



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

**JOSÉ AUGUSTO CARNEIRO DE OLIVEIRA**

**SEMISSÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DE PRODUTOS  
NATURAIS: OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ESTEMODINA**

**FORTALEZA**

**2021**

JOSÉ AUGUSTO CARNEIRO DE OLIVEIRA

SEMISSÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DE PRODUTOS  
NATURAIS: OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ESTEMODINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa.

Coorientador: Prof. Dr. Jair Mafezoli.

FORTALEZA

2021

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

---

D32s      Oliveira, José Augusto Carneiro de.  
Semissíntese de compostos bioativos a partir de produtos naturais: obtenção de derivados da estemodina / José Augusto Carneiro de Oliveira. – 2021.  
103 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa.  
Coorientação: Prof. Dr. Jair Mafezoli.

1. Estemodina. 2. Semissíntese. 3. Derivados. I. Título.

CDD 572

---

JOSÉ AUGUSTO CARNEIRO DE OLIVEIRA

SEMISSÍNTESE DE COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DE PRODUTOS  
NATURAIS: OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ESTEMODINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 12/08/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Jair Mafezoli  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

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

---

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me permitido vivenciar essa experiência tão importante e significativa para minha vida pessoal e acadêmica, por ter me preservado com saúde e condições para que concluísse esse trabalho.

À Universidade Federal do Ceará e em especial ao Programa de Pós-Graduação em Química por ter oferecido condições para o desenvolvimento da pesquisa.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo fomento durante o mestrado.

À minha mãe Francisca das Chagas Lourença Carneiro e irmã Tatiane Carneiro de Oliveira pelo apoio e confiança depositada.

A todos os profissionais administrativos que compõem o quadro de funcionários da Instituição de ensino.

Ao Prof. Francisco Geraldo Barbosa, pela orientação do trabalho.

Ao Prof. Jair Mafezoli, agradeço imensamente, por todas as dicas, conselhos e orientações que foram essenciais para a consolidação da pesquisa.

Ao Laboratório de Fitoquímica Aplicada (LABFITO), Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica (LABS) e Laboratórios de análises e caracterizações que foram parceiros e que mesmo com todas as limitações e dificuldades enfrentadas no cenário pandêmico contribuíram para a construção e conclusão do estudo.

Aos colegas que conheci durante o mestrado em especial Damião F. Silva, Bruna Carvalho, Natalia Sousa, Luth, Gabi, Erika, Renan, Matheus, Carol, Ismael, Rodrigo, André e a todos os integrantes do Clube de Química (CluQui), Stephani, Pedro Oribio, Harisson, Carla, Ricardo, Joan, João Francisco, Kayron, Ronald Leocadio, Marcos, Vitória, Nicolas e Diana, pelo apoio e por todo companheirismo e momentos de alegria que compartilhamos e que tornaram essa experiência mais gratificante.

Ao meu amigo e companheiro de laboratório, doutorando Carlos José Alves da Silva, a quem sou grato por todos os ensinamentos e compartilhamentos de experiências que obtive no transcorrer do mestrado e que foram importantes para o meu crescimento profissional.

## RESUMO

A derivatização de moléculas bioativas, oriundas de fontes naturais, objetivando a melhora de propriedades físico-químicas e a otimização de propriedades farmacológicas, tem sido uma ferramenta útil na descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos. Inúmeras estratégias de semissíntese a partir de derivados de produtos naturais são relatadas na literatura. Nesse contexto, a espécie *Stemodia maritima* Linn., conhecida popularmente no Nordeste brasileiro como melosa, é rica no diterpeno estemodina, que apresenta atividade analgésica, bactericida e citotóxica. Alguns derivados semissintéticos e biotransformados bioativos da estemodina são descritos na literatura, no entanto, oximas e seus ésteres ainda não foram relatados. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo principal preparar oximas e ésteres semissintéticos da estemodina, além de outros derivados acilados. Os análogos foram semissintetizados a partir de reações de oxidação, oximação, acetilação e acilação. Na caracterização estrutural dos compostos foram utilizados dados físicos (p.f.) e espectrométricos (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , IV e EM de alta resolução), além de comparação com dados da literatura. Um total de doze derivados semissintéticos foram obtidos, dos quais dez são inéditos. A atividade citotóxica *in vitro* da estemodina, das oximas-*E/Z* e seus ésteres, frente às linhagens de células cancerígenas humanas (PC3, HCT-116, HL60 e SNB-19), mostrou resultados promissores para os ésteres **OX1-Z1**, **OXI-E1**, **OXI-E2** e **OXI-E3**, com percentuais de inibição de crescimento celular ( $\geq 75\%$ ) superiores à estemodina e ao controle positivo (doxorrubicina) em pelo menos uma das linhagens testadas. De maneira geral, os estereoisômeros *E* dos ésteres de oximas-*E* apresentaram melhores atividades citotóxicas do que os estereoisômeros *Z* dos ésteres de oximas-*E*. Isto aponta para a necessidade de estudos de relação estrutura-atividade, além de determinação da  $\text{CI}_{50}$  e avaliação da citotoxicidade em células sadias dos derivados bioativos.

**Palavras-chave:** estemodina; semissíntese; derivados bioativos.

## ABSTRACT

Derivatization of bioactive molecules from natural sources, aiming to improve physicochemical properties and optimize pharmacological properties, has been a valuable tool in discovering and developing new drugs. The connected correlation of semi-synthesis to results of natural products is reported in the literature. In this context, a species *Stemodia maritima* Linn., popularly known in the Northeast of Brazil as melosa, is rich in stemodin diterpene, which has analgesic, bactericidal, and bactericidal cytotoxic activities. Semi-synthetic derivatives and bioactive biotransformed of stemodin are described in the literature. However, oximes and their esters have not yet been reported. Therefore, the present study had the main objective to prepare oximes and semi-synthetic esters of stemodin and other derivatives. The analogs were semi-synthesized from oxidation, oximation, acylation and acetylation reactions. In the structural characterization of the compounds, physical (p.f.) and spectrometric data (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, IR, and high-resolution MS) were used, in addition to comparison with data from the literature. Twelve semi-synthetic derivatives were obtained, of which ten are unpublished. In vitro cytotoxic activity of stemodin, *E/Z*-oximes, and esters against human cancer cell lines (PC3, HCT-116, HL60, and SNB-19), showed promising results for esters **OX1-Z1**, **OXI-E1**, **OXI-E2**, and **OXI-E3**, with cell growth inhibition percentages ( $\geq 75\%$ ) higher than stemodin and positive control (doxorubicin) in at least one of the strains tested. In general, the *E*-stereoisomers of the *E*-oxime esters have better cytotoxic activities than the *Z*-stereoisomers of the *Z*-oxime esters, which suggests the need for structural activity relationship studies to determining the IC<sub>50</sub> and evaluating the cytotoxicity in healthy cells of bioactive derivatives.

**Keywords:** stemodin; semi-synthesis; bioactive derivatives.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fórmula estrutural da estemodina, afidicolina e 8 $\beta$ -hidroxistemodina.....	16
Figura 2	– Fórmulas estruturais da morfina e derivados.....	18
Figura 3	– Fórmulas estruturais do captopril e derivados.....	19
Figura 4	– Fórmulas estruturais da 10-desacetilbacatina III, paclitaxel e derivados.....	20
Figura 5	– Espécime de <i>Stemodia maritima</i> Linn.....	22
Figura 6	– Fórmulas estruturais de compostos relatados para <i>S. maritima</i> Linn.....	24
Figura 7	– Fórmulas estruturais de derivados semissintéticos da estemodina.....	26
Figura 8	– Fórmulas estruturais de derivados de biotransformação da estemodina.....	29
Figura 9	– Esquema geral para obtenção da estemodina.....	34
Figura 10	– Esquema geral de obtenção dos derivados semissintéticos da estemodina....	34
Figura 11	– Esquema da reação de oxidação da estemodina ( <b>STME</b> ).....	35
Figura 12	– Esquema da reação de oximação da estemodina oxidada ( <b>STME-1</b> ).....	35
Figura 13	– Esquema da reação de acetilação de <b>OXI-Z</b> .....	36
Figura 14	– Esquema da reação de acilação de <b>OXI-Z</b> com cloreto de propanoíla.....	37
Figura 15	– Esquema da reação de acilação de <b>OXI-Z</b> com cloreto de hexanoíla.....	37
Figura 16	– Esquema da reação de acetilação de <b>OXI-E</b> .....	38
Figura 17	– Esquema da reação de acilação de <b>OXI-E</b> com cloreto de propanoíla.....	38
Figura 18	– Esquema da reação de acilação de <b>OXI-E</b> com cloreto de hexanoíla.....	39
Figura 19	– Esquema da reação de acilação de <b>OXI-E</b> com cloreto de decanoíla.....	40
Figura 20	– Esquema da reação de acilação de <b>STME</b> com cloreto de propanoíla.....	40
Figura 21	– Fórmula estrutural da estemodina ( <b>STME</b> ).....	44
Figura 22	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>STME</b> .....	44
Figura 23	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>STME</b> (CDCl <sub>3</sub> /125MHz).....	44
Figura 24	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C DEPT 135° de <b>STME</b> (CDCl <sub>3</sub> /125MHz).....	45

