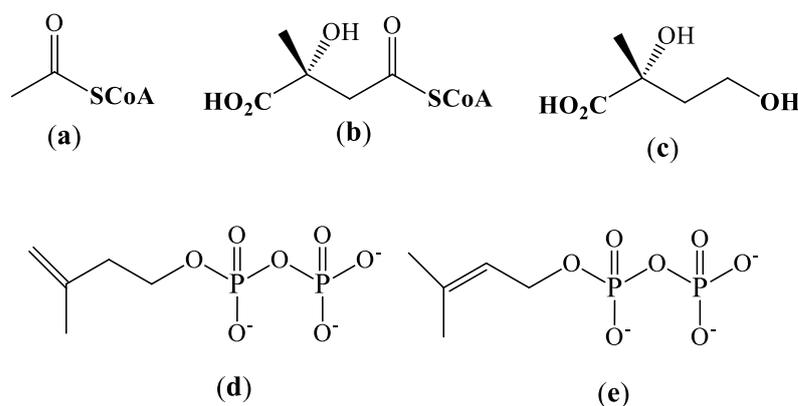
Esteroides  $5\alpha$  (Anéis A,B com fusão *trans*)



Esteroides  $5\beta$  (Anéis A,B com fusão *cis*)

Fonte: adaptado de Solomons e Frihle (2011).

Estes compostos são sintetizados intracelularmente a partir de acetil-CoA (**a**) em uma sequência complexa de reações e com a participação de intermediários tais como  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA (**b**), ácido (3*R*)-mevalônico (**c**) e dois isoprenos ativados: o pirofosfato de 3-metil-3-butenila (**d**) e o pirofosfato de 3-metil-2-butenila (**e**), cujas estruturas estão mostradas abaixo. A condensação de unidades de isopreno produz o esqualeno, que por não ser cíclico acaba sendo ciclizado para formar o anel esteroide juntamente com sua cadeia lateral (SOLOMONS; FRIHLE, 2011).

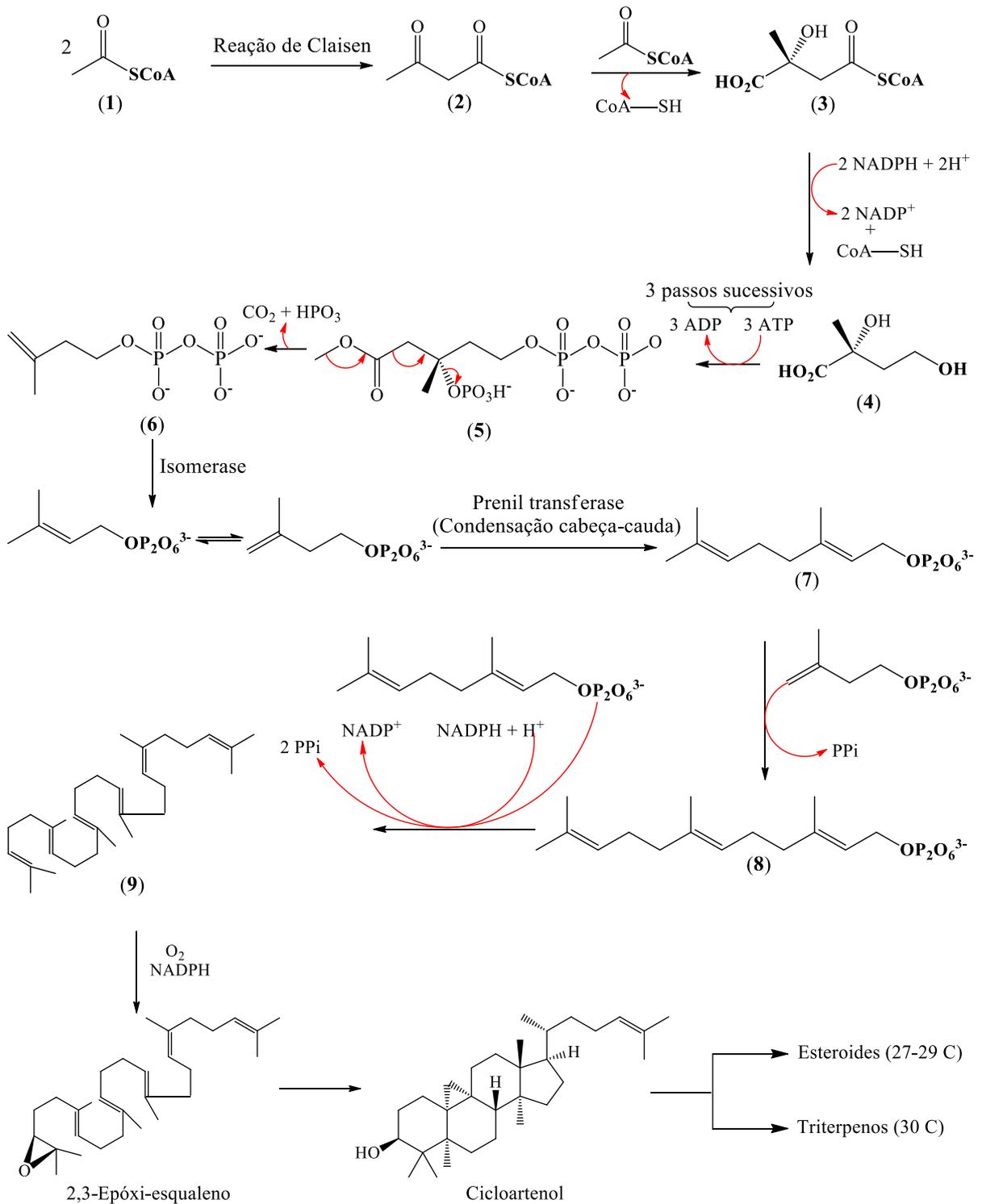


Fonte: o próprio autor.

Deste modo, duas unidades de acetil-CoA (**1**) se combinam por meio de uma condensação de Claisen formando acetoacetil-CoA (**2**) como ilustrado na Figura 6 (pág. 45). Nos passos seguintes, a incorporação de uma terceira unidade de acetil-CoA via uma condensação aldólica estereoespecífica fornece o éster  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metilglutaril-CoA (**3**), que é reduzido a ácido (3*R*)-mevalônico (**4**), sendo este um processo dependente de NADPH. Posteriormente, ocorre a fosforização do ácido mevalônico produzindo o ácido 3-fosfo-5-pirofosfomevalônico (**5**), que por sua vez é descarboxilado, formando o pirofosfato de 3-metil-but-3-enila (**6**). A isomerização do pirofosfato de 3-metil-3-butenila (**6**) com a subsequente condensação cabeça-cauda destas unidades C<sub>5</sub>, por catálise da preniltransferase, forma o pirofosfato de geranila (**7**). O pirofosfato de geranila (**7**), subsequentemente, condensa-se com outro mol de pirofosfato de 3-metil-but-3-enila (**6**) para formar o pirofosfato de farnesila (**8**). Finalmente o pirofosfato de farnesila (**8**), passa por um processo de adição sequencial com outro mol de pirofosfato de farnesila (**8**) por conjugação entre as extremidades superior e inferior (cabeça-cauda), originando o esqualeno (**9**), que é considerado o precursor dos esteroides. A oxidação do esqualeno produz o 2,3-epóxi-esqualeno, o qual sofre uma notável série de ciclizações, formando vários confôrmers, que quando associado a algumas

reações como rearranjo de metila ou de hidrogênios, geram cadeias carbônicas específicas comuns aos triterpenos ( $C_{30}$ ) que leva a formação dos esteroides ( $C_{27}$  a  $C_{29}$ ) (DEWICK, 2009; SOLOMONS; FRIHLE, 2011).

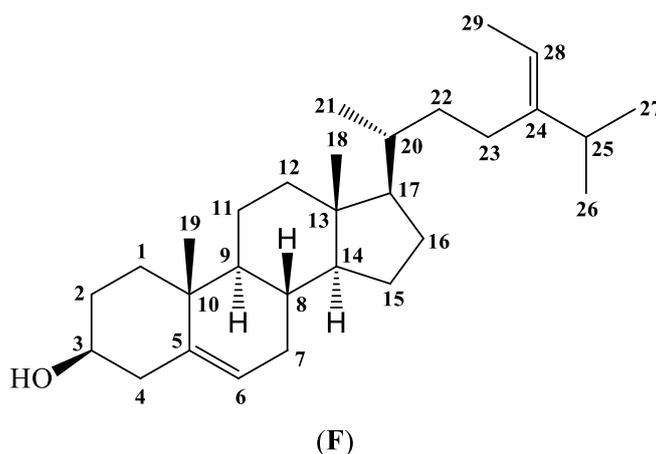
Figura 6 – Esquema da rota biossintética dos esteroides



Fonte: adaptado de Solomons e Frihle (2011).

## 4.2 Fucosterol (F)

Fucosterol (F), cuja estrutura está mostrada abaixo, é um esteroide de nome sistemático  $(3\beta,20R,24E)$ -estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, constituído por 29 átomos de carbono, pertencente ao grupo dos esteróis (álcoois). Apresenta em sua estrutura química uma hidroxila no carbono secundário C-3 e duas insaturações, sendo uma no carbono C-5 e a outra no carbono C-24(28). Dessa forma, tanto as duplas ligações como a hidroxila em C-3 podem ser submetidas a modificações estruturais, levando à obtenção de diferentes derivados. Vale ressaltar que o fucosterol e os esteroides, em geral, também estão sujeitos à oxidação e estes derivados oxigenados representam uma classe de moléculas com funções biológicas diversas, com potencial significativo para aplicações na medicina (BERGSTRÖM; WINTERSTEINER, 1942; KOVGANKO; KASHKAN, 1999; MISHARIN *et al.*, 2008).



Fonte: o próprio autor.

Este esteroide pode ser isolado de algas marinhas verdes e pardas do gênero *Sargassum* (KHANAVI *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2014), encontradas em regiões tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (WOMERSLEY, 2003; GUIRY, 2019). É isolado principalmente a partir das algas marinhas *Pelvetia siliquosa* (LEE *et al.*, 2003; HWANG; LIM; JANG, 2012) e *Lobophora variegata* (ÁVILA *et al.*, 2019), mas também pode ser encontrado em algumas plantas terrestres como *Osmanthus fragrans* *va. aurantiacus* (LEE *et al.*, 2011). Esse esteroide foi isolado pela primeira vez por Heilbron *et al.* (1934) a partir da alga *Fucus vesiculosus*. Posteriormente, foi isolado por Shirahama (1942) da alga *Pelvetia Wrightii*. Na literatura há relatos que o fucosterol (F) exibe diversas atividades

biológicas, tais como atividade antioxidante (LEE *et al.*, 2003), anti-inflamatória (JUNG *et al.*, 2013), antidiabética (LEE *et al.*, 2004), citotóxica (TANG *et al.*, 2002; KHANAVI *et al.*, 2012), antitumoral (JI; JI; YUE, 2014), antifúngica (ATTA-UR-RAHMAN *et al.*, 1997; KUMAR *et al.*, 2010) e antibacteriana (KUMAR *et al.*, 2010).

### 4.3 Derivados do fucosterol (F)

Dos doze derivados semissintéticos do fucosterol (F) obtidos neste trabalho, cinco se encontram descritos na literatura. Vale ressaltar que alguns derivados estão descritos na literatura como produtos naturais isolados de plantas e de algas, enquanto outros foram obtidos via derivatização química. A ferramenta *SciFinder*® foi utilizada como base de dados para coletar informações sobre os registros descritos na literatura. Esses derivados e suas estruturas químicas, juntamente com algumas atividades biológicas, estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

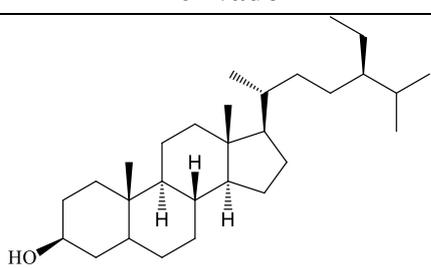
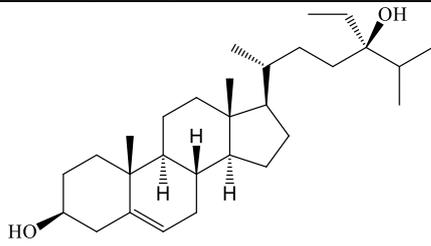
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>3β-Estigmastan-3-ol<sup>1,2</sup></p>	Anti-hipercolesterolemia	(COFFEY; HEILBRON; SPRING, 1936) <sup>1</sup> (RAMJIGANESH <i>et al.</i> , 2001) <sup>2</sup> (ONGOKA <i>et al.</i> , 2008) <sup>2</sup>
 <p>3β-Estigmast-5-eno-24-diol<sup>1</sup></p>	–	(NICOTRA <i>et al.</i> , 1979) <sup>1</sup>

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

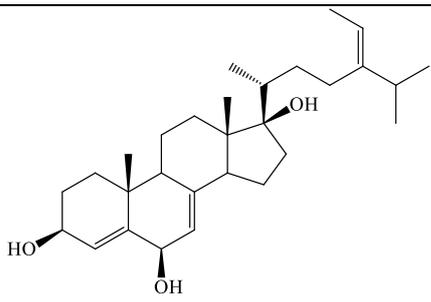
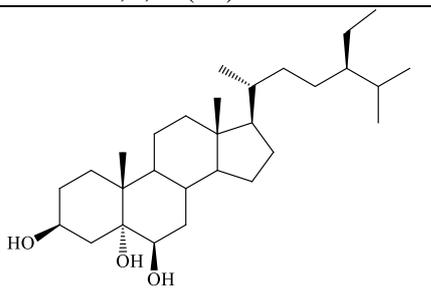
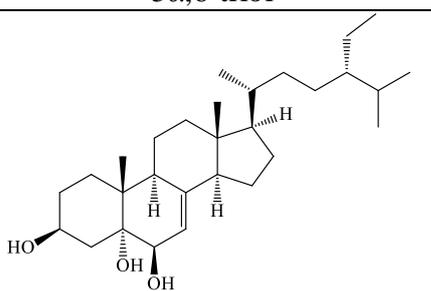
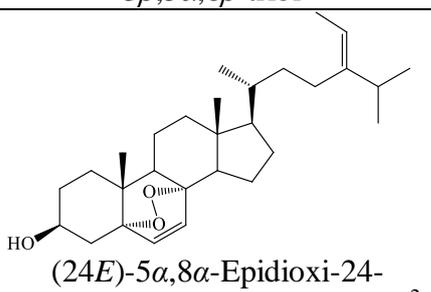
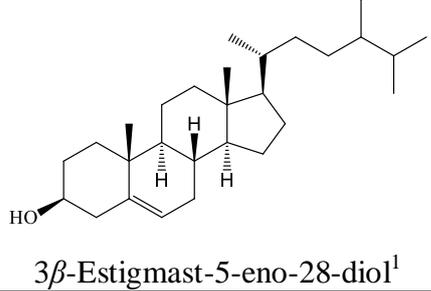
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>3,6,17-Tri-hidroxi-estigmasta-4,7,24(28)-trieno<sup>2</sup></p>	Atividade antibacteriana e antifúngica	(KUMAR <i>et al.</i> , 2010) <sup>2</sup>
 <p>(24<i>R</i>)-24-Etil-5α-colestano-3β,5α,6-triol<sup>2</sup></p>	–	(LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup>
 <p>(24<i>S</i>)-Etilcolesterol-7-eno-3β,5α,6β-triol<sup>2</sup></p>	–	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(24<i>E</i>)-5α,8α-Epidioxi-24-etilcolesta-6,24(28)-dien-3β-ol<sup>2</sup></p>	–	(IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>
 <p>3β-Estigmast-5-eno-28-diol<sup>1</sup></p>	–	(NICOTRA <i>et al.</i> , 1979) <sup>1</sup>

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

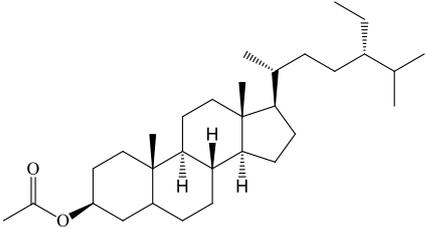
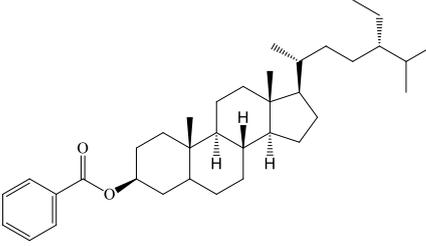
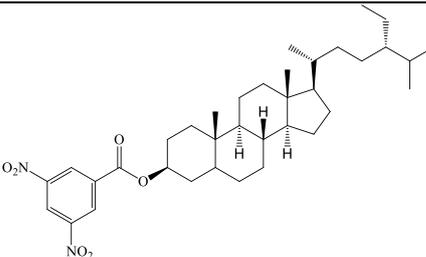
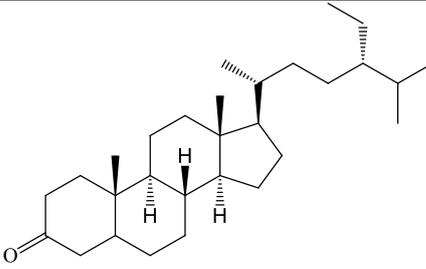
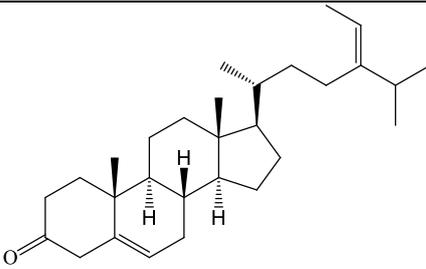
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>Acetato de fucostanol<sup>1</sup></p>	–	(COFFEY; HEILBRON; SPRING, 1936) <sup>1</sup>
 <p>Benzoato de fucostanol<sup>1</sup></p>	–	(COFFEY; HEILBRON; SPRING, 1936) <sup>1</sup>
 <p>3,5-Dinitrobenzoato de fucostanol<sup>1</sup></p>	–	(COFFEY; HEILBRON; SPRING, 1936) <sup>1</sup>
 <p>24-Etil-5<math>\alpha</math>-coleston-3-ona<sup>1,2</sup></p>	–	(COFFEY; HEILBRON; SPRING, 1936) <sup>1</sup> (HEILBRON; PHIPERS; WRIGHT, 1934) <sup>1</sup> (SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
 <p>Fucostenona<sup>1</sup></p>	–	(HEY; HONEYMAN; PEAL, 1950) <sup>1</sup>

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

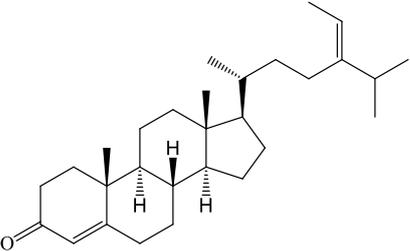
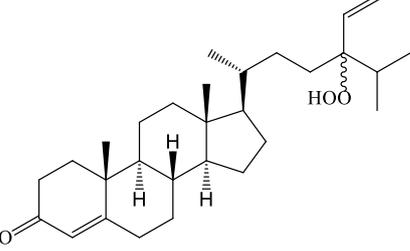
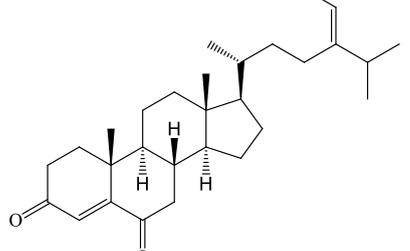
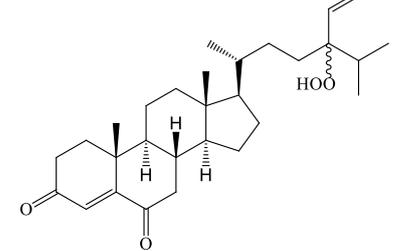
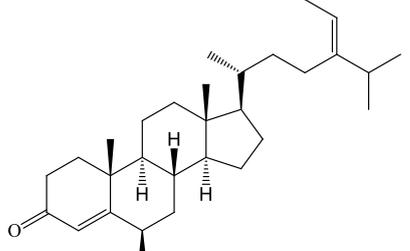
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>24-Etilcolesta-4,24(28)-dien-3-ona<sup>2</sup></p>	-	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>24-Hidroperóxido-24-etilcolesta-4,28(29)-dien-3-ona<sup>2</sup></p>	-	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>24-Etilcolesta-4,24(28)-dieno-3,6-diona<sup>2</sup></p>	Atividade citotóxica	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup> (CHANG <i>et al.</i> , 2003) <sup>2</sup> (LEE <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
 <p>24-Hidroperóxido-24-etilcolesta-4,28(29)-dieno-3,6-diona<sup>2</sup></p>	Atividade citotóxica	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>6β-Hidroxi-24-etilcolesta-4,24(28)-dien-3-ona<sup>2</sup></p>	Atividade citotóxica	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

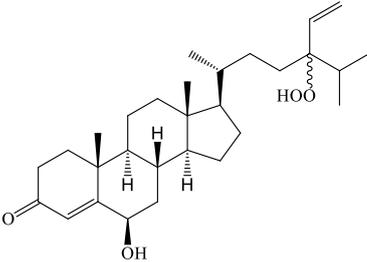
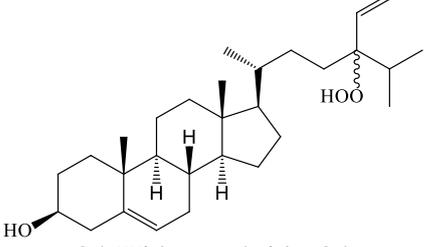
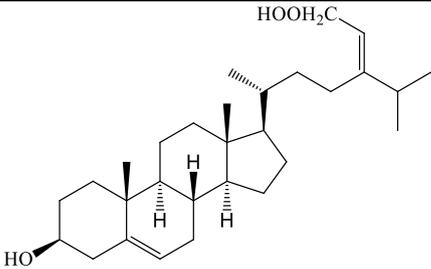
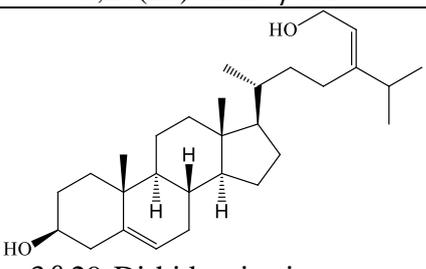
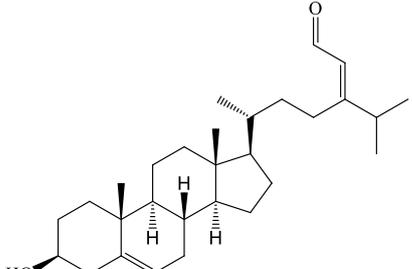
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>24-Hidroperóxido-6<math>\beta</math>-hidroxi-24-etilcolesta-4,28(29)-dien-3-ona<sup>2</sup></p>	Atividade citotóxica	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>24-Hidroperóxido-24-vinilcolesterol<sup>2</sup></p>	–	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>29-Hidroperóxidoestigmasta-5,24(28)-dien-3<math>\beta</math>-ol<sup>2</sup></p>	–	(SHEU <i>et al.</i> , 1999) <sup>2</sup>
 <p>3<math>\beta</math>,29-Di-hidroxiestigmasta-5,24(28)<i>E</i>-dieno<sup>1</sup></p>	–	(BARROW; MCMORRIS, 1982) <sup>1</sup>
 <p>3<math>\beta</math>-Hidroxiestigmasta-5,24(28)-dien-29-aldeído<sup>1</sup></p>	–	(BARROW; MCMORRIS, 1982) <sup>1</sup>

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

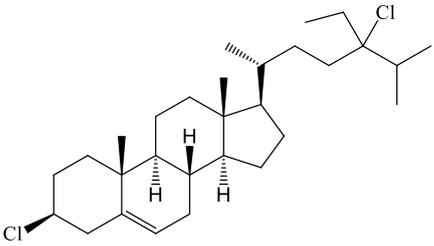
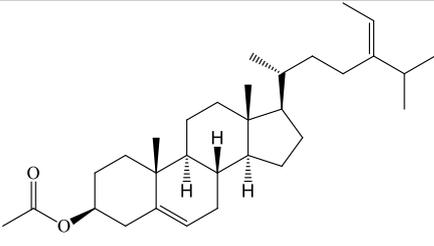
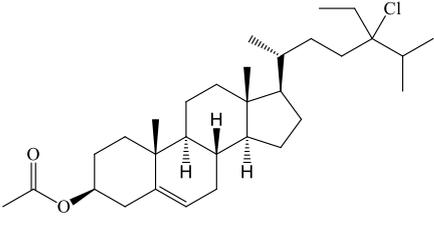
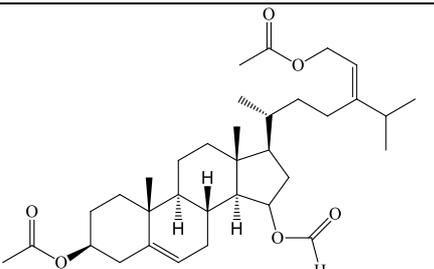
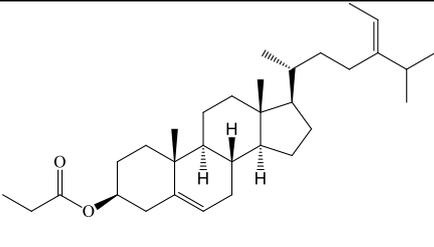
Derivado	Atividade biológica	Referência
	—	HEY; HONEYMAN; PEAL, 1952) <sup>1</sup>
3,24-Diclorofucost-5-eno <sup>1</sup>		(SHIRAHAMA, 1942) <sup>1</sup>
	—	(HEY; HONEYMAN; PEAL, 1950) <sup>1</sup>  (TSUDA <i>et al.</i> , 1958) <sup>1</sup>
Acetato de fucosterol <sup>1</sup>		
	—	(HEY; HONEYMAN; PEAL, 1952) <sup>1</sup>
Acetato de 24-clorofucost-5-enila <sup>1</sup>		
	—	(LIU; STUHMILLER; MCMORRIS, 1988) <sup>1</sup>
15 $\beta$ -Formiato-3- $\beta$ ,29 diacetatofucosterol <sup>1</sup>		
	—	(SHIRAHAMA, 1942) <sup>1</sup>  (HEILBRON; PHIPERS; WRIGHT, 1934) <sup>1</sup>
Propanoato de fucosterol <sup>1</sup>		

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

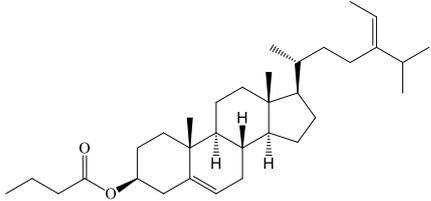
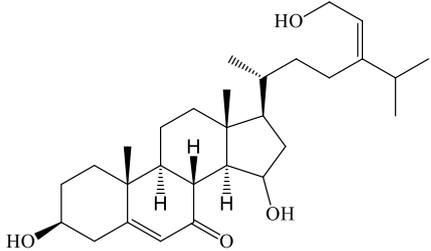
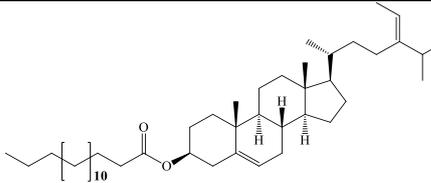
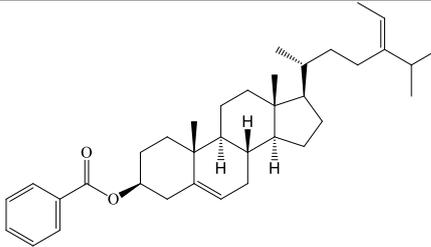
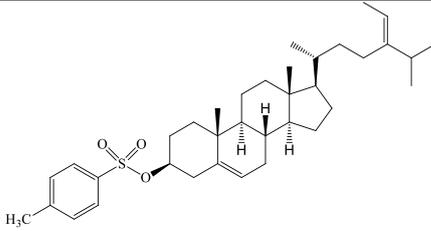
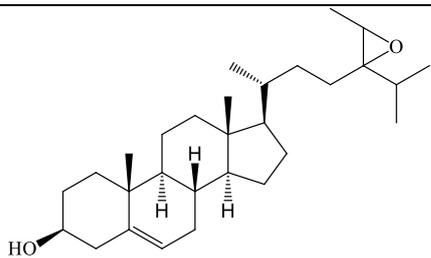
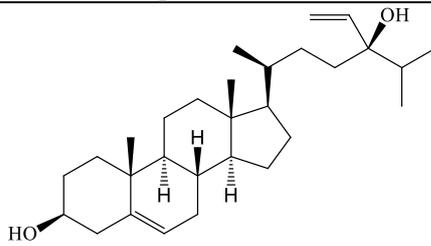
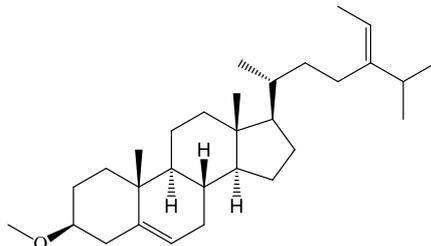
Derivado	Atividade biológica	Referência
	—	(BRUMLEY <i>et al.</i> , 1985) <sup>2</sup>
Butanoato de fucosterol <sup>2</sup>		
	—	(LIU; STUHMILLER; MCMORRIS, 1988) <sup>1</sup>
15β,29-Di-hidroxi-7-oxofucosterol <sup>1</sup>		
	—	(KNAPP; NICHOLAS, 1970) <sup>1</sup>
Palmitato de fucosterol <sup>1</sup>		
	—	(HEILBRON; PHIPERS; WRIGHT, 1934) <sup>1</sup> ; (SHIRAHAMA, 1942) (TSUDA <i>et al.</i> , 1958) <sup>1</sup>
Benzoato de fucosterol <sup>1</sup>		
	—	HEY; HONEYMAN; PEAL, 1950) <sup>1</sup>
<i>p</i> -Toluenossulfonato de fucosterol <sup>1</sup>		

Tabela 2 – Derivados do fucosterol e atividades biológicas de alguns derivados *Conclusão*

Derivado	Atividade biológica	Referência
 24,28-Epóxi-fucosterol <sup>1,2</sup>	Atividade antiproliferativa	(FUJIMOTO; MORISAKI; IKEKAWA, 1980) <sup>1</sup> (PRESTWICH <i>et al.</i> , 1985) <sup>1</sup> (HUH <i>et al.</i> , 2012) <sup>2</sup>
 24R-Saringosterol <sup>2</sup>	Atividade antiproliferativa	(HUH <i>et al.</i> , 2012) <sup>2</sup>
 Éter metílico de fucosterol <sup>1</sup>	—	HEY; HONEYMAN; PEAL, 1950) <sup>1</sup> (HEY; HONEYMAN; PEAL, 1952) <sup>1</sup>

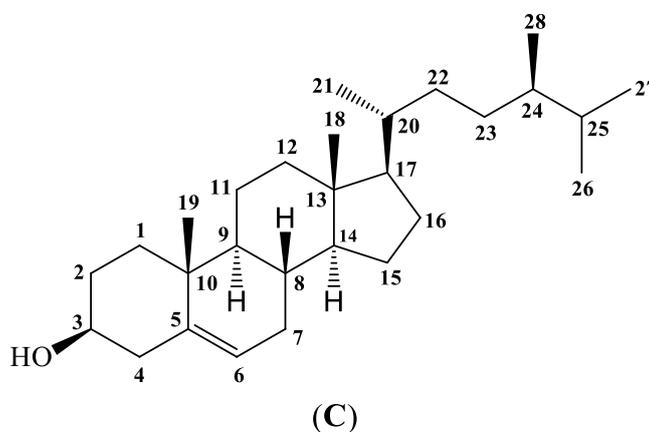
Fonte: o próprio autor.

**1**-Derivado semissintético, **2**-Derivado natural.

Desta forma, os derivados do fucosterol (**F**) denominados (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoatoestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**), (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**) e (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**) são inéditos.

#### 4.4 Campesterol (C)

Campesterol (C), cuja estrutura está apresentada abaixo, é um esteroide tetracíclico de esqueleto ergostano contendo uma ligação dupla no carbono C-5, de nomenclatura sistemática (3 $\beta$ ,20R,24R)-ergost-5-en-3-ol, constituído por 28 átomos de carbono, pertencente ao grupo dos esteróis, possuindo uma hidroxila no carbono C-3. Diferencia-se do fucosterol (F) pela ausência de uma ligação dupla e um grupo etila ligado ao carbono C-24. Devido à presença da instauração no carbono C-5, campesterol, assim como outros esteroides com estruturas similares, pode ser oxidado pelo aumento de temperatura, ação da luz, radicais livres ou catalisadores químicos originando produtos que possuem vários grupos funcionais (poli-hidroxi, ceto e epóxi), tais como os 5,6-époxi; 5,6-hidroxi; 7-ceto; 7-hidroxisitosterol (McCARTHY *et al.*, 2005; MISHARIN *et al.*, 2008). Vale ressaltar que esses derivados podem ser encontrados em vegetais ou sintetizados, apresentando propriedades biológicas bem interessantes, tais como atividade citotóxica e antioxidante (RYAN *et al.*, 2005).



Fonte: o próprio autor.

Este composto (C) pode ser isolado de zoantídeos do gênero *Palythoa*, tais como *P. tuberculosa* (GUPTA; SCHEUER, 1969), *P. senegalensis*, *P. dartavellei*, *P. Monodi*, (DIOP *et al.*, 1986), *P. caribaeorum* e *P. variabilis*, encontrados em abundância no litoral cearense (PINTO *et al.*, 2017). Esse esteroide foi isolado pela primeira vez a partir do óleo de colza (*Brassica campestris* L.) e por esse motivo possui o nome de campesterol (C) (FERNHOLZ; MACPHILLAMY, 1941). Yoshida e Niki (2003) relataram o efeito antioxidante do campesterol (C) contra a peroxidação lipídica. Além disso, Zhu *et al.* (2016) mostraram que campesterol exibe efeito citotóxico significativo sobre a linhagem celular

HCT-116 apresentando valores de  $CI_{50}$  de 45,5, 32,2 e 22,4  $\mu\text{M}$  em intervalos de tempo de 24, 48 e 72 h, respectivamente. Vale ressaltar que estudos revelaram a atividade anti-inflamatória (CONFORTI *et. al.*, 2009; ZHANG *et. al.*, 2017), antibacteriana e antioxidante (KHATRI *et. al.*, 2016) de extratos vegetais contendo campesterol (C) como um dos seus principais constituintes.

#### 4.5 Derivados do campesterol (C)

Com relação aos doze derivados semissintéticos do campesterol (C) obtidos neste trabalho, oito já estão descritos na literatura. A ferramenta *SciFinder*® foi utilizada como base de dados para coletar informações sobre os registros na literatura dos derivados do campesterol. De acordo com a pesquisa realizada, verificou-se que dentre os derivados mencionados uns são semissintéticos e outros são naturais, isolados de plantas ou de algas marinhas e alguns tiveram suas atividades biológicas avaliadas. Na Tabela 3 estão listados esses derivados juntamente com suas estruturas químicas e algumas atividades biológicas.

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

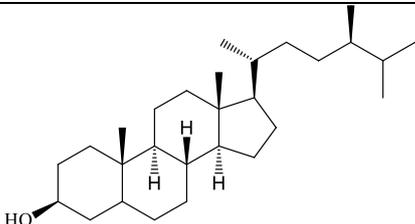
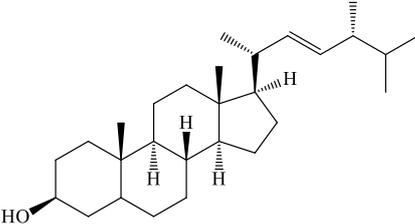
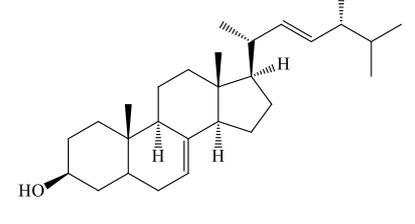
Derivado	Atividade biológica	Referência
 Campestanol <sup>2</sup>	-	(SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
 (24S)-Ergosta-7-en-3β-ol <sup>2</sup>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 (22E,24R)-Ergosta-7,22-dieno-3-ol <sup>2</sup>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

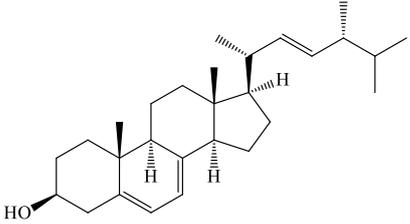
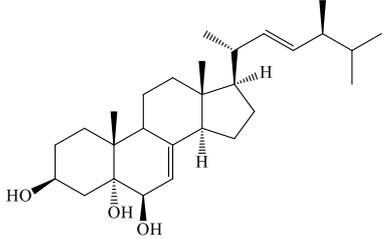
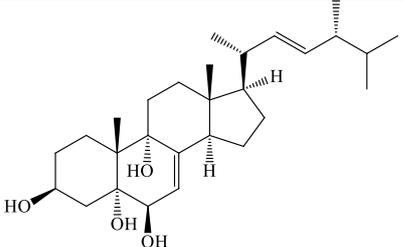
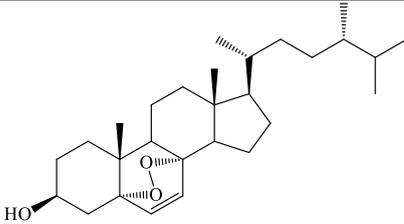
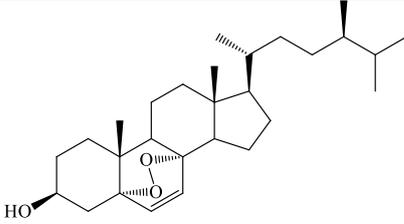
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>(22<i>E</i>,4<i>R</i>)-Ergosta-5,7,22-trien-3β-ol<sup>2</sup></p>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(22<i>E</i>,24<i>R</i>)-Ergosta-7,22-dien-3β,5α,6β-triol<sup>2</sup></p>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(22<i>E</i>,24<i>R</i>)-Ergosta-7,22-dieno-3β,5α,6β,9α-tetrol<sup>2</sup></p>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(24<i>R</i>)-5α,8α-Epidioxiergosta-6-en-3β-ol<sup>2</sup></p>	-	(BENSEMHOUN <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup> (LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup>
 <p>5α,8α-Epidioxi-24(<i>R</i>)metilcolest-6-en-3β-ol<sup>2</sup></p>	-	(BENSEMHOUN <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup> (IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

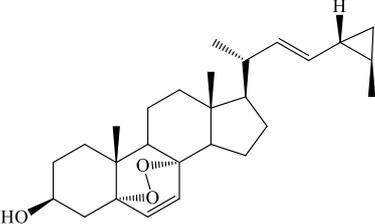
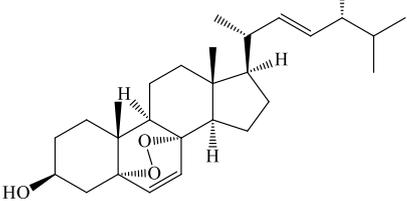
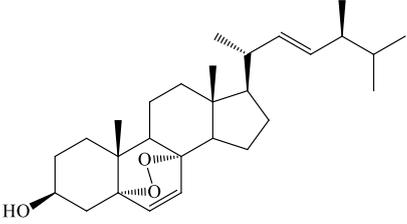
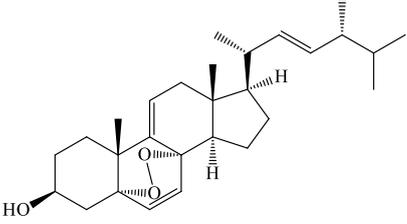
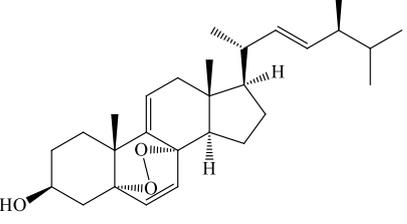
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>(22<i>E</i>,24<i>R</i>,25<i>R</i>)-5α,8α-Epidioxi-24,26-ciclo-colesta-6,22-dien-3β-ol<sup>2</sup></p>	Atividade antiproliferativa	(IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>
 <p>5α,8α-Epidioxi(22<i>E</i>,24<i>R</i>)-ergosta-6,22-dien-3β-ol<sup>2</sup></p>	–	(LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup> (YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(22<i>E</i>,24<i>S</i>)-5α,8α-Epidioxi-24-metil-colesta-6,22-dien-3β-ol<sup>2</sup></p>	–	(IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>
 <p>5α,8α-Epidioxi(22<i>E</i>,24<i>R</i>)-ergosta-6,9(11),22-trien-3β-ol<sup>2</sup></p>	–	(LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup> (YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>(22<i>E</i>,24<i>S</i>)-5α,8α-Epidioxi-24-metilcolesta-6,9(11),22-trien-3β-ol<sup>2</sup></p>	–	(IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

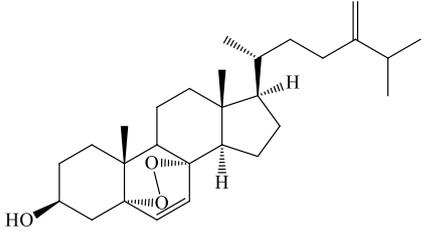
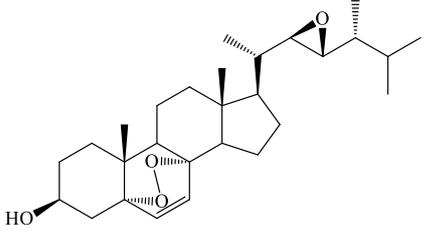
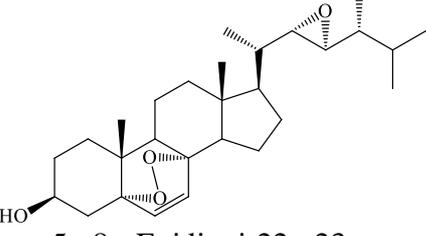
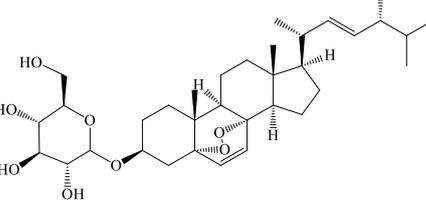
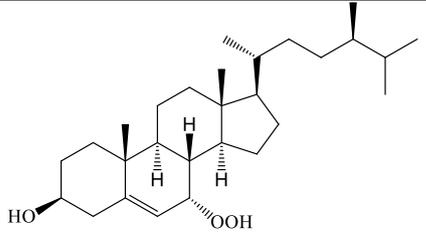
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>5<math>\alpha</math>,8<math>\alpha</math>-Epidioxi-24-metilcolesta-6,24(28)-dien-3<math>\beta</math>-ol<sup>2</sup></p>	-	(IOANNOU <i>et al.</i> , 2009) <sup>2</sup>
 <p>5<math>\alpha</math>,8<math>\alpha</math>-Epidioxi-22<math>\beta</math>,23<math>\beta</math>-epoxi ergosta-6-en-3<math>\beta</math>-ol<sup>2</sup></p>	Atividade antibacteriana	(LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup>
 <p>5<math>\alpha</math>,8<math>\alpha</math>-Epidioxi-22<math>\alpha</math>,23<math>\alpha</math>-epoxi ergosta-6-en-3<math>\beta</math>-ol<sup>2</sup></p>	Atividade antibacteriana	(LI; MIAO; JI, 2011) <sup>2</sup>
 <p>3<math>\beta</math>-O-glucopiranosil-5<math>\alpha</math>,8<math>\alpha</math>-epidioxi-(22<math>E</math>,24<math>R</math>)-ergosta-6,22-dieno<sup>2</sup></p>	-	(YANG <i>et al.</i> , 2018) <sup>2</sup>
 <p>24(<math>R</math>)-7<math>\alpha</math>-Hidroperoxi-ergost-5-en-3<math>\beta</math>-ol<sup>2</sup></p>	-	(PINTO <i>et al.</i> , 2017) <sup>2</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

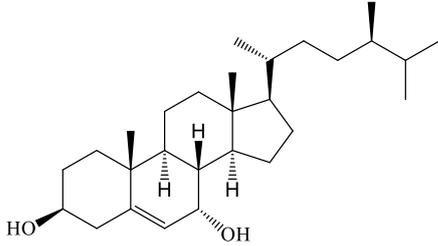
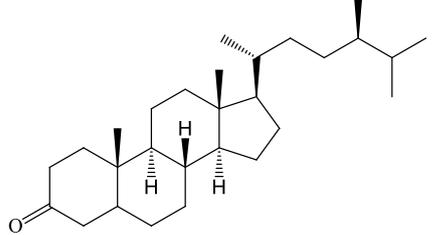
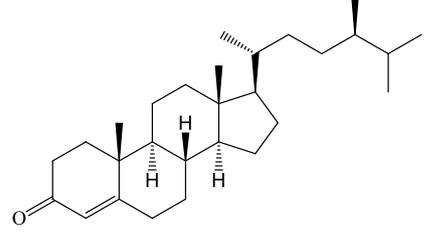
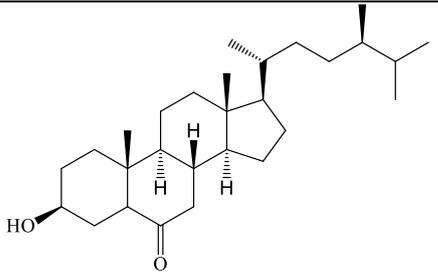
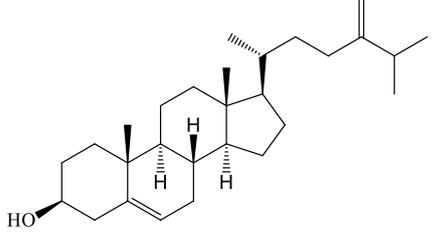
Derivado	Atividade biológica	Referência
	-	(PINTO <i>et al.</i> , 2017) <sup>2</sup>
7α-Hidroxicampesterol <sup>2</sup>		
	-	(SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
24-Metil-5α-colestan-3-ona <sup>2</sup>		
	-	(SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
24-Metilcolest-4-en-3-ona <sup>2</sup>		
	-	(SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
6-Oxo-campesterol <sup>2</sup>		
	-	(SCHRICK <i>et al.</i> , 2011) <sup>2</sup>
24-Metilenocolesterol <sup>2</sup>		

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

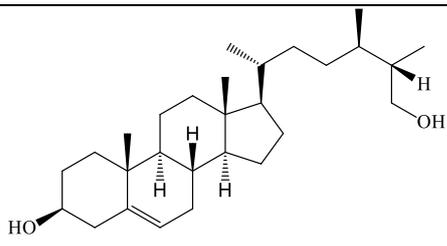
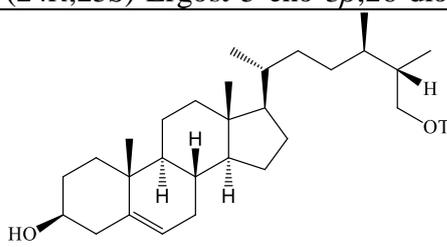
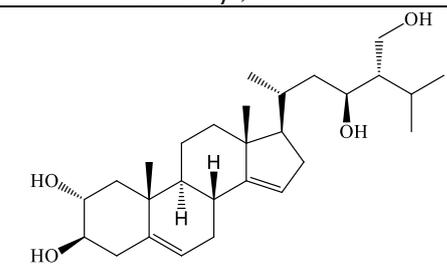
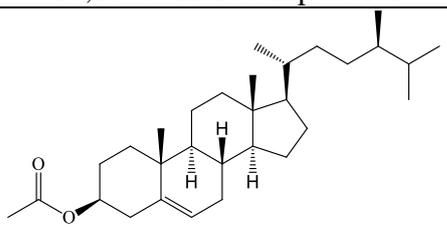
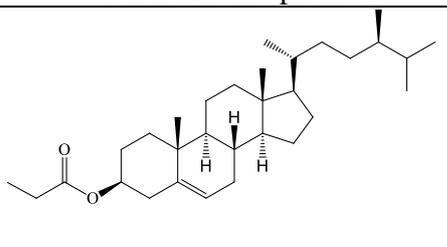
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>(24R,25S)-Ergost-5-eno-3β,26-diol<sup>2</sup></p>	-	(YOKOSUKA <i>et al.</i> , 2005) <sup>1,2</sup>
 <p>26-O-tosilato de (24R,25S)-ergost-5-eno-3β,26-diol<sup>1</sup></p>	-	(YOKOSUKA <i>et al.</i> , 2005) <sup>1,2</sup>
 <p>(23R)-2α,3β,23,28-Tetra-hidroxi-14,15-de-hidrocampesterol<sup>2*</sup></p>	Atividade citotóxica e anti-inflamatória	(MORENO-ANZÚREZ <i>et al.</i> , 2017) <sup>2*</sup>
 <p>Acetato de campesterol<sup>1</sup></p>	-	(FERNHOLZ; MACPHILLAMY, 1941) <sup>1</sup>
 <p>Propanoato de campesterol<sup>2</sup></p>	-	(HIERMANN; MAYR, 1986) <sup>2</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

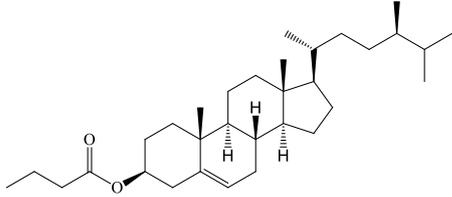
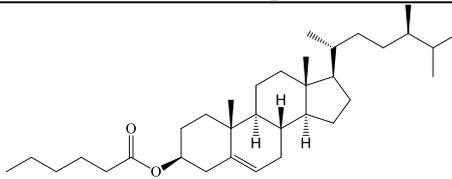
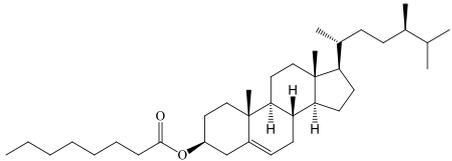
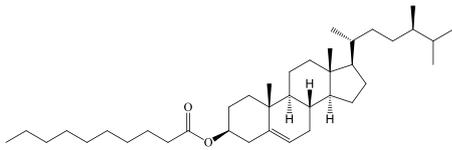
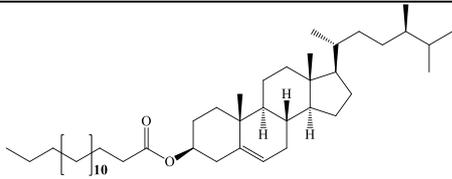
Derivado	Atividade biológica	Referência
	-	(BRUMLEY <i>et al.</i> , 1985) <sup>2</sup>
Butirato de campesterol <sup>2</sup>		
	-	(HIERMANN; MAYR, 1986) <sup>2</sup>
Hexanoato de campesterol <sup>2</sup>		
	-	(HIERMANN; MAYR, 1986) <sup>2</sup>
Octanoato de campesterol <sup>2</sup>		
	-	(HIERMANN; MAYR, 1986) <sup>2</sup>
Decanoato de campesterol <sup>2</sup>		
	-	(HIERMANN; MAYR, 1986) <sup>2</sup>
Palmitato de campesterol <sup>2</sup>		

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

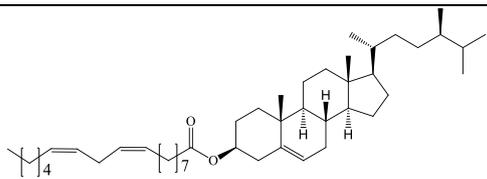
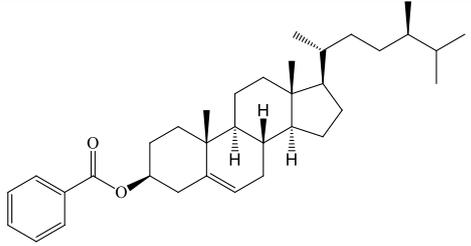
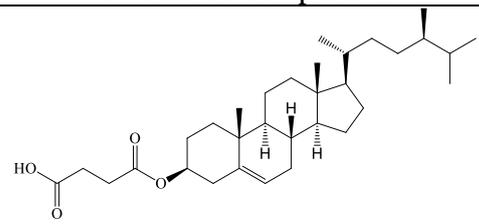
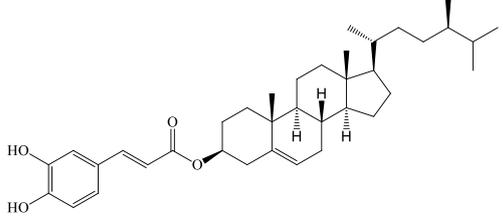
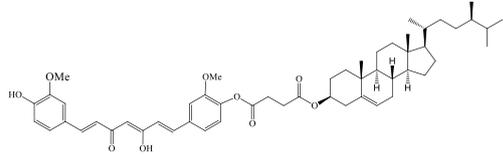
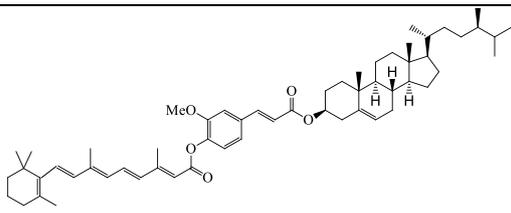
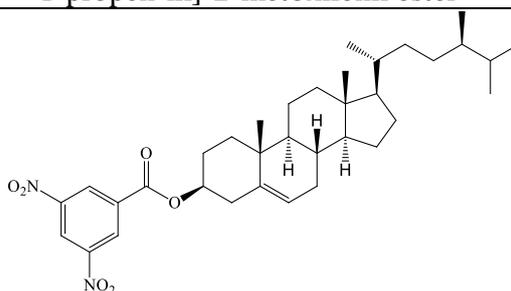
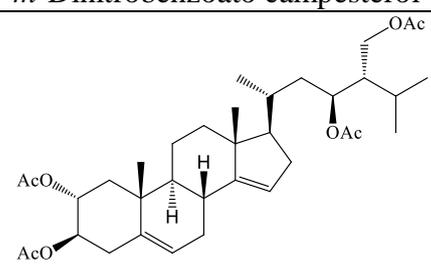
Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>(3β,24R)-Ergost-5-en-3-ol,3-[(9Z,12Z)-9,12-octadecadienoato]<sup>1</sup></p>	Atividade antiproliferativa	(LESMA <i>et al.</i> , 2018) <sup>1</sup>
 <p>Benzoato de campesterol<sup>1</sup></p>	–	(FERNHOLZ; MACPHILLAMY, 1941) <sup>1</sup>
 <p>Succinato de campesterol<sup>1</sup></p>	–	(LESMA <i>et al.</i> , 2018) <sup>1</sup>
 <p>3-(3,4-Di-hidroxi-fenil)-2-propenoato de (3β,24R)-Ergost-5-en-3-ol<sup>1</sup></p>	Atividade antioxidante	(LESMA <i>et al.</i> , 2018) <sup>1</sup>
 <p>(3β,24R)-Ergost-5-en-3-ol,3-[4-[(1E,3Z,6E)-3-hidroxi-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-5-oxo-1,3,6-heptatrieno-il]-2-metoxifenilbutanodioato]<sup>1</sup></p>	Atividade antioxidante	(LESMA <i>et al.</i> , 2018) <sup>1</sup>

Tabela 3 – Derivados do campesterol e atividades biológicas de alguns derivados *Continua*

Derivado	Atividade biológica	Referência
 <p>Éster de ácido retinoico 4-[(1E)-3-[(3β,24R)-ergost-5-en-3-iloxi]-3-oxo-1-propen-1-yl]-2-metoxifenil éster<sup>1</sup></p>	Atividade antiproliferativa	(LESMA <i>et al.</i> , 2018) <sup>1</sup>
 <p><i>m</i>-Dinitrobenzoato campesterol<sup>1</sup></p>	–	(FERNHOLZ; MACPHILLAMY, 1941) <sup>1</sup>
 <p>(23R)-2α,3β,23,28-Tetraacetil-14,15-de-hidrocampesterol<sup>2</sup></p>	–	(MORENO-ANZÚREZ <i>et al.</i> , 2017) <sup>2</sup>

Fonte: o próprio autor.

1-Derivado semissintético, 2-Derivado natural, \*Constituinte majoritário.

Sendo assim, os derivados do campesterol (C) nomeados (3β,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7), (3β,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8), (3β,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9) e (3β,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11) estão sendo descritos pela primeira na literatura.

## 4.6 Atividades biológicas

### 4.6.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Os mosquitos são os principais vetores de doenças infecciosas e as doenças transmitidas por mosquitos vetores podem causar grande morbidade e mortalidade, podendo, desta forma representar, uma importante carga econômica nos países afetados por estas doenças (PAVELA, 2015).

Dentre as mais diferentes espécies de mosquitos destaca-se o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) que é a espécie mais importante na transmissão da dengue, da doença aguda pelo vírus Zika, da febre Chikungunya e também pode ser transmissora da febre amarela urbana (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Recentemente, nota-se uma grande dificuldade em erradicar as doenças causadas pelo *Aedes aegypti*, e, portanto, uma das estratégias de controlar as doenças transmitidas por este mosquito, consiste basicamente no controle efetivo do vetor (ZARA *et al.*, 2016). Há diversas alternativas de controle, porém, uma das mais eficientes e adequadas à realidade local, é o tratamento sistemático dos locais de reprodução por meio de larvicidas (COSTA *et al.*, 2011).

Larvicidas e/ou inseticidas sintéticos, tais como organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretroides são bastante usados nos programas de controle de doenças transmitidas por vetores e na eliminação das larvas do *Aedes aegypti* (WALIWIYIYA; KENNEDY; LOWENBERGER, 2009). No entanto, seu uso continuado provoca o surgimento de populações de *A. aegypti* resistentes aos larvicidas e/ou inseticidas, ocasionando também problemas para o controle de vetores como, por exemplo, a falta de seletividade e a toxicidade em relação a outros organismos e ao meio ambiente (MELO-SANTOS *et al.*, 2010; POLSON *et al.*, 2011; SMITH; KASAI; SCOTT, 2016; HAMID *et al.*, 2017).

Com o surgimento de formas resistentes do mosquito aos inseticidas sintéticos cresce a procura por produtos naturais que sejam efetivos no combate ao mosquito adulto e/ou às larvas de *Aedes aegypti* e que sejam isentos de toxicidade para o meio ambiente. Relatos na literatura mostram que alguns produtos naturais de origem vegetal, tais como extratos vegetais, óleos essenciais e constituintes químicos isolados destes têm ação específica sobre o vetor e não causam impacto ao meio ambiente (GÓIS *et al.*, 2013; BEZERRA-SILVA *et al.*, 2015; UNNITHAN; UNNIKRISSHANNAN, 2015; DA SILVA *et al.*, 2016; KIM; LEE, 2016;

MENDES *et al.*, 2017; TOURE *et al.*, 2017; ALI; GOPALAKRISHNAN; VENKATESALU, 2018; KANIS *et al.*, 2018; MAR *et al.*, 2018; VORIS *et al.*, 2018).

#### **4.6.2 Atividade citotóxica**

O atual conhecimento sobre o câncer tem facilitado o desenvolvimento de novos agentes anticancerígenos. No entanto, o câncer ainda é um problema de saúde pública, principalmente entre os países em desenvolvimento, onde se estima que, nas próximas décadas, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025 (SCHILITZH *et al.*, 2015).

Vale salientar que o câncer é a segunda principal causa de óbito em todo o mundo, sendo responsável por cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018. Globalmente, cerca de uma em cada seis mortes é devida ao câncer e aproximadamente 70% dessas mortes ocorrem em países de baixa e média renda (WHO, 2018). Deste modo, o tratamento do câncer torna-se um desafio. Assim, o desenvolvimento de novos medicamentos com a finalidade de aumentar a sobrevida de pacientes com essa doença é um processo crucial (PENNA; HENRIQUE; BONATTO, 2017).

Sabe-se que os produtos naturais oriundos de plantas, de algas e de organismos marinhos tem papel fundamental na terapia do câncer (SUN *et al.*, 2016). O ambiente marinho é caracterizado por uma enorme diversidade de organismos, proporcionando uma ampla gama de novos compostos que possam ser utilizados contra o câncer, apresentando, ainda, atividades, biodisponibilidades e toxicidades adequadas (LICHOTA; GWOZDZINSKI, 2018).

Vale lembrar que nos anos de 1981 a 2014, do total de 174 fármacos aprovados e utilizados no tratamento dos diferentes tipos de câncer, somente 17% foram classificados como fármacos sintéticos e 83% eram produtos naturais ou derivados deles (NEWMAN; CRAGG, 2016). Sendo assim, a busca por novos compostos naturais para o tratamento desta doença tem sido objeto de estudo por químicos de produtos naturais (YESSOUFOU *et al.*, 2015; DE SOUSA *et al.*, 2016; PAULA *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2016; WANG; XUAN, 2016; LICHOTA; GWOZDZINSKI, 2018; MITRA; DASH, 2018; PAIER *et al.*, 2018).

#### 4.6.3 Atividade antibacteriana

Mesmo com avanço da medicina, as doenças infecciosas causadas por bactérias, vírus, fungos e parasitas ainda se tornam uma grande ameaça à saúde pública (BERLINGUER, 1999; ROLAIN *et al.*, 2016; SOMMER *et al.*, 2017; SAMPAIO; SANCHO; LAGO, 2018). Vale ressaltar que desde a descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928, a utilização indiscriminada e excessiva dos antibióticos trouxe diversas consequências para a terapêutica (LANDERS *et al.*, 2012).

Deste modo, o uso descontrolado de antibacterianos tornou-se um perigo para a saúde humana, principalmente por contribuir com o desenvolvimento de linhagens bacterianas resistentes, em resposta à evolução e à intensa pressão seletiva resultante da exposição a essas substâncias. O aparecimento de cepas com resistência múltipla aos antimicrobianos conhecidos tem estimulado a busca por novos compostos naturais que possuam, simultaneamente, características de elevada eficiência e baixa nocividade (DE SOUSA, 2017).

O aumento do fluxo de informações pode contribuir para melhorar este quadro de resistência bacteriana, além da intensificação de estudos voltados para descoberta de novas substâncias com atividade biológica (LOUREIRO *et al.*, 2016). Para contornar essa situação, torna-se necessária a busca por novos agentes antimicrobianos que possam ser utilizados no tratamento de diversas enfermidades causadas por microrganismos resistentes às terapias convencionais empregadas (LUEPKE *et al.*, 2017; PESSIN; TAVARES; GRADELLA, 2018).

Como consequência da crescente demanda por produtos naturais bioativos, ocorre, atualmente, um maior interesse em organismos marinhos, especialmente em algas. Os organismos marinhos são fontes ricas de metabólitos biologicamente ativos, produzindo compostos que podem ser de interesse da indústria farmacêutica (MOUBAYED *et al.*, 2017; RAMACHANDRAN *et al.*, 2018). Estudos relataram excelente atividade antibacteriana do extrato etanólico de duas espécies de algas marinhas: *Laurencia catarinensis* e *Padina pavonica* (AL-ENAZI *et al.*, 2018). Além disso, substâncias isoladas de algas marinhas com potencial farmacológico vêm sendo estudadas como alternativa aos antimicrobianos sintéticos. Outros estudos realizados em diferentes espécies de algas marinhas apresentaram compostos com propriedades antibacterianas satisfatórias (MACHADO *et al.*, 2014; BAJPAI, 2016; PÉREZ; FALQUÉ; DOMÍNGUEZ, 2016; SHANNON; ABU-GHANNAM, 2016; DAYUTI, 2018; KARTHICK; MOHANRAJU, 2018).

## 5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 5.1 Métodos espectroscópicos

#### 5.1.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN/UFC), utilizando-se Espectrômetros®, modelos Avance DPX-300 e DRX-500, operando nas frequências de 300 e 500 MHz para hidrogênio, e de 75 e 125 MHz para carbono-13, respectivamente. As constantes de acoplamento ( $J$ ) são indicadas em Hertz (Hz). As multiplicidades são indicadas como: simpleto ( $s$ ), duplete ( $d$ ), tripleto ( $t$ ), quarteto ( $q$ ), multiplete ( $m$ ), duplete de duplete ( $dd$ ) e tripleto de tripleto ( $tt$ ).

As técnicas APT (*Attached Proton Test*) e DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), foram utilizadas na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN de  $^{13}\text{C}$  com ângulo de nutação ( $\Theta$ ) de  $135^\circ$  com CH e CH<sub>3</sub> com amplitude em oposição aos CH<sub>2</sub>.

#### 5.1.2 Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, usando aparelho Shimadzu, modelo CG-MS QP 2010 SE, equipado com a coluna Rtx®-5MS (95% dimetilpolisiloxano e 5% difenil) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme da fase fixa, temperatura do injetor  $260^\circ\text{C}$  e a do detector  $300^\circ\text{C}$ .

#### 5.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, usando acessórios de refletância total atenuada (ATR) e com superfície de cristal de seleneto de zinco (ZnSe), e resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  usando a média aritmética de quatro varreduras, na faixa de número de ondas de  $4000\text{--}550\text{ cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massas de Alta Resolução do Nordeste (LEMANOR). Outras análises

foram obtidas utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 1% de amostra, usando espectrômetro FTLA 2000-102, ABB-BOMEM, localizado no Laboratório de Bioinorgânica (LABIO) da Universidade Federal do Ceará.

## 5.2 Solventes e reagentes

### 5.2.1 Solventes utilizados

Nas reações de obtenção dos derivados e purificação dos produtos, foram utilizados solventes comerciais: hexano, acetato de etila, diclorometano e piridina, todos de qualidade P.A, das marcas *Synth*® e/ou *Vetec*®. Para obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear, foi utilizado clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) de procedência *Tedia*® tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS).

### 5.2.2 Reagentes utilizados

Anidrido acético (*Vetec*®), anidrido butanoico (*Fluka*®), anidrido hexanoico (*Aldrich*®), anidrido benzoico (*Aldrich*®), anidrido succínico (*Aldrich*®), ácido fórmico (*Vetec*®), ácido perclórico (*Vetec*®), ácido 4-clorobenzoico (*Sigma*®), ácido 4-bromobenzoico (*Sigma*®), ácido 4-fluorobenzoico (*Sigma*®), ácido 4-nitrobenzoico (*Vetec*®), sulfato de sódio anidro (*Dinâmica*®), sulfato de cobre (*Vetec*®), cloreto de sódio, diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) da marca *Fluka*® e 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) comercial, de procedência *Acros Organics*® foram utilizados nas reações de preparação dos derivados dos esteroides fucosterol (**F**) e campesterol (**C**).

### 5.2.3 Adsorventes utilizados

As cromatografias em coluna vertical foram realizadas utilizando gel de sílica 60-230 mesh, comercial, de procedência *Vetec*®. Os comprimentos e os diâmetros das colunas variaram de acordo com as massas das amostras a serem purificadas. Nas cromatografias em camada delgada (CCD) foram empregadas cromatoplasmas em gel de sílica 60 ( $\varnothing$  2-25  $\mu\text{m}$ ) sobre alumínio, com camada de 0,20 nm e indicador de fluorescência na faixa de 254 nm, da marca *Macherey-Nagel*®. As placas foram cortadas nas dimensões de 4 x 2,5 cm.

A revelação das cromatoplas, após eluição das substâncias nestas, foi realizada através de pulverização com solução de vanilina (5g) e ácido perclórico (0,75 mol/L, 100 mL) em etanol (EtOH, 100 mL), seguida de aquecimento a 100°C com aquecedor da marca Fisatom® modelo 752 A, por aproximadamente 30 s.

### **5.3 Métodos físicos**

#### **5.3.1 Ponto de fusão**

Os pontos de fusão foram determinados utilizando equipamento digital de ponto fusão da Microquímico Equipamentos Ltda modelo MQADF-302, acoplada a um microscópio óptico monocular. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 1,5°C/min e não foram corrigidas. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioinorgânica (LABIO) da Universidade Federal do Ceará.

#### **5.3.2 Rotação óptica específica**

As rotações específicas foram determinadas utilizando polarímetro digital JASCO modelo P-2000. As medidas foram realizadas à temperatura de 21°C, utilizando uma cubeta de 2,5 mm de diâmetro e 100 mm de comprimento. Para dissolução das amostras utilizou-se clorofórmio com grau de pureza CLAE. As análises foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massas de Alta Resolução do Nordeste (LEMANOR) da Universidade Federal do Ceará.

### **5.4 Atividades biológicas**

#### **5.4.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti***

Alíquotas de 1 mg, 2 mg, 5 mg e 10 mg, em triplicata, do campesterol (C) e dos derivados (C-1 a C-12) foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e transferidas para um béquer de 50 mL. Em seguida, foram adicionadas 50 larvas do terceiro estágio (GADELHA; TODA, 1985) juntamente com 19,7 mL de água. Paralelamente foram realizados testes em brancos, utilizando-se água e DMSO a 1,5%. O

controle positivo utilizado foi Temephos®. Após 24 h foi realizada a contagem das larvas exterminadas e calculada a CL<sub>50</sub> (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

#### **5.4.2 Atividade citotóxica in vitro sobre linhagens de células tumorais humanas**

As linhagens de células tumorais humanas utilizadas no estudo foram MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (Leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal), obtidas do banco de células do Rio de Janeiro, as quais foram cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C, em atmosfera contendo 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e as amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) puro e estéril.

A avaliação da citotoxicidade das amostras foi realizada pelo método do MTT [3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium] (MOSMANN, 1983), utilizando doxorrubicina como controle positivo.

As linhagens MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal) foram plaqueadas na concentração de 1 x 10<sup>5</sup> células/mL. As amostras: fucosterol (F), campesterol (C) e os derivados (F-1 a F-12; C-1 a C-12) foram previamente dissolvidas em DMSO e posteriormente diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e em seguida, adicionadas em placa de 96 poços. As placas foram incubadas por 72 h em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolio), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância de cada uma das amostras foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

A concentração inibitória em 50% (CI<sub>50</sub>) e respectivos intervalos de confiança das referidas amostras foram calculados por regressão não linear no programa *Graph Pad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata.

#### **5.4.3 Atividade antibacteriana sobre linhagens de bactérias Gram (-) e Gram (+)**

A atividade antibacteriana das amostras foi avaliada através do método de microdiluição, com base no documento M7-A6 do NCCLS (CLSI, 2012). No ensaio foram utilizadas duas linhagens de bactérias Gram (+) *Streptococcus mutans* (ATCC 0046) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e três Gram (-) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031),

*Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), sendo estas linhagens padrão cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ. Previamente aos testes, as cepas bacterianas foram ativadas em meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI 3,8%) para o crescimento bacteriano (24 h,  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Após este subcultivo, o inóculo foi padronizado a partir de uma suspensão bacteriana a uma concentração final de aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/mL (0,5 unidades de turbidez nefelométrica-escala McFarland). Em seguida, esta suspensão foi diluída a  $1 \times 10^6$  UFC/mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100  $\mu\text{L}$  foram adicionados e então homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações das amostras, resultando num inóculo final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL (HADACEK; GREGER, 2000; GINOCCHIO, 2002; VILJOEN *et al.*, 2003).

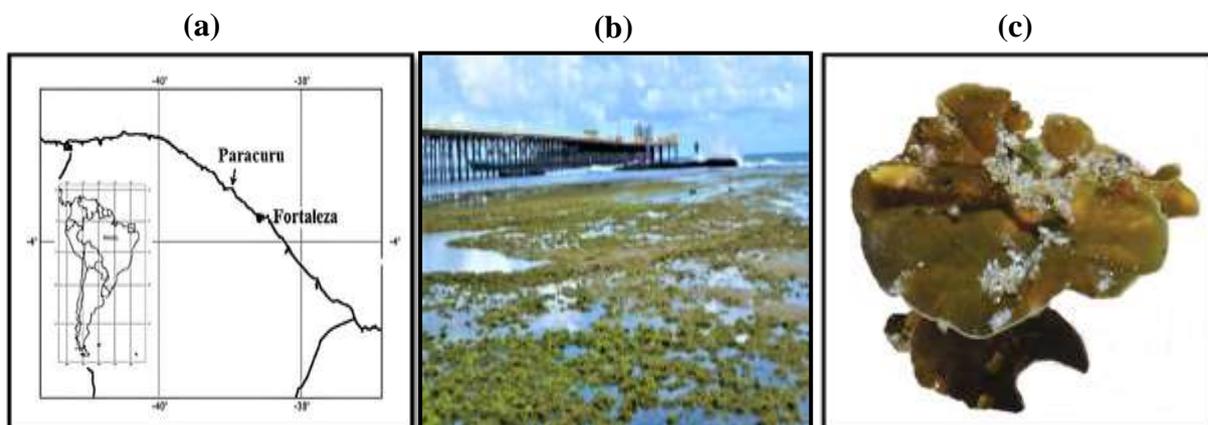
As amostras: fucosterol (F), campesterol (C) e os derivados (F-1 a F-12; C-1 a C-12) foram diluídas em água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 1.024  $\mu\text{g/mL}$ . Outras diluições seriadas foram realizadas através da adição de caldo BHI para alcançar uma concentração final no intervalo de 512 a 8  $\mu\text{g/mL}$ . Todos os experimentos foram realizados em triplicata e as placas de microdiluição foram incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 h (RODRIGUES *et al.*, 2013). A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico pela adição de 25  $\mu\text{L}$  de solução de resazurina (0,01%) após o período de incubação (SALVAT *et al.*, 2001). A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração das substâncias capaz de inibir o crescimento de bactérias.

## 5.5 Obtenção da alga *Lobophora variegata* e isolamento do fucosterol (F)

O espécime de *Lobophora variegata* foi coletado na praia de Paracuru, litoral do Estado do Ceará, a 93 Km de Fortaleza (Fig. 7, pág. 73). O material coletado (1,4 kg) foi seco à temperatura ambiente, triturado e submetido à extração sequencial com hexano, AcOEt e etanol à temperatura ambiente, resultando nos respectivos extratos orgânicos. O extrato hexânico (4,2 g) foi submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna aberta, sendo misturado a 5,4 g de gel sílica e acondicionado sobre 39,3 g de gel de sílica. Utilizou-se a mistura de hexano:AcOEt (300,0 mL cada) nas proporções de 100:0; 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 0:100, obtendo-se 7 frações (A-G), respectivamente. A fração B (1 g) eluída com hexano:AcOEt (90:10) foi submetida à cromatografia em gel de sílica em coluna cromatográfica sob média pressão, da qual obteve-se, majoritariamente, um sólido amorfo branco (680 mg) apresentando  $[\alpha]_D^{21} = +13,70$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) com  $R_f = 0,46$  (hexano:AcOEt 80:20), que foi caracterizado através de método espectrométrico (EM) e

espectroscópicos (IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) como o esteroide (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, vulgarmente conhecido como fucosterol (**F**).

Figura 7 – (a) Local de coleta – mapa indicando a posição do ponto de coleta, a praia de Paracuru relativa à capital (Fortaleza); (b) Fotografia do local de coleta durante a maré baixa; (c) Fotografia de um espécime de *Lobophora variegata*



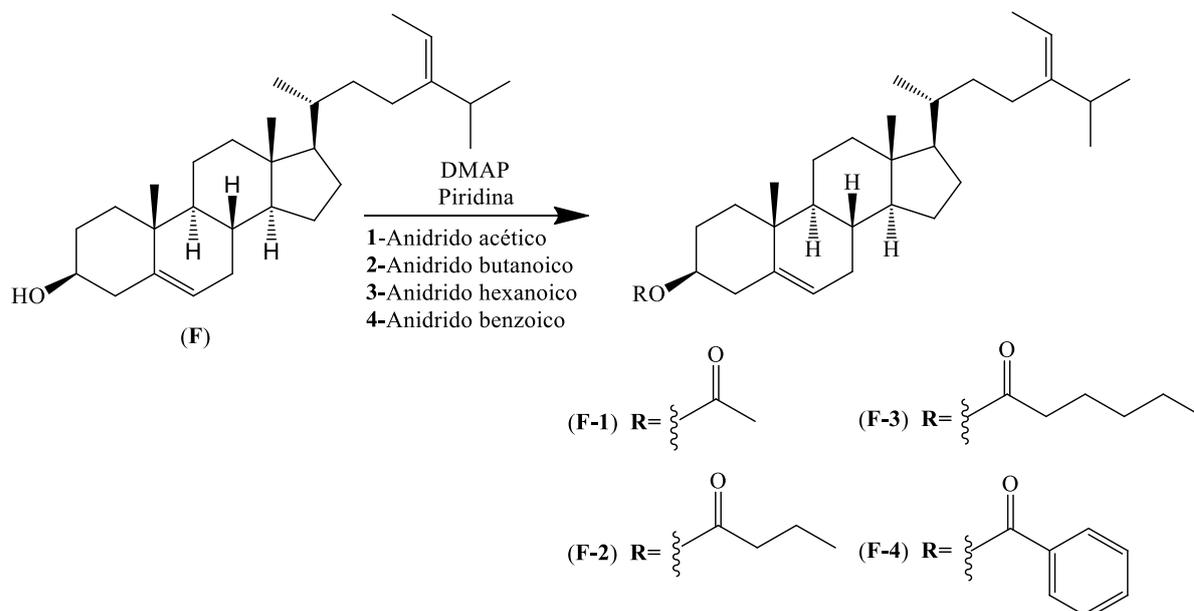
Fonte: Fotografia cedida por Fábio do Nascimento Ávila.

## 5.6 Derivados semissintéticos do fucosterol (**F**)

### 5.6.1 Procedimento geral de acilação do fucosterol (**F**) com os anidridos acético, butanoico, hexanoico e benzoico

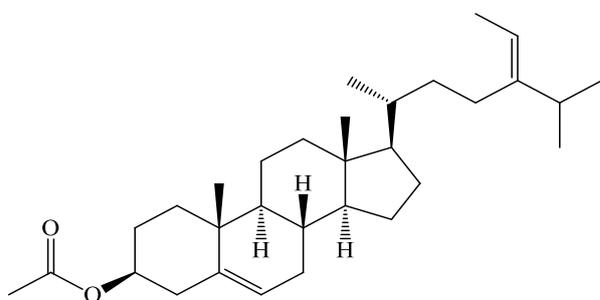
Em balão de 50 mL, dissolveu-se, 20 mg de fucosterol (**F**) (0,049 mmol) em 2 mL de piridina. Posteriormente, foram adicionados os respectivos anidridos: 0,03 mL de anidrido acético (0,317 mmol), 0,06 mL de anidrido butanoico (0,364 mmol), 0,09 mL de anidrido hexanoico (0,378 mmol), 82,77 mg de anidrido benzóico (0,366 mmol) e quantidades catalíticas de 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP). As misturas foram mantidas sob agitação magnética à temperatura ambiente por 2 horas e 30 minutos. Decorrido este período, as misturas foram diluídas com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , transferidas para funil de separação e tratadas com solução saturada de sulfato de cobre. Posteriormente, as fases orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl e secadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida (WU *et al.*, 2014). Em seguida, os produtos brutos foram purificados em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtidos em cada reação sólidos amorfos de cor branca que foram caracterizados por técnica espectrométrica (EM) e espectroscópicas (RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e IV). A Figura 8 (pág. 74) ilustra as reações ocorridas.

Figura 8 – Reação de acilação do fucosterol (F) com diferentes anidridos de ácidos



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1)



**Massa obtida:** 21,0 mg

**Rendimento:** 95%

**Rf:** 0,31 (hexano:AcOEt 99:1)

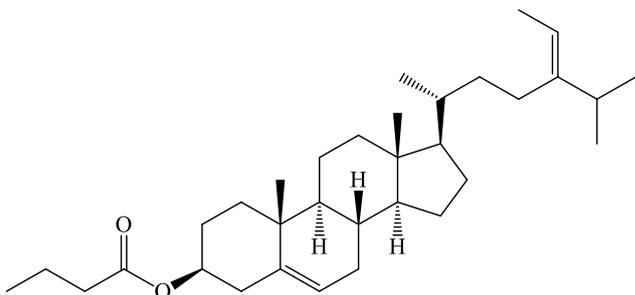
**p.f.:** 110,3 - 111,1°C

**$[\alpha]_D^{21}$**  = -77,00 ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



**Massa obtida:** 19,6 mg

**Rendimento:** 84%

**Rf:** 0,34 (hexano:AcOEt 99:1)

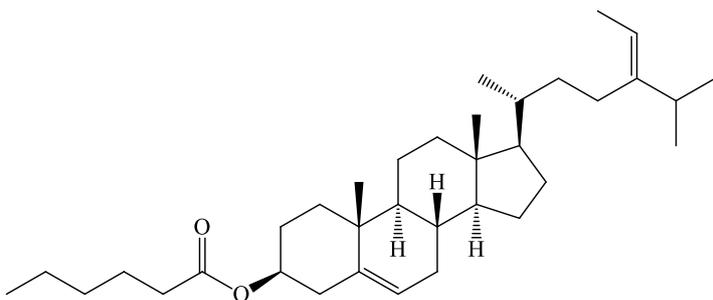
**p.f.:** 61,7 - 61,9°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -64,30 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)



**Massa obtida:** 18,5 mg

**Rendimento:** 75%

**Rf:** 0,35 (hexano:AcOEt 99:1)

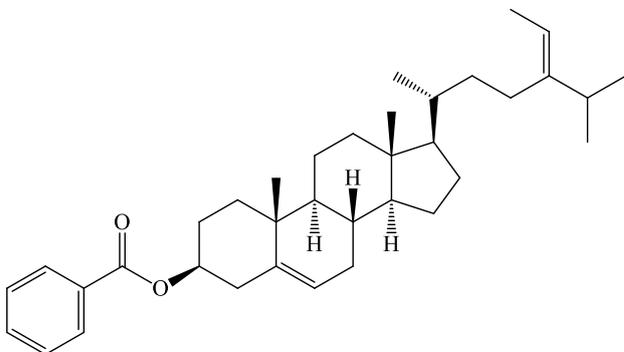
**p.f.:** 47,3 - 48,3°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -59,16 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



**Massa obtida:** 23,8 mg

**Rendimento:** 75%

**Rf:** 0,37 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 116, 2 - 116, 4°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -56,50 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

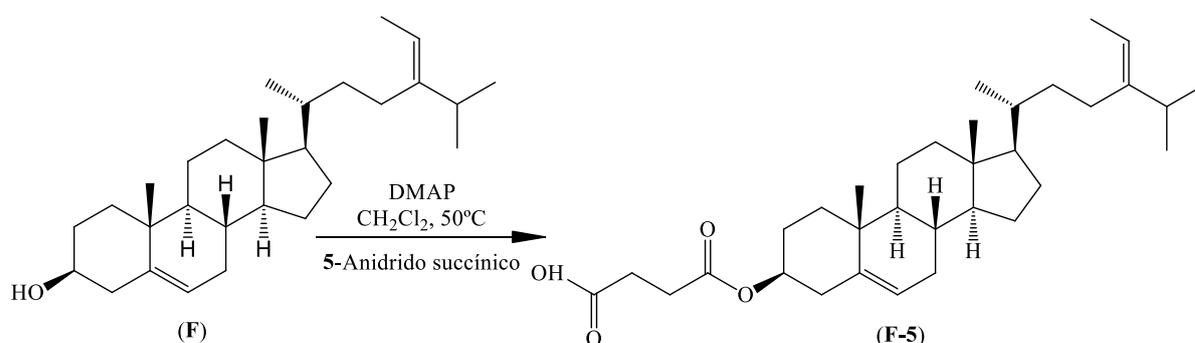
**Fórmula molecular:** C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

### 5.6.2 Procedimento de acilação do fucosterol (F) com anidrido succínico

Em um balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de fucosterol (F) (0,049 mmol) em 2,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Em seguida adicionou-se 36,8 mg de anidrido succínico (0,3677 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. A mistura foi mantida sob agitação magnética em refluxo por 8 horas e 30 minutos. Decorrido este período, o solvente foi removido sob pressão reduzida (BARROS *et al.*, 2011). Posteriormente, o produto bruto foi purificado em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (50:50), sendo obtido um sólido amorfo branco o qual foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 9 ilustra a reação ocorrida.

Figura 9 – Reação de acilação do fucosterol (F) com anidrido succínico



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-5)

**Massa obtida:** 23,3 mg

**Rendimento:** 98%

**Rf:** 0,35 (hexano:AcOEt 50:50)

**p.f.:** 91,5 - 91,7°C

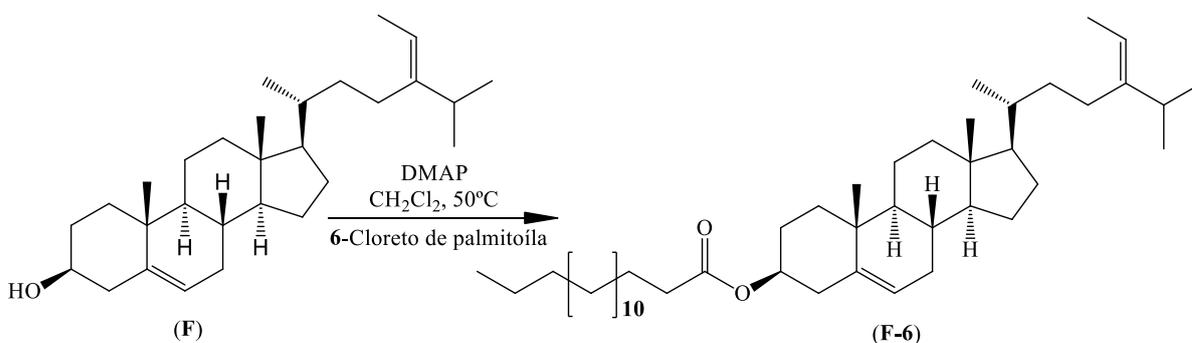
**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -57,00 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>

### 5.6.3 Procedimento de acilação do fucosterol (F) com cloreto de palmitoíla

Em um balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de fucosterol (F) (0,049 mmol) em 2,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente adicionou-se 0,2 mL de cloreto de palmitoíla (0,659 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. A mistura foi mantida em refluxo sob agitação magnética por 4 horas (GAWRONSKI; REDDY; WALBORSKY, 1987). Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 10 ilustra a reação ocorrida.

Figura 10 – Reação de acilação do fucosterol (F) com cloreto de palmitoíla



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3β,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-6)

**Massa obtida:** 27,5 mg

**Rendimento:** 87%

**Rf:** 0,37 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 80,7 - 81,7°C

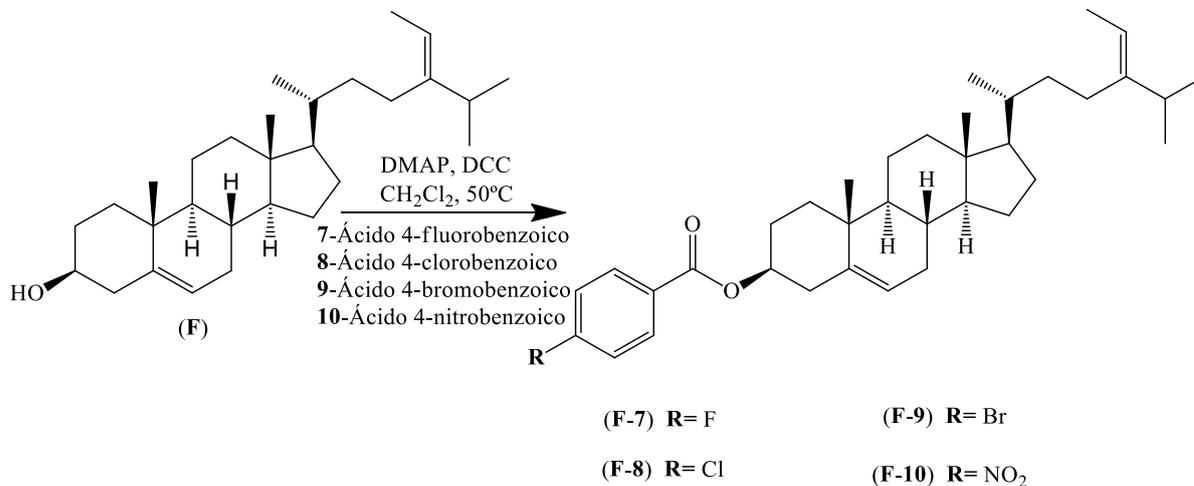
**[α]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -101,73 (c = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>45</sub>H<sub>78</sub>O<sub>2</sub>

### 5.6.4 Procedimento geral de acilação do fucosterol (F) com diferentes ácidos carboxílicos

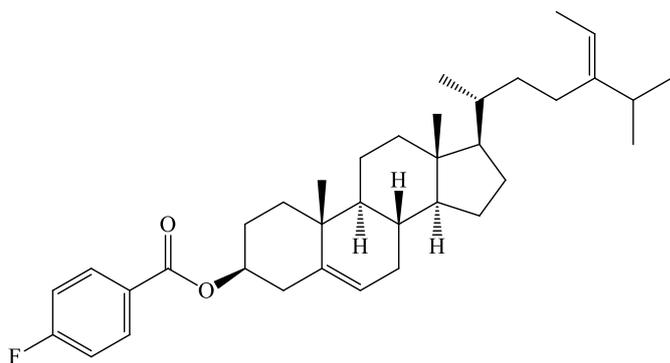
Em balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de fucosterol (F) (0,049 mmol) em 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente, em cada balão foram adicionados os respectivos ácidos carboxílicos: 57,0 mg de ácido 4-clorobenzoico (0,3640 mmol), 51,0 mg de ácido 4-fluorobenzoico (0,3639 mmol), 73,2 mg de ácido 4-bromobenzoico (0,3640 mmol), 60,8 mg de ácido 4-nitrobenzoico (0,3640 mmol), 54 mg de diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) (0,2621 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. As misturas foram mantidas em refluxo sob agitação magnética por 4 horas. Decorrido este período, a diciclo-hexilureia formada foi removida por filtração (NARENDER *et al.*, 2009). Em seguida, os solventes foram evaporados e os produtos brutos foram submetidos à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtidos em cada reação sólidos amorfos de cor branca que foram caracterizados por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 11 ilustra as reações ocorridas.

Figura 11 – Reação de acilação do fucosterol (F) com diferentes ácidos carboxílicos



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**)



**Massa obtida:** 22,15 mg

**Rendimento:** 83%

**Rf:** 0,37 (hexano:AcOEt 99:1)

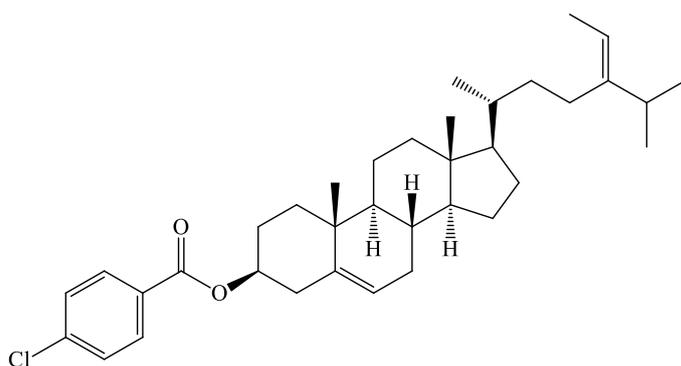
**p.f.:** 135,2 - 135,7°C

$[\alpha]_D^{21} = +21,9$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{36}\text{H}_{51}\text{O}_2\text{F}$

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



**Massa obtida:** 24,5 mg

**Rendimento:** 89%

**Rf:** 0,39 (hexano:AcOEt 99:1)

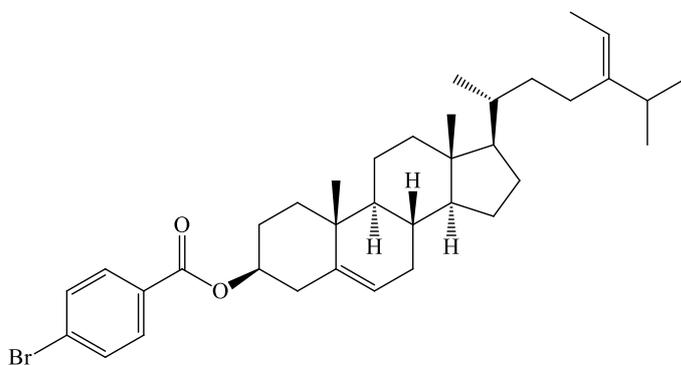
**p.f.:** 112,5 - 113,5°C

$[\alpha]_D^{21} = -23,00$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{36}\text{H}_{51}\text{O}_2\text{Cl}$

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)



**Massa obtida:** 25,20 mg

**Rendimento:** 85%

**Rf:** 0,39 (hexano:AcOEt 99:1)

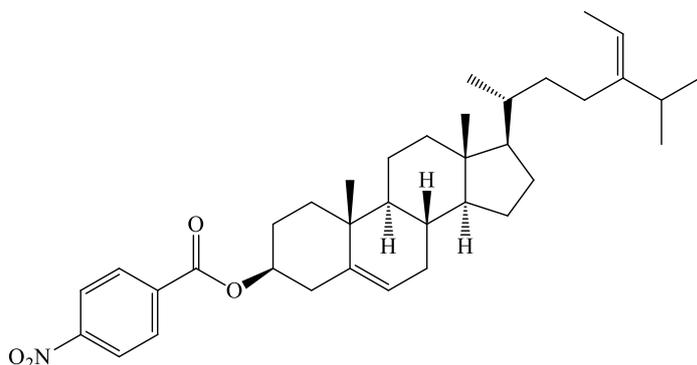
**p.f.:** 110,5 - 110,7 °C

$[\alpha]_D^{21} = +28,3$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{36}\text{H}_{51}\text{O}_2\text{Br}$

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



**Massa obtida:** 22,7 mg

**Rendimento:** 81%

**Rf:** 0,31 (hexano: AcOEt 99:1)

**p.f.:** 111,2 - 111,4 °C

$[\alpha]_D^{21} = -19,60$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

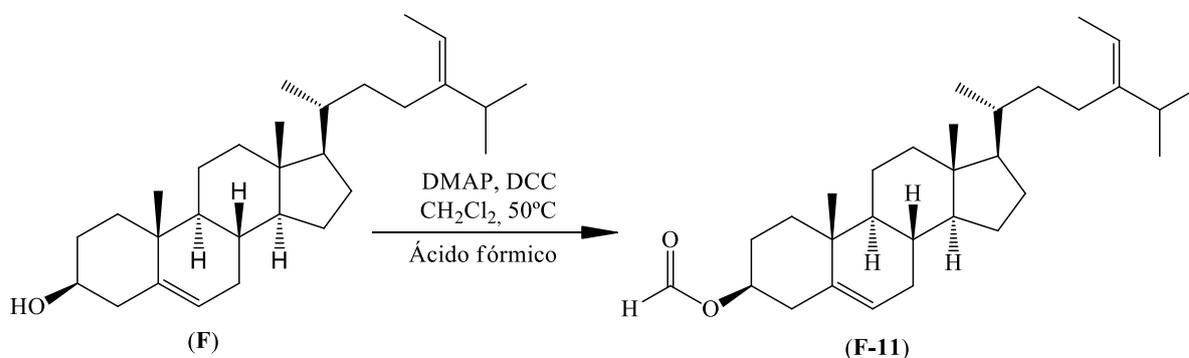
**Fórmula molecular:** C<sub>36</sub>H<sub>51</sub>O<sub>4</sub>N

Fonte: o próprio autor.

### 5.6.5 Procedimento de acilação do fucosterol (**F**) com ácido fórmico

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 20 mg de fucosterol (**F**) (0,049 mmol) em 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente adicionou-se 0,03 mL de ácido fórmico 89,9% (0,715 mmol), 54 mg de DCC (0,2621 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. A mistura foi mantida em refluxo sob agitação magnética por 4 horas. Decorrido este período, a diciclohexilureia formada foi removida por filtração (NARENDER *et al.*, 2009). Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 12 ilustra a reação ocorrida.

Figura 12 – Reação de acilação do fucosterol com ácido fórmico (**F**)



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)

**Massa obtida:** 14,94 mg

**Rendimento:** 70 %

**Rf:** 0,35 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 75,9 - 76,0 °C

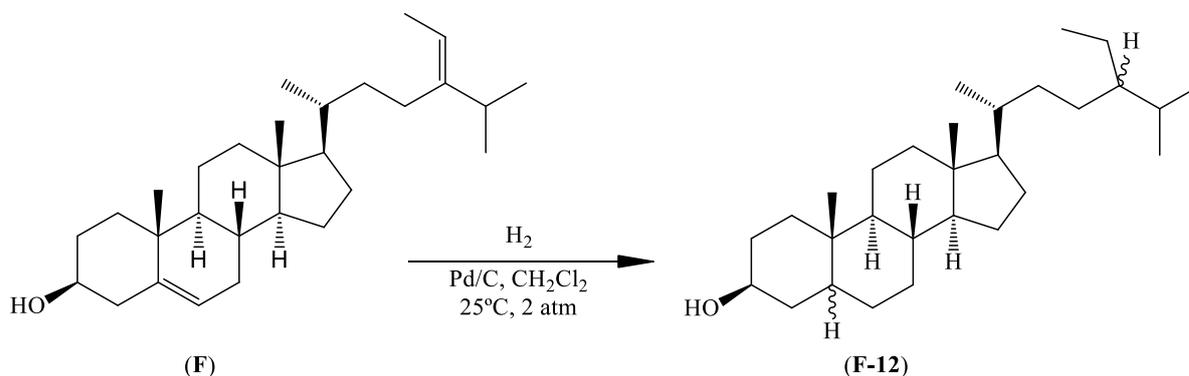
$[\alpha]_D^{21} = -30,03$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>

### 5.6.6 Procedimento de hidrogenação catalítica do fucosterol (**F**)

Em um *shilenck* dissolveu-se 20 mg de fucosterol (**F**) (0,049 mmol) em 2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente, adicionou-se 17,40 mg de catalisador Pd/C 10% (0,1456 mmol), sendo realizada três purgas com argônio. Em seguida, a mistura foi submetida à hidrogenação durante 6 horas em um aparato de hidrogênio, a uma pressão de 2 atm de H<sub>2</sub> (BARBOSA; MALTHA; BORGE, 2002). Decorrido este período, o catalisador Pd/C 10% foi removido por filtração. Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (80:20). Foram obtidos dois compostos com o mesmo Rf: um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 13 ilustra a reação ocorrida.