Figura 25	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>STME</b> ( $\text{CDCl}_3/500$ MHz).....	45
Figura 26	– Espectro de RMN 2D $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC de <b>STME</b> ( $\text{CDCl}_3/500/125$ MHz).....	46
Figura 27	– Espectro de RMN 2D $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC de <b>STME</b> ( $\text{CDCl}_3/500/125$ MHz).....	47
Figura 28	– Espectro de massa de alta resolução de <b>STME</b> .....	47
Figura 29	– Fórmula estrutural de <b>STME-1</b> .....	50
Figura 30	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>STME-1</b> .....	50
Figura 31	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>STME-1</b> ( $\text{CDCl}_3/125$ MHz).....	50
Figura 32	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ DEPT $135^\circ$ de <b>STME-1</b> ( $\text{CDCl}_3/125$ MHz).....	51
Figura 33	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>STME-1</b> e expansão ( $\text{CDCl}_3/500$ MHz).....	51
Figura 34	– Espectro de RMN 2D $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC de <b>STME-1</b> ( $\text{CDCl}_3/500/125$ MHz)....	52
Figura 35	– Espectro de RMN 2D $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC de <b>STME-1</b> ( $\text{CDCl}_3/500/125$ MHz).	52
Figura 36	– Espectro de RMN $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY de <b>STME-1</b> ( $\text{CDCl}_3/500$ MHz).....	53
Figura 37	– Fórmula estrutural de <b>OXI-Z</b> .....	54
Figura 38	– Espectro na região do infravermelho de <b>OXI-Z</b> .....	55
Figura 39	– Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>OXI-Z</b> ( $\text{CDCl}_3/125$ MHz).....	55
Figura 40	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ e expansão de <b>OXI-Z</b> ( $\text{CDCl}_3/500$ MHz).....	56
Figura 41	– Espectro de RMN 2D $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC de <b>OXI-Z</b> ( $\text{CDCl}_3/500/125$ MHz).....	56
Figura 42	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-Z</b> .....	57
Figura 43	– Fórmula estrutural de <b>OXI-Z1</b> .....	58
Figura 44	– Espectro de na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-Z1</b> .....	58
Figura 45	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>OXI-Z1</b> ( $\text{CDCl}_3/125$ MHz).....	59
Figura 46	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ DEPT $135^\circ$ de <b>OXI-Z1</b> ( $\text{CDCl}_3/125$ MHz).....	59
Figura 47	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>OXI-Z1</b> ( $\text{CDCl}_3/500$ MHz).....	60
Figura 48	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-Z1</b> .....	60
Figura 49	– Fórmula estrutural de <b>OXI-Z2</b> .....	61

Figura 50	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-Z2</b> .....	62
Figura 51	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>OXI-Z2</b> (CDCl <sub>3</sub> /125 MHz).....	62
Figura 52	– Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>OXI-Z2</b> (CDCl <sub>3</sub> /500 MHz).....	63
Figura 53	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-Z2</b> .....	63
Figura 54	– Fórmula estrutural de <b>OXI-Z3</b> .....	65
Figura 55	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-Z3</b> .....	65
Figura 56	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>OXI-Z3</b> (CDCl <sub>3</sub> /125 MHz).....	65
Figura 57	– Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>OXI-Z3</b> (CDCl <sub>3</sub> /500 MHz).....	66
Figura 58	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-Z3</b> .....	66
Figura 59	– Fórmula estrutural de <b>OXI-E</b> .....	68
Figura 60	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-E</b> .....	68
Figura 61	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>OXI-E</b> (CDCl <sub>3</sub> /125 MHz).....	69
Figura 62	– Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>OXI-E</b> (CDCl <sub>3</sub> /500 MHz).....	69
Figura 63	– Espectro de RMN 2D H, C-HSQC de <b>OXI-E</b> (CDCl <sub>3</sub> /500/125 MHz).....	70
Figura 64	– Espectro de RMN 2D H,C-HMBC de <b>OXI-E</b> (CDCl <sub>3</sub> /500/125 MHz).....	70
Figura 65	– Espectro de RMN <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY de <b>OXI-E</b> (CDCl <sub>3</sub> /500 MHz).....	71
Figura 66	– Espectro de massas de alta resolução de <b>OXI-E</b> .....	71
Figura 67	– Fórmula estrutural de <b>OXI-E1</b> .....	73
Figura 68	– Espectro na região do infravermelho de <b>OXI-E1</b> .....	73
Figura 69	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C de <b>OXI-E1</b> (CDCl <sub>3</sub> /125 MHz).....	74
Figura 70	– Espectro de RMN de <sup>13</sup> C DEPT 135 de <b>OXI-E1</b> .....	74
Figura 71	– Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>OXI-E1</b> (CDCl <sub>3</sub> /500 MHz).....	75
Figura 72	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-E1</b> .....	75
Figura 73	– Fórmula estrutural de <b>OXI-E2</b> .....	76
Figura 74	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-E2</b> .....	77

Figura 75	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ) de <b>OXI-E2</b> .....	77
Figura 76	– Espectro de RMN de DEPT $135^\circ$ ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ) de <b>OXI-E2</b> .....	78
Figura 77	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ) de <b>OXI-E2</b> .....	78
Figura 78	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-E2</b> .....	79
Figura 79	– Fórmula estrutural de <b>OXI-E3</b> .....	80
Figura 80	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-E3</b> .....	80
Figura 81	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de OXI-E3 ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	81
Figura 82	– Espectro de RMN DEPT $135^\circ$ de <b>OXI-E3</b> ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	81
Figura 83	– Espectro de $^1\text{H}$ de <b>OXI-E3</b> ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ).....	82
Figura 84	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-E3</b> .....	82
Figura 85	– Fórmula estrutural de <b>OXI-E4</b> .....	84
Figura 86	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>OXI-E4</b> .....	84
Figura 87	– Espectro e expansão de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>OXI-E4</b> ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	85
Figura 88	– Espectro de RMN DEPT $135^\circ$ de <b>OXI-E4</b> ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	85
Figura 89	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>OXI-E4</b> ( $\text{CDCl}_3/5000\text{ MHz}$ ).....	86
Figura 90	– Espectro de massa de alta resolução de <b>OXI-E4</b> .....	86
Figura 91	– Fórmula estrutural de <b>STME-P1</b> .....	87
Figura 92	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>STME-P1</b> .....	88
Figura 93	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>STME-P1</b> ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	88
Figura 94	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>STME-P1</b> ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ).....	89
Figura 95	– Espectro de massa de alta resolução de <b>STME-P1</b> .....	89
Figura 96	– Fórmula estrutural de <b>STME-P2</b> .....	90
Figura 97	– Espectro na região do infravermelho (IV) de <b>STME-P</b> .....	91
Figura 98	– Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>STME-P2</b> ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ).....	91
Figura 99	– Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>STME-P2</b> ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ).....	92



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Linhagens celulares e suas especificações.....	41
Tabela 2	– Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$ em ppm) de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>STME</b> em comparação com dados da literatura.....	48
Tabela 3	– Percentual de inibição de crescimento celular da <b>OXI-Z</b> e seus ésteres.....	94
Tabela 4	– Percentual de inibição de crescimento celular da <b>OXI-E</b> e seus ésteres.....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CENAUREMN	Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória 50%
COSY	<i>Correlation Spectro</i>
CRTI	Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico
d	Dupleto
DEPT-135	<i>Distortionless Enhancement by Polarization</i>
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
EHST	Extrato Hexânico de Stemodia
EMAR	Espectrometria de Massa de Alta Resolução
EMST	Extrato Metanoico de Stemodia
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
IV	Infravermelho
LABFTO	Laboratório de Fitoquímica Aplicada
LABS	Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica
m	Multiplete
MHz	Megahertz
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Singleto
t	Tripleto

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	14
1.1	Produtos naturais e sua importância.....	14
1.2	Modificação estrutural de produtos naturais.....	16
1.3	Derivados de produtos naturais utilizados como medicamentos.....	18
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Geral.....	21
2.2	Específicos.....	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	22
3.1	<i>Stemodia maritima</i> Linn e suas propriedades biológicas.....	22
3.2	Constituição química de <i>Stemodia maritima</i> Linn.....	23
3.3	Derivados semissintéticos e biotransformados da estemodina.....	25
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	31
4.1	Métodos cromatográficos.....	31
4.1.1	<i>Cromatografia em Camada Delgada (CCD)</i> .....	31
4.1.2	<i>Cromatografia em coluna</i> .....	31
4.2	Métodos de análise.....	31
4.2.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)</i> .....	31
4.2.2	<i>Spectrometria de massa de alta resolução (EMAR)</i> .....	31
4.2.3	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i> .....	32
4.2.4	<i>Ponto de fusão (p.f)</i> .....	32
4.3	Extração e isolamento da estemodina (STME).....	32
4.4	Semissíntese de derivados.....	34
4.4.1	<i>Reação de oxidação da estemodina (STME)</i> .....	34
4.4.2	<i>Reação de oximação de STME-1</i> .....	35
4.4.3	<i>Reação de acetilação de OXI-Z com anidrido acético</i> .....	36
4.4.4	<i>Reação de acilação de OXI-Z com cloreto de propanoíla</i> .....	36
4.4.5	<i>Reação de acilação de OXI-Z com cloreto de hexanoíla</i> .....	37
4.4.6	<i>Reação de acetilação de OXI-E com anidrido acético</i> .....	37
4.4.7	<i>Reação de acilação de OXI-E com cloreto de propanoíla</i> .....	38
4.4.8	<i>Reação de acilação de OXI-E com cloreto de hexanoíla</i> .....	39
4.4.9	<i>Reação de acilação de OXI-E com cloreto de decanoíla</i> .....	39

4.4.10	<i>Reação de acilação de STME com cloreto de propanoíla</i> .....	40
4.5	<b>Atividade biológica</b> .....	41
4.5.1	<b>Atividade citotóxica</b> .....	41
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
5.1	<b>Caracterização estrutural da estemodina (STME)</b> .....	43
5.1.1	<i>Caracterização estrutural de STME-1</i> .....	48
5.1.2	<i>Caracterização estrutural de OXI-Z</i> .....	53
5.1.3	<i>Caracterização estrutural de OXI-Z1</i> .....	57
5.1.4	<i>Caracterização estrutural de OXI-Z2</i> .....	60
5.1.5	<i>Caracterização estrutural de OXI-Z3</i> .....	63
5.1.6	<i>Caracterização estrutural de OXI-E</i> .....	67
5.1.7	<i>Caracterização estrutural de OXI-E1</i> .....	72
5.1.8	<i>Caracterização estrutural de OXI-E2</i> .....	75
5.1.9	<i>Caracterização estrutural de OXI-E3</i> .....	79
5.1.10	<i>Caracterização estrutural de OXI-E4</i> .....	83
5.1.11	<i>Caracterização estrutural de STME-P1</i> .....	86
5.1.12	<i>Caracterização estrutural de STME-P2</i> .....	89
5.2	<b>Bioensaios</b> .....	93
5.2.1	<i>Atividade citotóxica frente a linhagens de células de câncer humano</i> .....	93
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	96
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	97

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Produtos naturais e sua importância

Em muitas sociedades o emprego terapêutico de recursos naturais para a manutenção da saúde foi e continua sendo uma prática comum. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que, 60-80% da população mundial utiliza ou já utilizou algum medicamento à base de planta. No que se refere ao Brasil, o sucesso dos fitoterápicos é notório, haja vista que estudos mostram que mais de 90% da população faz usos de fitoterápicos no tratamento de suas doenças (FLÓRIO, 2019).