Figura 13 – Reação de hidrogenação catalítica do fucosterol (**F**)



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos da mistura esteroidal de (3 $\beta$ ,20*R*)-estigmastan-3-ol (**F-12**)

**Massa obtida:** 18,5 mg

**Rendimento:** 87%

**Rf:** 0,46 (hexano:AcOEt 80:20)

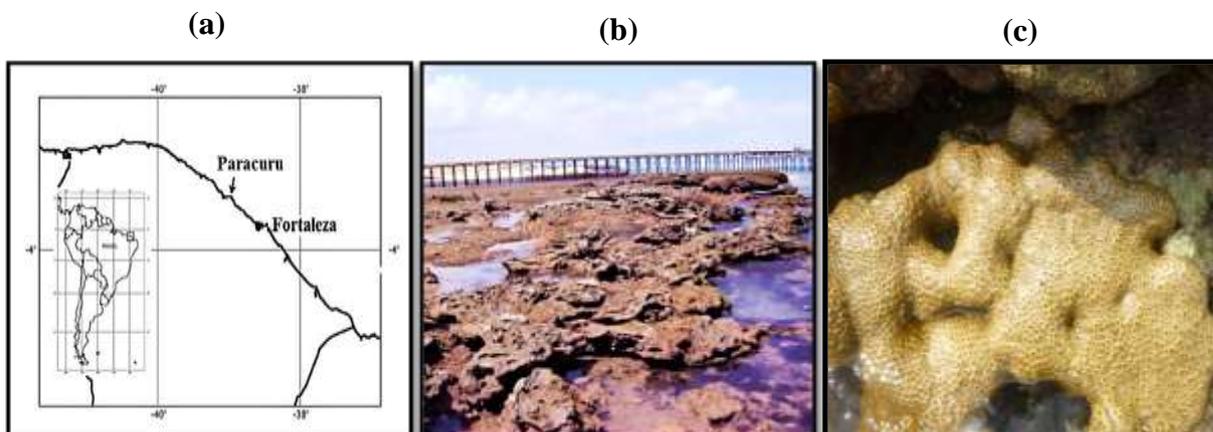
**$[\alpha]_D^{21}$**  = -54,70 ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>29</sub>H<sub>52</sub>O

### 5.7 Obtenção do zoantídeo *Palythoa caribaeorum* e isolamento do campesterol (**C**)

O zoantídeo *Palythoa caribaeorum* foi coletado durante a maré baixa na praia de Paracuru (3° 24' 0.22" S e 39° 0' 48.60" W), na costa oeste do estado do Ceará (Fig. 14, pág. 83). Inicialmente, o material coletado foi lavado com água do mar e depois armazenado sob refrigeração. O espécime *P. caribaeorum* (voucher nº 000976) foi autenticado pelo Dr. Antonio Carlos Marques e depositado no Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo (MUZUSP-USP). *P. caribaeorum* (4,7 kg) foi cortado em pequenos pedaços, lavados com água destilada, secos à temperatura ambiente e submetido à extração sequencial com hexano e EtOH 96% (3 vezes 6 L para cada solvente), por 24 horas. Os extratos hexânico e etanólico foram filtrados e evaporados sob pressão reduzida a 40°C, obtendo-se 21,0 e 61,7 g dos extratos hexânico e etanólico, respectivamente. O extrato hexânico (21,0 g) de *P. caribaeorum* foi, inicialmente, fracionado sobre gel de sílica (108 g) utilizando como eluente hexano, hexano/AcOEt (80:20, 60:40, 40:60, 20:80), AcOEt e MeOH. A fração hexano/AcOEt 80:20 (3,6 g), apresentou um precipitado branco, o qual foi purificado por adição de MeOH seguido por filtração, obtendo-se um sólido amorfo branco (3,0 g) com  $[\alpha]_D^{21} = -115,90$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>) e Rf = 0,34 (hex:AcOEt 85:15), que foi caracterizado por meio de técnica espectrométrica (EM) e espectroscópicas (IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) como esteroide (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-ergost-5-en-3-ol, trivialmente conhecido como campesterol (**C**).

Figura 14 – (a) Mapa mostrando a posição do ponto de coleta, a praia de Paracuru relativa à capital (Fortaleza); (b) Fotografia do local de coleta durante a maré baixa; (c) Fotografia de um espécime de *Palythoa caribaeorum*



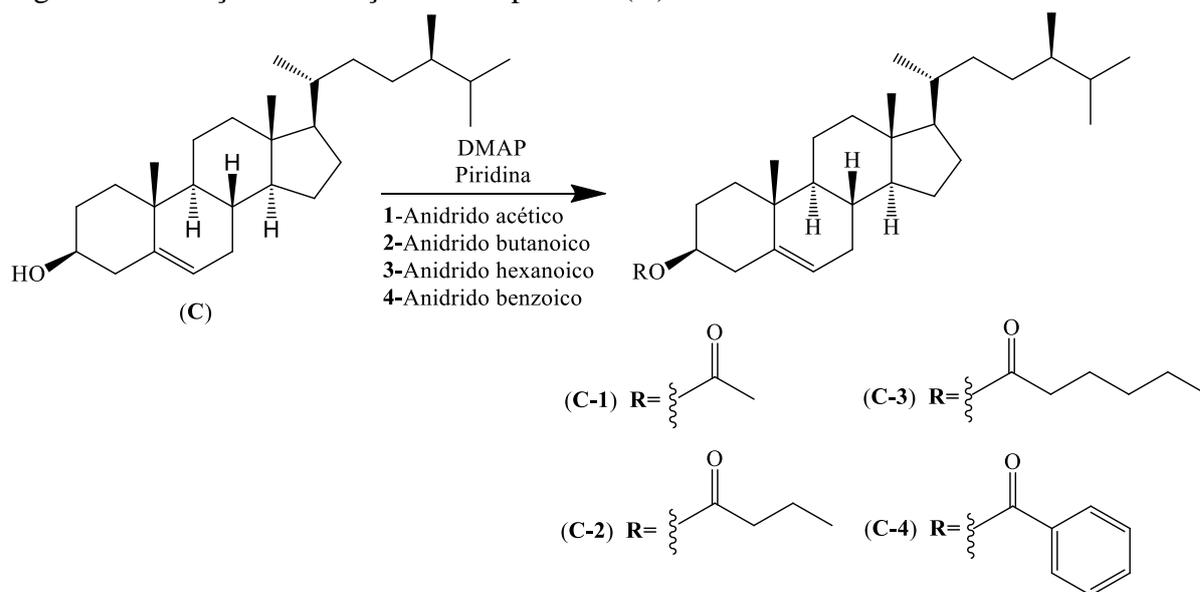
Fonte: Fotografia cedida por Francisco das Chargas Lima Pinto.

## 5.8 Derivados semissintéticos do campesterol (C)

### 5.8.1 Procedimento geral de acilação do campesterol (C) com os anidridos acético, butanoico, hexanoico e benzoico

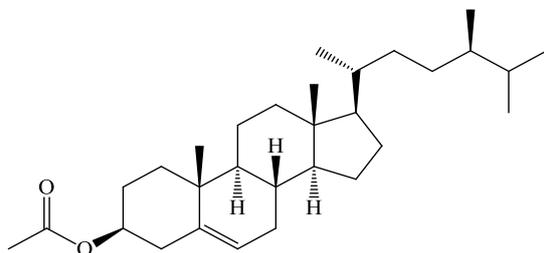
Em balão de 50 mL, dissolveu-se, 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 2 mL de piridina. Posteriormente, em cada balão foram adicionados os respectivos anidridos: 0,04 mL de anidrido acético (0,423 mmol), 0,06 mL de anidrido butanoico (0,374 mmol), 0,09 mL de anidrido hexanoico (0,378 mmol), 85,1 mg de anidrido benzoico (0,376 mmol) e quantidades catalíticas de 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP). As misturas foram mantidas sob agitação magnética à temperatura ambiente por 2 horas e 30 minutos. Decorrido este período, as misturas foram diluídas com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, transferidas para funil de separação e tratadas com solução saturada de sulfato de cobre. Posteriormente, as fases orgânicas foram lavadas com solução saturada de NaCl e secadas com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida (WU *et al.*, 2014). Em seguida, os produtos brutos foram purificados em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtidos em cada reação sólidos amorfos de cor branca que foram caracterizados por técnica espectrométrica (EM) e espectroscópicas (RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IV). A Figura 15 (pág. 84) ilustra as reações ocorridas.

Figura 15 – Reação de acilação do campesterol (C) com diferentes anidridos de ácidos



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-acetoxiergost-5-eno (C-1)



**Massa obtida:** 21,0 mg

**Rendimento:** 95%

**Rf:** 0,31 (hexano:AcOEt 99:1)

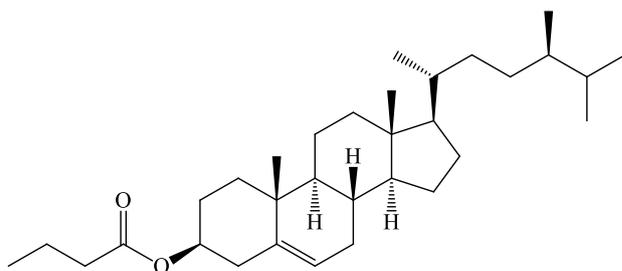
**p.f.:** 118,6°-118,9°C

$[\alpha]_D^{21} = -62,33$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-butoxiergost-5-eno (C-2)



**Massa obtida:** 19,2 mg

**Rendimento:** 81%

**Rf:** 0,30 (hexano:AcOEt 99:1)

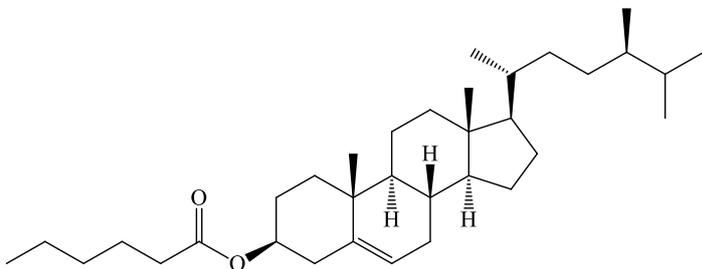
**p.f.:** 91,4 - 91,6°C

$[\alpha]_D^{21} = -116,53$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>32</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3)



**Massa obtida:** 20,4 mg

**Rendimento:** 82%

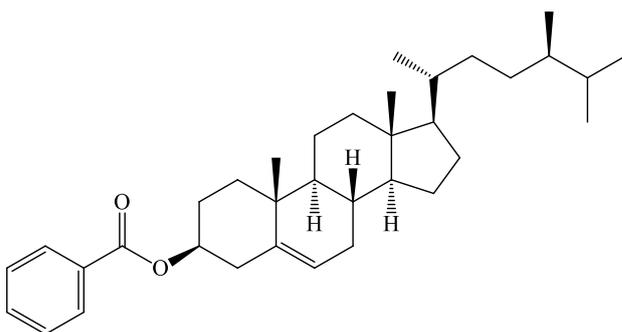
**Rf:** 0,34 (hexano:AcOEt 99:1)

$[\alpha]_D^{21} = -37,00$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>34</sub>H<sub>58</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-benzoxiergost-5-eno (C-4)



**Massa obtida:** 22,1 mg

**Rendimento:** 87%

**Rf:** 0,43 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 114,3 - 114,5°C

$[\alpha]_D^{21} = -92,13$  ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

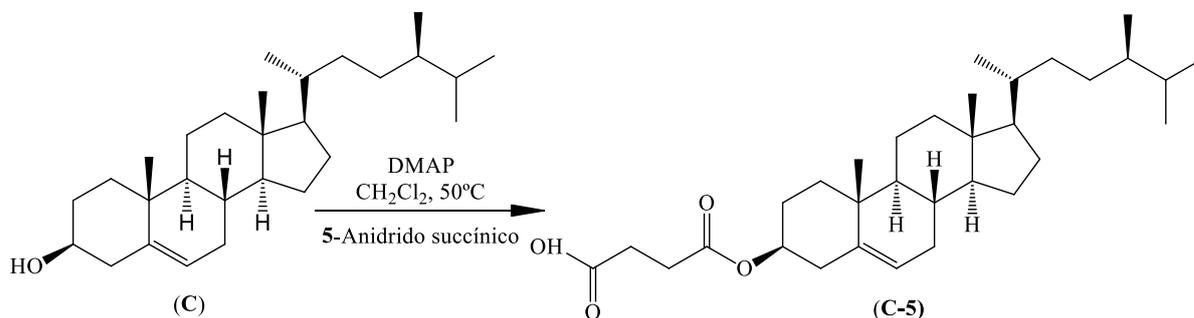
**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>

Fonte: o próprio autor.

### 5.8.2 Procedimento de acilação do campesterol (C) com anidrido succínico

Em um balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 2,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Em seguida adicionou-se 37,45 mg de anidrido succínico (0,3743 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. A mistura foi mantida sob agitação magnética em refluxo por 8 horas e 30 minutos. Decorrido este período, o solvente foi removido sob pressão reduzida (BARROS *et al.*, 2011). Posteriormente, o produto bruto foi purificado em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (50:50), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 16 (pág. 86) ilustra a reação ocorrida.

Figura 16 – Reação de acilação do campesterol (C) com anidrido succínico



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-succinoxiergost-5-eno (C-5)

**Massa obtida:** 22,5 mg

**Rendimento:** 90%

**Rf:** 0,53 (hexano:AcOEt 50:50)

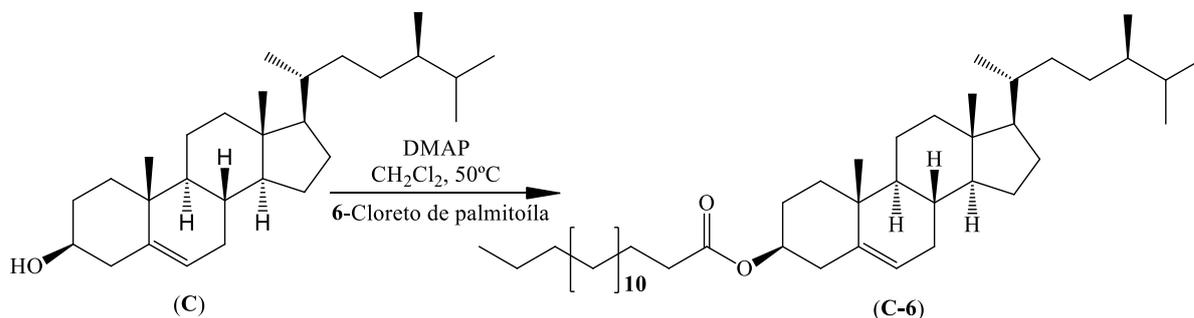
**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -30,93 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>

### 5.8.3 Procedimento de acilação do campesterol (C) com cloreto de palmitoíla

Em um balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 2,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente adicionou-se 0,2 mL de cloreto de palmitoíla (0,659 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. A mistura foi mantida em refluxo sob agitação magnética à temperatura de 50°C por 4 horas (GAWRONSKI; REDDY; WALBORSKY, 1987). Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 17 (pág. 87) ilustra a reação ocorrida.

Figura 17 – Reação de acilação do campesterol (C) com cloreto de palmitoíla



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6)

**Massa obtida:** 31,0 mg

**Rendimento:** 97%

**Rf:** 0,37 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 62,7 - 63,0°C

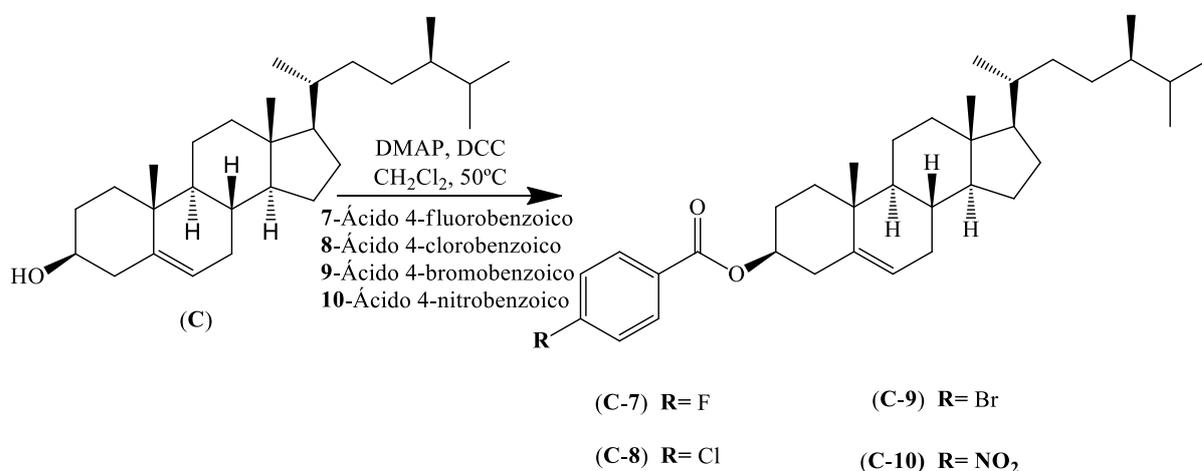
**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>:** -26,73 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>44</sub>H<sub>78</sub>O<sub>2</sub>

#### 5.8.4 Procedimento geral de acilação do campesterol (C) com diferentes ácidos carboxílicos

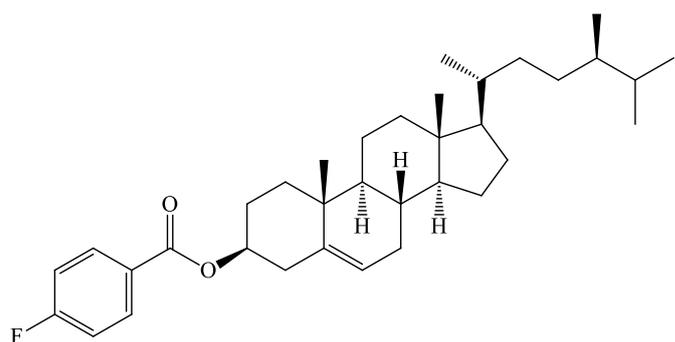
Em balão de 50 mL, dissolveu-se 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Posteriormente, em cada balão foram adicionados os respectivos ácidos carboxílicos: 58,61 mg de ácido 4-clorobenzoico (0,3743 mmol), 52,45 mg de ácido 4-fluorobenzoico (0,3743 mmol), 75,3 mg de ácido 4-bromobenzoico (0,3743 mmol), 62,51 mg de ácido 4-nitrobenzoico (0,3743 mmol), 54 mg de diciclo-hexilcarbodiimida-DCC (0,2621 mmol) e quantidades catalíticas de DMAP. As misturas foram mantidas em refluxo sob agitação magnética por 4 horas. Decorrido este período, a diciclo-hexilureia formada foi removida por filtração (NARENDER *et al.*, 2009). Em seguida, os solventes foram evaporados e os produtos brutos foram submetidos à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtidos em cada reação sólidos amorfos de cor branca que foram caracterizados por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 18 (pág. 88) ilustra as reações ocorridas.

Figura 18 – Reação de acilação do campesterol (C) com diferentes ácidos carboxílicos



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7)



**Massa obtida:** 22,2 mg

**Rendimento:** 85%

**Rf:** 0,40 (hexano:AcOEt 99:1)

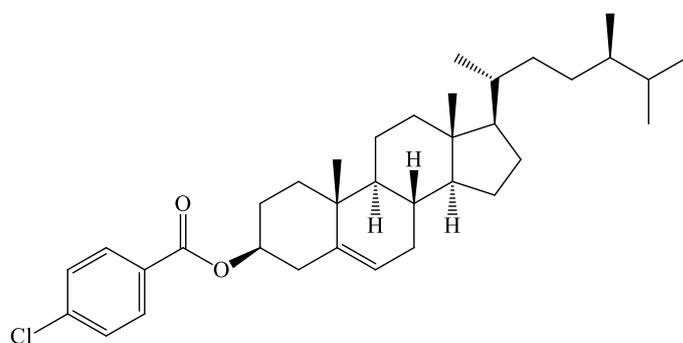
**p.f.:** 107,2 - 107,6°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** -35,36 ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>O<sub>2</sub>F

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8)



**Massa obtida:** 22,5 mg

**Rendimento:** 83%

**Rf:** 0,45 (hexano:AcOEt 99:1)

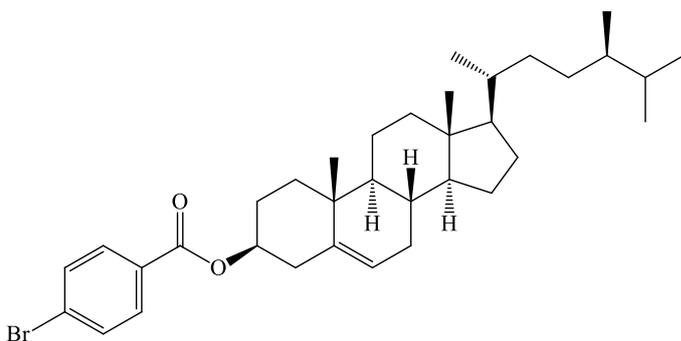
**p.f.:** -106,0 - 106,2°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -26,10 ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ )

**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>O<sub>2</sub>Cl

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9)



**Massa obtida:** 26,4mg

**Rendimento:** 90%

**Rf:** 0,43 (hexano:AcOEt 99:1)

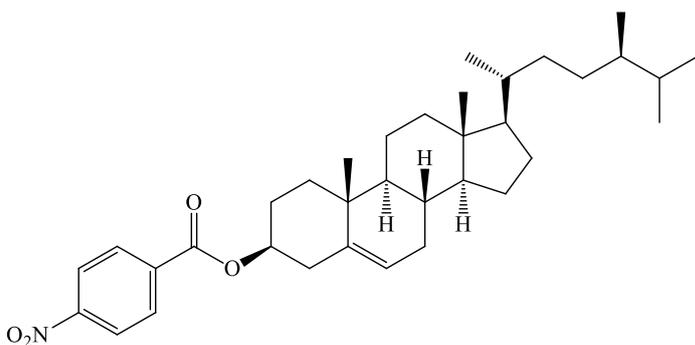
**p.f.:** -109,8 - 110,0 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -15,96 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>O<sub>2</sub>Br

Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10)



**Massa obtida:** 21,5 mg

**Rendimento:** 78%

**Rf:** 0,34 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 110,3 - 110,5°C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup>** = -39,40 (*c* = 0,1; CHCl<sub>3</sub>)

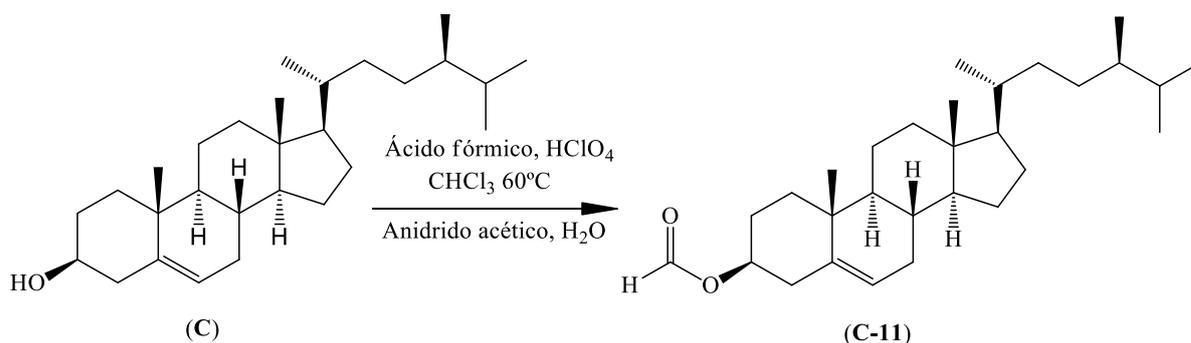
**Fórmula molecular:** C<sub>35</sub>H<sub>51</sub>O<sub>4</sub>N

Fonte: o próprio autor.

### 5.8.5 Procedimento de acilação do campesterol (C) com ácido fórmico

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 1 mL de CHCl<sub>3</sub>. Posteriormente, adicionou-se 0,6 mL de ácido fórmico 89,9% (14,3 mmol) e 0,3 mL de ácido perclórico 70% (3,48 mmol). A mistura foi mantida em refluxo sob agitação magnética por 4 horas. Decorrido este período, foi adicionado lentamente 0,5 mL de anidrido acético (2,14 mmol) na mistura reacional. Em seguida, foram adicionados 3 mL de água, obtendo-se um precipitado que foi separado por filtração (LEMOS; MCCHESENEY, 1990). Posteriormente, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (99:1), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 19 (pág. 90) ilustra a reação ocorrida.

Figura 19 – Reação de acilação do campesterol (C) com ácido fórmico



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11)

**Massa obtida:** 14,5 mg

**Rendimento:** 68%

**Rf:** 0,39 (hexano:AcOEt 99:1)

**p.f.:** 107 - 108°C

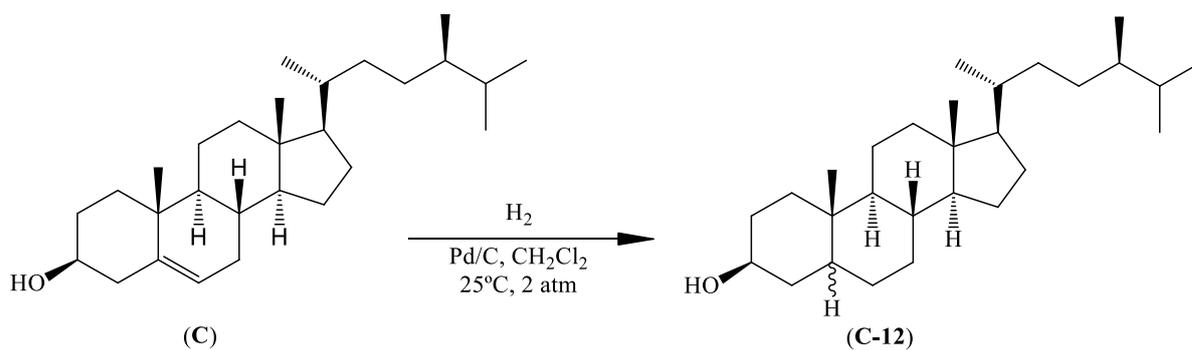
**$[\alpha]_D^{21}$**  = -59,70 ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>

### 5.8.6 Procedimento de hidrogenação catalítica do campesterol (C)

Em um *shilenck* dissolveu-se 20 mg de campesterol (C) (0,049 mmol) em 2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Em seguida, adicionou-se 17,40 mg de catalisador Pd/C 10% (0,1456 mmol), sendo realizada três purgas com argônio. Posteriormente, a mistura foi submetida à hidrogenação durante 6 horas em um aparato de hidrogênio, a uma pressão de 2 atm de H<sub>2</sub>, sob atmosfera de argônio (BARBOSA; MALTHA; BORGE, 2002). Decorrido este período, o catalisador Pd/C 10% foi removido por filtração. Em seguida, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica eluída com hexano:AcOEt (85:15), sendo obtido um sólido amorfo branco que foi caracterizado por EM, IV, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A Figura 20 (pág. 91) ilustra a reação ocorrida.

Figura 20 – Reação de hidrogenação catalítica do campesterol (C)



Fonte: o próprio autor.

Dados físicos de (3 $\beta$ ,20R,24R)-ergostan-3-ol (C-12)

**Massa obtida:** 15,5 mg

**Rendimento:** 77%

**Rf:** 0,34 (hexano:AcOEt 85:15)

**p.f.:** 141,2 - 141,4°C

**$[\alpha]_D^{21}$**  = + 10.46 ( $c = 0,1$ ; CHCl<sub>3</sub>)

**Fórmula molecular:** C<sub>28</sub>H<sub>50</sub>O

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

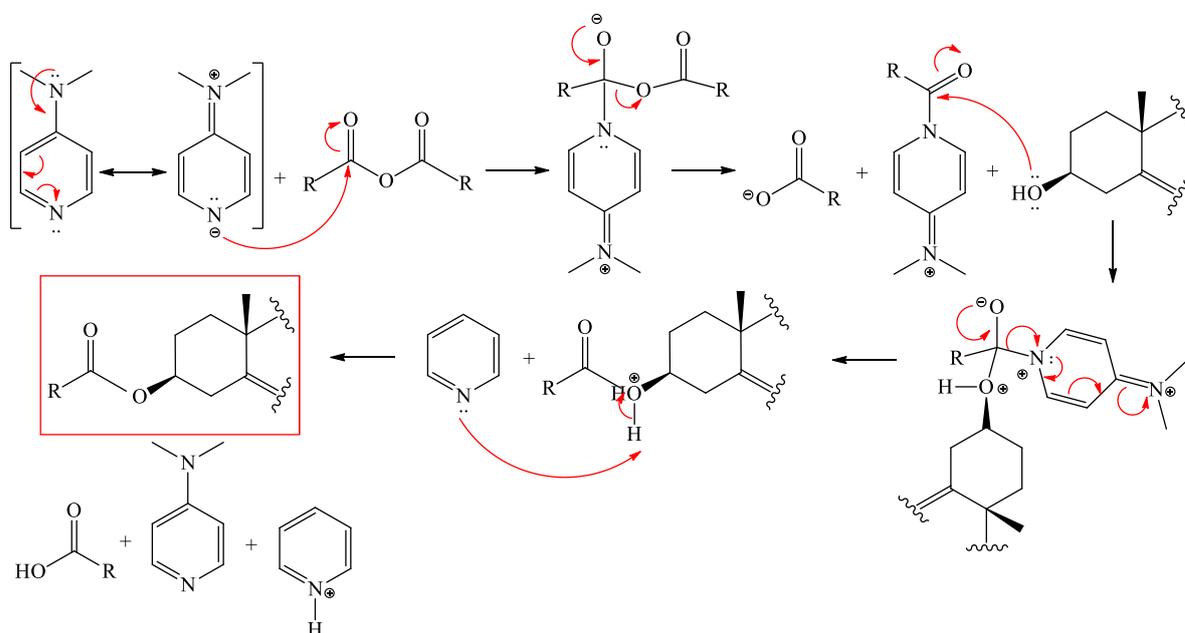
### 6.1 Modificações estruturais

Os derivados foram obtidos através de reações de acilação utilizando diferentes anidridos de ácidos, ácidos carboxílicos, ácido fórmico, cloreto de palmitoíla e hidrogenação catalítica.

#### 6.1.1 Reação de acilação utilizando anidridos de ácidos

Para as reações de acilação do fucosterol (**F**) e do campesterol (**C**) com anidridos de ácidos carboxílicos foram utilizadas as metodologias descritas nos itens 5.6.1 (pág. 73), 5.6.2 (pág.76), 5.8.1 (pág. 83), 5.8.2 (pág. 85), respectivamente, de acordo com as relatadas por Wu *et al.* (2014) e Barros *et al.* (2011) com algumas modificações. Foram utilizados os anidridos acético, butanoico, hexanoico, benzoico e succínico, cujo mecanismo geral é descrito na Figura 21.

Figura 21 – Mecanismo geral da reação de acilação com anidridos de ácidos



Fonte: o próprio autor.

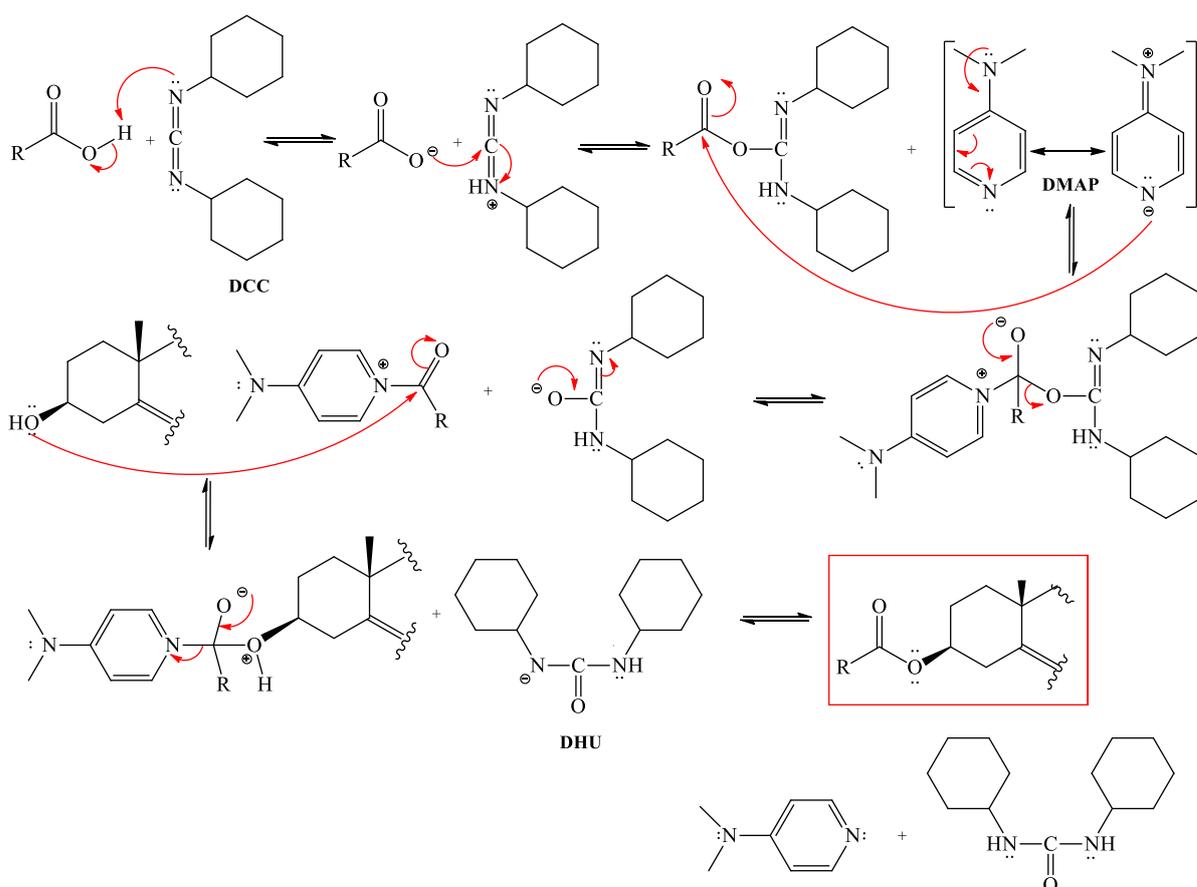
O catalisador 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP), é mais nucleofílico que o álcool, então o DMAP ataca o carbono carbonílico do anidrido, formando, desta forma, um

intermediário tetraédrico, tornando a carbonila mais reativa. Esse aumento de eletrofilicidade causada pela adição de um bom nucleófilo é denominada de catálise nucleofílica (CAREY; SUNDBERG, 2007).

### 6.1.2 Reação de acilação utilizando ácidos carboxílicos

Para as reações de acilação do fucosterol (**F**) e do campesterol (**C**) com ácidos carboxílicos, dicitlo-hexilcarbodiimida (DCC) e 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP), foi utilizada a metodologia descrita nos itens 5.6.4 (pág. 78) e 5.8.4 (pág. 87), respectivamente, conforme a relatada por Narender *et al.* (2009) com algumas modificações. Foram utilizados os ácidos 4-fluorobenzoico, 4-clorobenzoico, 4-bromobenzoico, 4-nitrobenzoico, cujo mecanismo é apresentado na Figura 22.

Figura 22 – Mecanismo geral da reação de acilação com ácidos carboxílicos



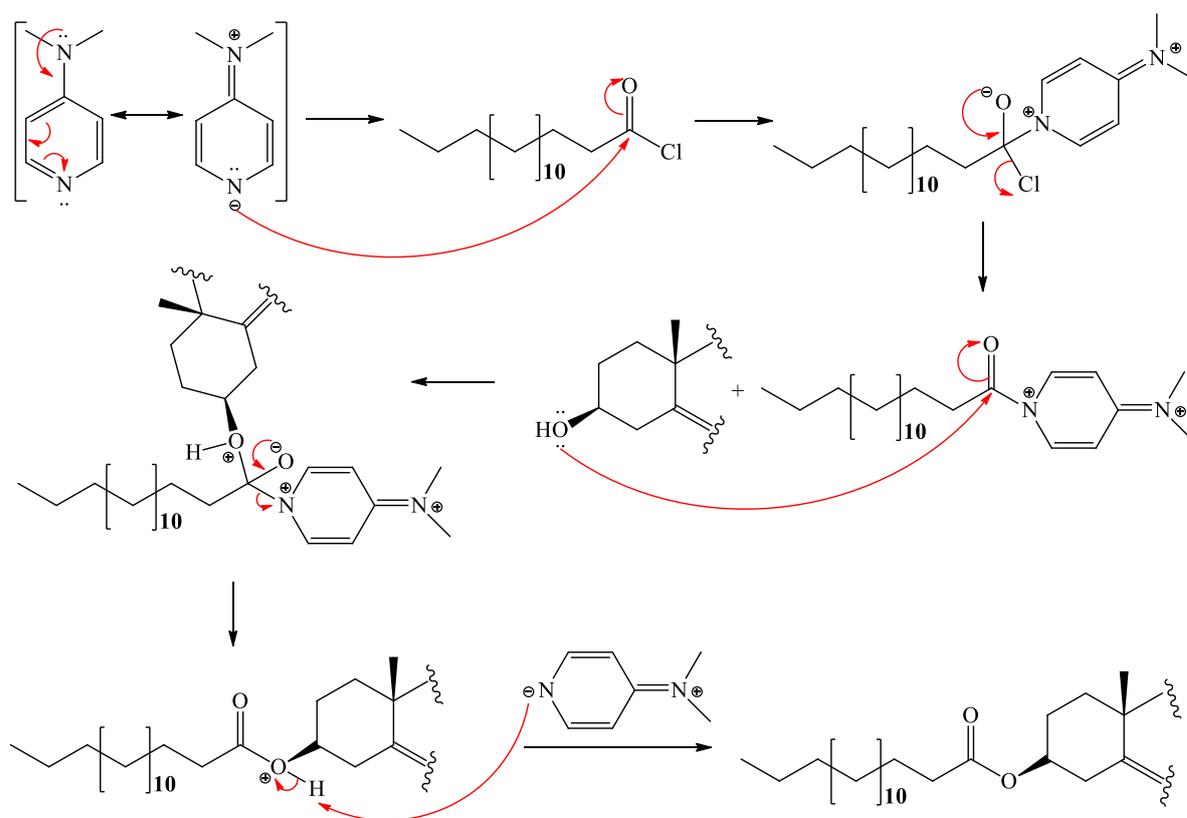
Fonte: o próprio autor.

O ácido carboxílico reage com a diciclo-hexilcarbodiimida formando uma espécie acilpiridínio. Em seguida, o catalisador 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP) ataca o carbono carbonílico da espécie acilpiridínio, formando um intermediário tetraédrico. Em um segundo momento ocorre um ataque nucleofílico do grupo hidroxila do álcool sobre outro grupo acila, gerando o éster e regenerando o catalisador.

### 6.1.3 Reação de acilação utilizando cloreto de palmitoila

Para as reações de acilação do fucosterol (**F**) e do campesterol (**C**) com cloreto de palmitoila e 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP), foi utilizada a metodologia descrita nos itens 5.6.3 (pág. 77), 5.8.3 (pág. 86), respectivamente, de acordo com a descrita por Gawronski *et al.* (1987) com algumas alterações, cujo mecanismo é apresentado na Figura 23.

Figura 23 – Mecanismo geral da reação de acilação com cloreto de palmitoila



Fonte: o próprio autor.

Na primeira etapa do mecanismo, o catalisador 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP) ataca o carbono carbonílico do cloreto de palmitoila, formando desta forma um intermediário tetraédrico. Em seguida ocorre a perda de um grupo de saída (Cl<sup>-</sup>) tornando a carbonila mais reativa. Na segunda parte do mecanismo a carbonila sofre um ataque nucleofílico do grupo OH do álcool formando mais uma vez um composto tetraédrico. E por último o DMAP abstrai o próton para formar o éster.

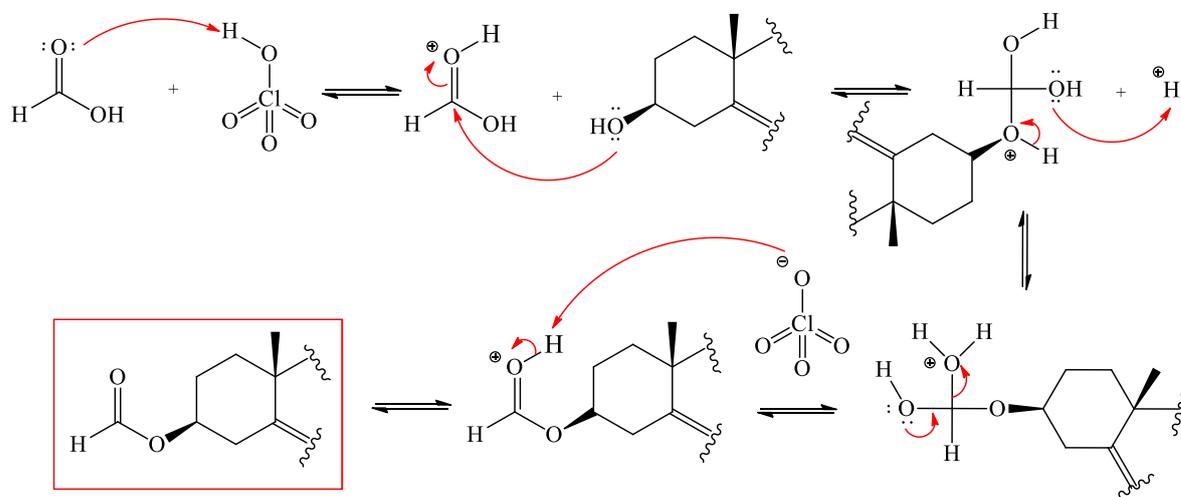
#### 6.1.4 Reação de acilação utilizando ácido fórmico, diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e 4-*N,N*-dimetilamino piridina (DMAP)

Para a reação de acilação do fucosterol (F) com ácido fórmico foi utilizada a metodologia descrita no item 5.6.5 (pág. 80), conforme a relatada por Narender *et al.* (2009), com algumas modificações, empregando ácido fórmico, DCC e DMAP. O mecanismo da reação é o mesmo descrito na Figura 22 (pág. 93).

#### 6.1.5 Reação de acilação utilizando ácido fórmico e ácido perclórico

Para a reação de acilação do campesterol (C) com ácido fórmico foi utilizada a metodologia descrita no item 5.8.5 (pág. 89), conforme a relatada por Lemos e Mcchesney (1990), com algumas modificações, empregando ácido fórmico e ácido perclórico. O mecanismo da reação está descrito na Figura 24.

Figura 24 – Mecanismo da reação de acilação com ácido fórmico e ácido perclórico



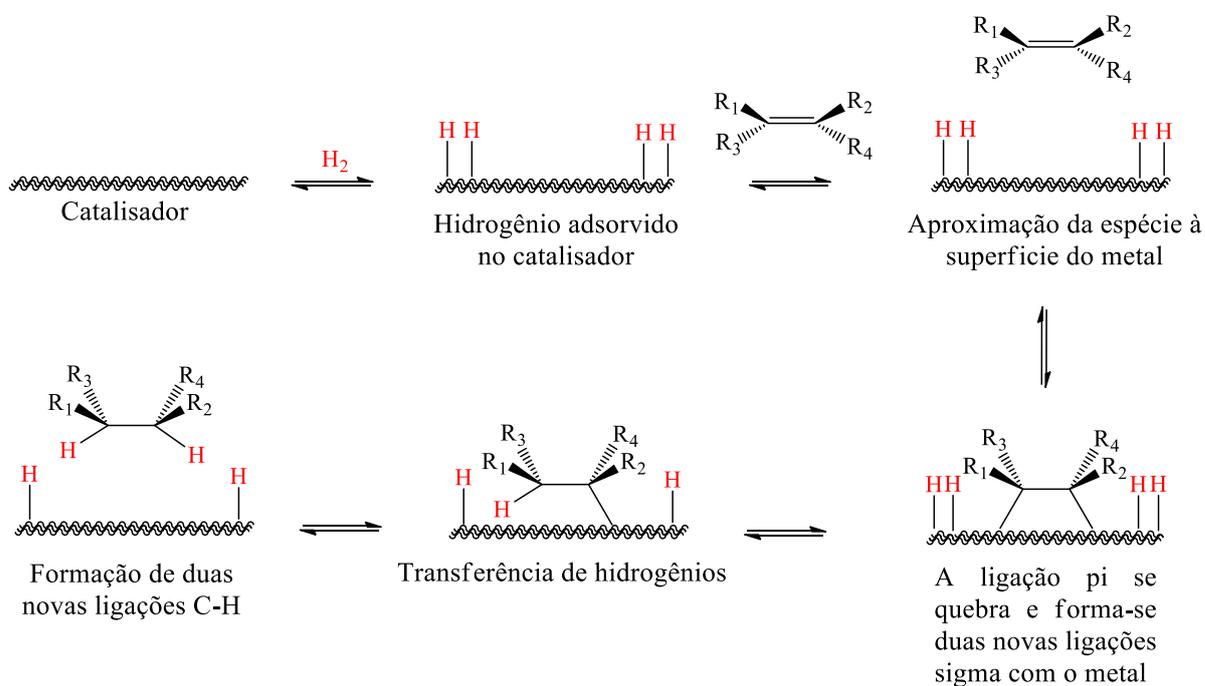
Fonte: o próprio autor.

A primeira parte do mecanismo, realizada em duas etapas, converte o OH do ácido fórmico em um melhor grupo de saída. Inicialmente, o oxigênio da ligação C=O do ácido fórmico retira o próton do ácido perclórico, tornando a carbonila mais eletrofílica, então, a mesma sofre um ataque nucleofílico do grupo OH do álcool, formando um intermediário tetraédrico. Posteriormente, ocorre uma transferência de prótons seguida pela perda de um grupo de saída (H<sub>2</sub>O).

### 6.1.6 Reação de hidrogenação catalítica

Para as reações de hidrogenação catalítica do fucosterol (**F**) e do campesterol (**C**) foi utilizada a metodologia descrita nos itens 5.6.6 (pág. 81) e 5.8.6 (pág. 90), respectivamente, de acordo com a relatada por Barbosa, Maltha e Borge, (2002), com algumas modificações. O mecanismo geral da reação está descrito na Figura 25.

Figura 25 – Mecanismo geral para a reação de hidrogenação catalítica



Fonte: Adaptado de Clayden; Greeves; Warren (2012).

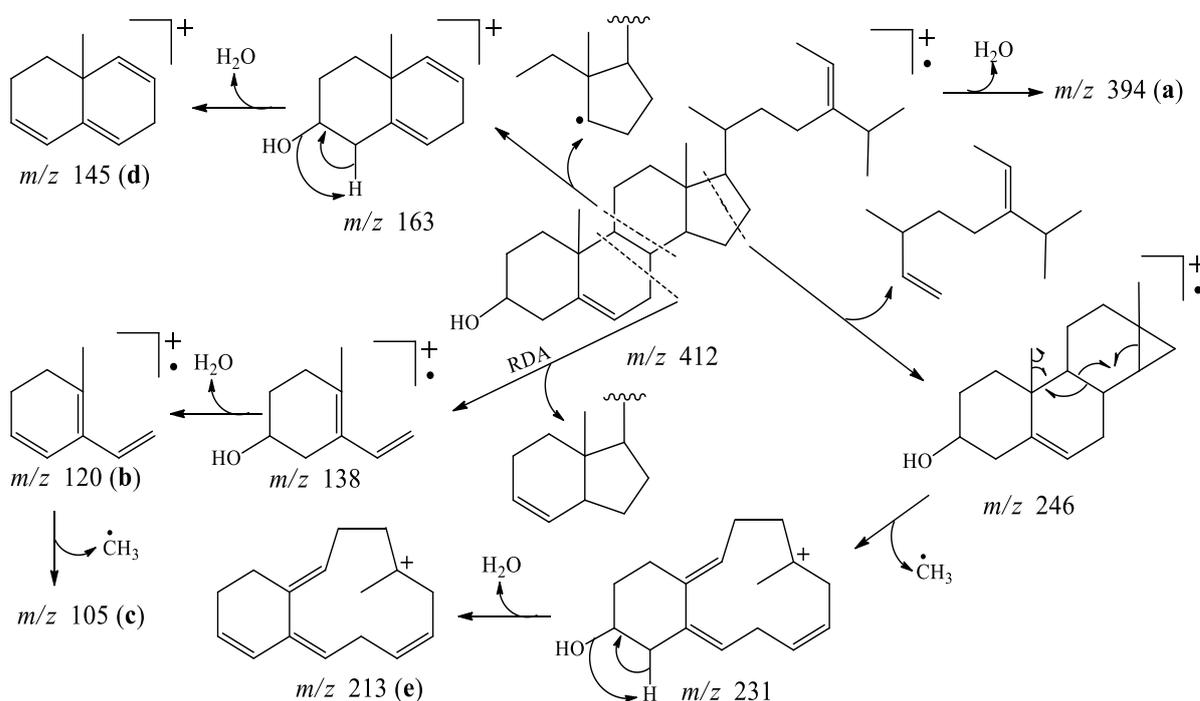
## 6.2 Caracterização estrutural do fucosterol (F)

A Fração B (1,0 g) descrita no item 5.5 (pág. 72) foi submetida à coluna cromatográfica sobre gel de sílica, da qual se obteve um sólido amorfo branco (680 mg), apresentando  $R_f = 0,46$  (hexano:AcOEt 80:20) com  $[\alpha]_D^{21} = +13,70$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) [Literatura:  $[\alpha]_D = +36,0$  ( $c = 0,74$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), HUH *et al.*, 2012] e p.f. = 128,5-129,5°C (Literatura: p.f. = 124°C; KHANAVI *et al.*, 2012).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 28, pág. 101) dessa substância apresentou uma banda de absorção intensa em  $3338\text{ cm}^{-1}$  característica de deformação axial de ligação O–H, bandas de absorção em  $2934\text{ cm}^{-1}$  e  $2866\text{ cm}^{-1}$ , referentes à deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C–H de carbono com hibridação  $sp^3$  (CH,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ ) de cadeias alifáticas, uma absorção em  $1667\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial em C=C, relacionada à presença de ligação olefínica, além de uma absorção em  $1047\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C–O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas do fucosterol (Fig. 29, pág. 101) não apresentou o pico do íon molecular, no entanto, mostrou picos coerentes com a estrutura química proposta (Fig. 26, pág. 98). O íon com  $m/z$  394 (**a**) indicou a eliminação de uma molécula de água. A ruptura do anel **D** originou o íon com  $m/z$  246 e por meio da perda do radical metila, seguida de desidratação formou o íon com  $m/z$  213 (**e**). O espectro também exibiu fragmentações Retro Diels Alder (RDA), relacionado à ruptura no anel **A**, resultando no íon com  $m/z$  138. A perda de uma molécula de água a partir do íon com  $m/z$  138 originou o íon com  $m/z$  120 (**b**) e posterior eliminação do radical metila formou o íon com  $m/z$  105 (**c**). A partir das fragmentações desse esteroide foi proposto a estrutura deste composto como sendo um esteroide  $\Delta^{5,24(28)}$ -3-ol, cuja fórmula molecular é  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  (MM 412) com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 6.

Figura 26 – Esquema mostrando as principais fragmentações do fucosterol (F)



Fonte: o próprio autor.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 30 e 31, pág. 102) apresentou sinais em  $\delta_{\text{H}}$  1,57 (*d*,  $J = 6,5$  Hz); 1,01 (*s*); 0,99 (*sl*); 0,99 (*d*,  $J = 6,4$  Hz); 0,98 (*d*,  $J = 6,5$  Hz) e 0,69 (*s*) ppm correspondentes aos átomos de hidrogênio das seis metilas, um sinal em 3,52 (*m*), com integração para um hidrogênio, correspondente a hidrogênio ligado a carbono oxigenado, além de dois sinais na região de hidrogênio ligado a carbono olefínico, sendo um em  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (*d*,  $J = 5,0$  Hz) e o outro em  $\delta_{\text{H}}$  5,18 (*q*,  $J = 6,5$  Hz).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 32, pág. 103) revelou a presença de vinte e oito linhas espectrais, sendo o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  31,89, correspondente a dois átomos de carbono. A análise comparativa deste espectro com o espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (Fig. 33, pág. 104) possibilitou observar seis carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), dez carbonos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), nove carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ) e quatro carbonos não hidrogenados ( $\text{C}$ ), assim como descrito na Tabela 4 (pág. 99). É importante ressaltar a presença do sinal em  $\delta_{\text{C}}$  72,03 referente ao carbono oxigenado ( $\text{C}-\text{O}$ ) e os quatro sinais para carbonos olefínicos, sendo dois de  $\text{CH}$  ( $\delta_{\text{C}}$  115,78 e  $\delta_{\text{C}}$  121,93) e dois sinais de  $\text{C}$  ( $\delta_{\text{C}}$  140,99 e  $\delta_{\text{C}}$  147,22).

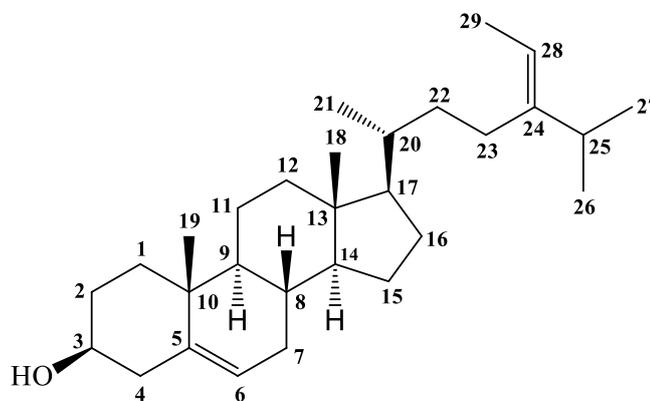
Tabela 4 – Padrão de hidrogenação dos carbonos do fucosterol (F)

C	CH		CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	Fórmula molecular
147,22	121,93		42,52	22,46	
140,99	115,78		39,98	22,35	
42,58	72,03	(HC–OH)	37,48	19,62	
36,74	56,98		35,45	18,98	
	56,01		31,88	13,40	
	50,36		31,88	12,07	
	36,65		28,46		
	35,01		25,92		
	32,13		24,55		
			21,31		
<b>4 C</b>	<b>9 CH</b>		<b>10 CH<sub>2</sub></b>	<b>6 CH<sub>3</sub></b>	<b>IDH = 6 C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O</b>

Fonte: o próprio autor.

A análise dos dados espectroscópicos obtidos (Tabela 5, pág. 100) e a comparação com dados descritos na literatura (KHANAVI *et al.*, 2012) confirmou a identidade do esteroide designado fucosterol (Fig. 27) isolado de *Lobophora variegata*, cujo nome sistemático é (3 $\beta$ ,20R,24E)-estigmasta-5,24(28)-dien-3-ol.

Figura 27 – Estrutura química do fucosterol (F)



Fonte: o próprio autor.

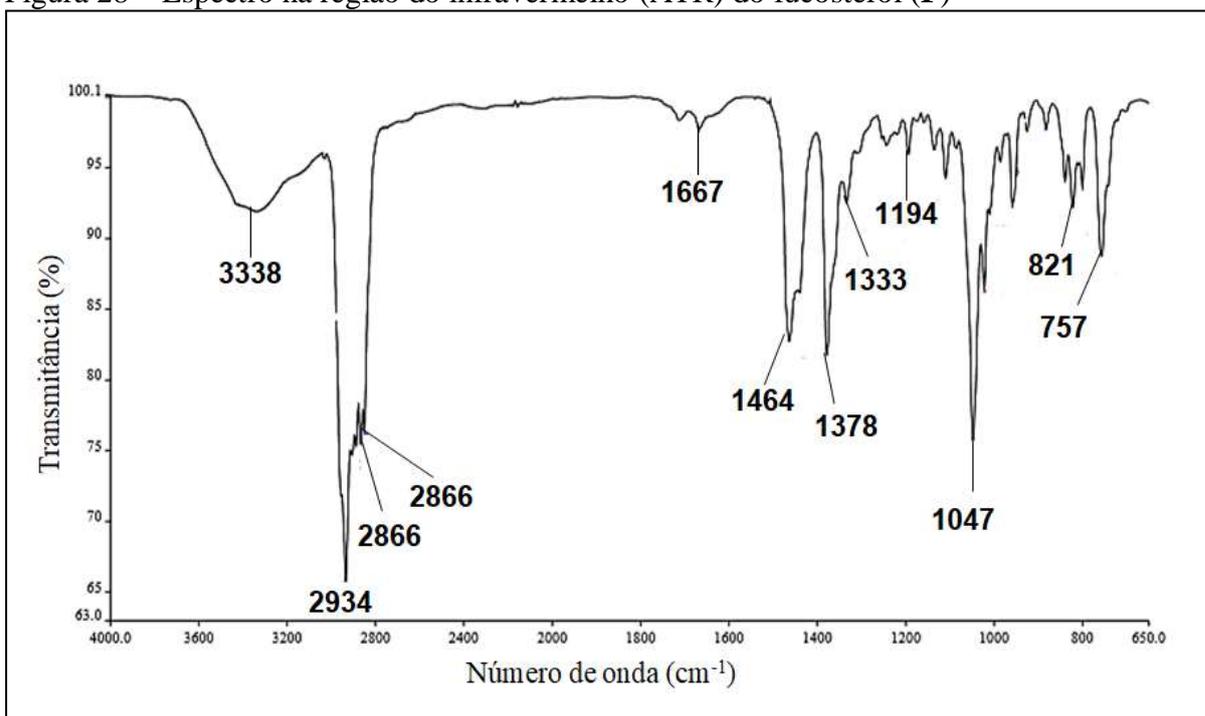
Fucosterol (F) é um dos esteroides mais abundantes encontrados em algas verdes do gênero *Sargassum* e das algas pardas, apresentando atividades biológicas, tais como anticâncer (JI; JI; YUE, 2014), anti-alzheimer (YOON *et al.*, 2008), hepatoprotetora (HOANG *et al.*, 2012), antidiabética (LEE *et al.*, 2004), antioxidante (LEE *et al.*, 2003) e anti-inflamatória (JUNG *et al.*, 2013).

Tabela 5 – Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do fucosterol (F) em  $\text{CDCl}_3$  comparados com os descritos na literatura (KHANAVI *et al.*, 2012) em  $\text{CDCl}_3$

C	Fucosterol		Literatura (KHANAVI <i>et al.</i> , 2012)	
	$\delta_c$	$\delta_H$	$\delta_c$	$\delta_H$
1	37,48		37,28	
2	31,88		31,69	
3	72,03	3,52 (m, 1H)	71,82	3,52 (m, 1H)
4	42,52		42,31	
5	140,99		140,78	
6	121,93	5,35 (d, J = 5,0 Hz, 1H)	121,70	5,35 (d, 1H)
7	31,88		31,93	
8	32,13		31,90	
9	50,36		50,10	
10	36,74		36,53	
11	21,31		21,10	
12	39,98		39,78	
13	42,58		42,33	
14	56,98		56,78	
15	24,55		24,33	
16	28,46		28,24	
17	56,01		55,82	
18	12,07	0,69 (s, 3H)	11,58	0,69 (s, 3H)
19	19,62	1,01 (s, 3H)	19,40	1,01 (s, 3H)
20	36,65		36,43	
21	18,98	0,99 (d, J = 6,4 Hz, 3H)	18,70	0,99 (d, 3H)
22	35,45		35,20	
23	25,92		25,73	
24	147,22		147,01	
25	35,01		34,78	
26	22,46	0,98 (d, J = 6,5 Hz, 3H)	22,13	0,97 (d, 3H)
27	22,35	0,99 (d, J = 6,4 Hz, 3H)	22,24	0,98 (d, 3H)
28	115,78	5,18 (q, J = 6,5 Hz, 1H)	115,50	5,18 (q, 1H)
29	13,40	1,57 (d, J = 6,5 Hz, 3H)	13,17	1,57 (d, 3H)

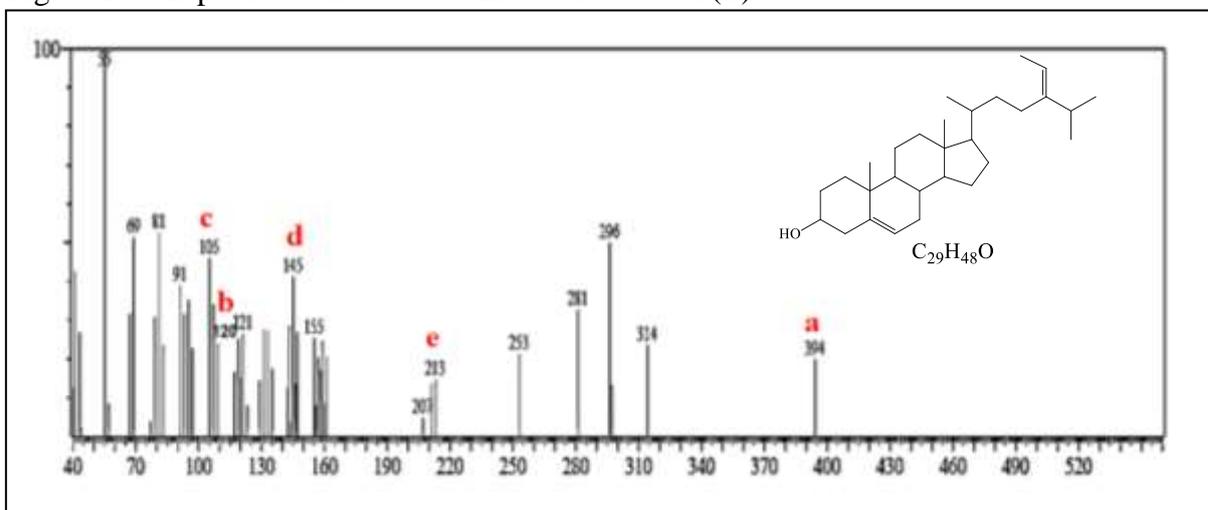
Fonte: o próprio autor.

Figura 28 – Espectro na região do infravermelho (ATR) do fucosterol (F)

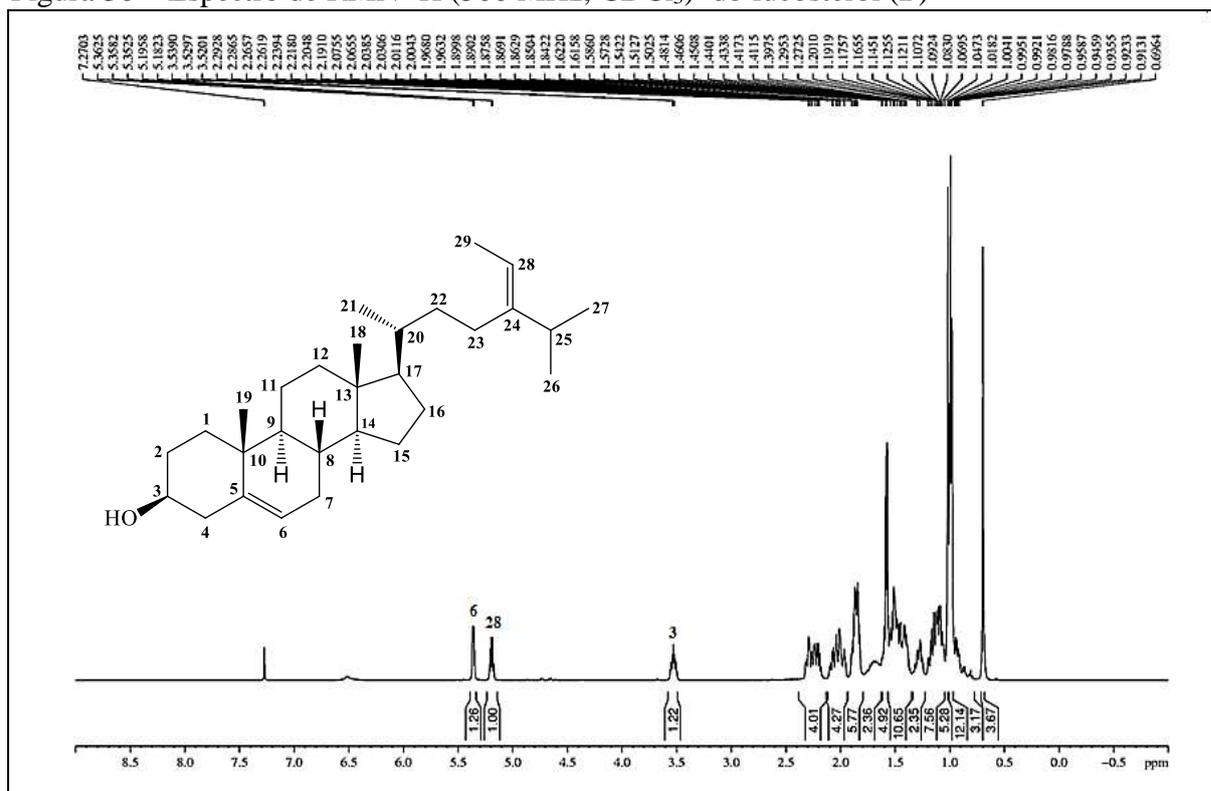


Fonte: o próprio autor.

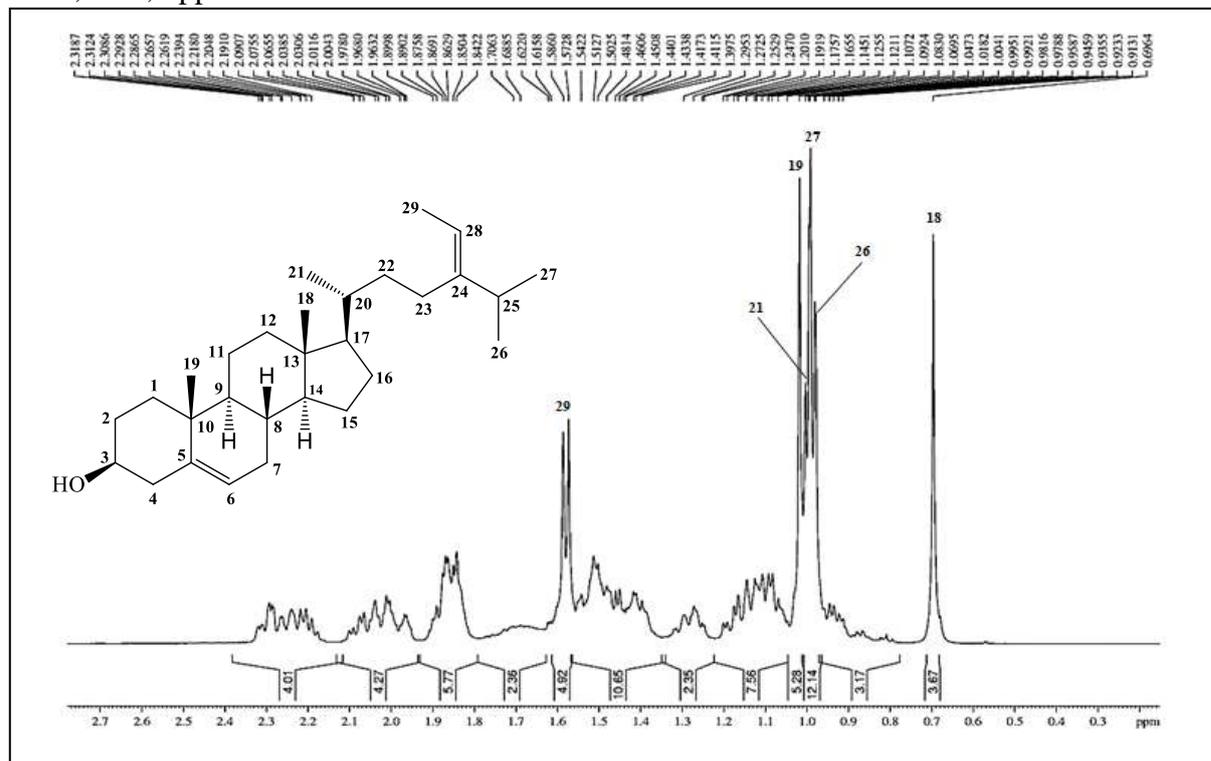
Figura 29 – Espectro de massas CG-EM do fucosterol (F)



Fonte: o próprio autor.

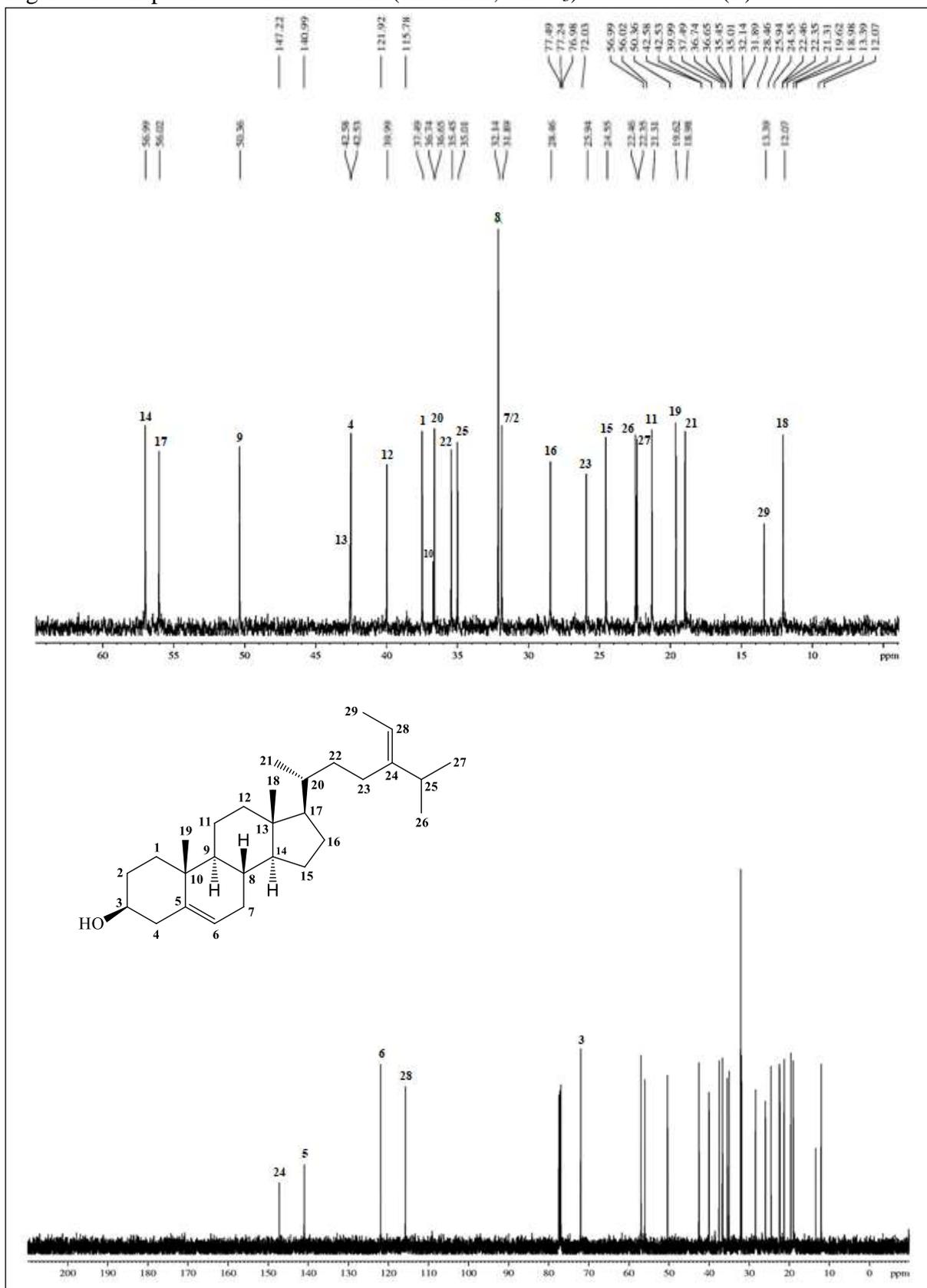
Figura 30 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do fucosterol (F)

Fonte: o próprio autor.

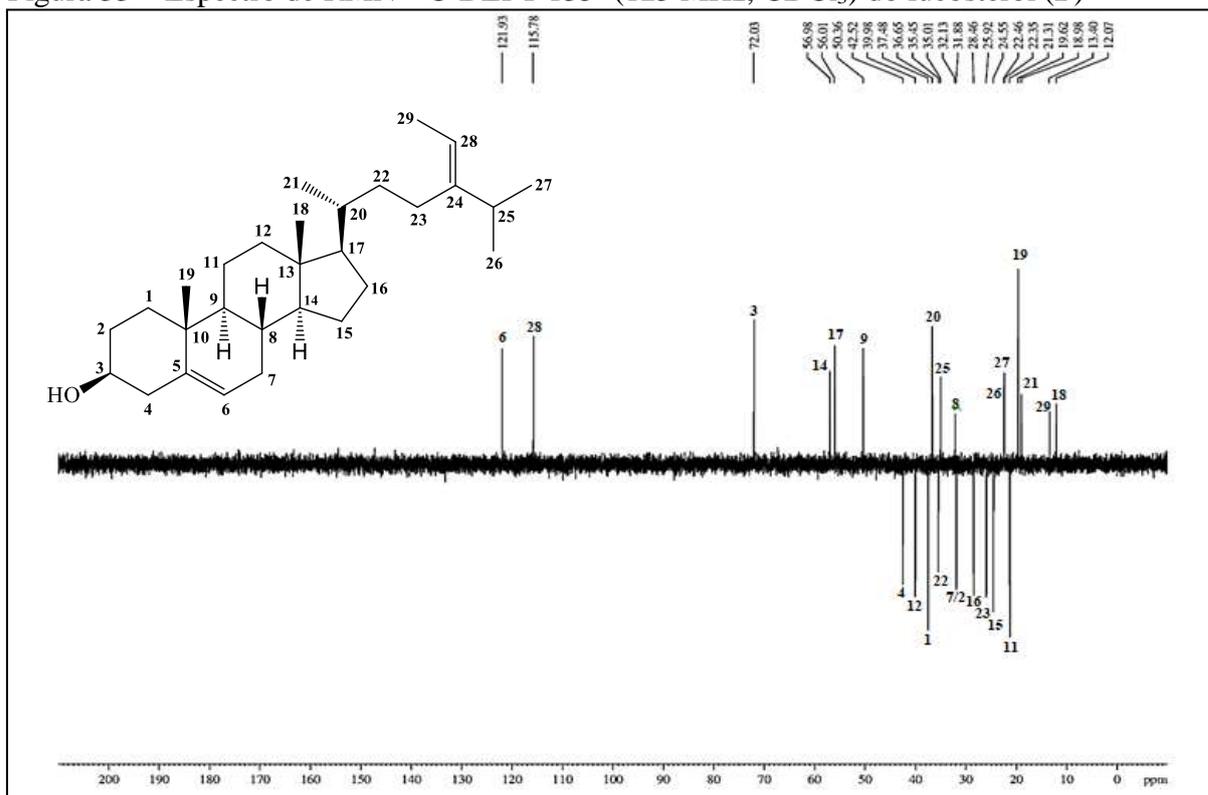
Figura 31 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do fucosterol (F) na região de 0,6 – 2,4 ppm

Fonte: o próprio autor.

Figura 32 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do fucosterol (**F**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 33 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do fucosterol (**F**)

Fonte: o próprio autor.

### 6.3 Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos do fucosterol (**F**)

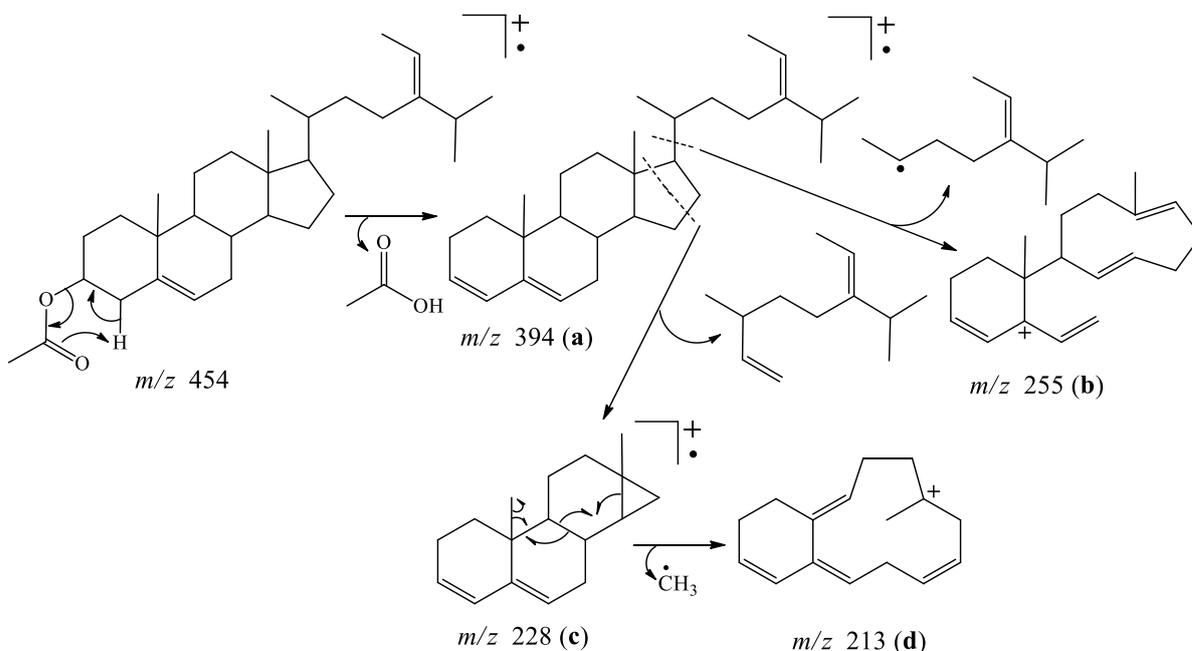
#### 6.3.1 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de **F-1** (Fig. 36, pág. 106) observou-se o aparecimento das bandas de deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e  $\text{C}_{\text{sp}^3}-\text{O}$  de éster em  $1730\text{ cm}^{-1}$  e  $1248\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas do derivado **F-1** (Fig. 37, pág. 107) não exibiu o pico do íon molecular, mas apresentou fragmentos que são coerentes com a estrutura química esperada para a reação de acetilação do fucosterol (**F**) (Fig. 34, pág. 105). Observou-se o íon com  $m/z$  394 (**a**) relacionado à eliminação de ácido acético. Vale ressaltar que esteroides acetilados eliminam facilmente uma molécula de ácido acético de maneira análoga à eliminação de água pelos alcoóis e tal eliminação faz com que esses compostos não exibam o pico do íon molecular (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007). Além disso, também foram observadas fragmentações Retro Diels Alder (RDA), características de ruptura do anel **D**, originando o

íon com  $m/z$  228 (c) com posterior perda do radical metila resultando no íon com  $m/z$  213 (d), além de perda da cadeia lateral em C-17 levando à formação do íon com  $m/z$  255 (b).

Figura 34 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



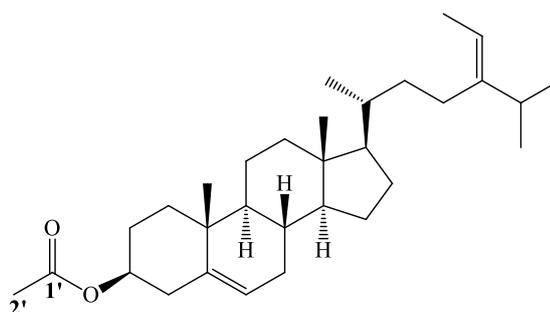
Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 38 e 39, pág. 107 e 108, respectivamente) de **F-1** apresentou como principal diferença em relação ao do fucosterol (**F**), a presença de um simpleto intenso em  $\delta_H$  2,03 (s, 3H), atribuído aos hidrogênios do grupo acetila. Vale salientar que o sinal do hidrogênio H-3 do derivado esterificado **F-1** em  $\delta_H$  4,61 apresenta-se mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila do grupo éster em C-3 (PAVIA *et al.*, 2010). Portanto, o deslocamento do H-3 também pode ser um indicativo da formação do produto acilado.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 40, pág. 109) foi observada a presença dos sinais em  $\delta_C$  21,67 e em  $\delta_C$  170,76, atribuído ao carbono metílico do grupo acetila e ao carbono de carbonila, respectivamente. A análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 $^\circ$  (Fig. 41, pág. 110) confirmaram a formação do derivado esterificado. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono estão mostrados na Tabela 6 (pág. 133).

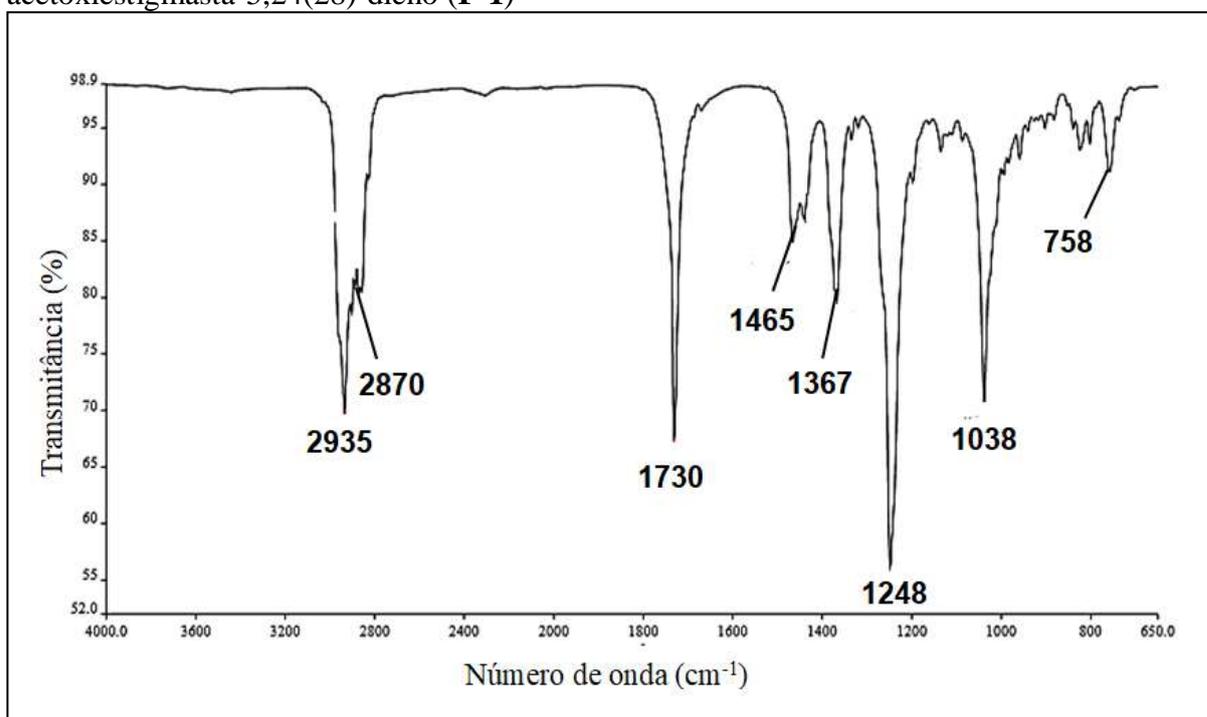
A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto esterificado como  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**), cuja estrutura está mostrada na Figura 35.

Figura 35 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



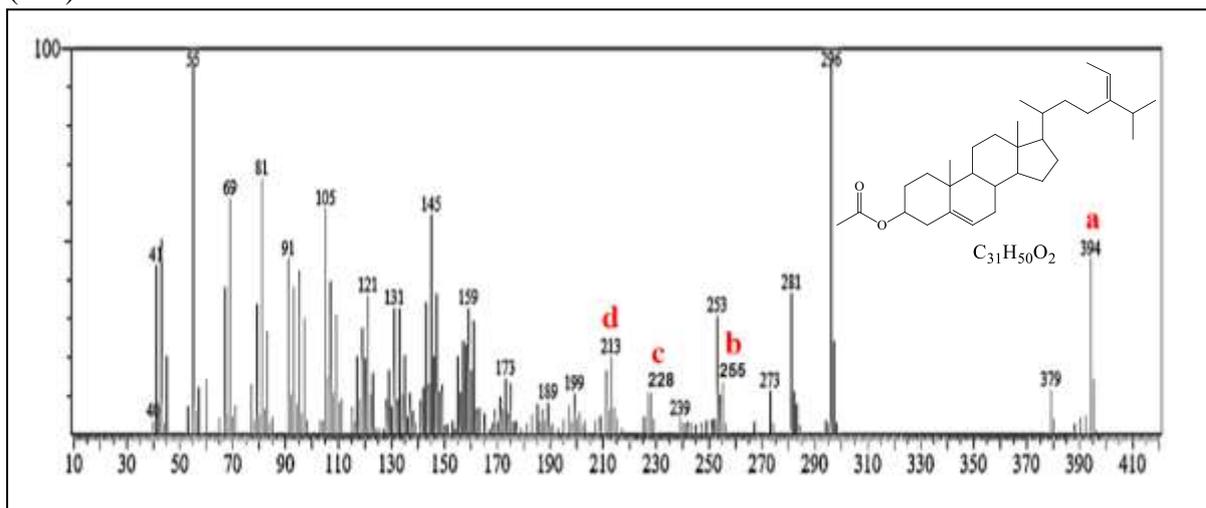
Fonte: o próprio autor.

Figura 36 – Espectro na região do infravermelho (ATR) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



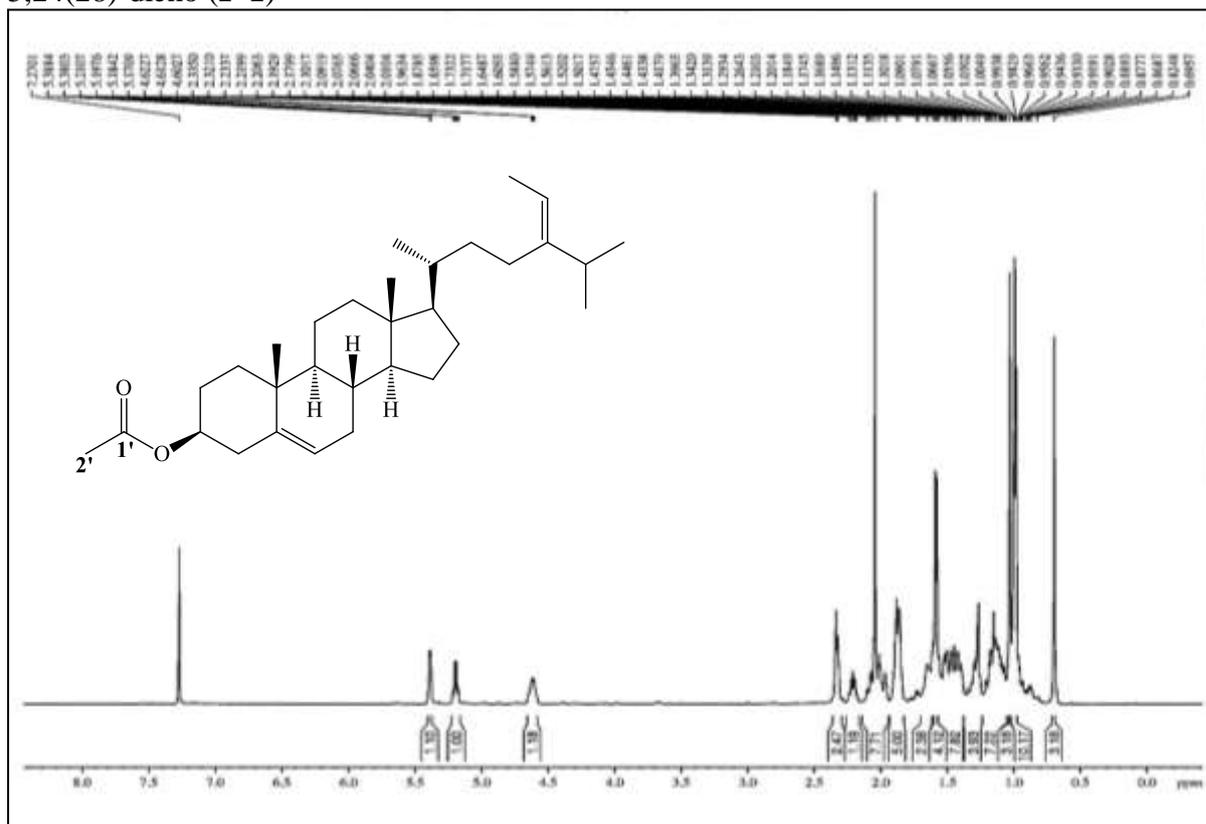
Fonte: o próprio autor.

Figura 37 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



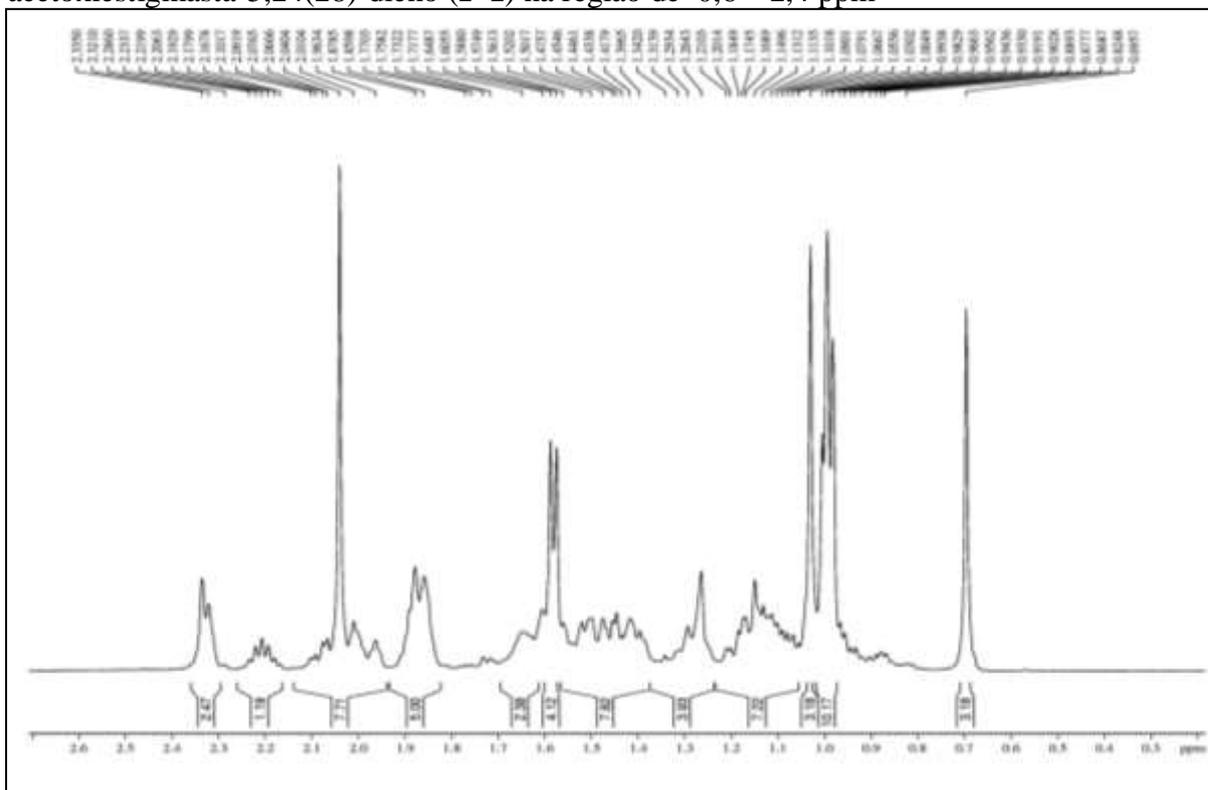
Fonte: o próprio autor.

Figura 38 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



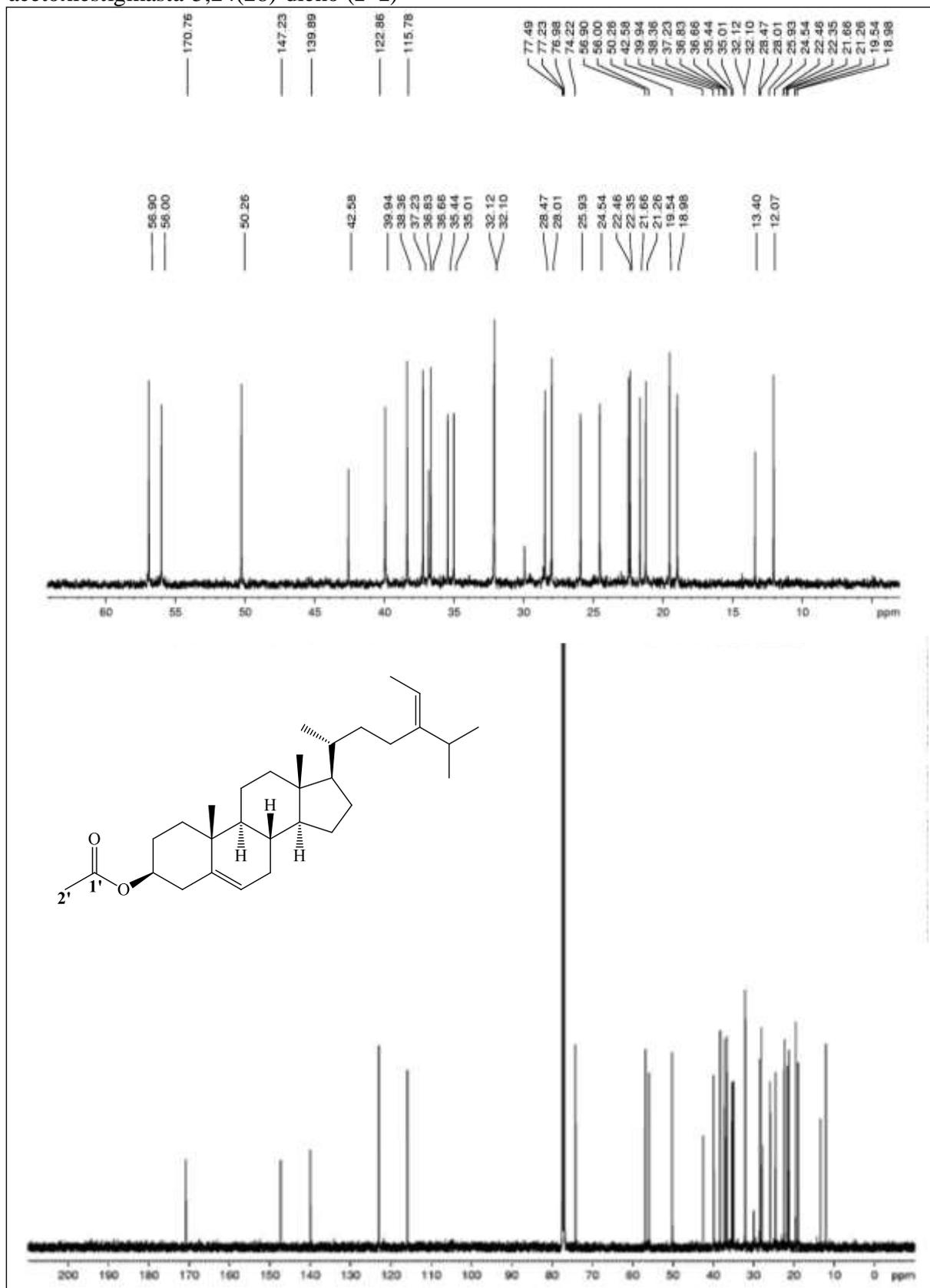
Fonte: o próprio autor.

Figura 39 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**) na região de 0,6 – 2,4 ppm



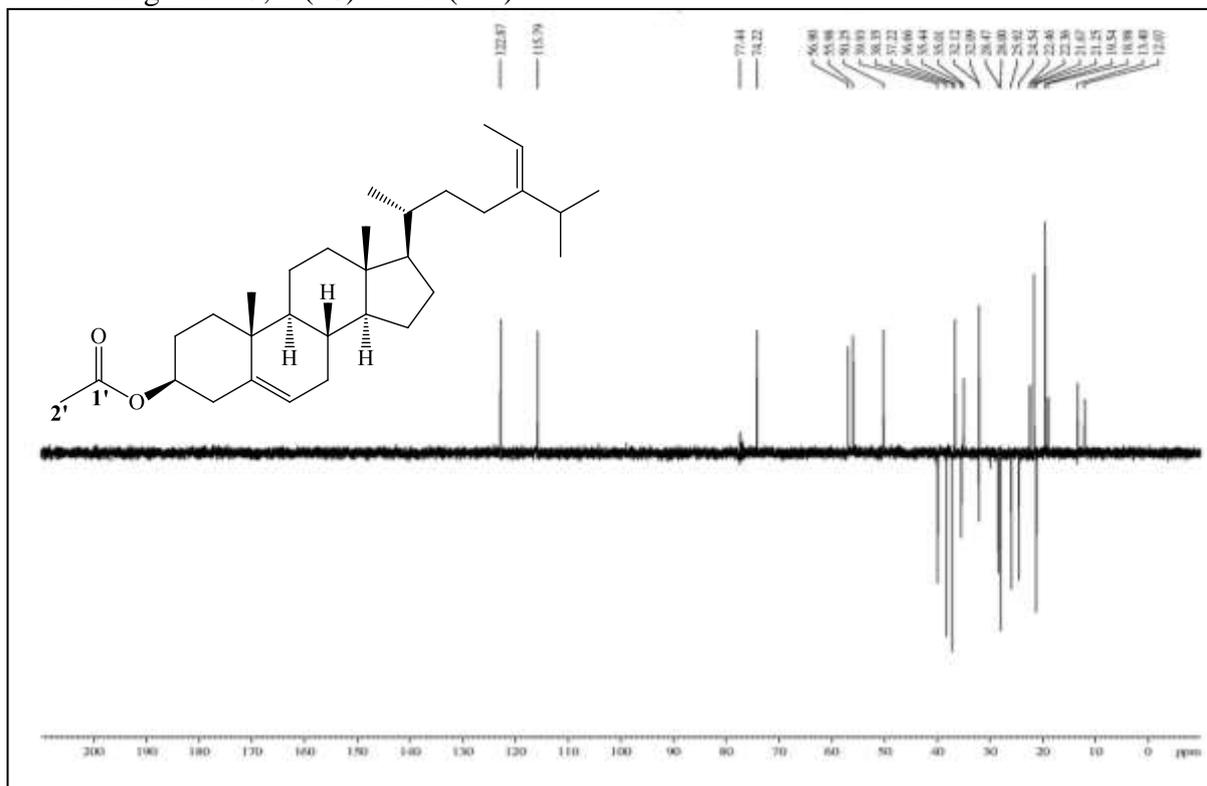
Fonte: o próprio autor.

Figura 40 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-1)



Fonte: o próprio autor.

Figura 41 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-acetoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-1**)



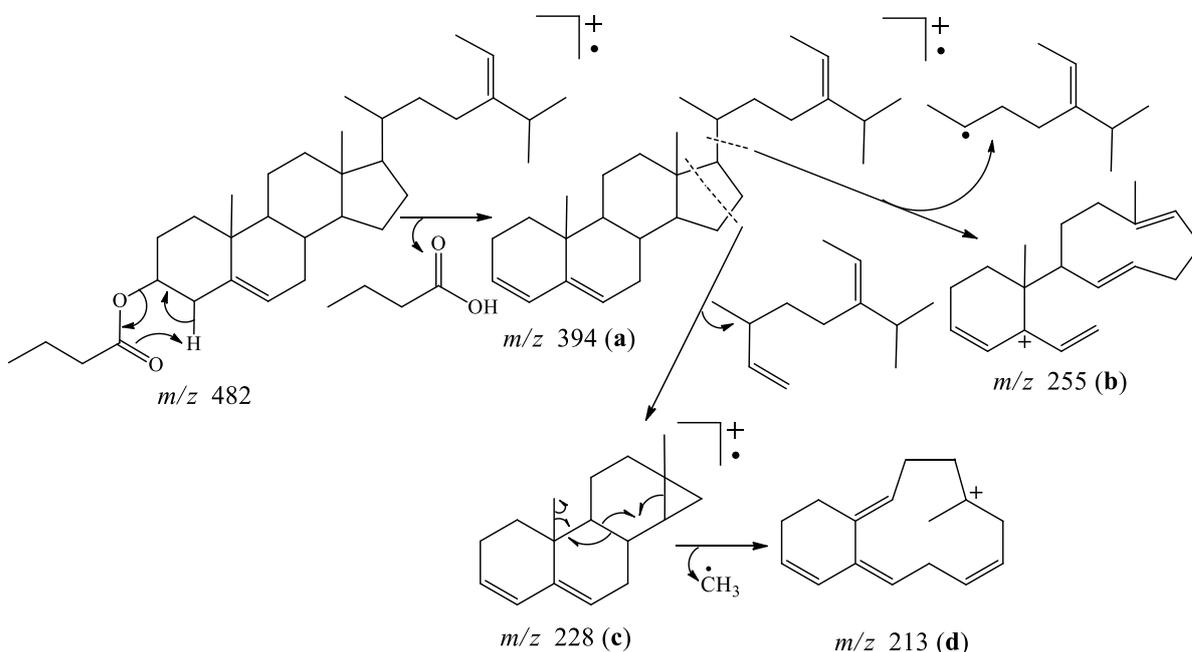
Fonte: o próprio autor.