Sob uma perspectiva farmacológica, muitos compostos já foram extraídos de fontes naturais, tiveram suas propriedades biológicas asseguradas e são amplamente utilizados como medicamentos. Dentre os exemplos clássicos, a morfina (de origem vegetal) e a penicilina (de origem microbiana) se destacam por serem utilizados com sucesso na medicina, desde o último século (JUNIOR e BOLZANI, 2006; KRISHNAMURTI e RAO, 2016).

De acordo com Newman e Cragg (2020), de um total de 1394 medicamentos aprovados a partir de pequenas moléculas entre os anos de 1981 a 2019, 441 (33,6%) são oriundos diretamente de produtos naturais. Além disso, 282 (20,4%) são originados indiretamente de produtos naturais (NEWMANN e CRAGG, 2020). Uma das principais características que estas substâncias devem apresentar é seguir a regra 5 de Lipinski, que estabelece critérios (log P maior ou igual a 5, Massa Molecular menor ou igual a 500 g.mol<sup>-1</sup>, aceptores de ligação de Hidrogênio menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5) para que compostos possam ser utilizados como fármaco (LIPINSKI et al., 2001; MIGNANI et al., 2016).

O termo produto natural é muito abrangente, sendo atualmente associado às substâncias encontradas na natureza, que sejam produzidas por um ser vivo e que apresente ou não alguma propriedade biológica. Os produtos naturais podem ser extraídos de diferentes organismos, como animais, fungos, bactérias, plantas e organismos marinhos, e envolve desde moléculas pequenas até moléculas grandes (SIMÕES et al., 2017, OLIVEIRA et al., 2018).

As plantas, por exemplo, são capazes de biossintetizar dois grupos principais de substâncias denominados de metabólitos primários e metabólitos secundários (SIMÕES et al., 2017; POTT; OSORIO e VALLARINO, 2019). No primeiro grupo estão os carboidratos, lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e outras macromoléculas, que de forma geral, são necessárias à sobrevivência das plantas, pois desempenham funções plásticas, estruturais e energéticas. O segundo grupo é formado por substâncias de diferentes classes, que são

produzidas a partir dos metabólitos primários, por rotas biossintéticas complexas e específicas, como o ciclo do ácido tricarbóxico, glicólise, pentose fosfato e vias do chiquimato (AHARONI e GALILI, 2011). Produtos naturais, como alcaloides, terpenoides, e compostos fenólicos são alguns representantes desse gigantesco grupo de substâncias e que se destacam na literatura por apresentarem atividades biológicas interessantes (SIMÕES et al., 2017; MATHUR e HOSKINS, 2017; MONTEIRO e BRANDELLI, 2018). Os metabólitos secundários, presentes nas plantas e outros organismos têm funções importantes na adaptação destes seres vivos às condições ambientais as quais estão submetidos.

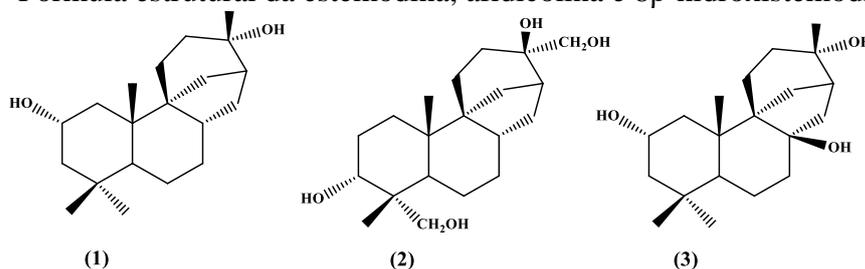
Dentre as funções estabelecidas para os fitoquímicos está sua atuação em mecanismos de defesa. Um exemplo, são os taninos, as saponinas e cumarinas presentes em frutas verdes, e que devido as suas características adstringentes, preservam o fruto de predadores até a formação de suas sementes (MASON; BERNARDO e SINGER, 2014). Os metabólitos secundários agem ainda como fitoalexinas, combatendo infecções microbianas. Além disso, certos pigmentos e óleos voláteis auxiliam na reprodução e proliferação das plantas, por atraírem insetos e animais que atuam como polimerizadores (HARBORNE e WILLIAMS, 1995; LUCAS-BARBOSA et al., 2016; ZINDORN et al., 2016). Outros metabólitos secundários são responsáveis por interações que ocorrem entre as plantas, no fenômeno chamado de alelopatia (SZCZEPANSKI, 1977; JESSING; DUKE e CEDERGREEN, 2014).

Em relação à classe dos terpenoides, os diterpenos são produtos naturais que merecem destaque e que podem ser biossintetizados por plantas, algas, esponjas e fungos a partir da condensação de quatro unidades de isoprenoides (isopentenil difosfato e seu isômero, dimetilalil difosfato) que são gerados a partir das vias do mevalonato e do metileritritol-4-fosfato. Estes metabólitos compreendem a uma classe de compostos, polioxigenados com grupos cetona e hidroxila, que são encontrados na natureza com diferentes tipos de estruturas. Além disso, são relatados na literatura por possuírem bioatividade, atuando como agente antineoplásico, anti-inflamatório, bactericida, fitotóxico, dentre outras atividades (DEVAPPA; MAKKAR e BECKER, 2011; WANG et al., 2015; LI, MORRIS-NATSCHKEB e LEE, 2016; JAEGER e CUNY, 2016; RONCERO et al., 2018; JIN et al., 2019).

Dentre os diterpenos bioativos, a estemodina (**1**), Figura 1, é um produto natural, que pode ser obtido em quantidades apreciáveis a partir das partes aéreas da espécie *Stemodia maritima* Linn (MANCHAND et al., 1973; HUFFORD; OGUNTIMEIN; MUHAMMAD, 1992), e que tem sido alvo de estudos biológicos, devido a sua semelhança estrutural com afidicolina (**2**), um composto antimitótico e antiviral (HANSON, 2018).

Anteriormente, o diterpeno estemodina e análogos de biotransformação, foram investigados quanto as suas atividades citotóxicas e antiviral contra Herpes tipo 1 (HS-1). O derivado 8 $\beta$ -hidroxistemodina (**3**), quando testado a uma concentração de 0,1 mg.mL<sup>-1</sup>, apresentou maior atividade antiviral, sendo capaz de reduzir 93% do número de placas com CD<sub>50</sub> = 0,30 mg.mL<sup>-1</sup>. A estemodina apresentou um percentual de inibição de 67% a uma concentração de 0,02 mg.mL<sup>-1</sup>, e CD<sub>50</sub> = 0,04 0,02 mg.mL<sup>-1</sup>. De forma geral, todos os compostos testados apresentaram alguma citotoxicidade (HUFFORD et al., 1991).

Figura 1 - Fórmula estrutural da estemodina, afidicolina e 8 $\beta$ -hidroxistemodina



Fonte: Autoria própria (2021).

O diterpeno estemodina e seus derivados semissintéticos foram testados quanto as suas capacidades de inibição das enzimas ciclo-oxigenases, inibição da peroxidação lipídica e também, quanto a atividade antiproliferativa contra linhagens de células cancerígenas humanas (RUSSEL et al., 2011). A estemodina apresentou percentual de inibição de peroxidação lipídica de 21,5 %, outros derivados apresentaram percentuais entre 59-82,4%. Todos os compostos quando testados a uma concentração de 25  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> foram seletivos quanto a inibição da enzima COX-1, já os testes antiproliferativos, mostraram que a estemodina (25  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>) reduziu em 41,9% o número de células de câncer de estômago, e os demais foram capaz de inibir essa mesma linhagem em percentuais maiores (RUSSEL et al., 2011). Há relatos que destacam a estemodina como agente bactericida (SILVA et al., 2014). Em estudos mais recentes, ficou constatado também que a estemodina possui atividade anti-inflamatória e ação antinociceptiva *in vivo*, em o modelo de hipernocicepção inflamatória induzida na ATM (articulação temporomandibular) de ratos (AZEVEDO, 2019).

## 1.2 Modificação estrutural de produtos naturais

Apesar do potencial dos produtos naturais, muitos podem apresentar algumas características físico-químicas ou farmacológicas desfavoráveis. Assim, as derivatizações bioisostéricas de produtos naturais são empregadas com a finalidade de torná-los agentes

clínicos mais viáveis (LIMA e BARREIRO, 2005; BARNES; KUMAR e DAVIS, 2016, MAJHI e DAS, 2021).

A modificação estrutural de um produto natural pode ser realizada por diferentes processos. Os mais utilizados são baseados em reações de semissíntese e em biotransformações. Nos bioprocessos, o substrato de interesse tem seu esqueleto principal modificado por reações conduzidas por fungos, bactérias ou enzimas isoladas. A principal vantagem desse método deve-se à obtenção de produtos de síntese complexa, com regiosseletividade e estereosseletividade (FURA, 2006; BAIPING et al., 2010; MUFFLER et al., 2011; HEGAZY et al., 2015).

A semissíntese química, por sua vez, consiste em modificar a estrutura do substrato por meio de reações orgânicas convencionais. Tais reações são geralmente planejadas considerando-se os grupos funcionais presentes nas moléculas, bem como a porção que será adicionada, na tentativa de se obter derivados com melhores características físico-químicas. Dentre as reações mais comuns que podem ser utilizadas, estão as reduções, oxidações, acilações, hidrólise, dentre outras (BARNES, KUMAR e DAVIS, 2016; HSU et al., 2019; THOMPSON e MUIR, 2020).

Dessa forma, a semissíntese representa uma ferramenta útil para a otimização de atividades biológicas, redução de toxicidade e aumento da solubilidade de moléculas bioativas. Além disso, as propriedades, físico-química, lipofilicidade e drogabilidade, também podem ser melhoradas. Em virtude de todas essas possibilidades de melhorias, justifica-se a ampla utilização de metodologias voltadas a derivatização estrutural de moléculas com potencial biológico (CAMP et al., 2012; ROBLES e ROMO, 2014; GUO, 2017).

Inúmeras estratégias para obtenção de derivados semissintéticos de produtos naturais são relatadas na literatura (BARNES; KUMAR e DAVIS, 2016). Parra et al., (2014), semissintetizaram 264 derivados dos ácidos oleanólico e maslínico mediante reações com diferentes aminoácidos e anidridos ácidos, gerando uma biblioteca com derivados bifuncionalizados. Os compostos foram avaliados quanto as suas toxicidades frente a linhagens de células cancerígenas. Como resultado, verificou-se que 90% dos derivados apresentaram seletividade para duas linhagens celulares (B10-F10 e HT29) e 67% inibiram apenas uma das linhagens (Hep G2). Os autores afirmam que a presença de grupos com cadeias longas na porção aminoácido e grupos acila pequenos aumentaram a atividade dos análogos em até 300 vezes (PARRA et al., 2014).

Mesquita et al (2018), a partir de reações de acilação com diferentes anidridos, obtiveram um grupo de derivados acilados dos monoterpenos timol e cravacrol, substratos

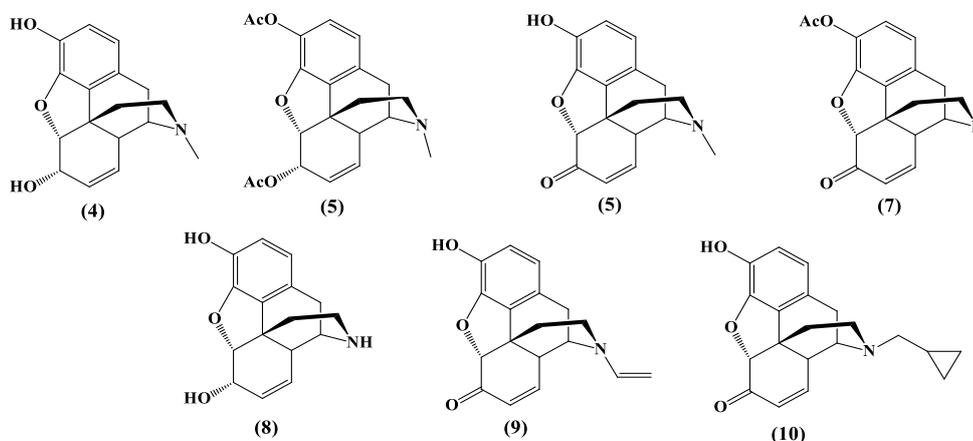
amplamente conhecidos na literatura. Os análogos foram testados quanto as suas atividades larvícida e de inibição da acetilcolinesterase. Os resultados mostraram que os ésteres aromáticos de timol/carvacrol contendo halogênio ou grupo nitro em posição *para* diminuíram drasticamente a atividade larvícida dos derivados em relação aos substratos. Em contrapartida, grupos doadores como a metoxila melhoram a atividade dos derivados. Os compostos acetato de 5-isopropil-2-metilfenila e hexanoato de 2-isopropil-5-metilfenila mostraram resultados positivos quanto a inibição da acetilcolinesterase (MESQUITA et al., 2018).

### 1.3 Derivados de produtos naturais utilizados como medicamentos

A semissíntese da aspirina (ácido acetilsalicílico), a partir da acetilação do ácido salicílico, em 1897 pelo químico da Bayer® Felix Hoffmann, pode ser considerada o marco inicial do emprego de derivados semissintéticos como fármacos. Esse fármaco impulsionou o desenvolvimento da indústria farmacêutica, e ainda é um dos medicamentos mais utilizados no mundo como analgésico e antitérmico, além de apresentar ação anti-inflamatória e inibidora da agregação plaquetária (RAVINA, 2011).

A morfina (4, Figura 2), também é outro caso de sucesso de produtos naturais utilizados como fármacos, que tiveram suas estruturas modificadas na busca por novos agentes terapêuticos. Isolada da espécie *Papaver somniferum* L, há mais de 200 anos por Friedrich W. A. Sertürner, a morfina apresenta potente atividade analgésica e vem sendo utilizada desde 1826 na medicina (KRISHNAMURTI e RAO, 2016).

Figura 2 - Fórmulas estruturais da morfina e derivados.

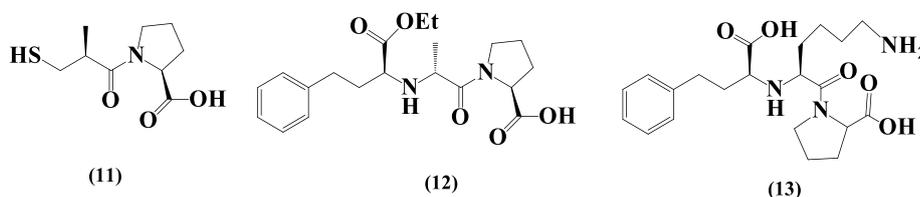


Fonte: Autoria própria (2021).

Devido ao seu grande sucesso, a morfina posteriormente passou por diversos processos de modificações estruturais e muitos derivados semissintéticos foram obtidos. As estruturas químicas de alguns derivados que se destacaram são mostradas na Figura 02. A heroína (5), obtida pela acetilação da morfina, talvez seja o derivado mais conhecido (FERREIRA e FACCIONE, 2005). Outros derivados como a oximorfina (6) e oxicodona (7) foram obtidos por reações de oxidação e acetilação. A normofina (8), naloxona (9) e naltrexona (10) são derivados semissintéticos utilizados como antídotos em caso de overdose de opioides (FERREIRA e FACCIONE, 2005).

Outro exemplo de um produto natural, cuja, modificação estrutural gerou novos fármacos é o captopril (11, Figura 3). Considerado uma das principais contribuições brasileira para a farmacopeia mundial, o captopril foi desenvolvido a partir do veneno de jararaca (*Bothrops jararaca*) e posteriormente foram obtidos seus derivados enalapril (12) e lisinopril (13) que atuam como agentes anti-hipertensivos (NEWMAN, 2017).

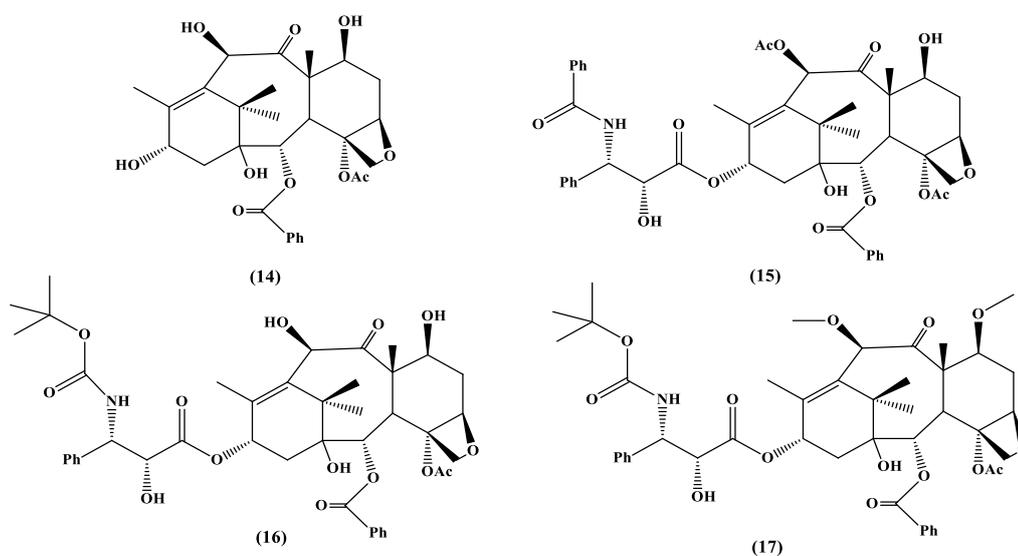
Figura 3 - Fórmulas estruturais do captopril e derivados



Fonte: Autoria própria (2021).

No contexto dos medicamentos utilizados para tratamento do câncer, o paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>), destaca-se como o grande caso de sucesso da semissíntese. Este composto é um potente agente anticâncer, que foi descoberto em 1971, por Monroe E. Wall e Mansukh C. Wani, e sendo extraído das cascas da espécie *Taxus brevifolia*. Contudo, sua baixa concentração na planta e o longo período de tempo necessário para o desenvolvimento do vegetal, prejudicaram sua comercialização (XIÃO; MORRIS-NATSCHKE e LEE, 2016). Em função da complexidade estrutural do paclitaxel, o desenvolvimento de uma rota sintética adequada se tornou economicamente inviável. Com isso, a solução para o problema veio a partir de metodologias semissintéticas, que possibilitaram a produção desse fármaco a partir da 10-desacetilbacatina III (14, Figura 4), que é um metabólito abundante nas folhas da espécie *Taxus baccata*. Além do paclitaxel (15), outros derivados semissintéticos foram obtidos, dentre eles, o docetaxel (16) e cebazitaxel (17), Figura 4, (XIÃO; MORRIS-NATSCHKE e LEE, 2016).

Figura 4 - Fórmulas estruturais da 10-desacetilbacatina III, paclitaxel e derivados



Fonte: Autoria própria (2021).

Sem dúvidas, o número de medicamentos produzidos de forma direta ou indireta a partir de produtos naturais é vasto. Em uma revisão Newman e Cragg (2020), mostraram que de um total de 1881 novos medicamentos aprovados entre os anos de 1981 a 2019, os produtos naturais somam 3,8% (71), as drogas botânicas 0,8% (14), os derivados de produtos naturais 18,9% (356), mimetizadores de produtos naturais 22,5% (424) e sintéticos 27,8% (528). Em virtude das possibilidades de otimização das atividades biológicas e do sucesso de metodologias semissintéticas utilizadas para a obtenção de novos medicamentos, mencionado anteriormente, o presente estudo objetivou o desenvolvimento de derivados semissintéticos do diterpeno bioativo estemodina, mais especificamente, objetivou-se a semissíntese de oximas e ésteres de oximas deste produto natural. Além disso, a avaliação da atividade citotóxica dos análogos irá contribuir com o estudo banco de dados de moléculas inéditas e para fornecer informações importantes sobre a relação estrutura-atividade dos derivados estudados.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Semissintetizar oximas, ésteres de oximas e produtos acilados do diterpeno estemodina e avaliar suas atividades biológicas.

### 2.2 Específicos

- Isolar e purificar a estemodina para utilização como substrato das semissínteses;
- Semissintetizar oximas e seus respectivos ésteres e derivados acilados da estemodina;
- Purificar os produtos reacionais e caracterizá-los estruturalmente, utilizando dados físicos (p.f.) e espectrométricos (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , IV e EM de alta resolução);
- Investigar a atividade citotóxica dos derivados semissintetizados;
- Contribuir com o conhecimento químico e farmacológico da espécie *Stemodia maritima* Linn.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Stemodia maritima* Linn e suas propriedades biológicas

A espécie *Stemodia maritima* Linn, pertence à família Plantaginaceae, podendo ser encontrada em países da América do Sul e em ilhas do Caribe. É uma planta perene de pequeno porte, apresenta ramificação em toda extensão de seu caule, os ramos são eretos com folhas simples e opostas. As sementes são pequenas e numerosas e as flores têm coloração violeta, Figura 5. Na região Nordeste do Brasil, é popularmente conhecida como mastruz-bravo ou melosa (SILVA et al., 2006). *Stemodia maritima* Linn tem sido utilizada na medicina popular para tratar doenças sexualmente transmissíveis, gastralgia, edema e inflamações. Além disso, as folhas e o caule, possuem atividade antiviral, citotóxica, larvicida e bactericida (RODRIGUES et al., 2010, SILVA, 2013).