### 6.3.2 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 44, pág. 112) de **F-2** observou-se o aparecimento da banda de absorção em  $1733\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster confirmando a reação de esterificação (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas de **F-2** (Fig. 45, pág. 113) mostrou o íon com  $m/z$  394 (**a**) referente à eliminação de ácido butanoico, além de íons com  $m/z$  255 (**b**) e 228 (**c**), correspondentes à eliminação da cadeia lateral em C-17 e ruptura do anel **D**, respectivamente. Observou-se ainda no espectro o íon com  $m/z$  213 (**d**), referente à perda do radical metila a partir do íon  $m/z$  228, conforme mostrado na Figura 42 (pág. 111).

Figura 42 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



Fonte: o próprio autor.

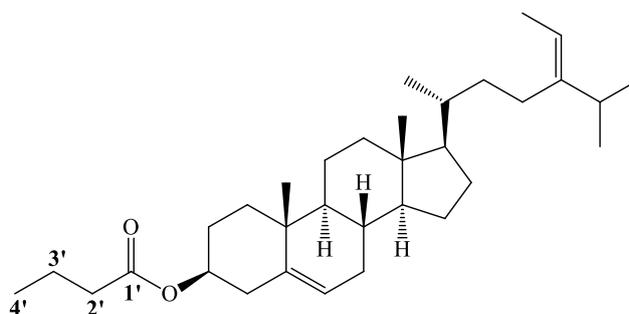
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 46 e 47, pág. 113 e 114, respectivamente) confirmou através do sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,27 (*t*) a existência de hidrogênios metílicos pertencente à função éster. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono (Tabela 6, pág. 133) do produto acilado **F-2** foram comparados com os dados do fucosterol (**F**) através da utilização dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT 135°).

Quando se compara os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do fucosterol (**F**) com o do produto acilado **F-2** pode ser verificado que houve deslocamento do sinal do hidrogênio H-3, devido à presença do grupo éster, que deixa esse hidrogênio mais desprotegido devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila (PAVIA *et al.*, 2010).

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 48, pág. 115) mostrou a presença de sinais em  $\delta_{\text{C}}$  173,38 e em  $\delta_{\text{C}}$  13,87 atribuídos aos carbonos carbonílico de éster e ao carbono metílico do grupo butanoíla, respectivamente. A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN DEPT 135° (Fig. 49, pág. 116) possibilitou a identificação de dois carbonos metilênicos, sendo um em  $\delta_{\text{C}}$  36,81 e o outro em  $\delta_{\text{C}}$  18,77. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono estão mostrados na Tabela 6 (pág. 133).

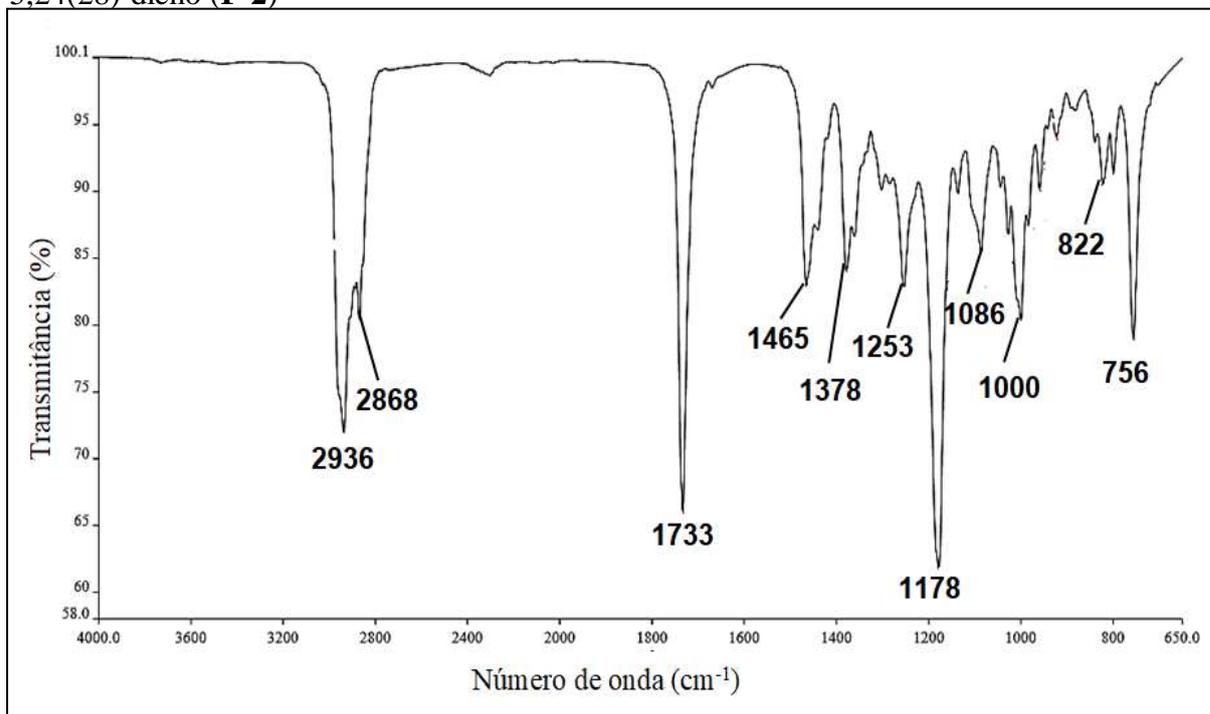
A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto esterificado como  $(3\beta,20R,24E)$ -3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**), cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 43.

Figura 43 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



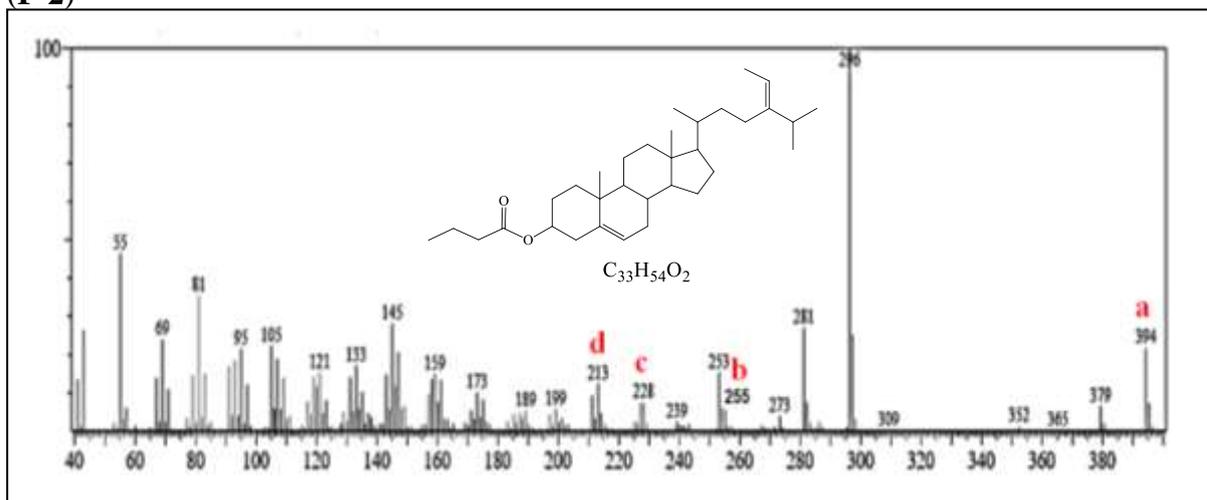
Fonte: o próprio autor.

Figura 44 – Espectro na região do infravermelho (ATR) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



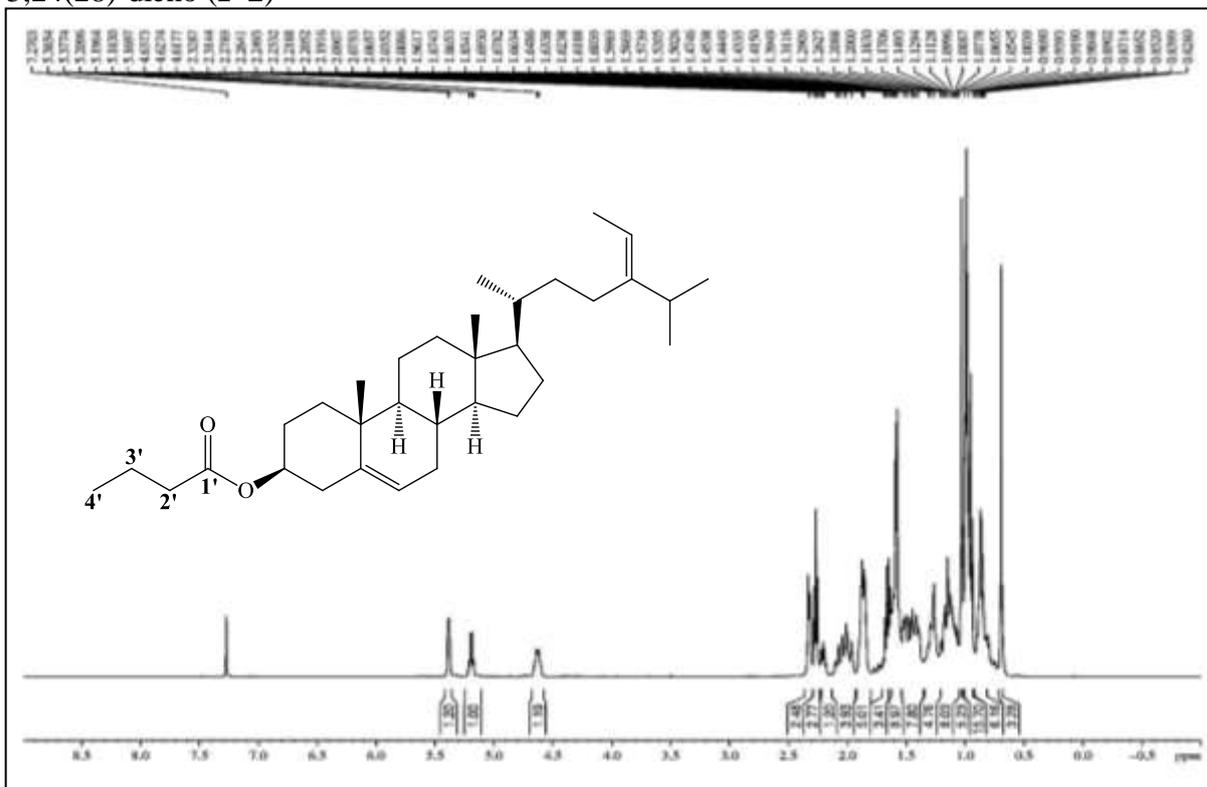
Fonte: o próprio autor.

Figura 45 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



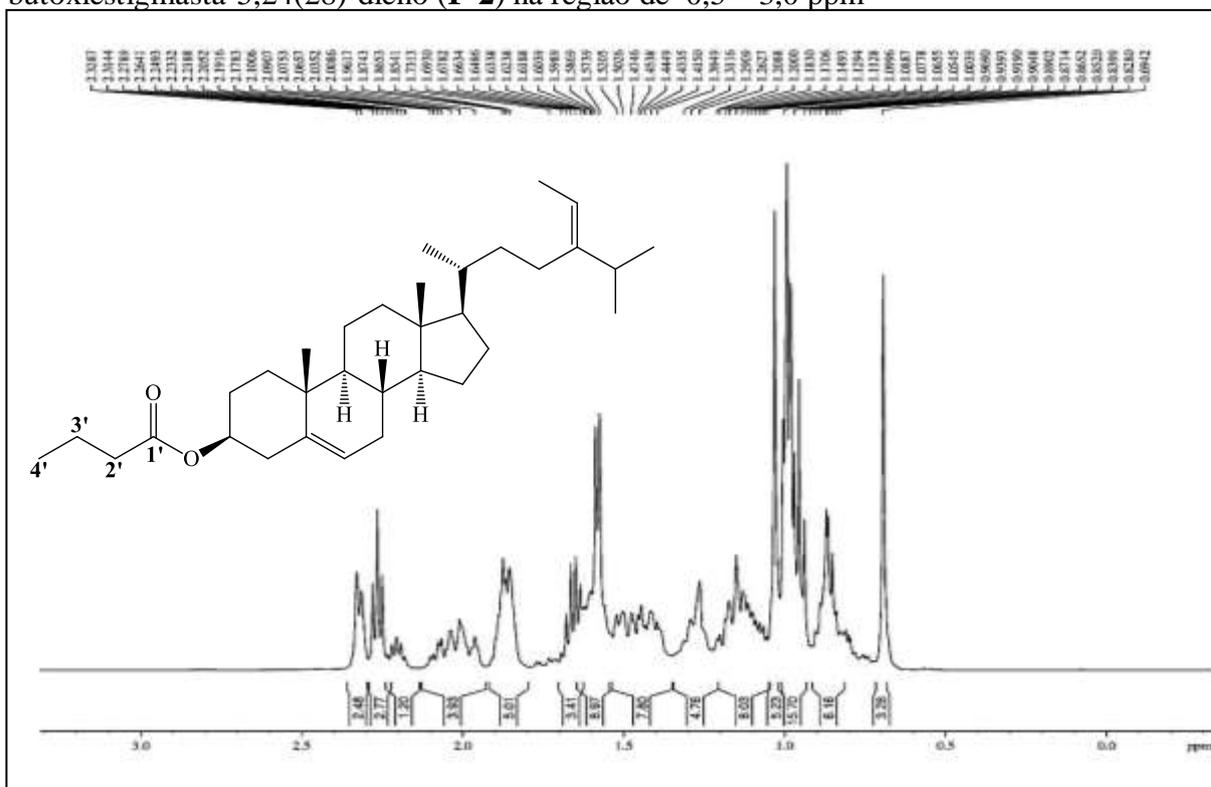
Fonte: o próprio autor.

Figura 46 – Espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



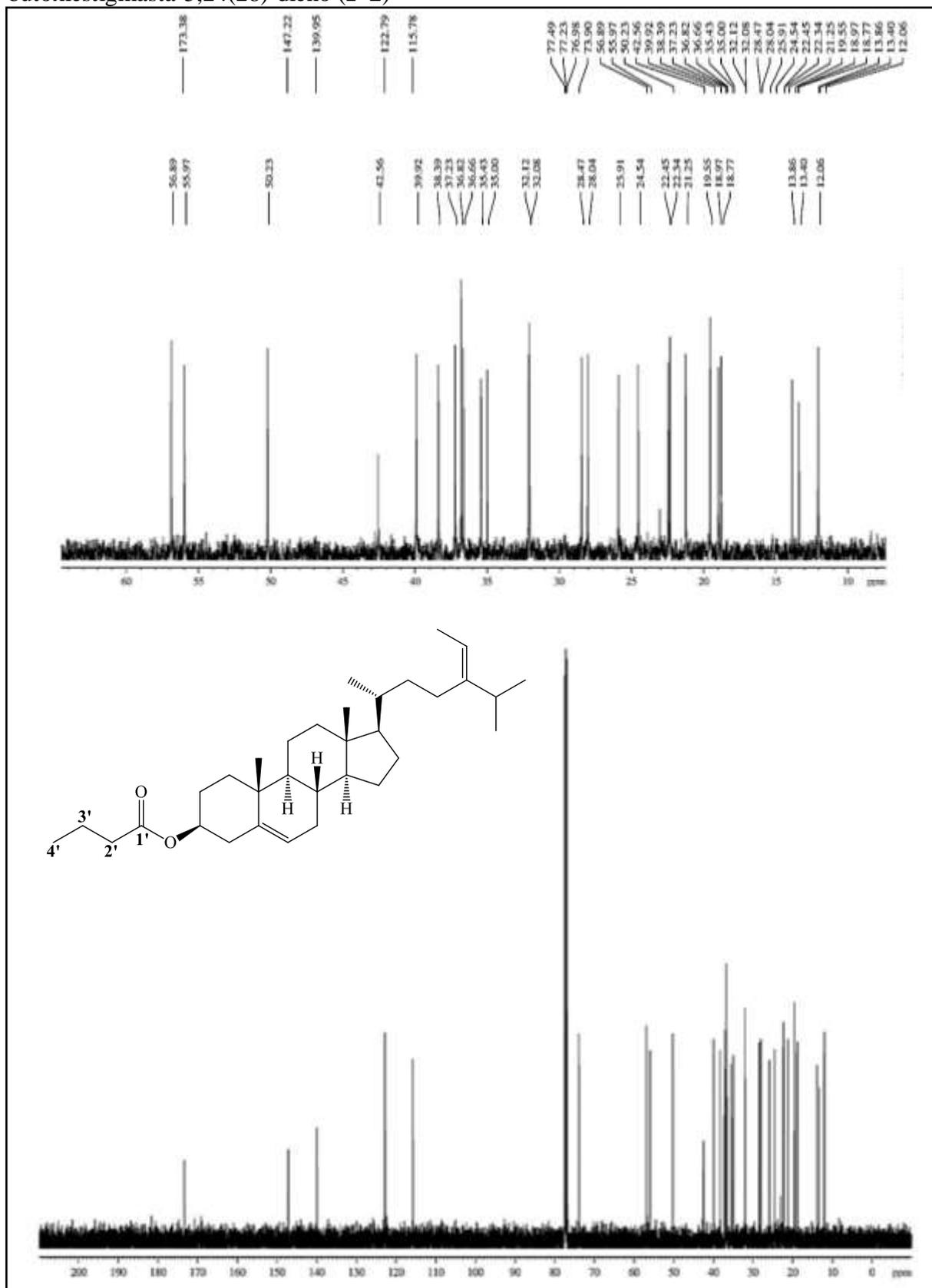
Fonte: o próprio autor.

Figura 47 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $E$ )-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**) na região de 0,5 – 3,0 ppm



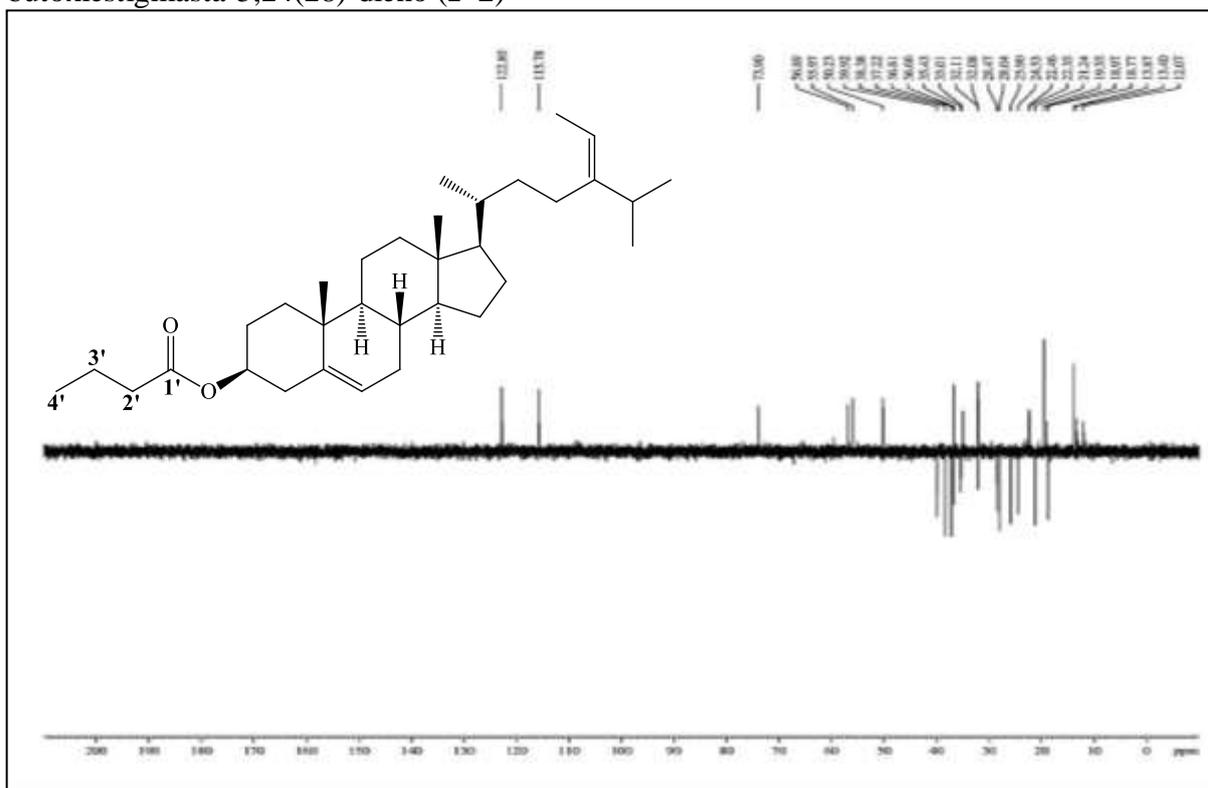
Fonte: o próprio autor.

Figura 48 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-2)



Fonte: o próprio autor.

Figura 49 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-butoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-2**)



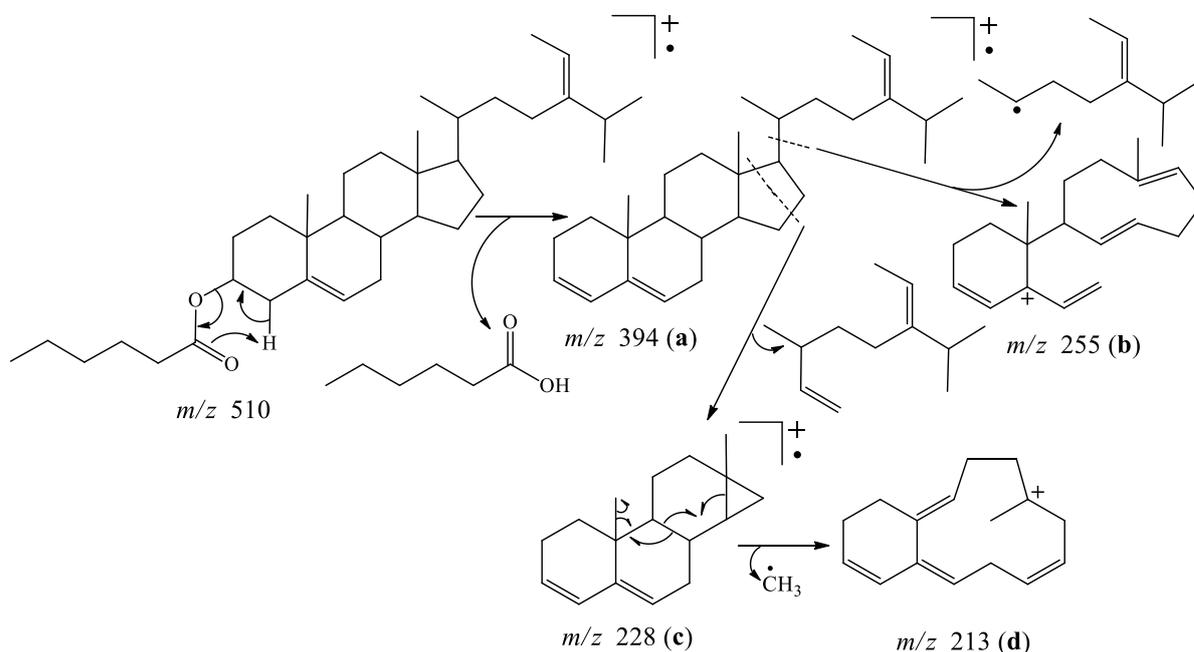
Fonte: o próprio autor.

### 6.3.3 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 52, pág. 118) do derivado **F-3** (Fig. 51, pág. 118) apresentou bandas de absorção em  $1736\text{ cm}^{-1}$  e  $1175\text{ cm}^{-1}$ , associadas à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e  $\text{C}_{\text{sp}^3}-\text{O}$  de éster, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de massas de **F-3** (Fig. 53, pág. 119) observou-se o íon com  $m/z$  394 (**a**), correspondente à eliminação de ácido hexanoico e um fragmento com  $m/z$  255 (**b**), referente à saída da cadeia lateral em C-17. Foram também observados fragmentos relacionados à ruptura do anel **D** com  $m/z$  228 (**c**) e posterior perda do radical metila, originando o íon com  $m/z$  213 (**d**), conforme apresentado Figura 50 (pág. 117).

Figura 50 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)

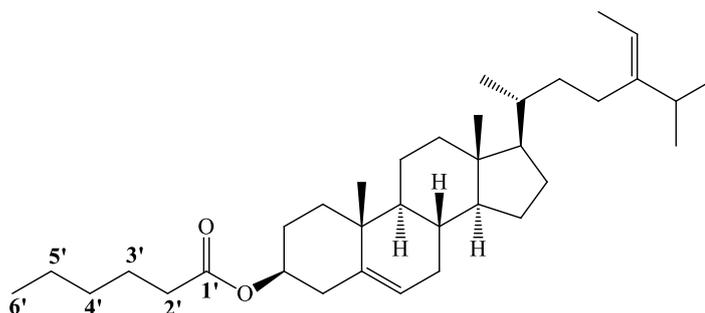


Fonte: o próprio autor.

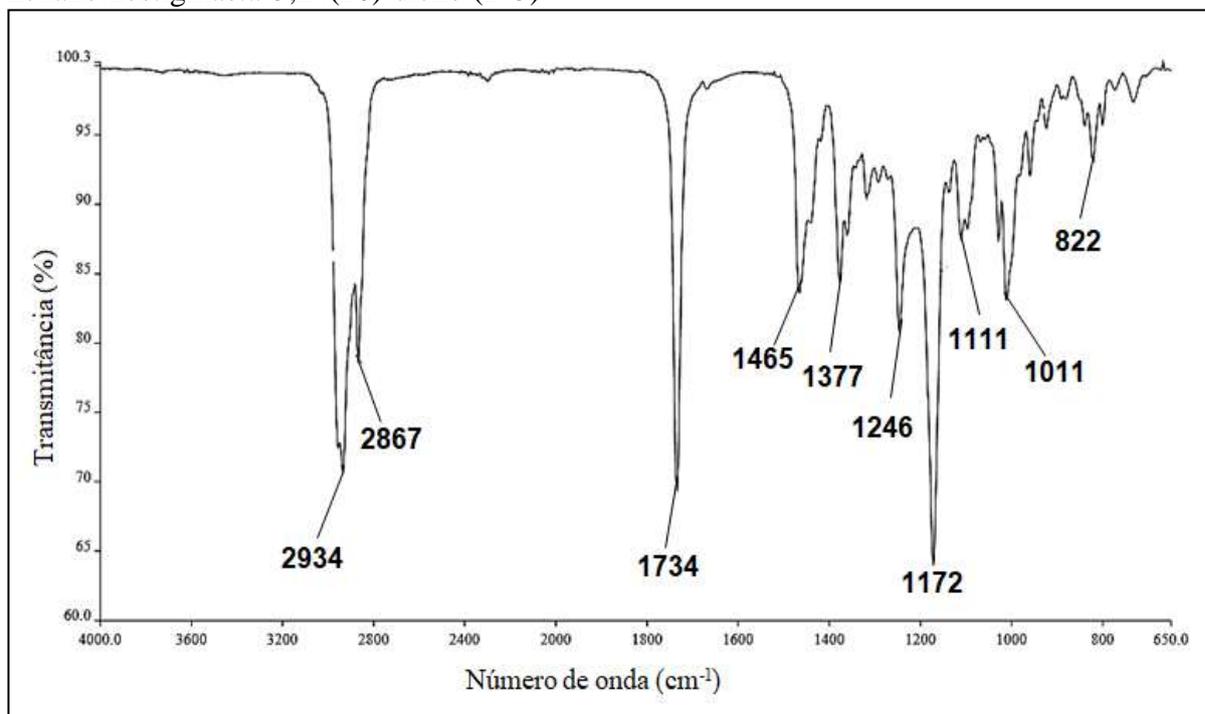
Através da análise do espectro RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 54, pág.119) observou-se o deslocamento do sinal referente ao H-3, ou seja, de  $\delta_H$  3,52 no correspondente espectro do fucosterol (**F**) para  $\delta_H$  4,60 no espectro do produto acilado, devido ao efeito de desproteção induzido conferido pela carbonila (PAVIA *et al.*, 2010). Na região entre  $\delta_H$  0,5 a 2,5 ppm, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do derivado **F-3** se mostrou semelhante ao espectro do substrato (Fig. 55, pág. 120).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 56, pág. 121) e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 57, pág. 122) do derivado **F-3** foi possível observar o sinal em  $\delta_c$  173,52 referente à carbonila do éster e cinco sinais em  $\delta_c$  34,91, em  $\delta_c$  32,14, em  $\delta_c$  24,97, em  $\delta_c$  22,54 e em  $\delta_c$  14,12 atribuídos aos carbonos metilênicos e metílicos do grupo hexanoíla.

Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado acilado **F-3** encontram-se apresentados na Tabela 6 (pág. 133) e foram comparados com os dados do fucosterol (**F**) através da utilização dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e APT).

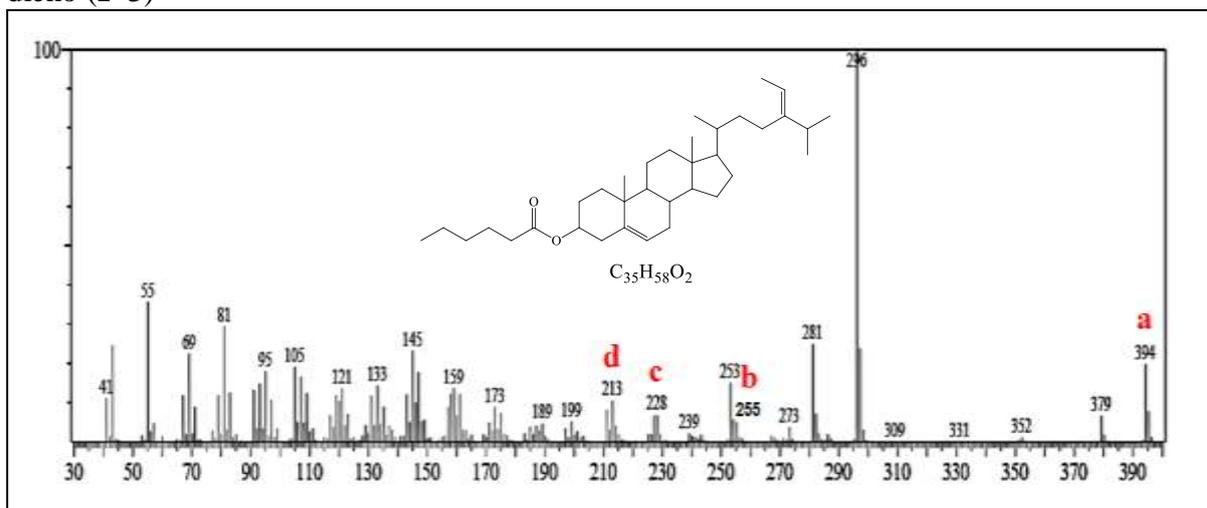
Figura 51 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-3)

Fonte: o próprio autor.

Figura 52 – Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-3)

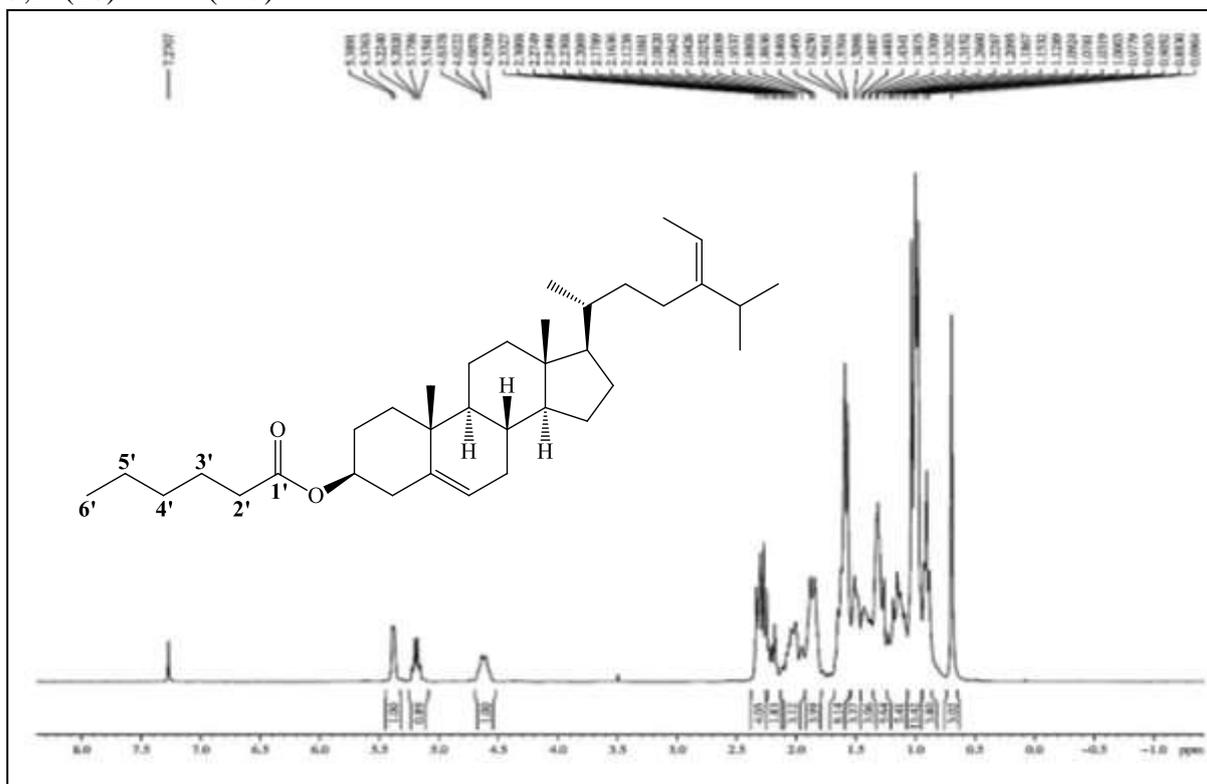
Fonte: o próprio autor.

Figura 53 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)



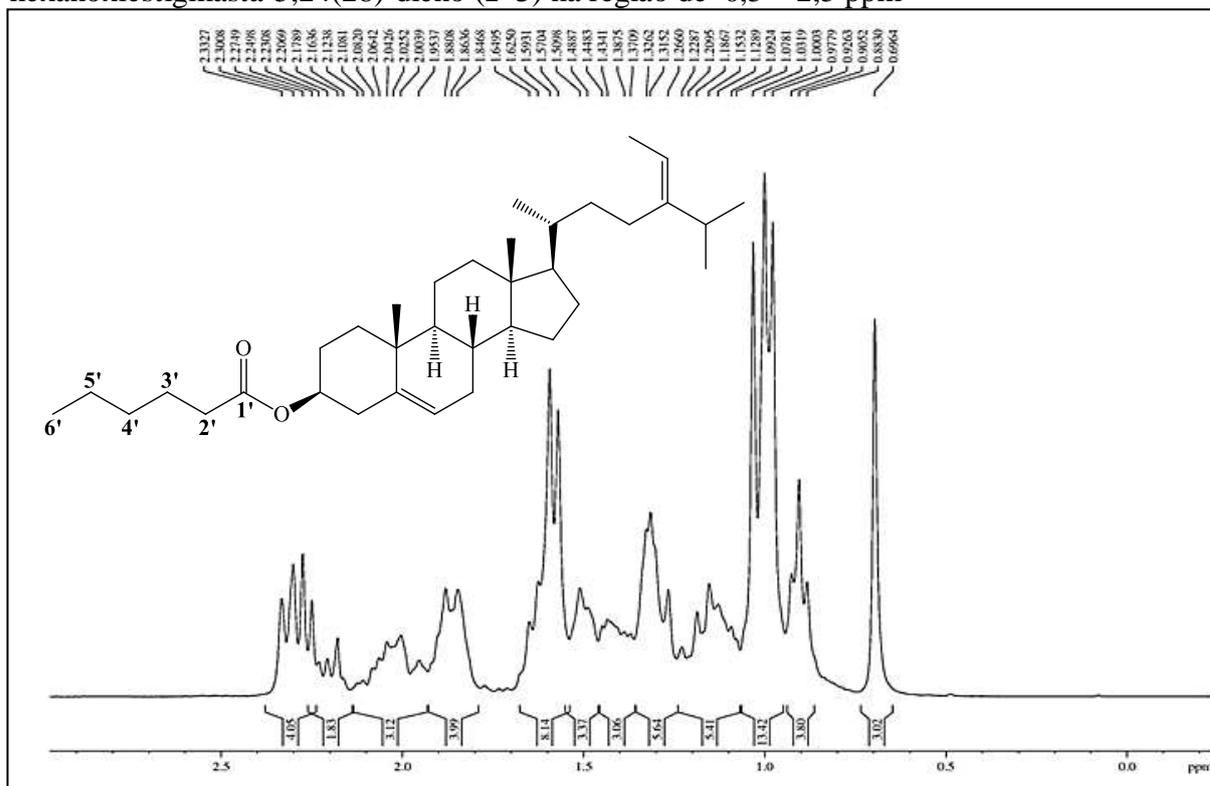
Fonte: o próprio autor.

Figura 54 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)



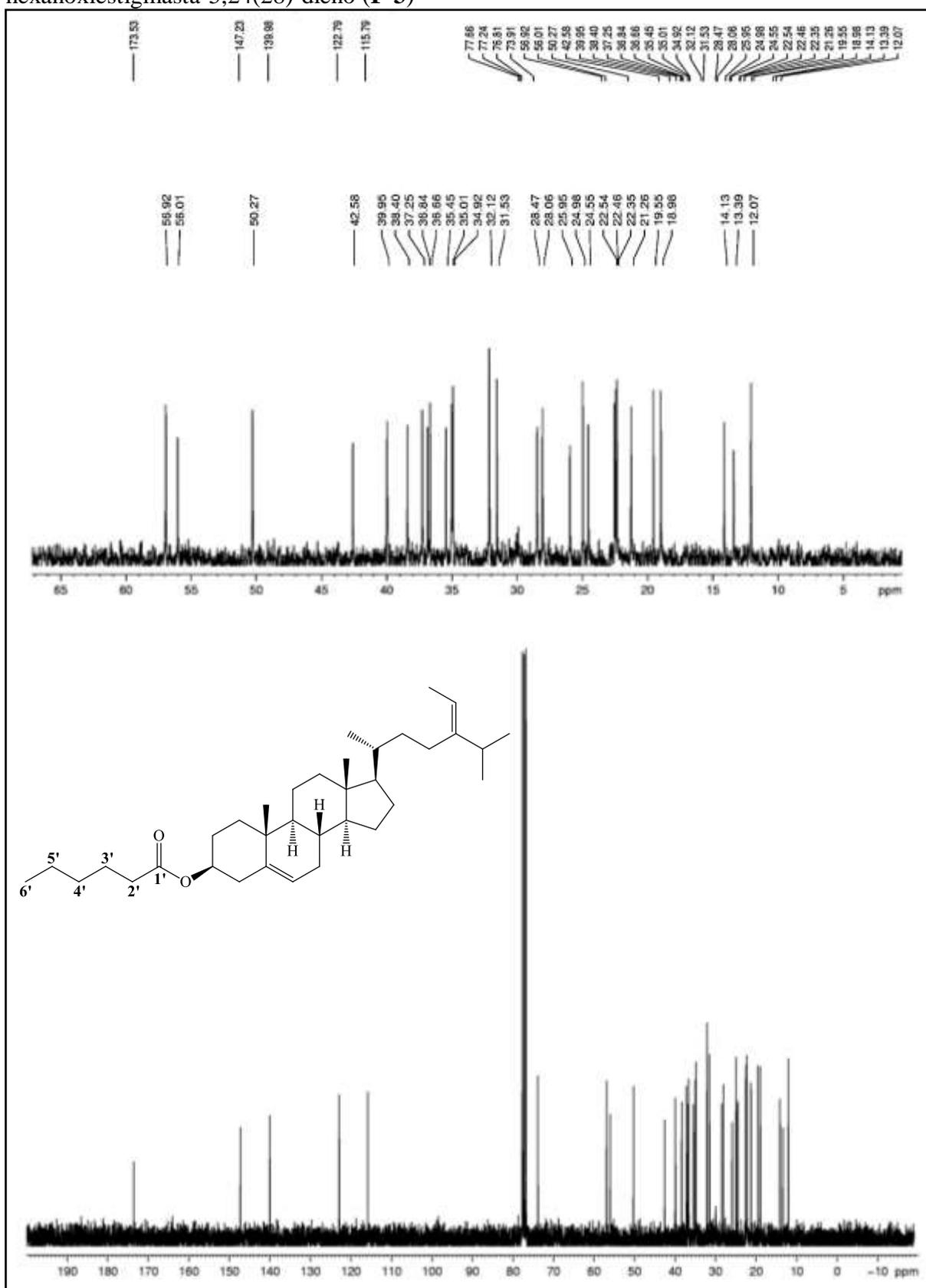
Fonte: o próprio autor.

Figura 55 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**) na região de 0,5 – 2,5 ppm



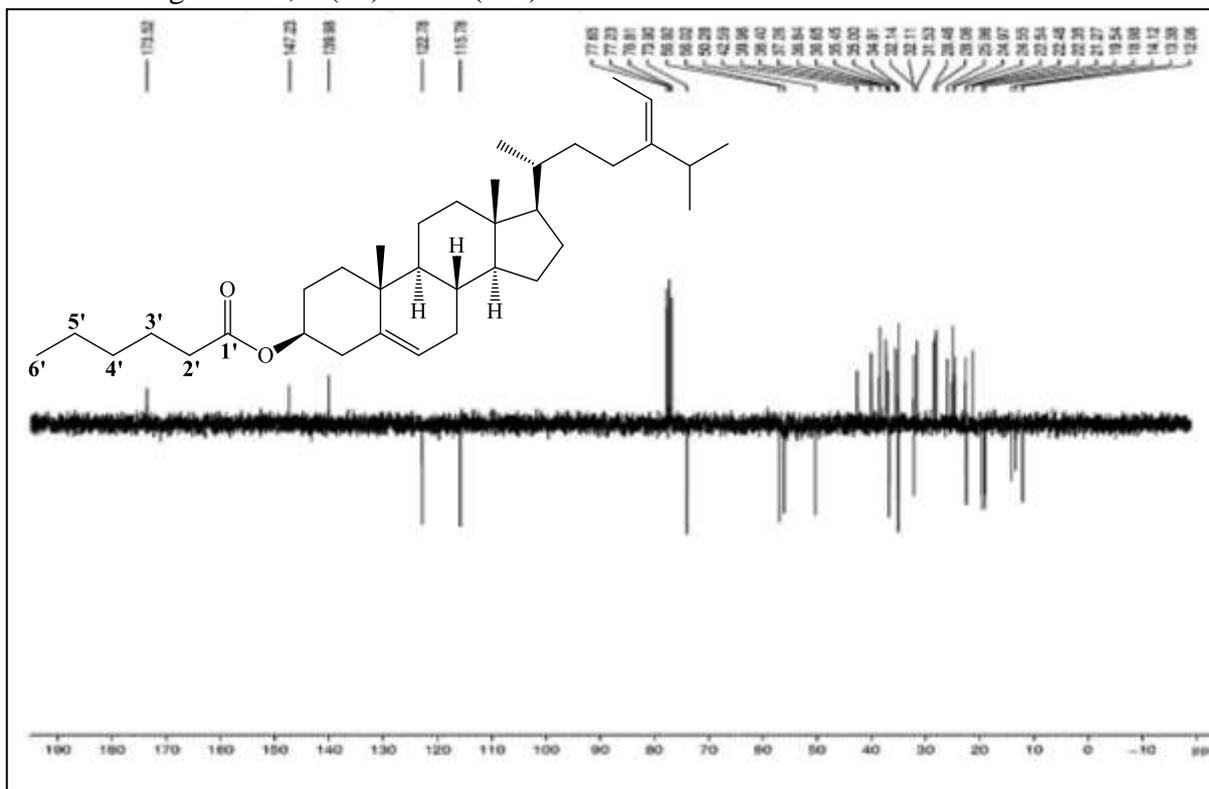
Fonte: o próprio autor.

Figura 56 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 57 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**)



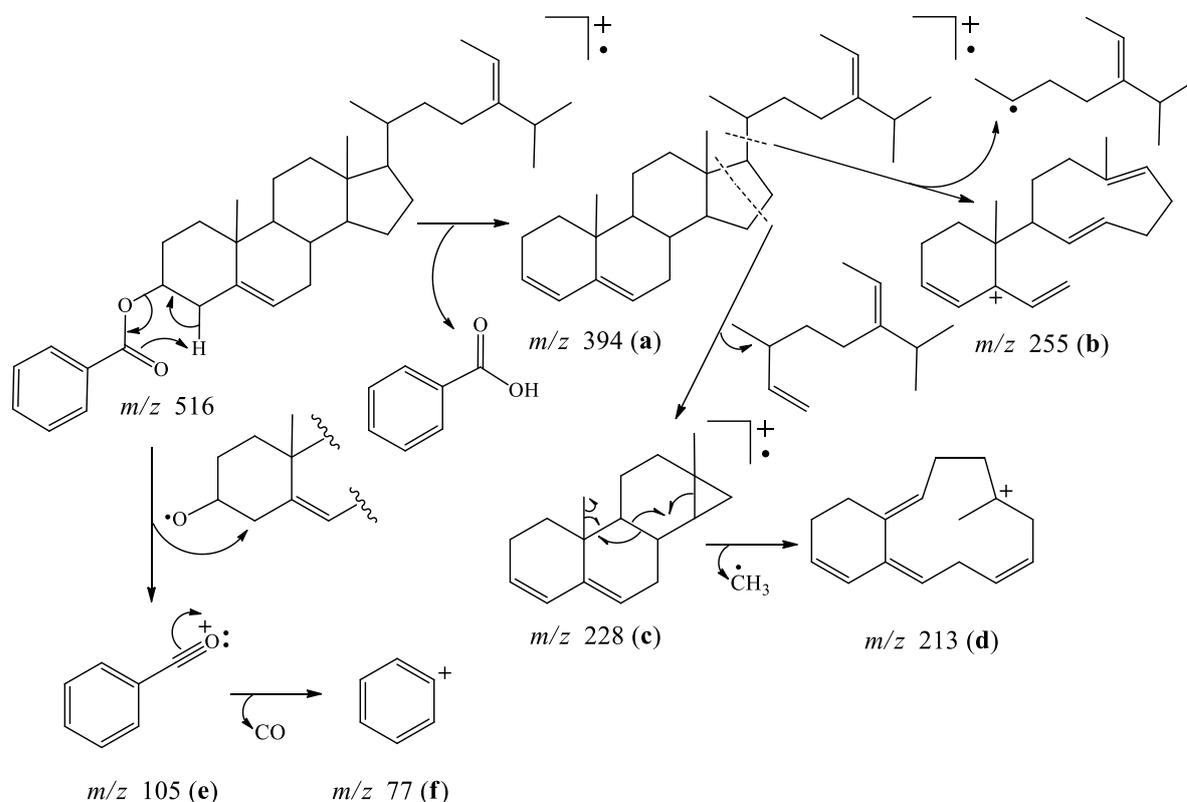
Fonte: o próprio autor.

#### 6.3.4 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 60, pág. 124) do derivado **F-4** observou-se o aparecimento de duas bandas de absorção: uma em  $1713\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial da carbonila de éster e a outra em  $1451\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos. Além disso, foram observadas bandas de absorção em  $710\text{ cm}^{-1}$  e  $699\text{ cm}^{-1}$  que foram associadas a bandas de absorção de compostos aromáticos monossustituídos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas de **F-4** (Fig. 61, pág. 125) apresentou os picos  $m/z$  394 (**a**) referente à eliminação de ácido benzoico,  $m/z$  255 (**b**) correspondente à saída da cadeia lateral em C-17, bem como os íons com  $m/z$  228 (**c**) relacionados à ruptura do anel **D** e  $m/z$  213 (**d**) que é formado a partir do íon com  $m/z$  228 (**c**), seguido de perda de radical metila. Além disso, o espectro também exibiu o íon com  $m/z$  105 (**e**) que envolve a perda de radical alcóxila e posterior saída de  $\text{CO}$  com  $m/z$  77 (**f**), conforme mostrado na Figura 58 (pág. 123).

Figura 58 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



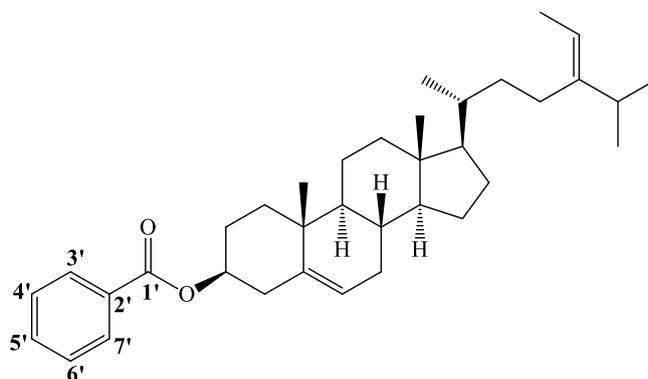
Fonte: o próprio autor.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 62 e 63, pág. 125 e 126, respectivamente) foi detectada a presença de um multipeto em  $\delta_H$  4,87 referente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbinólico que está mais desprotegido com relação ao do substrato em  $\delta_H$  3,52, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila em C-3. Além disso, foi verificada a presença de um dupeto em  $\delta_H$  8,05 ( $J = 7,1$  Hz, 2H) correspondente aos hidrogênios H-3' e H-7'; dois tripletos, sendo um em  $\delta_H$  7,5 ( $J = 7,3$  Hz, 1H) referente ao hidrogênio H-5' e o outro em  $\delta_H$  7,4 ( $J = 7,3$  Hz, 2H) atribuídos aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático monossustituído.

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 64, pág. 127) do produto esterificado **F-4** foi possível observar o surgimento de sinal em  $\delta_C$  166,23 atribuído à carbonila de éster e dos sinais referentes aos carbonos aromáticos em  $\delta_C$  132,93 (C-5'), em  $\delta_C$  129,76 (C-3' e C-7'), em  $\delta_C$  128,48 (C-4' e C-6') e em  $\delta_C$  131,09 (C-2'). Outros sinais compatíveis com o esqueleto do esteroide também foram observados por meio da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (Fig. 65, pág. 128).

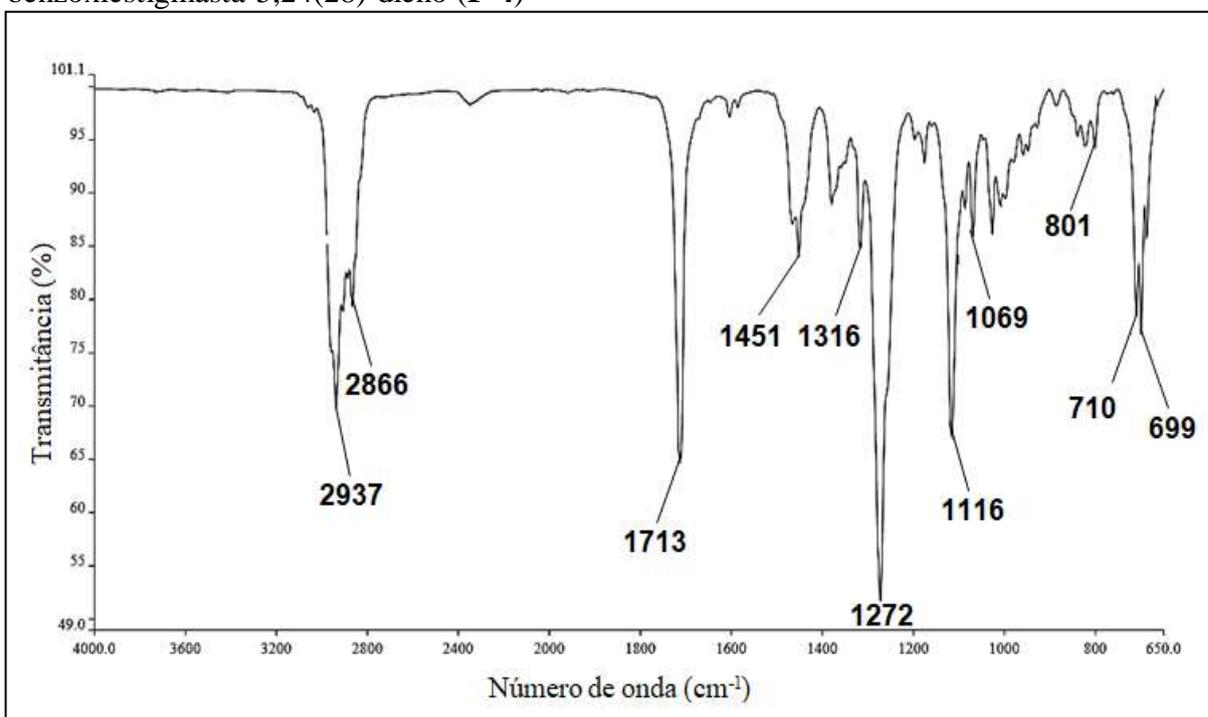
Na Tabela 6 (pág. 133) são mostrados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado acilado **F-4**, cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 59.

Figura 59 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



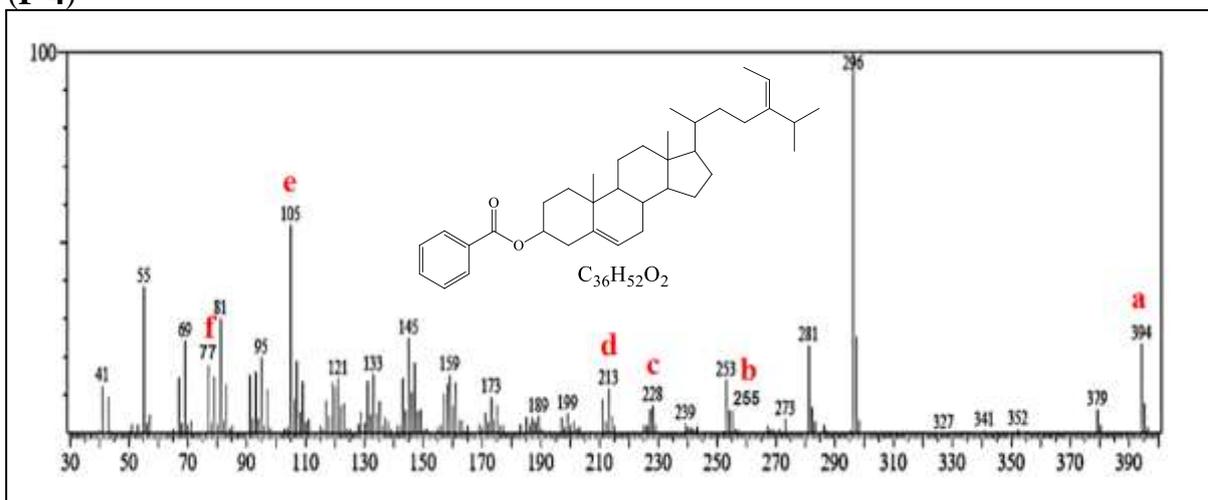
Fonte: o próprio autor.

Figura 60 – Espectro na região do infravermelho (ATR) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



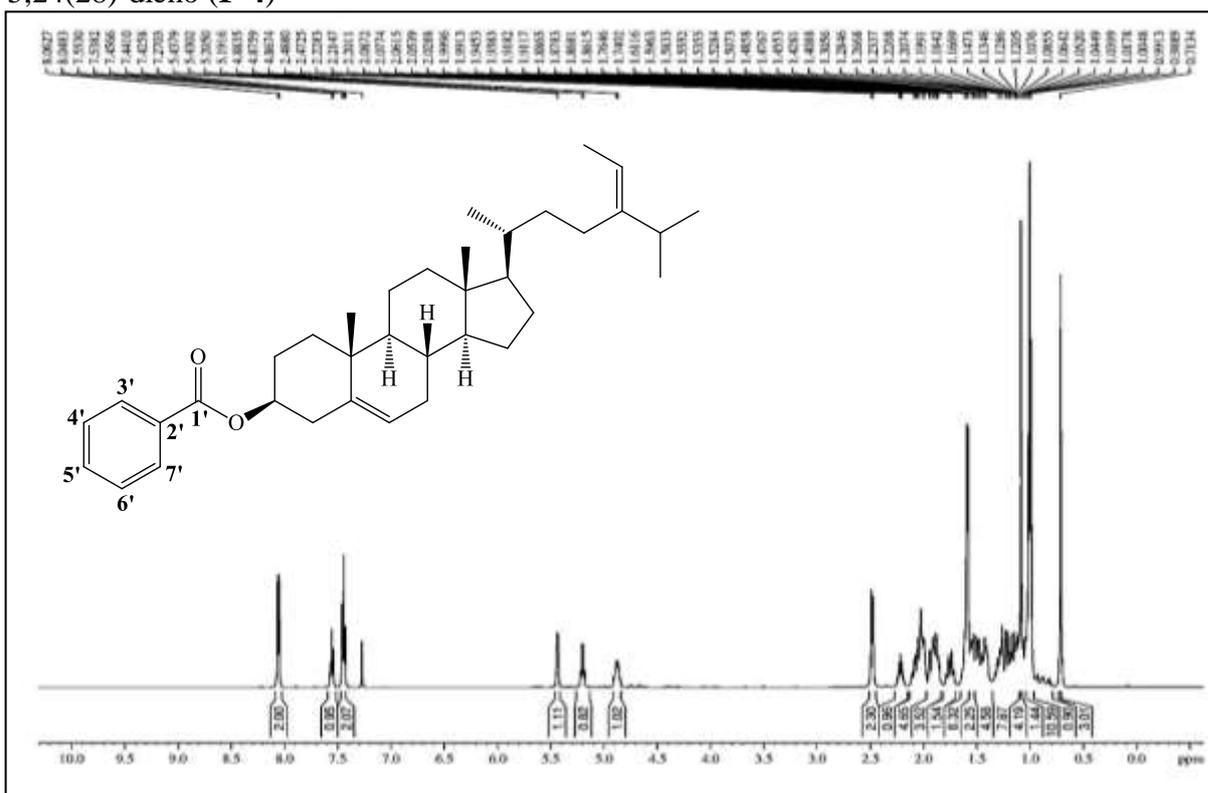
Fonte: o próprio autor.

Figura 61 – Espectro de massas CG-EM de ( $3\beta,20R,24E$ )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



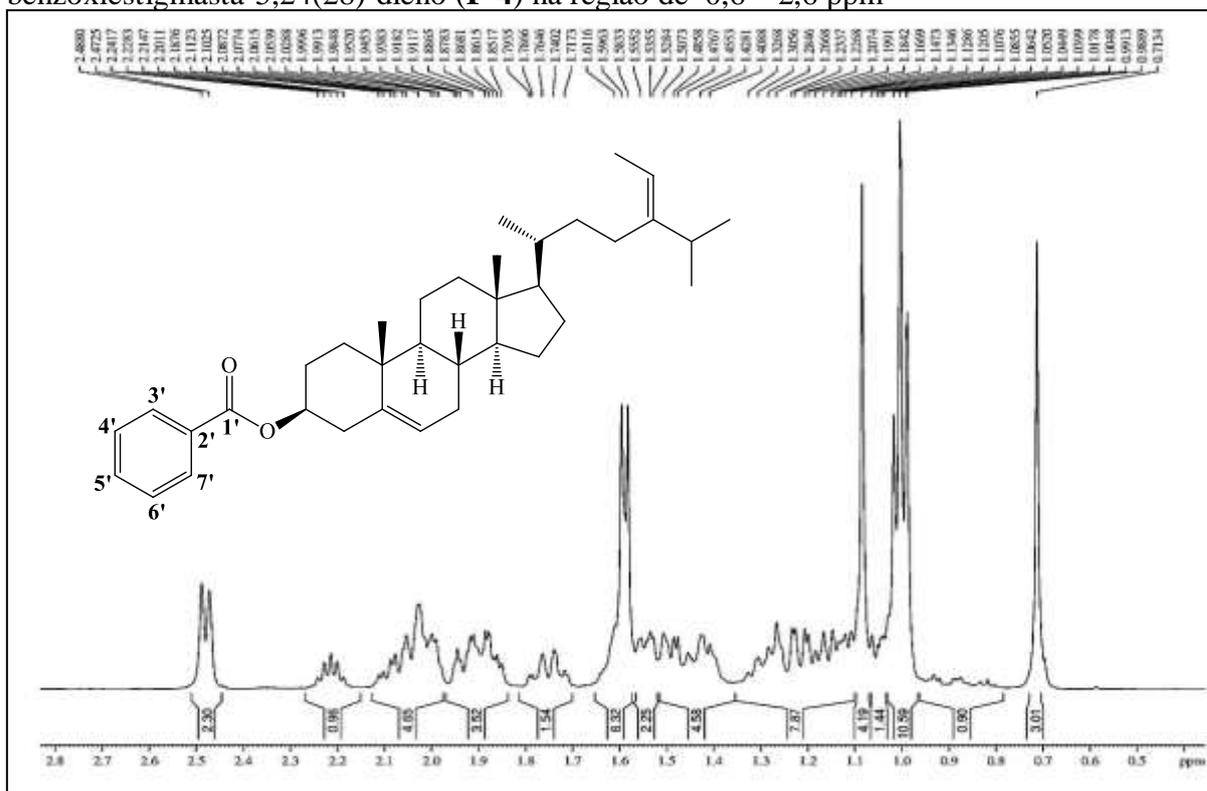
Fonte: o próprio autor.

Figura 62 – Espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ) de ( $3\beta,20R,24E$ )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



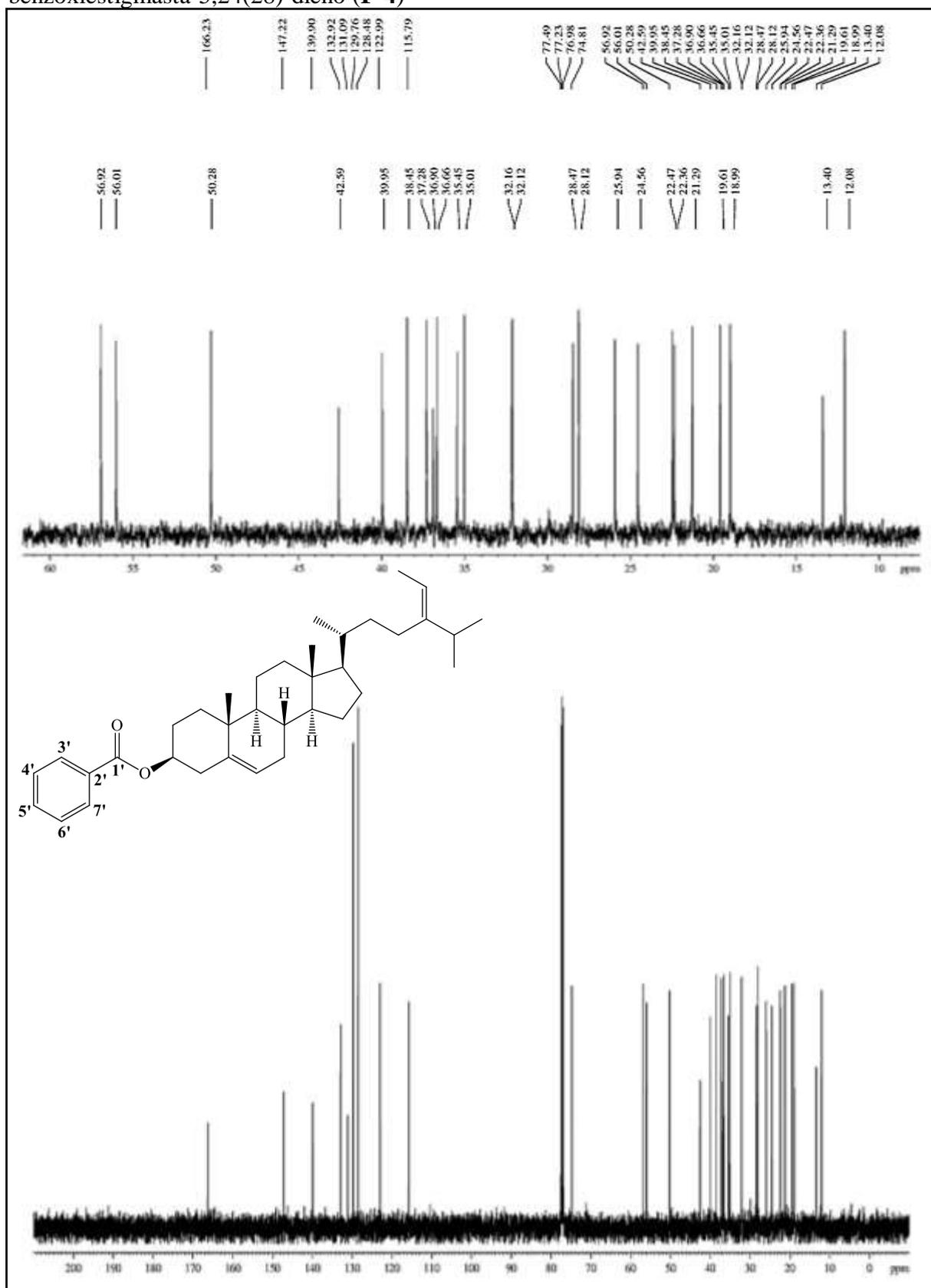
Fonte: o próprio autor.

Figura 63 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



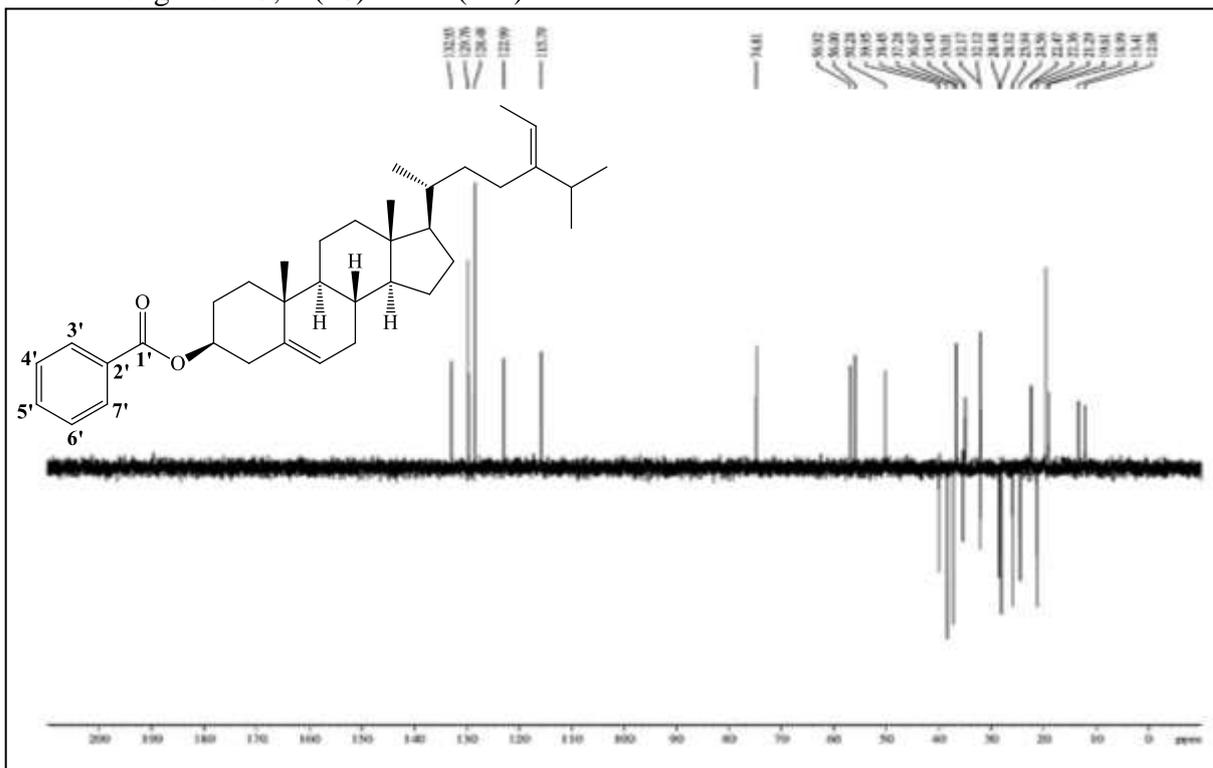
Fonte: o próprio autor.

Figura 64 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $E$ )-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-4)



Fonte: o próprio autor.

Figura 65 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-benzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-4**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.3.5 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**)

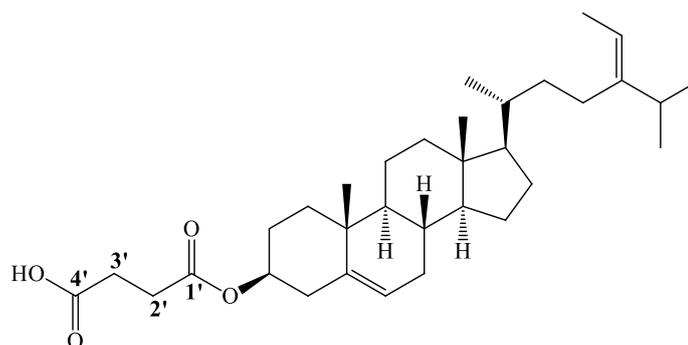
O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 67, pág. 129) do derivado **F-5** (Fig. 66, pág. 129) mostrou banda em  $3396\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de ligação O–H e bandas em  $1728\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de carbonila de ácido e em  $1706\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de carbonila de éster, além de uma banda em  $1173\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação C–O de éster (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 68 e 69, pág. 130) foi observada a presença de um sinal em  $\delta_H$  4,63 referente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico e dois tripletos, um em  $\delta_H$  2,60 ( $J = 6,5\text{ Hz}$ , 2H) e o outro em  $\delta_H$  2,67 ( $J = 6,2\text{ Hz}$ , 2H) atribuídos a hidrogênios H-2' e H-3', que se encontram em posição  $\alpha$  às carbonilas, respectivamente.

A análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 70, pág. 131) e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (Fig. 71, pág. 132) do derivado **F-5** permitiu observar sinais em  $\delta_C$  171,79 (C-1') e em  $\delta_C$  177,98 (C-4') atribuídos às carbonilas de éster e de ácido,

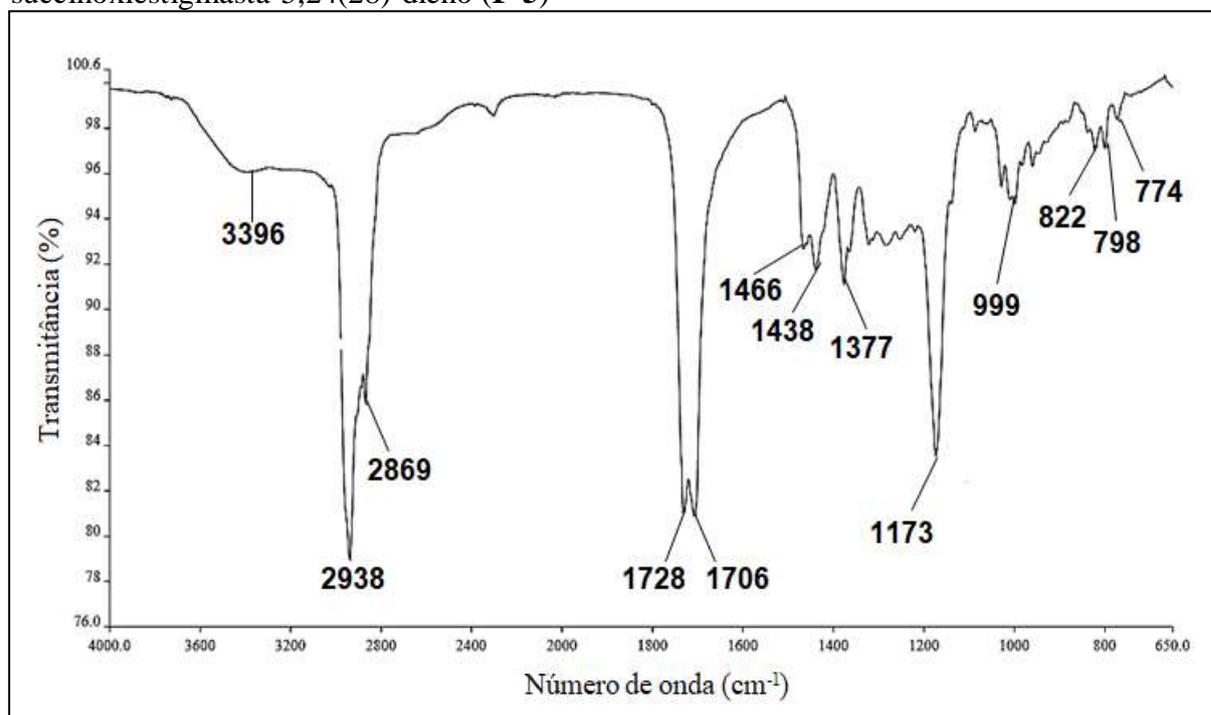
respectivamente. Observou-se também o surgimento de dois sinais em  $\delta_c$  29,44 e em  $\delta_c$  29,17 atribuídos aos carbonos metilênicos, além de outros sinais referentes aos carbonos do esqueleto esteroidal (Tabela 6, pág. 133).

Figura 66 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-5)



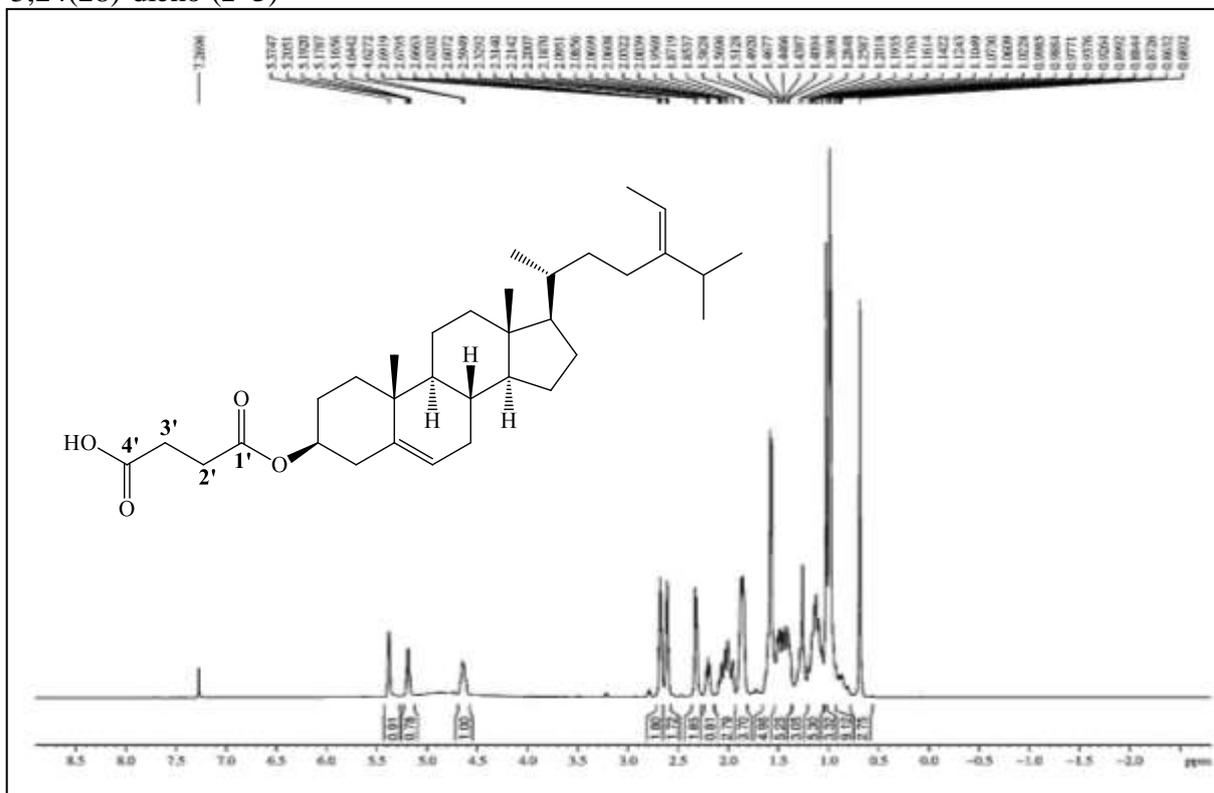
Fonte: o próprio autor.

Figura 67 – Espectro na região do infravermelho (ATR) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-5)



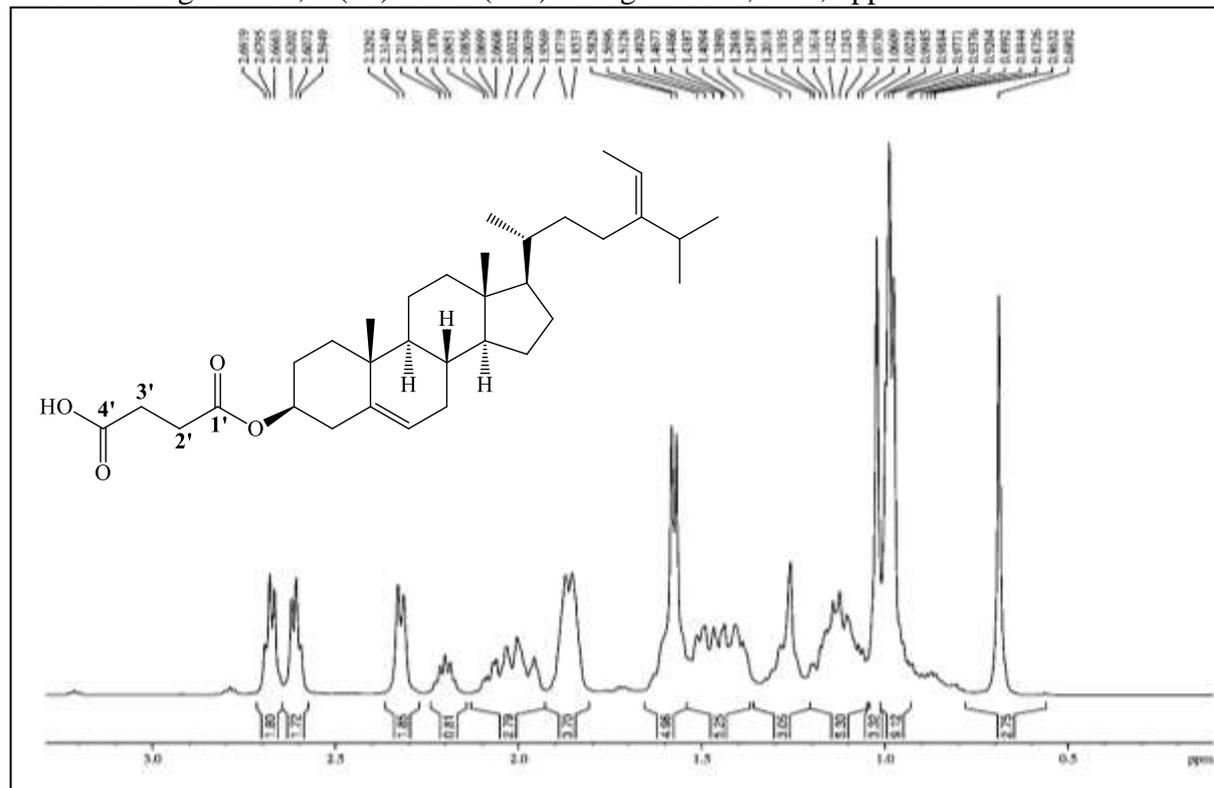
Fonte: o próprio autor.

Figura 68 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-succinoiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**)



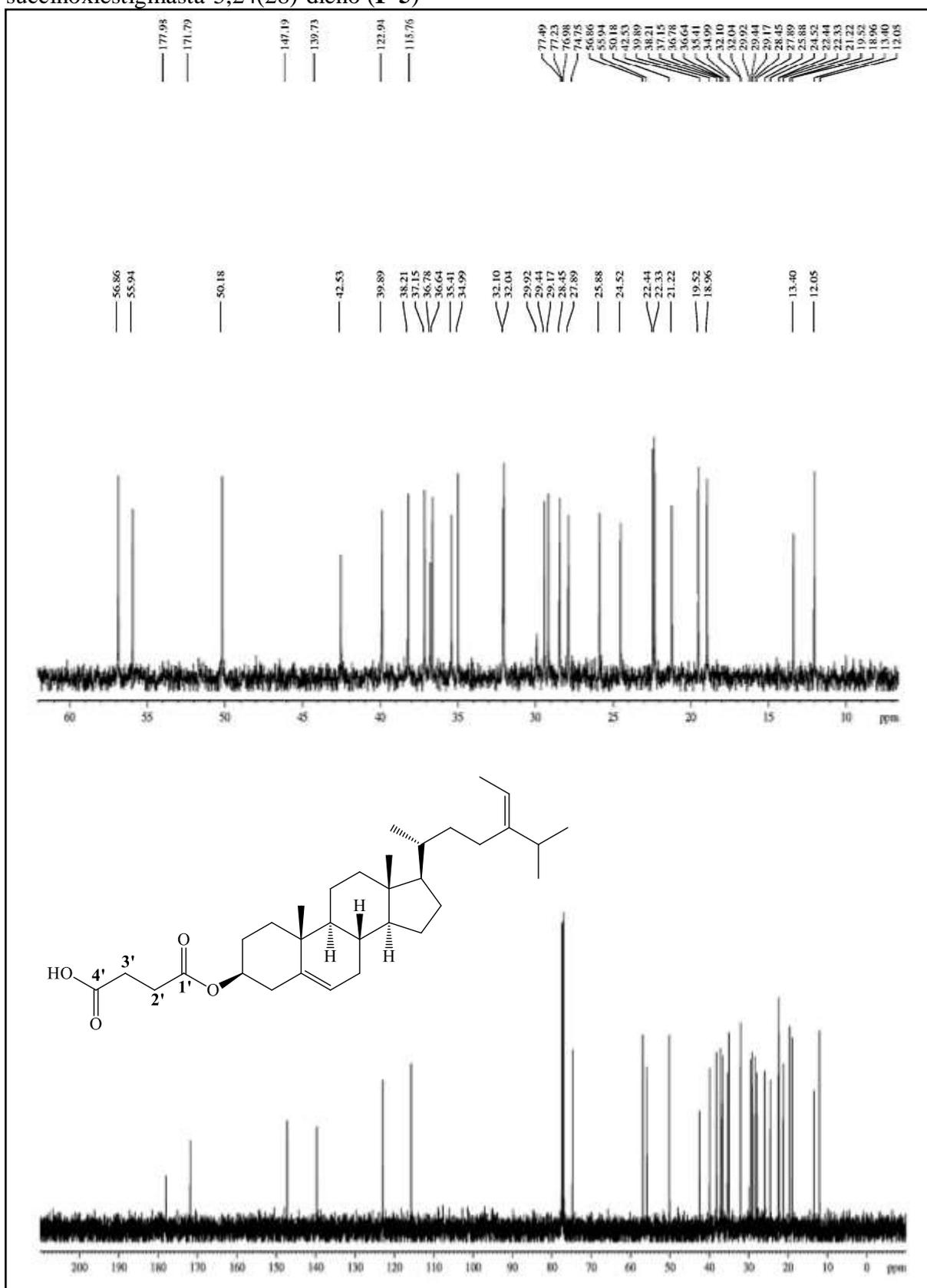
Fonte: o próprio autor.

Figura 69 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-succinoiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**) na região de 0,5 – 3,0 ppm



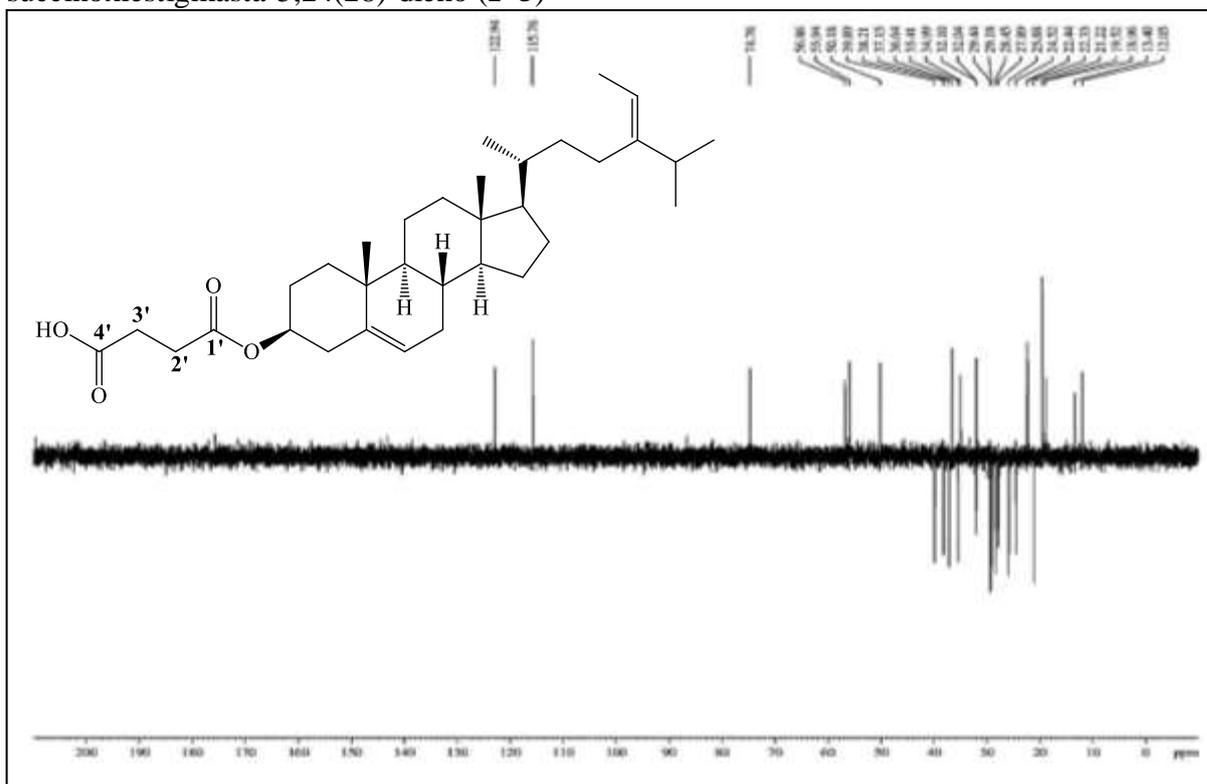
Fonte: o próprio autor.

Figura 70 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $E$ )-3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 71 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**)



Fonte: o próprio autor.

Tabela 6 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do fucosterol (**F**) e dos derivados **F-1**, **F-2**, **F-3**, **F-4** e **F-5**

<b>C</b>	<b>Derivados do fucosterol</b>					
	<b>Fucosterol</b>	<b>F-1</b>	<b>F-2</b>	<b>F-3</b>	<b>F-4</b>	<b>F-5</b>
1	37,48	37,22	37,22	37,26	37,28	37,15
2	31,88	28,00	28,04	28,06	28,12	27,89
3	72,03	74,22	73,90	73,90	74,81	74,76
4	42,52	39,93	39,92	39,96	39,95	39,89
5	140,99	139,89	139,95	139,98	139,90	139,73
6	121,93	122,87	122,80	122,78	122,99	122,94
7	31,88	32,12	32,11	31,53	32,17	32,10
8	32,13	32,09	32,08	32,11	32,12	32,04
9	50,36	50,25	50,23	50,28	50,28	50,18
10	36,74	36,83	36,83	36,84	36,90	36,78
11	21,31	21,25	21,24	21,27	21,29	21,22
12	39,98	38,35	38,38	38,40	38,45	38,21
13	42,58	42,58	42,56	42,59	42,59	42,53
14	56,98	56,90	56,89	56,92	56,92	56,86
15	24,55	24,54	24,53	24,55	24,56	24,52
16	28,46	28,47	28,47	28,46	28,48	28,45
17	56,01	55,98	55,97	56,02	56,00	55,94
18	12,07	12,07	12,07	12,06	12,08	12,05
19	19,62	19,54	19,55	19,54	19,61	19,52
20	36,65	36,66	36,66	36,65	36,67	36,64
21	18,98	18,98	18,97	18,98	18,99	18,96
22	35,45	35,44	35,43	35,45	35,45	35,41
23	25,92	25,92	25,90	25,96	25,94	25,88
24	147,22	147,23	147,22	147,23	147,22	147,19
25	35,01	35,01	35,01	35,00	35,01	34,99
26	22,46	22,46	22,46	22,46	22,47	22,44
27	22,35	22,36	22,35	22,35	22,36	22,33
28	115,78	115,79	115,78	115,78	115,79	115,76
29	13,40	13,40	13,40	13,38	13,41	13,40
1'		170,76	173,38	173,52	166,23	171,79
2'		21,67	36,81	34,91	131,09	29,18
3'			18,77	32,14	129,76	29,44
4'			13,87	24,97	128,48	177,98
5'				22,54	132,93	
6'				14,12	128,48	
7'					129,76	

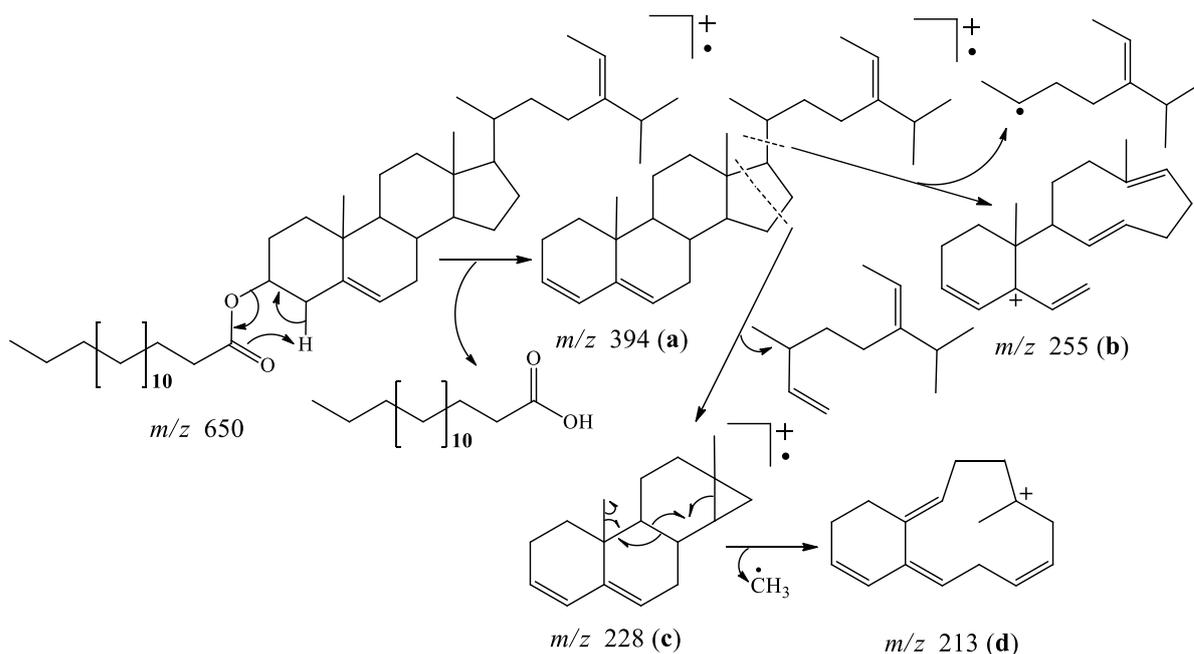
Fonte: o próprio autor.

### 6.3.6 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-6)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 74, pág. 137) do derivado **F-6** (Fig. 73, pág. 135) apresentou bandas de absorção em 1740 cm<sup>-1</sup> e 1177 cm<sup>-1</sup>, associadas à deformação axial de C=O e C<sub>sp3</sub>-O de éster, respectivamente. Também foi observada uma banda de absorção em 725 cm<sup>-1</sup> devida a uma oscilação dos grupos CH<sub>2</sub> em cadeias longas (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de massas de **F-6** (Fig. 75, pág. 137) foram observados os picos correspondentes à eliminação de ácido hexadecanoico com *m/z* 394 (**a**), a saída da cadeia lateral em C-17 com *m/z* 255 (**b**) e à ruptura do anel **D** com *m/z* 228 (**b**), além disso, o espectro mostrou um fragmento com *m/z* 213 (**a**) referente à perda de radical metila a partir do íon com *m/z* 228, conforme mostrado na Figura 72.

Figura 72 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



Fonte: o próprio autor.

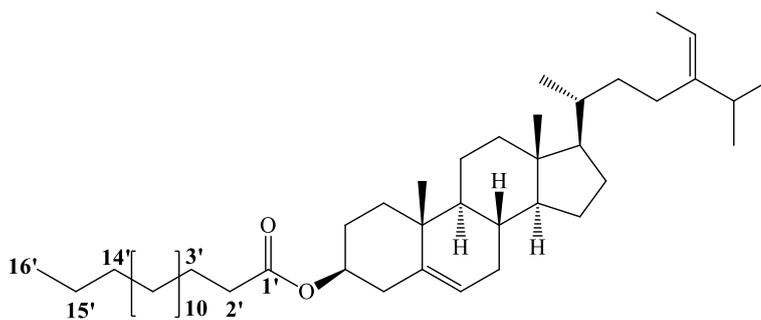
O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 76, pág. 138) apresentou como principal diferença em relação ao respectivo espectro do fucosterol (**F**), o deslocamento do sinal referente ao H-3 do derivado esterificado **F-6** em  $\delta_H$  4,61 que apresenta-se mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52,

devido efeito de desproteção induzido pela carbonila do grupo éster ligado ao C-3 (PAVIA *et al.*, 2010). Na região entre  $\delta_H$  0,5 a 2,5 ppm, o espectro de RMN  $^1H$  (Fig. 77, pág. 138) do derivado **F-6** se mostrou similar ao espectro do substrato.

No espectro de RMN  $^{13}C$ -BB (Fig. 78, pág. 139) e RMN  $^{13}C$ -APT (Fig. 79, pág. 140) do derivado **F-6** foi possível observar o sinal em  $\delta_c$  173,55 referente ao carbono da carbonila do éster e vários sinais na região entre  $\delta_c$  29,82 a 29,34 atribuídos aos carbonos metilênicos (C-3' a C-13') do grupo hexadecanoíla.

Na Tabela 7 (pág. 136) encontram-se apresentados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado esterificado **F-6** e foram comparados com os dados do fucosterol (**F**) por meio da utilização dos espectros de RMN ( $^{13}C$ -BB e APT).

Figura 73 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



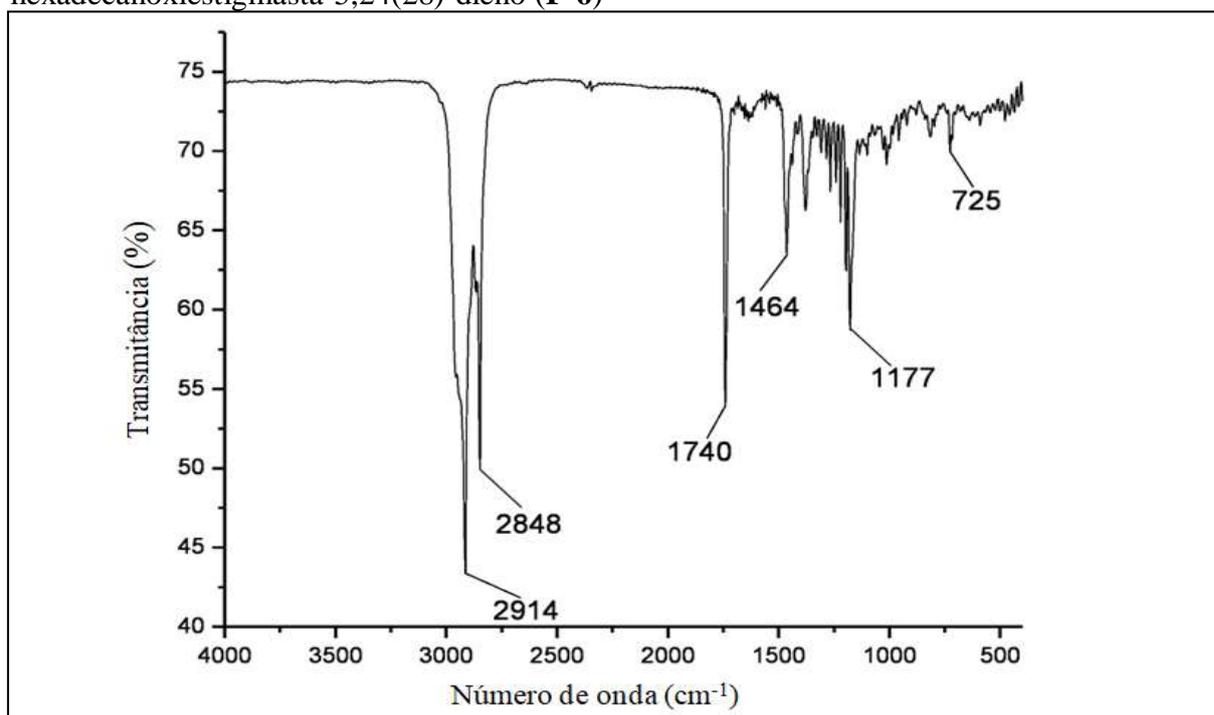
Fonte: o próprio autor.