Figura 5 - Espécime de *Stemodia maritima* Linn.



Fonte: Leonelli et al., 2021.

Em estudos realizados com compostos obtidos do extrato etanoico das folhas e raízes de *S. maritima* Linn, constatou-se atividades anti-inflamatória e antioxidante do metabólito crenatosídeo (**40**, Figura 6), presente na raiz, sendo sua capacidade de sequestrar radicais livres semelhante à vitamina C. Outros metabólitos, tais como a estemodina (**1**, Figura 6), Figura 1, e estedinodisídeo B (**28**, Figura 6) apresentaram-se como agentes antimicrobianos apreciáveis (SILVA et al., 2014).

O extrato etanoico das folhas de *S. maritima* Linn apresentou atividade anti-inflamatória promissora no combate ao estresse oxidativo e reabsorção óssea em ensaios *in vivo* de ratas com periodontite (TEIXEIRA et al., 2017). O efeito neurofarmacológico e a avaliação do estresse oxidativo também foram estudados em estudo *in vivo*. Como resultado concluiu-se

que o extrato desse arbusto atua como antidepressivo, ansiolítico e sequestrador de radicais livres, cuja, atividade depende da dose administrada e área analisada (SOUSA, 2017).

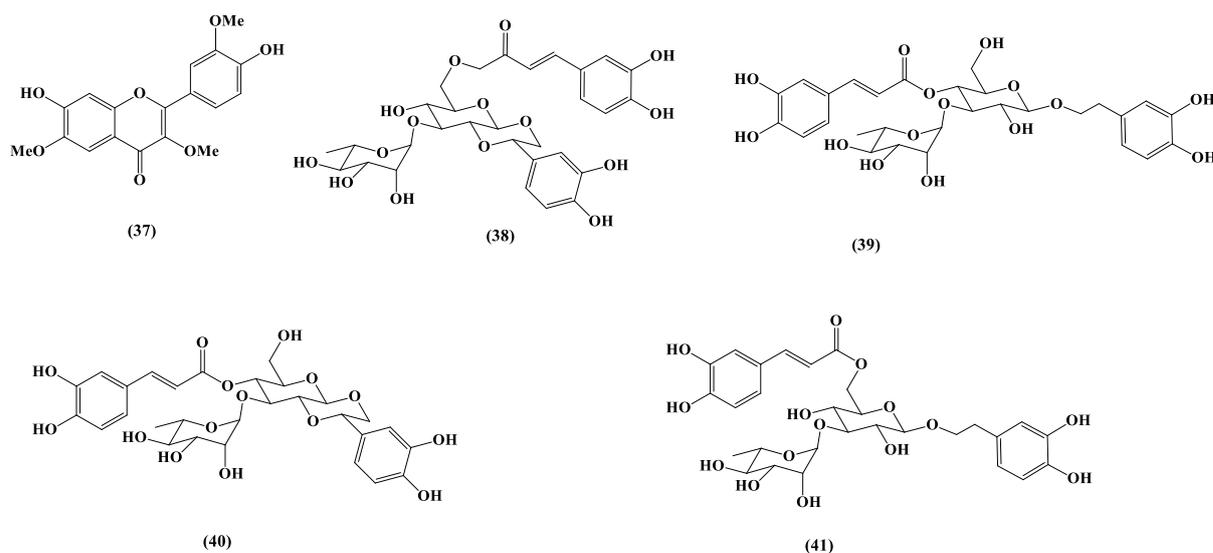
Azevedo (2019) investigou o efeito do extrato etanoico das folhas da planta e do diterpeno estemodina em modelos de hipernocicepção inflamatória aguda na articulação temporomandibular (ATM) de ratos. No estudo, ficou constatado que tanto o extrato, quanto a estemodina atuam como agentes antinociceptivos e anti-inflamatórios. Mais recentemente, ficou constatado que extrato hexânico das folhas desta espécie exibe atividade gastroprotetora em ratos, aumentando a concentração de NO e glutatona reduzida e diminuindo os índices de mieloperoxidase nos tecidos avaliados. Os autores afirmam que tal atividade deve-se a presença de compostos fenólicos e triterpenos no extrato (SOUSA et al., 2021).

### 3.2 Constituição química de *Stemodia maritima* Linn

Muitos metabólitos têm sido relatados para *Stemodia*, onde os principais compreendem a compostos pertencentes a classe diterpenoides. Os estudos iniciais sobre a constituição fitoquímica desta planta teve início em 1973, a partir da investigação do extrato etanoico das folhas desta espécie, realizadas por Manchand e colaboradores. Neste estudo, foram identificados e caracterizados dois diterpernos tetracíclicos incomuns, estemodina (**1**) e estemodinona (**18**) (MANCHAND et al., 1973). Posteriormente, estemarina (**19**) (MANCHAND e BLOUNT, 1975); maritimol (**20**) e estemodinol (**21**) também foram identificados (HUFFORD; GUERRERO; DOORENBOS, 1976). A estrutura desses compostos pode ser observada na Figura 6.

Ao longo dos anos, outros metabólitos foram sendo identificados nas diversas partes da planta, Figura 6, entre estes incluem-se; estemolídeo (**22**), triptolídeo (**23**), triptiolídeo (**24**) (MANCHAND e BLOUNT, 1976); 2-desoxi-estemodina (**25**) (KELLY et al., 1983); maristeminol (**26**), estemodinosídeo A (**27**), estemodinosídeo B (**28**), estemodinosídeo C (**29**) (HUFFORD; OGUNTMEIN e MUHAMMAD, 1992); estedina- $\alpha$ -L-arabinofuranosídeo (**30**), ácido betulínico (**31**) (MARTINS; REYNOLDS e REESE, 2004); (5S\*,8S\*,9R\*,10S\*)-11 $\beta$ ,12 $\beta$ -epoxi-9- $\alpha$ -hidroxi-19(4 $\rightarrow$ 3)abeo-abieta-3,13-dieno-9,18-olídeo (**32**) 5,7,4-triidroxi-3,8,3'-trimetoxi-flavona (**33**), D-manitol (**34**), glucopiranosilstigmasterol (**35**), 3 $\beta$ -O-D-glucopiranosil- $\beta$ -sitosterol(**36**) (RODRIGUES et al., 2010); jaceidina (**37**), isocrenatosídeo (**38**), verbascosídeo (**39**), crenatosídeo (**40**), isoverbascosídeo (**41**) (SILVA et al., 2014).





Fonte: Autoria própria (2021).

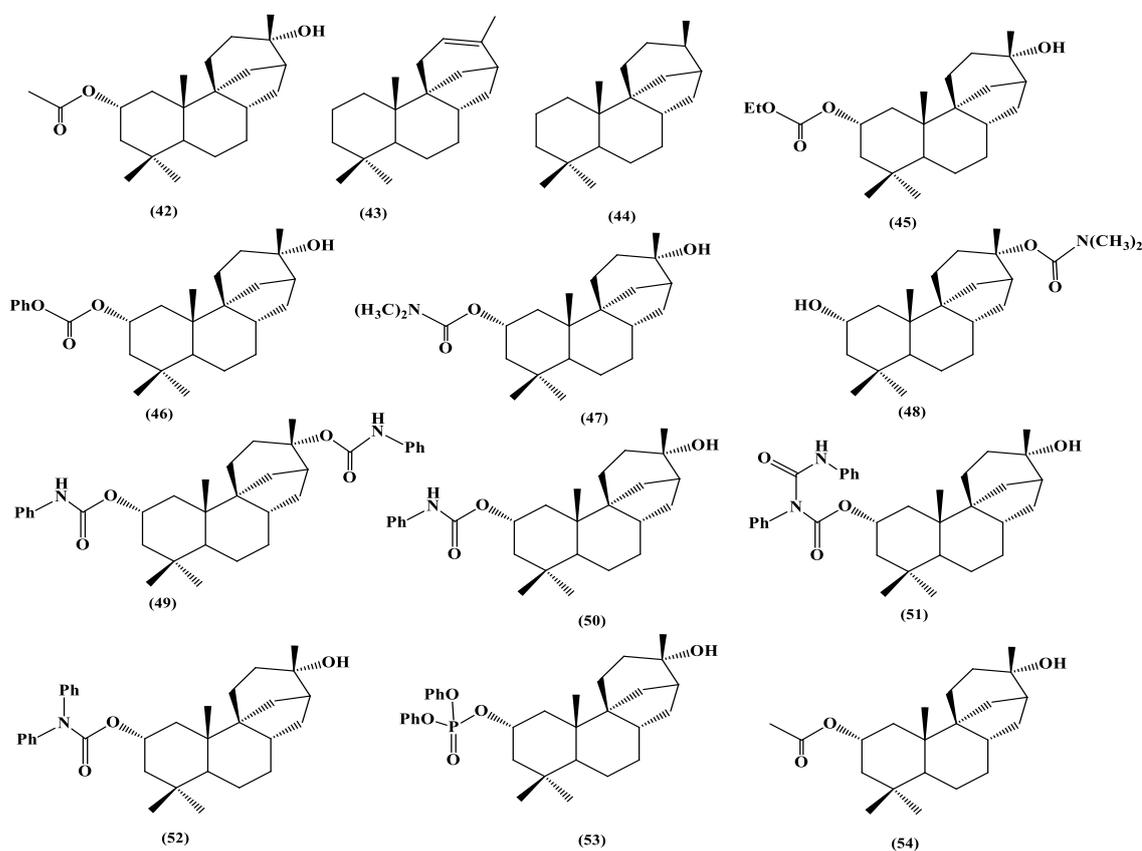
Mais recentemente, a caracterização fitoquímica do extrato hexânico de *S. maritima* Linn, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, possibilitou a identificação de octadecanamida (1,19 %), docosenamida (7,29 %), esqualeno (2,29 %), ácido mirístico (2,21 %), ácido pentadecanóico (1,25 %), 9-cedranona (1,76 %), ácido palmítico (19,8 %), ácido ascórbico (11,3 %), ácido linoleico (31,0 %) e ácido esteárico (18,7 %) (SOUSA et al., 2021).