Tabela 7 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do fucosterol (**F**) e do derivado **F-6**

<b>C</b>	<b>Derivado do fucosterol</b>	
	<b>Fucosterol</b>	<b>F-6</b>
1	37,48	37,26
2	31,88	28,07
3	72,03	73,91
4	42,52	39,96
5	140,99	139,99
6	121,93	122,78
7	31,88	32,16
8	32,13	32,12
9	50,36	50,28
10	36,74	36,85
11	21,31	21,27
12	39,98	38,41
13	42,58	42,59
14	56,98	56,93
15	24,55	25,96
16	28,46	28,47
17	56,01	56,03
18	12,07	12,07
19	19,62	19,55
20	36,65	36,66
21	18,98	18,98
22	35,45	35,46
23	25,92	24,55
24	147,22	147,24
25	35,01	35,01
26	22,46	22,47
27	22,35	22,36
28	115,78	115,79
29	13,40	13,39
1'		173,55
2'		34,97
3'-13'		29,92 - 29,34
14'		25,31
15'		22,92
16'		14,33

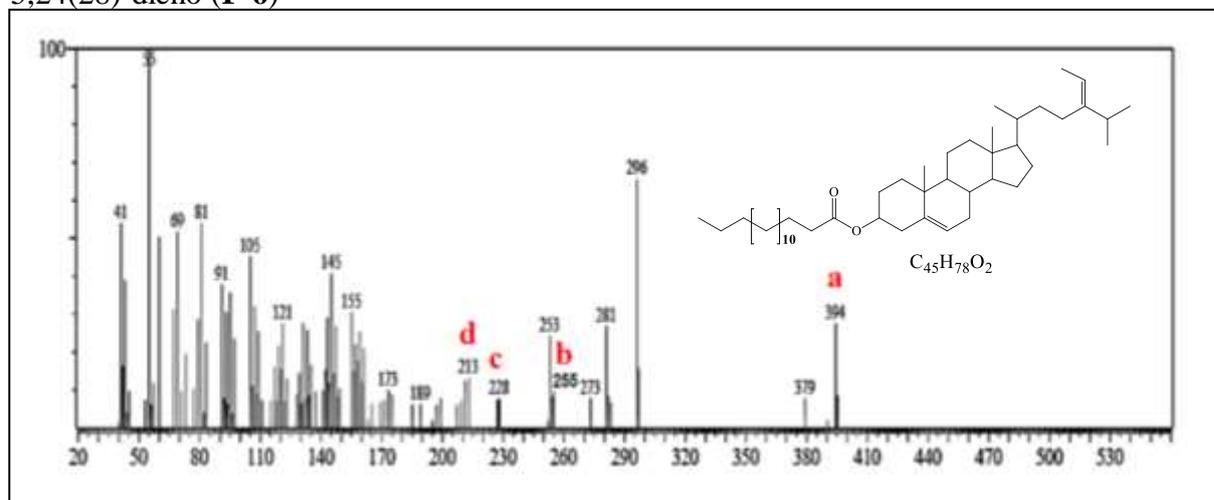
Fonte: o próprio autor.

Figura 74 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 75 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



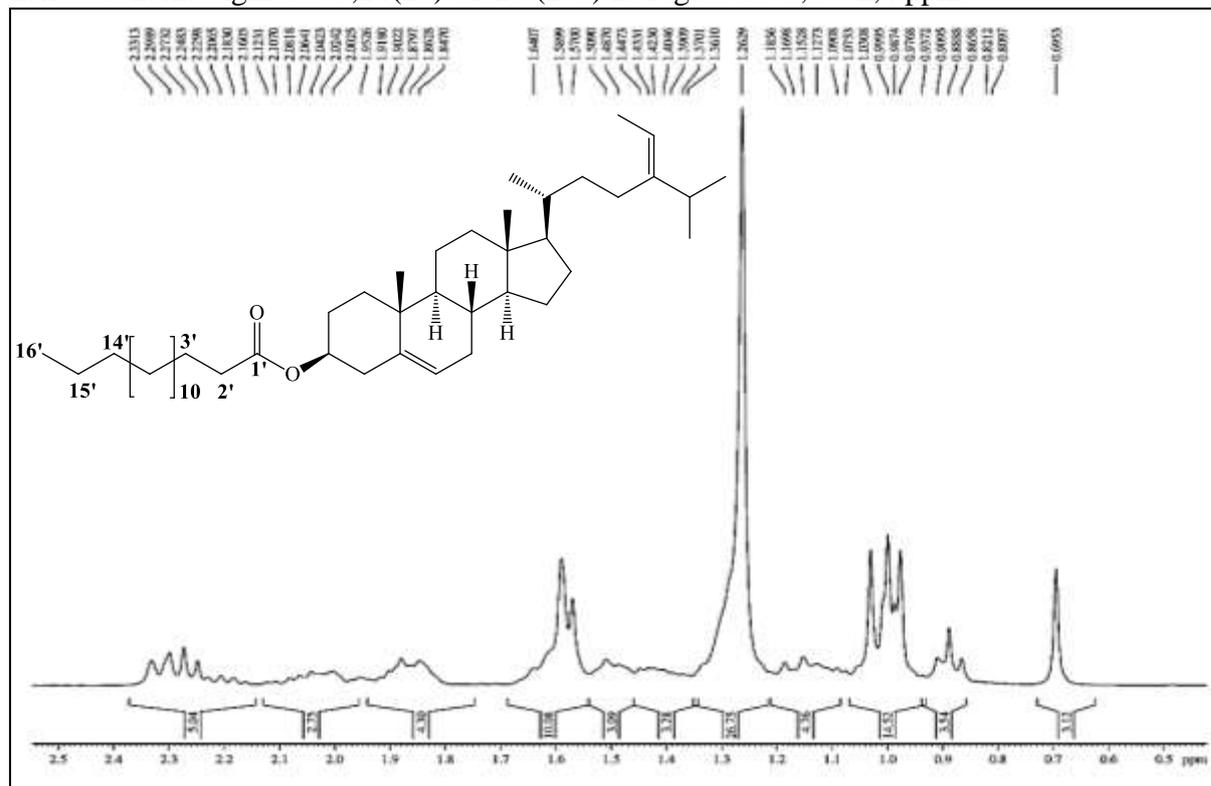
Fonte: o próprio autor.

Figura 76 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



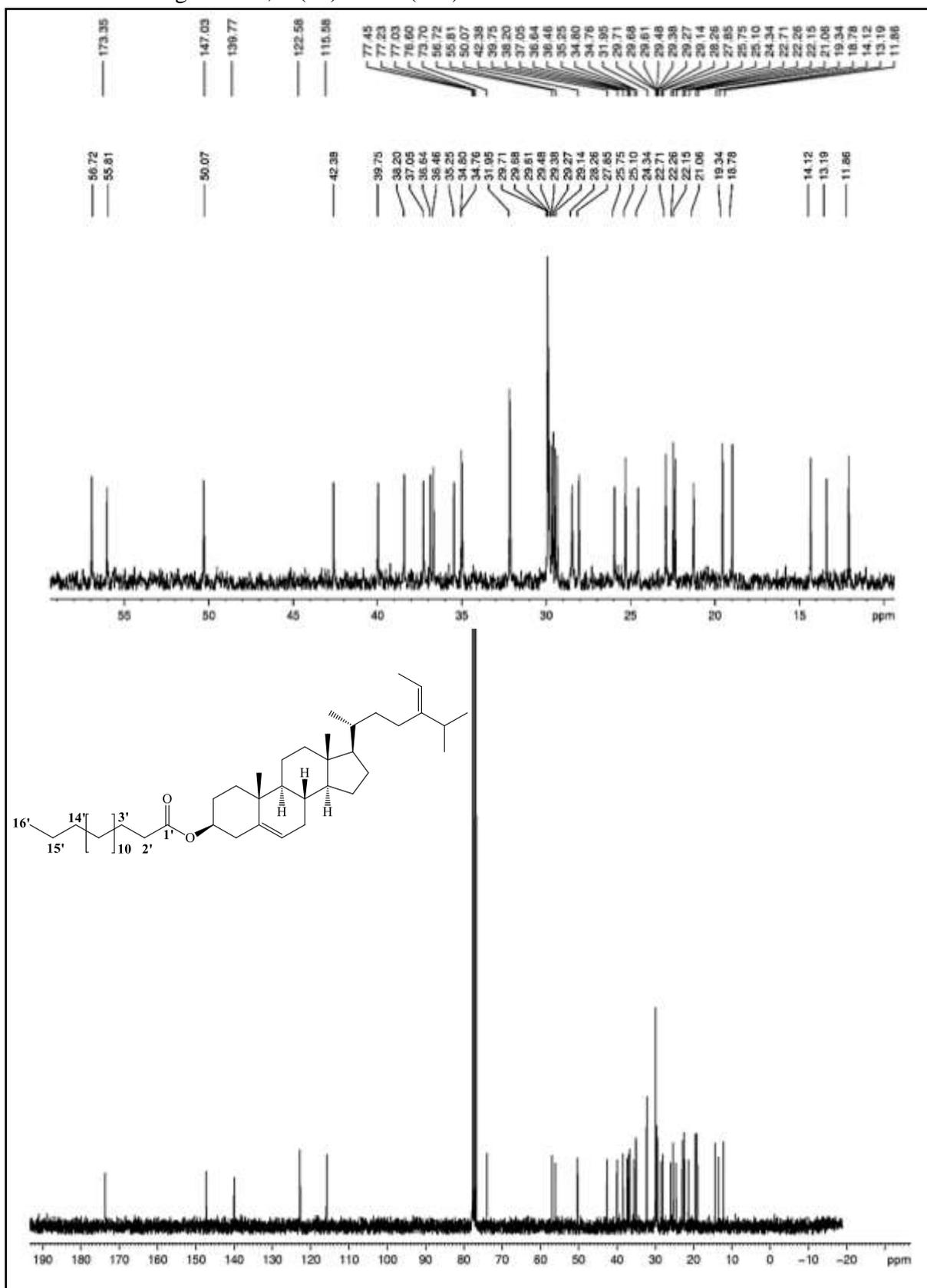
Fonte: o próprio autor.

Figura 77 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**) na região de 0,6 – 2,4 ppm



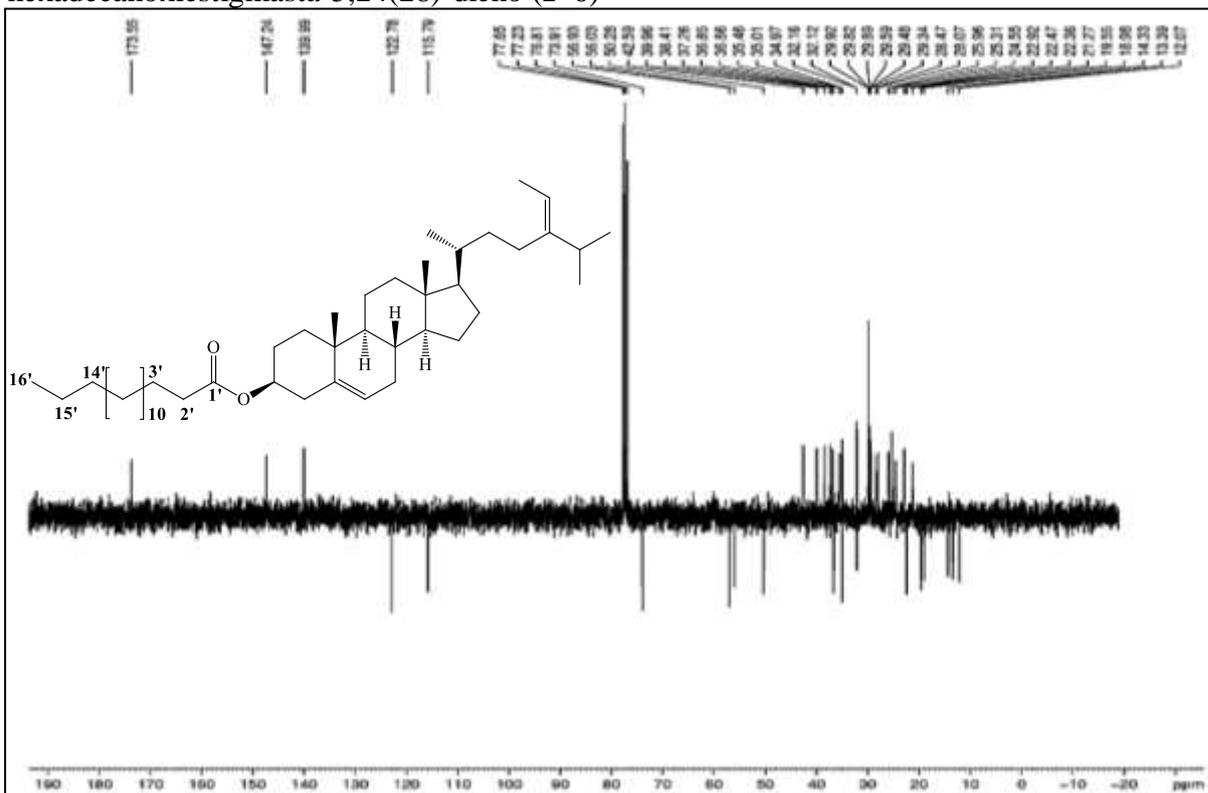
Fonte: o próprio autor.

Figura 78 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 79 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexadecanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-6**)



Fonte: o próprio autor

### 6.3.7 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 81, pág. 142) de **F-7** observou-se o aparecimento da banda de absorção em  $1716\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster, confirmando a reação de esterificação. Observou-se, ainda, o surgimento da banda de absorção em  $1463\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos. Além disso, foram observadas bandas de absorção em  $767\text{ cm}^{-1}$  e  $1111\text{ cm}^{-1}$  que foram associadas à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos e deformação axial de  $\text{C}_{sp^2}\text{-F}$  conjugada, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

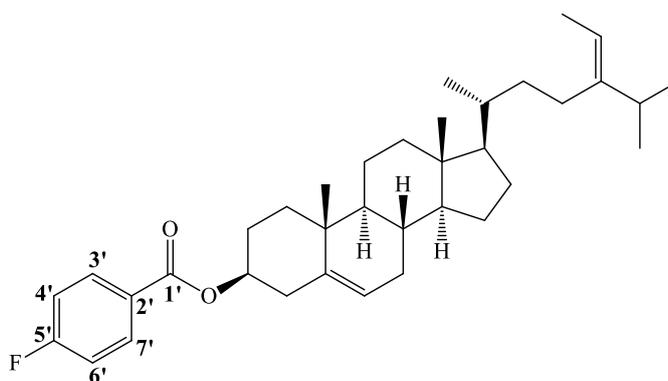
A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 82 e 83, pág. 142 e 143, respectivamente) permitiu observar o deslocamento do sinal referente ao H-3 do derivado esterificado **F-7** em  $\delta_H$  4,85 que apresenta-se mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52. A formação do produto esterificado também pode ser confirmada através do aparecimento de um tripleto em  $\delta_H$  7,10

(*t*,  $J = 8,6$  Hz, 2H) atribuído aos hidrogênios H-4' e H-6' e um duplo tripleto em  $\delta_H$  8,06 (*dt*,  $J = 5,4$  e 2,0 Hz, 2H) referente aos hidrogênios H-3' e H-7' do anel aromático.

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 84, pág. 144) do produto esterificado **F-7** foi possível observar o aparecimento do sinal em  $\delta_c$  165,27 que foi atribuído à carbonila de éster. A comparação desse espectro com os dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 85, pág. 145) permitiu a identificação de sinais referentes aos carbonos aromáticos: em  $\delta_c$  132,34 (C-3' e C-7'), em  $\delta_c$  132,21 (C-4' e C-6'), em  $\delta_c$  127,30 (C-2') e em  $\delta_c$  167,59 (C-5'), sendo este último sinal atribuído ao carbono ligado ao flúor. Vale salientar que nos compostos orgânicos contendo um átomo de flúor ligado a um átomo de carbono-13, é observado um acoplamento heteronuclear  $^{13}\text{C}$ - $^{19}\text{F}$  mesmo quando o desacoplamento de prótons estiver ligado (prótons, mas não núcleos de flúor, são desacoplados). Neste caso, a regra do  $n+1$  pode ser utilizada para determinar a aparência do padrão (PAVIA *et al.*, 2010).

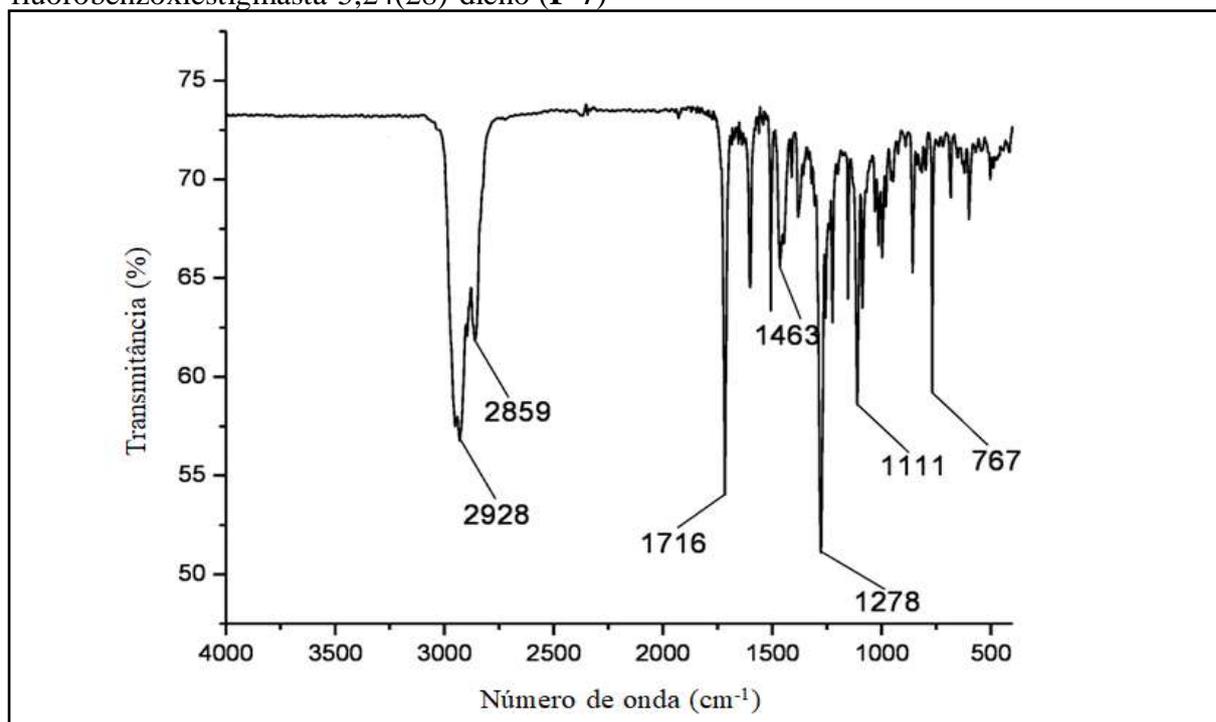
Na Tabela 8 (pág. 172) encontram-se apresentados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado acilado **F-7** (Fig. 80) e foram comparados com os dados do fucosterol (**F**) através da utilização dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e APT).

Figura 80 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**)



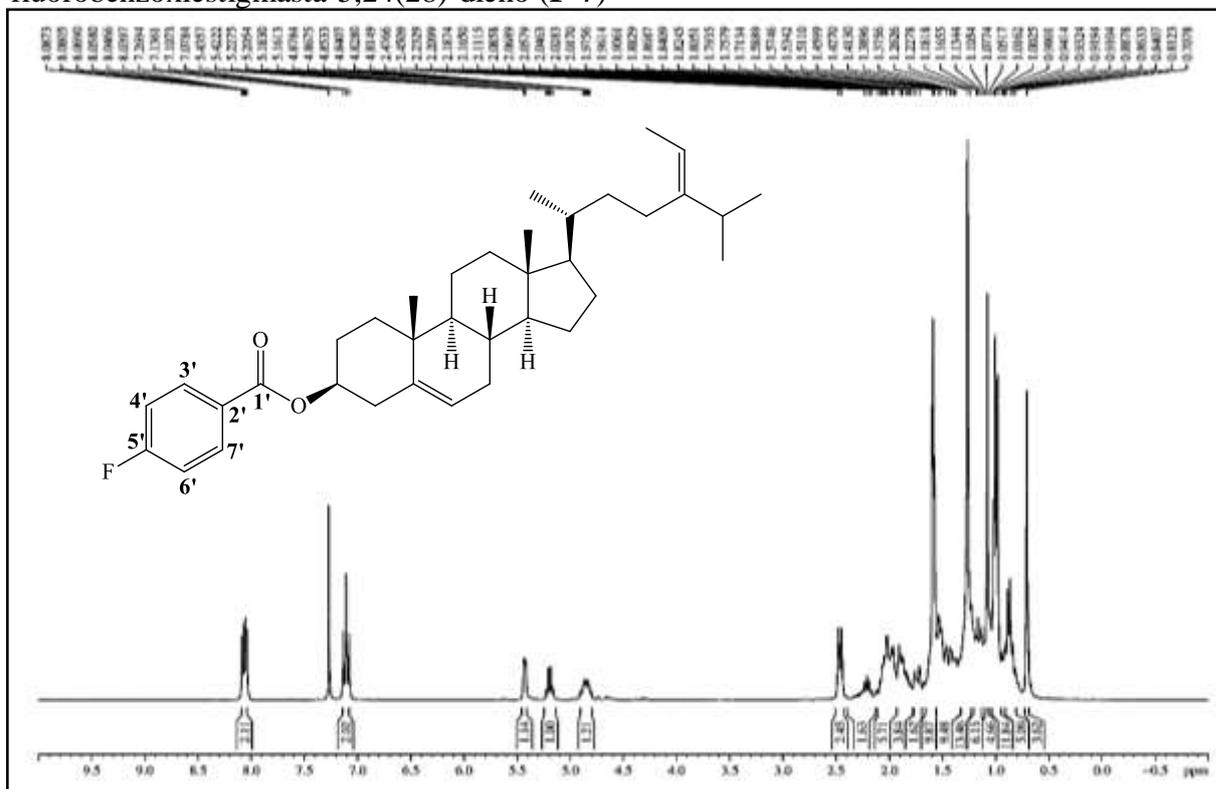
Fonte: o próprio autor.

Figura 81 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-7)



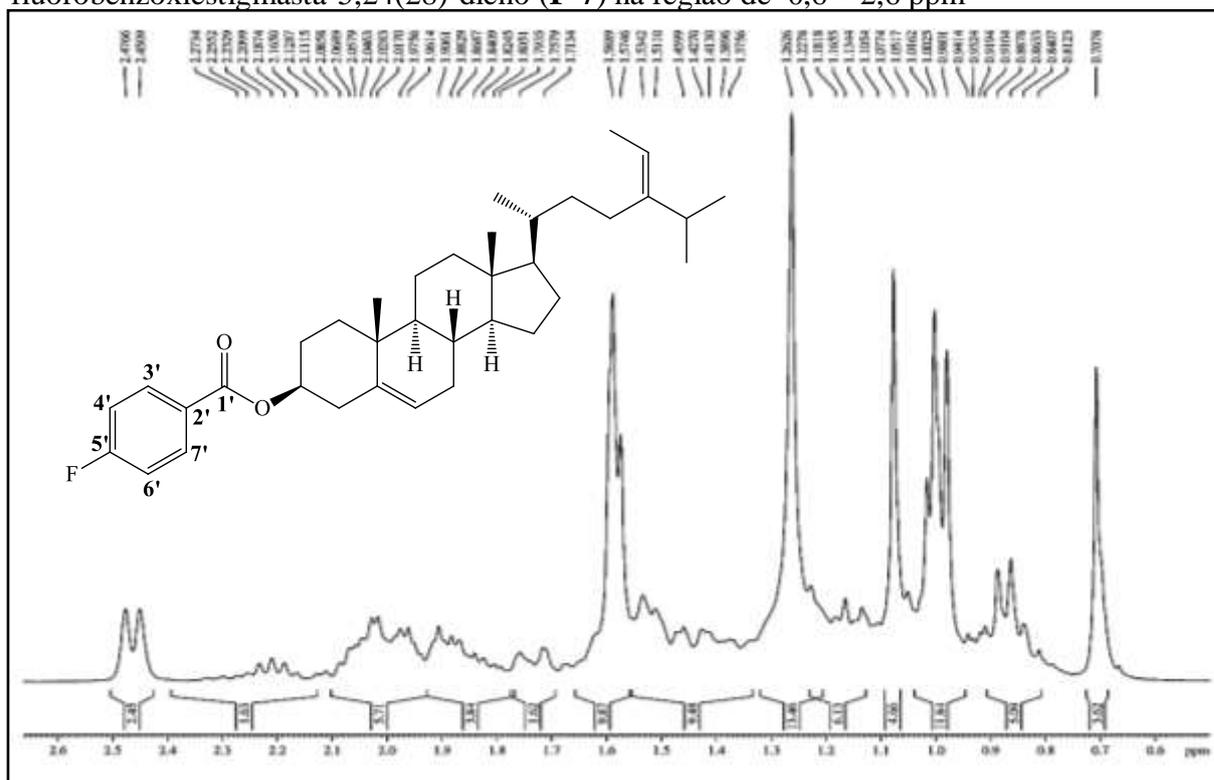
Fonte: o próprio autor.

Figura 82 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-7)



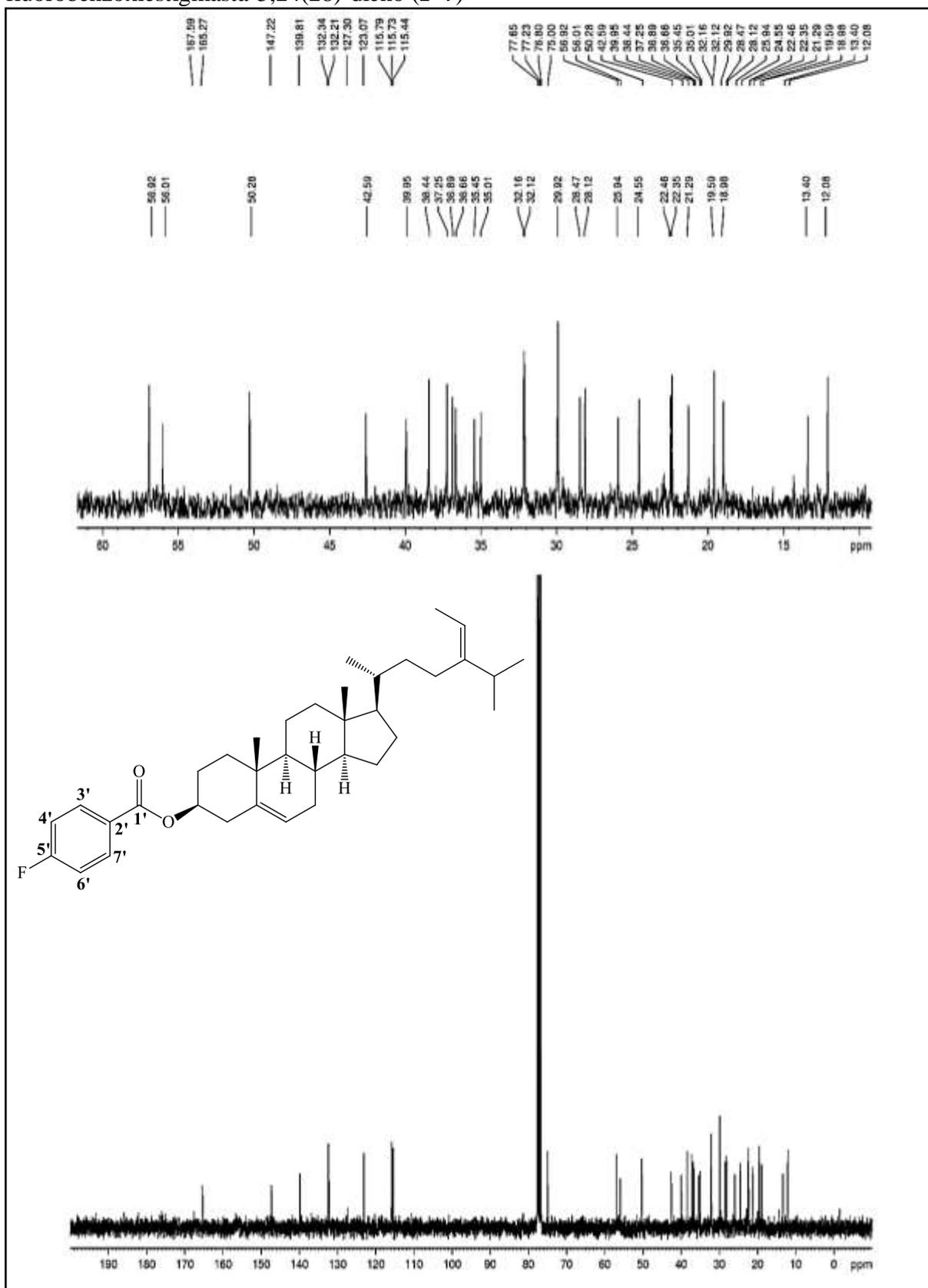
Fonte: o próprio autor.

Figura 83 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



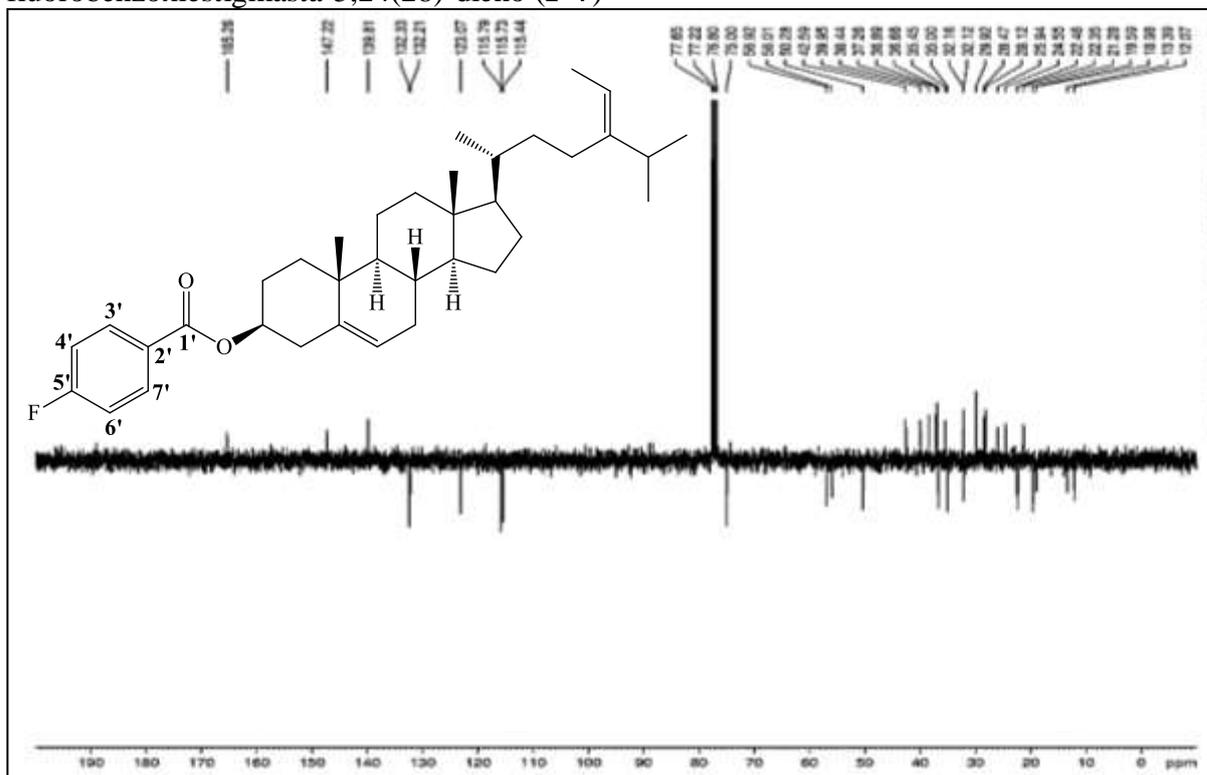
Fonte: o próprio autor.

Figura 84 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (F-7)



Fonte: o próprio autor.

Figura 85 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**)



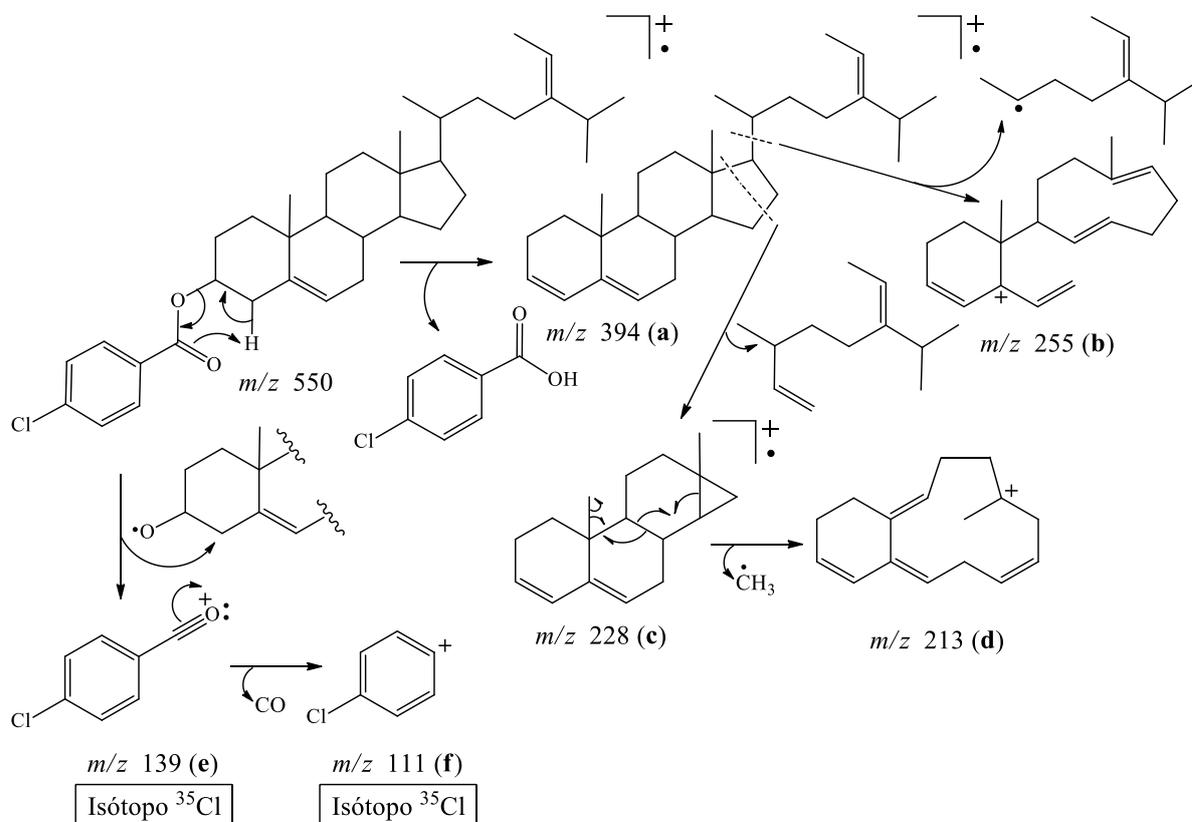
Fonte: o próprio autor.

### 6.3.8 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 88, pág. 147) de **F-8** observou-se o aparecimento das bandas de absorção em  $1709\text{ cm}^{-1}$  e em  $1457\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster e deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos, respectivamente. Também foi observada uma banda de absorção em  $758\text{ cm}^{-1}$  associada à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos e uma banda em  $1120\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de  $\text{C}_{sp^2}\text{-Cl}$  conjugada (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 89, pág. 148) do derivado acilado **F-8** exibiu o pico com  $m/z$  394 (**a**) referente à eliminação de ácido *p*-clorobenzoico, fragmento com  $m/z$  139 (**e**) correspondente à saída de radical alcóxila, pico com  $m/z$  255 (**b**) atribuído à eliminação da cadeia lateral em C-17 e fragmentos correspondentes à ruptura do anel **D** com  $m/z$  228, seguida de perda de radical metila com  $m/z$  213 (**d**), respectivamente (Fig. 86, pág. 146).

Figura 86 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



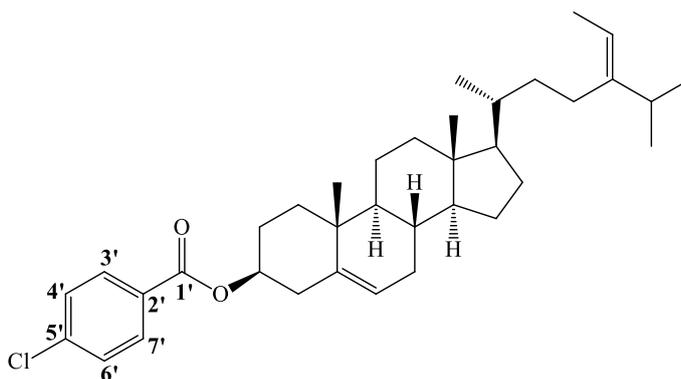
Fonte: o próprio autor.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 90 e 91, pág. 148 e 149, respectivamente) observou-se o deslocamento do sinal em  $\delta_H$  4,85 referente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que está mais desprotegido com relação ao do substrato em  $\delta_H$  3,52. Além disso, foi verificada a presença de dois dupletos, sendo um em  $\delta_H$  7,98 ( $d$ ,  $J = 8,5$  Hz, 2H) associados aos hidrogênios H-3' e H-7' e outro em  $\delta_H$  7,41 ( $d$ ,  $J = 8,5$  Hz, 2H) referentes aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático.

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 92, pág. 150) e RMN  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 93, pág. 151) do produto esterificado **F-8** foi possível observar a presença dos sinais referentes aos carbonos aromáticos em  $\delta_c$  139,37 (C-5'), em  $\delta_c$  131,17 (C-3' e C-7'), e em  $\delta_c$  128,82 (C-4' e C-6'), além do sinal em  $\delta_c$  165,35, atribuído ao carbono da carbonila de éster. Outras absorções compatíveis com o esqueleto do esteroide também foram observadas e encontram-se apresentados na Tabela 8 (pág. 172).

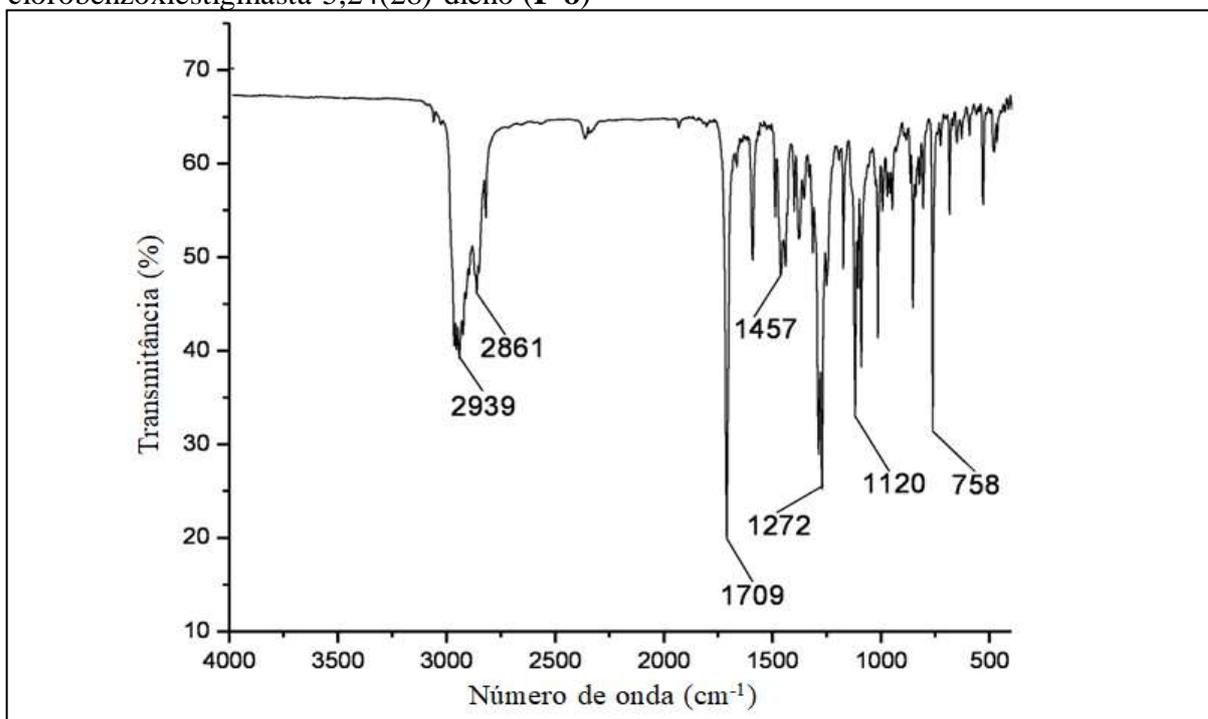
A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto acilado como  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**), cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 87.

Figura 87 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 88 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 89 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)

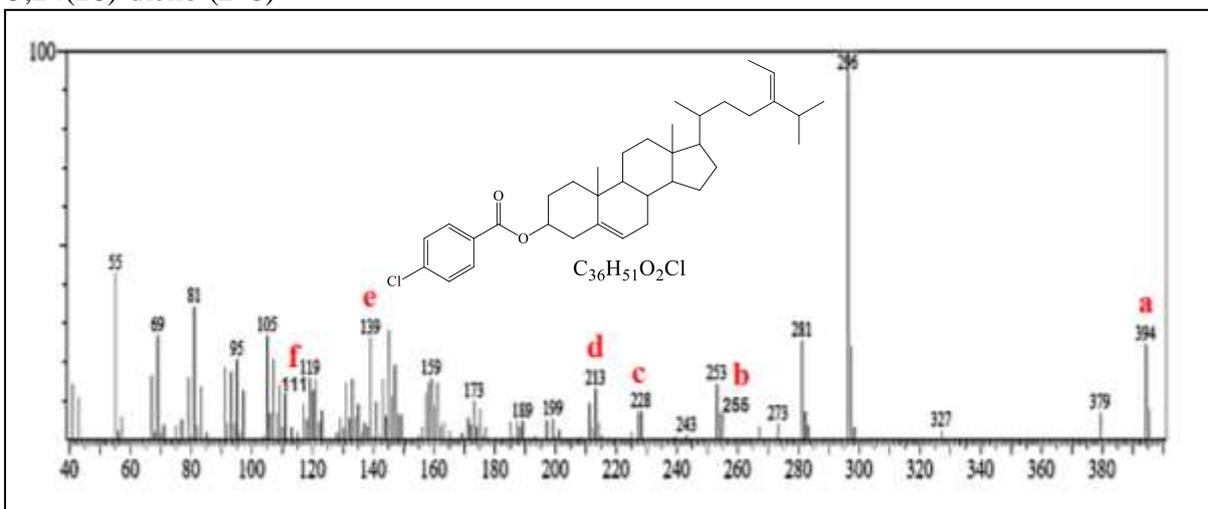


Figura 90 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-clorobenzoiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 91 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**) na região de 0,6 – 2,6 ppm

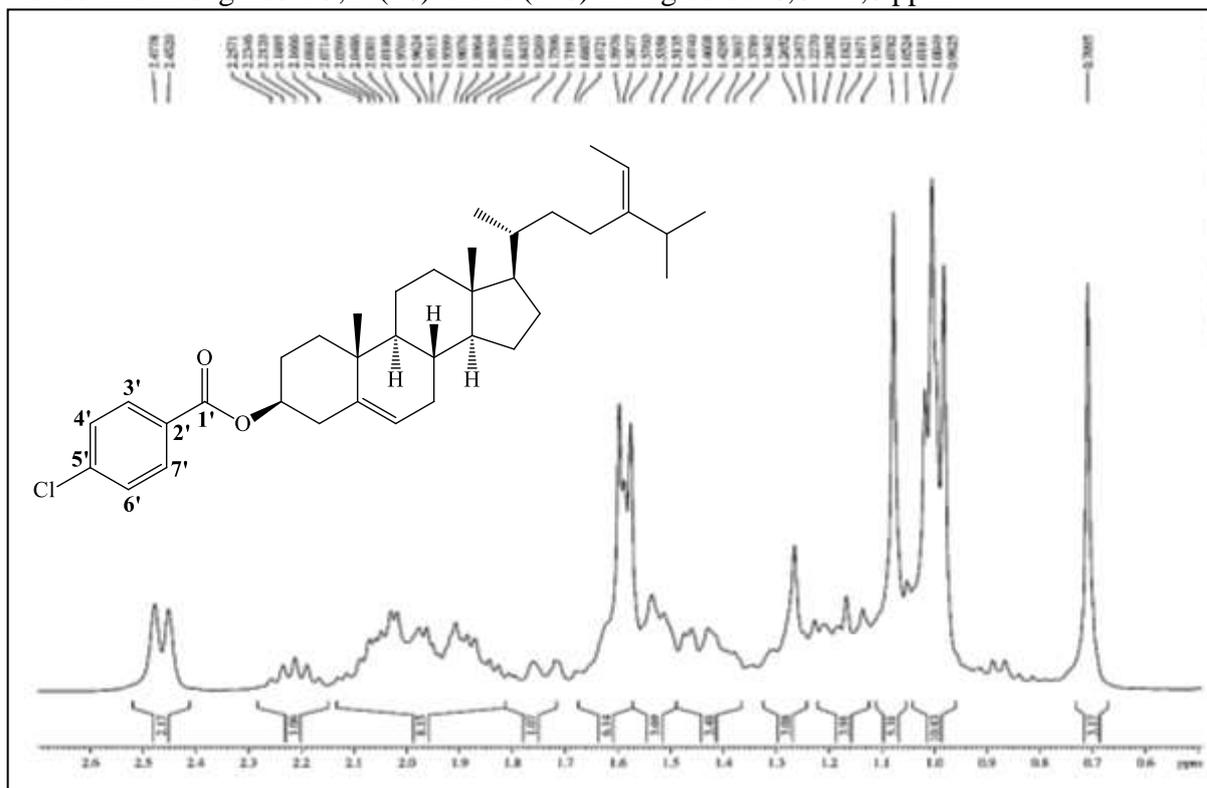
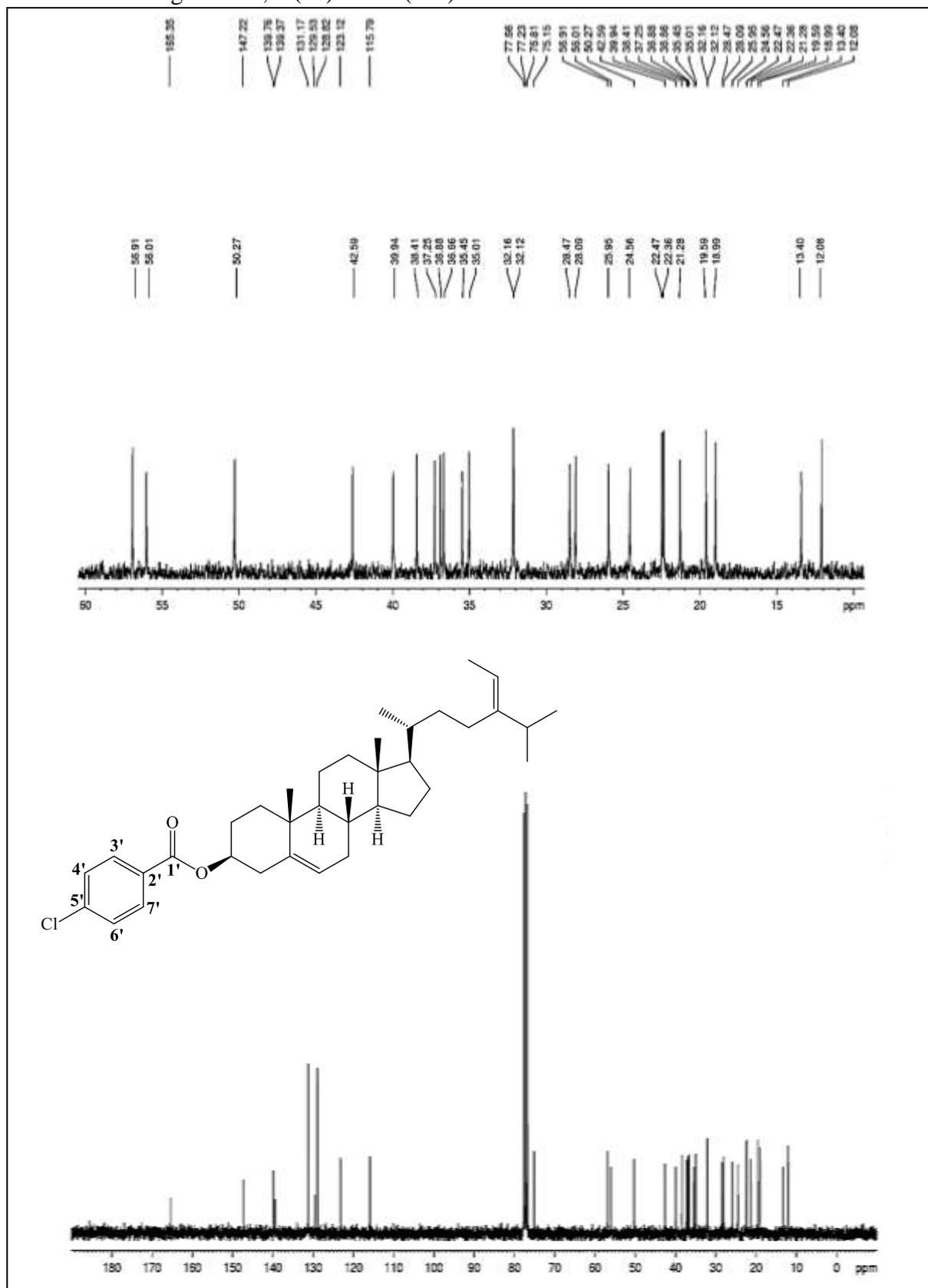
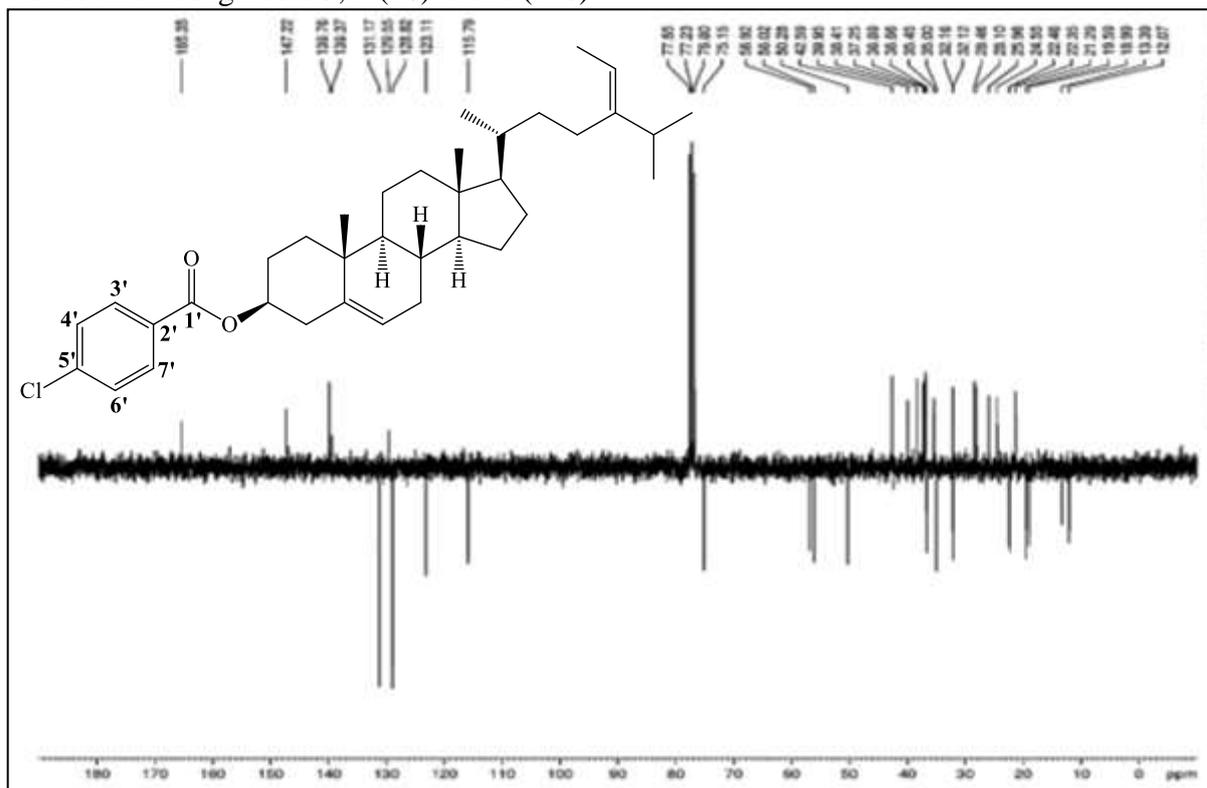


Figura 92 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 93 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.3.9 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)

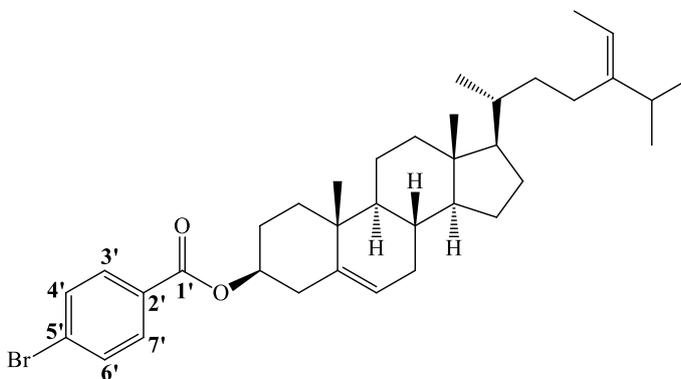
O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 95, pág. 153) do derivado **F-9** (Fig. 94, pág. 152) apresentou duas bandas de absorção, uma em  $1708\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e outra em  $1460\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos. Outras bandas de absorção também foram observadas em  $761\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos e em  $1116\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de  $\text{C}_{sp^2}\text{-Br}$  conjugada (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 96 e 97, pág. 153 e 154, respectivamente) foi observada a presença de dois dupletos, um em  $\delta_H$  7,90 (*d*,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 2H) atribuído aos hidrogênios H-3' e H7' e outro em  $\delta_H$  7,57 (*d*,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 2H) referente aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático. Observou-se também a existência de um sinal em  $\delta_H$  5,42 atribuído ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que se encontra desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila do grupo éster ligado ao C-3.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (Fig. 98, pág. 155) mostrou a presença de um sinal em  $\delta c$  165,50, atribuído ao carbono carbonílico de éster. Além disso, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 99, pág. 156) observou-se a existência de sinais referentes aos carbonos do anel aromático em  $\delta c$  128,01 (C-5'), em  $\delta c$  131,81 (C-3' e C-7') e em  $\delta c$  131,32 (C-4' e C-6').

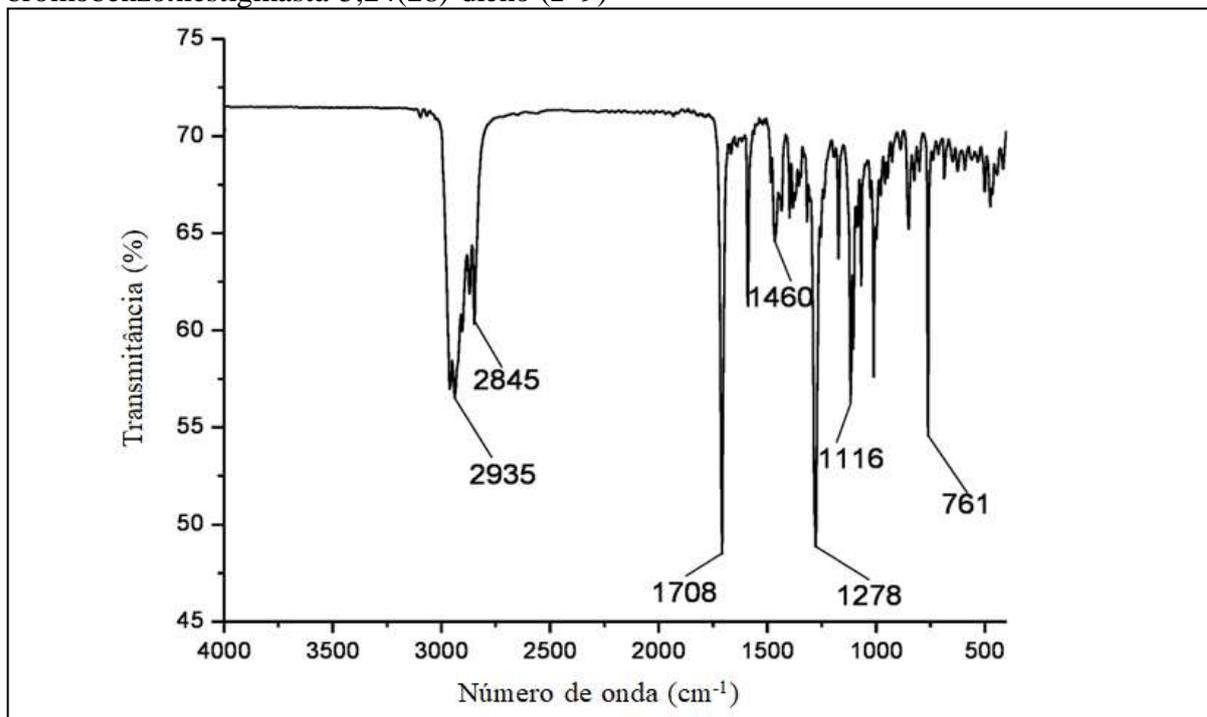
Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do produto acilado **F-9** foram comparados com os dados do fucosterol (**F**) através da análise dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e APT) e os dados encontram-se apresentados na Tabela 8 (pág. 172).

Figura 94 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24E)-(3)-4-bromobenzoixestigmasta-5,24(28)-diene (**F-9**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 95 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)



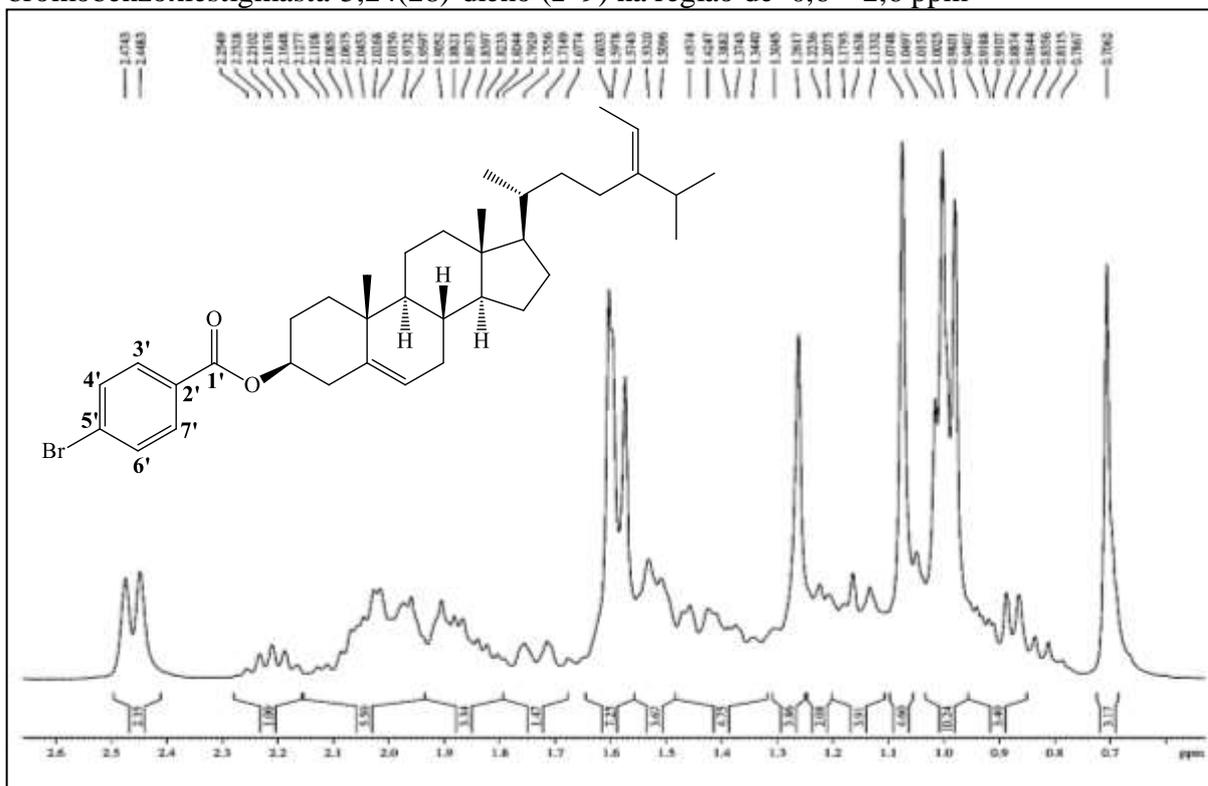
Fonte: o próprio autor.

Figura 96 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)



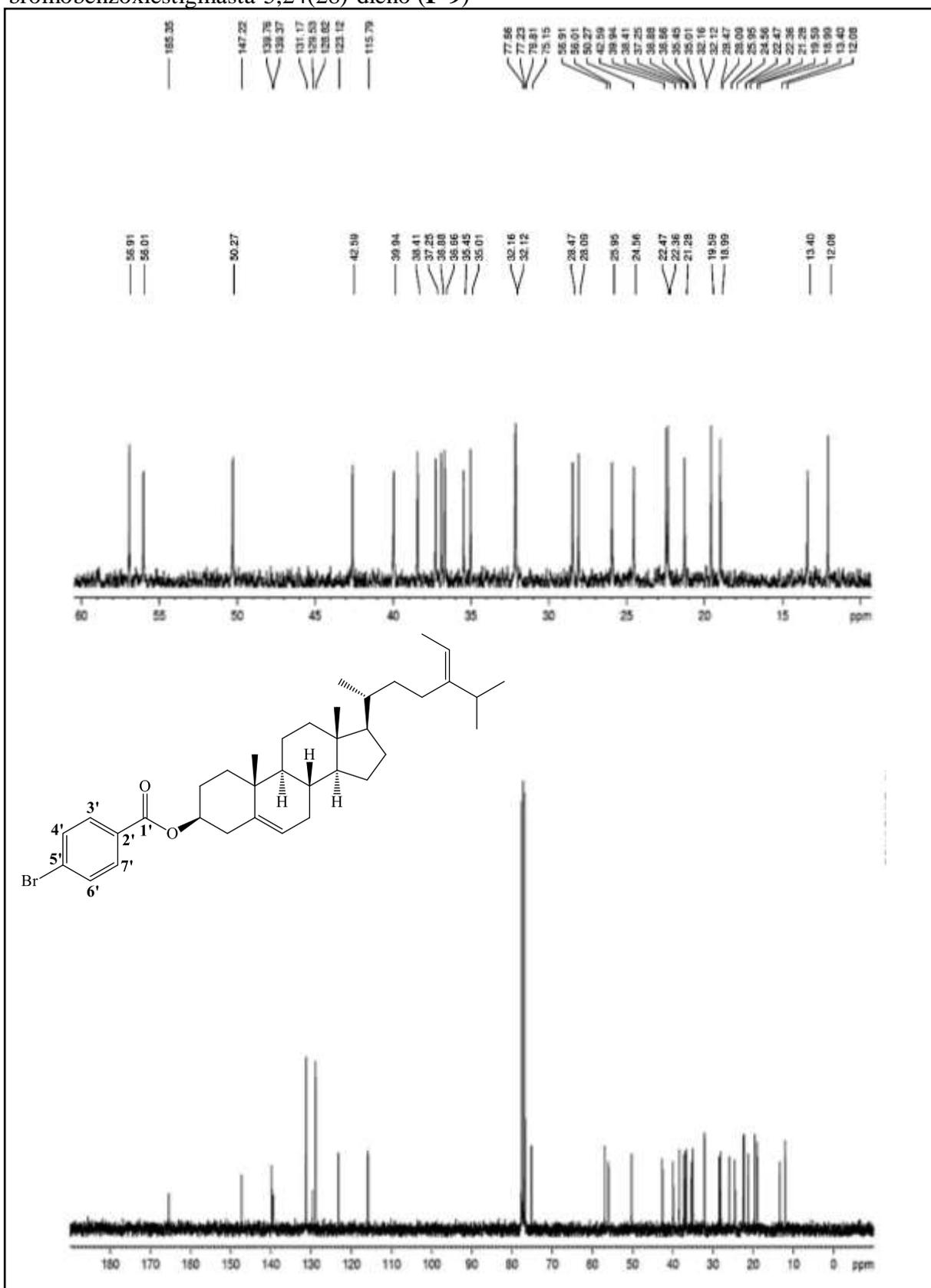
Fonte: o próprio autor.

Figura 97 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $E$ )-(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



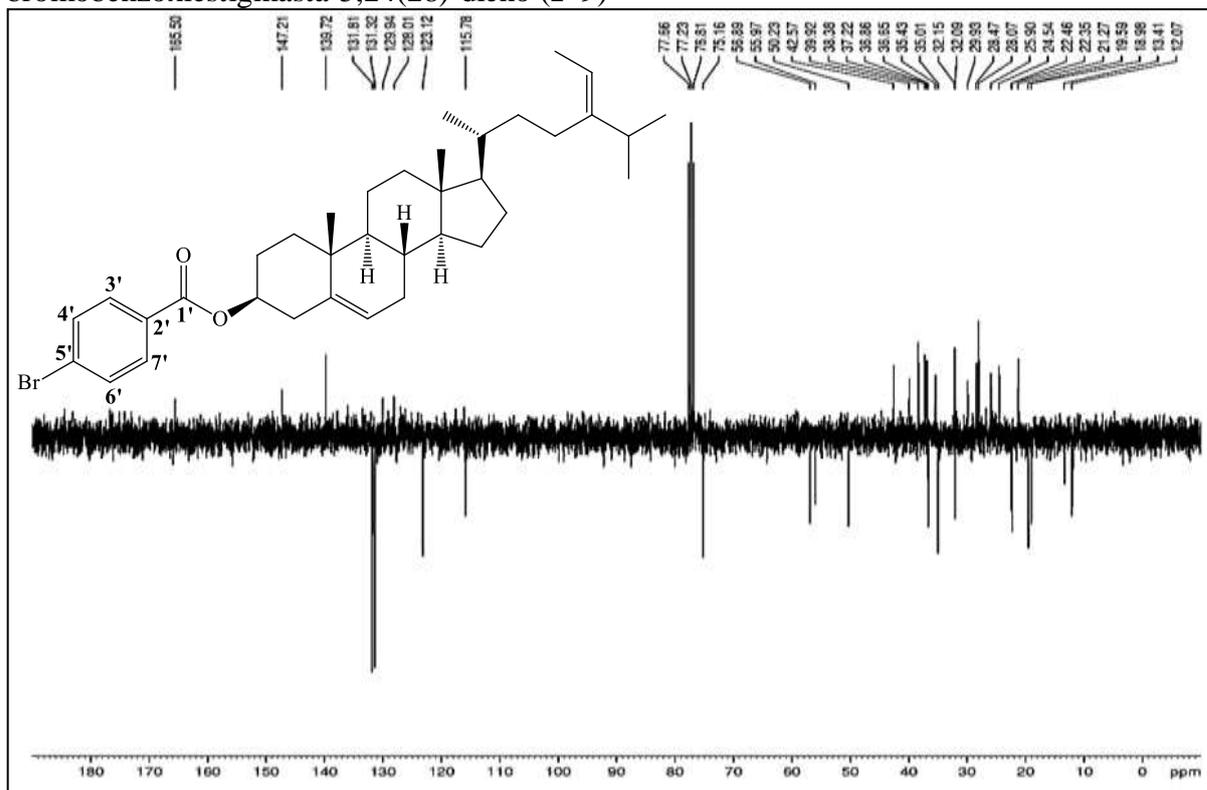
Fonte: o próprio autor.

Figura 98 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)



Fonte: o próprio autor

Figura 99 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.3.10 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)

Através da análise do espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 101, pág. 158) de **F-10** foi possível sugerir a ocorrência da reação de acilação, devido ao surgimento da banda de absorção em  $1719\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster. Outra banda de absorção também foi observada em  $718\text{ cm}^{-1}$  associada à deformação angular de  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos. Duas bandas de intensidades semelhantes também foram observadas, em  $1523\text{ cm}^{-1}$  e em  $1351\text{ cm}^{-1}$ , características de grupo nitro ligado a anel aromático. Devido à conjugação do grupo nitro com anel aromático essas bandas estão deslocadas para frequências mais baixas, pois um grupo nitro ligado ao composto alifático absorve por volta de  $1550$  e  $1380\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

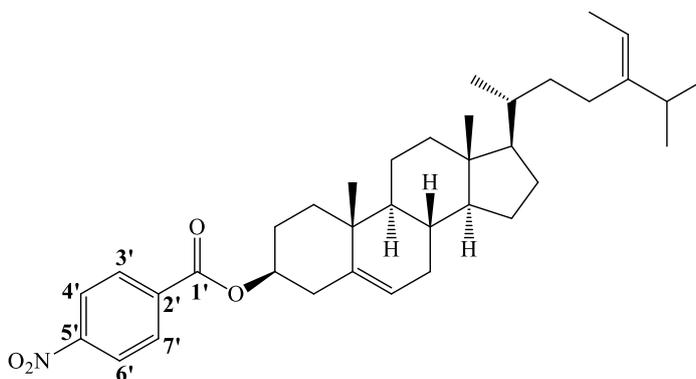
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 102 e 103, pág. 158 e 159, respectivamente) do derivado **F-10** foi observada a presença de dois dupletos, sendo um em  $\delta_{\text{H}} 8,29$  ( $d$ ,  $J = 8,7\text{ Hz}$ , 2H) atribuído aos hidrogênios H-3' e H7' e outro em  $\delta_{\text{H}} 8,21$  ( $d$ ,  $J = 8,7\text{ Hz}$ , 2H) referentes aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático. Observou-se, ainda, a

existência de um sinal em  $\delta_H$  5,44, referente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que se encontra desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52, devido efeito de desproteção induzido pela carbonila do grupo éster ligado ao C-3.

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 104, pág. 160) e posterior comparação com os dados de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT do produto esterificado **F-10** foi possível observar a presença dos sinais atribuídos aos carbonos do anel aromático em  $\delta_c$  150,67 (C-5'), em  $\delta_c$  130,88 (C-3' e C-7') e em  $\delta_c$  123,67 (C-4' e C-6'), além do sinal em  $\delta_c$  164,31 referente à carbonila de éster. Vale salientar que outras absorções compatíveis com o esqueleto do esteroide também foram observadas e encontram-se apresentados na Tabela 8 (pág. 172).

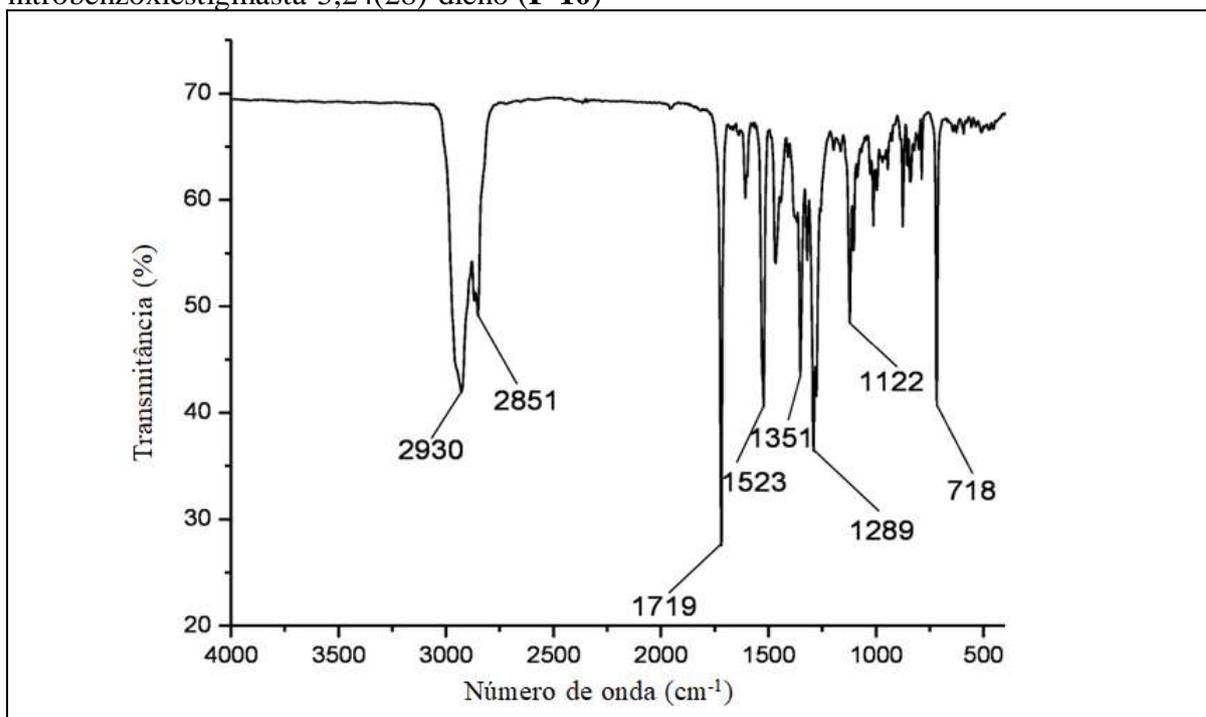
Desta forma, a formação do produto esterificado também pode ser confirmada através da análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  que permitiram identificar o derivado **F-10** como (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno, cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 100.

Figura 100 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 101 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



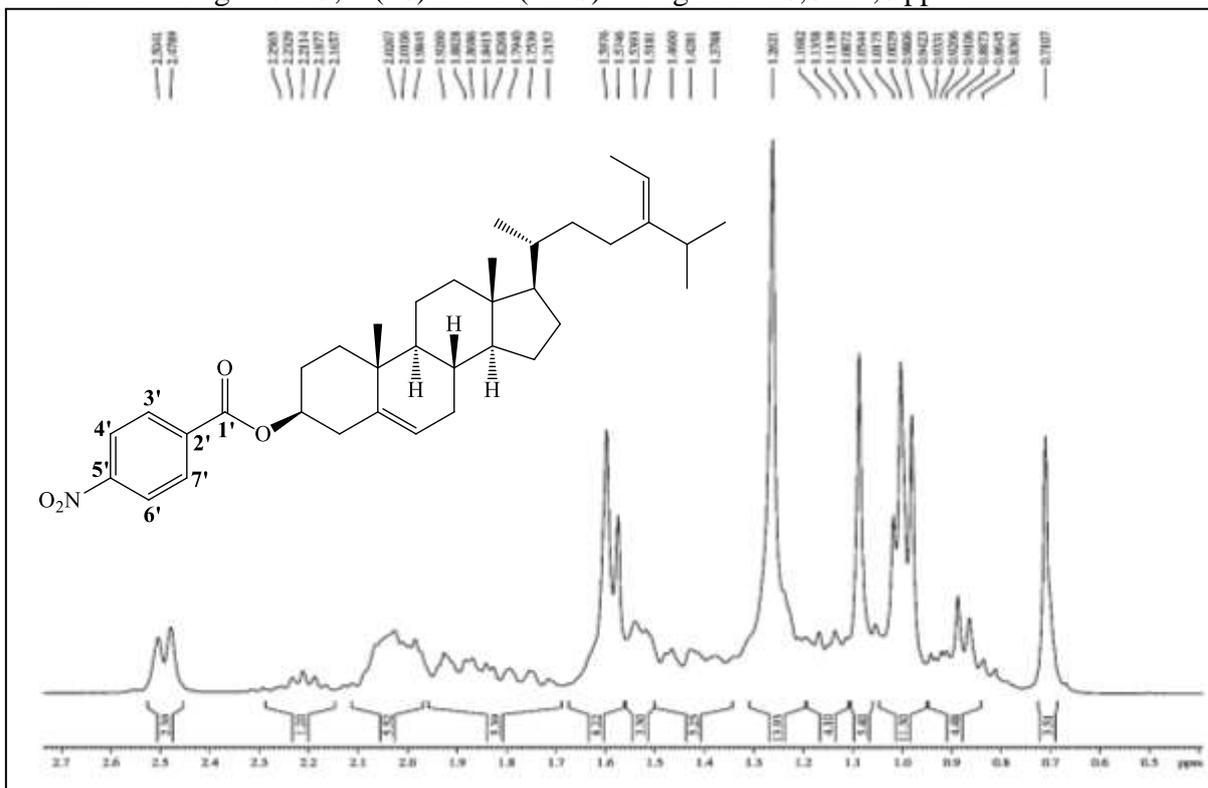
Fonte: o próprio autor.

Figura 102 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



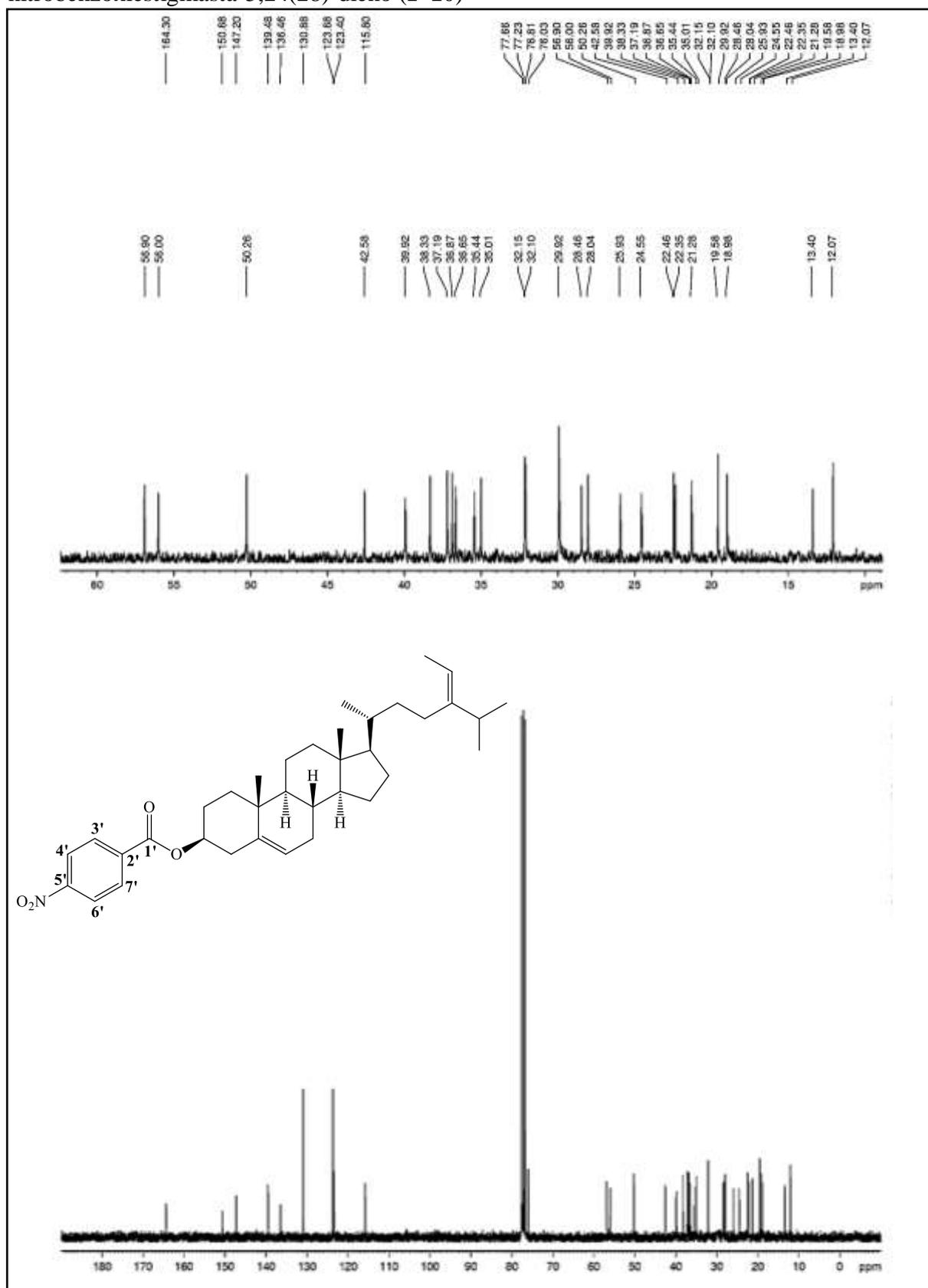
Fonte: o próprio autor.

Figura 103 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



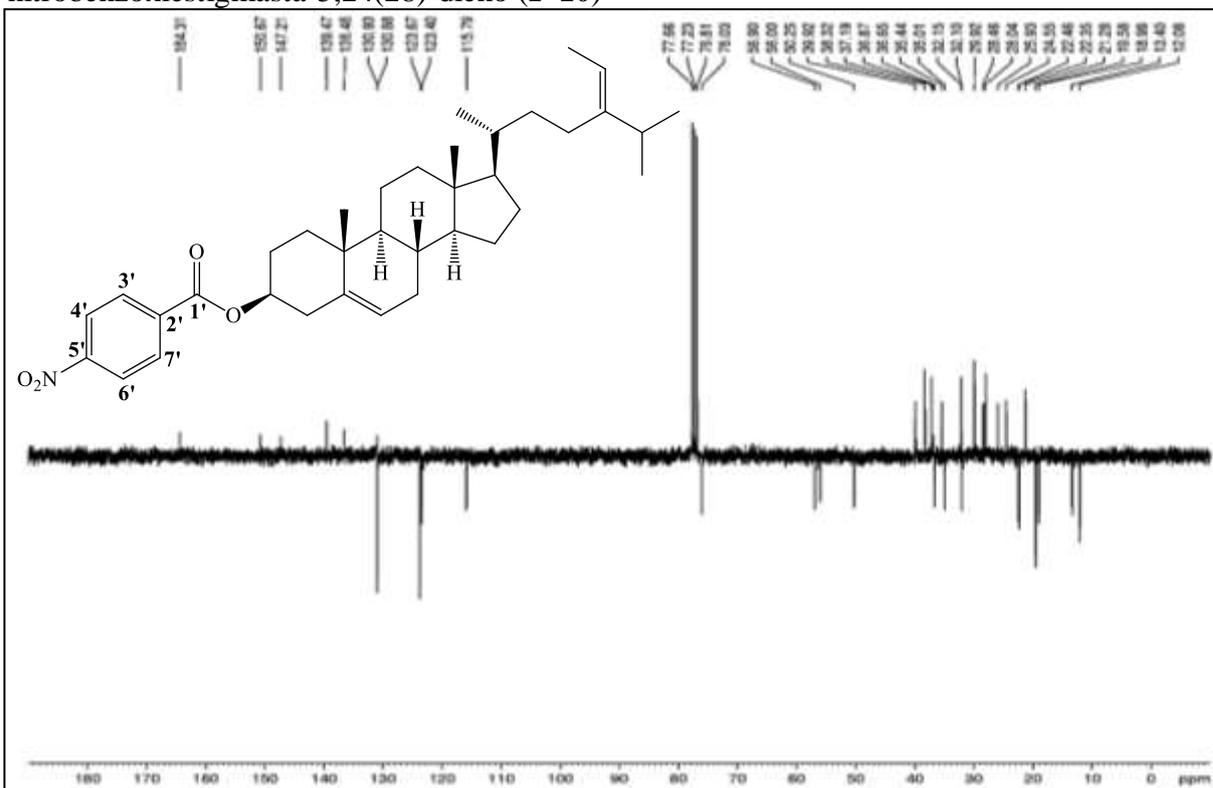
Fonte: o próprio autor

Figura 104 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 105 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.3.11 Caracterização de $(3\beta,20R,24E)$ -3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)

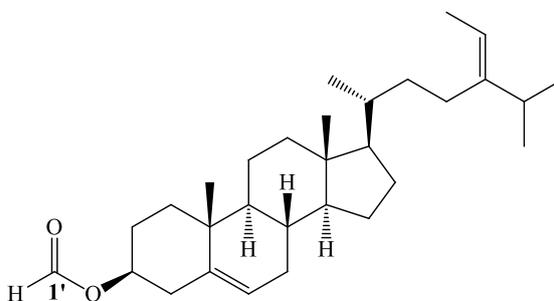
O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 107, pág. 162) do derivado **F-11** (Fig. 106, pág. 162) mostrou banda de absorção em  $1715\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e banda em  $1185\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação  $\text{C}_{sp^3}-\text{O}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 108 e 109, pág. 163) de **F-11** mostrou como principal diferença em relação ao do substrato, a presença de um simpleto intenso em  $\delta_H$  8,04 (s, 1H), referente ao hidrogênio do grupo formiato. A formação do produto acilado também pode ser confirmada através deslocamento do sinal referente ao H-3 do derivado **F-11** em  $\delta_H$  4,73 que se encontra mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do fucosterol (**F**) em  $\delta_H$  3,52 (PAVIA *et al.*, 2010).

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 110, pág. 164) e  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (Fig. 111, pág. 165) mostrou a presença de um sinal em  $\delta_C$  160,85 atribuído ao carbono carbonílico do grupo formiato (VALKONEN *et al.*, 2008). Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado acilado foram comparados com os dados do

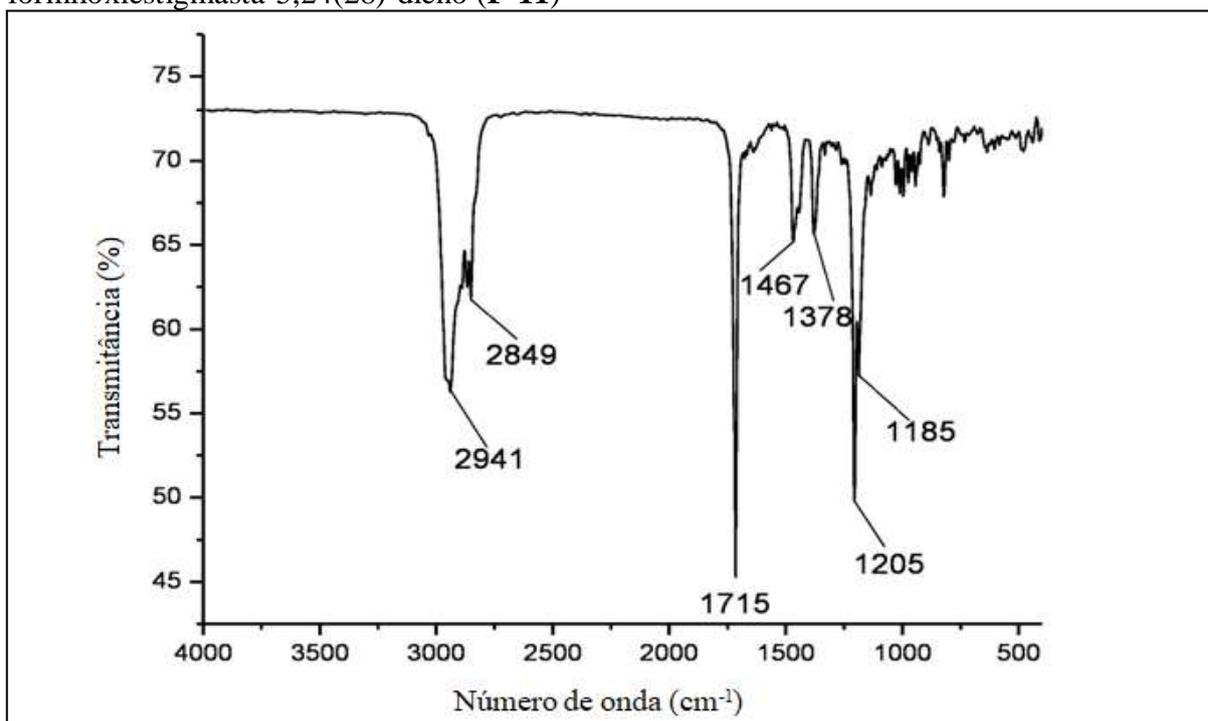
fucosterol (**F**) através da análise dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e DEPT-135°) e os dados encontram-se dispostos na Tabela 8 (pág. 172).

Figura 106 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)



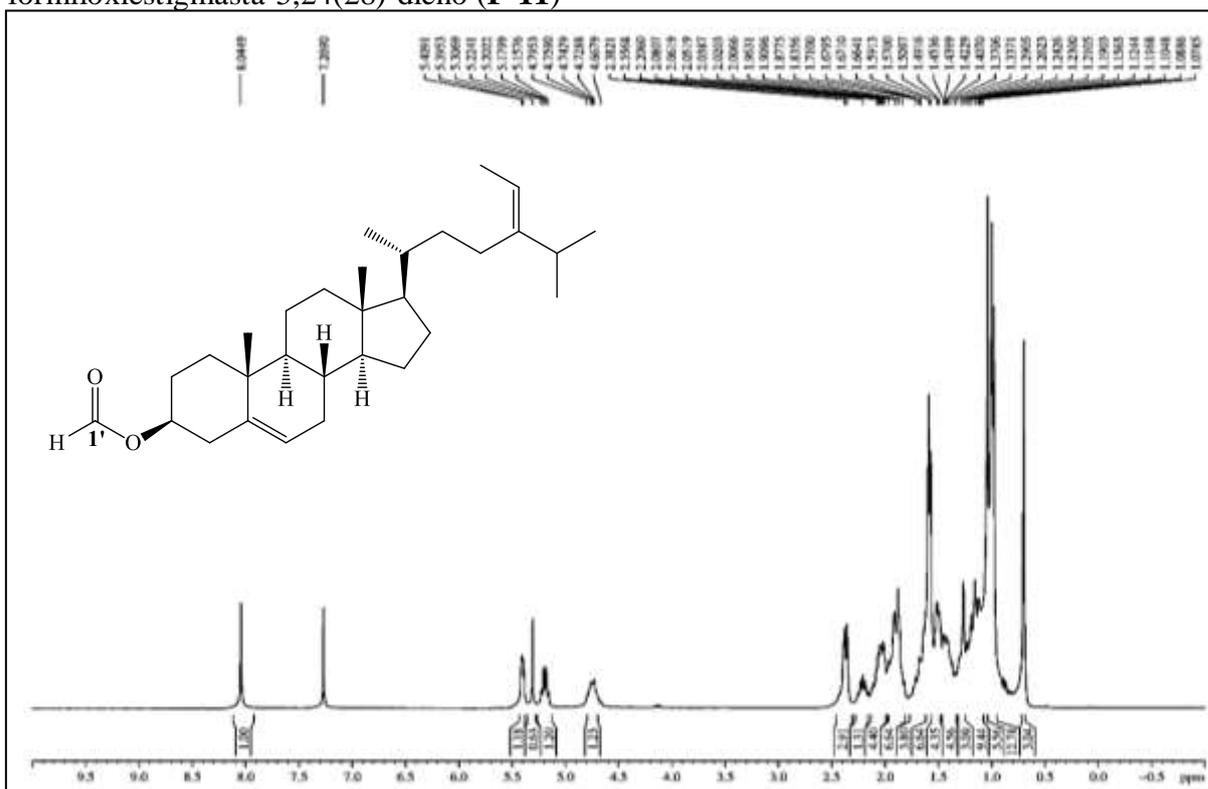
Fonte: o próprio autor.

Figura 107 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*E*)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)



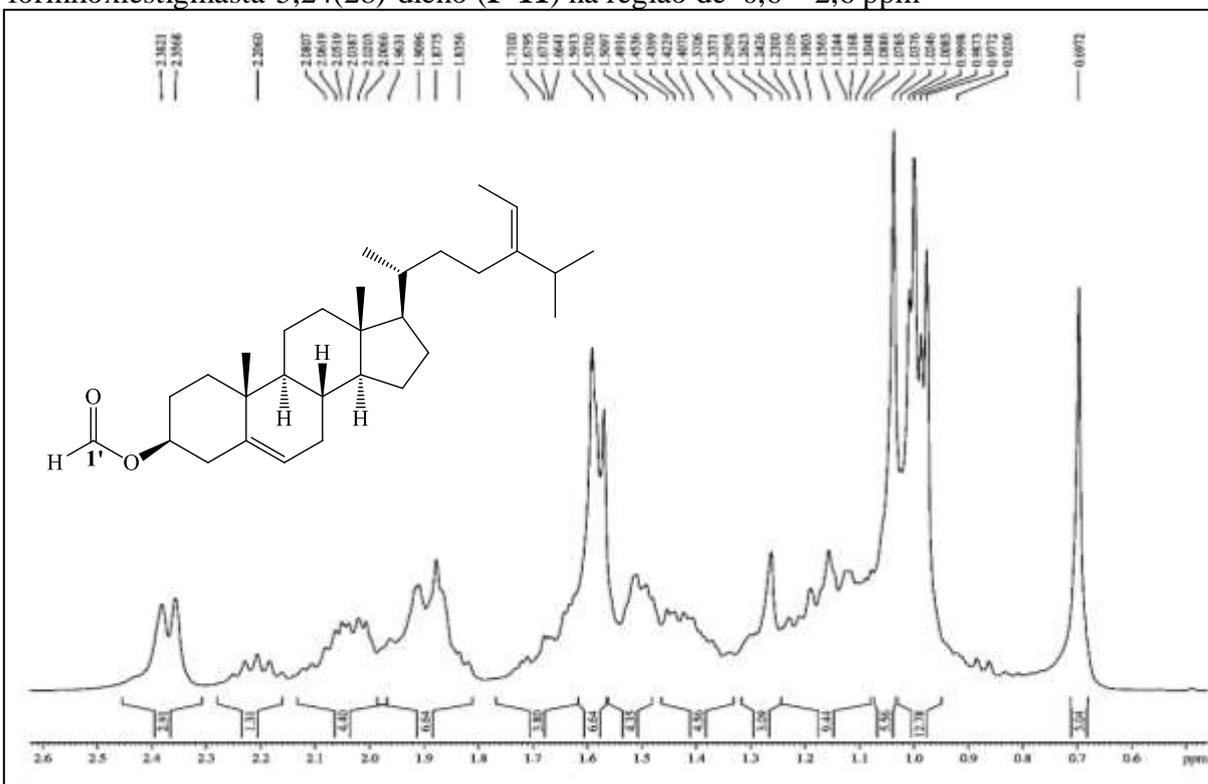
Fonte: o próprio autor.

Figura 108 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)



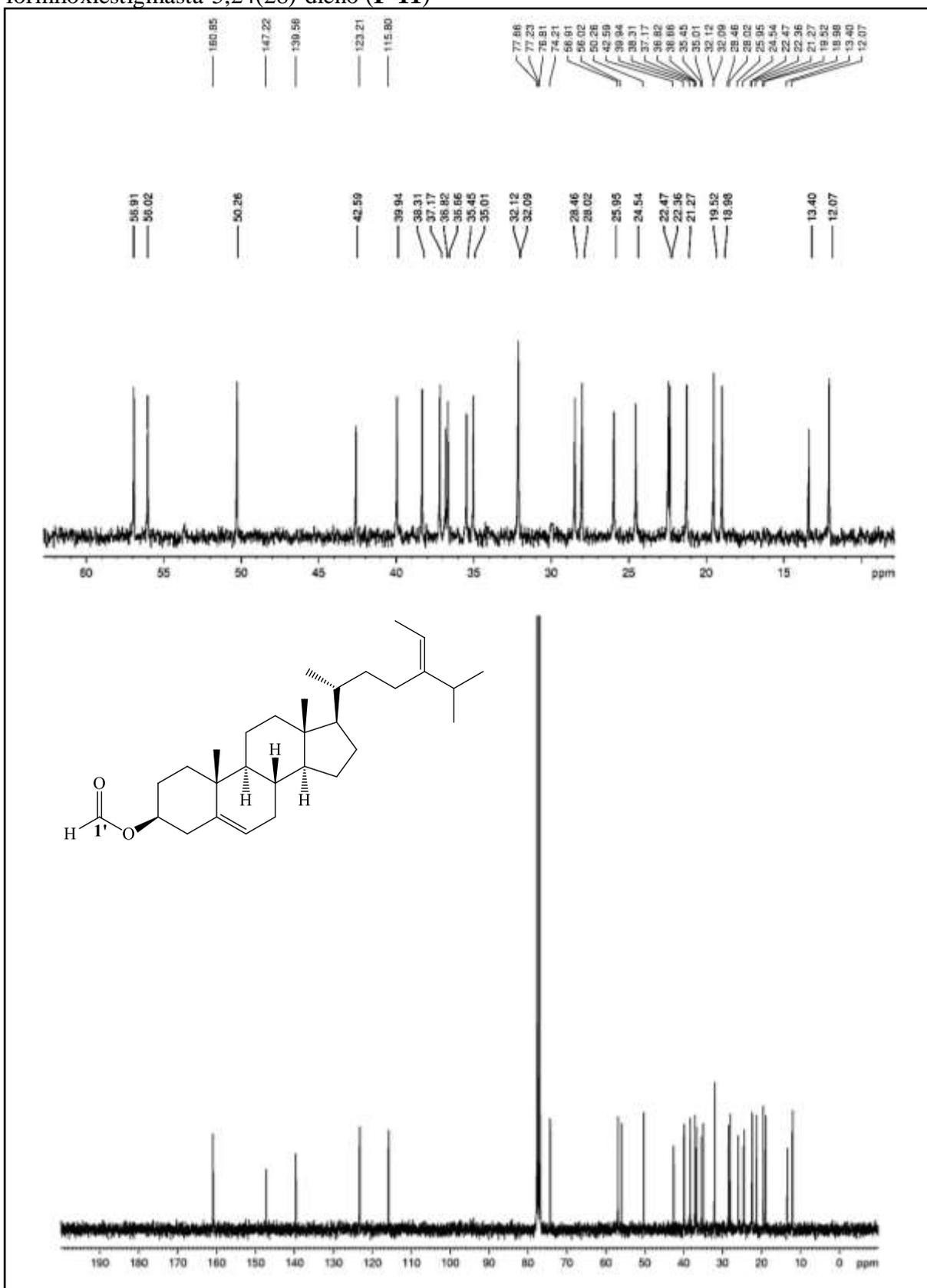
Fonte: o próprio autor.

Figura 109 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24E)$ -3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



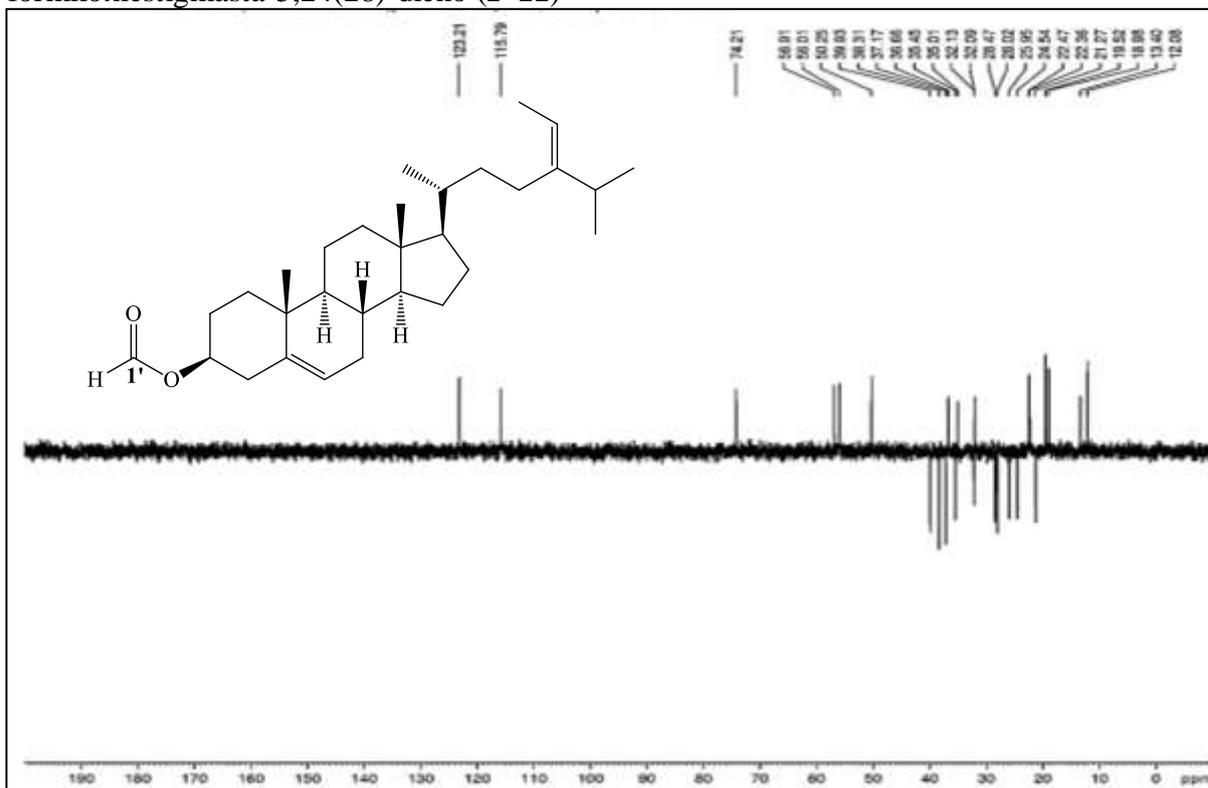
Fonte: o próprio autor.

Figura 110 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 111 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**)



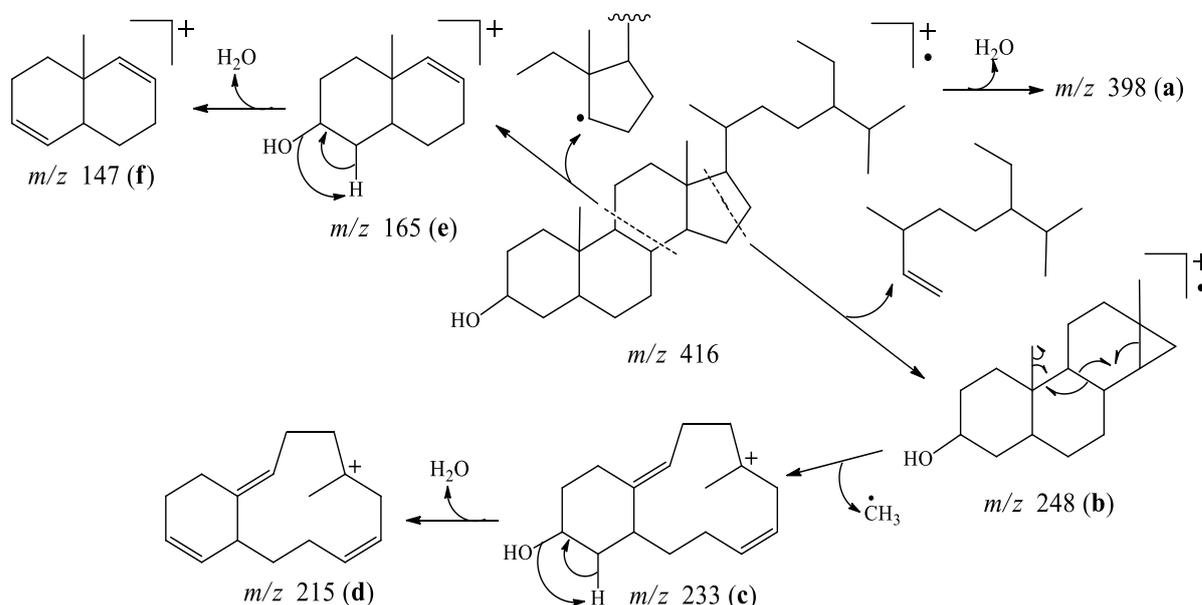
Fonte: o próprio autor.

### 6.3.12 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R)-estigmasta-3-ol (**F-12**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 114, pág. 167) de **F-12** mostrou uma banda de absorção em  $3405\text{ cm}^{-1}$  característica de deformação axial de ligação O–H, referente à hidroxila de álcool. Verificam-se também absorções em  $1466\text{ cm}^{-1}$  e  $1375\text{ cm}^{-1}$  atribuídas à deformação angular simétrica no plano para  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  respectivamente, além de uma absorção em  $1044\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C–O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 115, pág. 168) do derivado hydrogenado **F-12** exibiu o íon com  $m/z$  398 (**a**) atribuído à perda de água, além de fragmentos com  $m/z$  248 (**b**), 233 (**c**) e 215 (**d**) correspondentes à ruptura do anel **D**, saída de radical metila e eliminação de água, respectivamente. Adicionalmente, observou-se o íon com  $m/z$  165 (**e**) relacionado à ruptura do anel **C**, seguida de perda de água, resultando no íon com  $m/z$  147 (**f**), conforme apresentado na Figura 112 (pág. 166).

Figura 112 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R)-estigmastan-3-ol (**F-12**)



Fonte: o próprio autor.

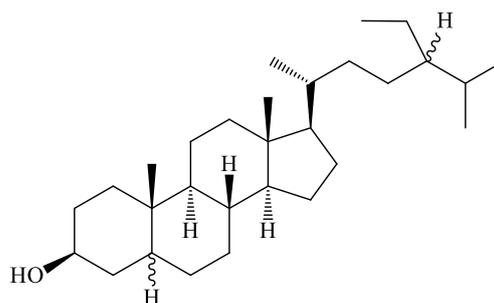
Através da análise do espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) (Fig. 116 e 117, pág. 168 e 169) foi possível observar um multipeto em  $\delta_H$  3,59, com integração para um hidrogênio, correspondente a hidrogênio ligado ao carbono oxigenado. A formação do produto hidrogenado **F-12** também pode ser confirmada através da ausência de sinais na região de hidrogênio ligado a carbono olefínico.

A análise do espectro de RMN  $^{13}C$ -BB (75 MHz,  $CDCl_3$ ) (Fig. 118, pág. 170) e posterior comparação com  $^{13}C$ -DEPT 135° (Fig. 119, pág. 171) permitiu observar o deslocamento dos sinais referentes aos carbonos C-5 ( $\delta_c$  54,60), C-6 ( $\delta_c$  32,32), C-24 ( $\delta_c$  36,51) e C-28 ( $\delta_c$  22,23) do derivado hidrogenado **F-12** que apresentam-se mais protegidos em relação aos dos correspondentes sinais no espectro do fucosterol (**F**): C-5 ( $\delta_c$  140,99), C-6 ( $\delta_c$  121,93), C-24 ( $\delta_c$  147,22) e C-28 ( $\delta_c$  115,78). É importante salientar que devido à ligação dupla entre os átomos de carbono C-24 e C-28 do substrato **F**, o espectro revelou alguns sinais duplicados atribuídos aos carbonos C-21 ( $\delta_c$  19,26 - 19,20), C-23 ( $\delta_c$  26,61 - 26,32), C-26 ( $\delta_c$  20,03 - 19,82), C-27 ( $\delta_c$  19,00 - 18,95) e C-28 ( $\delta_c$  23,29 - 23,23), sugerindo que se trata de uma mistura composta de dois esteroides.

Vale ressaltar que não foi possível definir a estereoquímica dos hidrogênios H-5 e H-24 e nem as configurações relativas dos átomos de carbono C-5 e C-24, logo os dados

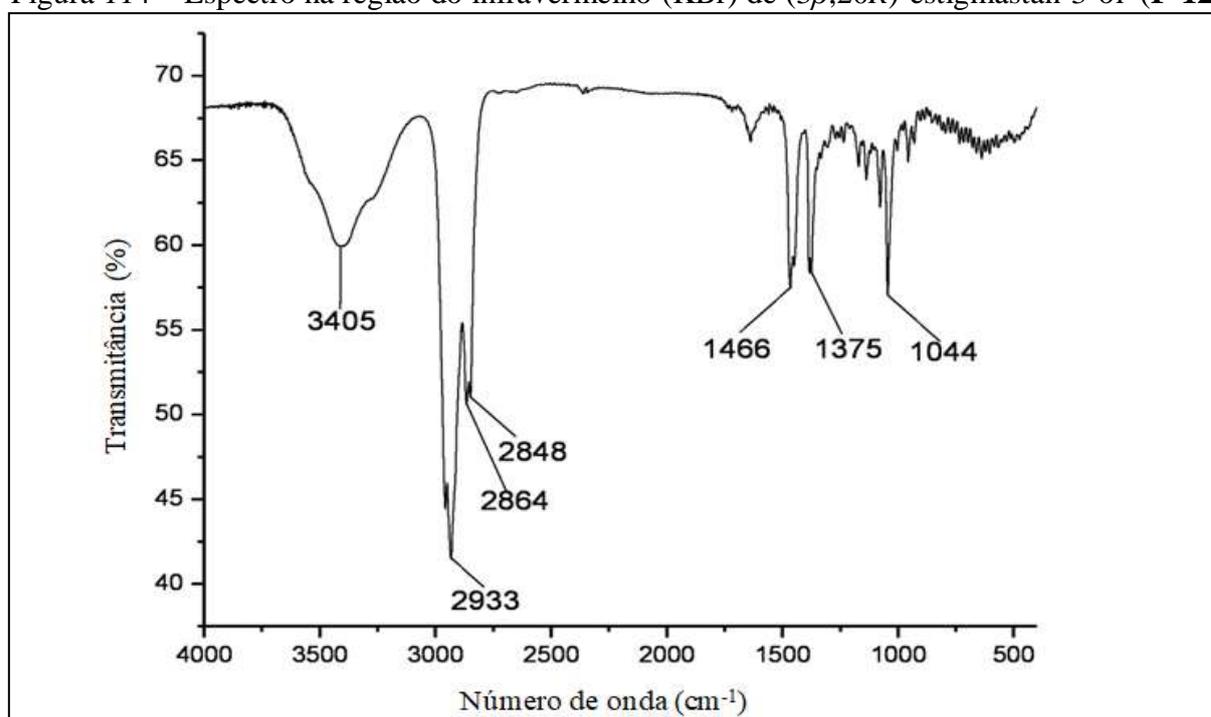
obtidos pela análise do espectro de correlação homonuclear  $H^1 \times H^1$  - NOESY não foram suficientes para caracterizar os dois esteroides presentes na mistura de **F-12**. Na Tabela 8 (pág. 172) são mostrados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado hidrogenado **F-12**, cuja estrutura encontra-se apresentada na Figura 113.

Figura 113 – Estrutura química de  $(3\beta,20R)$ -estigmastan-3-ol (**F-12**)



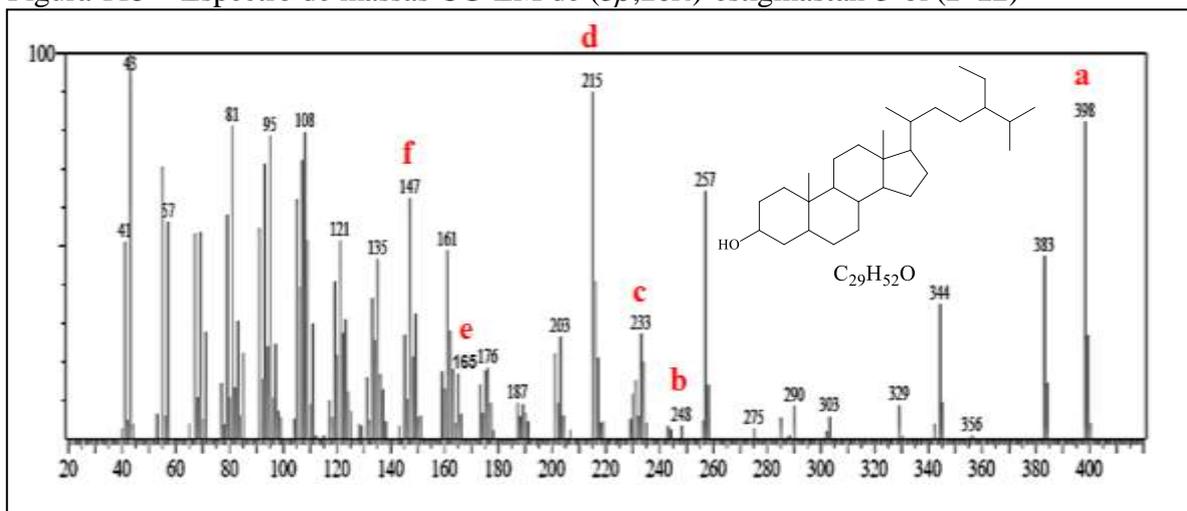
Fonte: o próprio autor.

Figura 114 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R)$ -estigmastan-3-ol (**F-12**)



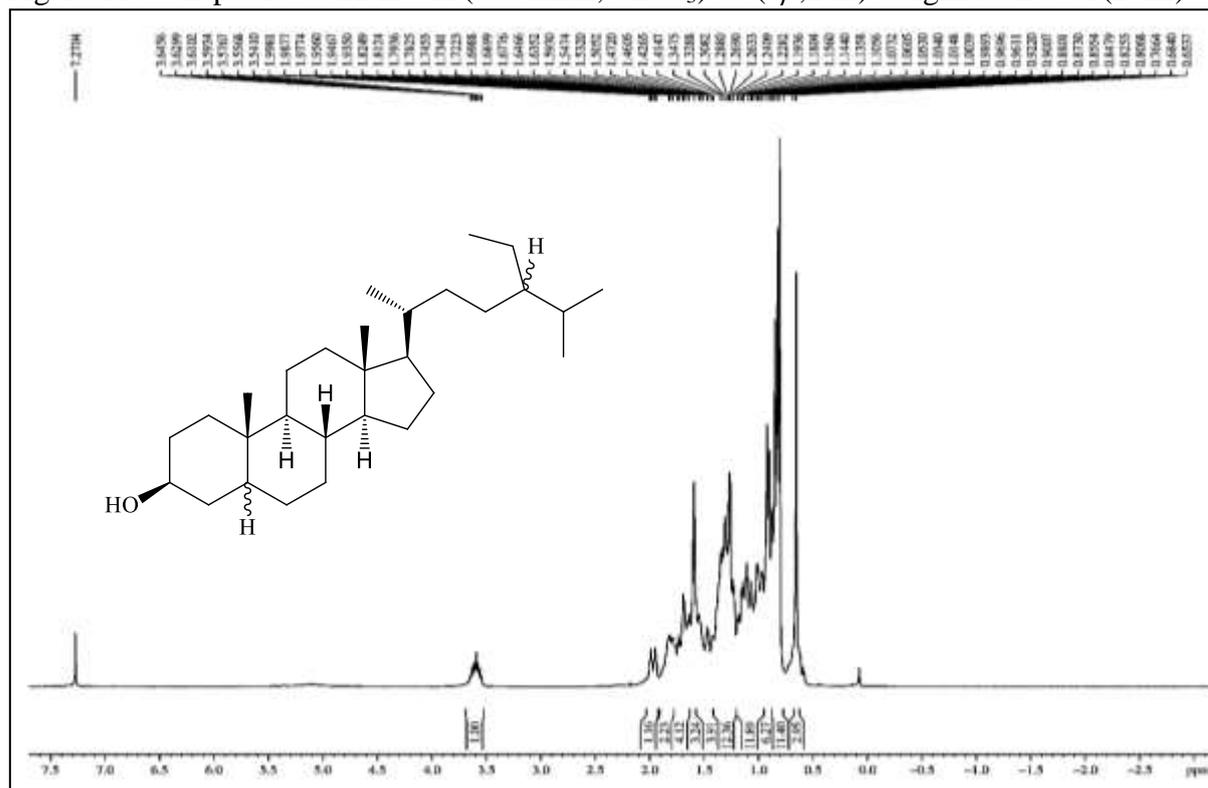
Fonte: o próprio autor.

Figura 115 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20*R*)-estigmastan-3-ol (F-12)



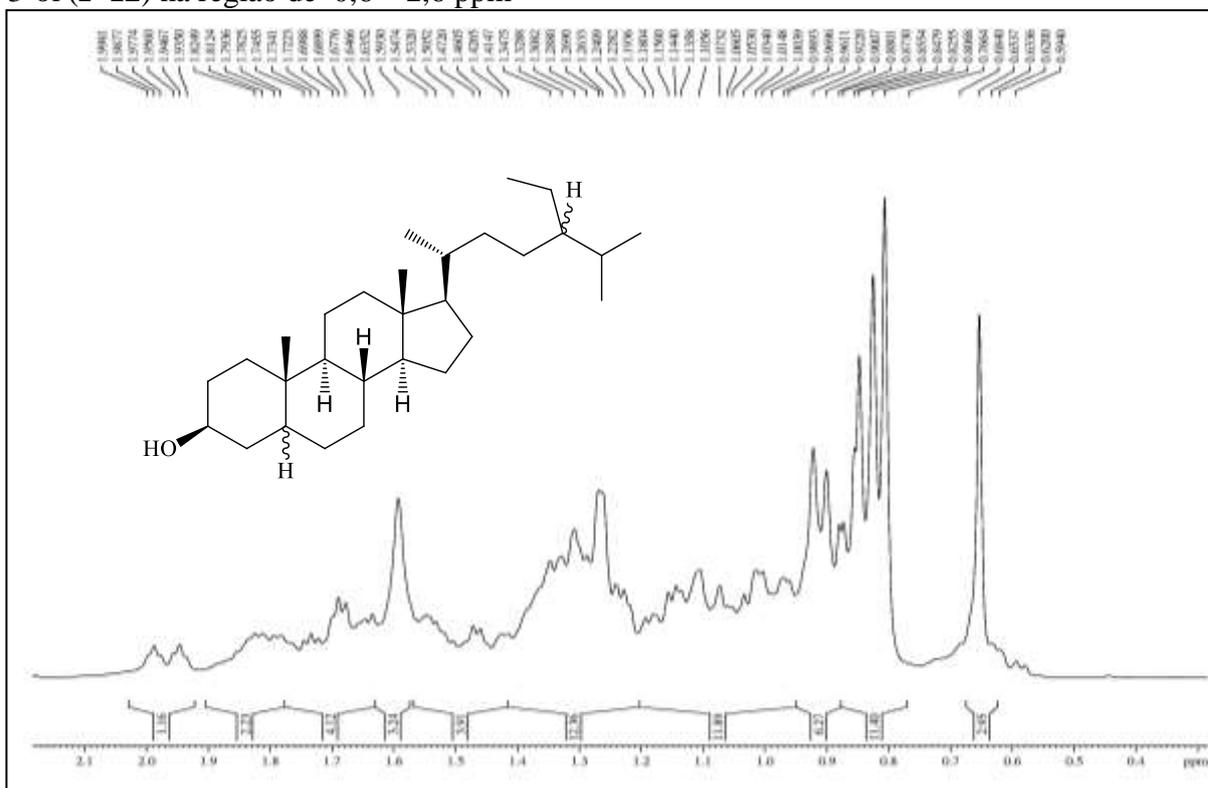
Fonte: o próprio autor.

Figura 116 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de (3 $\beta$ ,20*R*)-estigmastan-3-ol (F-12)



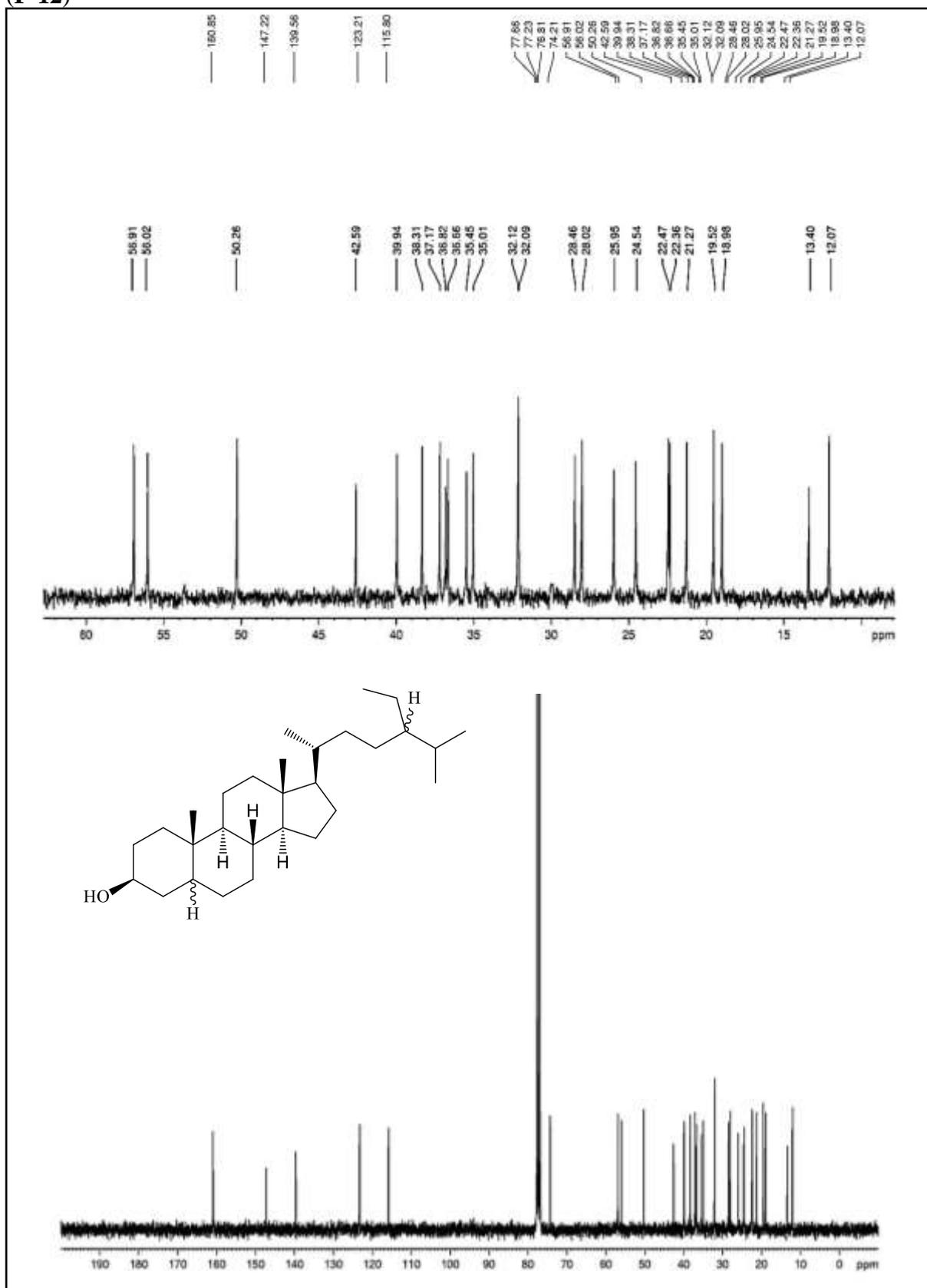
Fonte: o próprio autor.

Figura 117 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ )-estigmastan-3-ol (**F-12**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



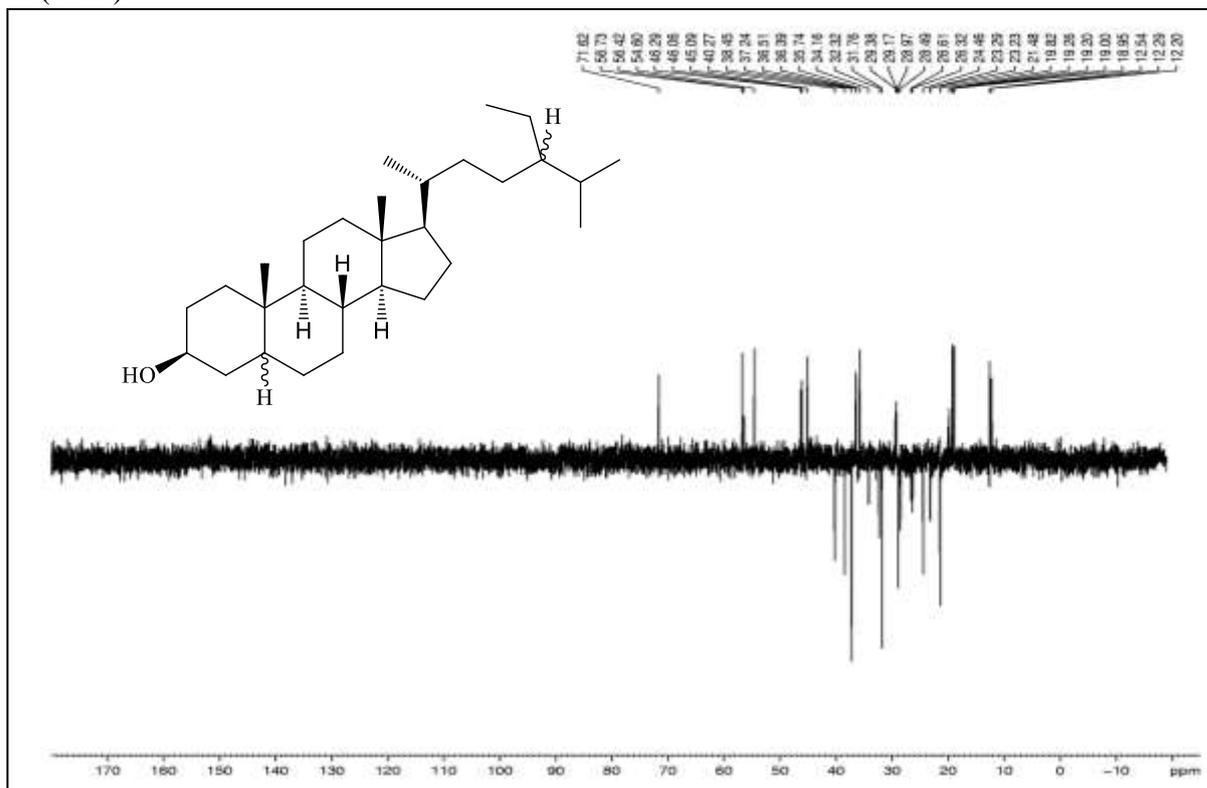
Fonte: o próprio autor.

Figura 118 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R)$ -estigmastan-3-ol (F-12)



Fonte: o próprio autor.

Figura 119 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R)-estigmastan-3-ol (F-12)



Fonte: o próprio autor.

Tabela 8 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do fucosterol (F) e dos derivados F-7, F-8, F-9, F-10, F-11 e F-12

C	Derivados do fucosterol						
	Fucosterol	F-7	F-8	F-9	F-10	F-11	F-12
1	37,48	37,26	37,25	37,22	37,19	37,17	37,45
2	31,88	28,12	28,10	28,07	28,04	28,02	31,76
3	72,03	75,00	75,15	75,16	76,03	74,21	71,62
4	42,52	39,95	39,95	39,92	39,92	39,93	40,27
5	140,99	139,81	139,76	139,72	139,47	139,56	54,60
6	121,93	123,07	123,11	123,12	123,40	123,21	32,32
7	31,88	32,16	32,16	32,15	32,15	32,13	28,97
8	32,13	32,12	32,12	32,09	32,10	32,9	36,39
9	50,36	50,28	50,28	50,23	50,25	50,25	45,09
10	36,74	36,89	36,89	36,86	36,87	36,82	35,69
11	21,31	21,28	21,29	21,17	21,28	21,27	21,48
12	39,98	38,44	38,41	38,38	38,32	38,31	37,24
13	42,58	42,59	42,59	42,57	42,58	42,59	42,83
14	56,98	56,92	56,92	56,89	56,90	56,91	56,42
15	24,55	25,94	25,96	25,90	25,93	25,95	24,46
16	28,46	28,47	28,46	28,47	28,46	28,47	28,46
17	56,01	56,01	56,02	55,97	56,00	56,01	56,73
18	12,07	12,07	12,07	12,07	12,08	12,08	12,29
19	19,62	19,59	19,59	19,59	19,58	19,52	12,54
20	36,65	36,66	36,66	36,65	36,65	36,66	35,74
21	18,98	18,98	18,99	18,98	18,98	18,98	19,26 - 19,20
22	35,45	35,45	35,45	35,43	35,44	35,45	34,16
23	25,92	24,55	24,55	24,54	24,55	24,54	26,61 - 26,32
24	147,22	147,22	147,22	147,21	147,21	147,22	36,51
25	35,01	35,00	35,00	35,01	35,01	35,01	29,38 - 29,17
26	22,46	22,46	22,46	22,46	22,46	22,47	20,03 - 19,82
27	22,35	22,35	22,35	22,35	22,35	22,36	19,00 - 18,95
28	115,78	115,73	115,79	115,78	115,79	115,79	23,29 - 23,23
29	13,40	13,39	13,39	13,41	13,40	13,40	12,20
1'		165,26	165,35	165,50	164,31	160,85	
2'		127,30	129,55	129,94	136,36		
3'		132,33	131,17	131,81	130,88		
4'		132,21	128,82	131,32	123,67		
5'		167,59	139,37	128,01	150,67		
6'		132,21	128,82	131,32	123,67		
7'		132,33	131,17	131,81	130,88		

Fonte: o próprio autor.

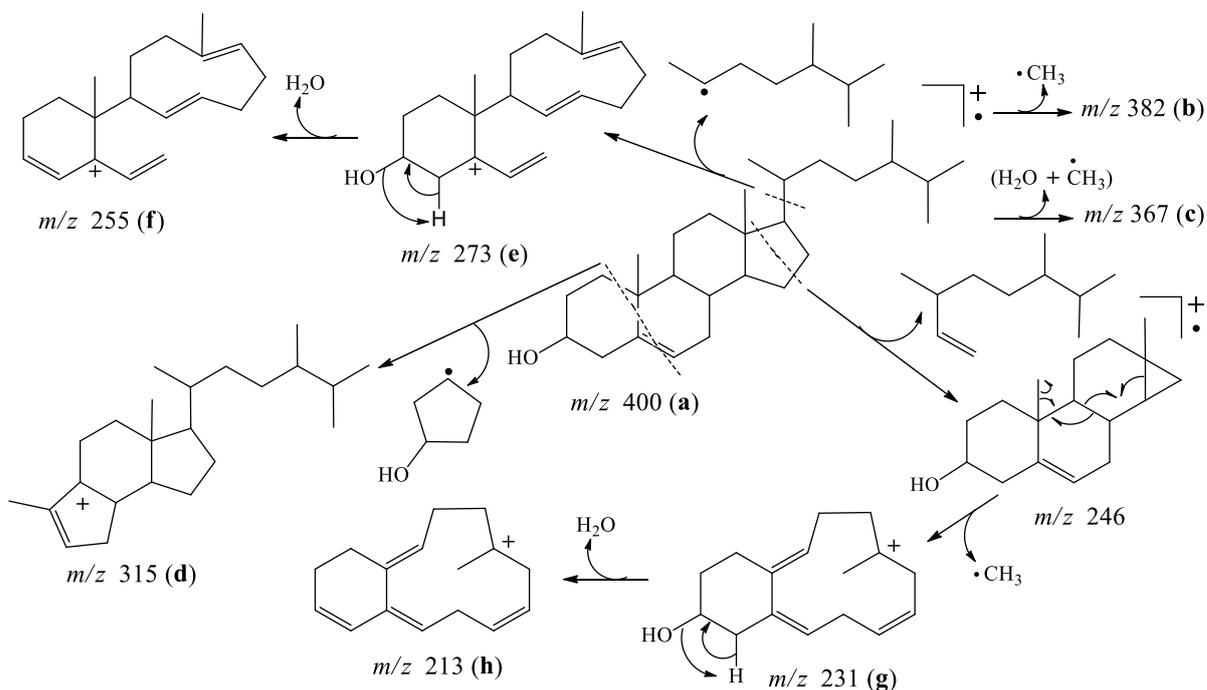
#### 6.4 Caracterização estrutural do campesterol (C)

A Fração hexano/AcOEt 80:20 (3,6 g) descrita no item 5.7 (pág. 82) foi submetida à coluna cromatográfica sobre gel de sílica, da qual se obteve um sólido amorfo branco (3,0 g), apresentando  $R_f = 0,34$  (hexano:AcOEt 80:15) com  $[\alpha]_D^{21} = -115,90$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) e p.f. = 136,6-136,8°C (Literatura: p.f. = 157-158°C,  $[\alpha]_D^{20} = -34$  ( $c = 0,01$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) (ZHANG *et al.*, 2006).

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 122, pág. 177) desse composto **C** mostrou uma banda de absorção centrada em  $3397\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação axial de ligação O-H, absorção em  $2936\text{ cm}^{-1}$  e em  $2867\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes à deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C-H de carbono com hibridação  $sp^3$  (CH,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ ), absorção em  $1669\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial em C=C, bem como absorções em  $1465\text{ cm}^{-1}$  e  $1376\text{ cm}^{-1}$  de deformação angular simétrica no plano para  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  respectivamente, além de uma absorção em  $1050\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C-O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de massas de baixa resolução do campesterol (**C**) (Fig. 123, pág. 177) observou-se o pico do íon molecular com  $m/z$  400 (**a**) e do fragmento com  $m/z$  382 (**b**) referente à eliminação de radical metila, além do íon com  $m/z$  367 correspondente a saída de água seguida de perda de radical metila. A saída da cadeia lateral em C-17 resultou no íon com  $m/z$  273 (**e**) que após a eliminação de água originou o íon com  $m/z$  255 (**f**). A ruptura do anel **D** formou o íon com  $m/z$  246 que com a perda do radical metila seguida de desidratação resultou nos íons com  $m/z$  231 (**g**) e 213 (**h**), respectivamente. A ruptura do anel **A** originou o íon com  $m/z$  315 (**d**), conforme mostrado na Figura 120 (pág. 174). Deste modo, a estrutura deste composto, com fórmula molecular de  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$  (MM 400), com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a cinco, confirmou um esqueleto ergostano do tipo  $\Delta^5$ -3-ol.

Figura 120 – Esquema mostrando as principais fragmentações do campesterol (C)



Fonte: Adaptado de Santana (2011).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 124 e 125, pág. 178) apresentou sinais em  $\delta_H$  0,64 (s); 1,01 (s); 0,92 (d,  $J = 6,4$  Hz); 0,85 (d,  $J = 6,7$  Hz); 0,79 (d,  $J = 6,6$  Hz) e 0,77 (d,  $J = 6,5$  Hz) referentes a hidrogênio de seis metilas, um multiplete em  $\delta_H$  3,02, com integração para um hidrogênio, inferido a um hidrogênio ligado a carbono oxigenado, além de um sinal em  $\delta_H$  5,35 (d,  $J = 4,8$  Hz) para um hidrogênio ligado a carbono olefínico.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 126, pág. 179) mostrou sinais correspondentes a 27 linhas espectrais, típico de esteroide ergostano, uma delas atribuída a dois átomos de carbono. A análise comparativa com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (Fig. 127, pág. 180) permitiu definir o padrão de hidrogenação de cada carbono: seis carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), dez carbonos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), nove carbonos metínicos ( $\text{CH}$ ) e três carbonos não hidrogenados (C), como apresentado na Tabela 9 (pág. 175). Entre os carbonos metínicos, o sinal em  $\delta_c$  72,04, corresponde a um carbono oxigenado (C–O), e os sinais em  $\delta_c$  121,92 e em  $\delta_c$  140,97 foram inferidos a dupla ligação.

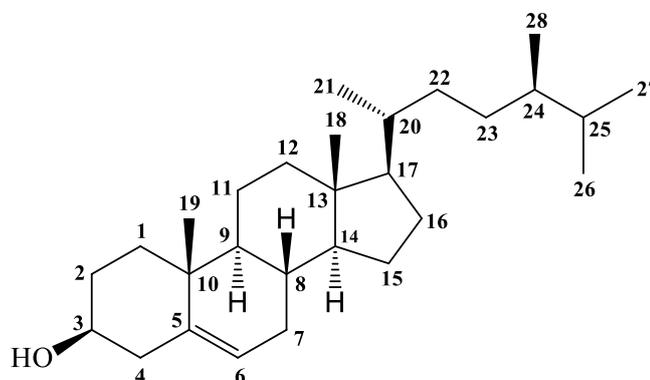
Tabela 9 – Padrão de hidrogenação dos carbonos do campesterol (C)

C	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	Fórmula molecular
140,97	121,92	42,48	20,72	
42,53	72,01 (HC–OH)	39,96	19,59	
36,72	56,94	37,44	19,08	
	56,17	33,91	17,78	
	50,32	32,11	15,63	
	39,26	31,84	12,05	
	36,37	30,76		
	32,09	28,39		
		24,49		
		21,27		
<b>3 C</b>	<b>9 CH</b>	<b>10 CH<sub>2</sub></b>	<b>6 CH<sub>3</sub></b>	<b>IDH = 5 C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O</b>

Fonte: o próprio autor.

Com base nos dados espectroscópicos (Tabela 10, pág. 176) e comparação com dados descritos na literatura (ZHANG *et al.*, 2006), caracterizou-se o esteroide de (3 $\beta$ ,20R,24R)-ergost-5-en-3-ol, trivialmente conhecido como campesterol (C), cuja estrutura está mostrada na Figura 121.

Figura 121 – Estrutura química do campesterol (C)



Fonte: o próprio autor.

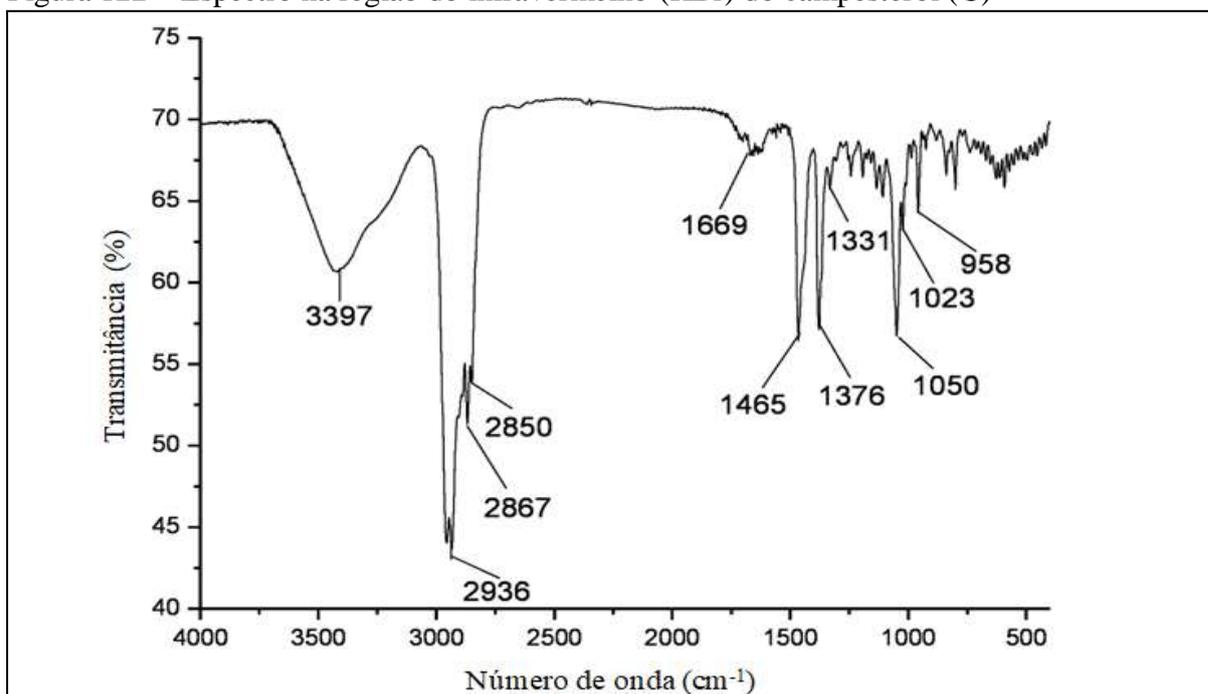
Há relatos do isolamento do campesterol em zoantídeos do gênero *Palythoa*, tais como *P. turberculosa* (GUPTA; SHEUER, 1969), *P. senegalensis*, *P. dartavellei* e *P. monodi* (DIOP *et al.*, 1986), os quais são abundantes em águas rasas ao longo da costa Nordeste Brasileiro (PINTO *et al.*, 2017).

Tabela 10 – Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do campesterol (C) em  $\text{CDCl}_3$  comparados com os descritos na literatura (ZHANG *et al.*, 2006) em  $\text{CDCl}_3$

C	Campesterol		Literatura (ZHANG <i>et al.</i> , 2006)	
	$\delta_c$	$\delta_H$	$\delta_c$	$\delta_H$
1	37,44		37,25	
2	31,84		31,90	
3	72,01	3,02 ( <i>m</i> , 1H)	71,80	3,53 ( <i>m</i> , 1H)
4	42,48		39,77	
5	140,97		140,76	
6	121,92	5,35 ( <i>d</i> , $J = 4,8$ Hz, 1H)	121,72	5,35 ( <i>d</i> , 1H)
7	32,11		32,42	
8	32,09		32,42	
9	50,32		50,12	
10	36,72		36,50	
11	21,27		21,08	
12	39,96		39,77	
13	42,53		42,31	
14	56,17		56,09	
15	24,49		24,29	
16	28,39		28,23	
17	56,94		56,76	
18	12,05	0,64 ( <i>s</i> , 3H)	11,86	0,68 ( <i>s</i> , 3H)
19	19,59	1,01 ( <i>s</i> , 3H)	19,40	1,01 ( <i>s</i> , 3H)
20	36,37		35,88	
21	19,08	0,92 ( <i>d</i> , $J = 6,4$ Hz, 3H)	18,70	0,91 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz, 3H)
22	33,91		33,70	
23	30,76		30,26	
24	39,26		38,83	
25	31,65		31,67	
26	20,72	0,85 ( <i>d</i> , $J = 6,7$ Hz, 3H)	20,20	0,85 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz, 3H)
27	17,78	0,79 ( <i>d</i> , $J = 6,6$ Hz, 3H)	18,25	0,80 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz, 3H)
28	15,63	0,77 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz, 3H)	15,37	0,77 ( <i>d</i> , $J = 6,5$ Hz, 3H)

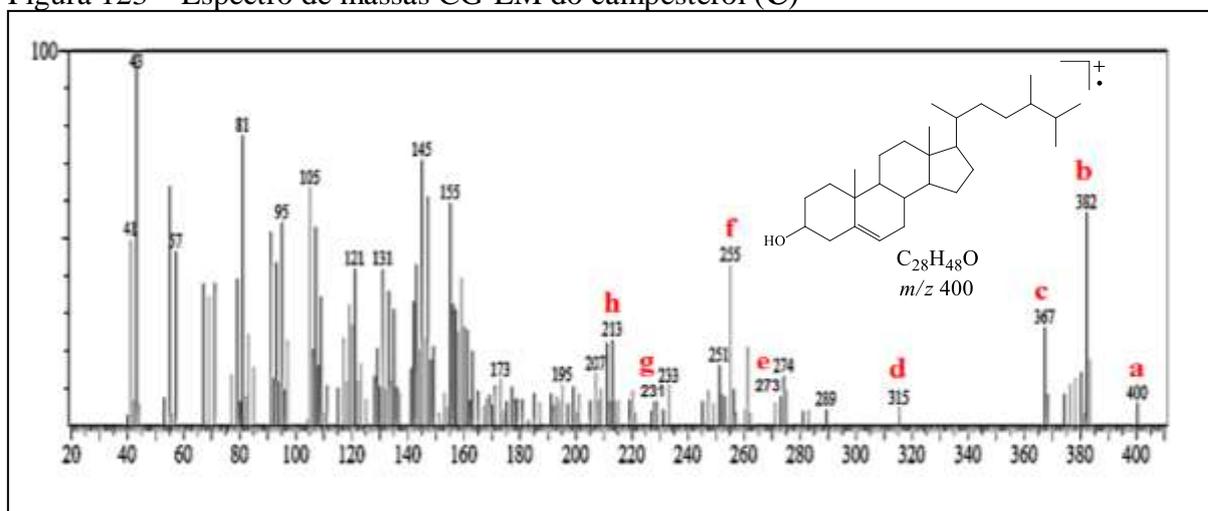
Fonte: o próprio autor.

Figura 122 – Espectro na região do infravermelho (KBr) do campesterol (C)



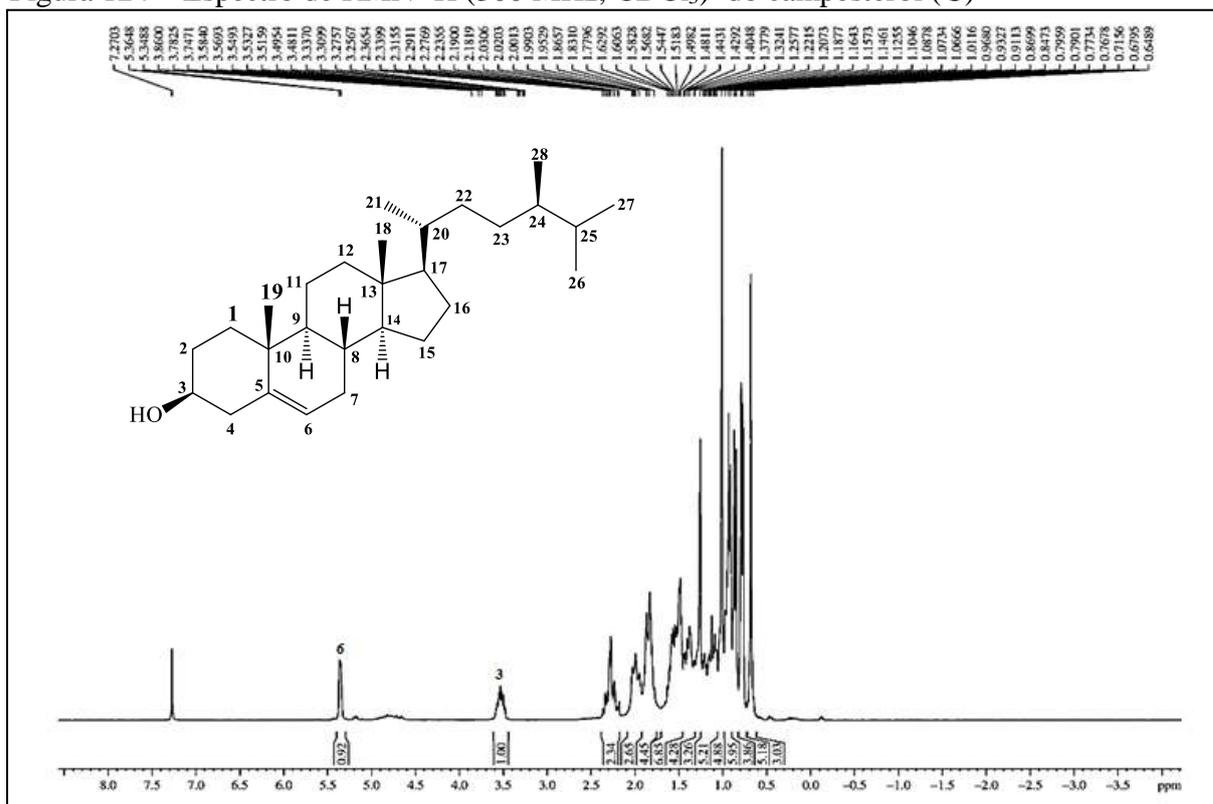
Fonte: o próprio autor.

Figura 123 – Espectro de massas CG-EM do campesterol (C)



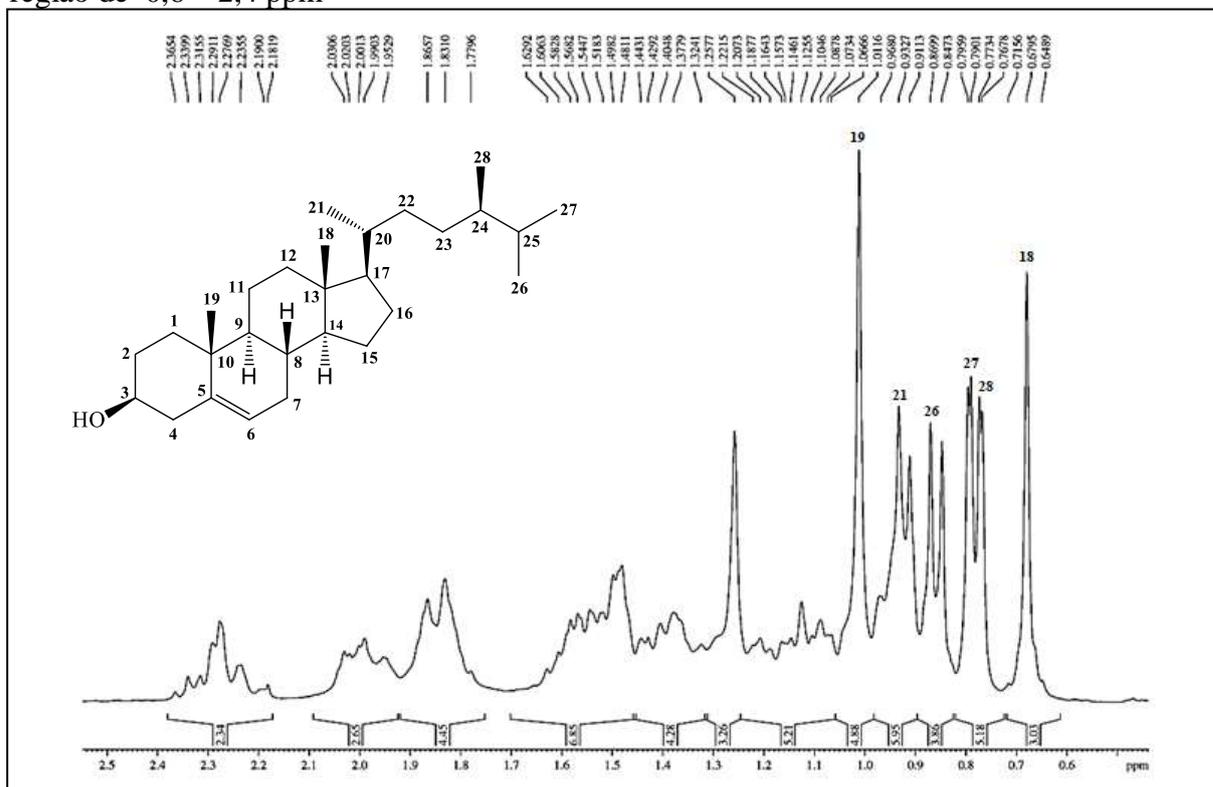
Fonte: o próprio autor.

Figura 124 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol (C)

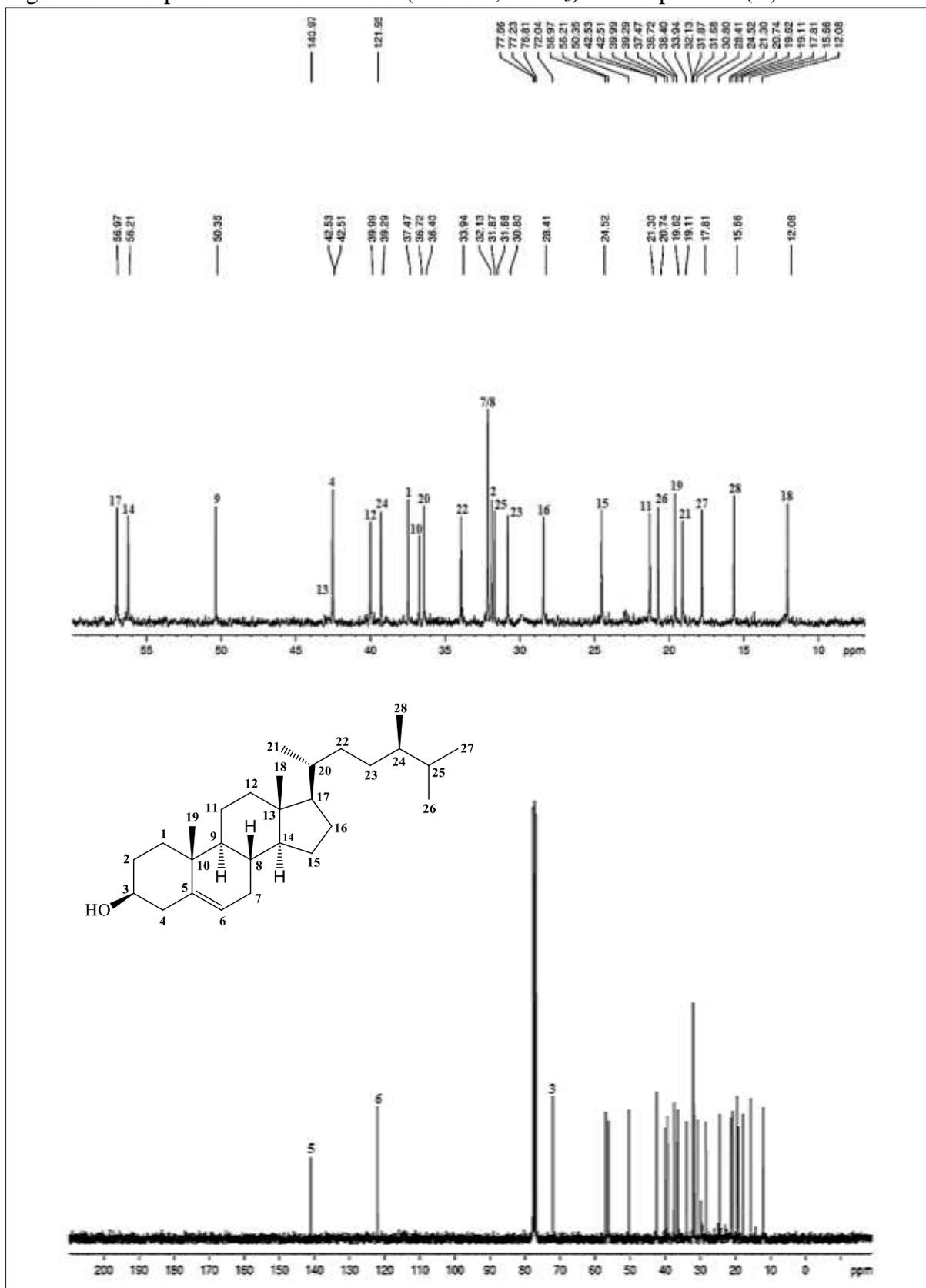


Fonte: o próprio autor.

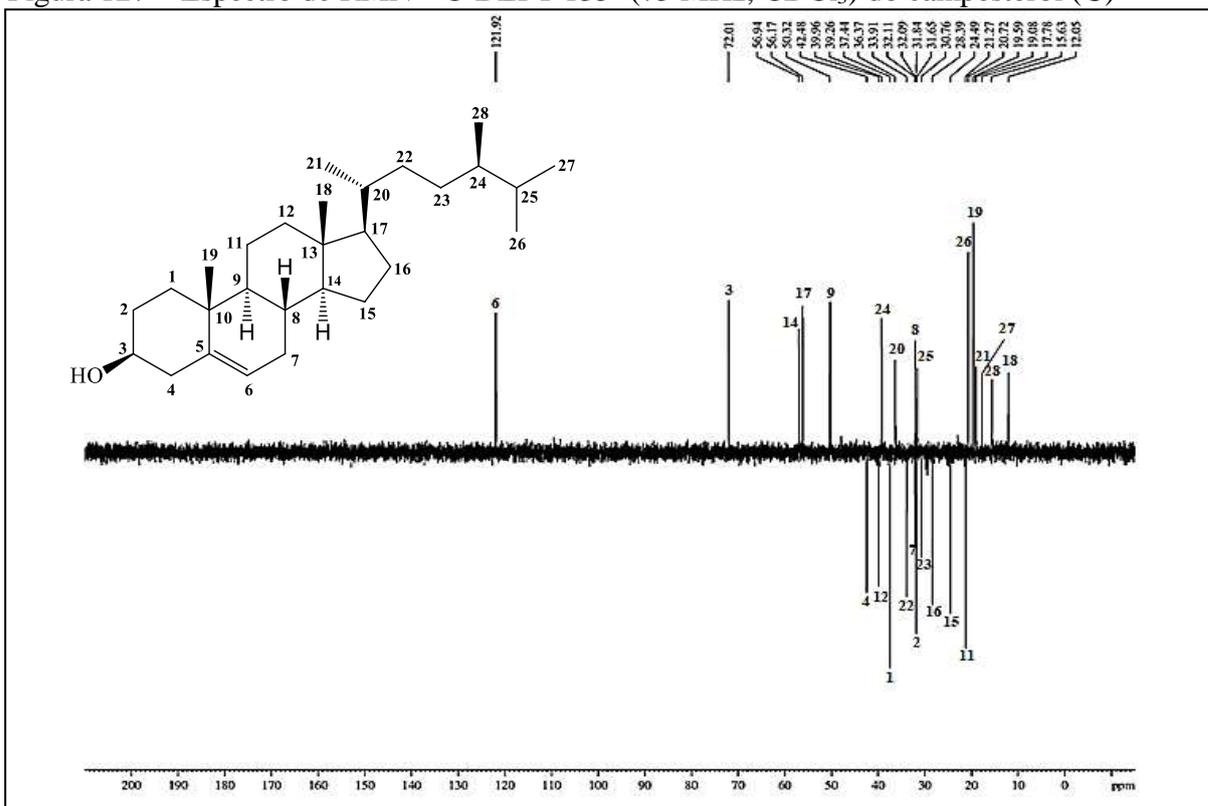
Figura 125 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol (C) na região de 0,6 – 2,4 ppm



Fonte: o próprio autor.

Figura 126 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol (C)

Fonte: o próprio autor.

Figura 127 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do campesterol (C)

Fonte: o próprio autor.

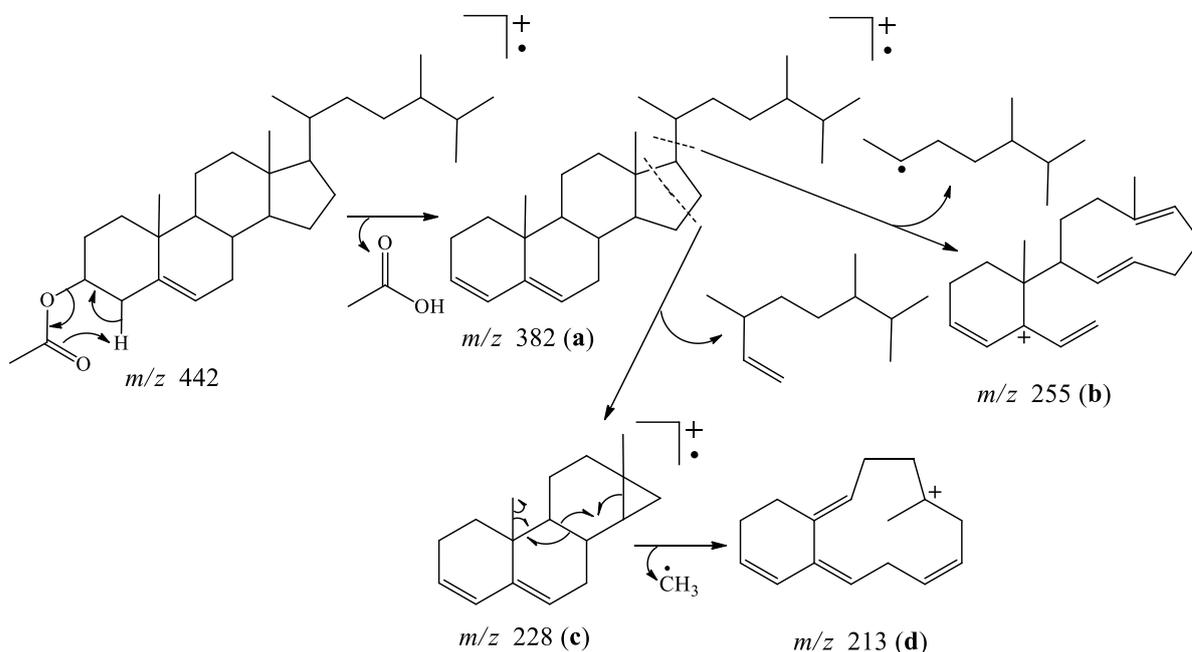
## 6.5 Caracterização estrutural dos derivados semissintéticos do campesterol (C)

### 6.5.1 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxi ergost-5-eno (C-1)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 130, pág. 182) de **C-1**, observou-se o surgimento da banda de absorção em  $1730\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster e o aparecimento da banda em  $1250\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação axial de  $\text{C}_{\text{sp}^3}-\text{O}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 131, pág. 183) de **C-1** não apresentou o pico do íon molecular, no entanto, mostrou o íon com  $m/z$  382  $[\text{M}-60]^+$  (a) referente à eliminação de ácido acético. Conforme citado anteriormente, de acordo com Silverstein e Webster (2007), esteroides acetilados perdem uma molécula de ácido acético de forma bem similar à eliminação de água pelos alcoóis. Neste espectro observou-se, ainda, fragmentações Retro Diels Alder (RDA), típicas de ruptura do anel **D**, formando o íon com  $m/z$  228 (c). A perda do radical metila a partir do íon com  $m/z$  228 originou o íon com  $m/z$  213 (d) e a saída da cadeia lateral em C-17 resultou no íon com  $m/z$  255 (b), conforme apresentado na Figura 128 (pág. 181).

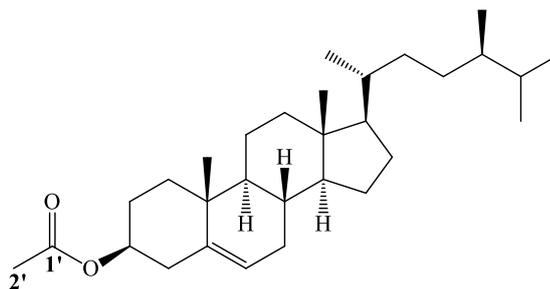
Figura 128 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxiergost-5-eno (**C-1**)



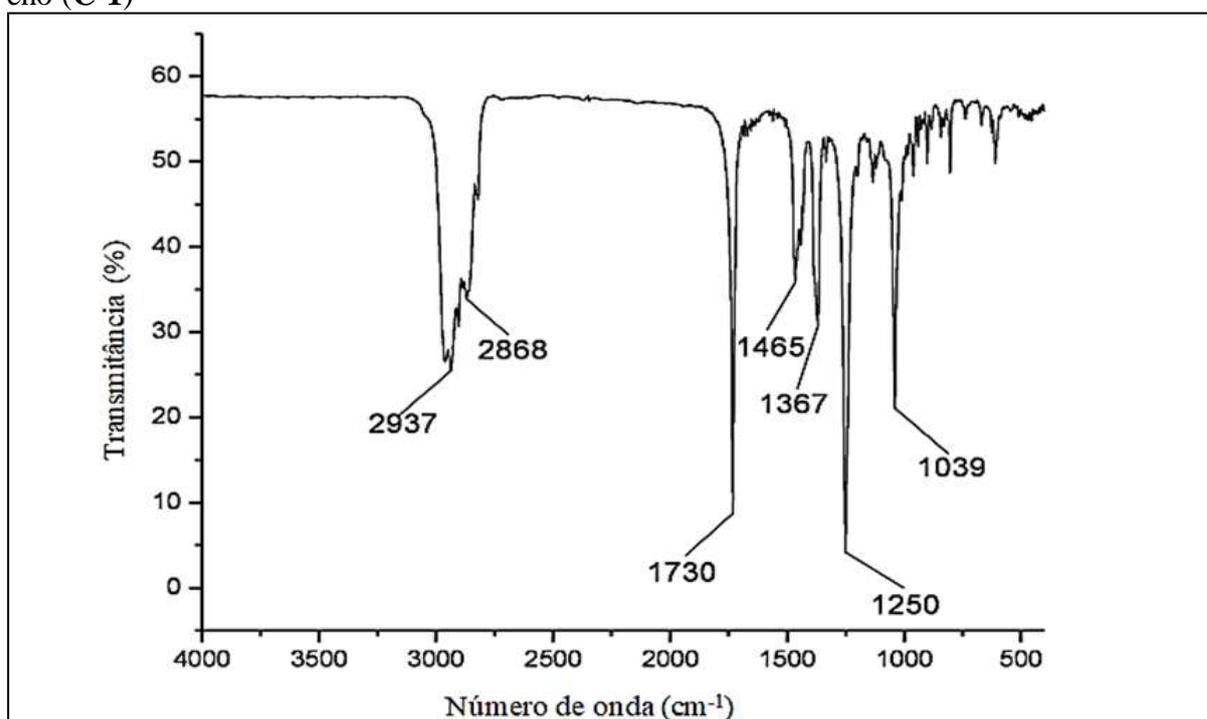
Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 132 e 133, pág. 183 e 184, respectivamente) apresentou um simpleto intenso em  $\delta_{\text{H}}$  2,17 característico de hidrogênios metílicos do grupo acetila. Além disso, foi detectada a presença de um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,62, correspondente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que se encontra mais desprotegido com relação ao do substrato **C** em  $\delta_{\text{H}}$  3,02, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila em C-3 (PAVIA *et al.*, 2010). Desta forma, o deslocamento do H-3 também pode ser indicativo da formação do derivado acetilado.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 134, pág. 185) mostrou a presença do sinal em  $\delta_{\text{C}}$  170,76, atribuído ao carbono carbonílico do grupo éster e também do sinal em  $\delta_{\text{C}}$  21,67 referente ao carbono metílico do grupo acetila. A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 135, pág. 186) possibilitou a identificação desses carbonos e confirmou a formação do produto esterificado. Vale salientar que outros sinais compatíveis com o esqueleto do derivado acetilado também foram observados e comparados como os dados do campesterol (**C**) e encontram-se apresentados na Tabela 11 (pág. 207). A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto acetilado como (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxiergost-5-eno (**C-1**), cuja estrutura está mostrada na Figura 129 (pág. 182).

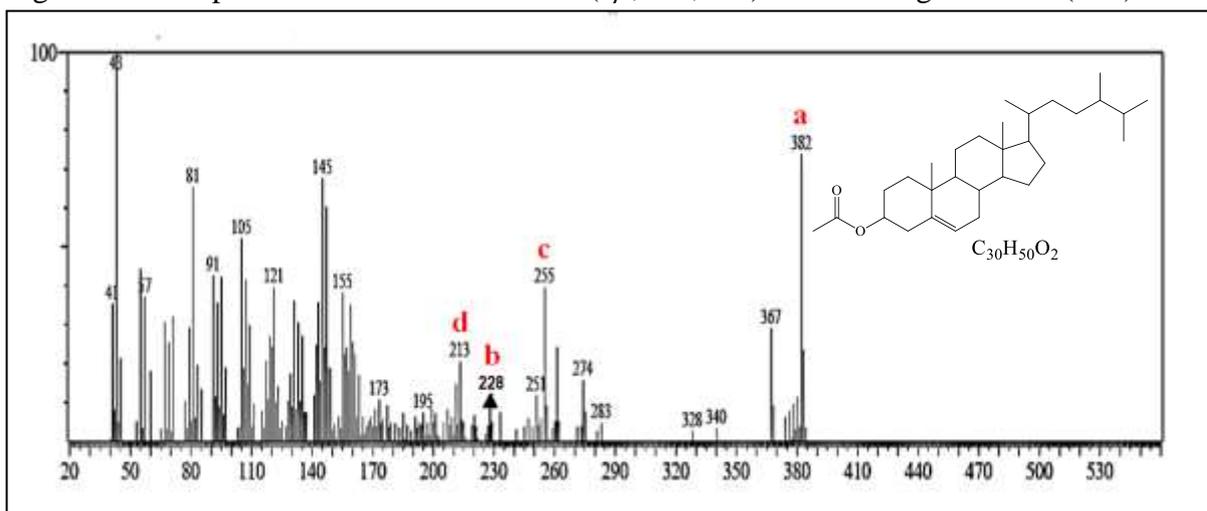
Figura 129 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxiergost-5-eno (C-1)

Fonte: o próprio autor.

Figura 130 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxiergost-5-eno (C-1)

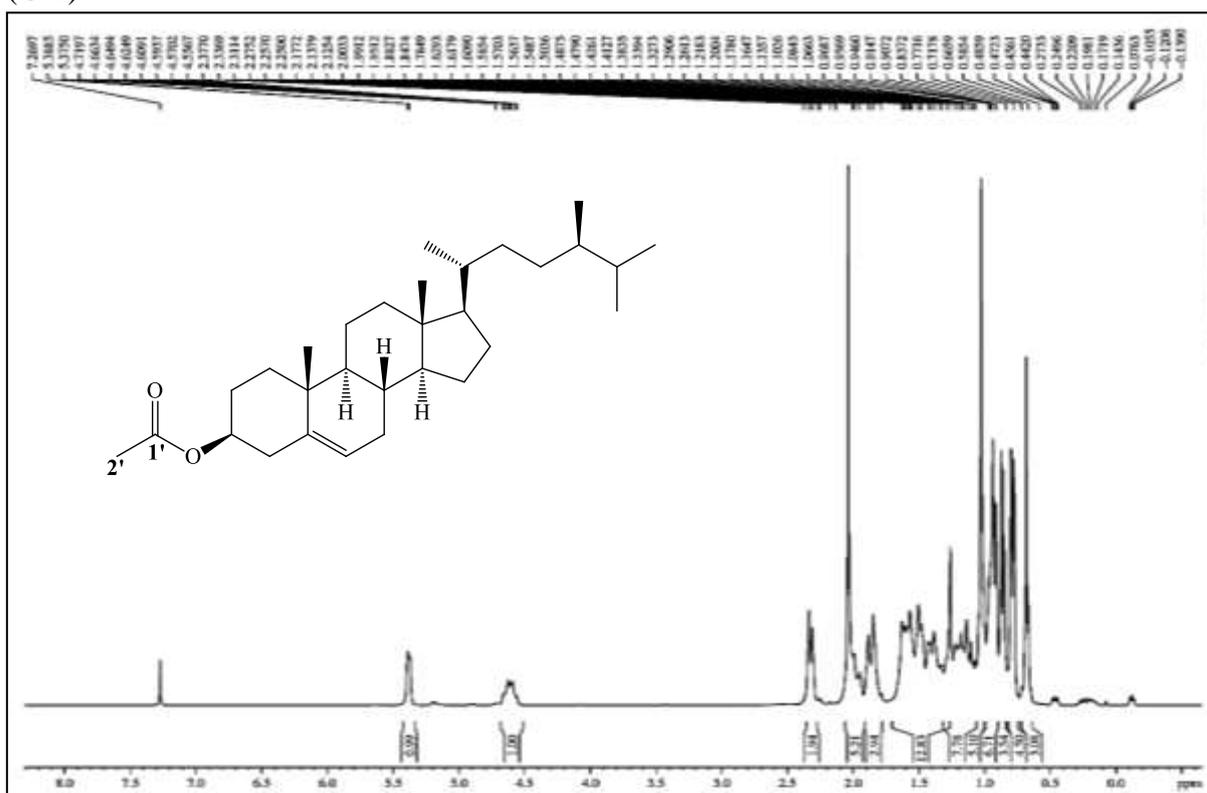
Fonte: o próprio autor.

Figura 131 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxi ergost-5-eno (C-1)



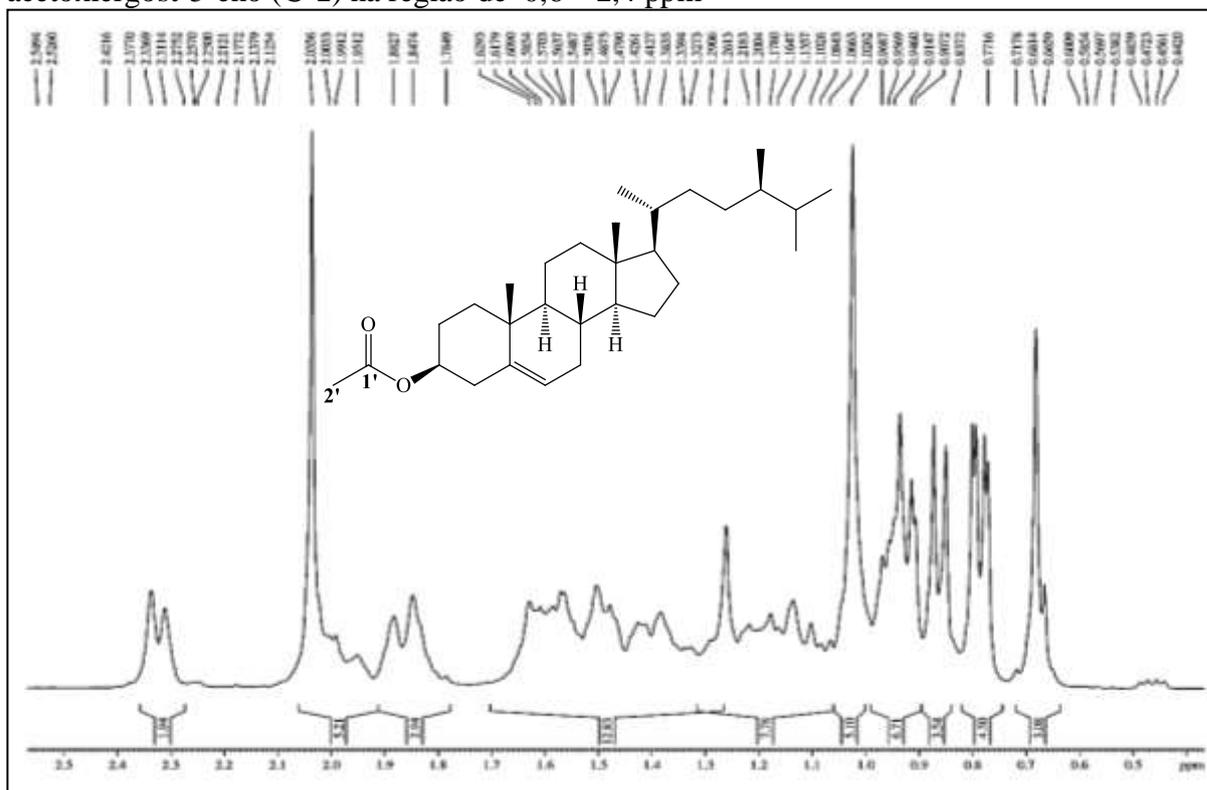
Fonte: o próprio autor.

Figura 132 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-acetoxi ergost-5-eno (C-1)



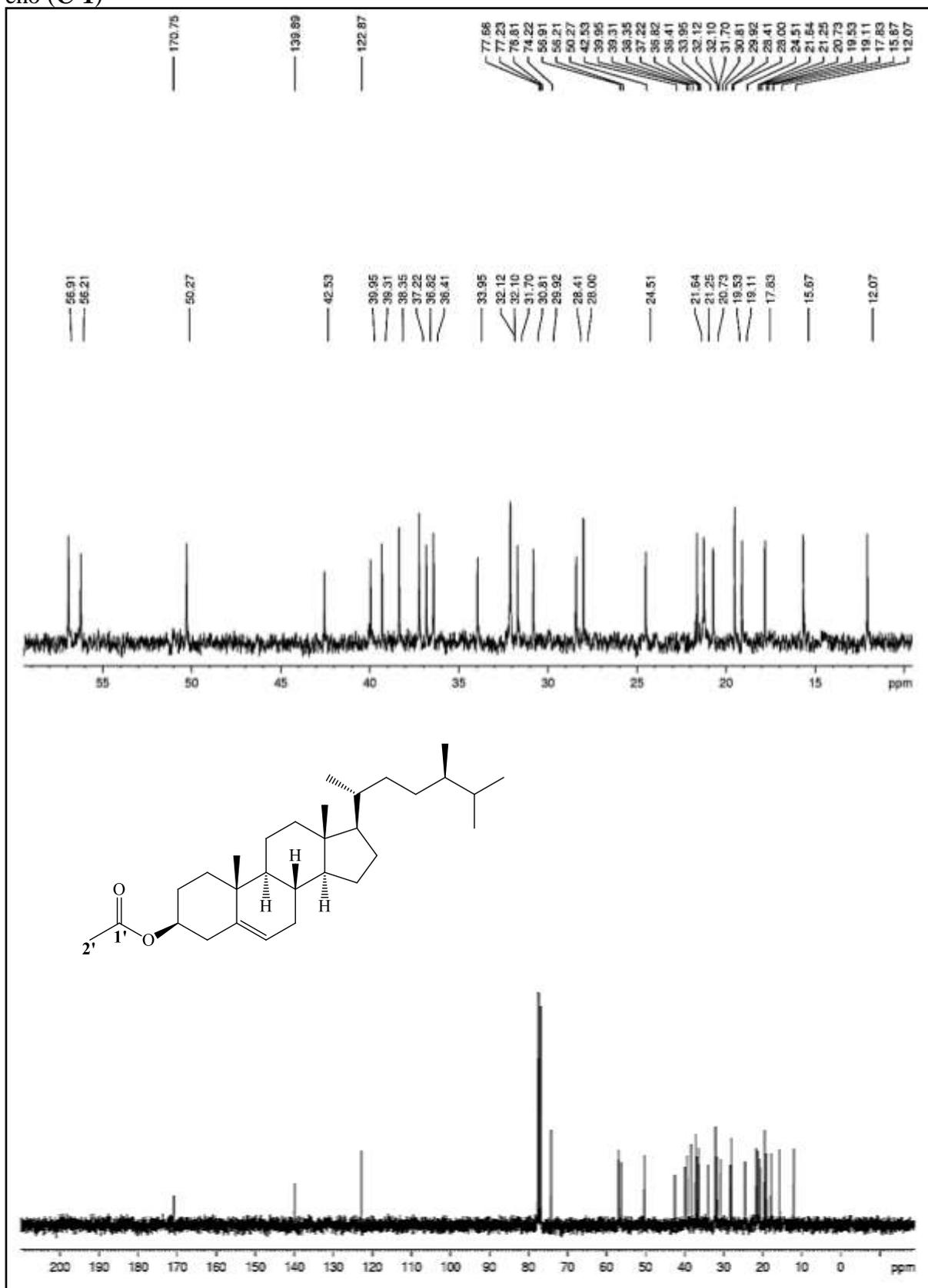
Fonte: o próprio autor.

Figura 133 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-3-acetoxiergost-5-eno (C-1) na região de 0,6 – 2,4 ppm



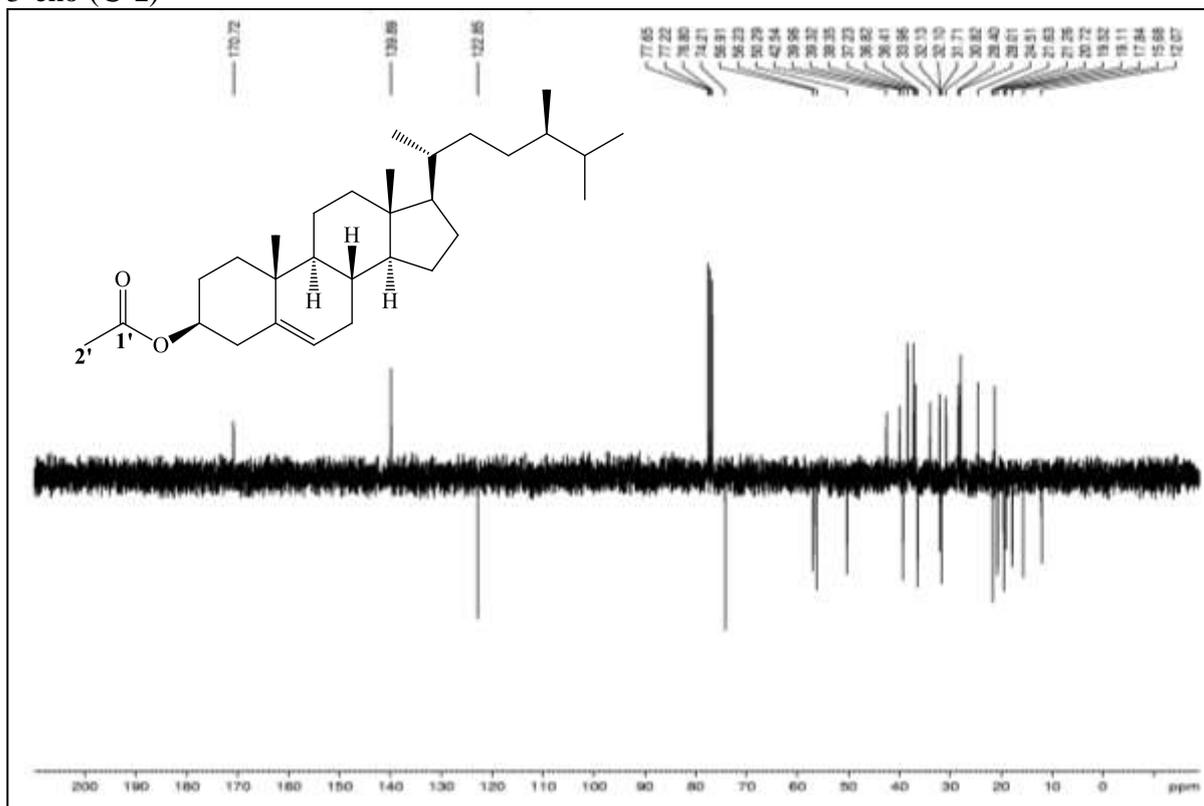
Fonte: o próprio autor.

Figura 134 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-acetoxiergost-5-eno (C-1)



Fonte: o próprio autor.

Figura 135 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-acetoxiergost-5-eno (**C-1**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.5.2 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -3-butoxi-ergost-5-eno (**C-2**)

Através da análise do espectro de absorção na região do infravermelho (IV) do composto **C-2** (Fig. 137, pág. 187) observou-se o surgimento de bandas em  $1192\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação axial de  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-O}$  de éster e em  $1733\text{ cm}^{-1}$ , associada à deformação axial de ligação  $\text{C=O}$  de éster (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

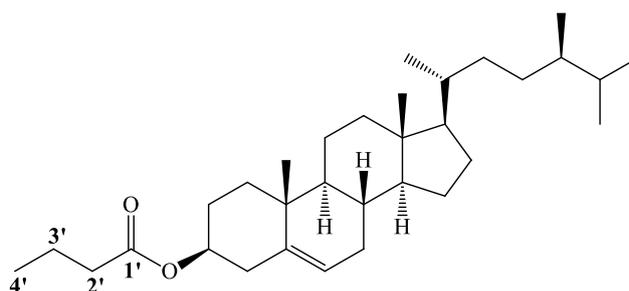
A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 138 e 139, pág. 188) permitiu identificar um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,26 (*t*,  $J = 7,3\text{ Hz}$ , 3H), atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo butanoíla. Este espectro revelou ainda um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,62 (*m*, 1H) relacionado ao hidrogênio H-3 do produto acilado **C-2** que se apresenta mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do campesterol (**C**) em  $\delta_{\text{H}}$  3,02.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 140, pág. 189) mostrou sinais em  $\delta_{\text{C}}$  173,37 e em  $\delta_{\text{C}}$  13,85 referentes ao carbono carbonílico de éster e ao carbono metílico do grupo butanoíla, respectivamente. A análise comparativa deste espectro com o espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (Fig. 141, pág. 190) possibilitou identificar a existência de dois sinais

de carbonos metilênicos em  $\delta_c$  36,80 e em  $\delta_c$  18,76. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono estão mostrados na Tabela 11 (pág. 207).

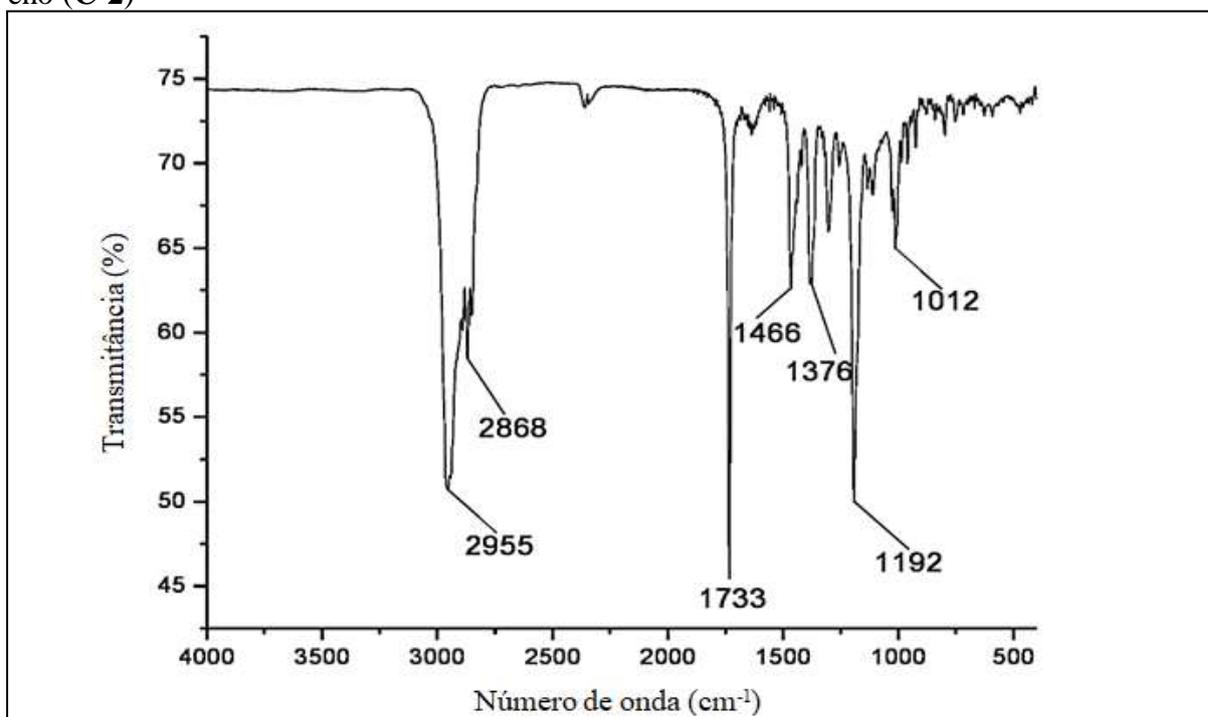
Através dos dados espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e IV, foi possível identificar o produto esterificado como (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-butoxiergost-5-eno (**C-2**), cuja estrutura encontra-se apresentada na Figura 136.

Figura 136 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-butoxiergost-5-eno (**C-2**)



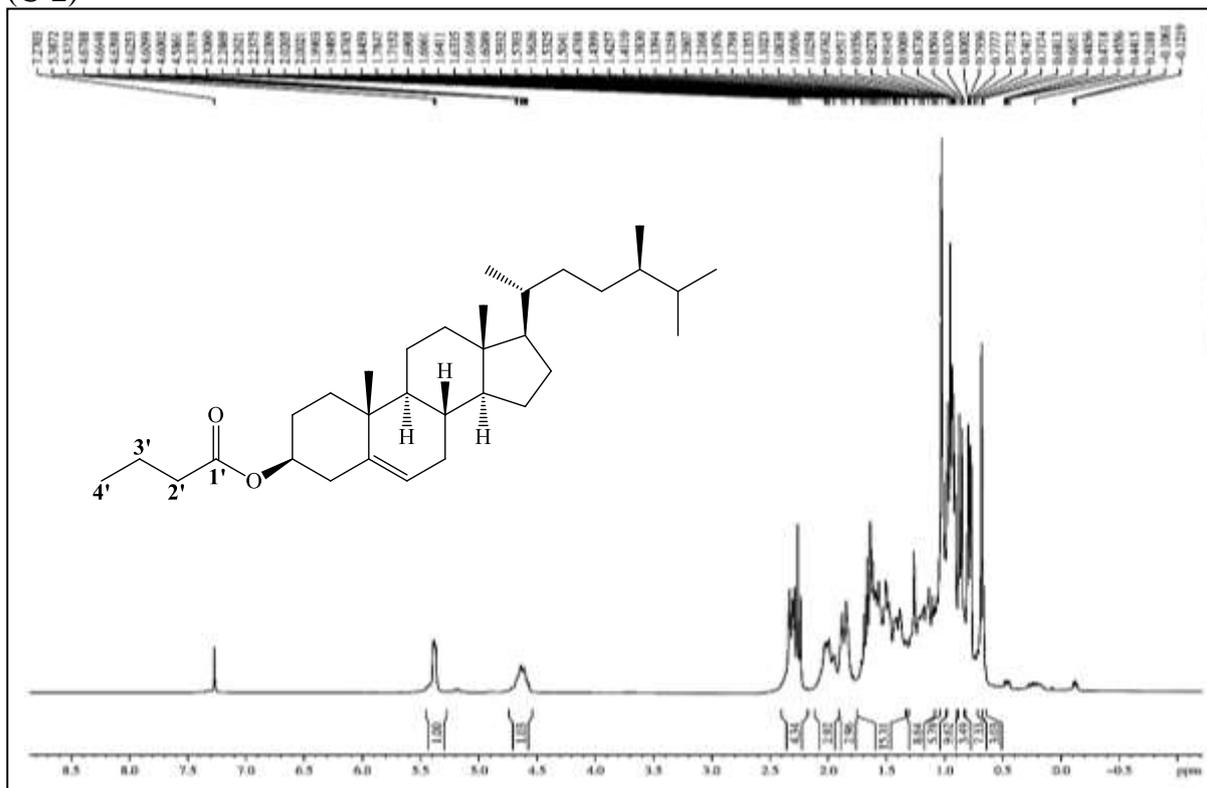
Fonte: o próprio autor.

Figura 137 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-butoxiergost-5-eno (**C-2**)



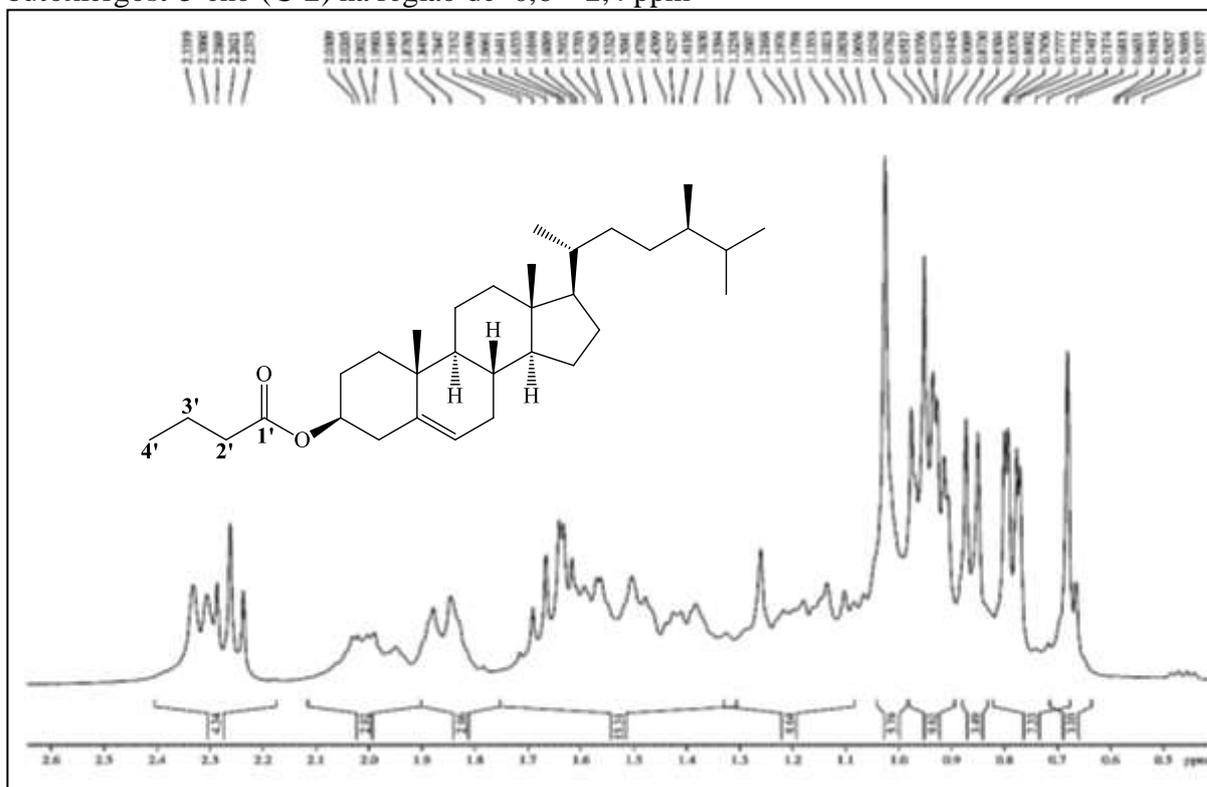
Fonte: o próprio autor.

Figura 138 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-butoxiergost-5-eno (C-2)



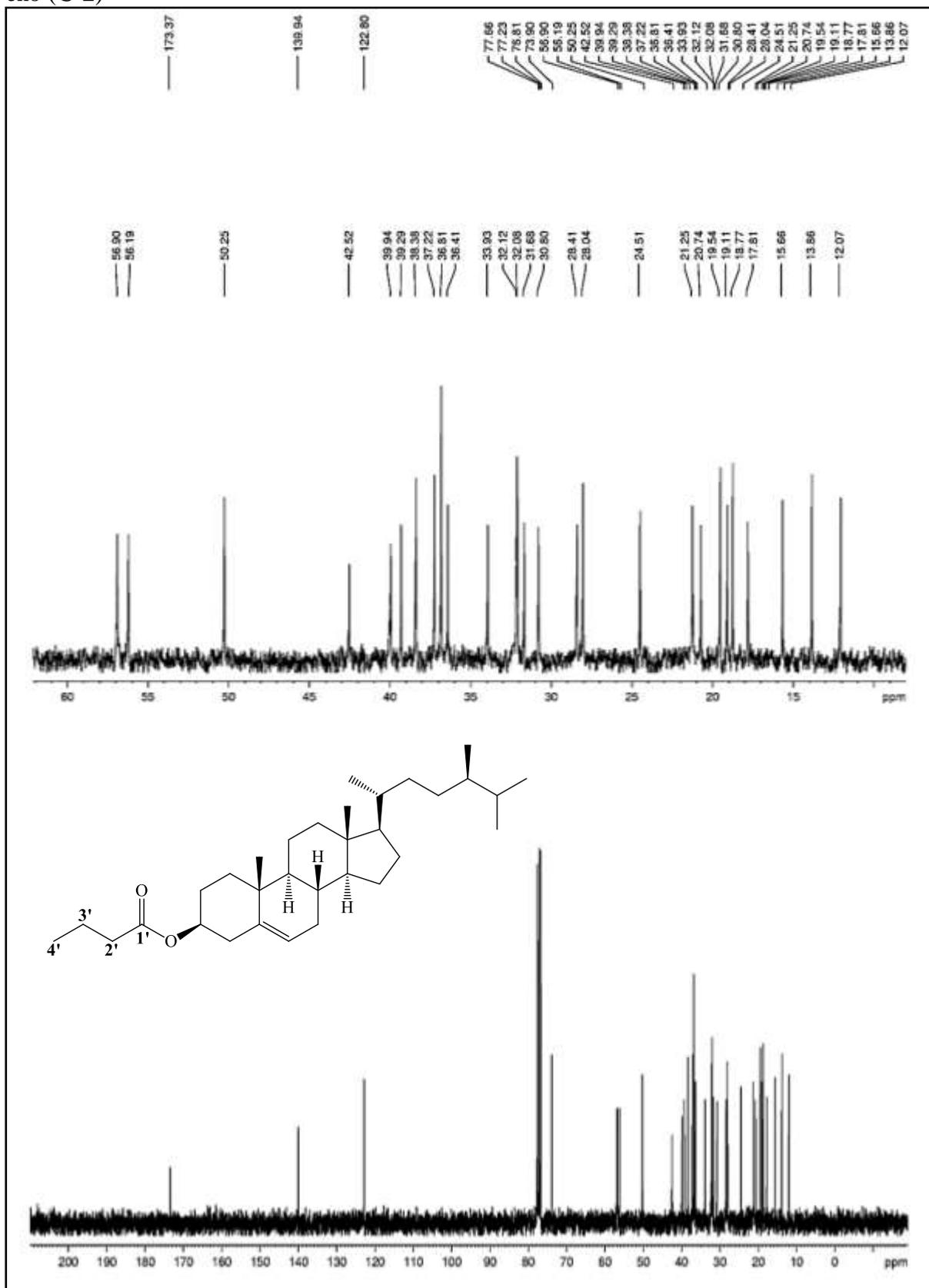
Fonte: o próprio autor.

Figura 139 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-butoxiergost-5-eno (C-2) na região de 0,6 – 2,4 ppm



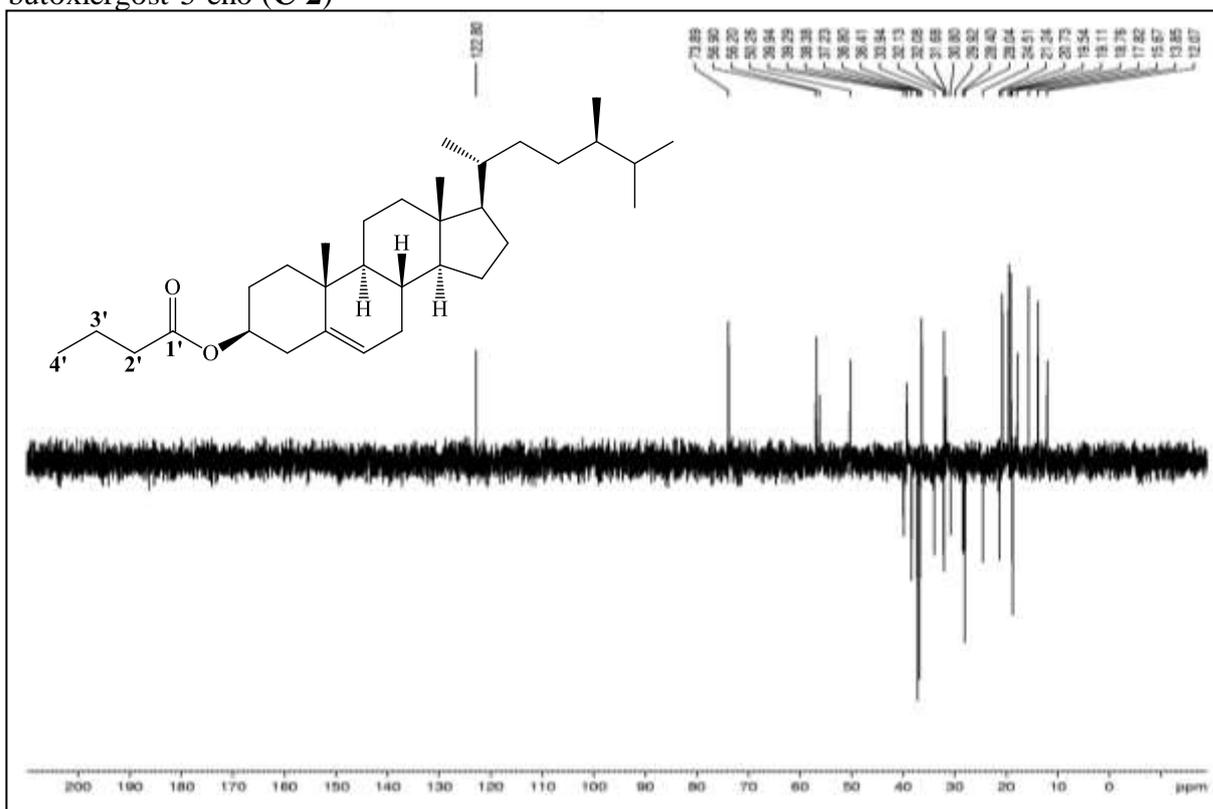
Fonte: o próprio autor.

Figura 140 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-butoxi ergost-5-eno (C-2)



Fonte: o próprio autor.