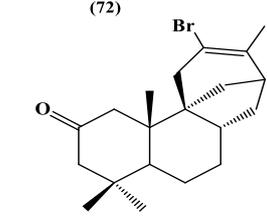
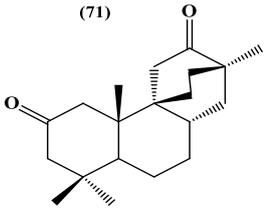
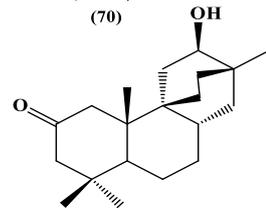
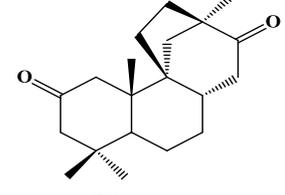
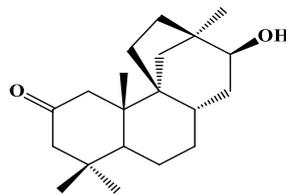
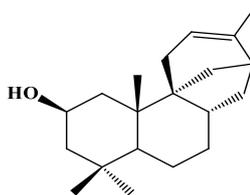
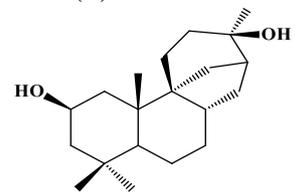
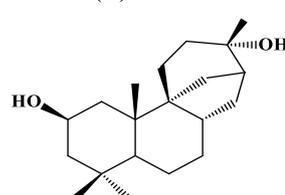
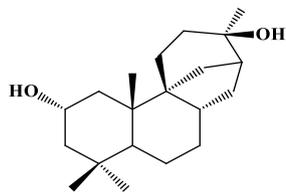
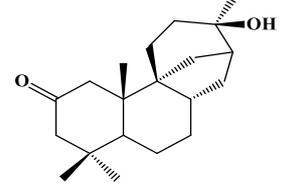
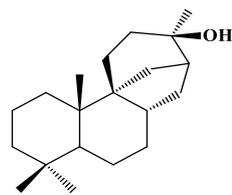
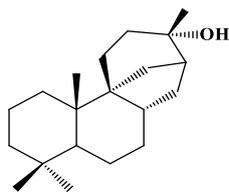
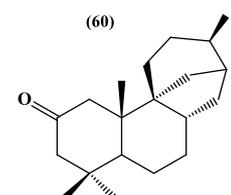
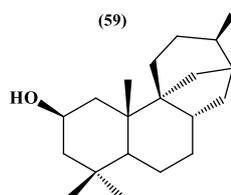
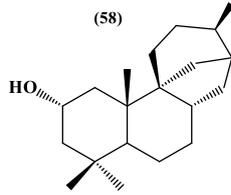
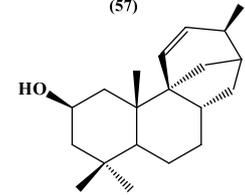
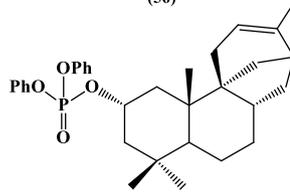
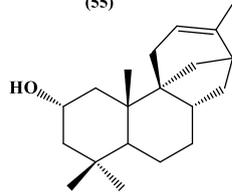
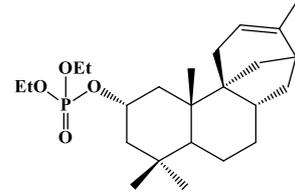
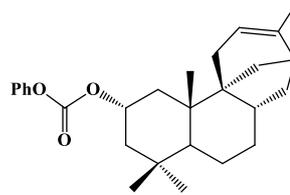
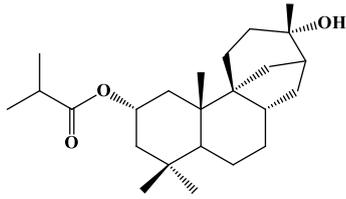
### 3.3. Derivados semissintéticos e biotransformados da estemodina

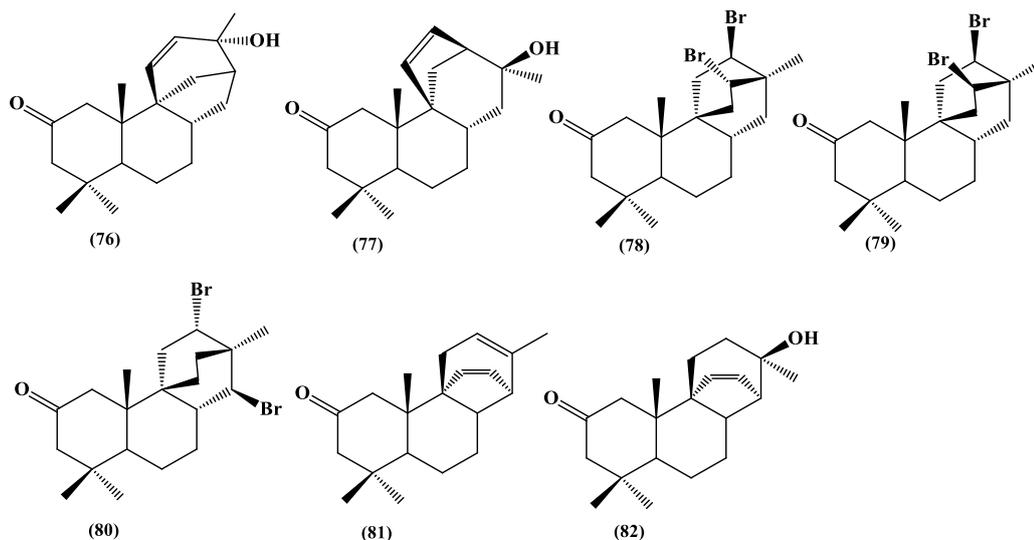
O diterpeno estemodina tem sido investigado sob uma perspectiva semissintética em muitos estudos. Alguns desses análogos (Figura 7) são: 2 $\alpha$ -etioniloxi-13-hidroxiestemodano (42), estemod-12-eno(43), estemodano (44), 2 $\alpha$ -etilcarboniloxi-13-hidroxiestemodano (45), 2 $\alpha$ -fenilcarboniloxi-13-hidroxiestemodano (46), 2 $\alpha$ -dimetilcarboniloxi-13-hidroxiestemodano (47), 13-dimetilcarbamoxi-2 $\alpha$ -hidroxiestemodano (48), 2 $\alpha$ -13-bis(fenilcarbamoxi)estemodano (49), 2 $\alpha$ -fenilcarbamoxi-13-hidroxiestemodano (50), 2 $\alpha$ -(*N*-fenilcarbamoxi-*N*-fenil)-13-hidroxiestemodano (51), 2 $\alpha$ -difenilcarbamoxi-13-hidroxiestemodano (52), 2 $\alpha$ -difenilfosfato-13-hidroxiestemodano (53), 2 $\alpha$ -propioniloxi-13-hidroxiestemodano (54), 2 $\alpha$ -isobutiroxi-13-hidroxiestemodano (55), 2 $\alpha$ -fenilcarboniloxiestemod-12-eno (56), 2 $\alpha$ -dietilfosfatoestemod-12-eno (57), 2 $\alpha$ -hidroxiestemod-12-eno (58), 2 $\alpha$ -difenilfosfatoestemod-12-eno (59), 2 $\beta$ -hidroxiestemod-11-eno (60), 2 $\alpha$ -hidroxiestemodano (61), 2 $\beta$ -hidroxiestemodano (62), estemodan-2-ano (63), 13(*S*)-hidroxistemodano (64), 13(*R*)-hidroxistemodano (65), 13(*R*)-hidroxistemodan-2-ona (66), 2 $\alpha$ ,13(*R*)-diidroxistemodano (67), 2 $\beta$ ,13(*S*)-diidroxistemodano (68), 2 $\beta$ ,13(*R*)-diidroxistemodano (69), 2 $\beta$ -hidroxiestemod-12-eno (70), 15(13 $\rightarrow$ 12)abeo-13 $\beta$ -

hidroxiestemaran-2-ona (**71**), 15(13→12)abeo-estemaran-2,13-diona (**72**), 15(8→9)abeo-12β-hidroxiestachan-2-ona (**73**), 15(8→9)abeo-estachan-2,12-diona (**74**), 12-bromoestemod-12-en-2-ona (**75**), 13α-hidroxiestemod-11-en-2-ona (**76**), 15β-hidroxiestemar-16-en-2-ona (**77**), 15(8→9)abeo-12β,16α-dibromoestachan-2-ona (**78**), 15(8→9)abeo-12β,16β-dibromoestachan-2-ona (**79**), 15(8→9)abeo-12α,14β-dibromoestachan-2-ona (**80**), 15(8→9)abeo-14(13→16)abeo-estacha-12,15-dien-2-ona (**81**), 13β-hidroxi-15(8→9)abeo,14(13→16)abeo-estacha-15-en-2-ona (**82**) (MANCHAND et al., 1973; BUCHANAN e RESSE, 2001; MARTINS; REYNOLDS e REESE, 2004; MARTINS; REYNOLDS e REESE, 2005; RUSSEL et al., 2011).