Figura 141 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-3-butoxiergost-5-eno (**C-2**)



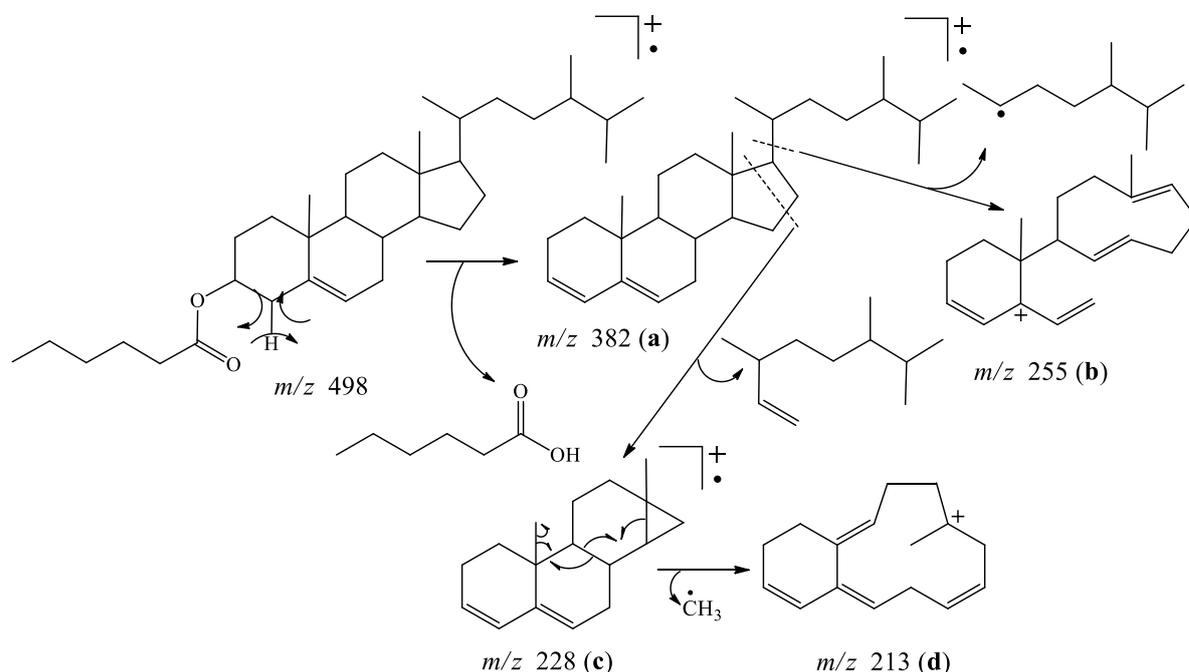
Fonte: o próprio autor.

### 6.5.3 Caracterização de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-3-hexanoxi-ergost-5-eno (**C-3**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 144, pág. 192) do derivado **C-3** apresentou uma banda de absorção intensa em  $1734\text{ cm}^{-1}$ , relacionada à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$ , evidenciando a presença de carbonila de éster e outra banda  $1192\text{ cm}^{-1}$  referente deformação axial de  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-O}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 145, pág. 193) do derivado **C-3** exibiu um pico com  $m/z$  382 (**a**), correspondente à eliminação de ácido hexanoico e fragmentos referentes à ruptura do anel **D**, seguida de perda de radical metila com  $m/z$  228 (**c**) e 213 (**d**), respectivamente (Fig. 142, pág. 191). Além disso, também foi observado fragmento com  $m/z$  255 (**b**), associado à perda da cadeia lateral em C-17.

Figura 142 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexanoxiergost-5-eno (**C-3**)



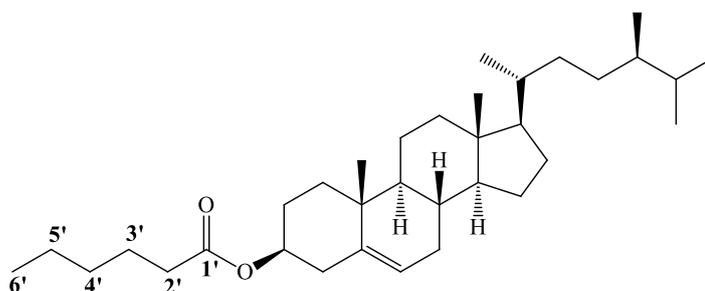
Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 146, pág. 193) de **C-3** apresentou como principal diferença em relação correspondente espectro do substrato **C**, o deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H-3 do derivado acilado **C-3** em  $\delta_{\text{H}}$  4,61 que encontra-se mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do campesterol em  $\delta_{\text{H}}$  3,02, devido efeito de desproteção da carbonila do grupo éster ligado ao C-3 (PAVIA *et al.*, 2010). Vale salientar, que na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,5 a 2,4 ppm, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 147, pág. 194) do derivado **C-3** se mostrou similar ao espectro do substrato **C**.

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 148, pág. 195) e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 149, pág. 196) do produto esterificado **C-3** foi possível observar o aparecimento do sinal em  $\delta_{\text{C}}$  173,54 relacionado à carbonila do éster e também dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  34,89, em  $\delta_{\text{C}}$  31,51 e em  $\delta_{\text{C}}$  24,96, associados aos carbonos metilênicos, além do outro sinal em  $\delta_{\text{C}}$  14,13, atribuído a carbono metílico do grupo hexanoíla. Outros sinais compatíveis com o esqueleto do esteroide também foram observados e os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado **C-3** foram comparados com os dados do campesterol (**C**) e se encontram mostrados na Tabela 11 (pág. 207).

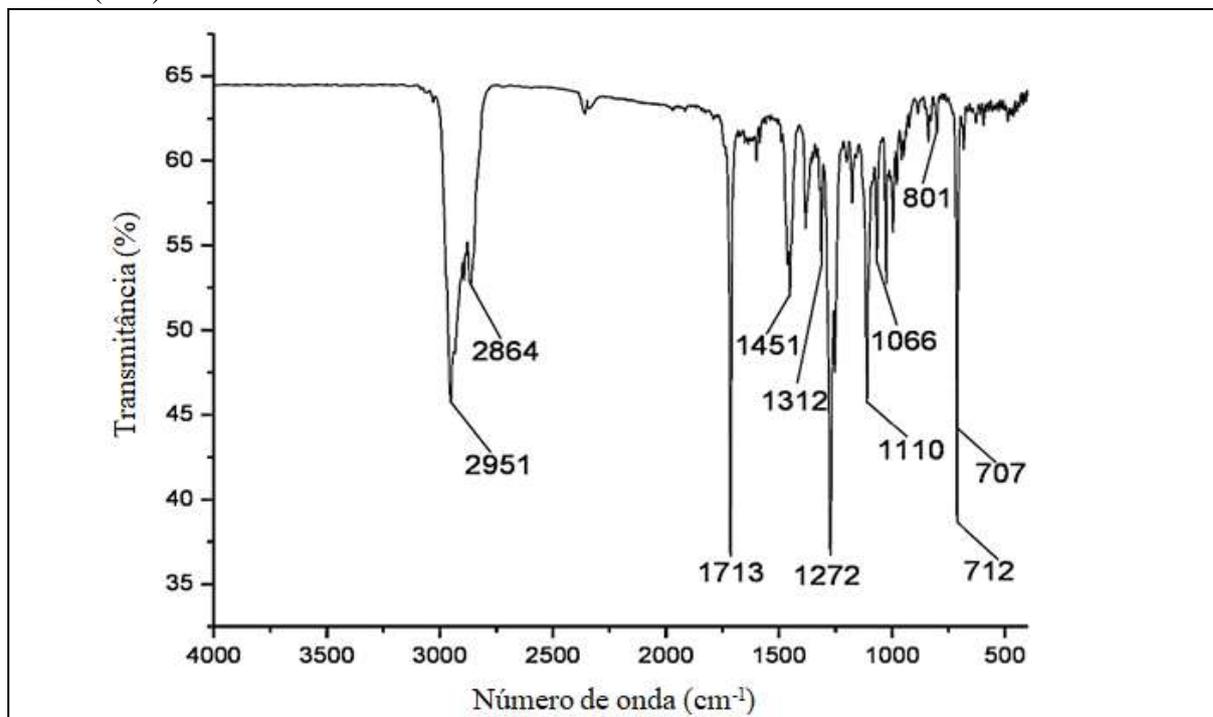
A reunião dos dados espectroscópicos (IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ) de **C-3** permitiu identificar o produto acilado como  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexanoxiergost-5-eno, cuja estrutura encontra-se apresentada na Figura 143.

Figura 143 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexanoxiergost-5-eno (**C-3**)

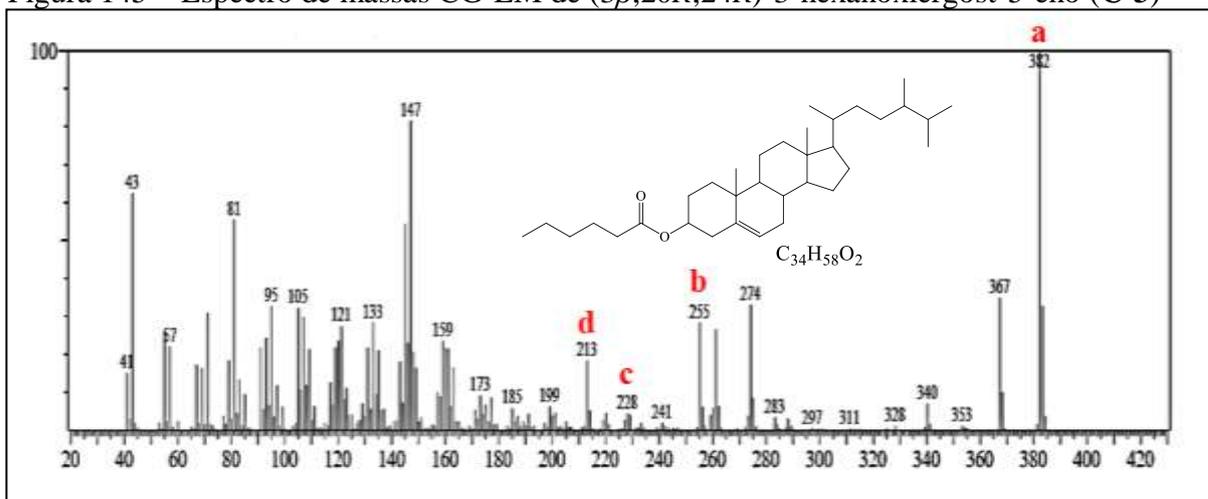


Fonte: o próprio autor.

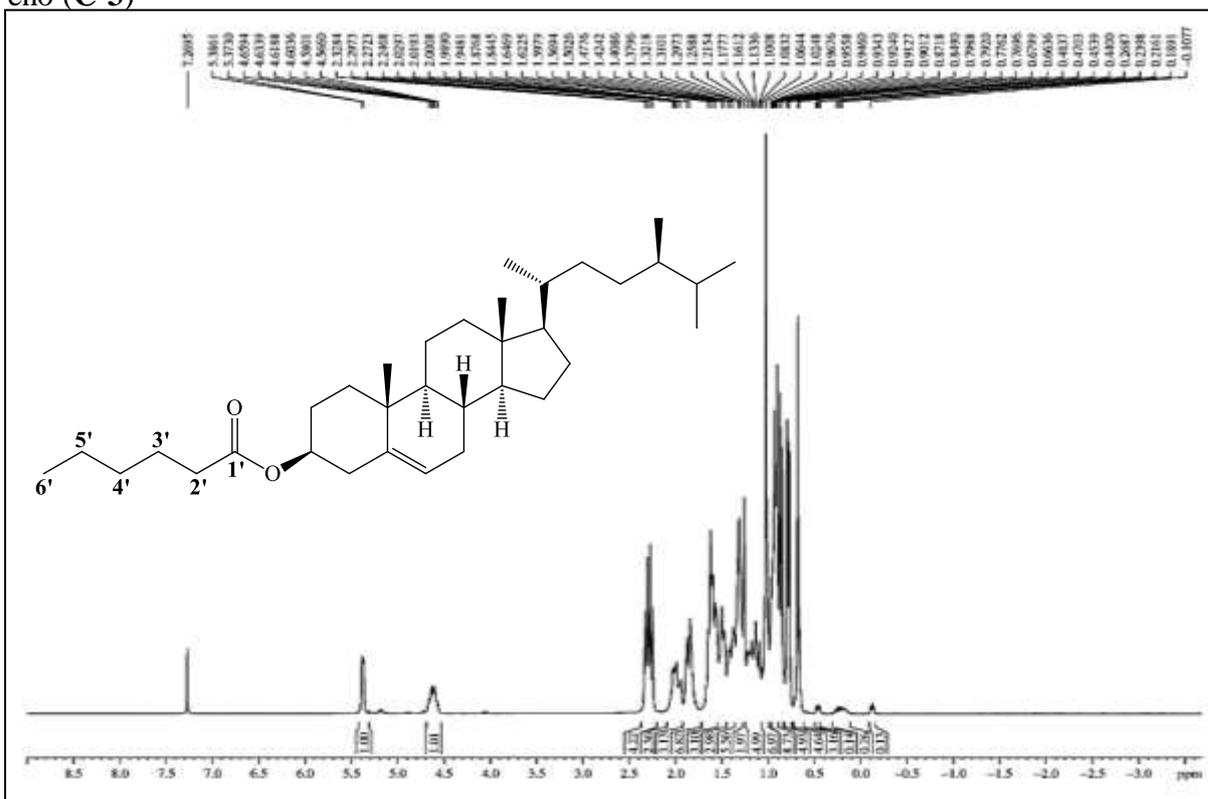
Figura 144 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexanoxiergost-5-eno (**C-3**)



Fonte: o próprio autor.

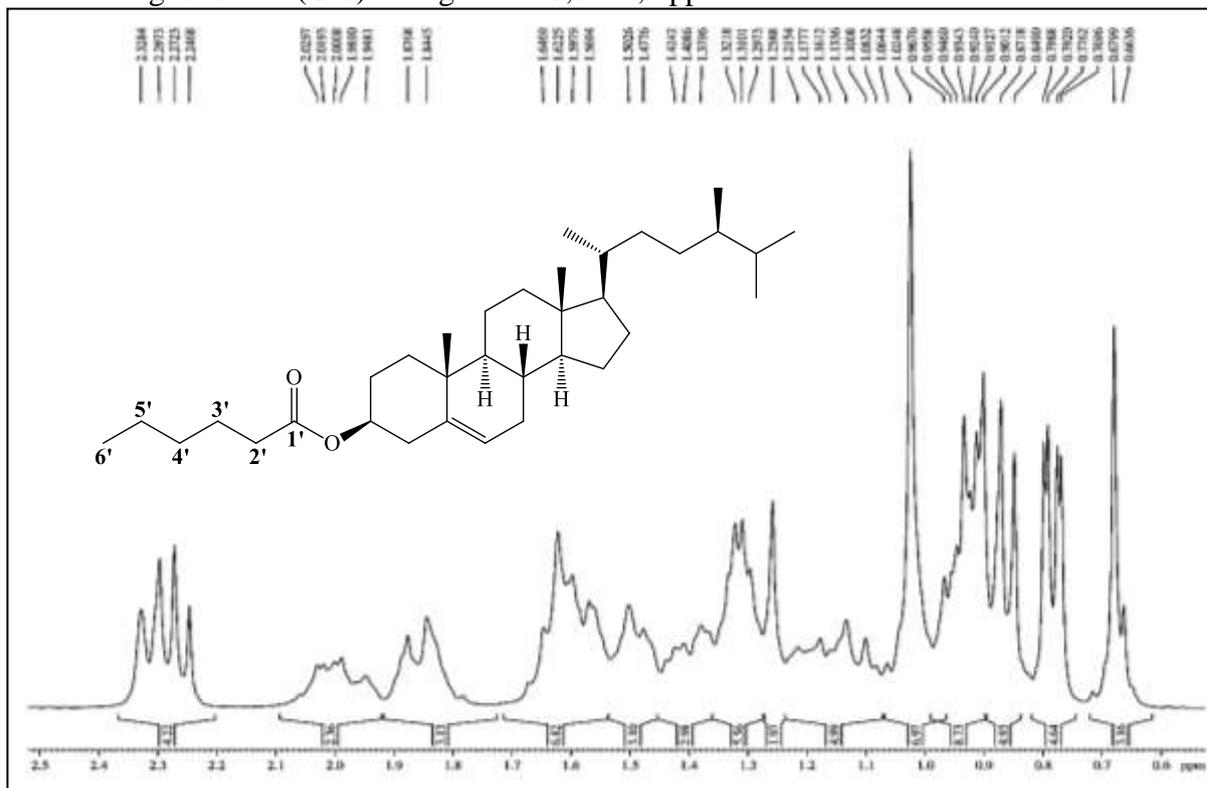
Figura 145 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3)

Fonte: o próprio autor.

Figura 146 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3)

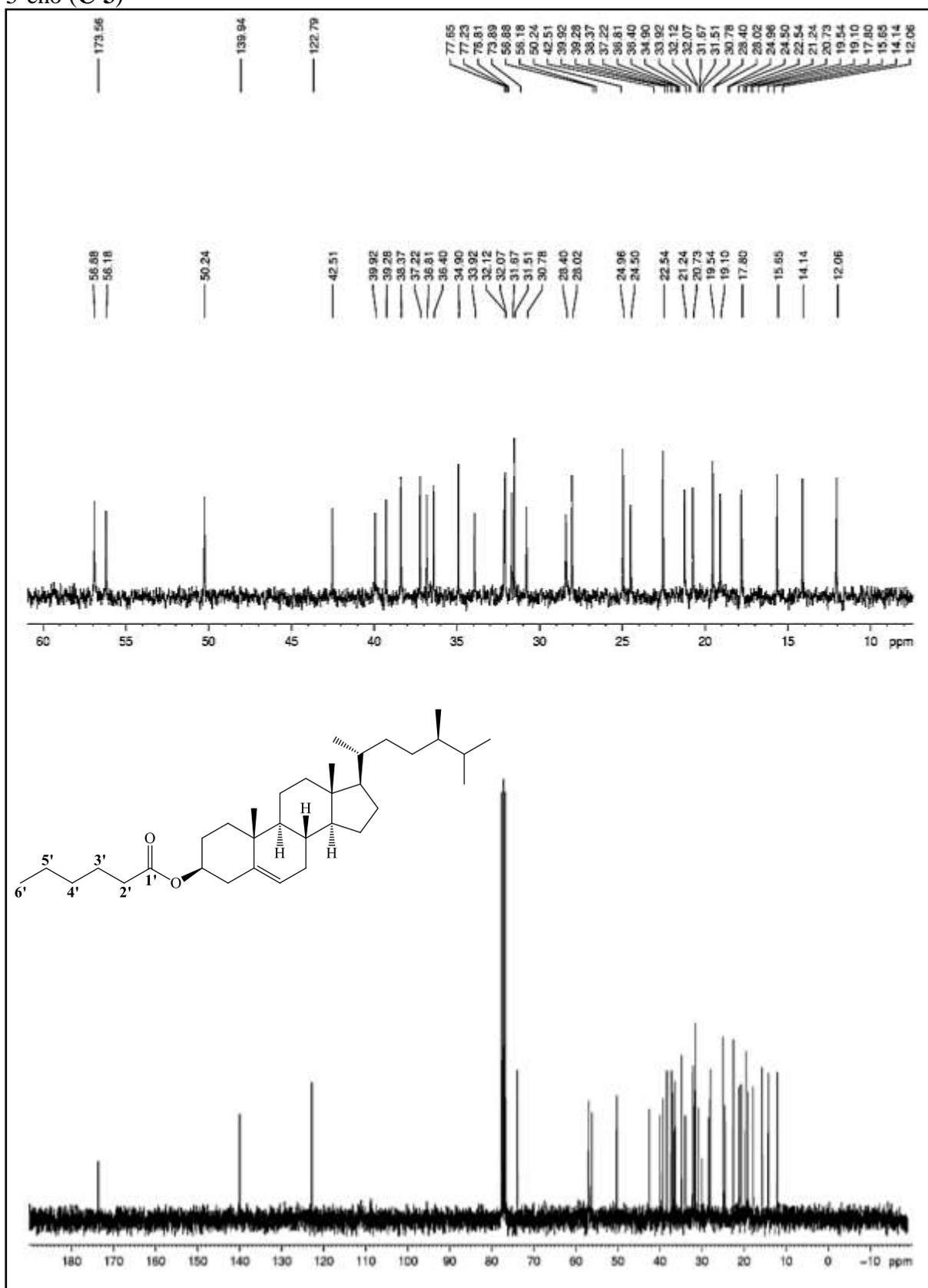
Fonte: o próprio autor.

Figura 147 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-3-hexanoxiergost-5-eno (C-3) na região de 0,6 – 2,4 ppm



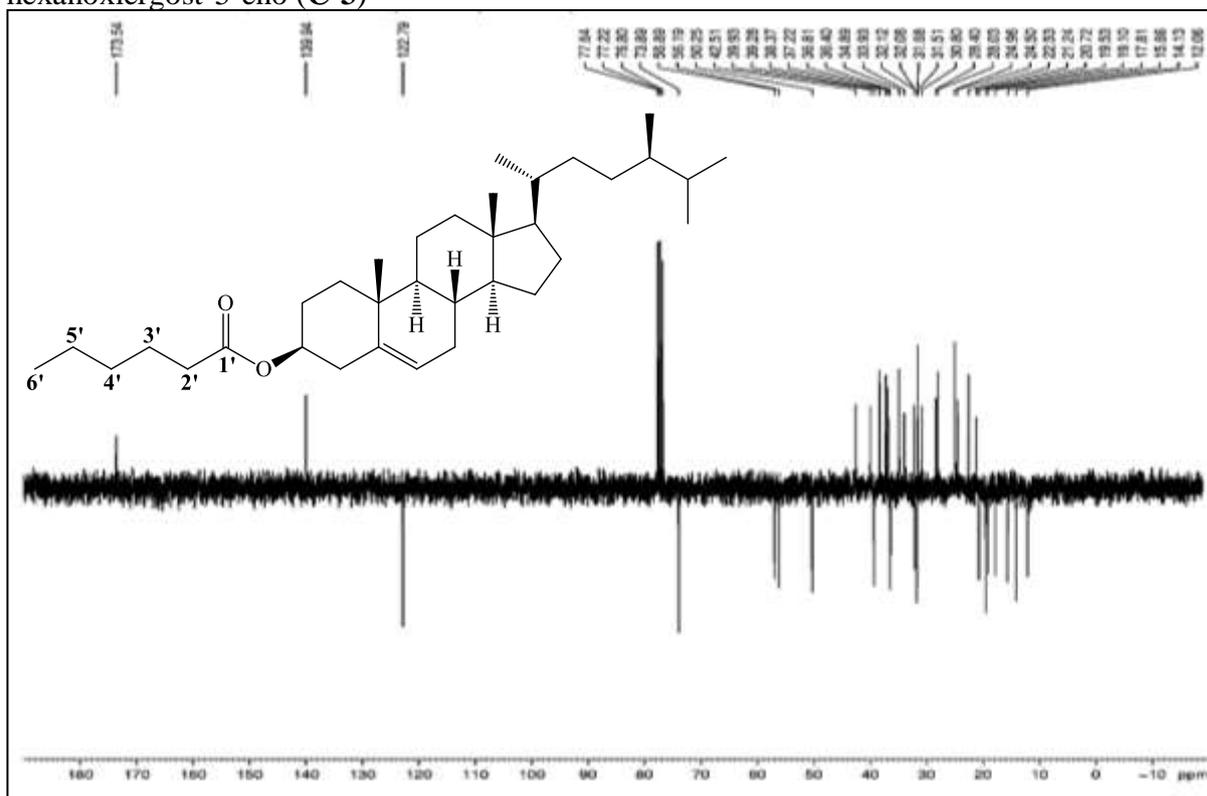
Fonte: o próprio autor.

Figura 148 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexanoxiergost-5-eno (C-3)



Fonte: o próprio autor.

Figura 149 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexanoxi ergost-5-eno (**C-3**)



Fonte: o próprio autor.

#### 6.5.4 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -3-benzoxi ergost-5-eno (**C-4**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 151, pág. 198) do derivado **C-4** apresentou banda de absorção em  $1713\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e uma banda muito forte em  $1451\text{ cm}^{-1}$ , relacionada à deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos. Adicionalmente, foram observadas duas bandas de absorção associadas a compostos aromáticos monossubstituídos, em  $712\text{ cm}^{-1}$  e  $706\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

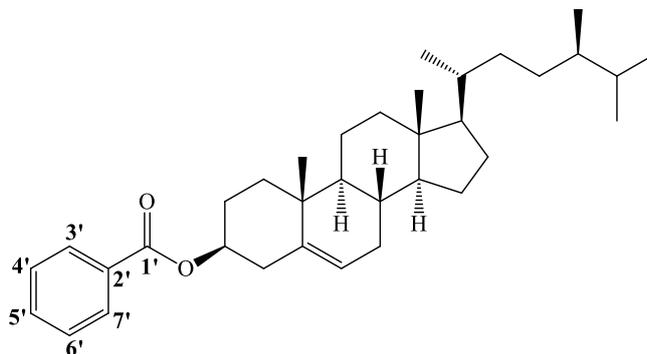
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 152 e 153, pág. 198 e 199, respectivamente) foi verificada a presença de três sinais entre  $\delta_{\text{H}}$  8,05-7,5 atribuídos a hidrogênios ligados a carbonos de anel aromático. Sendo, um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  8,05 ( $d$ ,  $J = 8,2\text{ Hz}$ , 2H), correspondente aos hidrogênios H-3' e H-7' em acoplamento *orto*; dois tripletos, um em  $\delta_{\text{H}}$  7,5 ( $J = 7,3\text{ Hz}$ , 1H) atribuídos ao hidrogênio H-5' e outro em  $\delta_{\text{H}}$  7,4 ( $J = 7,6\text{ Hz}$ , 2H) referentes aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático. Observou-se também a presença de um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,17, típico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado que está mais

desprotegido com relação ao do substrato **C** em  $\delta_H$  3,02, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila em C-3 (PAVIA *et al.*, 2010).

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 154, pág. 200) do derivado **C-4** permitiu observar o sinal em  $\delta_c$  166,20 (C-1'), associado à carbonila de éster, conjugada com anel aromático. Além disso, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 155, pág. 201) observou-se a existência de sinais referentes a carbonos do anel aromático em  $\delta_c$  132,93 (C-5'),  $\delta_c$  131,05 (C-2'), em  $\delta_c$  129,75 (C-3' e C-7'), e em  $\delta_c$  128,47 (C-4' e C-6'). Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do produto esterificado **C-4** foram comparados com os dados do campesterol (**C**) através da análise dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e APT) e os dados encontram-se dispostos na Tabela 11 (pág. 207).

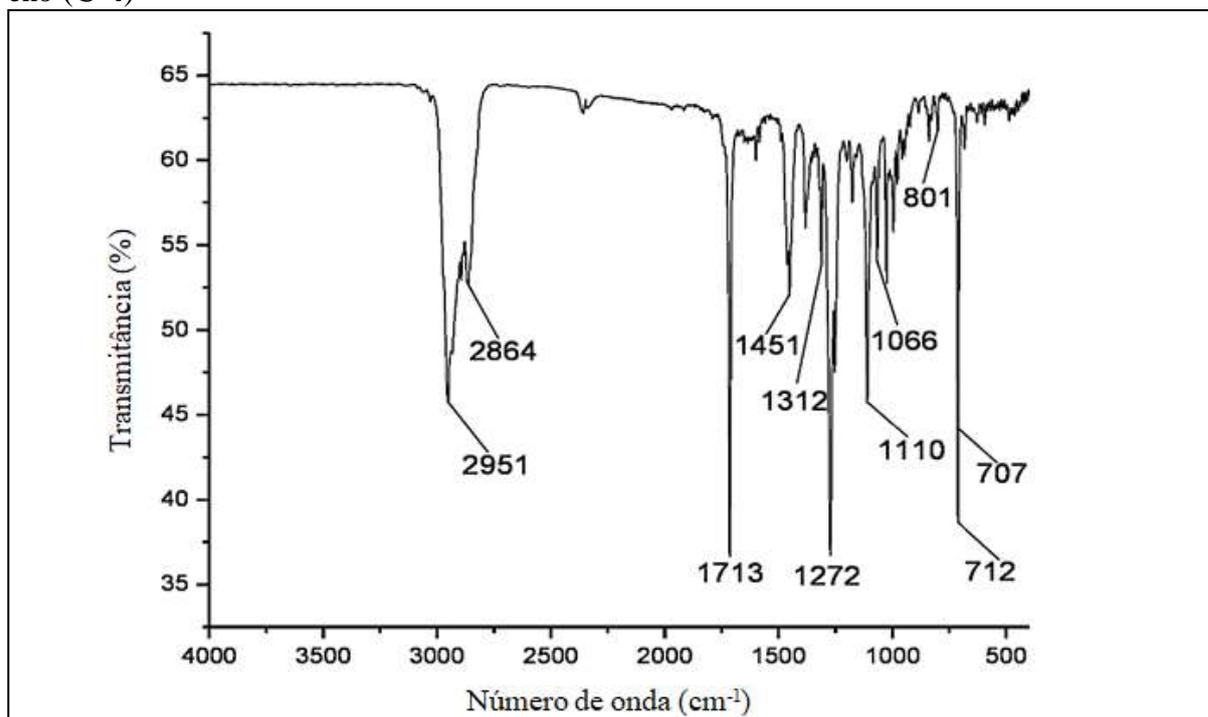
A análise dos dados espectroscópicos (IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ) permitiu identificar o derivado **C-4** como (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-benzoxiergost-5-eno, cuja estrutura está mostrada na Figura 150.

Figura 150 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-benzoxiergost-5-eno (**C-4**)



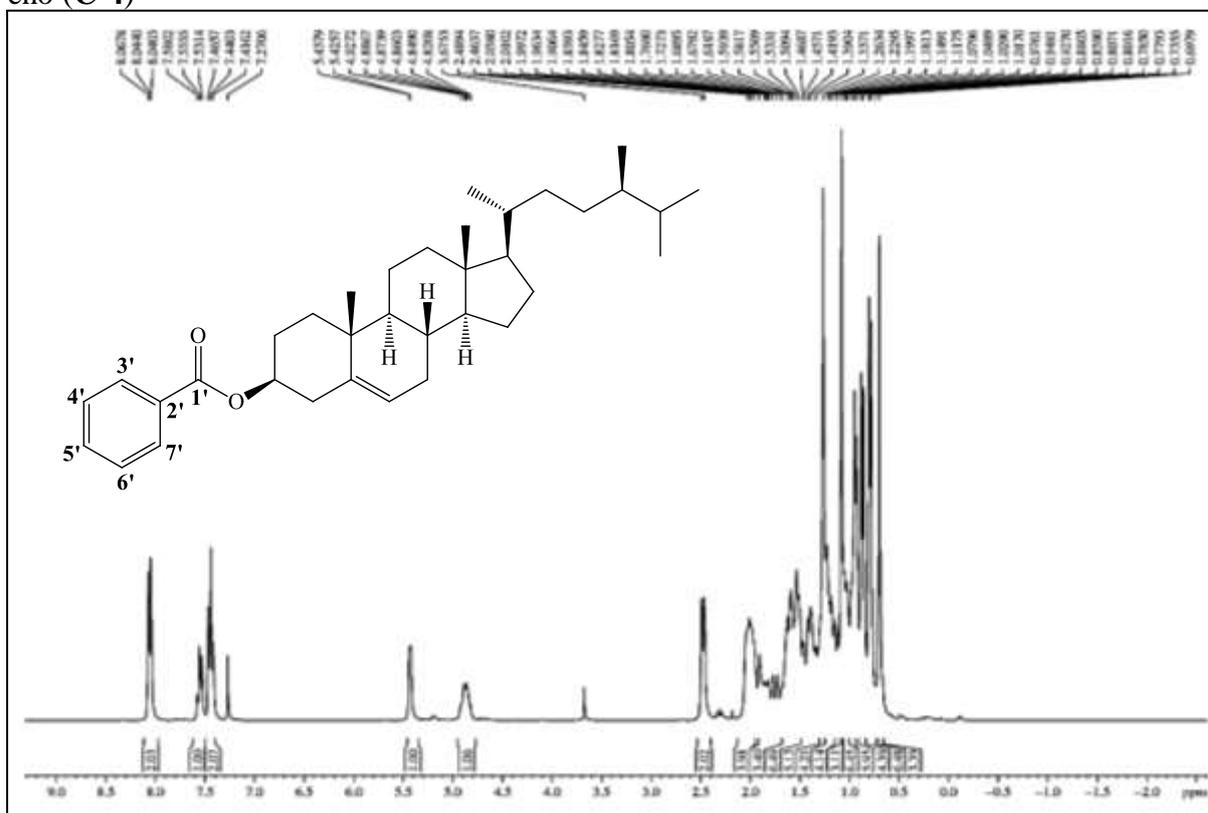
Fonte: o próprio autor.

Figura 151 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-benzoxiergost-5-eno (C-4)



Fonte: o próprio autor.

Figura 152 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-benzoxiergost-5-eno (C-4)



Fonte: o próprio autor.

Figura 153 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-benzoxiergost-5-eno (**C-4**) na região de 0,6 – 2,6 ppm

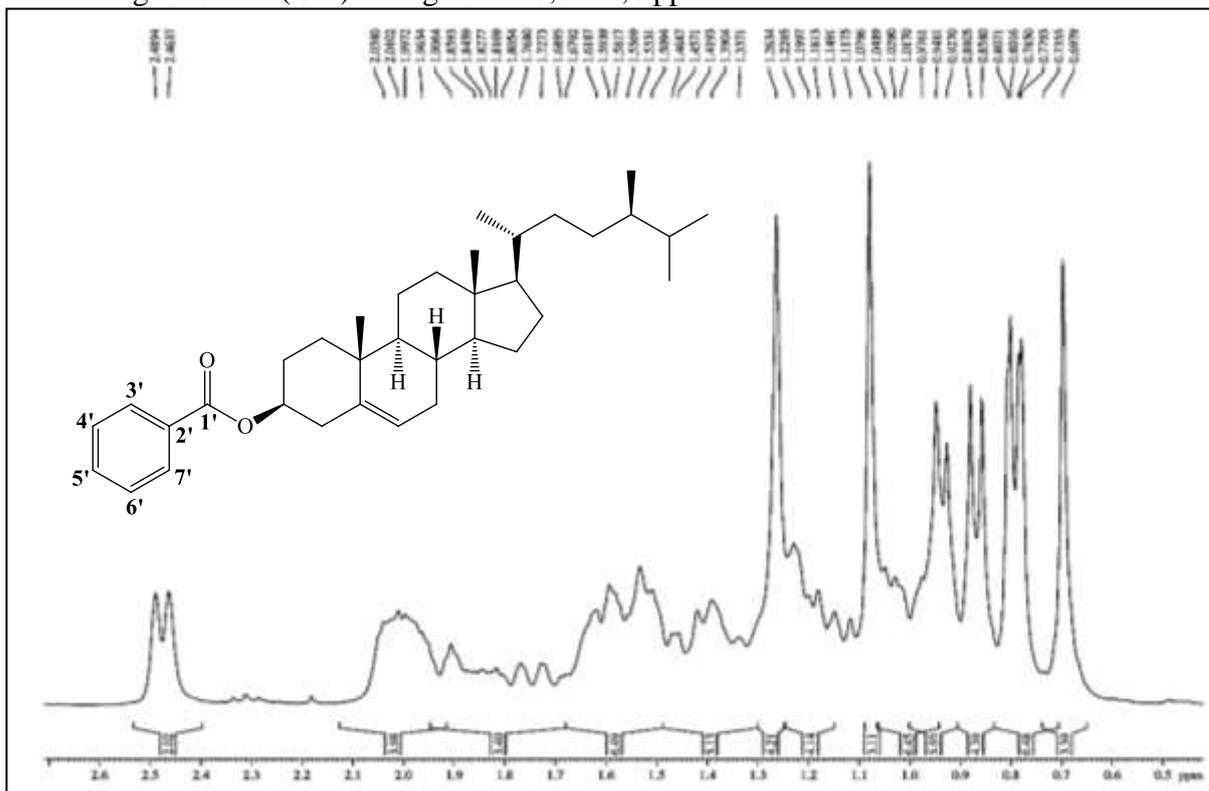
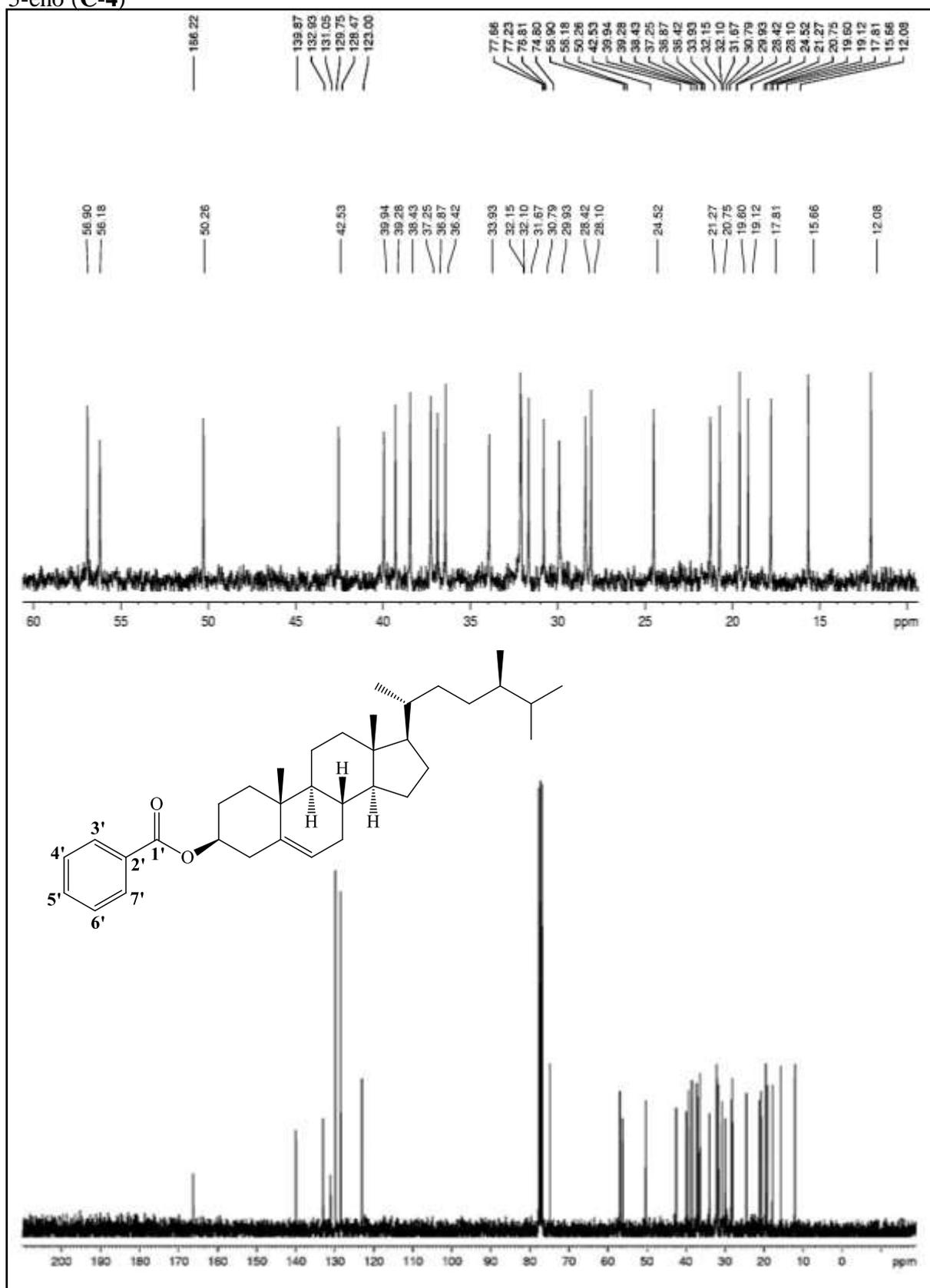
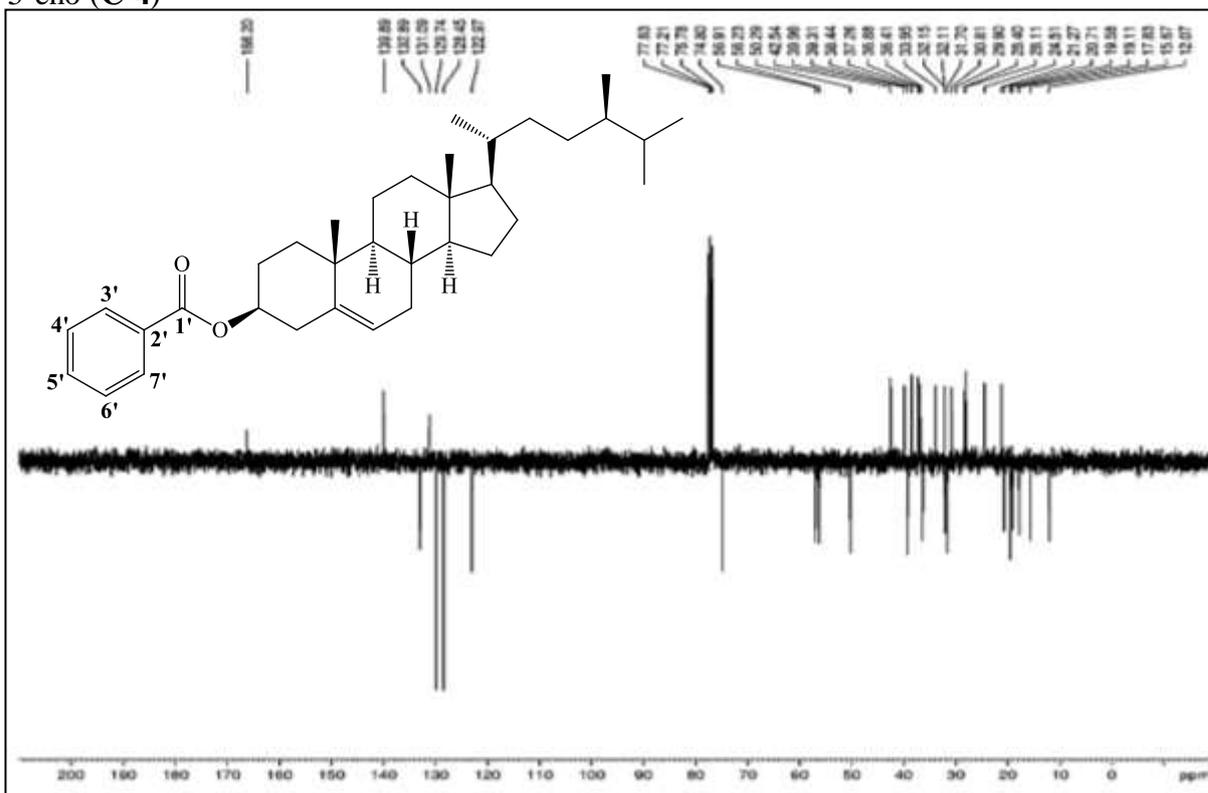


Figura 154 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-benzoxiergost-5-eno (**C-4**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 155 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-benzoxiergost-5-eno (**C-4**)



Fonte: o próprio autor.

### 6.5.5 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (**C-5**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 157, pág. 203) do derivado **C-5** exibiu uma banda larga centrada em  $3539\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação axial de ligação O–H e duas bandas intensas em  $1703$  e em  $1658\text{ cm}^{-1}$  correspondentes à deformação axial de carbonilas de ácido e de éster, respectivamente, além de uma banda em  $1173\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação C–O (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

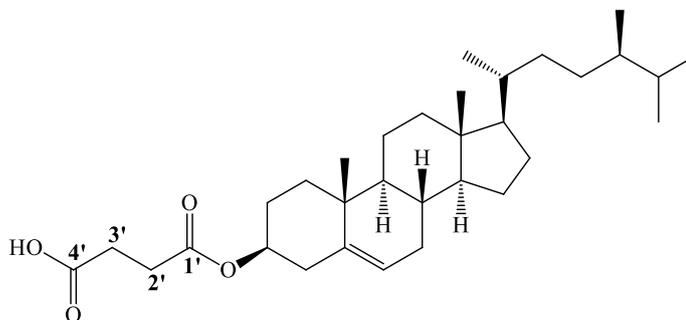
A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 158 e 159, pág. 203 e 204, respectivamente) mostrou dois tripletos, um em  $\delta_H$  2,68 (*t*,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 2H) e outro em  $\delta_H$  2,61 (*t*,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 2H), destacando um sistema isolado de spins (2H-2' e 2H-3') associados aos hidrogênios  $\alpha$  à carbonila, bem como um sinal em  $\delta_H$  4,62 (*m*, 1H), relacionado ao hidrogênio H-3, ligado ao carbono carbinólico, agora mais desprotegido com relação ao do substrato em  $\delta_H$  3,02 (PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 160, pág. 205) foi observada apenas a presença de sinal em  $\delta_C$  171,90 (C-1') referente ao carbono da carbonila de éster, entretanto, no espectro HMBC foi detectada a presença de um sinal em  $\delta_C$  178,82

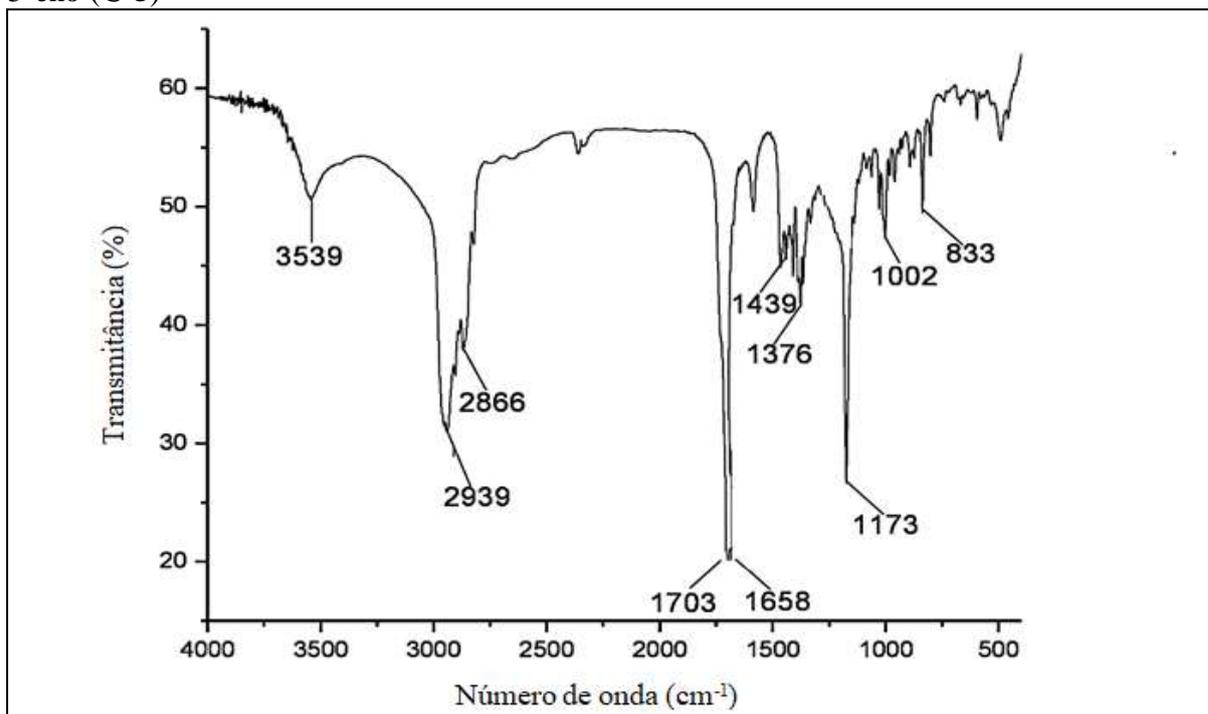
correspondente ao carbono carbonílico de ácido, como era esperado para o produto obtido. Adicionalmente, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 161, pág. 206) foi verificada a existência de dois sinais, sendo um em  $\delta_c$  29,92 e o outro em  $\delta_c$  29,57 correspondentes aos carbonos metilênicos C-3' e C-2', respectivamente. Vale ressaltar que o espectro bidimensional de correlação heteronuclear  $^{13}\text{C}$  x  $^1\text{H}$ -HMBC (Fig 162, pág. 206) exibiu o *croospeak* entre os hidrogênios metilênicos tripletos com o carbono carbonílico de ácido em  $\delta_c$  178,82 (C-4').

A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto acilado como sendo (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-succinoxiergost-5-eno (C-5), cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 156.

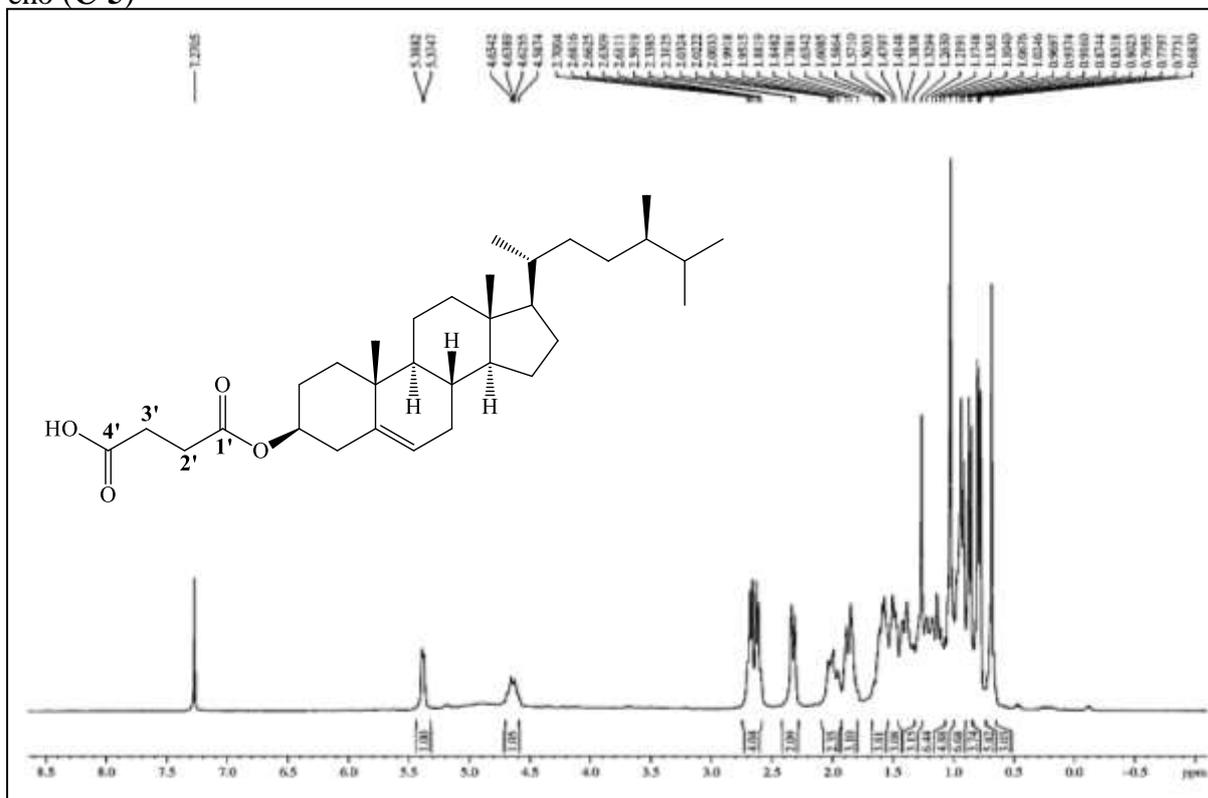
Figura 156 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-succinoxiergost-5-eno (C-5)



Fonte: o próprio autor.

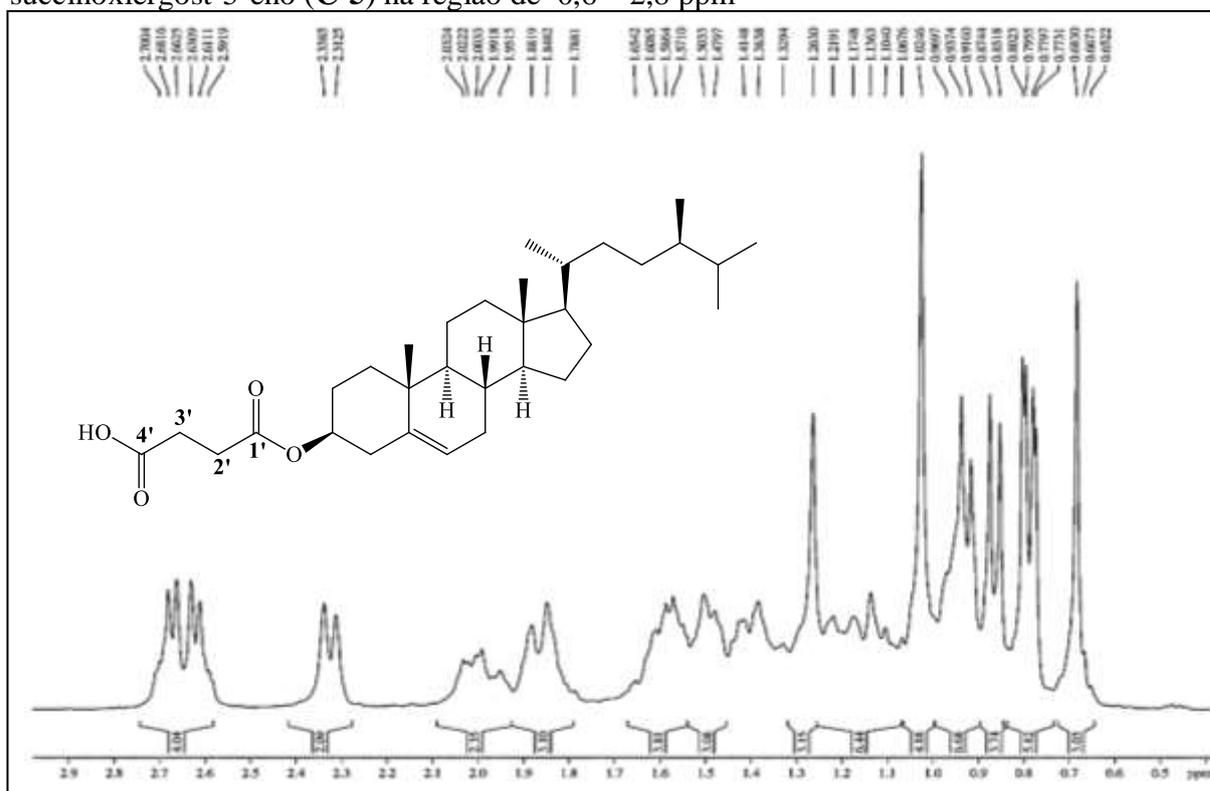
Figura 157 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (**C-5**)

Fonte: o próprio autor.

Figura 158 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (**C-5**)

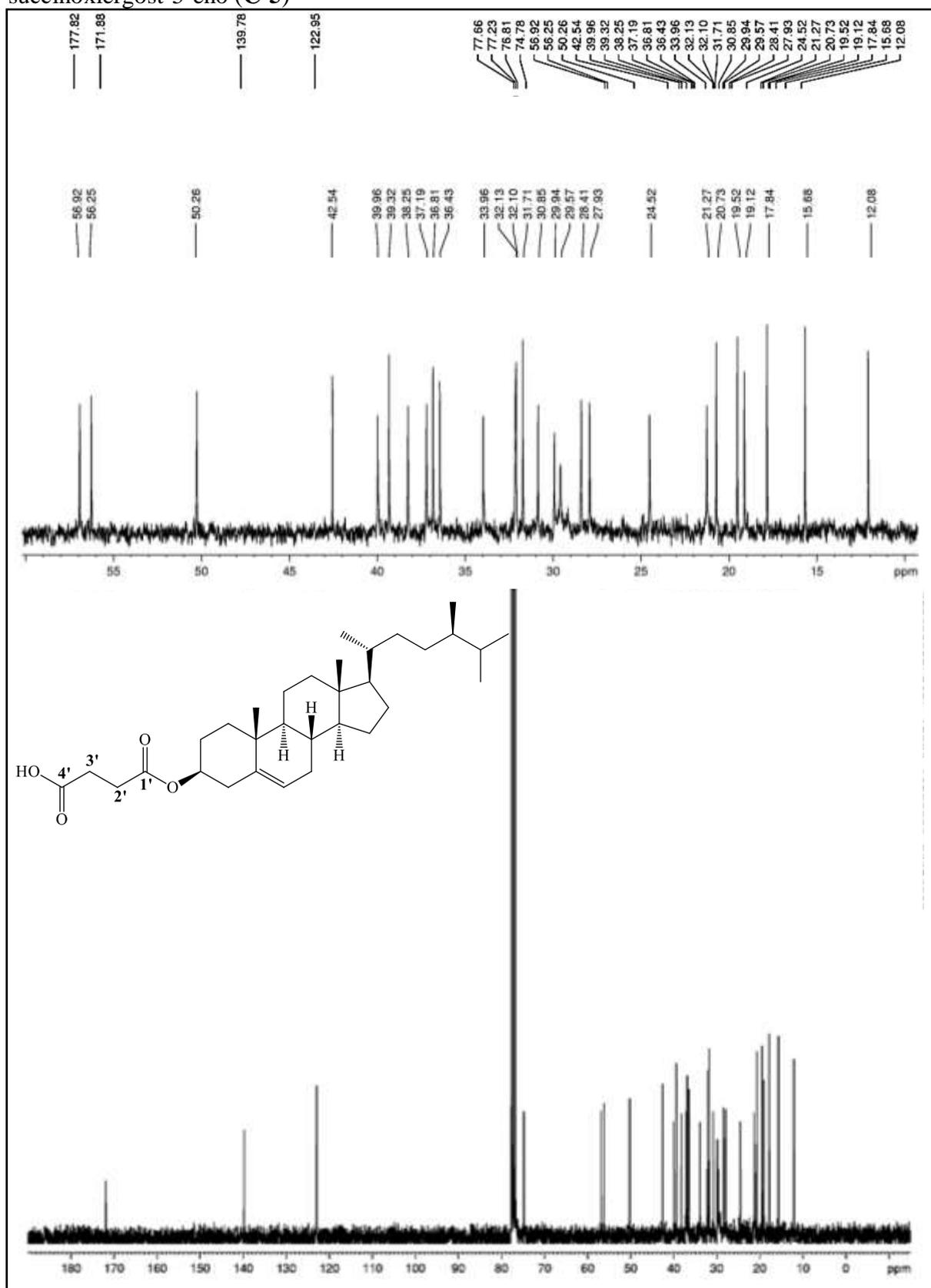
Fonte: o próprio autor.

Figura 159 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-3-succinoxiergost-5-eno (C-5) na região de 0,6 – 2,8 ppm



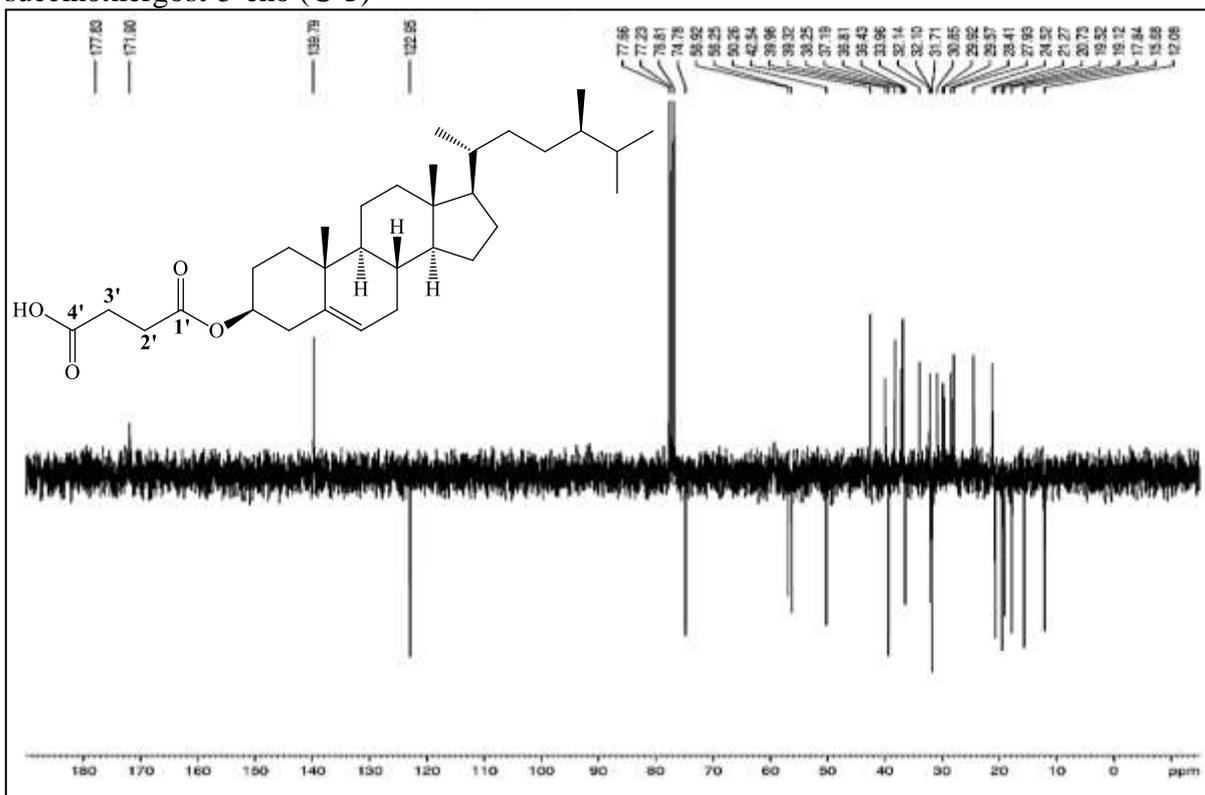
Fonte: o próprio autor.

Figura 160 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (C-5)



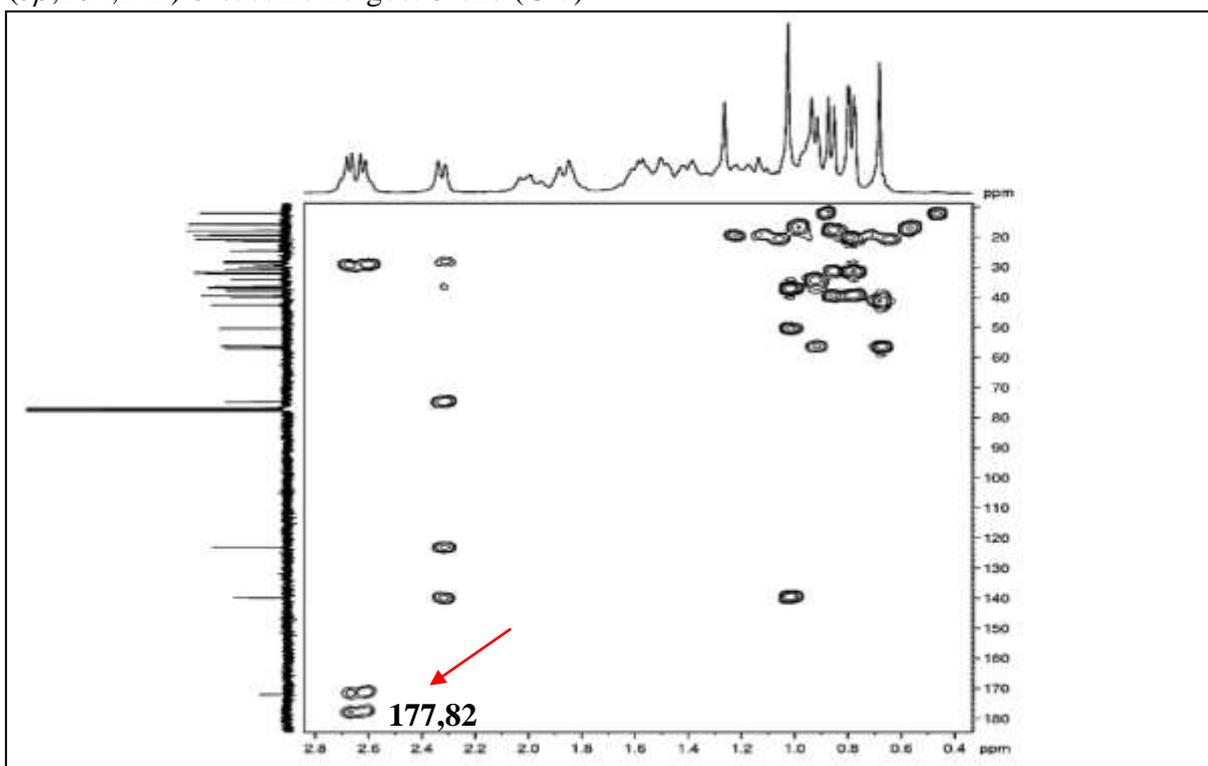
Fonte: o próprio autor.

Figura 161 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (C-5)



Fonte: o próprio autor.

Figura 162 – Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas  $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ -HMBC de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-succinoxiergost-5-eno (C-5)



Fonte: o próprio autor.

Tabela 11 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do campesterol (C) e dos derivados C-1, C-2, C-3, C-4 e C-5

C	Derivados do campesterol					
	Campesterol	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
1	37,44	37,23	37,23	37,22	37,26	37,19
2	31,84	28,40	28,04	28,03	28,11	28,41
3	72,01	74,21	73,89	73,89	74,80	74,78
4	42,48	38,35	38,38	38,37	38,44	38,25
5	140,97	139,89	139,94	139,94	139,89	139,79
6	121,92	122,85	122,80	122,79	122,97	122,95
7	32,11	32,13	32,13	32,08	32,15	32,14
8	32,09	32,10	32,08	32,12	32,11	32,10
9	50,32	50,29	50,26	50,25	50,29	50,26
10	36,72	36,82	36,82	36,81	36,88	36,81
11	21,27	21,26	21,24	21,24	21,27	21,27
12	39,96	39,96	39,94	39,93	39,96	39,96
13	42,53	42,54	42,52	42,51	42,54	42,54
14	56,17	56,23	56,90	56,89	56,23	56,25
15	24,49	24,51	24,51	24,50	24,51	24,52
16	28,39	28,01	28,40	28,40	28,40	27,93
17	56,94	56,91	56,20	56,19	56,91	56,92
18	12,05	12,07	12,07	12,06	12,07	12,08
19	19,59	19,52	19,54	19,53	19,58	19,52
20	36,37	36,41	36,41	36,40	36,41	36,43
21	19,08	19,11	19,11	19,10	19,11	19,12
22	33,91	33,96	33,94	33,93	33,95	33,96
23	30,76	30,82	30,80	30,80	30,81	30,85
24	39,26	39,32	39,29	39,28	39,31	39,32
25	31,65	31,71	31,68	31,68	31,70	31,71
26	20,72	21,63	20,73	20,72	20,71	20,73
27	17,78	17,84	17,82	17,81	17,83	17,84
28	15,63	15,68	15,67	15,66	15,67	15,68
1'		170,72	173,37	173,54	166,20	171,90
2'		20,72	36,80	34,89	131,09	29,57
3'			18,76	31,51	129,74	29,92
4'			13,86	24,96	128,45	178,82
5'				22,53	132,89	37,19
6'				14,13	128,45	
7'					129,74	

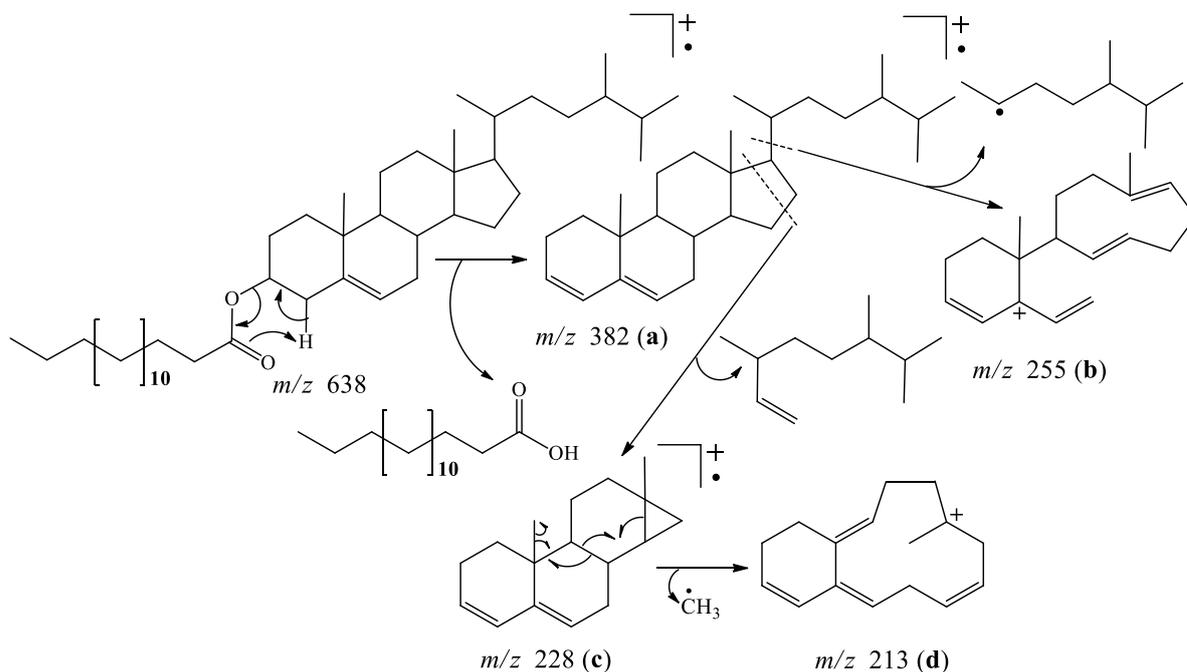
Fonte: o próprio autor.

### 6.5.6 Caracterização de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 165, pág. 211) de **C-6** observou-se o surgimento das bandas de deformação axial de C=O e C<sub>sp<sup>3</sup></sub>-O de éster em 1740 cm<sup>-1</sup> e 1177 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disso, observou-se também uma banda de absorção em 726 cm<sup>-1</sup>, em virtude de uma oscilação dos grupos metilênicos em cadeias longas (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 166, pág. 211) do derivado acilado **C-6**, mostrou o íon com *m/z* 382 (**a**) correspondente à eliminação de ácido hexadecanoico, outro pico correspondente ao fragmento com *m/z* 255 (**b**) referente à saída da cadeia lateral em C-17. Foi ainda observado pico correspondente ao fragmento com *m/z* 213 (**d**) associado à ruptura do anel **D** com posterior perda de radical metila a partir do íon com *m/z* 228 (**c**) (Fig. 163).

Figura 163 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexadecanoxiergost-5-eno (**C-6**)



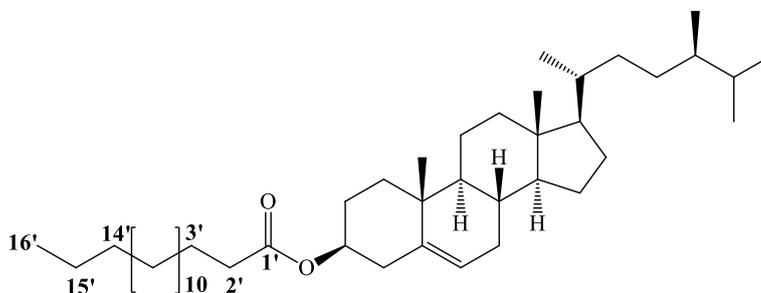
Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Fig. 167, pág. 212) mostrou um sinal em  $\delta_H$  4,61 (*m*, 1H), relacionado ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que se encontra mais desprotegido com relação ao do substrato em  $\delta_H$  3,02 (PAVIA *et al.*, 2010). Portanto, o deslocamento do H-3 também pode ser um indicativo da formação do produto

esterificado. Vale salientar, que o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 168, pág. 212) do derivado **C-6** exibiu ainda vários sinais na região entre  $\delta_H$  0,6 a 2,5 ppm.

A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 169, pág. 213) e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 170, pág. 214) revelou a presença de sinal em  $\delta_c$  173,52 referente ao carbono carbonílico de éster e, ainda, dos sinais entre  $\delta_c$  29,91 a 29,33 correspondentes aos carbonos metilênicos (C-3' a C-13') do grupo hexadecanoíla. Na Tabela 12 (pág. 210) são mostrados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado acilado **C-6**, cuja estrutura está apresentada na Figura 164.

Figura 164 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-hexadecanoxiergost-5-eno (**C-6**)



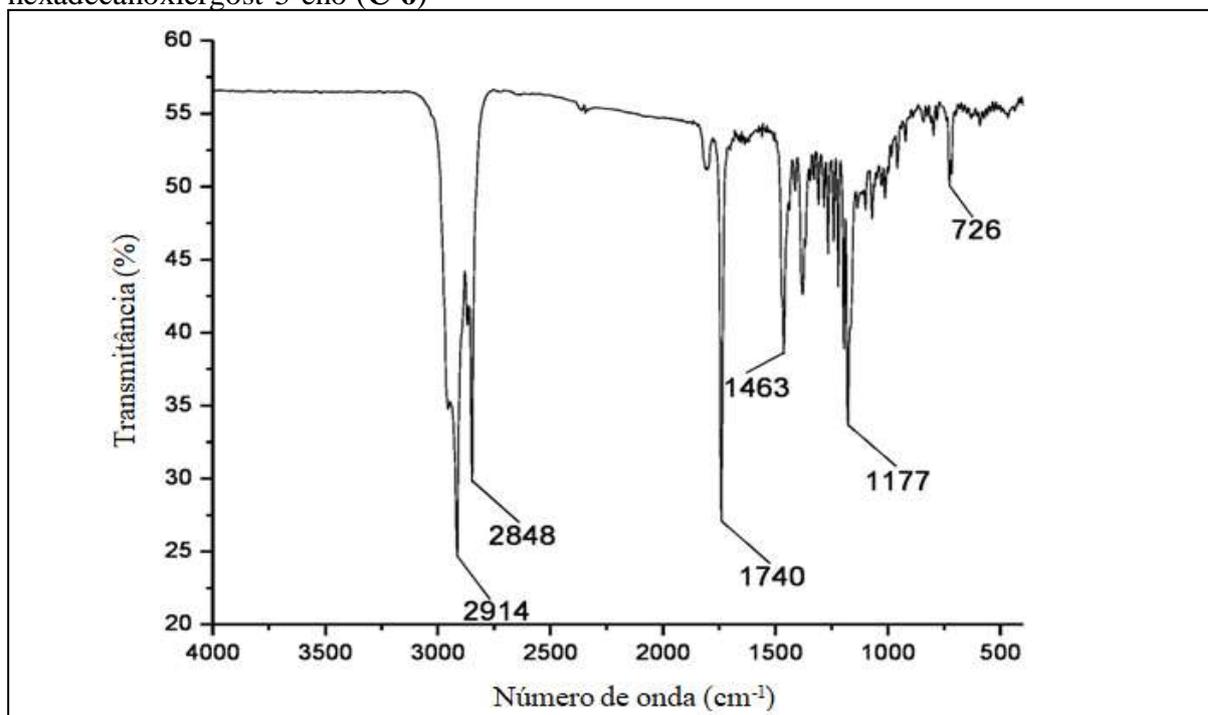
Fonte: o próprio autor.

Tabela 12 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do campesterol (C) e do derivado C-6

C	Derivado do campesterol	
	Campesterol	C-6
1	37,44	37,24
2	31,84	28,05
3	72,01	73,89
4	42,48	38,40
5	140,97	139,96
6	121,92	122,79
7	32,11	32,15
8	32,09	32,15
9	50,32	50,28
10	36,72	36,83
11	21,27	21,26
12	39,96	39,96
13	42,53	42,53
14	56,17	56,92
15	24,49	24,51
16	28,39	28,41
17	56,94	56,92
18	12,05	12,07
19	19,59	19,54
20	36,37	36,42
21	19,08	19,11
22	33,91	33,95
23	30,76	30,82
24	39,26	39,31
25	31,65	31,70
26	20,72	20,72
27	17,78	17,83
28	15,63	15,67
1'		173,52
2'		34,95
3'-13'		29,91-29,33
14'		25,29
15'		22,91
16'		14,32

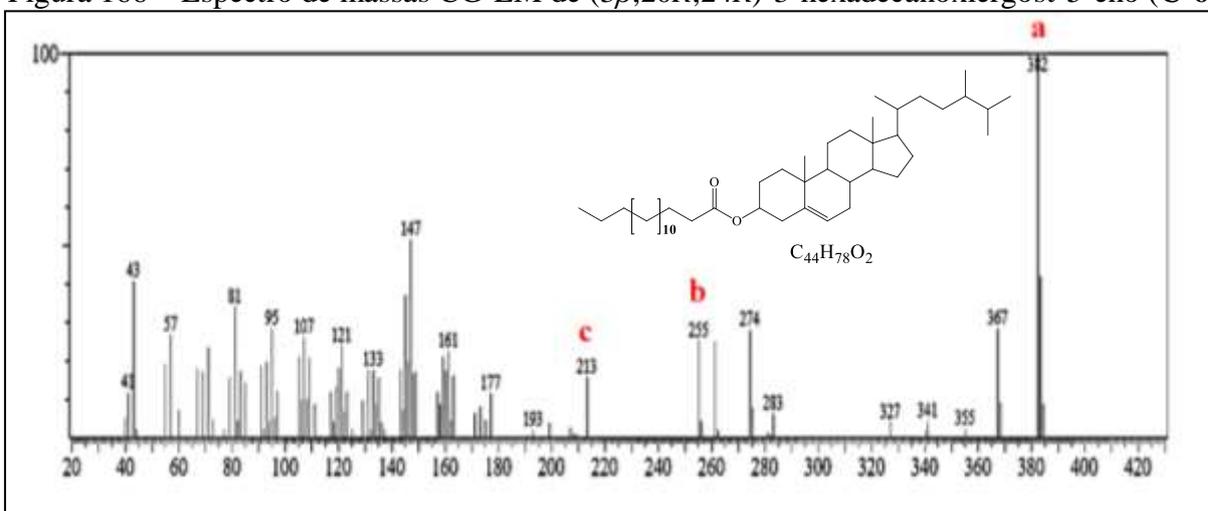
Fonte: o próprio autor.

Figura 165 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxiergost-5-eno (**C-6**)



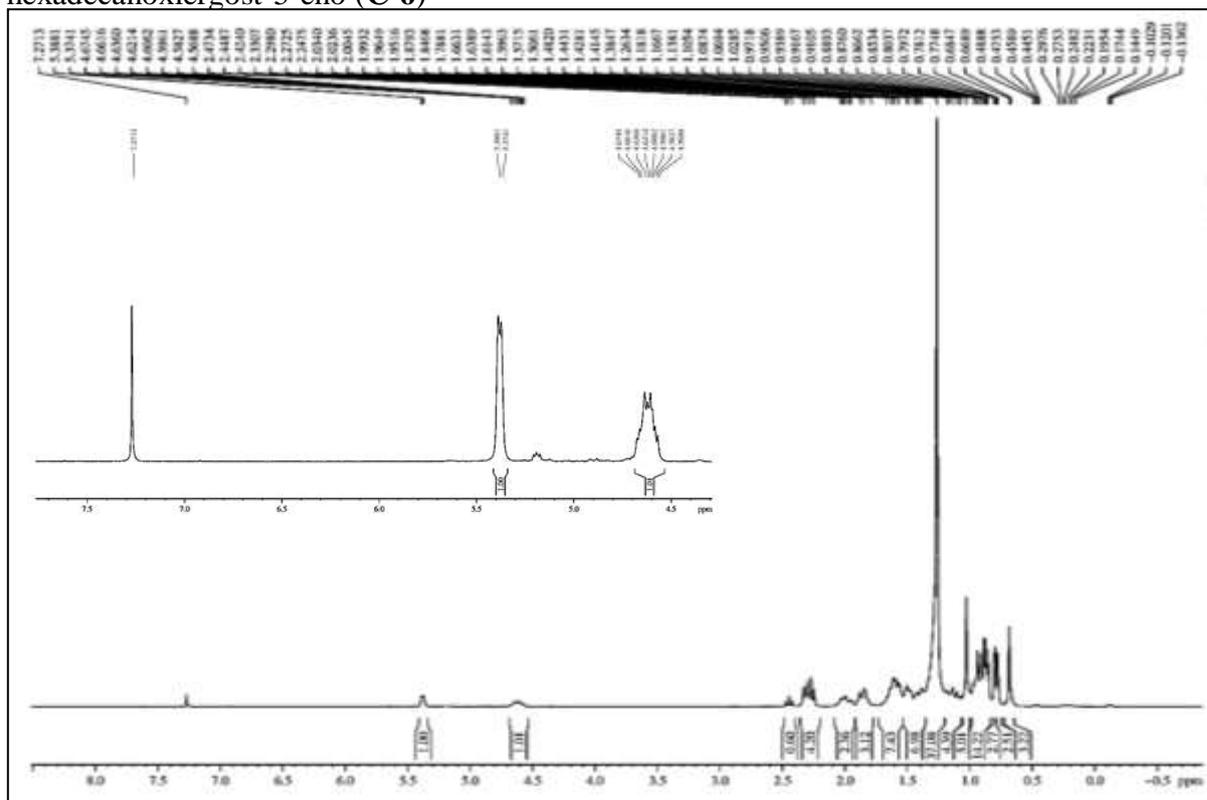
Fonte: o próprio autor.

Figura 166 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxiergost-5-eno (**C-6**)



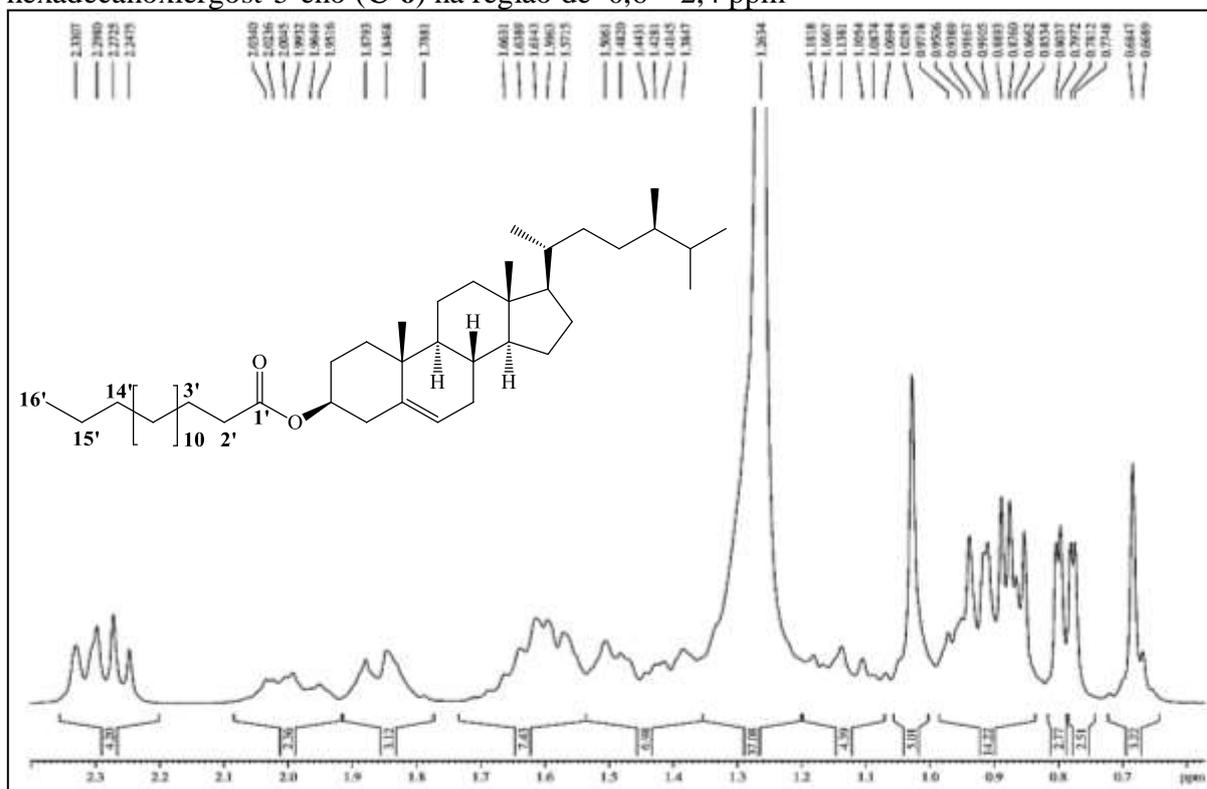
Fonte: o próprio autor.

Figura 167 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6)



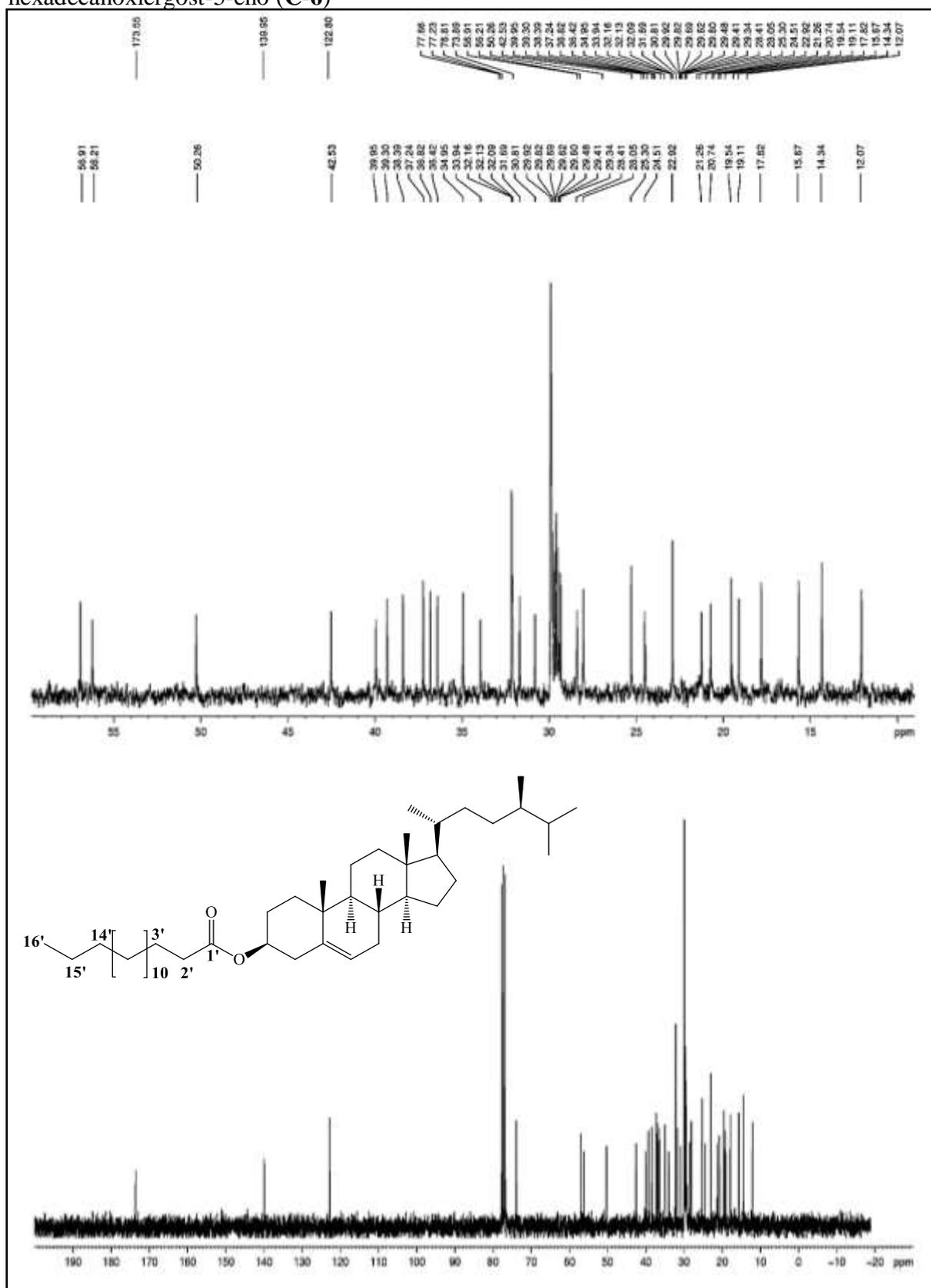
Fonte: o próprio autor.

Figura 168 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6) na região de 0,6 – 2,4 ppm



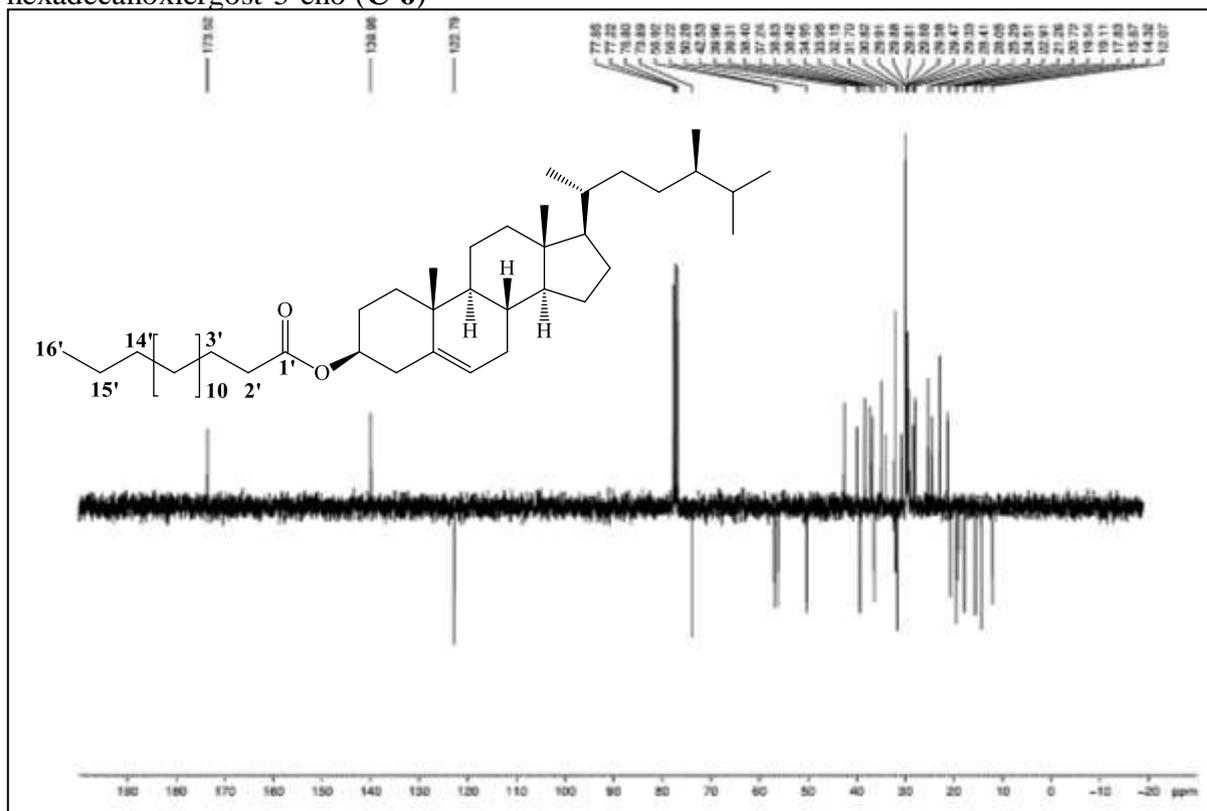
Fonte: o próprio autor.

Figura 169 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxiergost-5-eno (C-6)



Fonte: o próprio autor.

Figura 170 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-hexadecanoxi ergost-5-eno (**C-6**)



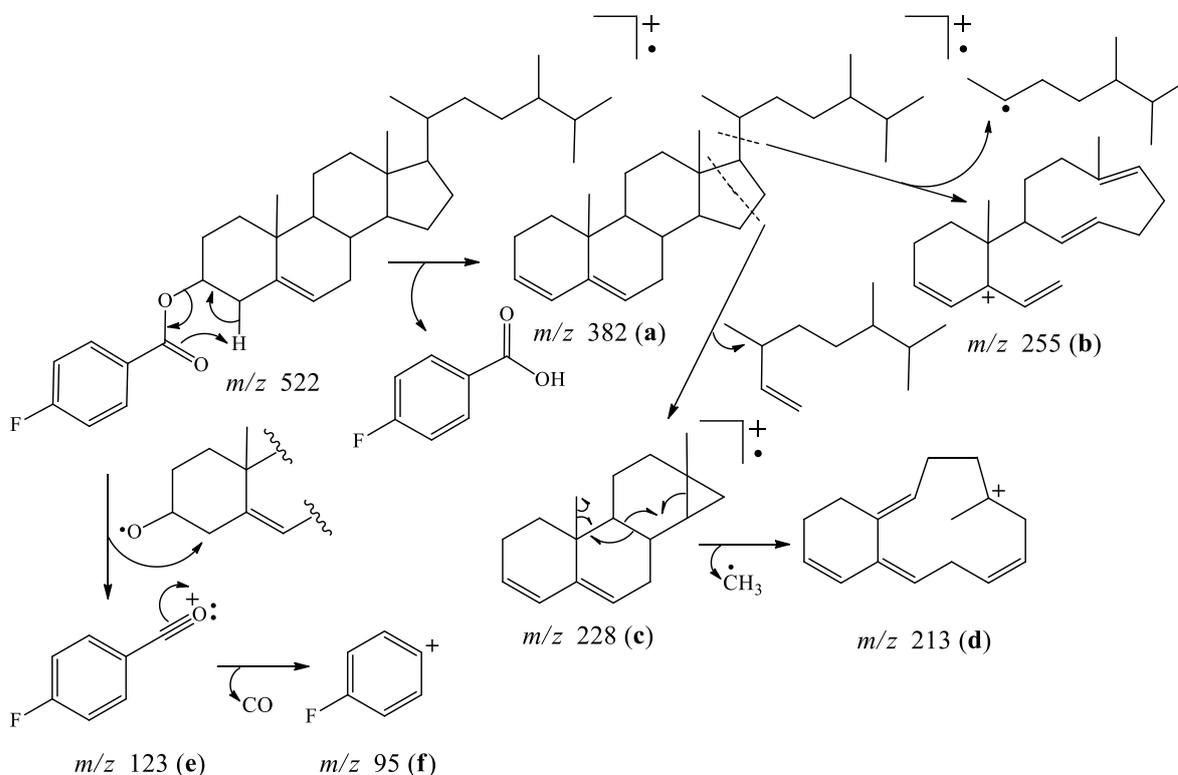
Fonte: o próprio autor.

#### 6.5.7 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxi ergost-5-eno (**C-7**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 173, pág. 217) de **C-7**, mostrou banda de absorção em  $1715\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial de carbonila de éster conjugada com anel aromático e banda em  $1462\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação axial de ligação  $\text{C}=\text{C}$  em compostos aromáticos, além de bandas em  $767\text{ cm}^{-1}$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$  relacionadas à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos e deformação axial de  $\text{C}_{sp^2}\text{-F}$  conjugada, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas de **C-7** (Fig. 174, pág. 217) apresentou o pico com  $m/z$  382 (a), referente à eliminação de ácido *p*-fluorobenzoico, bem como picos correspondentes à perda de radical alcóxila com  $m/z$  123 (e) e deste íon com  $m/z$  123, seguida da eliminação de CO com  $m/z$  95 (f), assim como saída da cadeia lateral em C-17 com  $m/z$  255 (b). Outros picos comuns de esteroides também foram observados:  $m/z$  228 (c) atribuído à ruptura do anel **D** e posterior saída de radical metila com  $m/z$  213 (d), conforme sumarizado na Figura 171 (pág. 215).

Figura 171 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7)



Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 175 e 176, pág. 218) indicou como principal diferença em relação ao correspondente espectro do campesterol (C), a presença de tripleto em  $\delta_H$  7,10 ( $t$ ,  $J = 8,6$  Hz, 2H) correspondentes aos hidrogênios H-4' e H-6' e um duplo duplete em  $\delta_H$  8,0 ( $dd$ ,  $J = 8,5$  e 2,6 Hz, 2H) associados aos hidrogênios H-3' e H-7' ligados aos carbonos do anel aromático. Vale salientar que a formação do produto esterificado também pode ser confirmada através do deslocamento do sinal em  $\delta_H$  4,84 atribuído ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que está mais desprotegido com relação ao do substrato C em  $\delta_H$  3,02 (PAVIA *et al.*, 2010).

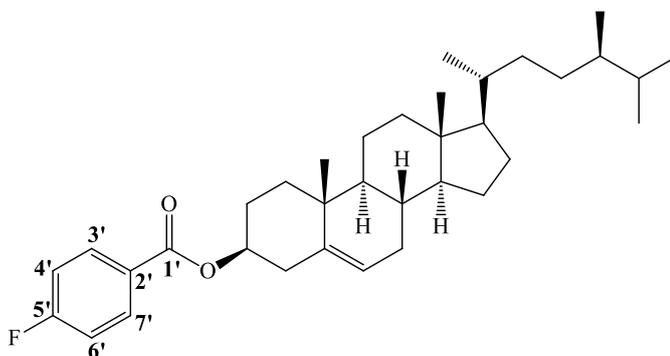
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 177, pág. 219) revelou a presença de um sinal em  $\delta_c$  165,24 atribuído à carbonila de éster conjugada com anel aromático. O espectro RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 178, pág. 220) exibiu ainda sinais referentes aos carbonos do anel aromático: em  $\delta_c$  132,33 (C-3' e C-7'), em  $\delta_c$  132,20 (C-4' e C-6'), em  $\delta_c$  127,32 (C-2') e em  $\delta_c$  167,59 (C-5'), sendo este último sinal referente ao carbono ligado ao flúor. Conforme citado anteriormente, vale ressaltar que compostos orgânicos contendo um átomo de flúor ligado a um átomo de carbono-13, um acoplamento heteronuclear  $^{13}\text{C}$ - $^{19}\text{F}$  será

observado mesmo quando o desacoplamento de prótons estiver ligado (prótons, porém não núcleos de flúor, são desacoplados). Sendo assim, a utilização da regra do  $n+1$  determina a aparência do padrão (PAVIA *et al.*, 2010).

Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do produto acilado **C-7** foram comparados com os dados do campesterol (**C**) através da análise dos espectros de RMN ( $^{13}\text{C}$ -BB e APT) e os dados encontram-se apresentados na Tabela 13 (pág. 250).

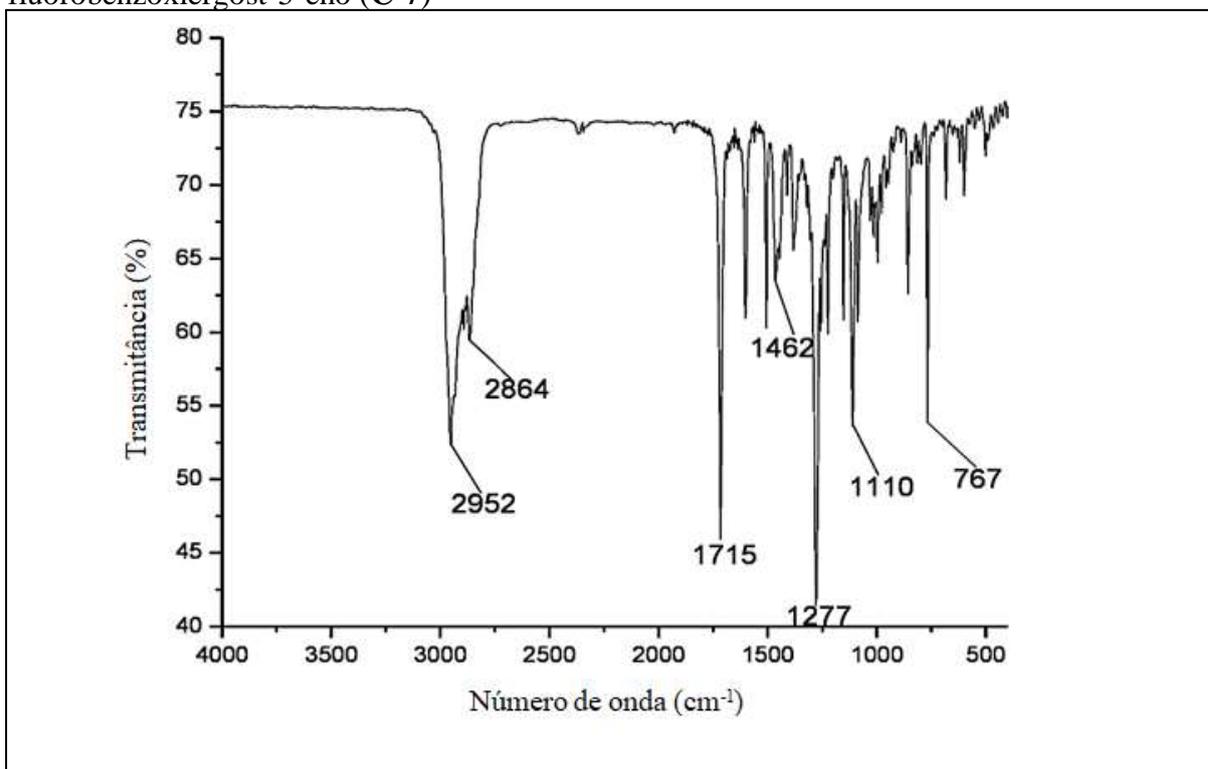
A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiram identificar o produto acilado como (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**), cuja estrutura encontra-se apresentada na Figura 172.

Figura 172 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20 $R$ ,24 $R$ )-(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**)



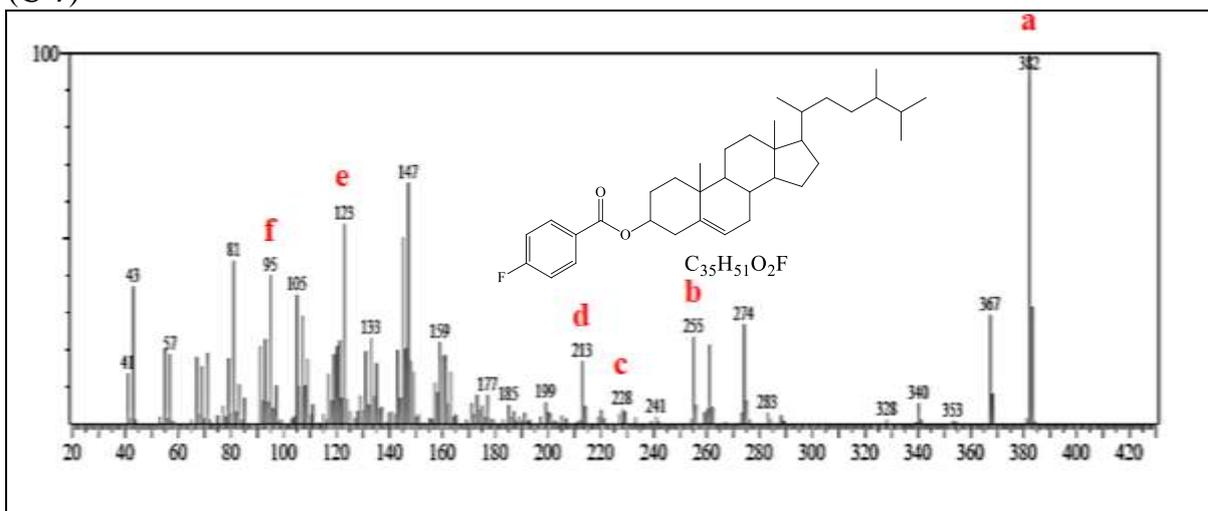
Fonte: o próprio autor.

Figura 173 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**)



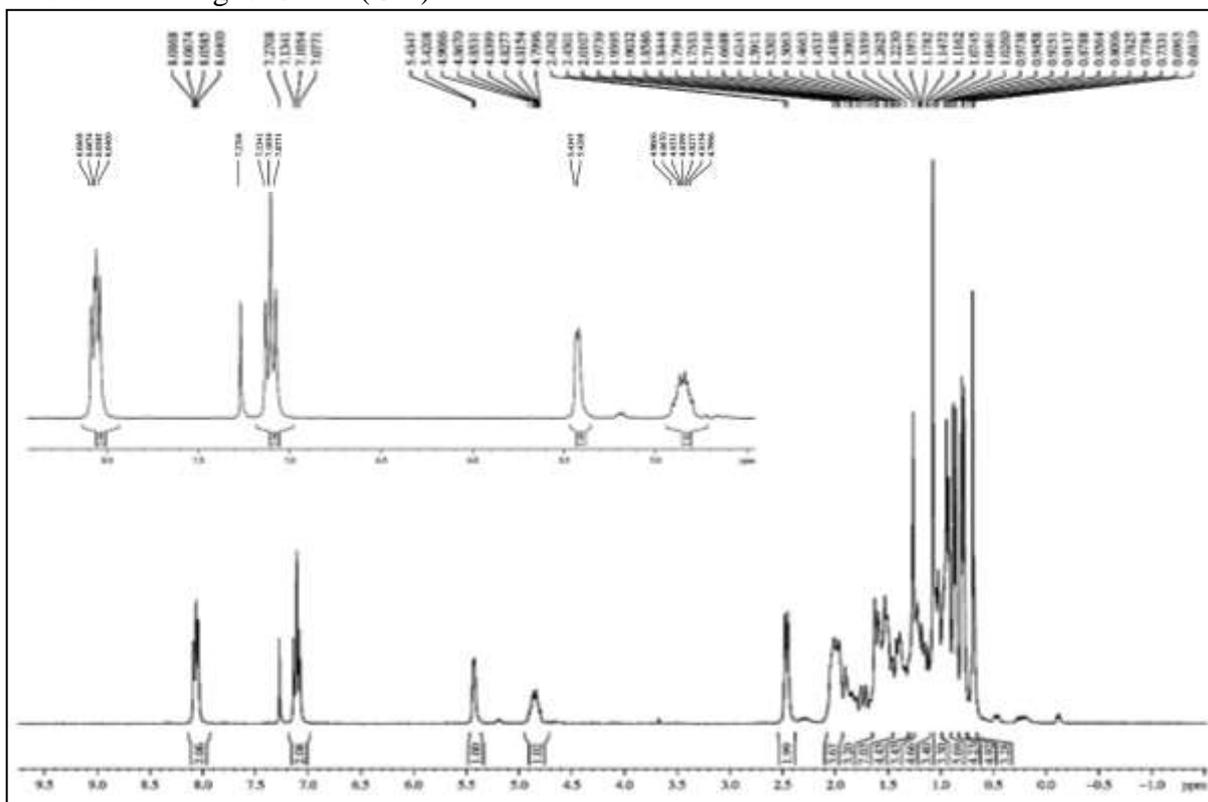
Fonte: o próprio autor.

Figura 174 – Espectro de massas CG-EM de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**)



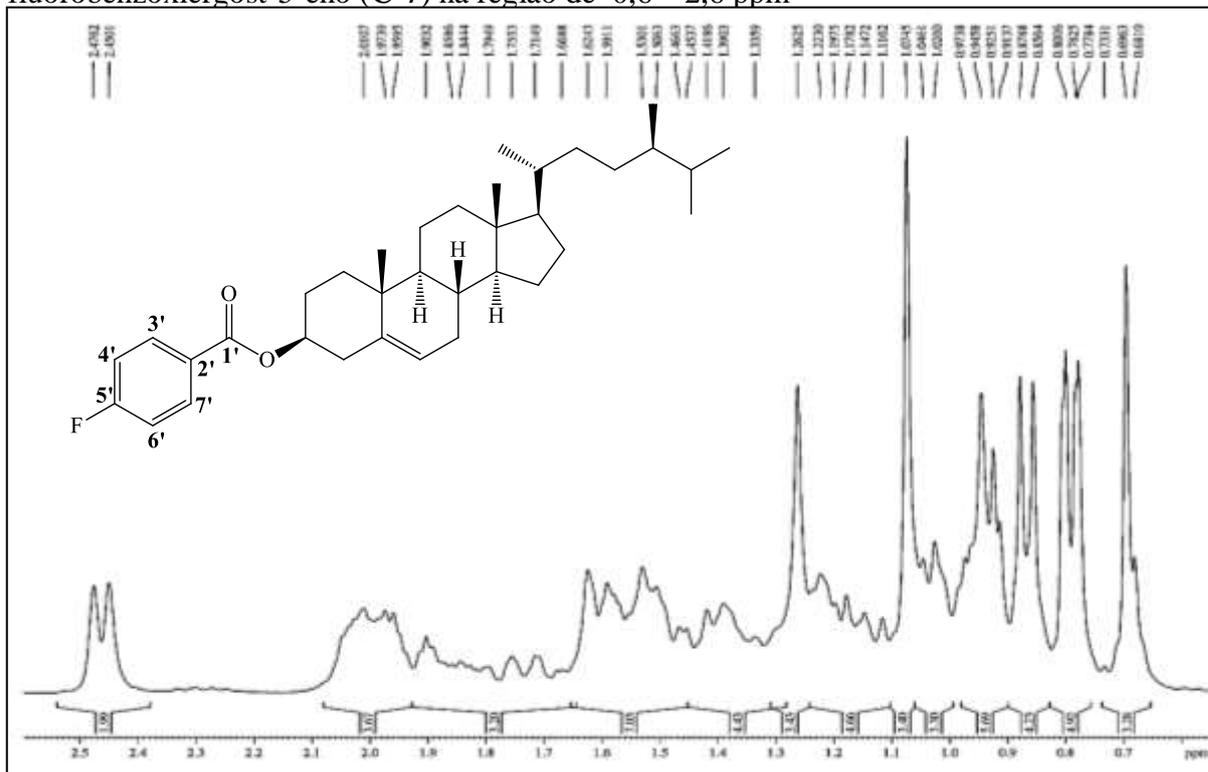
Fonte: o próprio autor.

Figura 175 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7)



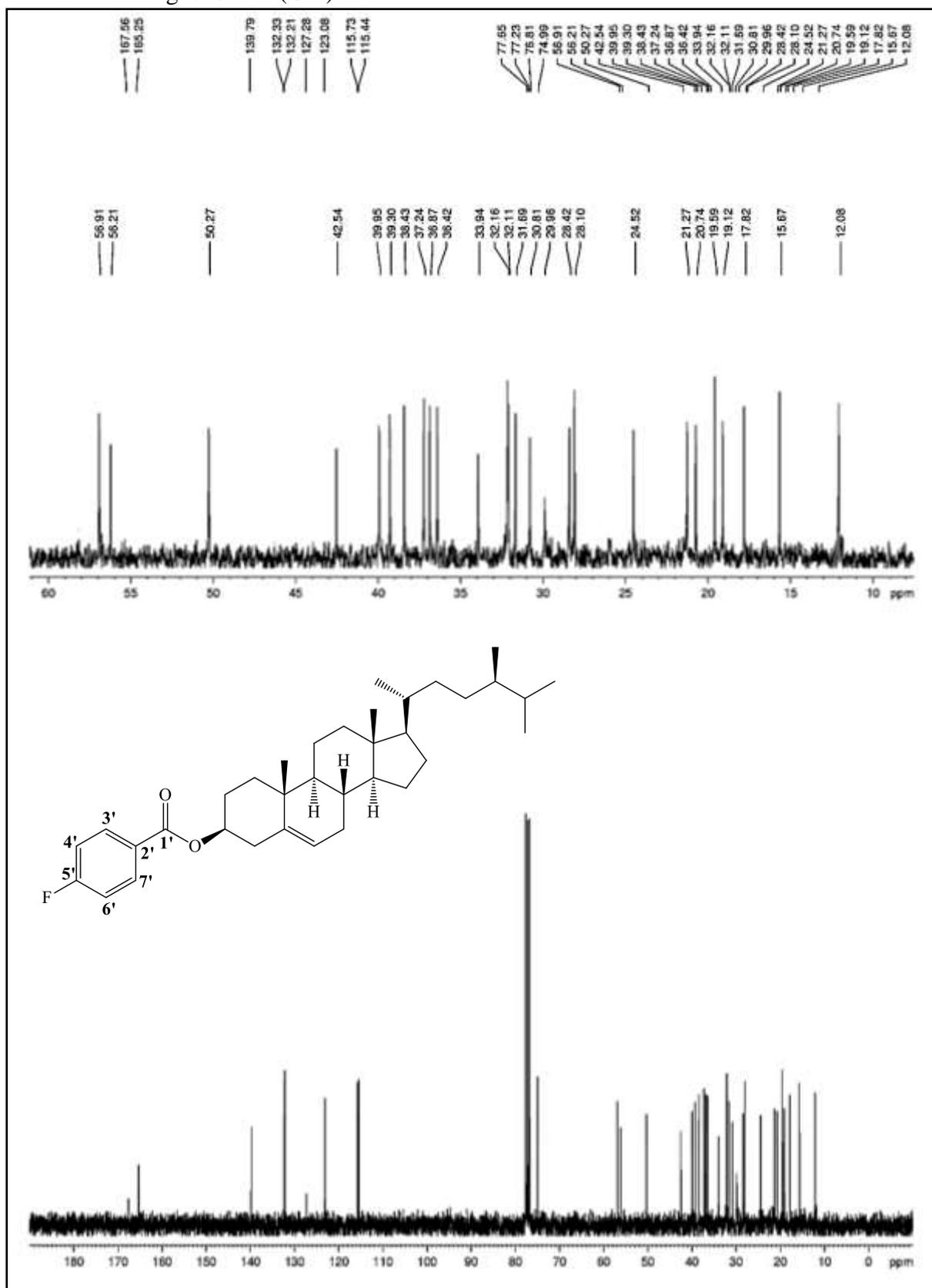
Fonte: o próprio autor.

Figura 176 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (C-7) na região de 0,6 – 2,6 ppm



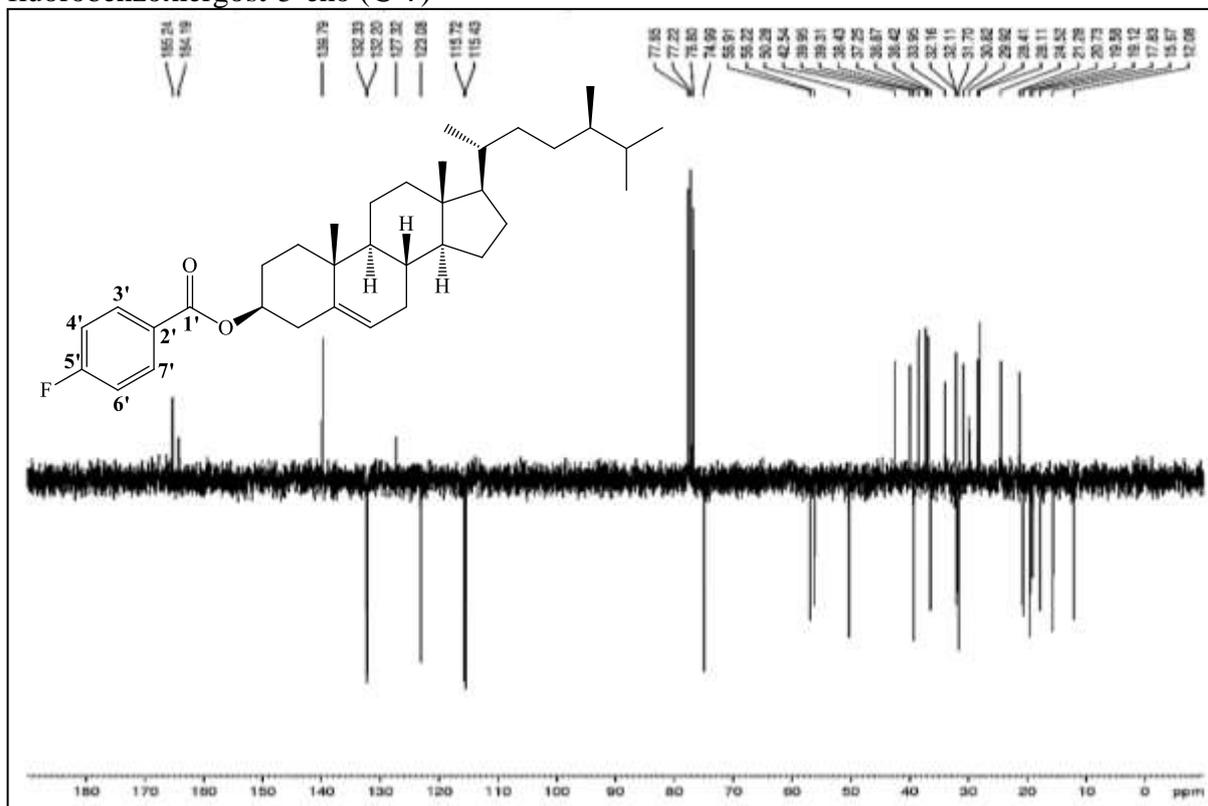
Fonte: o próprio autor.

Figura 177 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3-4-fluorobenzoxi)ergost-5-eno (C-7)



Fonte: o próprio autor.

Figura 178 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxiergost-5-eno (**C-7**)



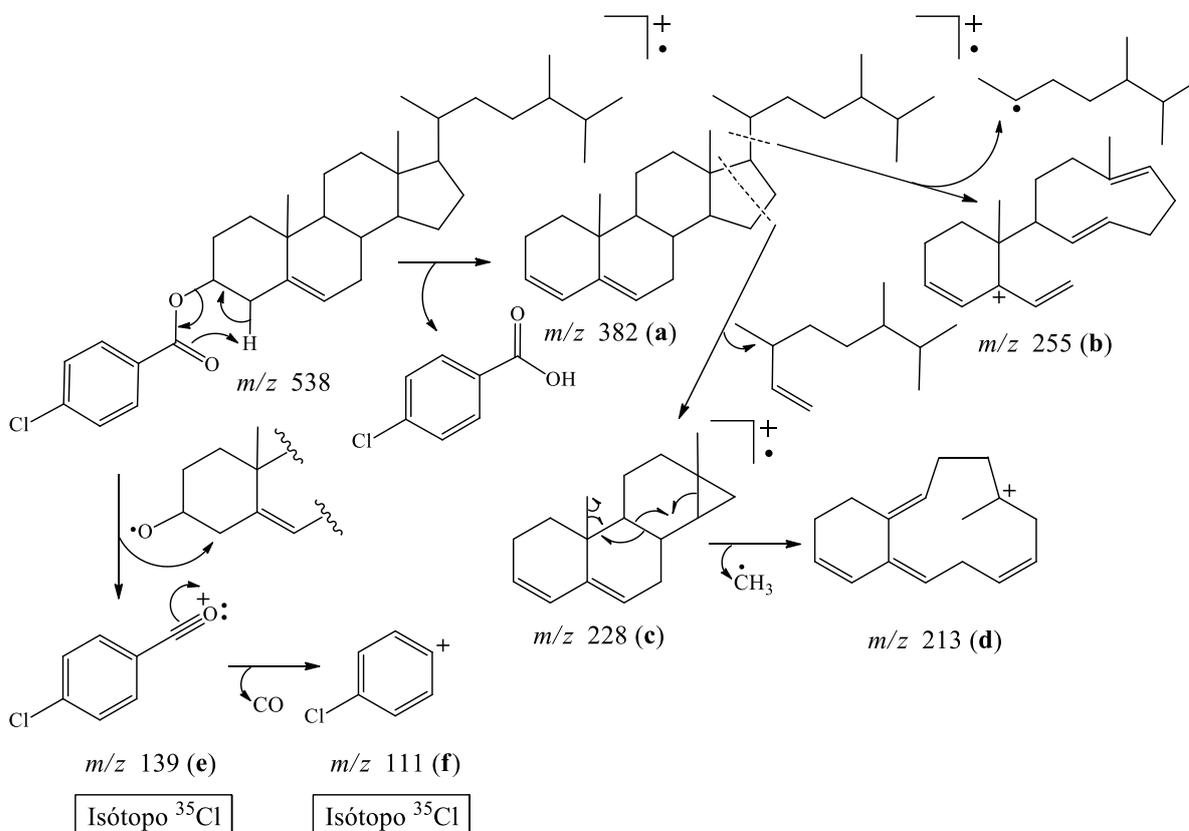
Fonte: o próprio autor.

#### 6.5.8 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 181, pág. 222) do derivado **C-8** exibiu banda de absorção em  $1717\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de carbonila de éster conjugada com anel aromático e uma banda em  $1465\text{ cm}^{-1}$  associada à deformação axial em  $\text{C}=\text{C}$  de compostos aromáticos. Outras bandas de absorção também foram observadas, sendo uma em  $1117\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação axial de  $\text{C}_{sp^2}\text{-Cl}$  conjugada, e outra em  $760\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de massas de **C-8** (Fig. 182, pág. 223) observou-se o pico com  $m/z$  382 (**a**) correspondente à eliminação de ácido *p*-clorobenzoico, além dos fragmentos com  $m/z$  255 (**b**),  $m/z$  139 (**e**) e  $m/z$  111 (**f**) referentes à perda da cadeia lateral em C-17, eliminação de radical alcoxila e saída de  $\text{CO}$ , respectivamente. Adicionalmente, foram observados os íons com  $m/z$  228 (**c**) e  $m/z$  213 (**d**) associados à ruptura do anel **D**, seguida de perda de radical metila, conforme sumarizados na Figura 179 (pág. 221).

Figura 179 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**)



Fonte: o próprio autor.

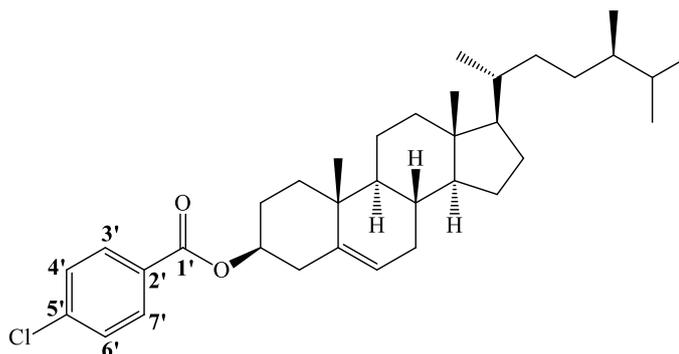
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 183 e 184, pág. 223, 224, respectivamente) mostrou como principal diferença em relação ao correspondente espectro do campesterol (**C**), a existência de dois dupletos, um em  $\delta_{\text{H}}$  7,98 ( $d$ ,  $J = 8,5$  Hz, 2H) correspondentes aos hidrogênios H-3' e H-7' e outro em  $\delta_{\text{H}}$  7,41 ( $d$ ,  $J = 8,5$  Hz, 2H) atribuídos aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático. Observou-se também o deslocamento do sinal referente ao H-3 do derivado esterificado **C-8** em  $\delta_{\text{H}}$  4,85 que se encontra mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do substrato **C** em  $\delta_{\text{H}}$  3,02 (PAVIA *et al.*, 2010).

Através da análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 185, pág. 225) e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 186, pág. 226) do produto esterificado **C-8** foi possível observar surgimento de sinal em  $\delta_{\text{C}}$  164,31 associado a carbono carbonílico de grupo éster, além de sinais relacionados aos carbonos aromáticos: em  $\delta_{\text{C}}$  150,67 (C-5'), em  $\delta_{\text{C}}$  130,88 (C-3' e C-7'), e em  $\delta_{\text{C}}$  123,67 (C-4' e C-6'). Outras absorções compatíveis com o

esqueleto do esteroide também foram observadas e encontram-se dispostas na Tabela 13 (pág. 250).

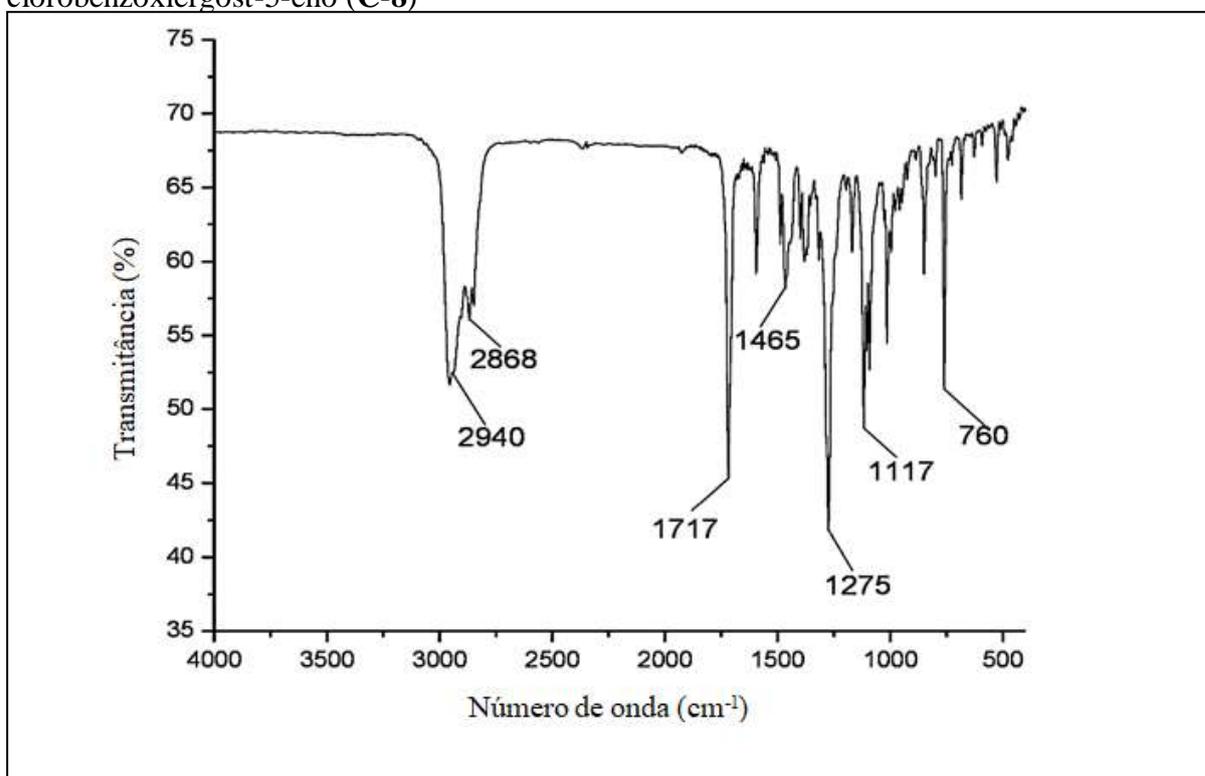
A análise dos dados de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  de **C-8** possibilitou identificar o derivado esterificado como  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoixergost-5-eno, cuja estrutura encontra-se apresentada na Figura 180.

Figura 180 – Estrutura química de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoixergost-5-eno (**C-8**)



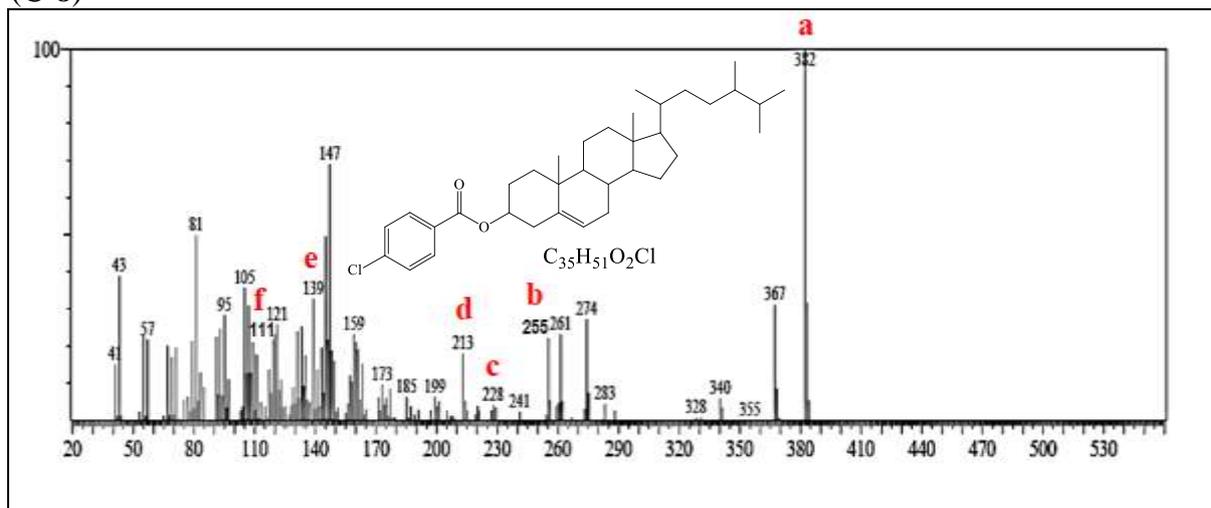
Fonte: o próprio autor.

Figura 181 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoixergost-5-eno (**C-8**)



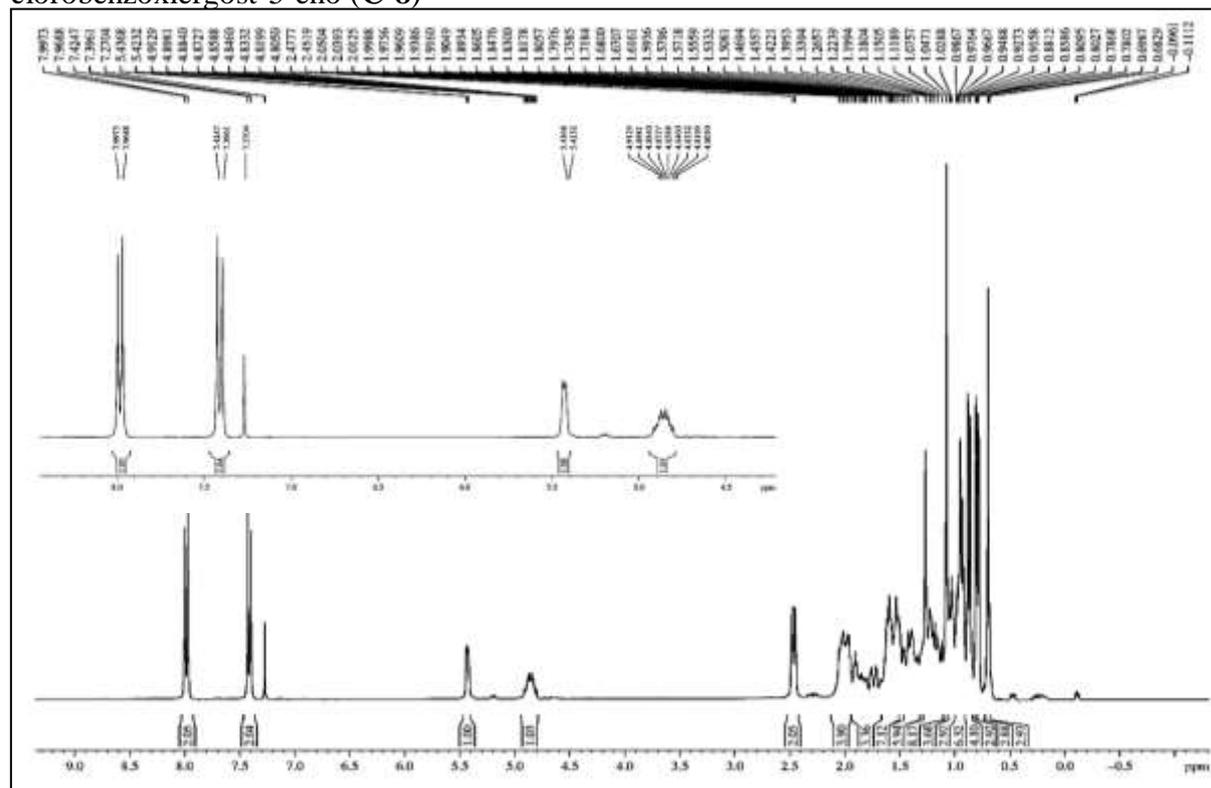
Fonte: o próprio autor.

Figura 182 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8)



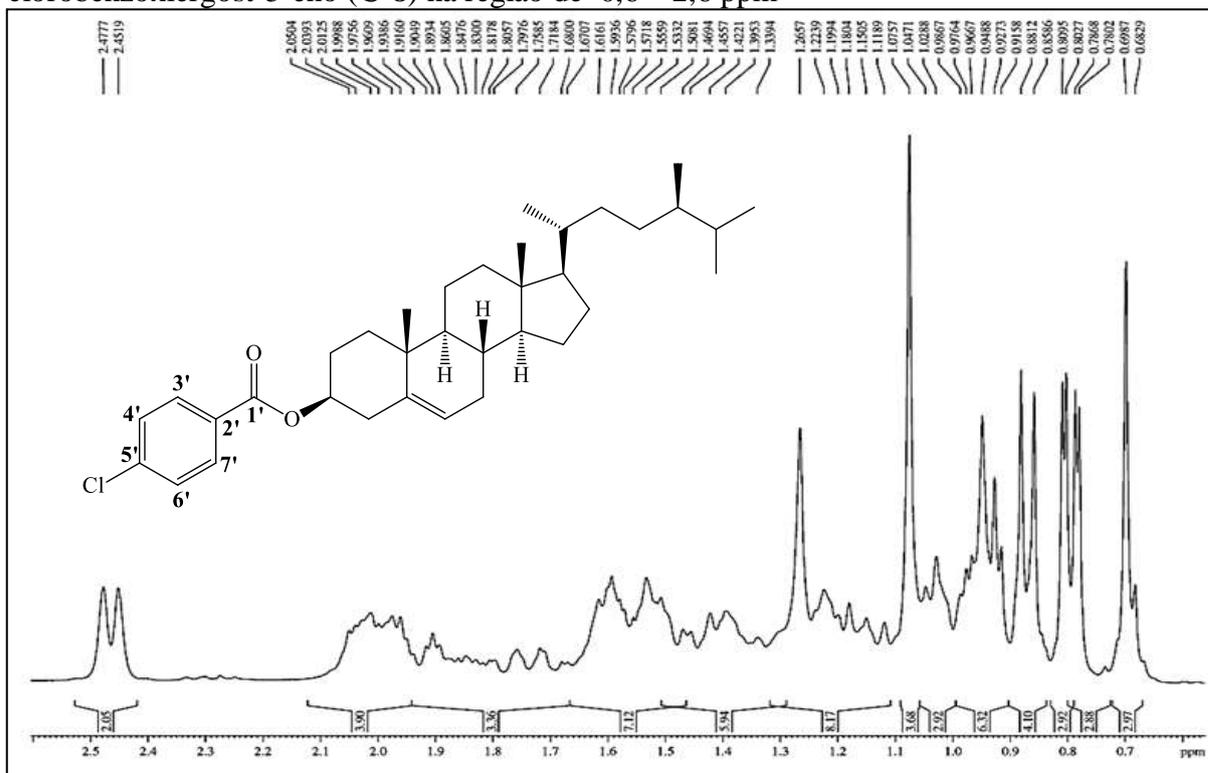
Fonte: o próprio autor.

Figura 183 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (C-8)



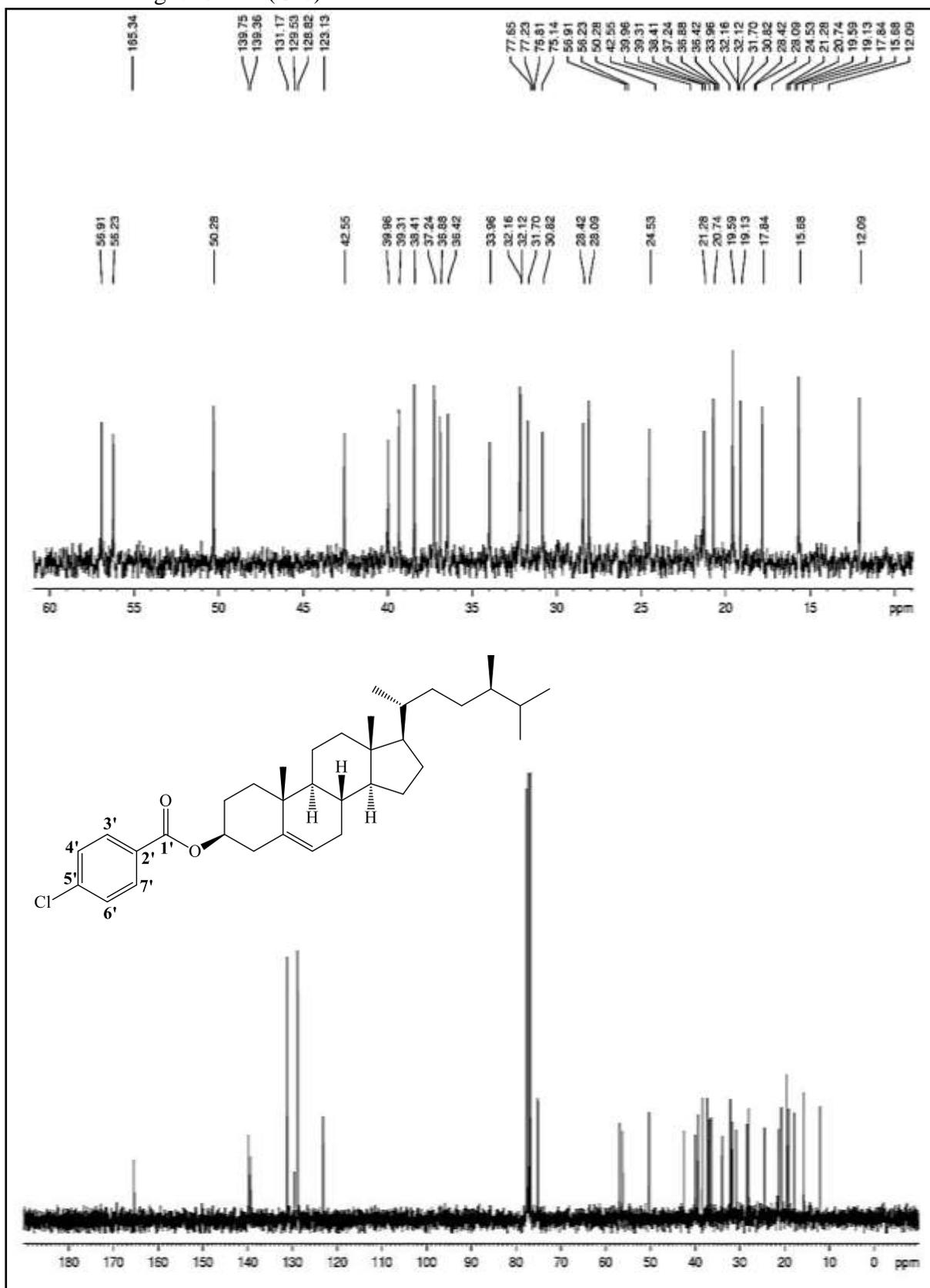
Fonte: o próprio autor.

Figura 184 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



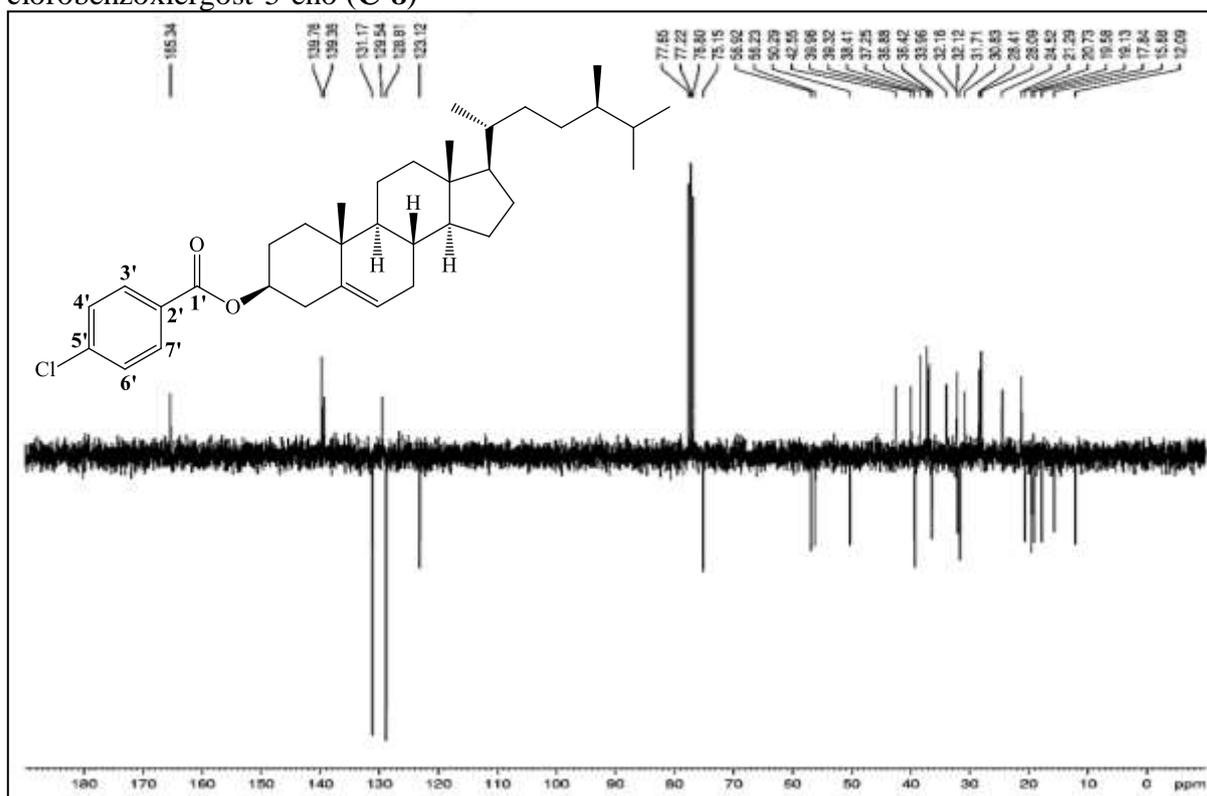
Fonte: o próprio autor.

Figura 185 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 186 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoxiergost-5-eno (**C-8**)



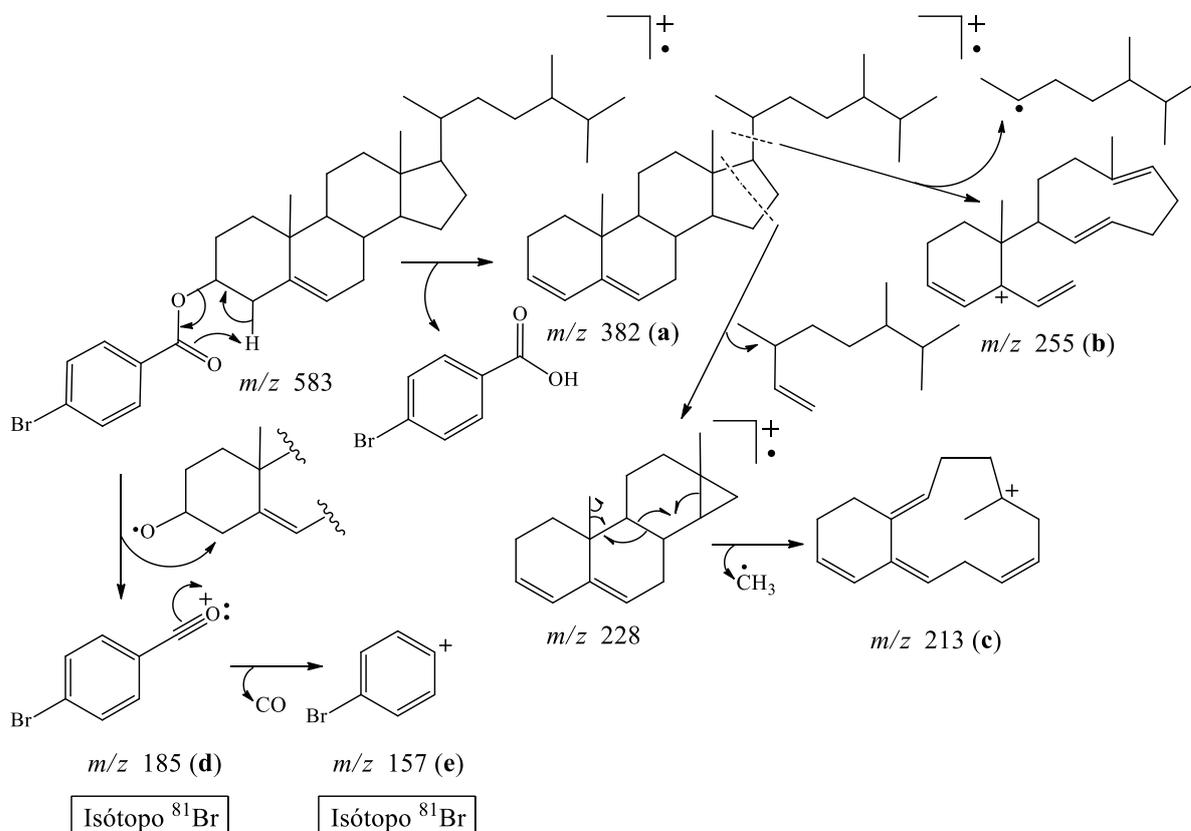
Fonte: o próprio autor.

### 6.5.9 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 189, pág. 228) de **C-9** observou-se o surgimento da banda de deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  conjugada com anel aromático em  $1708\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, foram observadas duas bandas de absorção, sendo uma em  $1116\text{ cm}^{-1}$  característica de deformação axial de  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-Br}$  conjugada e a outra em  $760\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação angular de  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos, além da banda de absorção em  $1277\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de  $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-O}$  de éster (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 190, pág. 229) do derivado acilado **C-9** mostrou o íon com  $m/z$  382 (**a**) atribuído a eliminação de ácido *p*-bromobenzoico, além de íons com  $m/z$  185 (**e**) e  $m/z$  157 (**f**) referentes à saída de radical alcóxila, seguida de perda de  $\text{CO}$ , respectivamente. Foram observados, ainda, picos correspondentes à ruptura do anel **D** e eliminação de radical metila com  $m/z$  213 (**c**) conforme mostrado na Figura 187 (pág. 227).

Figura 187 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**)



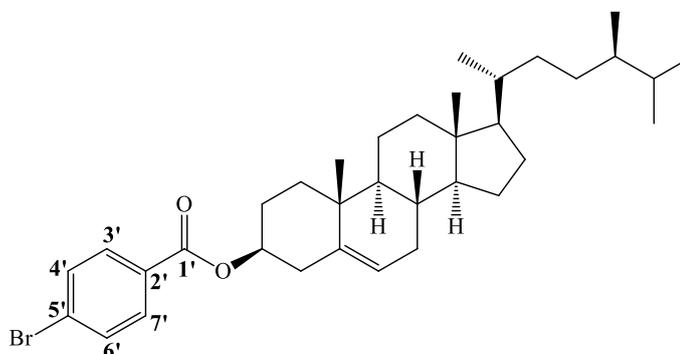
Fonte: o próprio autor.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 191 e 192, pág. 229 e 230, respectivamente) do derivado **C-9** foi detectada a presença de dois dupletos: um em  $\delta_H$  7,9 (*d*,  $J = 8,5$  Hz, 2H) e outro em  $\delta_H$  7,5 (*d*,  $J = 8,5$  Hz, 2H), correspondentes aos sinais dos hidrogênios do anel aromático H-3'/H-7' e H-4'/H-6', respectivamente. Além disso, foi observada a existência de um multipletto em  $\delta_H$  4,85 (*m*, 1H) característico de hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que está mais desprotegido em relação ao do correspondente sinal no espectro do campesterol (**C**) em  $\delta_H$  3,02, devido efeito de desproteção induzido pela carbonila do grupo éster ligado ao C-3 (PAVIA *et al.*, 2010).

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 193, pág. 231) revelou a existência de sinais referentes aos carbonos do anel aromático: em  $\delta_c$  128,00 (C-5'), em  $\delta_c$  131,81 (C-3' e C-7'), e em  $\delta_c$  131,31 (C-4' e C-6'). Observou-se também um sinal em  $\delta_c$  165,46, atribuído ao carbono da carbonila do éster conjugada com anel aromático. A análise comparativa entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 194, pág. 232)

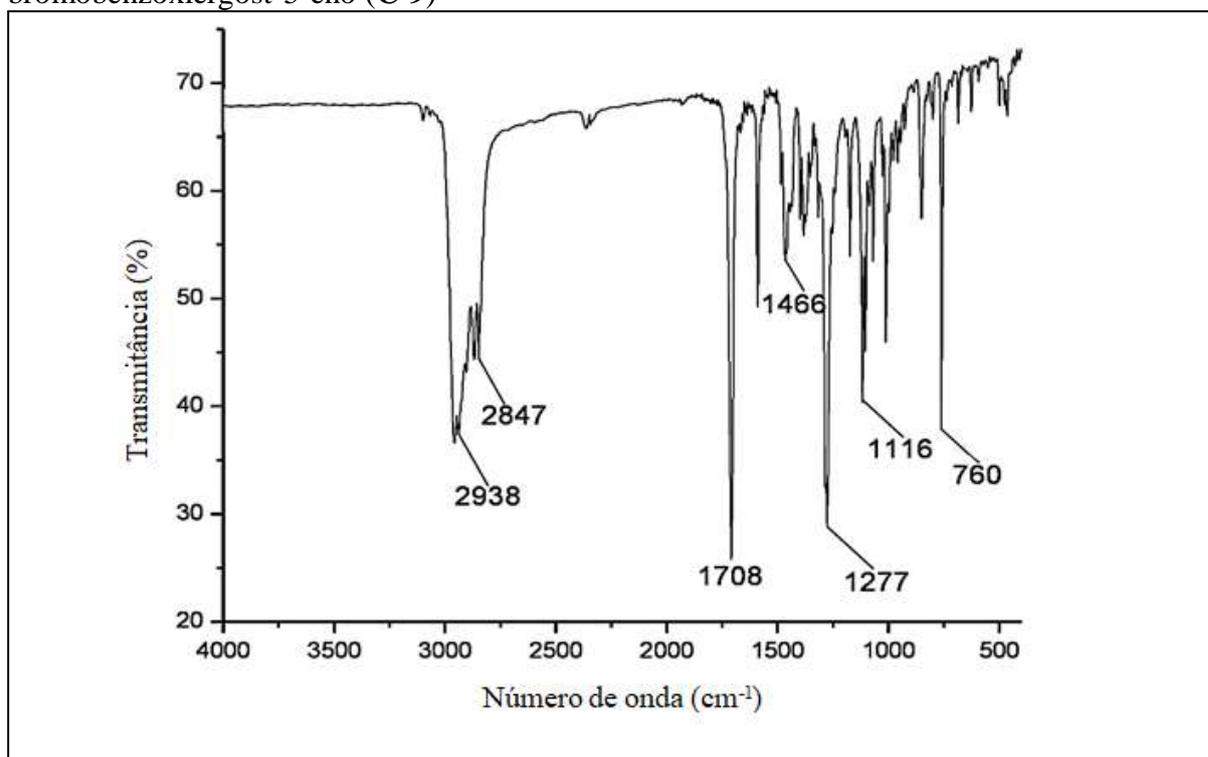
permitiu a identificação dos sinais dos átomos de carbono do derivado acilado **C-9** (Fig. 188) e os dados encontram-se dispostos na Tabela 13 (pág. 250).

Figura 188 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**)



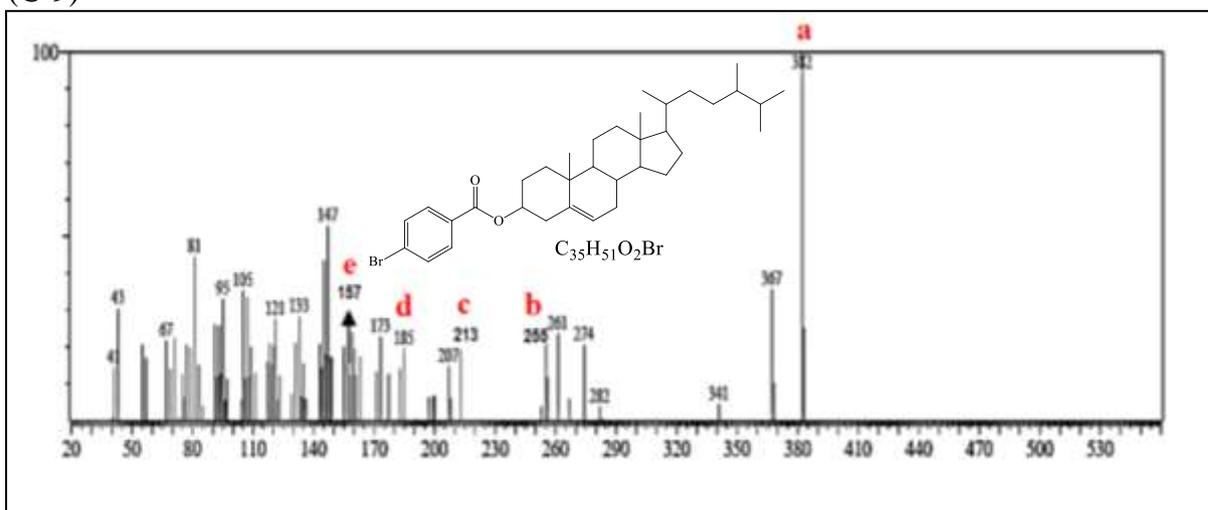
Fonte: o próprio autor.

Figura 189 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**)



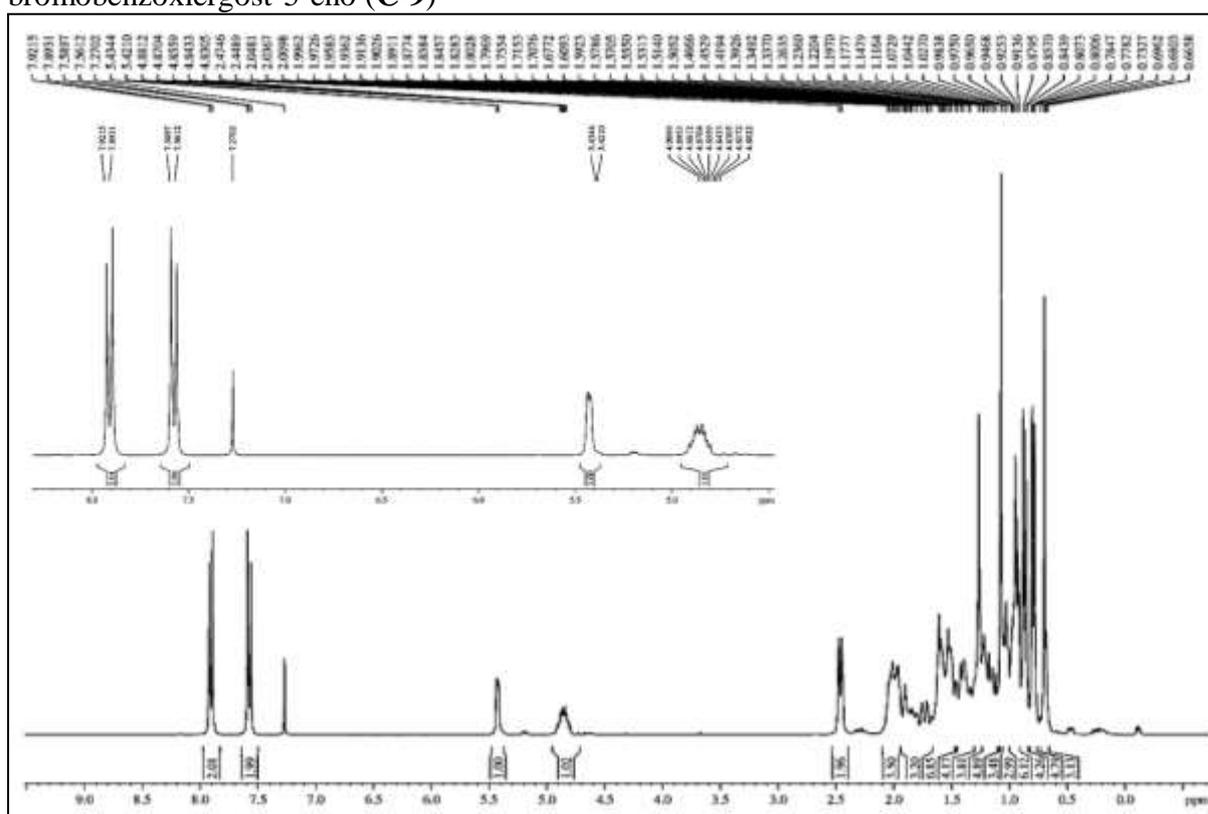
Fonte: o próprio autor.

Figura 190 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9)



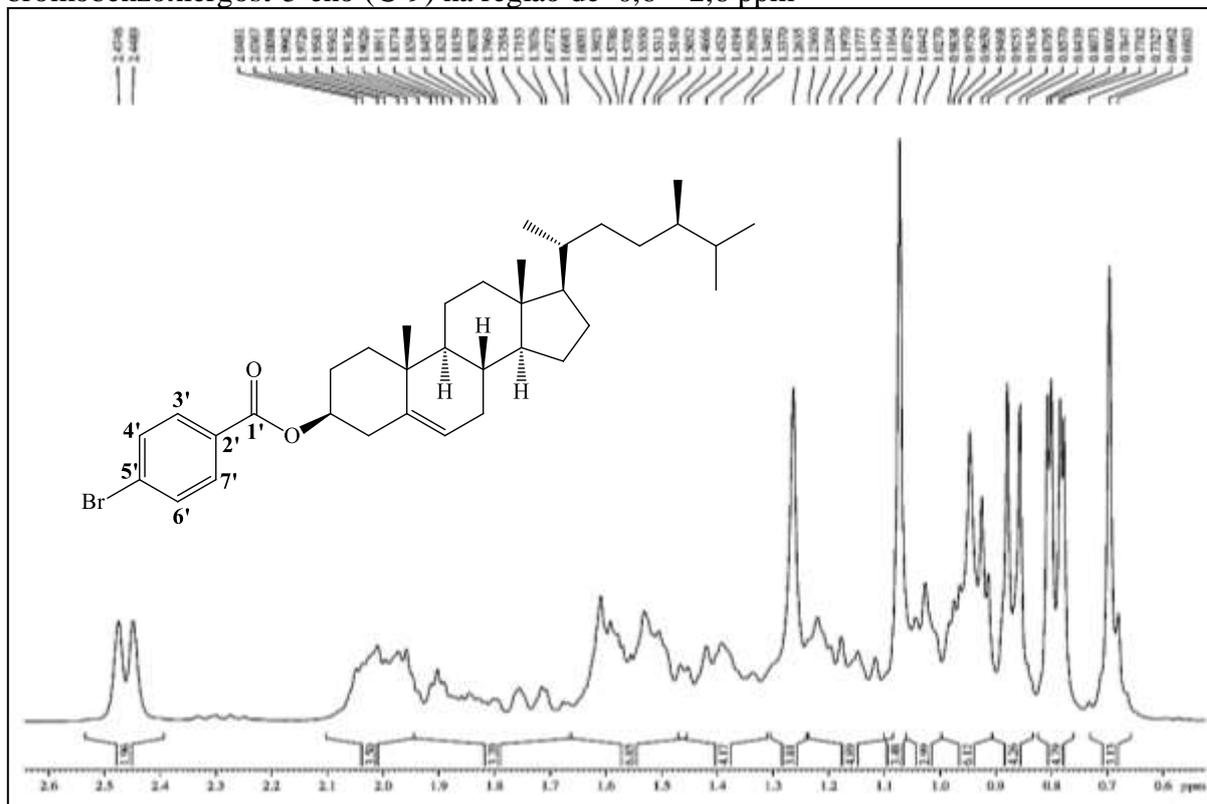
Fonte: o próprio autor.

Figura 191 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9)



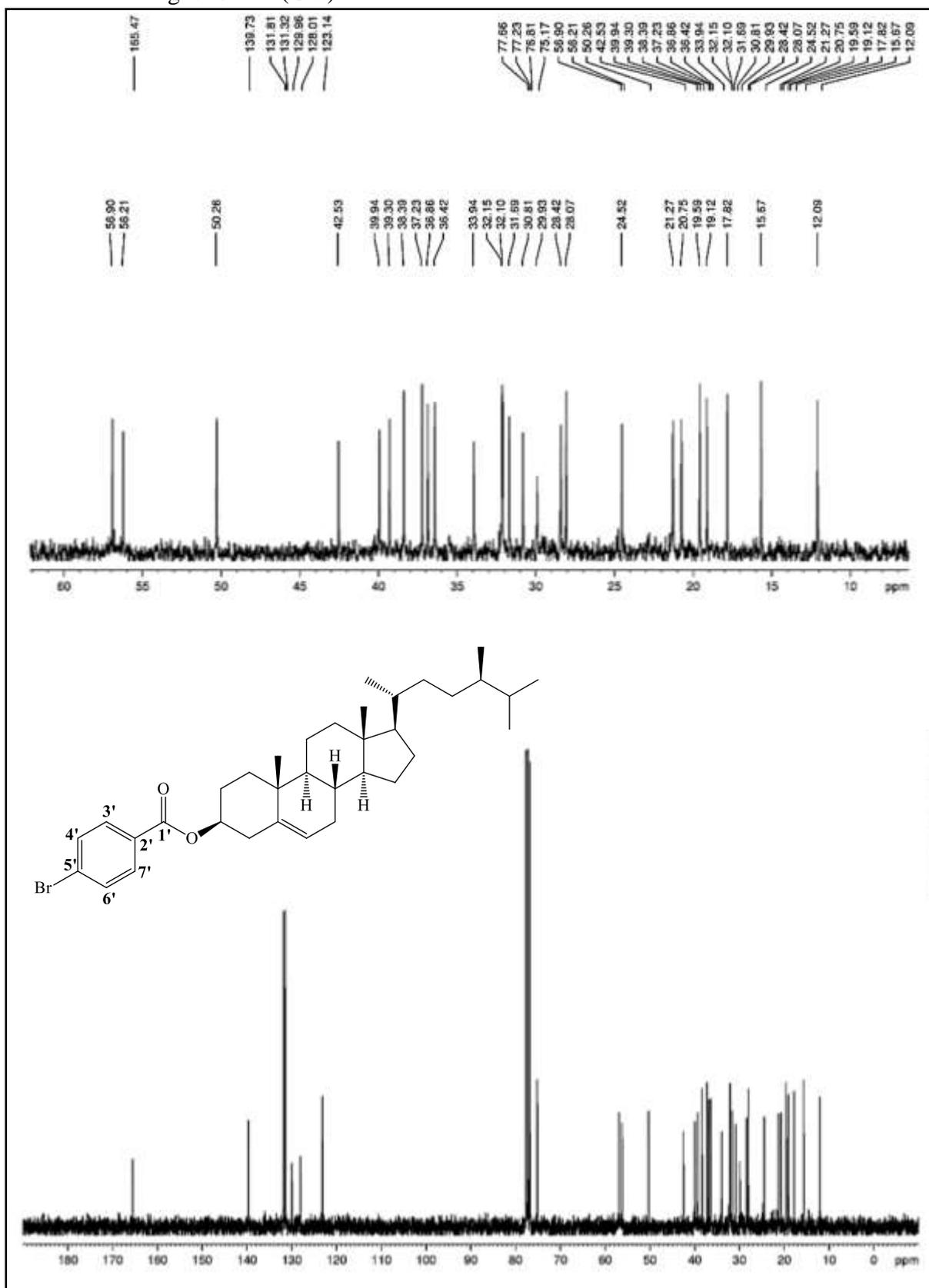
Fonte: o próprio autor.

Figura 192 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoiergost-5-eno (**C-9**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



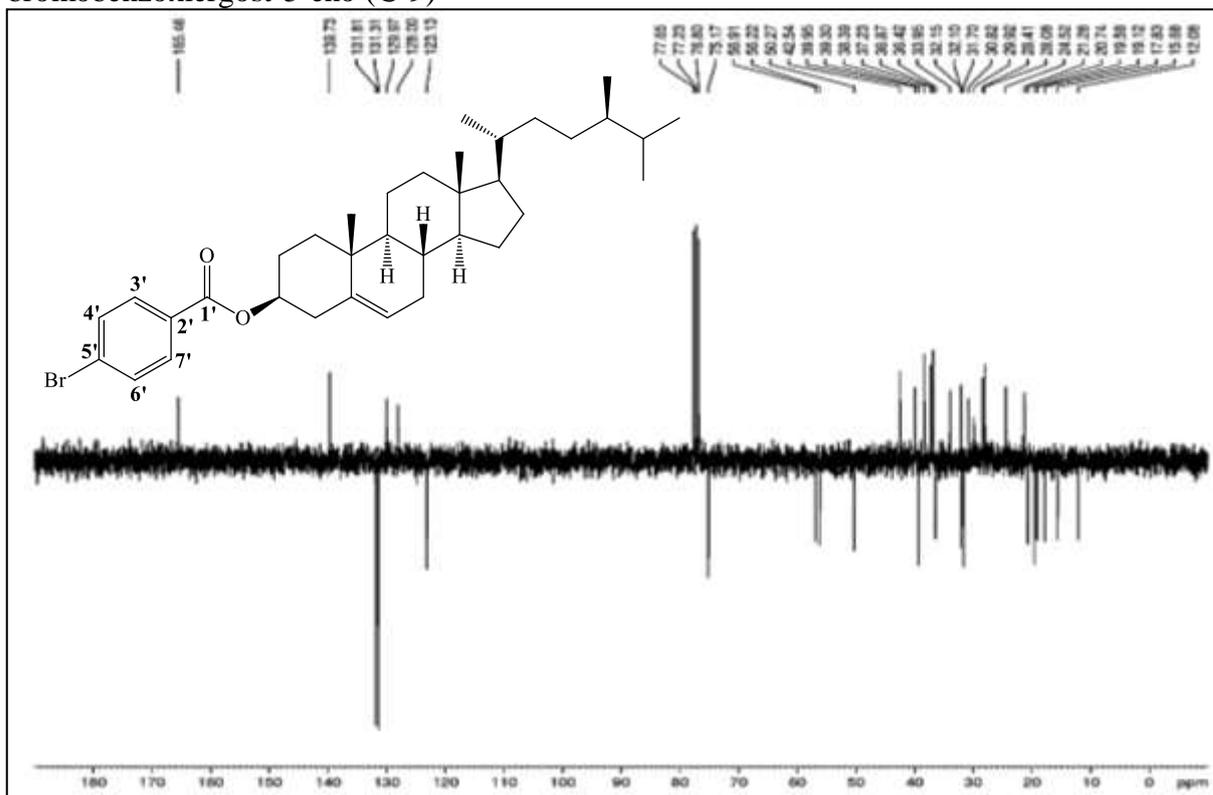
Fonte: o próprio autor.

Figura 193 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (C-9)



Fonte: o próprio autor.

Figura 194 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoxiergost-5-eno (**C-9**)



Fonte: o próprio autor.

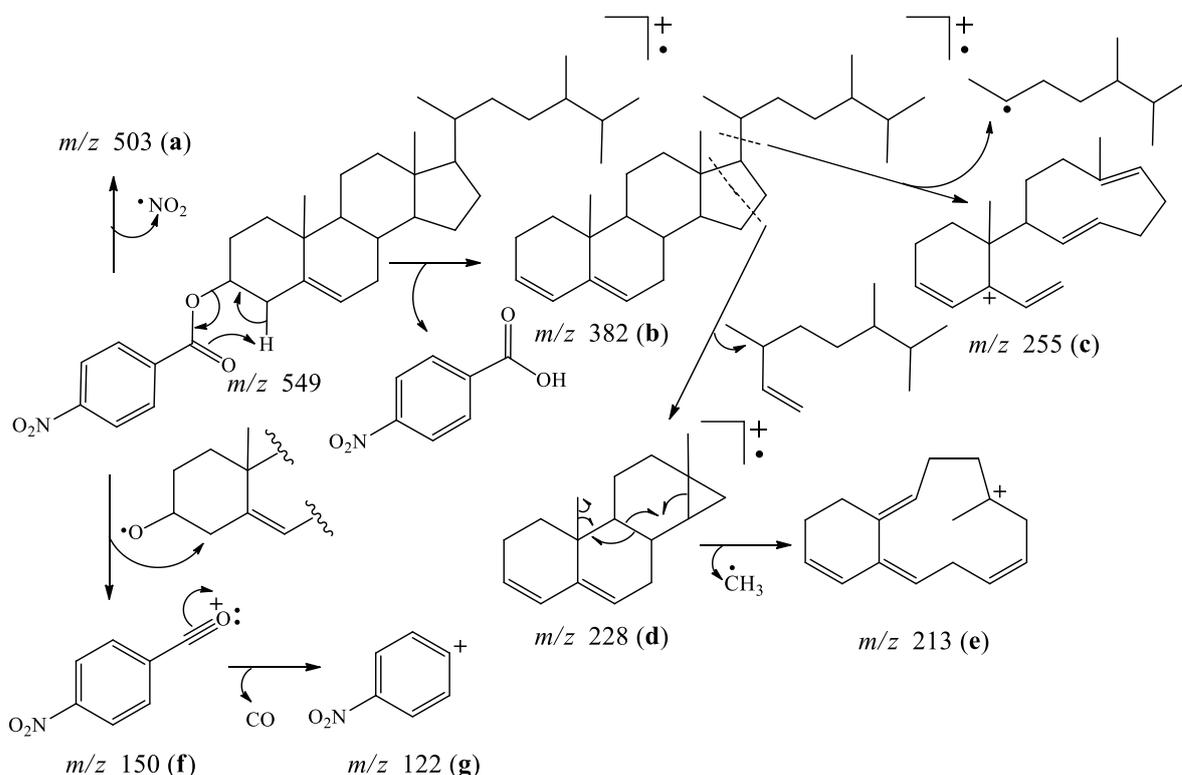
#### 6.5.10 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 197, pág. 234) de **C-10** observou-se o aparecimento da banda de absorção em  $1716\text{ cm}^{-1}$  característica de deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  de éster. Adicionalmente, foram observadas duas bandas de absorção relacionadas ao grupo nitro ligado ao anel aromático, sendo uma em  $1524\text{ cm}^{-1}$  e outra em  $1351\text{ cm}^{-1}$ , em virtude da conjugação do grupo nitro com anel aromático essas bandas apresentam-se em frequências mais baixas. Além disso, foi observada banda em  $717\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação angular de  $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$  de compostos aromáticos *p*-substituídos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de massas (Fig. 198, p. 235) de **C-10** exibiu os íons com  $m/z$  503 (**a**) correspondente à perda de radical  $\text{NO}_2$ ; com  $m/z$  365 (**b**) relacionado à eliminação de ácido *p*-nitrobenzoico e com  $m/z$  255 (**c**) correspondente à perda da cadeia lateral  $\text{C}_9\text{H}_{19}$  em C-17, além dos íons correspondentes à ruptura do anel **D** com  $m/z$  228 (**d**), seguida de perda de radical metila com  $m/z$  213 (**e**). O espectro de massas mostrou também picos com  $m/z$  150 (**f**)

e  $m/z$  122 (e), referentes à saída de radical alcoxila e eliminação de CO, respectivamente (Fig. 195).

Figura 195 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)



Fonte: o próprio autor.

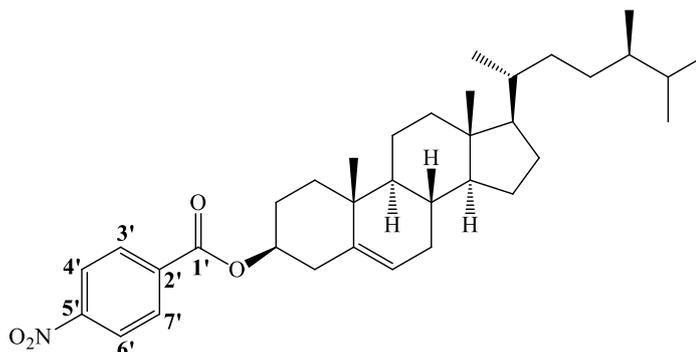
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 199 e 200, pág. 235 e 236, respectivamente) apresentou dois dupletos, um em  $\delta_H$  8,28 ( $d$ ,  $J = 8,8$  Hz, 2H) referente aos hidrogênios H-3' e H-7' e outro em  $\delta_H$  8,21 ( $d$ ,  $J = 8,8$  Hz, 2H) relacionados aos hidrogênios H-4' e H-6' do anel aromático, respectivamente. A formação do derivado esterificado também pode ser confirmada através deslocamento do sinal em  $\delta_H$  4,90 correspondente ao hidrogênio H-3 mais desprotegido com relação ao do substrato **C** (PAVIA *et al.*, 2010).

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 201, pág. 237) e RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 202, pág. 238) revelaram a presença de sinais atribuídos a carbonos de anel aromático: em  $\delta_c$  150,67 (C-5'), em  $\delta_c$  130,87 (C-3' e C-7') e em  $\delta_c$  123,66, (C-4' e C-6'), além do sinal em  $\delta_c$  164,28 referente à carbonila de éster conjugada. Vale salientar que outras absorções compatíveis com o esqueleto do derivado **C-10** também foram observadas,

indicando a formação do produto esterificado e encontram-se apresentados na Tabela 13 (pág. 250).

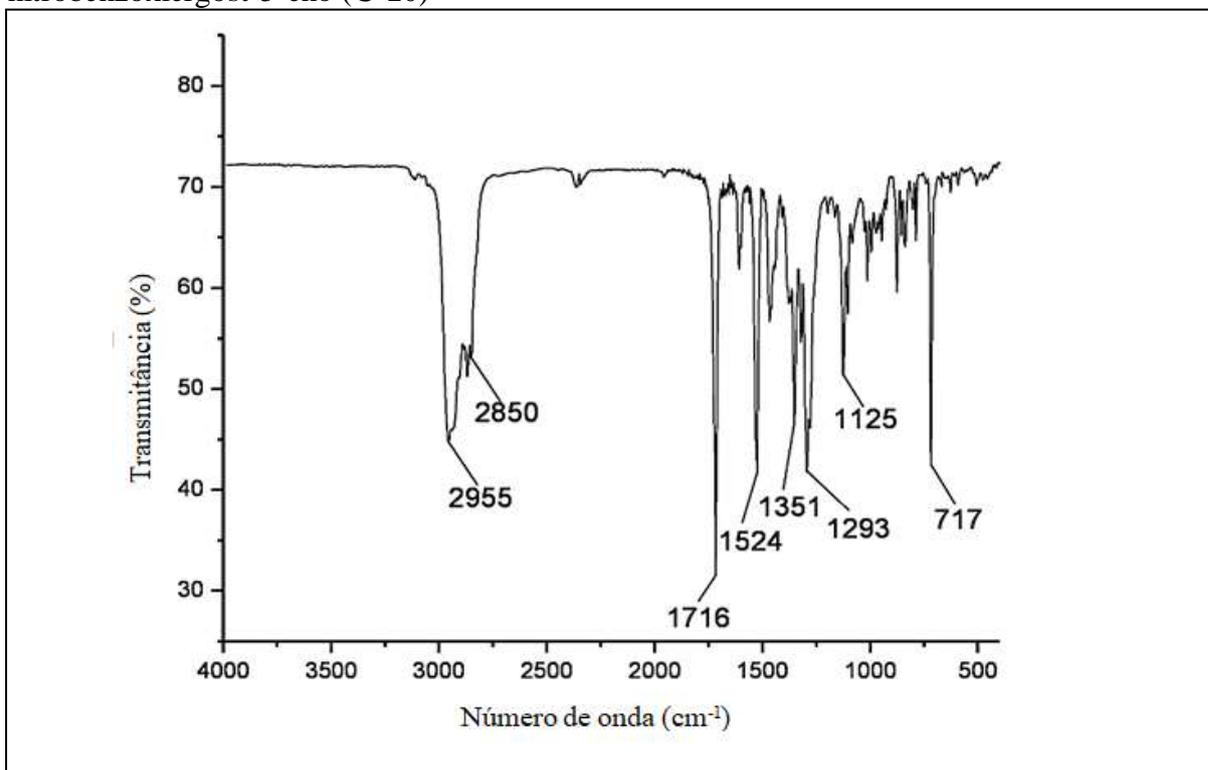
A análise dos dados espectroscópicos de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  confirmou a estrutura do derivado **C-10** como (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (Fig. 196).

Figura 196 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)



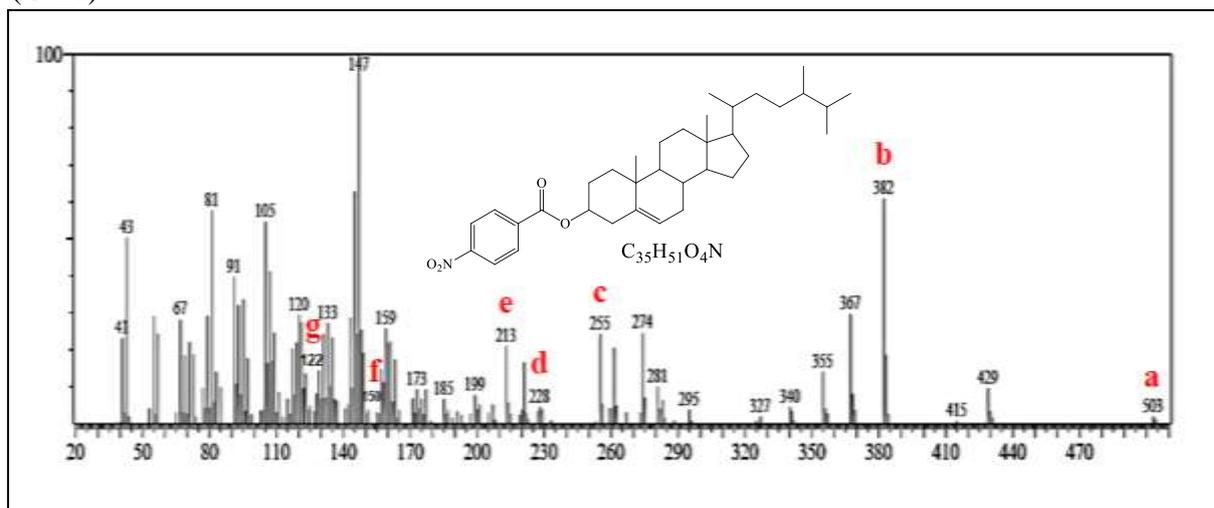
Fonte: o próprio autor.

Figura 197 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)



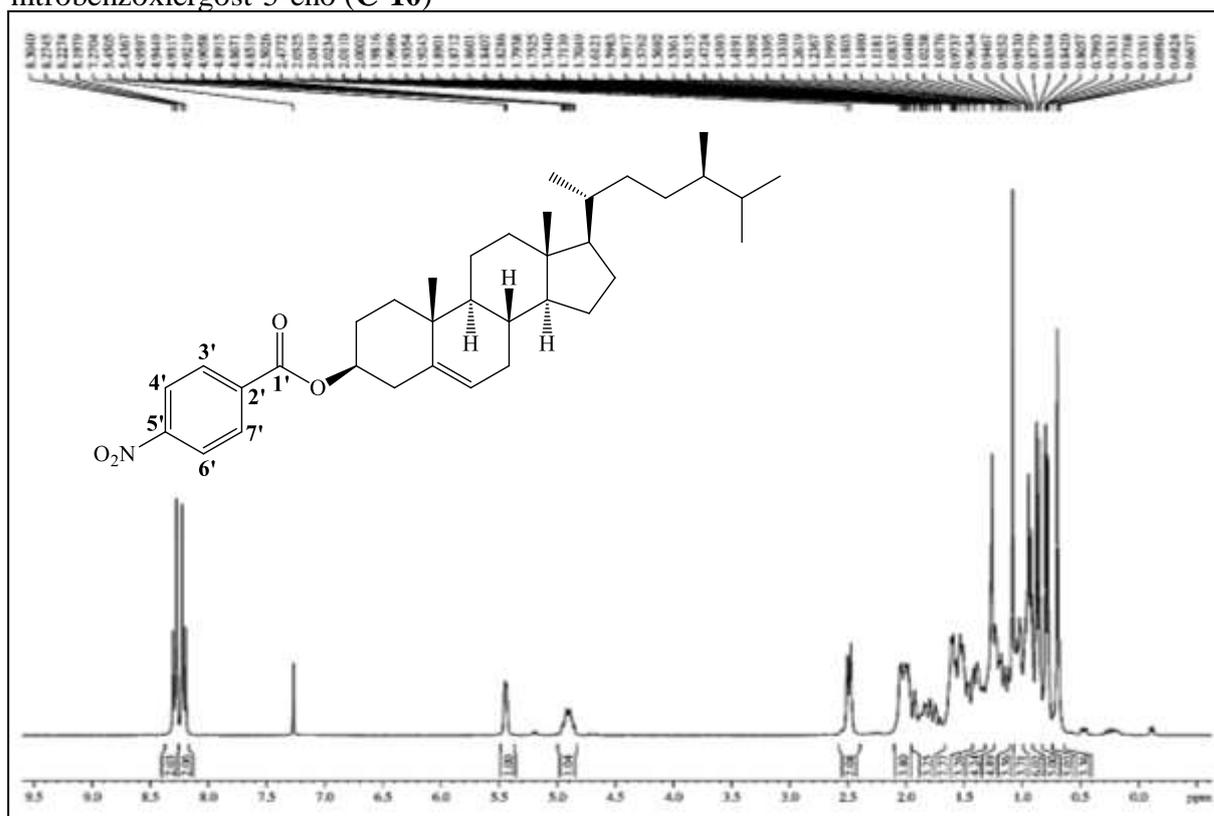
Fonte: o próprio autor.

Figura 198 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10)



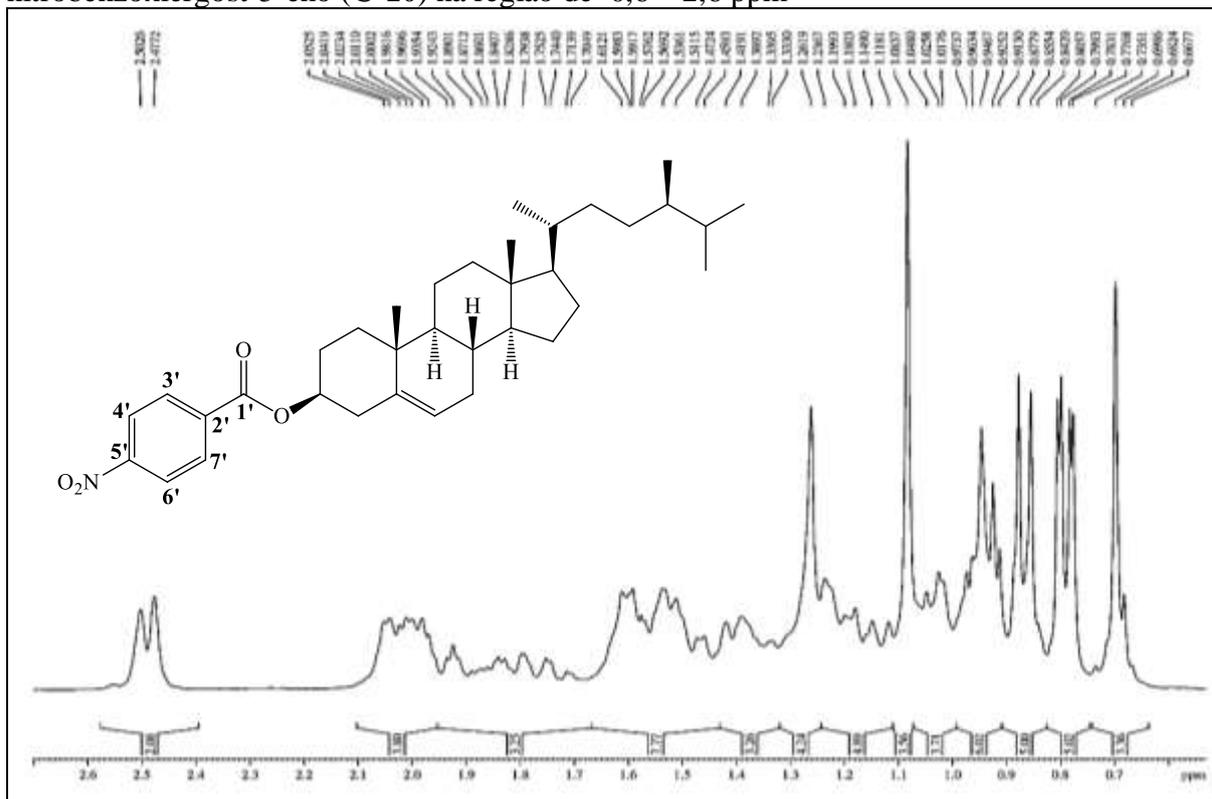
Fonte: o próprio autor.

Figura 199 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (C-10)



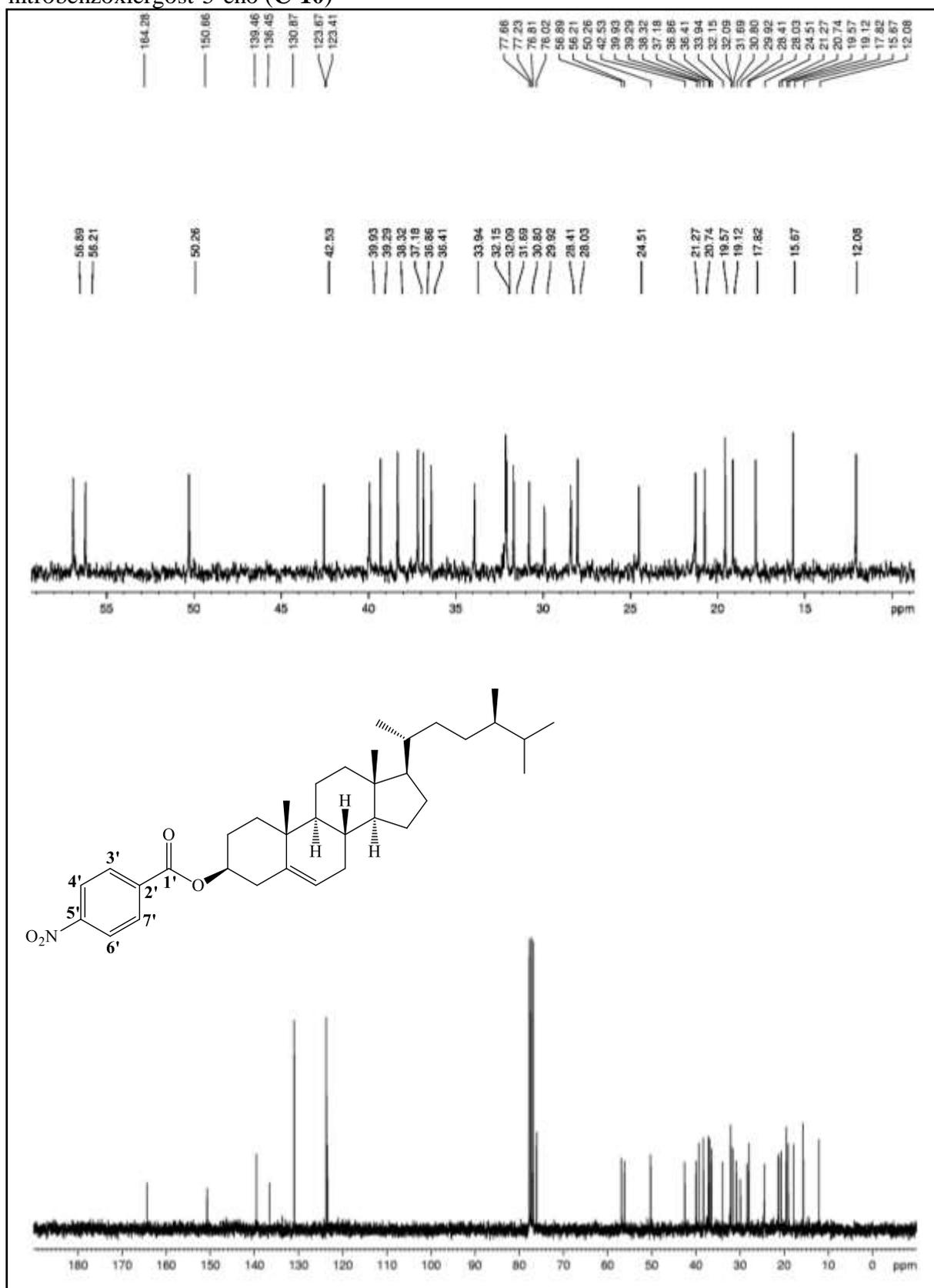
Fonte: o próprio autor.

Figura 200 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



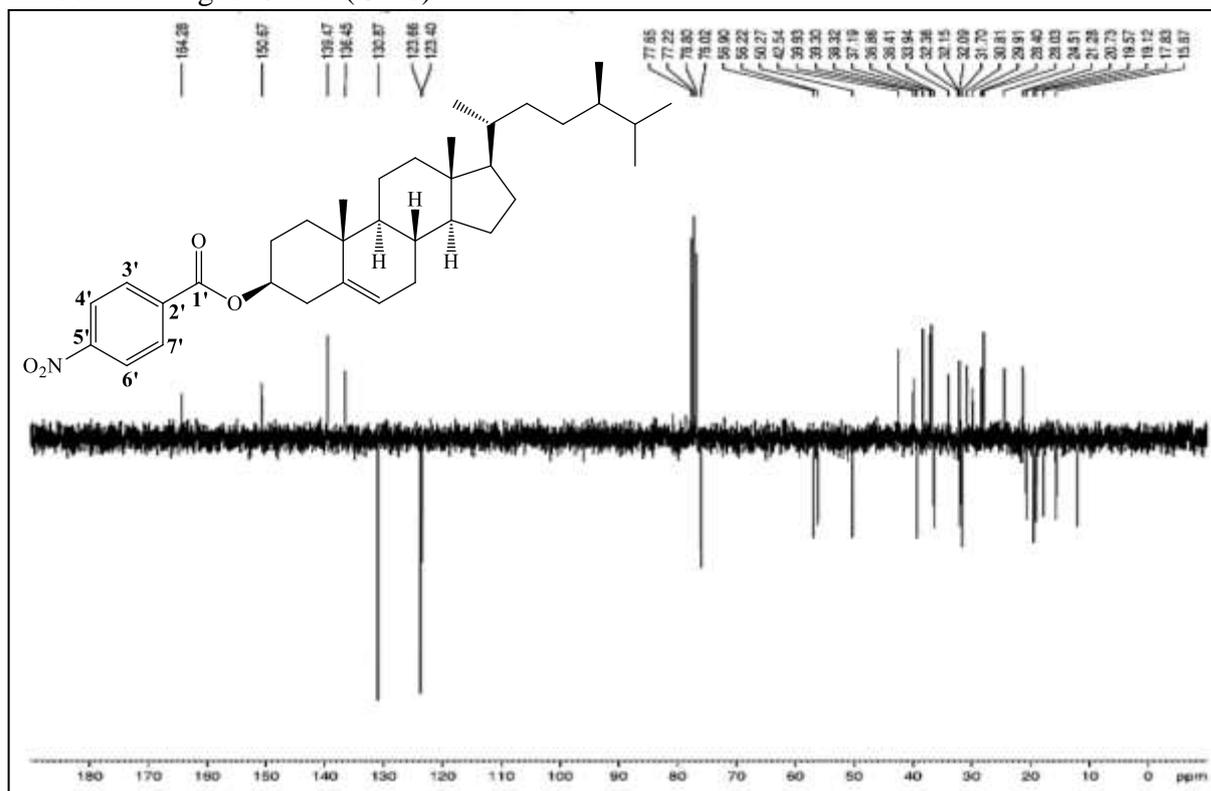
Fonte: o próprio autor.

Figura 201 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 202 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-nitrobenzoxiergost-5-eno (**C-10**)



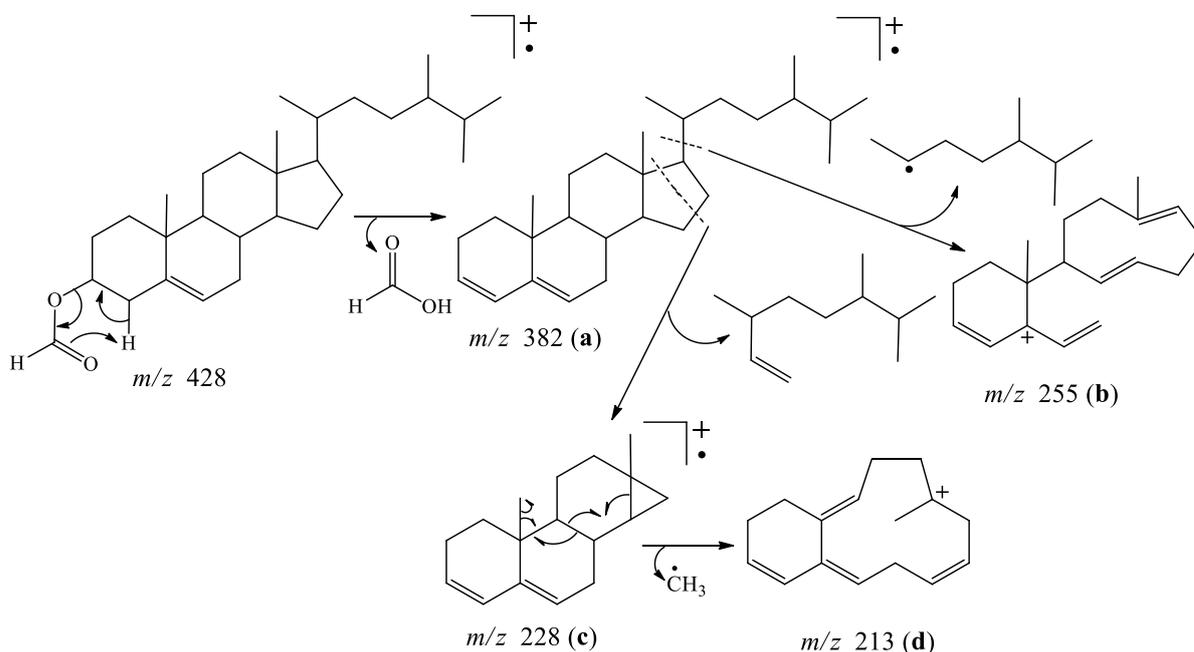
Fonte: o próprio autor.

### 6.5.11 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)

Através da análise do espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Fig. 205, pág. 240) de **C-11**, observou-se o aparecimento de bandas de absorção em  $1714\text{ cm}^{-1}$  e em  $1207\text{ cm}^{-1}$  referentes à deformação axial de  $\text{C}=\text{O}$  e  $\text{C}_{\text{sp}^3}-\text{O}$ , respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010). Vale salientar que o aparecimento destas bandas de absorção podem ser indicativos da ocorrência da reação de acilação.

O espectro de massas (Fig. 206, pág. 241) do derivado acilado **C-11** apresentou o pico com  $m/z$  382 (**a**) referente à eliminação de ácido fórmico, fragmento com  $m/z$  255 (**b**) correspondente à saída da cadeia lateral em C-17 e a ruptura do anel **D** com  $m/z$  228 (**c**), seguida de perda de radical metila com  $m/z$  213 (**d**), conforme apresentado na Figura 203 (pág. 239).

Figura 203 – Esquema mostrando as principais fragmentações de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)



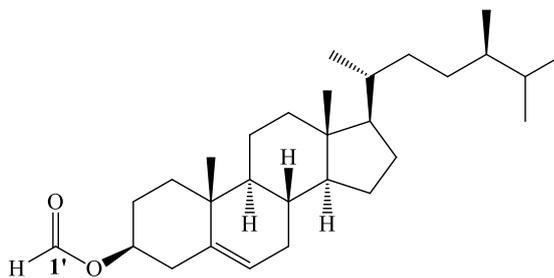
Fonte: o próprio autor.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 207 e 208, pág. 241 e 242, respectivamente) de **C-11** confirmou através do sinal  $\delta_H$  8,04 (s, 1H) a existência de hidrogênio de grupo formila. Observou-se também a presença de um multipletto em  $\delta_H$  4,75 referente ao hidrogênio H-3 ligado ao carbono carbinólico que está mais desprotegido com relação ao do substrato **C**, devido ao efeito de desproteção induzido pela carbonila em C-3 (PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 209, pág. 243) observou-se a presença do sinal em  $\delta_C$  160,86, referente à carbonila do grupo formiato (VALKONEN *et al.*, 2008). Outras absorções compatíveis com o esqueleto do derivado acilado **C-11** também foram observadas através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (Fig. 210, pág. 244) e encontram-se apresentados na Tabela 13 (pág. 250).

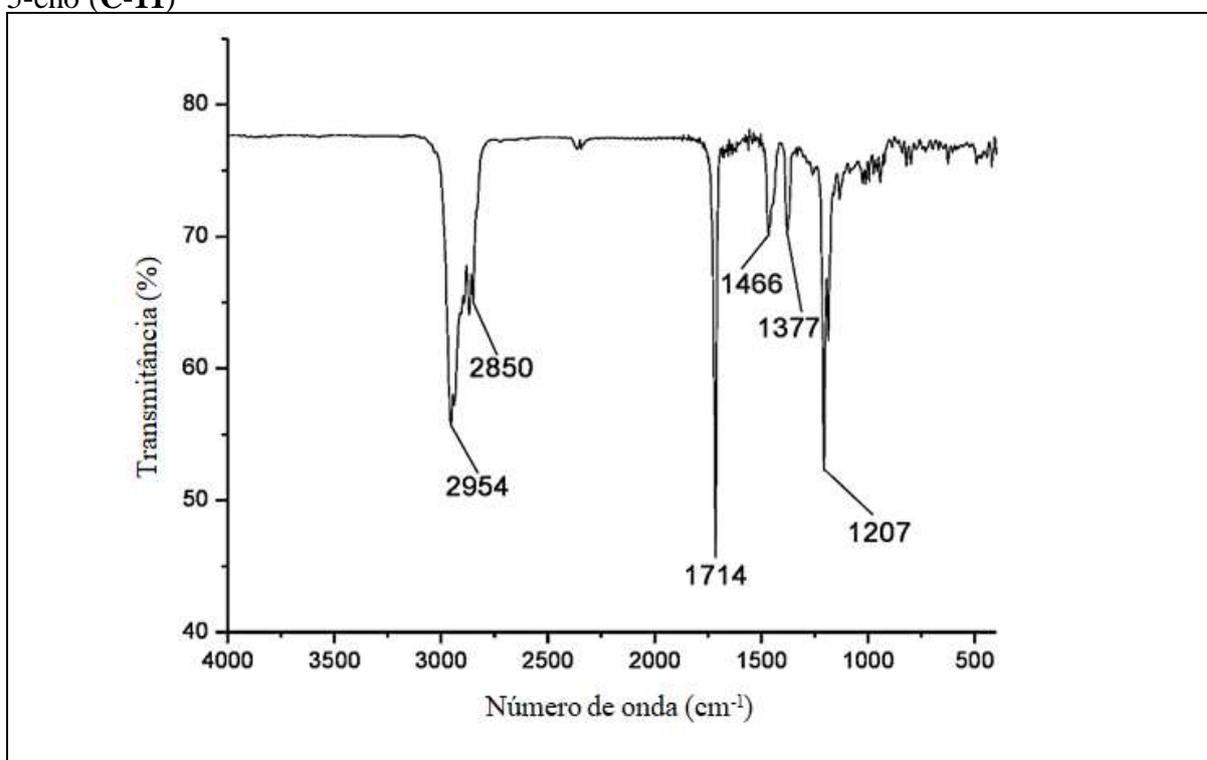
A reunião dos dados espectroscópicos de IV, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  permitiu identificar o produto acilado **C-11** como sendo (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno, cuja estrutura encontra-se mostrada na Figura 204 (pág. 240).