Figura 7 - Fórmulas estruturais de derivados semissintéticos da estemodina



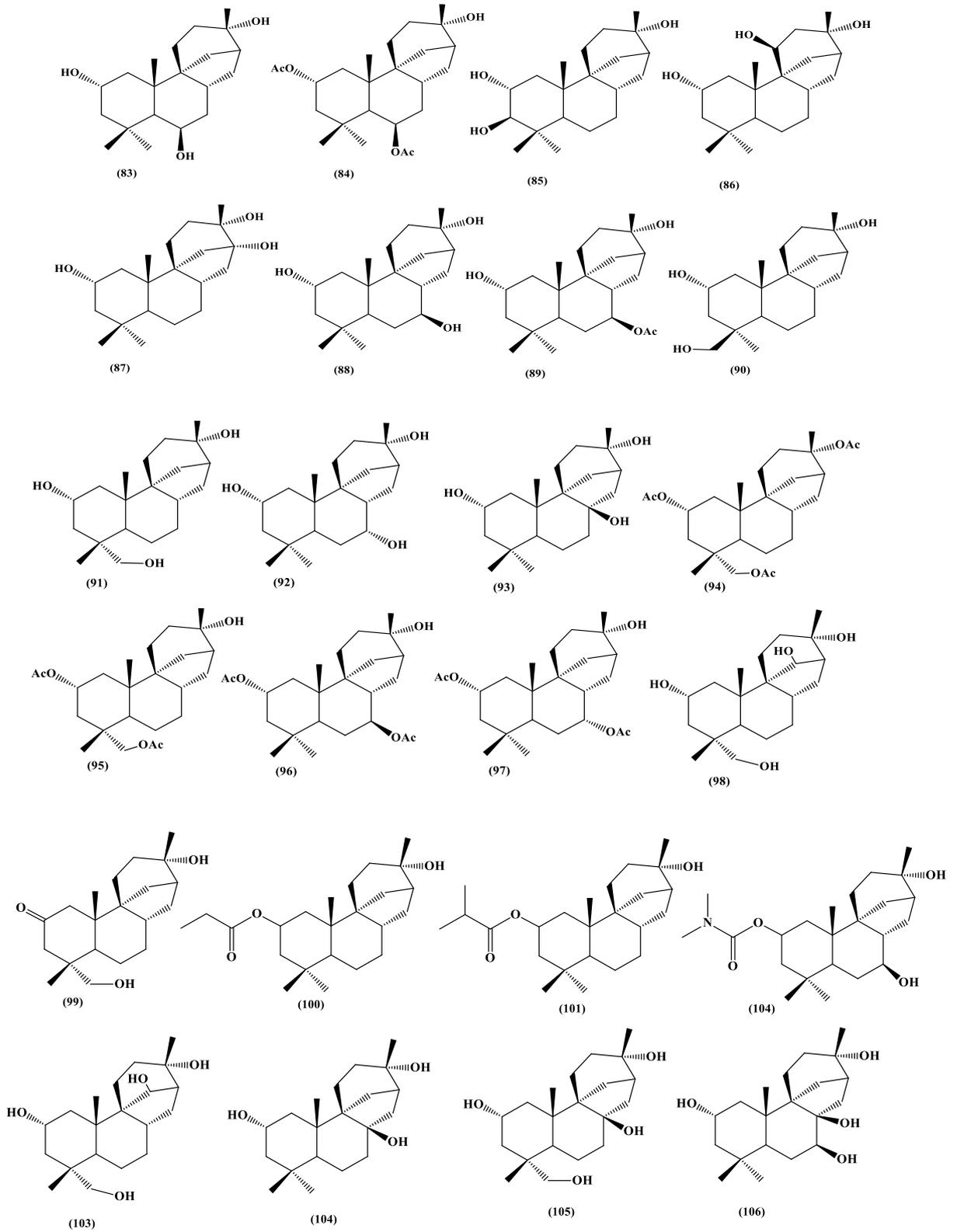


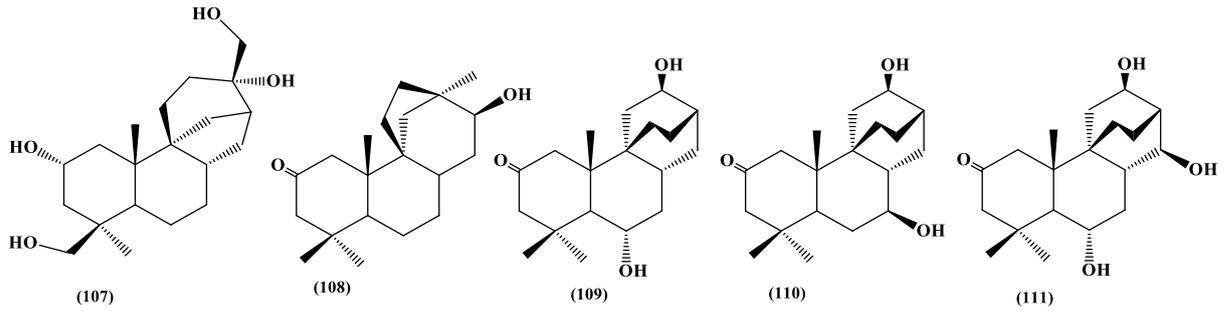


Fonte: Autoria própria (2021).

Com relação aos derivados de biotransformação, alguns análogos obtidos a partir da modificação estrutural da estemodina por fungos também são relatados na literatura. A biotransformação da estemodina pelos microrganismos *Mucor plumbeus* e *Whetzelinia sclerotiorum*, possibilitou a funcionalização (hidroxilação e acetilação) de diferentes carbonos na estrutura do substrato, gerando os compostos **83-90** (CHEN et al., 2005). A incubação da estemodina com *Cephalosporium aphidicola* resultou também em produtos biotransformados hidroxilados (**91-94**) (HANSON et al., 1994). Outros derivados acilados como os compostos **95** e **96** foram obtidos a partir da incubação da estemodina com *Beauveria bassiana* ATCC 7159. Além disso, os compostos **97-102** foram biossintetizados a partir da fermentação de *Phanero chaetechryso sporium* com diterpeno estemodina (BUCHANAN e REESE, 2001; LAMM, REYNOLDS e REESE, 2006). Os compostos **103-106** foram obtidos a partir da biotransformação da estemodina com *Rizopus arrbizus* e *Streptomyces* SP-NRRL5691 (HUFFORD et al., 1991). O derivado **107** foi gerado a partir da incubação da estemodina com *P. celluloseum* (BADRIA e HUFFORD, 1991) e os composto **108-111** foram produzidos quando a estemodina foi biotransformada por *Rhizopus oryzae* ATCC1145 (MARTIN; REYNOLDS e REESE, 2005). As estruturas dos derivados biotransformados da estemodina são mostradas na Figura 8.

Figura 8 - Fórmulas estruturais de derivados de biotransformação da estemodina





Fonte: Autoria própria (2021).

## 4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 Métodos cromatográficos

#### 4.1.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada em cromatoplasmas recobertas de sílica 60 ALUGRAM<sup>®</sup> SIL G/UV254 (espessura de 0,2 mm). Estas foram utilizadas para acompanhar o desenvolvimento das reações e definir os eluentes adequados para as purificações em coluna aberta dos compostos semissintetizados. As eluições ocorreram utilizando-se os solventes acetato de etila, metanol, diclorometano e hexano em diferentes proporções. As eluições cromatográficas ocorreram em cubas, e os perfis cromatográficos foram revelados, utilizando-se uma solução de vanilina, seguido de aquecimento com ar aquecido com auxílio de secador.

#### 4.1.2 Cromatografia em coluna

A cromatografia em coluna com gel de sílica para cromatografia *flash* (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) permitiu o isolamento do substrato e a purificação dos derivados. Em cada processo cromatográfico utilizou-se uma coluna com diâmetro e comprimento adequado a quantidade do composto a serem purificados. Os eluentes foram preparados a partir dos solventes acetato de etila e hexano.

### 4.2 Métodos de análise

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

Para a obtenção dos padrões espectrais de absorção na região de infravermelho utilizou-se o espectrômetro Shimadzu<sup>®</sup>, modelo IRTracer-100 FT-IR, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI/UFC). Na análise utilizou-se pastilhas de KBr e o intervalo de número de onda na região de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup>.

#### 4.2.2 Espectrometria de massas de alta resolução (EMAR)

Nas análises foi utilizado um Cromatógrafo Líquido Ultimate 3000, ThermoScientific, com coluna Zorbax Eclipse Plus fenil hexil – Agilent (4,6 x 100mm; 3,5 µm), acoplado ao espectrômetro de Massas de Alta Resolução Q-Exactive, ThermoScientific, com fonte H-ESI, operando em modo positivo e negativo, utilizando voltagem do spray 3,5 kV, gás de bainha 30, gás auxiliar 10, temperatura do capilar 350°C, temperatura de gás auxiliar

250 °C, tube lens<sup>55</sup> e faixa de massas  $m/z$  150-850. pertencente ao Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação de Goiânia (CRTI), Goiânia-GO.

#### **4.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)**

Os experimentos de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais, foram realizados em espectrômetro Bruker<sup>®</sup>, modelo Advance DRX-500, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC). As amostras foram dissolvidas em 400 a 600  $\mu\text{L}$  de clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e acondicionadas em tubos de RMN para a análise. Utilizou-se a frequência do hidrogênio a 500 MHz e a frequência do carbono a 125 MHz. As multiplicidades observadas nos espectros de  $^1\text{H}$  foram mencionadas como s (singlete), d (duplete), t (triplete) e m (multiplete). Os valores de descolamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados em relação ao solvente deuterado utilizado.

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado a partir de experimentos de DEPT-135° (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com amplitude positiva para CH e  $\text{CH}_3$ , e amplitude negativa para  $\text{CH}_2$ . Foram realizados experimentos bidimensionais de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Coherence) para determinar correlações a longa distância  $^2J$  e  $^3J$ . O experimento de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation) possibilitou verificar a correlação direta  $^1J$  e o experimento  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (Homonuclear CORrelation SpectroscopY) foi utilizado para determinar os acoplamentos entre hidrogênios.

#### **4.2.4 Ponto de fusão (p.f)**

Os pontos de fusão dos derivados semissintetizados foram determinados em equipamento de Microquímica<sup>®</sup> modelo MQAPF- 302, pertencente ao Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica da Universidade Federal do Ceará (LABS/UFC). As análises foram feitas à uma taxa de aquecimento de 2 °C/min.

### **4.3 Extração e isolamento da estemodina (STME)**

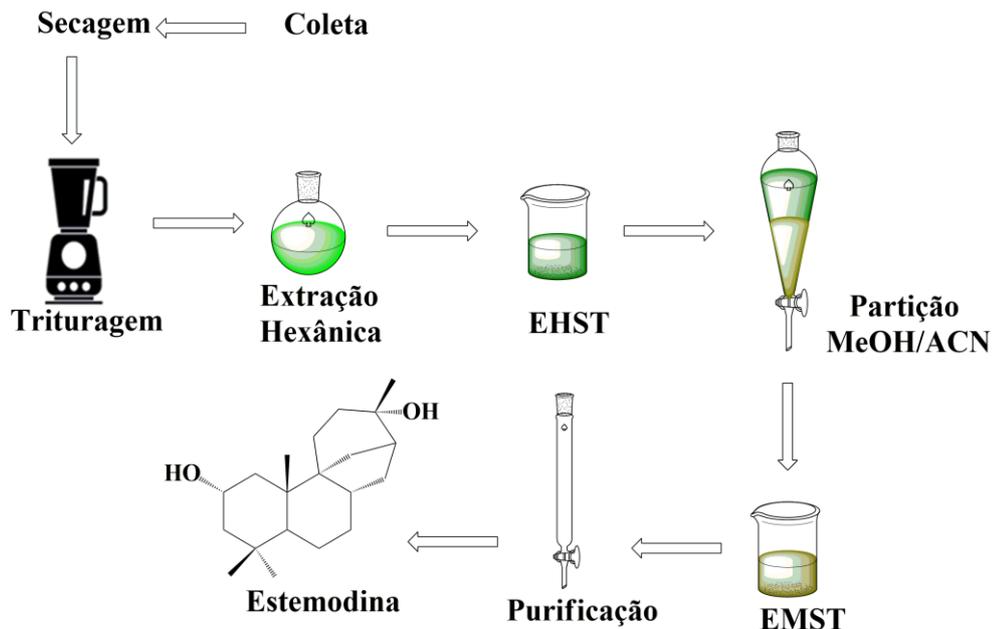
As folhas de *Stemodia maritima* Linn. foram coletadas no município de Pentecostes-CE, 3° 55' 52.71" S e 39° 12' 1 8.24" O, pelo professor Manoel Andrade Neto, em outubro de 2020. Inicialmente, as folhas foram secas à temperatura ambiente e posteriormente trituradas em liquidificador industrial para gerar 700 g de um material na forma de pó. Em

seguida, realizou-se a extração do material com hexano a frio, com intervalos de 48 h entre cada extração.