Figura 204 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11)

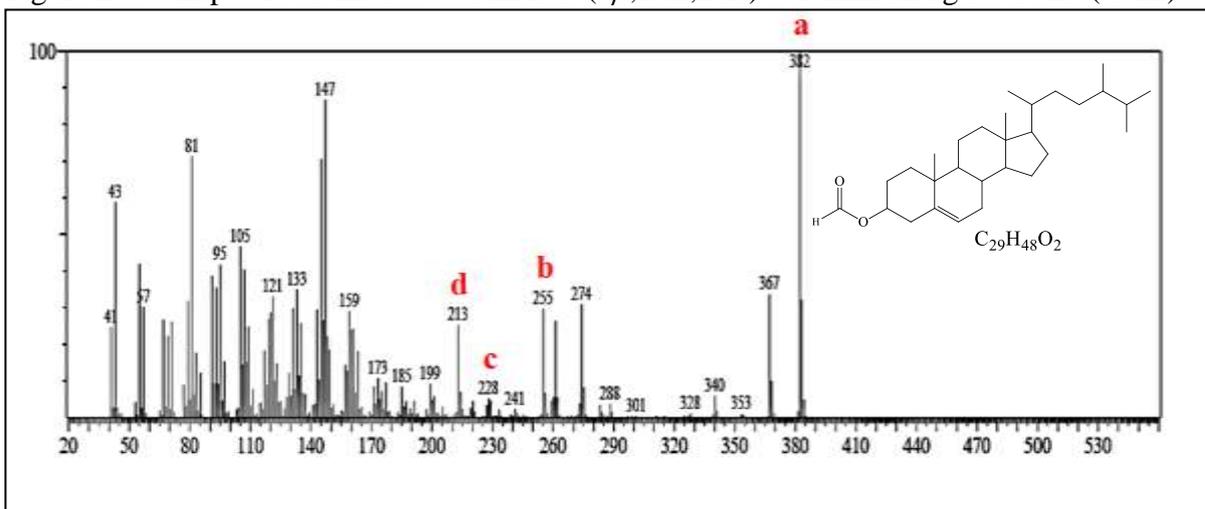


Fonte: o próprio autor.

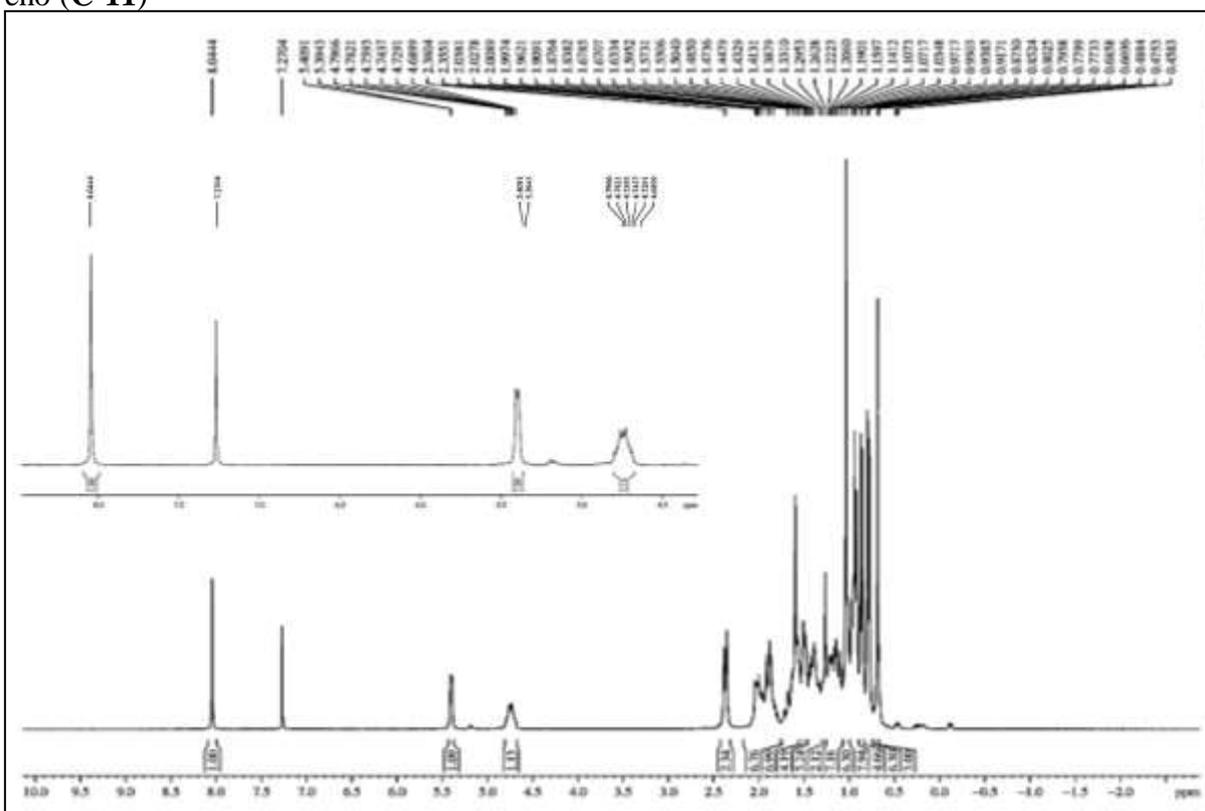
Figura 205 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (C-11)



Fonte: o próprio autor.

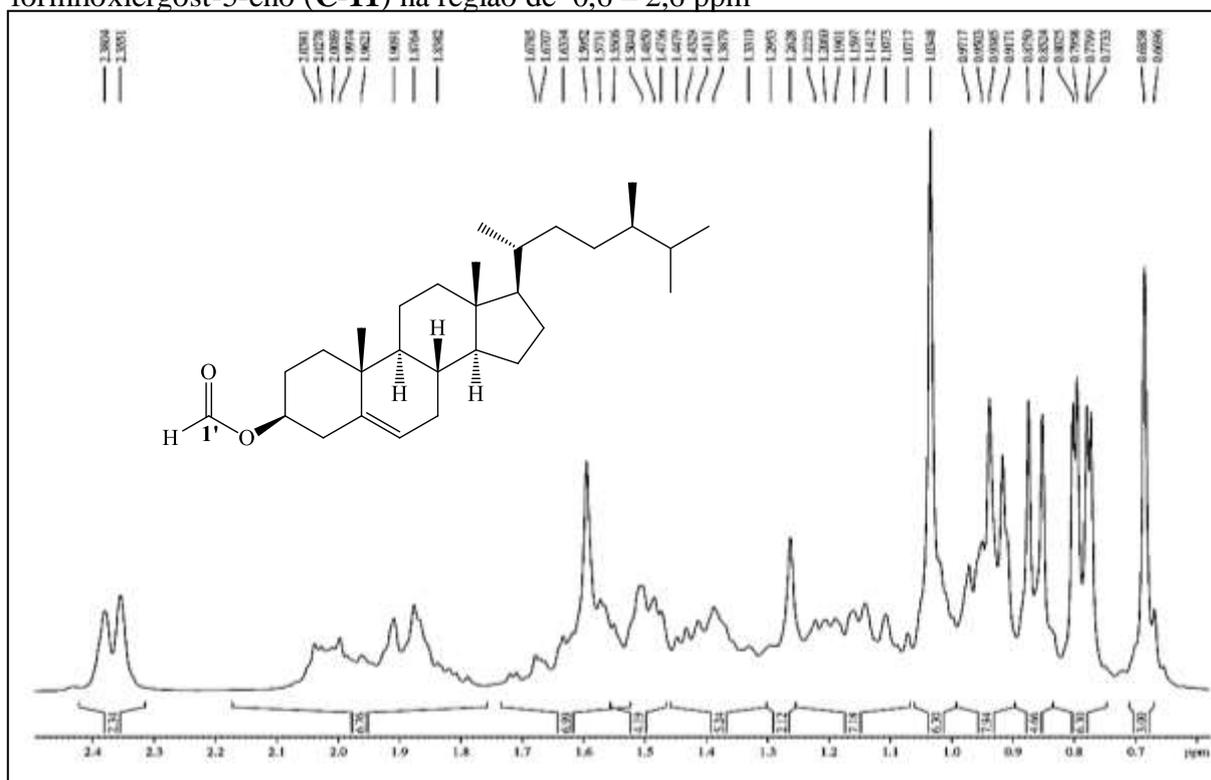
Figura 206 – Espectro de massas CG-EM de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)

Fonte: o próprio autor.

Figura 207 – Espectro de RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) de (3 $\beta$ ,20R,24R)-3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)

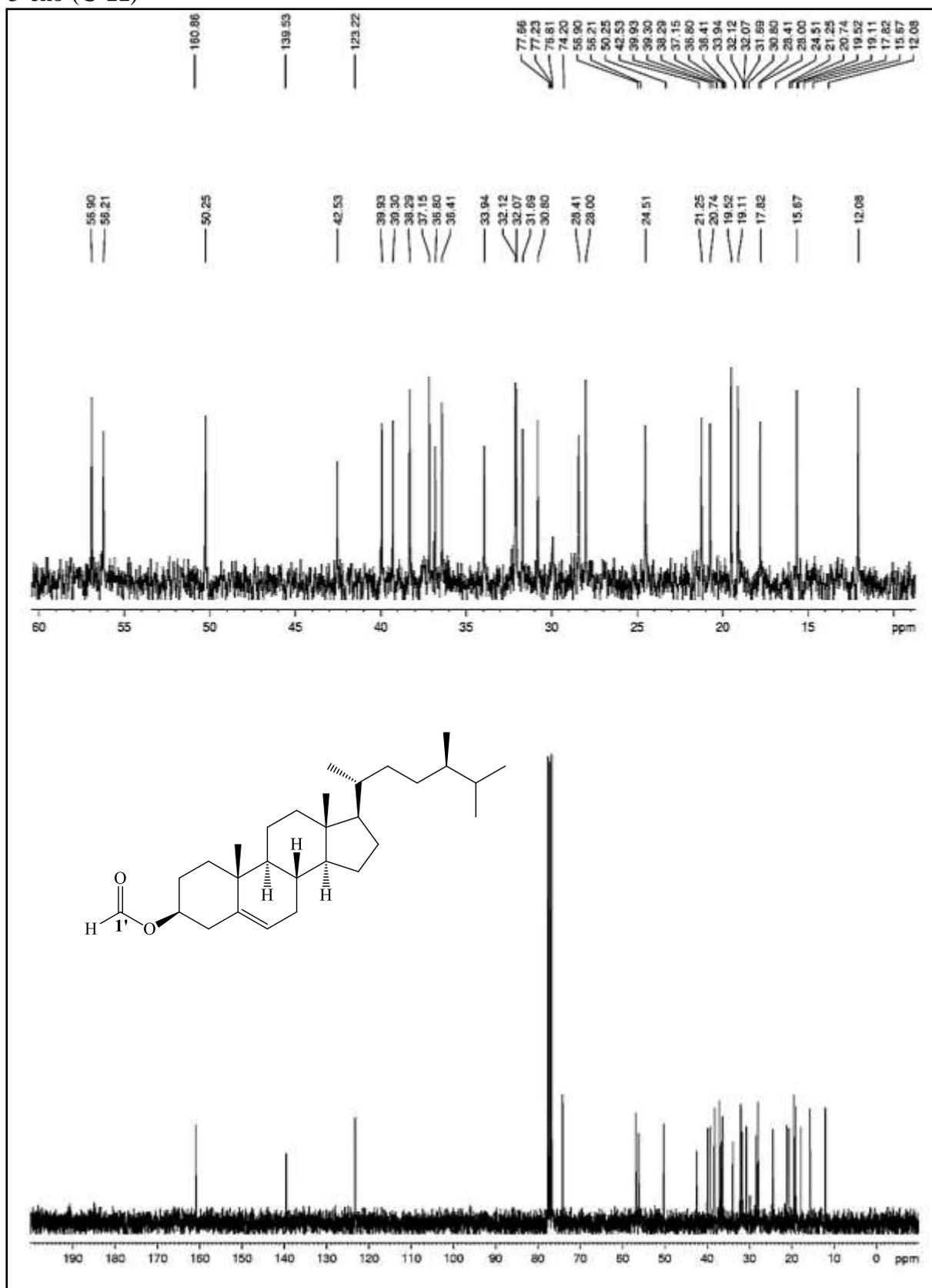
Fonte: o próprio autor.

Figura 208 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)-3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**) na região de 0,6 – 2,6 ppm



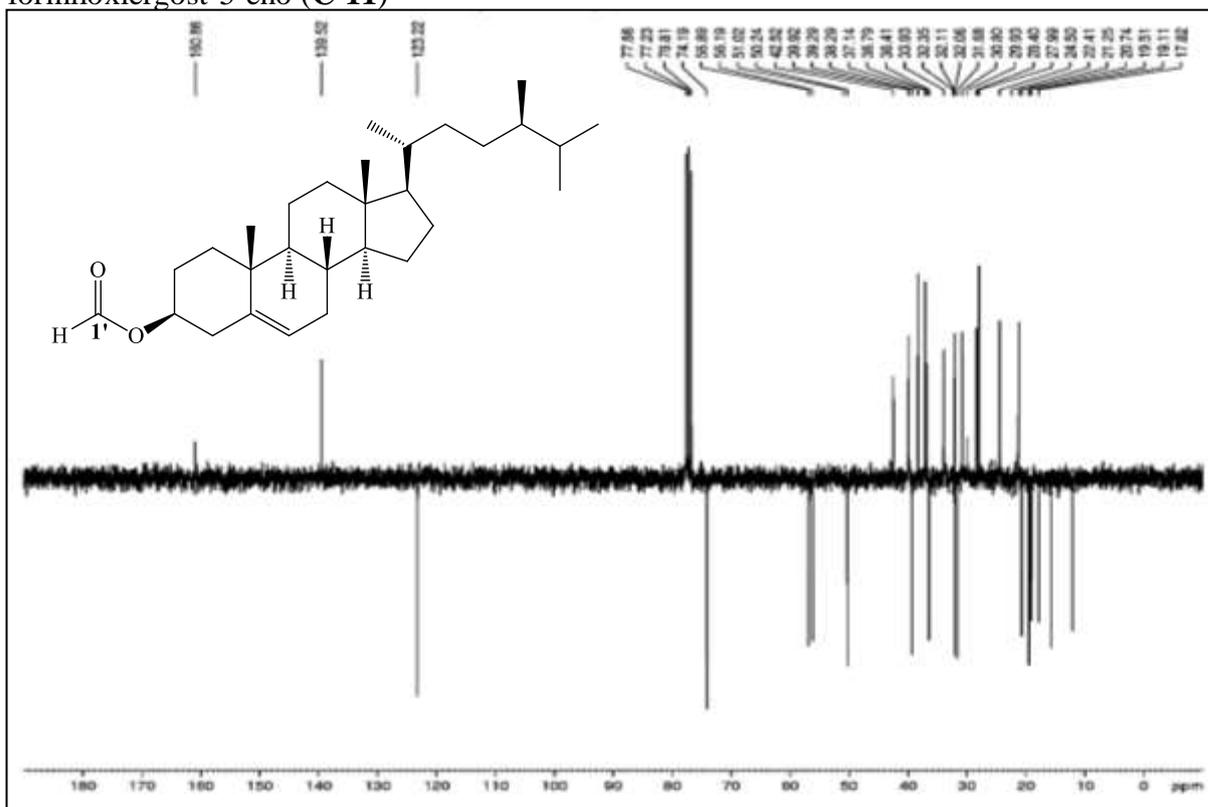
Fonte: o próprio autor.

Figura 209 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)



Fonte: o próprio autor.

Figura 210 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -3-formiloxiergost-5-eno (**C-11**)



Fonte: o próprio autor.

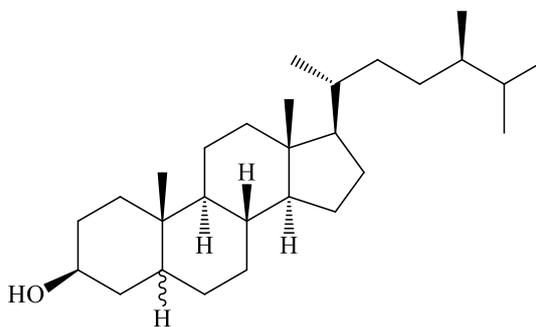
### 6.5.12 Caracterização de $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (**C-12**)

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 212, pág. 246) de **C-12** exibiu uma banda de absorção em torno de  $3397\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de ligação O–H, evidenciando a presença de hidroxila. Adicionalmente, foram observadas bandas em  $1465\text{ cm}^{-1}$  e  $1376\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes à deformação angular simétrica no plano para  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  respectivamente, além de uma absorção em  $1043\text{ cm}^{-1}$  relacionada à deformação axial de ligação  $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{--O}$  (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2007; PAVIA *et al.*, 2010).

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 213, pág. 246) revelou a presença de um multipeto em  $\delta_{\text{H}}$  3,60 (*m*, 1H) referente ao hidrogênio ligado ao carbono oxigenado. Na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,5 a 2,1 ppm, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 214, pág. 247) do derivado **C-12** se mostrou semelhante ao espectro do substrato **C**. Vale ressaltar que o espectro não apresentou sinais na região de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos, confirmando, desta forma, a reação de hidrogenação.

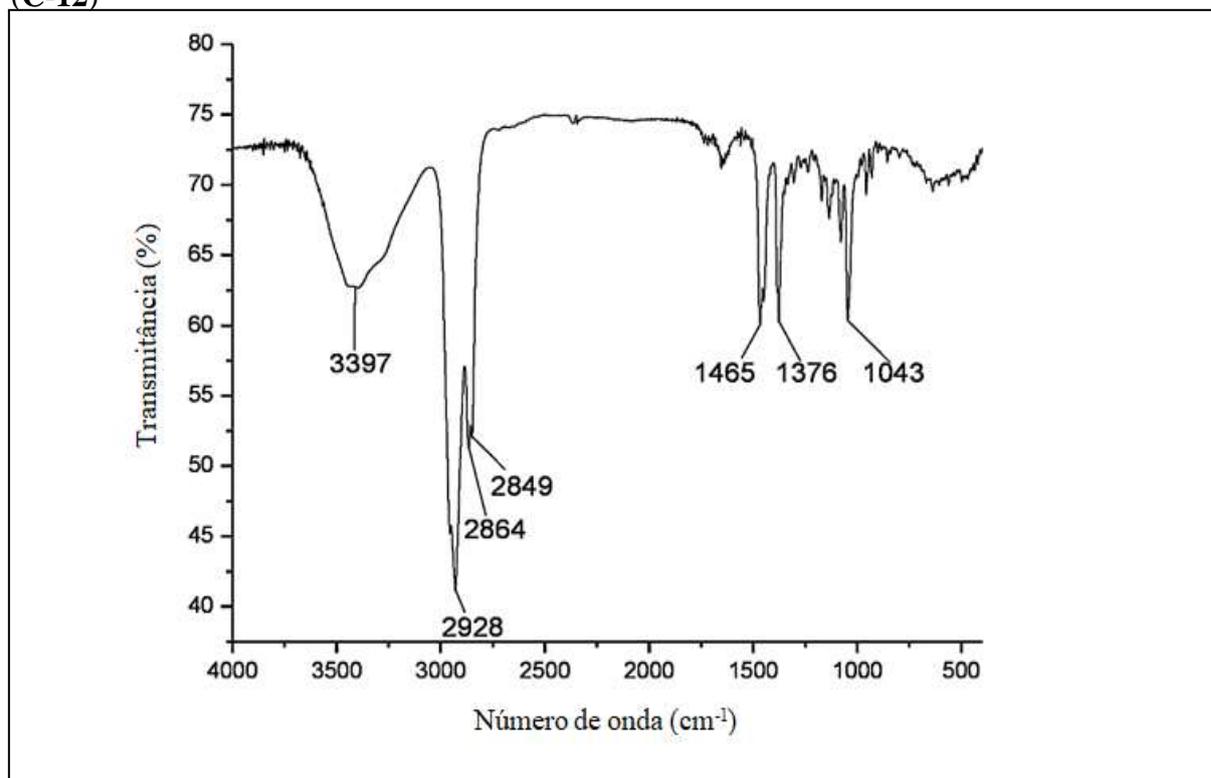
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 215, pág. 248) de **C-12** apresentou como principal diferença em relação ao correspondente espectro do substrato **C**, o deslocamento dos sinais referentes aos carbonos C-5 ( $\delta_c$  54,59) e C-6 ( $\delta_c$  32,31) que apresentam-se mais protegidos em relação aos dos correspondentes sinais no espectro do campesterol (**C**): C-5 ( $\delta_c$  140,97) e C-6 ( $\delta_c$  121,95). A análise comparativa destes dados com o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Fig. 216, pág. 249) possibilitou a atribuição dos sinais dos carbonos do derivado **C-12**. Vale salientar que através dos dados obtidos pela análise do espectro de correlação homonuclear  $\text{H}^1 \times \text{H}^1$  - NOESY não foi possível definir a estereoquímica do hidrogênio H-5 e nem a configuração relativa do átomo de carbono C-5. Na Tabela 13 (pág. 250) são mostrados os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do derivado hidrogenado **C-12**, cuja estrutura encontra-se disposta na Figura 211.

Figura 211 – Estrutura química de (3 $\beta$ ,20*R*,24*R*)- ergostan-3-ol (**C-12**)



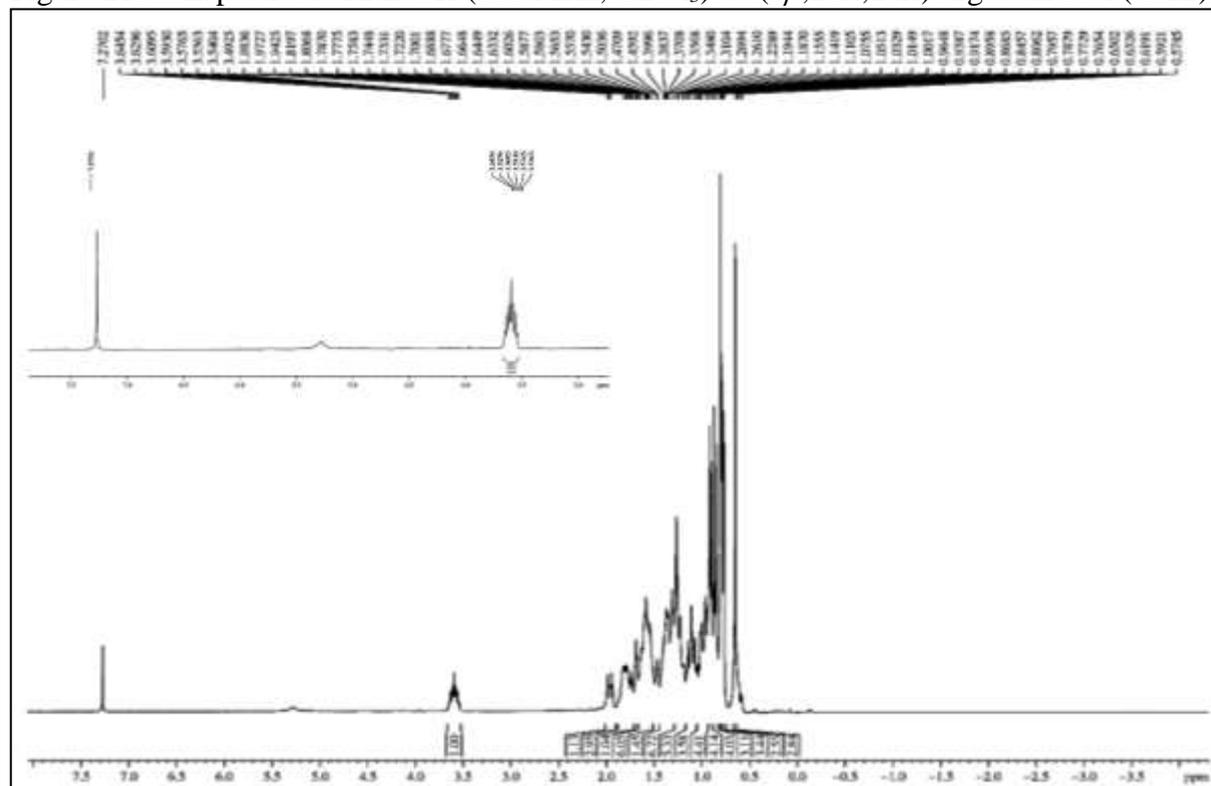
Fonte: o próprio autor.

Figura 212 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de  $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (C-12)



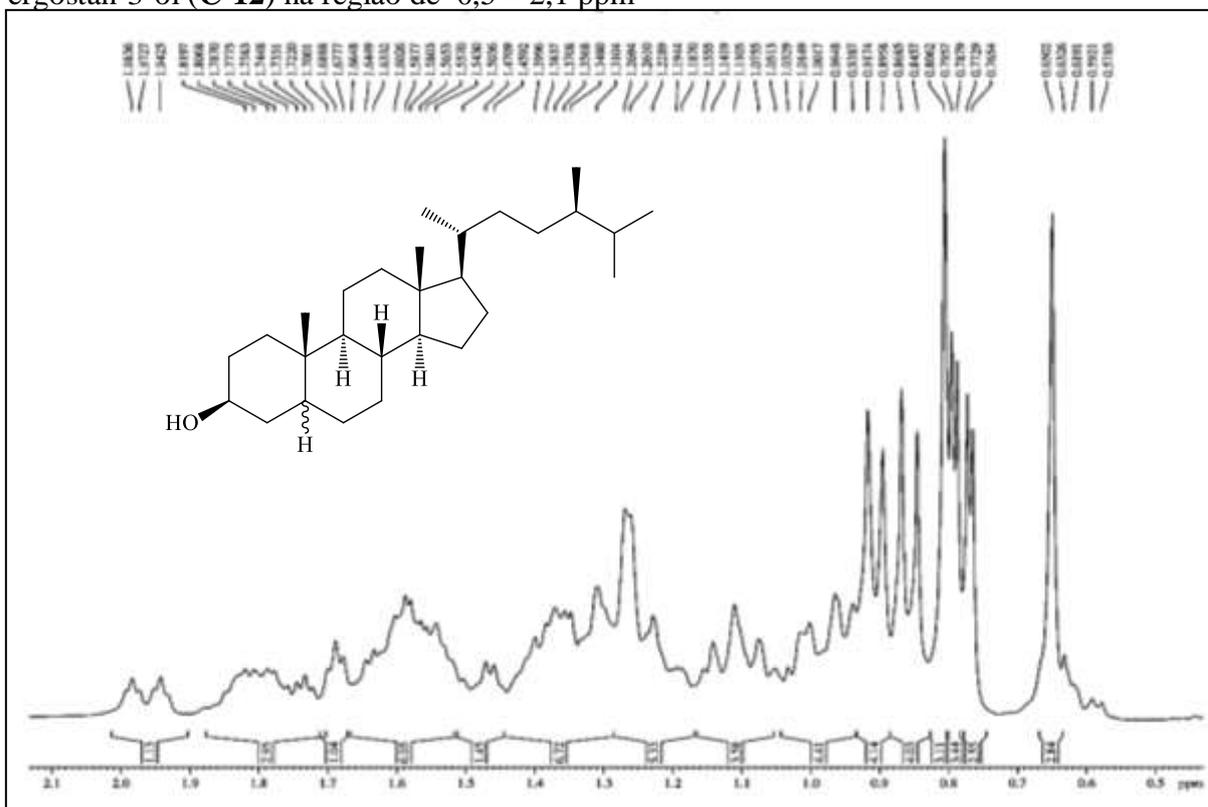
Fonte: o próprio autor.

Figura 213 – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de  $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (C-12)



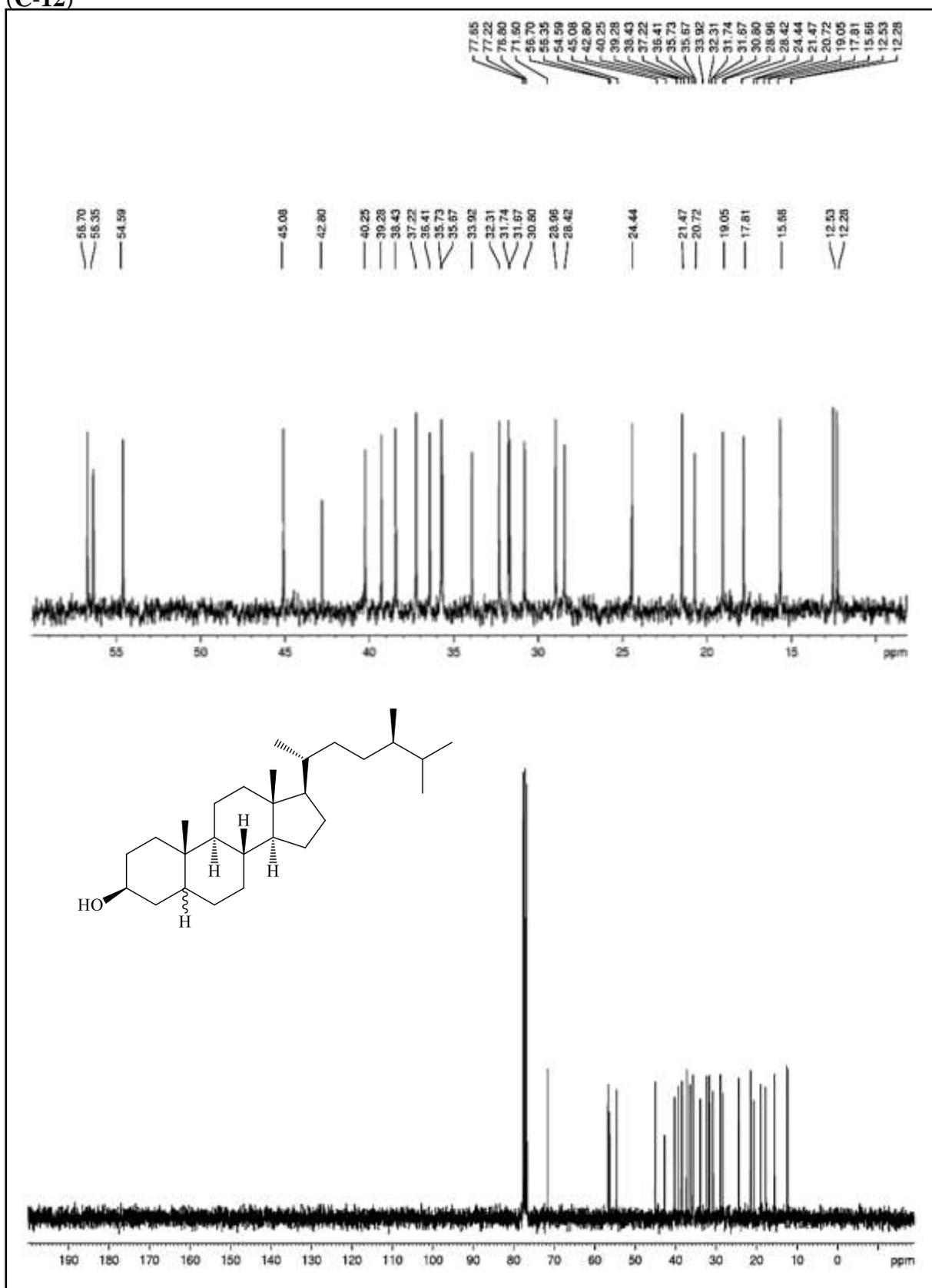
Fonte: o próprio autor.

Figura 214 – Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (**C-12**) na região de 0,5 – 2,1 ppm



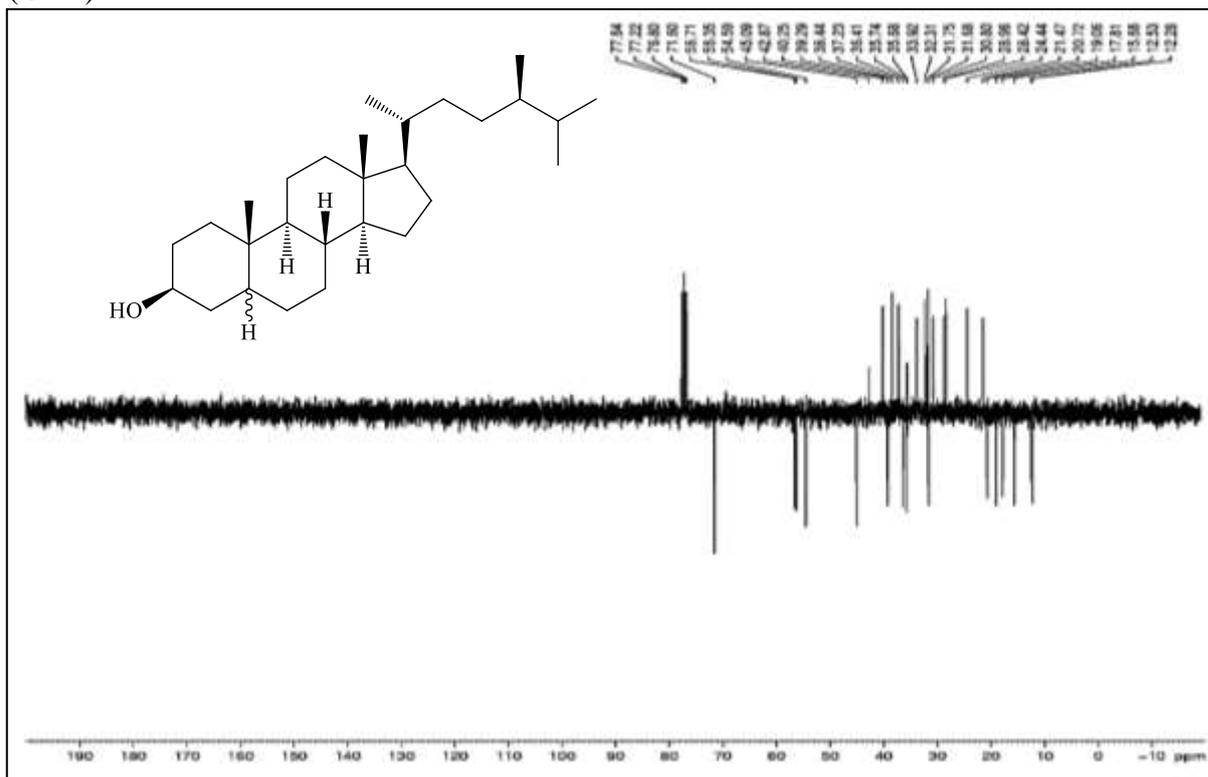
Fonte: o próprio autor.

Figura 215 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (C-12)



Fonte: o próprio autor.

Figura 216 – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $(3\beta,20R,24R)$ -ergostan-3-ol (C-12)



Fonte: o próprio autor.

Tabela 13 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do campesterol (C) e dos derivados C-7, C-8, C-9, C-10, C-11 e C-12

C	Derivados do campesterol						
	Campesterol	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12
1	37,44	37,25	37,25	37,23	37,19	37,14	37,23
2	31,84	28,11	28,09	28,08	28,03	28,40	31,75
3	72,01	74,99	75,15	75,17	70,02	74,19	71,60
4	42,48	38,43	38,41	38,39	38,32	38,29	40,25
5	140,97	139,79	139,76	139,73	139,47	139,52	54,59
6	121,92	123,08	123,12	126,13	123,40	123,22	32,31
7	32,11	32,16	32,16	32,15	32,15	32,11	28,96
8	32,09	32,11	32,12	32,10	32,09	32,06	36,41
9	50,32	50,28	50,29	50,27	50,27	50,24	45,09
10	36,72	36,42	36,88	36,87	36,86	36,41	35,68
11	21,27	21,28	21,29	21,28	21,28	21,25	21,47
12	39,96	39,95	39,96	39,95	39,93	39,92	38,44
13	42,53	42,54	42,55	42,54	42,54	42,52	42,87
14	56,17	56,22	56,23	56,22	56,22	56,19	56,35
15	24,49	24,52	24,52	24,52	24,51	24,50	24,44
16	28,39	28,41	28,41	28,41	28,40	27,99	28,42
17	56,94	56,91	56,92	56,91	56,90	56,89	56,71
18	12,05	12,08	12,09	12,08	12,08	12,08	12,28
19	19,59	19,58	19,58	19,58	19,57	19,51	12,53
20	36,37	36,42	36,42	36,42	36,41	36,41	35,74
21	19,08	19,12	19,13	19,12	19,12	19,11	19,06
22	33,91	33,95	33,96	33,95	33,94	33,93	33,92
23	30,76	30,82	30,83	30,82	30,81	30,80	30,80
24	39,26	39,41	39,32	39,30	39,30	39,29	39,29
25	31,65	31,70	31,71	31,70	31,70	31,68	31,68
26	20,72	20,73	20,73	20,74	20,73	20,74	20,72
27	17,78	17,83	17,84	17,83	17,83	17,82	17,81
28	15,63	15,67	15,68	15,68	15,67	15,67	15,66
1'		165,24	165,34	165,46	164,28	160,86	
2'		127,32	129,54	129,97	136,45		
3'		132,79	131,17	131,81	130,87		
4'		132,20	128,81	131,31	123,66		
5'		164,19	139,36	128,00	150,67		
6'		132,20	128,81	131,31	123,66		
7'		132,79	131,17	131,81	130,87		

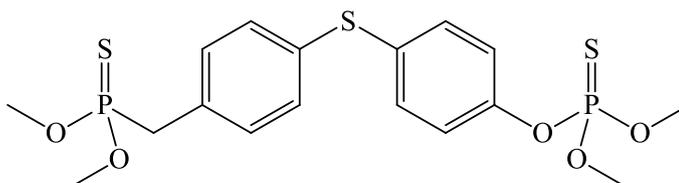
Fonte: o próprio autor.

## 6.6 Ensaios de atividades biológicas

### 6.6.1 Avaliação da atividade larvicida do campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre *Aedes aegypti*

Nos bioensaios com larvas de *Aedes aegypti*, campesterol (C) e os derivados semissintéticos foram testados em diferentes concentrações (500, 250, 100, 50 e 25 µg/mL) e apresentaram valores de CL<sub>50</sub> acima de 100 µg/mL. De acordo com a literatura, amostras que apresentam valores de CL<sub>50</sub> menores que 100 µg/mL são considerados bons agentes larvicidas apenas (CHENG *et al.*, 2003), portanto, os resultados obtidos neste teste não foram satisfatórios. Vale ressaltar que estes bioensaios tiveram como controle positivo, Temephos® (Fig. 217), um inseticida organofosforado que tem valor de CL<sub>50</sub> igual a 1,4 ± 0,20 µg/mL.

Figura 217 – Estrutura química do Temephos®



Fonte: o próprio autor.

### 6.6.2 Avaliação da atividade citotóxica *in vitro* do fucosterol (F), campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre linhagens de células tumorais humanas

Fucosterol (F), campesterol (C) e os derivados (F-1 a F-12; C-1 a C-12) foram avaliados quanto à citotoxicidade sobre as linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal). Utilizou-se o método do MTT, baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. A doxorubicina foi utilizada como controle positivo (MOSSMAN, 1983).

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. De acordo com a variação da inibição de crescimento celular, em concentração única, as amostras foram classificadas da seguinte forma: Sem atividade, com pouca atividade (variação de 1 a 50%), com atividade moderada (variação de 50 a 75%) e

com muita atividade (variação de 75 a 100%) (GALLO *et al.*, 2007). Os valores de  $CI_{50}$  das amostras avaliadas não foram calculados, pois as mesmas apresentaram crescimento de inibição celular inferiores a 75% (Tabela 14).

Tabela 14 – Percentual de inibição em concentração única (25  $\mu\text{g/mL}$ ) do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu desvio padrão da média (SD)

Amostras	Inibição (%)					
	MCF-7	(SD) $\pm$	HCT-116	(SD) $\pm$	HL-60	(SD) $\pm$
<b>Fucoesterol (F)</b>	17,6	1,0	17,5	0,60	30,0	1,0
<b>F-1</b>	0	0	21,8	1,1	23,3	0
<b>F-2</b>	22,0	0,5	0	0	9,0	1,0
<b>F-3</b>	13,2	1,9	13,2	0,3	33,4	0,3
<b>F-4</b>	27,0	0,1	0	0	22,4	0,2
<b>F-5</b>	26,3	0,1	26,8	1,1	19,0	3,9
<b>F-6</b>	0	0	2,79	0,37	0	0
<b>F-7</b>	15,58	1,01	0	0	0	0
<b>F-8</b>	0	0	0	0	0	0
<b>F-9</b>	0	0	4,69	0,36	0	0
<b>F-10</b>	0	0	7,08	0,61	0	0
<b>F-11</b>	0	0	0,62	0	0	0
<b>F-12</b>	0	0	2,76	0,20	0	0
<b>Campesterol (C)</b>	14,7	1,5	0	0	18,0	0,3
<b>C-1</b>	32,3	0,2	0	0	5,0	0
<b>C-2</b>	0	0	4,15	0,3	0	0
<b>C-3</b>	6,29	0,74	0	0	0	0
<b>C-4</b>	17,07	2,71	0,66	0,19	0	0
<b>C-5</b>	21,19	0,63	17,64	2,15	0,27	0,06
<b>C-6</b>	0	0	3,25	0,40	0	0
<b>C-7</b>	1,04	0,18	14,73	0,27	0	0
<b>C-8</b>	22,80	2,47	11,05	2,52	0	0
<b>C-9</b>	23,66	2,10	8,87	3,97	0	0
<b>C-10</b>	7,01	0,69	29,7	2,11	0	0
<b>C-11</b>	0	0	0,57	0	0	0
<b>C-12</b>	0	0	14,34	0,98	0	0
<b>Doxorrubicina* (1mg/mL)</b>	55,36	1,76	84,49	10,22	80,68	12,98

Fonte: o próprio autor.

\*Controle positivo

Embora fucosterol (**F**) e seus derivados não tenham apresentado atividade citotóxica sobre as linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal). Existem relatos na literatura sobre a atividade citotóxica do fucosterol (**F**) sobre outras linhagens de células cancerígenas, dentre elas podem ser destacadas as linhagens celulares T47D (carcinoma ductal de mama) e HT29 (carcinoma do cólon) com valores de  $CI_{50}$  iguais a  $27,94 \pm 9,3 \mu\text{g/ml}$  e  $70,41 \pm 7,5 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente (KHANAVI *et al.*, 2012). Estudos relatados por Tang *et al.* (2002) também revelaram o efeito citotóxico significativo do fucosterol (**F**) sobre linhagem de célula P-388 (leucemia linfocítica em ratos) com  $CI_{50}$  de  $0,7 \mu\text{g/mL}$ .

Sheu *et al.* (1999) relataram a atividade citotóxica de três derivados naturais do fucosterol (**F**) sobre linhagens de células cancerígenas KB (leucemia), P-388 (leucemia linfocítica), A-549 (adenocarcinoma do pulmão humano) e HT-29 (carcinoma do cólon). O estudo revelou que os derivados 24-hidroperóxido-24-etilcolesta-4,28(29)-dieno-3,6-diona e 6 $\beta$ -hidroperóxido-24-etilcolesta-4,24(28)-dien-3-ona exibiram atividade significativa contra o crescimento de células cancerígenas P-388, A-549, HT-29 e citotoxicidade moderada em relação a células KB. Vale ressaltar que dentre os três derivados avaliados, 24-hidroperóxido-6 $\beta$ -hidroxi-24-etilcolesta-4,28(29)-dien-3-ona foi o único que apresentou citotoxicidade significativa para as quatro linhagens de células (P-388, KB, A-549 e HT-29) (SHEU *et al.*, 1999).

O derivado natural do fucosterol que merece destaque é o 24-etilcolesta-4,24(28)-dieno-3,6-diona que apresenta uma dicetona conjugada em sua estrutura. Esse derivado inibiu o crescimento da linhagem celular de cancro do cólon humano (HCT-116) com  $IC_{50}$  de  $48,6 \pm 8,2 \mu\text{M}$ , apresentando efeitos citotóxicos superiores a doxorrubicina, um fármaco citotóxico bastante conhecido (LEE *et al.*, 2011). Adicionalmente, estudos anteriores revelaram a atividade citotóxica significativa desse mesmo composto sobre células HT29 (Carcinoma do cólon) e A-594 (adenocarcinoma do pulmão humano) (SHEU *et al.*, 1999).

Sheu *et al.* (1999) também avaliaram a atividade citotóxica de um derivado natural do fucosterol (**F**), denominado 24-etilcolesta-4,24(28)-dien-3-ona que apresenta apenas um grupamento cetona em sua estrutura. Este estudo revelou que esse derivado foi inativo sobre quatro linhagens de células de câncer (P-388, KB, A-549 e HT-29). De acordo com LEE *et al.* (2011) a parte conjugada da dicetona do composto 24-etil-4,24(28)-dien-3,6-diona poderia ser o grupo farmacofórico da molécula; uma hipótese que é apoiada pela literatura (OHTSU *et al.*, 2002).

Apesar do campesterol (**C**) e de seus derivados semissintéticos não terem apresentarem atividade citotóxica sobre as linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal), estudos recentes mostraram que o campesterol exibiu um efeito citotóxico significativo sobre células HCT-116, com valores de IC<sub>50</sub> de 45,5, 32,2 e 22,4 µM a intervalos de tempo de 24, 48 e 72 h (ZHU *et al.*, 2016).

Uma fração contendo um derivado natural do campesterol (**C**) (23*R*)-2α,3β,23,28-tetra-hidroxi-14,15-de-hidrocampesterol foi ativa contra linhagens de células cancerígenas HeLa (carcinoma cervical), HCT-15 (adenocarcinoma de cólon), OVCAR (carcinoma de ovário) e KB (carcinoma da laringe), com valores de IC<sub>50</sub> iguais a 0,00089 µg/mL, 5,39 µg/mL, 3,32 µg/mL e 3,069 µg/mL, respectivamente. Vale ressaltar que o (23*R*)-2α,3β,23,28-tetra-hidroxi-14,15-de-hidrocampesterol é o principal componente na fração (85%) e provavelmente o responsável pela atividade citotóxica exibida (MORENO-ANZÚREZ *et al.*, 2017).

### **6.6.3 Avaliação da atividade antibacteriana do fucosterol (F), campesterol (C) e dos seus derivados semissintéticos sobre linhagens de bactérias Gram (-) e Gram (+)**

A atividade antibacteriana do campesterol (**C**), fucosterol (**F**) e dos derivados semissintéticos foi avaliada através do método de microdiluição. Nos ensaios foram utilizadas três linhagens de bactérias Gram (-) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e duas Gram (+) *Streptococcus mutans* (ATCC 0046) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e os valores da concentração inibitória mínima (CIM) estão mostrados na Tabela 15 (pág. 255).

Tabela 15 – Concentração inibitória mínima (CIM) do fucosterol (F), campesterol (C) e dos derivados semissintéticos

Amostras	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	<i>S. aureus</i> (12624)	<i>S. mutans</i> (00446)	<i>E. coli</i> (25922)	<i>P. aeruginosa</i> (15442)	<i>K. pneumoniae</i> (10031)
<b>Fucosterol (F)</b>	512	512	128	512	512
<b>F-1</b>	512	256	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>F-2</b>	$\geq 1024$	512	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>F-3</b>	512	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>F-4</b>	512	512	512	512	512
<b>F-5</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	512	$\geq 1024$	512
<b>F-6</b>	$\geq 1024$	512	$\geq 1024$	128	$\geq 1024$
<b>F-7</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	512	512	256
<b>F-8</b>	$\geq 1024$	256	256	256	$\geq 1024$
<b>F-9</b>	512	$\geq 1024$	512	512	512
<b>F-10</b>	512	$\geq 1024$	512	512	512
<b>F-11</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>F-12</b>	512	512	512	128	512
<b>Campesterol (C)</b>	512	512	512	512	512
<b>C-1</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$	512
<b>C-2</b>	512	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>C-3</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	512	512	256
<b>C-4</b>	512	$\geq 1024$	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>C-5</b>	128	$\geq 1024$	128	256	256
<b>C-6</b>	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$	512	512
<b>C-7</b>	512	256	512	512	512
<b>C-8</b>	$\geq 1024$	512	$\geq 1024$	$\geq 1024$	$\geq 1024$
<b>C-9</b>	256	256	512	512	512
<b>C-10</b>	256	256	512	$\geq 1024$	512
<b>C-11</b>	$\geq 1024$	512	512	512	512
<b>C-12</b>	$\geq 1024$	256	512	256	$\geq 1024$

Fonte: o próprio autor.

Todas as amostras avaliadas com exceção do derivado **F-11**, apresentaram atividade antibacteriana ou frente a bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *S. mutans*) ou Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*) ou frente aos dois tipos celulares (*S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*). Algumas amostras foram mais efetivas na concentração de 128  $\mu\text{g/mL}$  e outras em concentração maior (512  $\mu\text{g/mL}$ ). Vale ressaltar que os resultados com valores de CIM  $\leq 512$   $\mu\text{g/mL}$  podem considerados

cl clinicamente relevantes por apresentarem capacidade de inibir a multiplicação das bactérias em concentrações de baixa toxicidade (SALVAT *et al.*, 2004; DUSSAULT *et al.*, 2016).

Dentre os derivados do fucosterol (**F**), o composto que apresentou o melhor resultado foi o (3 $\beta$ ,20R)-estigmastan-3-ol (**F-12**), inibindo o crescimento de *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli* e *K. pneumoniae* na concentração de 512  $\mu$ g/mL, enquanto que na concentração de 128  $\mu$ g/mL foi eficaz contra *P. aeruginosa*, uma bactéria Gram-negativa. Esse aumento da atividade antibacteriana pode ser atribuído à ausência das ligações duplas nos carbonos C-5 e C-24(28). Por outro lado, o derivado (3 $\beta$ ,20R,24E)-3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**) não exibiu atividade frente as bactérias testadas.

Com relação a *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa, o fucosterol (**F**) foi capaz de inibir seu crescimento, na concentração mais baixa de 128  $\mu$ g/mL. Por outro lado, sobre as demais baterias *S. aureus*, *S. mutans*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* essa inibição de crescimento foi em uma concentração maior de 512  $\mu$ g/mL. Kumar *et al.* (2010) também avaliaram o potencial antibacteriano do fucosterol (**F**) sobre bactérias Gram negativas *S. aureus*, *E. coli* e Gram positivas *P. aeruginosa* e observaram que este composto apresentou atividade antibacteriana moderada.

Campesterol (**C**) apresentou atividade contra as bactérias testadas, *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* apenas na concentração de 512  $\mu$ g/mL. Na literatura não há relatos da atividade antibacteriana do campesterol (**C**), no entanto, estudos realizados por Khatri *et al.* (2016) relataram a atividade antibacteriana de um extrato das folhas de *Brumea lacera* que continha o campesterol (**C**) como constituinte. Vale ressaltar que esse extrato exibiu atividade contra bactérias Gram negativas (*Salmonella enterica* e *Serratia marcescens*) com CIM de 390,62  $\mu$ g/mL. Deste modo essa atividade antibacteriana desse extrato pode ser atribuída ao campesterol (**C**).

Dos dozes derivados do campesterol (**C**) avaliados, apenas dois apresentaram moderada atividade antibacteriana: o (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-fluorobenzoxi ergost-5-eno (**C-7**) e (3 $\beta$ ,20R,24R)-(3)-4-bromobenzoxi ergost-5-eno (**C-9**). O derivado **C-7**, na concentração de 256  $\mu$ g/mL, mostrou atividade contra *S. mutans*, uma bactéria Gram-positiva, e na concentração de 512  $\mu$ g/mL exibiu também atividade contra outra bactéria Gram-positiva (*S. aureus*) e três bactérias Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginos* e *K. pneumoniae*). Já o derivado **C-9** foi ativo contra as bactérias Gram-positivas *S. aureus* e *S. mutans* na concentração de 256  $\mu$ g/mL, porém o mesmo derivado apresentou inibição contra as bactérias-negativas *K. pneumoniae*, *E. coli* e *P. aeruginosa* em uma concentração de 512  $\mu$ g/mL.

## 7 CONCLUSÃO

As reações de acilação do fucosterol (**F**) e campesterol (**C**), utilizando anidridos de ácidos carboxílicos, ácidos benzoicos *p*-substituídos, ácido fórmico, cloreto de palmitoíla e hidrogenação catalítica, foram realizadas com sucesso gerando um total de vinte quatro derivados, sendo doze de cada esteroide. Ressalta-se que os derivados do fucosterol (**F**) ( $(3\beta,20R,24E)$ -3-hexanoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-3**), ( $(3\beta,20R,24E)$ -3-succinoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-5**), ( $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-fluorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-7**), ( $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-clorobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-8**), ( $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-bromobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-9**), ( $(3\beta,20R,24E)$ -(3)-4-nitrobenzoxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-10**) e ( $(3\beta,20R,24E)$ -3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**), assim como os derivados do campesterol (**C**) ( $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxi ergost-5-eno (**C-7**), ( $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-clorobenzoxi ergost-5-eno (**C-8**), ( $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoxi ergost-5-eno (**C-9**) e ( $(3\beta,20R,24R)$ -3-formiloxi ergost-5-eno (**C-11**) estão sendo descritos pela primeira vez na literatura. As metodologias de semissíntese e purificação utilizada mostraram-se eficientes, uma vez que os derivados foram obtidos em bons rendimentos.

A atividade antibacteriana dos derivados foi avaliada e com exceção do derivado ( $(3\beta,20R,24E)$ -3-formiloxiestigmasta-5,24(28)-dieno (**F-11**), todos exibiram atividade, porém os melhores resultados foram para os derivados ( $(3\beta,20R)$ -estigmastan-3-ol (**F-12**), ( $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-bromobenzoxi ergost-5-eno (**C-9**) e ( $(3\beta,20R,24R)$ -(3)-4-fluorobenzoxi ergost-5-eno (**C-7**).

Nos bioensaios com larvas de *Aedes aegypti*, campesterol (**C**) e os derivados semissintéticos foram testados, mas nenhuma amostra apresentou resultado satisfatório.

Os ensaios de citotoxicidade sobre as linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (carcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT-116 (câncer colorretal), através do método MTT, revelaram que as amostras testadas não apresentaram inibição significativa. No entanto, há relatos na literatura da atividade citotóxica dos esteroides fucosterol (**F**), campesterol (**C**) e alguns dos seus derivados sobre linhagens de células cancerígenas HT29, A-549 e KB. Desta forma, faz-se necessário a avaliação de tal atividade contra outros tipos de linhagens de células cancerígenas para determinar o real potencial citotóxico destes derivados.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL, Q. A.; CHOI, R. J.; JUNG, H. A.; CHOIA, J. S. Health benefit of fucosterol from marine algae: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Busan, South Korea, v. 96, p. 1856-1866, 2016.
- ACOSTA, A. Disease in Zoanthids: dynamics in space and time. **Hydrobiologia**, Bogotá, Colombia, v. 460, p. 113-130, 2001.
- AL-ENAZI, N. M.; AWAAD, A. S.; ZAIN, M. E.; ALQASOUMI, S. I. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia Catarinenses*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. **Saudi Pharmaceutical Journal**. Riyadh, Saudi Arabia, v. 26, p. 44-52, 2018.
- ALI, S. I.; GOPALAKRISHNAN, B.; VENKATESALU, V. Chicory (*Cichorium intybus*) and wormwood (*Artemisia absinthium*) extracts exhibit strong larvicidal activity against mosquito vectors of malaria, dengue fever, and filariasis. **Parasitology International**. Tamil Nadu, India, v. 67, p. 781-786, 2018.
- AMARAL, F. M. D.; RAMOS, C. A. C.; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, R. K.P, LIMA, K. K. M.; LONGO, L. L.; CORDEIRO, R. T. S.; LIRA, S. M. A.; VASCONCELOS, S. L. Checklist and morphometry of benthic cnidarians from the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **Cahiers de Biologie Marine**. Recife, Brazil, v. 50, p. 277-290, 2009.
- ATTA-UR-RAHMA; CHOUDHARY, M. I.; MAJEED, A.; SHABBIR, M.; GHANI, U.; SHAMEEL, M. A succinylanthranilic acid éster and other bioactive constituents of *Jolyana laminarioides*. **Phytochemistry**. Karachi, Pakistan, v. 46, p. 1215-1218, 1997.
- ÁVILA, F. N.; PINTO, F. C. L.; CARNEIRO, P. B. M.; FERREIRA, K. Q.; WILKE, D. V.; NOGUEIRA, N. A. P.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. New antiproliferative polyunsaturated epoxy-heneicosane derivatives isolated from the brown alga *Lobophora variegata*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. Fortaleza, Brazil, v. 30, p. 406-412, 2019.
- AWAD, A. B.; FINK, C. S. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. **Journal of Nutrition**, New York, USA, v. 130, p. 2127-2130. 2000.
- BAJPAI, V. K. Antimicrobial bioactive compounds from marine algae: A mini review **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**. Gyeongbuk, South Korea, v. 45, p. 1076-1085, 2016.
- BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; BORGES, E. E. L. Síntese e avaliação da atividade fitotóxica de lactonas derivadas do 2,4-dimetil-8oxabicyclo[3.2.1]-oct-6-en-3-ona. **Química Nova**. Viçosa, Brasil, v. 25, p. 203-208, 2002.
- BARROS, F. W.A.; BANDEIRA, P. N.; LIMA, D. J. D.; MEIRA, A. S.; FARIAS, S. S.; ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; SANTOS, H. S.; LEMOS, T. L.G.; MORAIS, M. O.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C. Ó. Amyrin esters induce cell death by apoptosis in

HL-60 leucemia cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. Fortaleza, Brazil, v. 19, p. 1268-1276, 2011.

BARROW, S. E.; MCMORRIS, C. T. Studies on the biosynthesis of the oogoniols. **Lipids**. San Diego, USA, v. 17, p. 383-389, 1982.

BENSEMHOUN, J.; BOMBARDA, I.; AKNIN, M.; FAURE, R.; GAYDOU, E.M.  $5\alpha,8\alpha$ -Epidioxysterols from the tunicate *Didemnum salary*. **Biochemical Systematics and Ecology**. Marseille, France, v. 36, p. 942-944, 2009.

BERGSTRÖM, S.; WINTERSTEINER, O. Autoxidation of sterols in colloidal aqueous solution: The influence of esterification and of constitutional factors. **Journal of Biological Chemistry**. New Brunswick, Canada, v. 145, p. 327-333, 1942.

BERLINGUER, G. Globalização e saúde global. **Estudos Avançados**. La Sapienza, Roma v. 13, p. 21-38, 1999.

BEZERRA-SILVA, P. C.; SANTOS, J. C.; SANTOS, G. K. N.; DUTRA, K. A.; SANTANA, A. L. B. D.; MARANHÃO, C. A.; NASCIMENTO, M. S.; NAVARRO, D. M. A. F.; Bieber, L. W. Extract of *Bowdichia virgiloides* and maackiain as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. **Experimental Parasitology**. Recife, Brazil, v. 153, p. 160-164, 2015.

BIANCO, E. M.; KRUG, J. L.; ZIMATH, P. L.; KROGER, A.; PAGANELLI, C. J.; BOEDER, A. M.; SANTOS, L.; TENFEN, A.; RIBEIRO, S. M.; KUROSHIMA, K. N.; ALBERTON, M. D.; CORDOVA, C. M. M.; REBELO, R. A. Antimicrobial (including antimolluscites), antioxidant and anticholinesterase activities of Brazilian and Spanish marine organisms – evaluation of extracts and pure compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, Brazil, v. 25, p. 668-676, 2015.

BOSCOLO, H. K.; SILVEIRA, F. L. Reproductive biology of *Palythoa caribaeorum* and *Protospalythoa variabilis* (Cnidaria, Anthozoa, Zoanthidea) from the southeastern coast of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, Brazil, v. 65, p. 29-41, 2005.

BOUZON, J.; BRANDINI, F.; ROCHA, R. Biodiversity of sessile fauna on rocky shores of coastal islands in Santa Catarina, Southern Brazil. **Marine Science**, Curitiba, Brazil, v. 2, p. 39-47, 2012.

BROCKSOM, T. J.; DESIDERÁ, A. L.; ALVES, L. C.; OLIVEIRA, K. T. The new directions of organic synthesis. **Current Organic Synthesis**. São Carlos, Brazil, v. 12, p. 496-522, 2015.

BRUMLEY, W.C.; SHEPPARD, A. J.; RUDOLF, T. S.; SHEN, C. S.; YASAEI, P.; SPHON, J. A. Mass spectrometry and identification of sterols in vegetable oils as butyryl esters and relative quantitation by gas chromatography with flame ionization detection. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**. Las Vegas, USA, v. 68, p. 701-709, 1985.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms**. 5 ed. 1321 p. Charlottesville: Springer Science & Business Media, 2007.

CHAKRABORTY, K.; JOY, M.; SALAS, S. First report of a lactonic disecosteroid from the buccinid gastropod *Babylonia spirata*. **Steroids**. Cochin, India, v. 143, p. 41-48, 2019.

CHANG, K.-C.; DUH, C.-Y.; CHEN, I.-S.; TSAI, I.-L. A cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivative formosan *Casearia membranacea*. **Planta Medica**. Kaohsiung, Taiwan, v. 69, p. 667-672, 2003.

CHENG, S.S.; CHANG, H.T.; CHANG, S.T.; TSAI, K.H.; CHEN, W.J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**. Taipei, Taiwan, v. 89, p. 99-102, 2003.

CHEN, Z.; LIU, J.; FU, Z.; YE, C.; ZHANG, R.; SONG, Y.; ZHANG, Y.; LI, H.; YING, H.; LIU, H. 24(S)-Saringosterol from edible marine seaweed *Sargassum fusiforme* is a novel selective LXR $\beta$  agonist. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Qingdao, China, v. 62, p. 6130-6137, 2014.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic Chemistry**. 2<sup>a</sup> ed. 1264 p. Editora: Oxford University Press, USA, 2012.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

COFFEY, D. H.; HEILBRON, I. M.; SPRING, F. S. Studies in the sterol group. Part XXIII. The location of the ethenoid linkage of  $\alpha$ -dihydrofucosterol and the identity of sitostanol, fucostanol, stigmastanol, and ostreastanol, **Journal of the Chemical Society**. Manchester, England, v. 0, p. 738-741, 1936.

COIMBRA, C. S. **Inferências filogenéticas a ordem Fucales (Phaeophyceae), com ênfase no gênero *Sargassum***. Tese (doutorado), Departamento de Botânica, Instituto de Biociências- Universidade de São Paulo, p. 75, 2006.

CONFORTI, F.; SOSA, S.; MARRELLI, M.; MENICHINI, F.; STATTI, G. A.; UZUNOV D.; TUBARO, A.; MENICHINI F. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: the role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. **Food Chemistry**. Rende, Italy, v. 112, p. 587-594, 2009.

COSTA, Z. G. A.; ROMANO, A. P. M.; ELKHOURY, A. N. M.; FLANNERY, B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. Brasília, Brasil, v. 2, p. 11-26, 2011.

DA SILVA, G. N. S.; TRINDADE, F. T. T.; DOS SANTOS, F.; GOSMANN, G.; SILVA, A. A.; GNOATTO, S. C. B. Larvicidal activity of natural and modified triterpenoids against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**. Rio Grande do Sul, Brazil, v. 72, p. 1883-1887, 2016.

- DAYUTI, S. Antibacterial activity of red algae (*Gracilaria verrucosa*) extract against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. Malang, Indonesia, v. 137, p. 1-5, 2018.
- DE SOUSA, K. C. **Atividades antioxidante, antimicrobiana, antibiofilme e citotóxica de extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca)–Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- DE SOUSA, L. M.; DE CARVALHO, J. L.; GOIS, R. W. S.; DA SILVA, H. C.; SANTIAGO, G. M. P.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ALVES, P. B.; DE MATOS, I. L.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, P. B. N.; DA SILVA, T. G. Chemical composition, larvicidal and cytotoxic activities of the essential oils from two *Bauhinia* species. **Records of Natural Products**. Fortaleza, Brazil, v. 10, p. 341-348, 2016.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**, John Wiley & Sons Ltd, 3<sup>a</sup> ed., 539 p. 2009.
- DIOP, M.; LEUNG-TACK, D.; BRAEKMAN, J. C.; KORNPROBST, J. M. Composition en strols de quatre zoanthaires du genre *Palythoa* de la presqu-île du Cap-Vert. **Biochemical Systematics and Ecology**. Dakar, Sénégal, v. 14, p. 151-154, 1986.
- DUSSAULT, D.; VU, K. D.; VANSACH, T.; HORGEN, F. D.; LACROIX, M. Antimicrobial effects of marine algal extracts and cyanobacterial pure compounds against five foodborne pathogens. **Food Chemistry**. Boca Raton, USA, v. 199, p. 114-118, 2016.
- FADLALLAH, Y. H.; KARLSON, R. H.; SEBENS, K. P. Comparative study of sexual reproduction in three species of Panamanian zoanthids (Coelenterata: Anthozoa). **Bulletin of Marine Science**, Miami, USA, v. 35, p. 80-89, 1984.
- FERNHOLZ, E.; MACPHILLAMY, H. B. Isolation of a new phytosterol: campesterol. **Journal of the American Chemical Society**. New Brunswick, Canada, v. 63, p. 1155-1156, 1941.
- FUJIMOTO, Y.; MORISAKI, M.; IKEKAWA, N. Stereochemical importance of fucosterol epoxide in the conversion of sitosterol into cholesterol in the silkworm *Bombyx mori*. **Biochemistry**. Yokohama, Japan, v. 19, p. 1065-1069, 1980.
- GACHUMI, G.; EL-ANEED, A. Mass spectrometric approaches for the analysis of phytosterols in biological samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Saskatchewan, Canada, v. 65, p. 10141-10156, 2007.
- GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**. Rio de Janeiro, Brazil, v. 37, p. 29-36, 1985.
- GALLO, M. B. C.; PUPO, M. T.; BASTOS, J. K. NUNES, A. S.; CAVALCANTI, B. C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; Ó PESSOA, C. Atividade citotóxica de extratos de fungos endofíticos isolados de *Smilax sonchifolius*. **Revista Brasileira de Biociências**. São Paulo, Brasil, v. 5, p. 402-404, 2007.

GALLOWAY, W. R. J. D.; ISIDRO-LLOBET, A.; SPRING, D. R.; Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. **Nature Communications**. Cambridge, England, v. 1, p. 1-13, 2010.

GAWRONSKI, J. K.; REDDY, M.; WALBORSKY, H. M. Exciton effects in chiral planar 1,3-dienes and  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl compounds. Configurational application. **Journal of the American Chemical Society**. Tallahassee, USA, v. 109, p. 6726-6730, 1987.

GINOCCHIO, C. C. Role of NCCLS in antimicrobial susceptibility testing and monitoring. **American Journal of Health-System Pharmacy**. New York, USA, v. 59, p. S7-S11, 2002.

GÓIS, R. W. S.; SOUSA, L. M. DE.; SANTIAGO, G. M. P.; ROMERO, N. R.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; BRAZ-FILHO, R. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of pacharin from *Bauhinia acuruana*. **Parasitology Research**, Fortaleza, Brazil, v. 112, p. 2753-2757, 2013.

GROS, E. G.; POMILIO, A. B.; SELDES, A.M.; BURTON, G. **Introducción al Estudio de los Productos Naturales**. (1ª ed.). Organización de Estados Americanos: Washington D. C., Estados Unidos. 146 pp.; ed. Eva V. Chesneau, Serie de química; monografía, nº. 30, 1985.

GUIRY, G.M. 2019. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <http://www.algaebase.org>. Acesso em: 9 de Jan. de 2019.

GUPTA, K. C.; SCHEUER, P. J. Zoanthid sterols, **Steroids**. Honolulu, Hawaii, v.13, p. 343-356, 1969.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**. Vienna, Austria, v. 11, p. 137-147, 2000.

HAMID, P. H.; PRASTOWO, J.; GHIFFARI, A.; TAUBERT, A.; HERMOSILLA, C. *Aedes aegypti* resistance development to commonly used insecticides in Jakarta, Indonesia. **PLoS One**. Jakarta, Indonesia, v. 12, p. 1-11, 2017.

HEILBRON, I.; PHIPERS, R. F.; WRIGHT, H. R. The chemistry of the algae. Part I. The algal sterol fucosterol. **Journal of the Chemical Society**. Manchester, England, v. 0, p. 1572-1576, 1934.

HEY, D. H.; HONEYMAN, J.; PEAL, W. J. The Steroid Series. Part I. The ozonolysis of fucosterol and some of its derivatives. **Journal of the Chemical Society**. London, England, v. 0, p. 2881-2884, 1950.

HEY, D. H.; HONEYMAN, J.; PEAL, W. J. The steroid series. Part II. Further reactions of fucosterol and 24-ketocholesterol. **Journal of the Chemical Society**. London, England, v. 0, p. 4836-4839, 1952.

HIERMANN, A.; MAYR, K. Thin-layer, column, and high-performance liquid chromatographic separation of plant sterols on alkyl-silicated silica gel. **Journal of Chromatography**. Graz, Austria, v. 361, p. 417-420, 1986.

- HOANG, M. H.; JIA, Y.; JUN, H. J.; LEE, J. H.; LEE, B. Y.; LEE, S. J. Fucosterol is a selective liver X receptor modulator that regulates the expression of key genes in cholesterol homeostasis in macrophages, hepatocytes, and intestinal cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Seoul, South Korea, v. 60, p. 11567-11575, 2012.
- HUH, G.W.; LEE, D. Y.; IN, S. J.; LEE, D.G.; PARK, S. Y.; Yi, T. H.; KANG, H. C.; SEO, W. D.; BAEK, N. I. Fucosterols from *Hizikia fusiformis* and their proliferation activities on osteosarcoma-derived cell MG63. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**. Yongin, South Korea, v. 55, p. 551-555, 2012.
- HWANG, S. H.; LIM, . S. S.; JANG, J. M. Isolation of Fucosterol from *Pelvetia siliquosa* by High-speed Countercurrent Chromatography. **Fisheries and Aquatic Science**. Chuncheon, South Korea, v. 15, p. 191-195, 2002.
- IOANNOU, E.; ABDEL-RAZIK, A. F.; ZERVOU, M.; CHRISTOFIDIS, D.; ALEXI X.; VAGIAS, C.; ALEXIS, M. N.; ROUSSIS, V. 5,8-Epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*: isolation and evaluation of their antiproliferative activity. **Steroids**. Athens, Greece, v. 74, p. 73-80, 2009.
- JI, Y. B.; JI, C. F.; YUE, L. Study on human promyelocytic leukemia HL-60 cells apoptosis induced by fucosterol. **Bio-Medical Materials and Engineering**. Harbin, China, v. 24, p. 845-851, 2014.
- JUNG, H. A.; JIN, S. E.; AHN, B. R.; LEE, C. M.; CHOI, J. S. Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Eisenia bicyclis* and its constituents fucosterol and phlorotannins in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. **Food and Chemical Toxicology**. Busan, South Korea, v. 59, p. 199-206, 2013.
- KANIS, L. A.; RABELO, B. D.; MOTERLE, D.; CUSTODIO, K. M.; DE OLIVEIRA, J. G.; DE LEMOS, A. BI.; DA SILVA, O. S.; ZEPON, K. M.; MAGNAGO, R. F.; PROPHIRO, J. S. *Piper ovatum* (Piperaceae) extract/starch-cellulose films to control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Industrial Crops and Products**. Santa Catarina, Brazil v. 122, p. 148-155, 2018.
- KARLSON, R. H. Disturbance and monopolization of a spatial resource by *Zoanthus sociatus* (Coelenterata, Anthozoa). **Bulletin of Marine Science**. Newark, USA, v. 33, p. 118-131, 1983.
- KARTHICK, P.; MOHANRAJU, R. Antimicrobial potential of epiphytic bacteria associated with seaweeds of little Andaman, India. **Frontiers in Microbiology**, Port Blair, India, v. 9, p. 1-11, 2018.
- KEMP, D.W.; COOK, C.B.; LAJEUNESSE, T.C.; BROOKS, W.R. A comparison of the thermal bleaching responses of the zoanthid *Palythoa caribaeorum* from three geographically different regions in south Florida. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. Boca Raton, USA, v. 335, p. 266-276, 2006.
- KHANA VI, M.; GHEIDARLOO, R.; SADATI, N.; ARDEKANI, M. R. S.; NABA VI, S. M. B.; TAVAJOHI, S.; OSTAD, S. N. Cytotoxicity of fucosterol containing fraction of marine

algae against breast and colon carcinoma cell line. **Pharmacognosy Magazine**. Tehran, Iran, v. 8, p. 60-64, 2012.

KHATRI, S.; PHOUGAT, N.; CHAUDHARY, R.; SINGH, B.; CHHILLAR, A. K. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and cytotoxicity analysis of *Blumea lacera* (Burm. F.) D C. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. Rohtak, India, v. 8, p. 313-319, 2016.

KIM, M-G; LEE, H-S. Insecticidal toxicities of naphthoquinone and its structural derivatives. **Applied Biological Chemistry**. Wanju, South Korea, v. 59, p. 3-8, 2016.

KNAPP, F.F.; NICHOLAS, H.J. Structural studies of the cholesteric mesophase. **Liquid Crystals and Ordered Fluids**. Saint Louis, USA, v. 0, p. 1947-1968, 1970.

KOVGANKO, N. V.; KASHKAN, Z. N. Synthesis of (24*R*)-3 $\beta$ -hydroxystigmast-5-en-7one. **Chemistry of Natural Compounds**. Minsk, Belarus, v. 35, p. 433-436, 1999.

KUMAR, S. S.; KUMAR, Y.; KHAN, M. S. Y.; GUPTA, V. New antifungal steroids from *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kutzing. **Natural Product Research**. Ghaziabad, India, v. 24, p. 1481-1487, 2010.

LANDERS, T. F.; COHEN, B.; WITTUM, T. E.; LARSON, E. L. A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. **Public Health Reports**. Columbus, USA, v. 127, p. 4-34, 2012.

LEE, D.; PARK, J.; YOO, K; CHUNG, I.; LEE, Y.; LEE, J.; HAN, D; CHO, S.; BAEK, N. 24-Ethylcholesta-4,24(28)-dien-3,6-dione from *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* flowers inhibits the growth of human colon cancer cell line, HCT-116. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**. Yongin, South Korea, v. 54, p. 206-210, 2011.

LEE, S.; LEE, Y. S.; JUNG, S. H.; KANG, S. S.; SHIN, K. H. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa*. **Archives of Pharmacal Research**. Seoul, South Korea, v. 26, p. 719-722, 2003.

LEE, Y. S.; SHIN, K. H.; KIM, B. K.; LEE, S. Anti-diabetic activities of fucosterol from *Pelvetia siliquosa*. **Archives Pharmacal Research**, Seoul, South Korea, v. 27, p. 1120-1122, 2004.

LEMOS, T. L. G.; MCCHESENEY, J. D. Utilization of common natural products as synthons: preparation of progesterone from lithocholic acid. **Journal of Natural Products**. Fortaleza, Brazil, v. 53, p. 152-156, 1990.

LESMA, G.; LURAGHI, A.; BAVARO, T.; BORTOLOZZI, R.; RAINOLDI, G.; RODA, G.; VIOLA, G.; UBIALI, D.; SILVANI, A. Phytosterol and  $\gamma$ -oryzanol conjugates: synthesis and evaluation of their antioxidant, antiproliferative, and anticholesterol activities. **Journal of Natural Products**. Milano, Italy, v. 81, p. 2212-2221, 2018.

LICHOTA, A.; GWOZDZINSKI, K. Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. **International Journal of Molecular Sciences**. Lodz, Poland, v. 19, p. 1-38, 2018.

LIU, D.; STUHMILLER, L. M.; MCMORRIS, T. C. Synthesis of 15 $\beta$ -hydroxy-24-oxocholesterol and 15 $\beta$ ,29-dihydroxy-7-oxofucoesterol. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**. San Diego, USA, v. 8, p. 2161-2167, 1988.

LI, X.-D.; MIAO, F.-P.; JI, N.-Y. Two new epoxysteroids from *Helianthus tuberosus*. **Molecules**. Yantai, China, v. 16, p. 8646-8653, 2011.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. Aveiro, Portugal, v. 34, p. 77-84, 2016.

LUEPKE, K. H.; SUDA, K. J.; BOUCHER, H.; RUSSO, R. L.; BONNEY, M. W.; HUNT T. D.; MOHR, J. F. Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**. Boston, USA, v. 37, p. 71-84, 2017.

MACHADO, F. L. S.; VENTURA, T. L. B.; GESTINARI, L. M. S.; CASSANO, V.; RESENDE, J. A. L. C.; KAISER, C. R.; LASUNSKAIA, E. B.; MUZITANO, M. F.; SOARES, A. R. Sesquiterpenes from the Brazilian red alga *Laurencia dendroidea*. J. Agardh. **Molecules**. Rio de Janeiro, Brazil, v. 19, p. 3181-3192, 2014.

MAR, J. M.; SILVA, L. S.; AZEVEDO, S. G.; FRANCA, L. P.; GOES, A. F. F.; DOS SANTOS, A. L.; BEZERRA, J. A.; NUNOMURA, R. C. S.; MACHADO, M. B.; SANCHES, E. A. *Lippia origanoides* essential oil: an efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Industrial Crops and Products**. Manaus, Brazil, v. 111, p. 292-297, 2018.

MCCARTHY, F. O.; CHOPRA, J.; FORD, A.; HOGAN, S. A.; KERRY, J. P.; O'BRIEN, N. M.; RYAN, E.; MAGUIREA, A. R. Synthesis, isolation and characterisation of  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitosterol oxide derivatives. **Organic & Biomolecular Chemistry**. Cork, Ireland, v. 3, p. 3059-3065, 2005.

MELO, L.F.A.; CAMARA, C.A.G.; OLIVEIRA, L. L. D. S. S.; MODESTO, J. C. A.; PÉREZ, C. D. Toxicity against *Artemia salina* of the zoanthid *Palythoa caribaeorum* (Cnidaria: Anthozoa) used in folk medicine on the coast of Pernambuco, Brazil. **Revista Biotemas**. Vitória de Santo Antão, Brazil, v. 25, p. 145-151, 2012.

MELO-SANTOS, M. A. V.; VARJAL-MELO, J. J. M.; ARAÚJO, A. P.; GOMES, T. C. S.; PAIVA, M. H. S.; REGIS, L. N.; FURTADO, A. F.; MAGALHÃES, T.; MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; AYRES, C. F. J. Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. **Acta Tropica**. Recife, Brazil, v. 113, p. 180-189, 2010.

MENDES, L. A.; MARTINS, G. F.; VALBON, W. R.; DA SILVA DE SOUZA, T.; MENINI, L.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M. F. S. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**. Alegre, Brazil, v. 108, p. 684-689, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018. **Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 49, 2018. Disponível em: [http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/novembro/13/boletim\\_epidemiologico.pdf](http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/novembro/13/boletim_epidemiologico.pdf). Acesso em: 22 de fev. de 2019.

MISHARIN, A. Yu.; MEHTIEV, A. R.; MOROZEVICH, G. E.; TKACHEV, Y. V.; TIMOFEEV, V. P. Synthesis and cytotoxicity evaluation of 22,23-oxygenated stigmastane derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. Moscow, Russia, v. 16, p. 1460-1473, 2008.

MITRA, S.; DASH, R. Natural products for the management and prevention of breast cancer. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Chittagong, Bangladesh, v. 0, p. 1-23, 2018.

MORENO-ANZÚREZ, N. E.; MARQUINA, S.; ALVAREZ, L.; ZAMILPA, A.; CASTILLO-ESPAÑA P.; PEREA-ARANGO, I.; TORRES, P. N.; HERRERA-RUIZ, M.; GARCÍA, E. R. D.; GARCÍA, J. T.; ARELLANO-GARCÍA, J. A Cytotoxic and anti-inflammatory campesterol derivative from genetically transformed hairy roots of *Lopezia racemosa* Cav. (Onagraceae). **Molecules**. Cuernavaca, Mexico, v. 22, p. 118, 2017.

MOSMANN, T. Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, Palo Alto, USA, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOUBAYED, N. M. S.; HOURI, H. J. A.; KHULAIIFI, M. M. A.; FARRAJ, D. A. A. Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia (Red Sea and Arabian Gulf). **Saudi Journal of Biological Sciences**. Riyadh, Saudi Arabia, v. 24, p. 162-169, 2017.

MUIRHEAD, A.; RYLAND, J. S. A review of the genus *Isaurus* Gray, 1828 (Zoanthidea), including new records from Fiji. **Journal of Natural History**, Swansea, UK, v. 19, p. 323-335, 1985.

NARENDER, T.; KHALIQ, T.; SINGH, A. B.; JOSHI, M. D.; MISHRA, P.; CHATURVEDI, J. P.; SRIVASTAVA, A. K.; MAURYA, R.; AGARWAL, S. C. Synthesis of  $\alpha$ -amyrin derivatives and their *in vivo* antihyperglycemic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Uttar Pradesh, India, v. 44, p. 1215-1222, 2009.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. J. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**. Frederick, USA, v. 75, p. 311-335, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**. Wayne, USA, v. 79, p. 629-661, 2016.

NICOTRA, F.; RONCHETTI, F.; RUSSO, G.; TOMA, L. Role of 24- and 28-hydroxylated intermediates in the metabolism of  $\beta$ -sitosterol in the insect *Tenebrio molitor*. **Biochemical Journal**. Milan, Italy, v. 183, p. 495-499, 1979.

OHTSU, H.; XIAO, Z.; ISHIDA, J.; NAGAI, M.; WANG, H. K.; ITOKAWA, H.; SU, C. Y.; SHIH, C.; CHIANG, T.; CHANG, E.; LEE, Y. F.; TSAI, M. Y.; CHANG, C.; LEE, K. H.

Antitumor agents. 217. Curcumin analogues as novel androgen receptor antagonists with potential as anti-prostate cancer agents. **Journal of Medicinal Chemistry**. New York, USA, v. 45, p. 5037-5042, 2002.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; DE MATOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamines derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Fortaleza, Brazil, v. 74, p. 211-221, 2002.

ONGOKA, P. R.; BANZOUZI, J. T.; POUPAT, C.; EKOUYA, A.; OUAMBA, J. M.; MOUDACHIROU, M. Steroids isolated from *Millettia versicolor* Baker (Fabaceae), **African Journal of Biotechnology**. Brazzaville, Congo, v. 7, p. 1727-1730, 2008.

PAIER, C. R. K.; MARANHÃO, S. S.; CARNEIRO, T. R.; LIMA, L. M.; ROCHA, D. D.; SANTOS, R. S.; FARIAS, K. M.; MORAES-FILHO, M. O.; PESSOA, C. Natural products as new antimitotic compounds for anticancer drug development. **Clinics**. Fortaleza, Brazil, v. 73, p. 1-11, 2018.

PAIVA, A. A. O.; CASTRO, A. J. G.; NASCIMENTO, M. S.; WILL, L. S. E. P.; SANTOS, N. D.; ARAÚJO, R. M.; XAVIER, C. A. C.; ROCHA, F. A.; LEITE, E. L. Antioxidant and anti-inflammatory effect of polysaccharides from *Lobophora variegata* on zymosan-induced arthritis in rats. **International Immunopharmacology**, Natal, Brazil, v. 11, p. 1241-1250, 2011.

PAULA, A. C.; MELO, K. M.; DA SILVA, A. M.; FERREIRA, D. A.; MONTE, F. J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; LEMOS, T. L. G.; BRAZ-FILHO, R.; MILITÃO, G. C. G.; DA SILVA, P. B. N.; DA SILVA, T. G. Constituintes químicos e atividade citotóxica de *Cnidocolus phyllacanthus*. **Revista Virtual de Química**. Fortaleza, Brasil, v. 8, p. 231-241, 2016.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, Prague, Czech Republic, v. 76, p. 174-187, 2015.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Tradução da 4ª ed. São Paulo-SP: Cengage Learning, 2010.

PENNA, L. S.; HENRIQUES, J. A. P.; BONATTO, D. Anti-mitotic agents: Are they emerging molecules for cancer treatment? **Pharmacology & Therapeutics**. Porto Alegre, Brazil, v. 173, p. 67-82, 2017.

PÉREZ, C. D.; VILA-NOVA, D. A.; SANTOS, A. M. Associated community with the zoanthid *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing & Michelotti, 1860) (Cnidaria, Anthozoa) from littoral of Pernambuco, Brazil. **Hydrobiologia**, Recife, Brazil, v. 548, p. 207-215, 2005.

PÉREZ, M. J.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. **Marine Drugs**. Ourense, Spain, v. 14, p. 1-38, 2016.

PESSIN, J. V. P.; TAVARES, L. A.; GRADELLA, D. B. T. Atividade Antimicrobiana de maleimidias e seus respectivos ácidos âmicos. **Enciclopédia Biosfera**. São Mateus, Brasil v.15, p. 1178-1189, 2018.

PINTO, F. C. L.; ALMEIDA, J. G. L.; SILVEIRA, E. R.; COSTA, A. M.; GUIMARÃES L. A.; WILKE, D. V.; COSTA-LOTUFO, L. V.; TORRES, M. C. M.; PESSOA, O. D. L. Steroids from the Brazilian Zoanthids *Palythoa caribaeorum* and *Palythoa variabilis* **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Fortaleza, Brazil, v. 28, p. 485-491, 2017.

POLSON, K. A.; BROGDON, W. G.; RAWLINS, S. C.; CHADEE, D. D. Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Acta Tropica**. Saint Augustine, USA, v. 117, p. 31-38, 2011.

PRESTWICH, G. D.; ANGELASTRO, M.; DE PALMA, A.; PERINO M. A. Fucosterol epoxide lyase of insects: synthesis of labeled substrates and development of a partition assay. **Analytical Biochemistry**. New York, USA, v. 151, p. 315-326, 1985.

QUILEZ, J.; GARCÍA-LORDA, P.; SALAS-SALVADÓ, J. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. **Clinical Nutrition**. Tarragona, Spain, v. 22, p. 343-351, 2003.

RAMACHANDRAN, G.; RAJIVGANDHI, G.; MARUTHUPANDY, M.; MANOHARAN N. Isolation and identification of antibacterial compound from marine endophytic actinomycetes against multi drug resistant bacteria. **Annals of Microbiology and Immunology**. Tiruchirapalli, India, v. 1, p. 1-6, 2018.

RAMJIGANESH, T.; ROY, S.; MCINTYRE, J. C.; LUZ FERNANDEZ, M. The hypocholesterolaemic effects of sitostanol in the guinea pig are in part related to changes in hepatic lipids and lipoprotein composition. **British Journal of Nutrition**. Storrs, USA, v. 85, p. 165-172, 2001.

RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R. Study of the interference between *Plectranthus* species essential oils from Brazil and aminoglycosides. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Fortaleza, Brazil, v. 2013, p. 1-8, 2013.

ROLAIN, J.-M.; ABAT, C.; JIMENO, M.-T.; FOURNIER, P.-E.; RAOULT, D. Do we need new antibiotics? **Clinical Microbiology Infection**. Marseille, France, v. 22, p. 408-415, 2016.

RYAN, E.; CHOPRA, J.; MCCARTHY, F.; MAGUIRE, A. R.; O'BRIEN, N. M. Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products. **British Journal of Nutrition**. Cork, Ireland, v. 94, p. 443-451, 2005.

RYLAND, J. S.; LANCASTER, J. E. Revision of methods for separating species of *Protopalythoa* (Hexacorallia Zoanthidea) in the tropical West Pacific. **Invertebrate Systematics**, Swansea, Wales, v. 17, p. 407-428, 2003.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E. Y.; GODOY, H. M. Screening of some plants from North Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**. Buenos Aires, Argentina, v. 32, p. 293-297, 2001.

SALVAT, A.; ANTONACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E. Y. GODOY, H. M. Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plant species from northern Argentina. **Phytomedicine**. Buenos Aires, Argentina, v. 11, p. 230-234, 2004.

SAMPAIO, P. S.; SANCHO, L. G.; LAGO, R. F. Implementação da nova regulamentação para prescrição e dispensação de antimicrobianos: possibilidades e desafios. **Cadernos de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, Brasil, v. 26, p. 15-22, 2018.

SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**. Rio de Janeiro, Brasil, v. 39, p. 1-12, 2016.

SANTANA, A. L. B. D. **Estudo químico, antitermítico e antifúngico da madeira de lei *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *Cebil* (Grisaeb.) von Reis Alt. (*Angico-decaroço*)**. 2011. 187f. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SCHILITZ, A. O. C.; DE LIMA, F. C. S.; ANDRADE, J. H. V.; OLIVEIRA, J. F. P.; SANTOS, M. O.; REBELO, M. S.; CUNHA, R. G.; REIS, R. S. **Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA**, 2015.

SCHRICK, K.; CORDOVA, C.; LI, G.; MURRAY, L.; FUJIOKA, S. A dynamic role for sterols in embryogenesis of *Pisum sativum*. **Phytochemistry**. Claremont, USA, v. 72, 465-475, 2011.

SEBENS, K. P. Intertidal distribution of zoanths on the Caribbean coast of Panama: effects of predation and desiccation. **Bulletin of Marine Science**. Miami, USA, v. 32, p. 316-335, 1982.

SHANNON, E.; ABU-GHANNAM, N. Antibacterial derivatives of marine algae: an overview of pharmacological mechanisms and applications. **Marine Drugs**. Dublin, Ireland, v. 14, p. 1-23, 2016.

SHEU, J. H.; WANG, G. H.; SUNG, P. J.; DUH, C. Y. New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides*. **Journal of Natural Products**. Kaohsiung, Taiwan, v. 62, p. 224-227, 1999.

SHIRAHAMA, K. On the unsaponifiable matter and phosphatides in marine algae fat. **Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University**, Sapporo, Japan, v. 49, p. 1-93, 1942.

SILVERSTEIN, F. X.; WEBSTER, D. J. K. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7ª ed. Rio de Janeiro-RJ: Editora LTC, 2007.

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

SINNIGER, F.; MONTOYA-BURGOS, J. I.; CHEVALDONÉ, P.; PAWLOWSKI, J. Phylogeny of the order Zoantharia (Anthozoa, Hexacorallia) based on the mitochondrial ribosomal genes. **Marine Biology**, Geneva, Switzerland, v. 147, p. 1121-1128, 2005.

SMITH, L. B.; KASAI, S.I; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. New York, USA, v. 133, p. 1-12, 2016.

SOARES, C. L. S.; PEREZ, C. D.; MAIA, M. B. S.; SILVA, R. S.; MELO, R. S. A. Avaliação da atividade anti-inflamatória e analgésica do extrato bruto hidroalcoólico do zoantídeo *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing e Michelotti, 1860). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vitória de Santo Antão, Brasil, v. 16, p. 463-468, 2006.

SOARES, D. B. S.; DUARTE, L. P.; CAVALCANTI, A. D.; SILVA, F. C.; BRAGA, A. D.; LOPES, M. T. P.; TAKAHASHI, J. A.; VIEIRA-FILHO, S. A. *Psychotria viridis*: chemical constituents from leaves and biological properties. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Divinópolis, Brazil, v. 89, p. 927-938, 2017.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química Orgânica**. v. 2, 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

SOMMER, M. O. A.; MUNCK, C.; TOFT-KEHLER, R. V.; ANDERSSO, D. I. Prediction of antibiotic resistance: Time for a new preclinical paradigm? **Nature Reviews Microbiology**. Lyngby, Denmark, v. 15, p. 689-696, 2017.

STIGER, V.; HORIGUCHI, T.; YOSHIDA, T.; COLEMAN, A. W.; MASUDA, M. Phylogenetic relationships within the genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae), inferred from ITS-2 nrDNA, with an emphasis on the taxonomic subdivision of the genus. **Phycological Research**, Sapporo, Japan, v. 51, p.1-10, 2003.

SUN, Y.; WU, J.; SUN, X.; HUANG, X.; LI, L.; LIU, Q.; SONG, S. Steroids from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* and their cytotoxic activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. Shenyang, China, v. 26, p. 3081-3085, 2016.

TANG, H. F.; YI, Y. H.; YAO, X. S.; XU, Q. Z.; ZHANG, S. Y.; LIN, H. W. Bioactive steroids from the brown alga *Sargassum carpophyllum*. **Journal of Asian Natural Products Research**. Shanghai, China, v. 4, p. 95-101, 2002.

TOURE, S.; NIRMA, C.; FALKOWSKI, M.; DUSFOUR, I.; BOULOGNE, I.; JAHN-OYAC, A.; COKE, M.; AZAM, D.; GIROD, R.; MORIOU, C.; ODONNE, G.; STIEN, D.; HOUEL, E.; EPARVIER, V. *Aedes aegypti* larvicidal sesquiterpene alkaloids from *Maytenus oblongata*. **Journal of Natural Products**. Cayenne, France, v, 80, p. 384-390, 2017.

TRINH, T. T. V.; TRUONG, B. N.; LONGEON, A.; DOAN, T. M. H.; DEVILLE, A.; CHAU, V. M.; PHAM, V. C.; BOURGUET-KONDRACKI, M.- L.. New 9 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxysterols from the Vietnamese marine sponge *Ircinia echinata*. **Marine Drugs**. Hanoi, Vietnam, v. 16, p.2-10, 2018.

TSUDA, K.; HAYATSU, R.; KISHIDA, Y.; AKAGI, S. Steroid studies. VI. Studies on the Constitution of Sargasterol. **Journal of the American Chemical Society**. Tokyo, Japan, v. 80, p. 921-925, 1958.

UNNITHAN, A. R.; UNNIKRISHNAN, G. Larvicidal bioassay of five tropical plants against *Aedes aegypti*. **World Journal of Pharmaceutical Research**. Kalyan, India, v. 4, p. 2436-2446, 2015.

VALKONEN, A.; LAHTINEN, M.; TAMMINEN, J.; KOLEHMAINEN, E. Solid state structural studies of five bile acid derivatives. **Journal of Molecular Structure**. Jyväskylä, Finland, v. 886, p. 197-206, 2008.

VELOZO, A. P. A.; SZÉCHY, M. T. M. Variações espaciais e temporais no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da macroalga *Sargassum* C. Agardh (Fucales, Phaeophyceae) – Síntese do conhecimento. **Oecologia Brasiliensis**. Rio de Janeiro, Brasil, v. 12, p. 275-290, 2008.

VIL, V.; TARENT'EV, A. O.; SAVIDOV, N.; GLORIOZOVA, T. A.; POROIKOV, V. V.; POUNINA, T. A.; DEMBITSKY, V. M. Hydroperoxy steroids and triterpenoids derived from plant and fungi: Origin, structures and biological activities. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. Moscow, Russia, v. 190, p. 76-87, 2019.

VILJOEN, A.; VAN VUUREN, S.; ERNST, E.; KLEPSE, M.; DEMIRCI, B.; BASER, H.; VAN WYK, B. E. *Osmitopsis astericoides* (Asteraceae) - the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. **Journal of Ethnopharmacology**. Iowa City, USA, v. 88, p. 137-143, 2003.

VORIS, D. G. R.; DIAS, L. S.; LIMA, J. A.; LIMA, K. S. C.; LIMA, J. B. P.; LIMA, A. L. S.. Evaluation of larvicidal, adulticidal, and anticholinesterase activities of essential oils of *Illicium verum* Hook. f., *Pimenta dioica* (L.) Merr., and *Myristica fragrans* Houtt. against Zika virus vectors. **Environmental Science and Pollution Research**. Rio de Janeiro, Brazil, v. 25, p. 22541-22551, 2018.

WALIWIWIYA, R.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, *trans*-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**. Burnaby, Canada, v. 65, p. 241-248, 2009.

WANG, W-Q.; XUAN, L-J. *ent*-6,7-Secokaurane diterpenoids from *Rabdosia serra* and their cytotoxic activities. **Phytochemistry**. Shanghai, China, v. 122, p.119-125, 2016.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Media Centre (Cancer-Fact Sheets)**. 2018. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 05 de março de 2019.

WOMERSLEY, H. B. S. **The marine benthic flora of Southern Australia**. Rhodophyta. Part IIID, Ceramiales - Delesseriaceae, Sarcomeniaceae, Rhodomelaceae. Canberra/Adelaide: Australian Biological Resources Study/ State Herbarium of South Australia, 2003.

WU, P. P.; ZHANG, K.; LU, Y. J.; HE, P.; ZHAO, S. Q. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the antidiabetic activity of ursolic acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Guangzhou, China, v. 80, p. 502-508, 2014.

XIE, C. - L.; ZHANG, D.; XIA, J. - M.; HU, C. - C.; LIN, T.; LIN, Y. - K.; WANG, G.-H.; TIAN, W. - J.; LI, Z. -P.; ZHANG, X. - K.; YANG, X. - W.; CHEN, H. - F. Steroids from the deep-sea-derived fungus *Penicillium granulatum* MCCC 3A00475 induced apoptosis via retinoid X receptor (RXR)- $\alpha$  pathway. **Marine Drugs**. Xiamen, China, v. 17, p. 2-13, 2019.

YANG, Z.; SUN, G.-T.; DI, Y.-T.; WANG, Y.-H.; HU, X.-J. Chemical constituents from the *Neoboletus brunneissimus*. **Journal of Tropical and Subtropical Botany**. Kunming, China, v. 26, p. 309-316, 2018.

YESSOUFOU, K.; ELANSARY, H. O.; MAHMOUD, E. A.; SKALICKA-WOZNIAK, K. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically isolated compounds. **Industrial Crops and Products**. Guelph, Canada, v. 74, p. 752-758, 2015.

YOKOSUKA, A.; MIMAKI, Y.; SAKUMA, C.; SASHIDA, Y. New glycosides of the campesterol derivative from the rhizomes of *Tacca chantrieri*. **Steroids**. Tokyo, Japan, v. 70, p. 257-265, 2005.

YOON, N. Y.; CHUNG, H. Y.; KIM, H. R.; CHOI, J. S. Acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory activities of sterols and phlorotannins from *Ecklonia stolonifera*. **Fisheries Science**. Busan, South Korea, v. 74, p. 200-207, 2008.

YOSHIDA, Y.; NIKI, E. Antioxidant effects of phytosterol and its components. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. Osaka, Japan, v. 49, p. 277-280, 2003.

ZARA, A. L. S. A.; DOS SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. Goiânia, Brasil, v. 25, p. 391-404, 2016.

ZHANG, H.; GAN, X.; FAN, Q.; YANG, J.; ZHANG, P.; HU, H.; SONG, Q. Chemical constituents and anti-inflammatory activities of Maqian (*Zanthoxylum myriacanthum* var. pubescens) bark extracts. **Scientific Reports**. Kunming, China, v. 7, p. 1-13, 2017.

ZHANG, X.; CAMBRAI, A.; MIESCH, M.; ROUSSI, S.; RAUL, F.; AOUDE-WERNER, D.; MARCHIONI, E. Separation of  $\Delta^5$ - and  $\Delta^7$ -phytosterols by adsorption chromatography and semipreparative reversed phase high-performance liquid chromatography for quantitative analysis of phytosterols in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Illkirch-Graffenstaden, France, v. 54, p. 1196-1202, 2006.

ZHU, J. J.; YANG, S. P.; JING, C.; LI, H.Y. Antiproliferative and apoptotic effects of campesterol in HCT-116 human colon carcinoma cells are mediated via mitochondrial disruption and inhibition of cell migration. **Latin American Journal of Pharmacy**. Luoyang, China, v. 35, p. 1285-1291, 2016.