O material extraído foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo a 40 °C. Após a completa evaporação do solvente, o extrato foi mantido em banho Maria a 50°C, para remoção de solvente residual. Foram obtidos 34 g de um extrato bruto de coloração esverdeada, denominado EHST. Este material foi, em seguida, dissolvido novamente em hexano e submetido a uma partição com acetonitrila/metanol 1:1.

A fração MeCN/MeOH contendo o substrato de interesse, foi concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotativo a 40 °C, gerando 18 g do extrato agora denominado EMST. Este extrato, posteriormente, foi submetido a purificação em coluna, utilizando acetato de etila/hexano como eluente (7:3). Foram coletadas 20 frações de 50 mL, que mediante análise por CCD revelou-se que o metabolito de interesse (estemodina) estava presente entre as frações 13-15. Com isso, as frações foram agrupadas, concentradas em rota evaporador, transferidas para frasco tarado e secas em banho maria a 50 °C. Como resultado foram obtidos 900 mg (5%) de estemodina (**STME**) pura na forma de um sólido branco. O esquema geral para obtenção da estemodina purificada e mostrado na Figura 9.

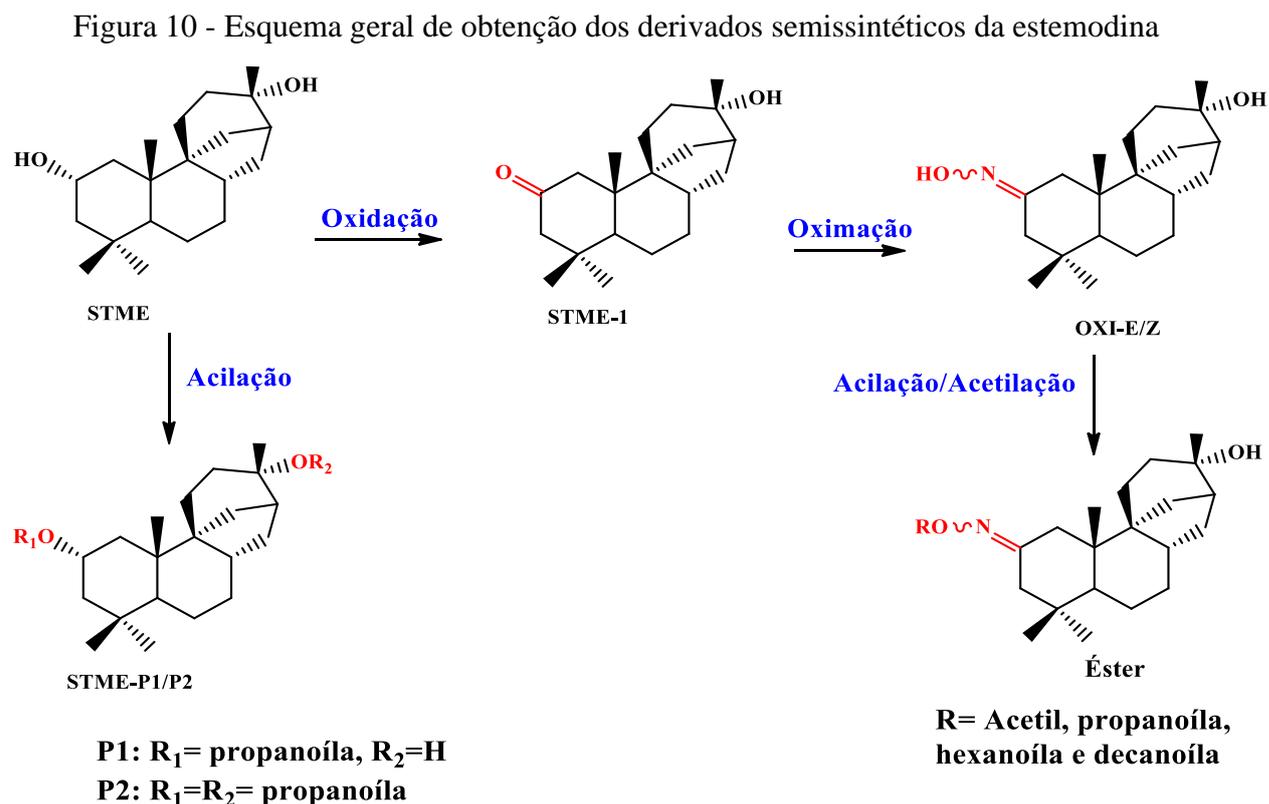
Figura 9 - Esquema geral para obtenção da estemodina



Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4 Semissíntese de derivados

Na obtenção de derivados semissintéticos da estemodina (**STME**) foram empregadas reações de oxidação, oximação, acilação e acetilação do substrato natural. O esquema geral de obtenção dos produtos, com as reações utilizadas, é mostrado na Figura 10.



Fonte: Autoria própria (2021).

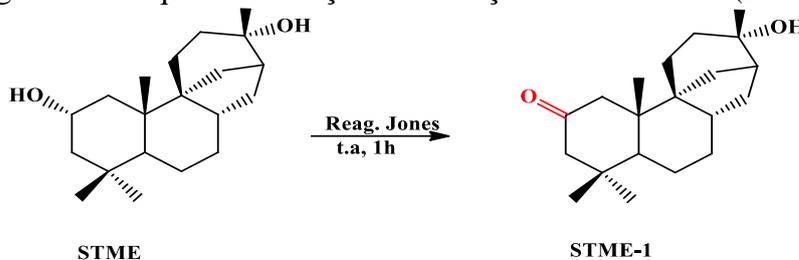
A seguir são apresentadas com maiores detalhes as metodologias semissintéticas utilizadas para a obtenção dos derivados do diterpeno estemodina.

##### 4.4.1 Reação de oxidação da estemodina- **STME**

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 220 mg (0,71 mmol) de **STME** em 3 mL de diclorometano. Posteriormente, adicionou-se 2 mL de reagente de Jones e manteve-se o sistema reacional sob agitação e temperatura ambiente. A reação foi monitorada por CCD com o eluente acetato de etila/hexano 2:1. Após uma hora, realizou-se o tratamento com a adição de 25 mL de água destilada, seguida da extração com diclorometano (5x5 mL). Em seguida, a fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório a 40 °C. O produto obtido foi purificado em coluna aberta, utilizando-se aproximadamente 16 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,5$  cm,  $h = 20,5$  cm) e acetato

de etila/hexano 2:1 em eluição isocrática. Após o processo de purificação, foram obtidos 210 mg do produto puro, na forma de um sólido branco, denominado **STME-1**, com um rendimento de 96,33 %. O esquema dessa reação é mostrado na Figura 11.

Figura 11 - Esquema da reação de oxidação da estemodina (**STME**)

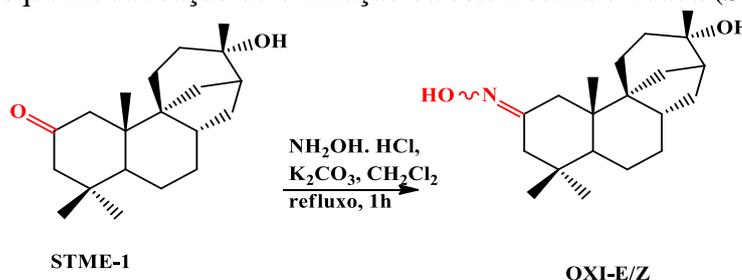


Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.2 Reação de oximação de **STME-1**

Em um balão de fundo redondo (25 mL), foram adicionados 248,11 mg de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e 82,27 mg de cloridrato de hidroxilamina, seguido de, 129,6 mg de **SMTE-1** (0,4256 mmol) e aproximadamente 3 mL de diclorometano. A mistura reacional foi mantida sob refluxo a 60 °C e monitorada por CCD, utilizando-se acetato de etila/hexano (1:1) como eluente. Após o término da reação, o meio reacional foi tratado com 30 mL de água destilada, e extraído com diclorometano (3x10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtrada e concentrada em evaporador rotatório. Posteriormente, o produto bruto foi purificado em coluna aberta, com aproximadamente 20 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,0$  cm;  $h = 46$  cm), utilizando-se acetato de etila/hexano 2:1 em eluição isocrática. Após o processo de purificação, foram obtidos os dois produtos **OXI-Z** (54,4mg; 40,00 %) e **OXI-E** (47,7 mg; 35,08 %) ambos na forma de sólidos brancos. O esquema reacional para semissíntese destes derivados é mostrado na Figura 12.

Figura 12 - Esquema da reação de oximação da estemodina oxidada (**STME-1**)



Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.3 Reação de acetilação de OXI-Z com anidrido acético

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 10,7 mg de **OXI-Z** (0,033 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, foram adicionados 8 mg (0,066 mmol) de DMAP, 6,24  $\mu$ L (0,066 mmol) de anidrido acético e 9  $\mu$ L (0,066 mmol) de Et<sub>3</sub>N. A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e acompanhada por CCD, utilizando acetato de etila/hexano 2:1 como eluente. Após o término da reação (1h), o solvente foi removido em evaporador rotatório sob vácuo. O produto foi purificado em cromatografia em coluna aberta, utilizando 8 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05$  cm;  $h = 18,0$  cm), em eluição isocrática com acetato de etila/hexano 2:1, como eluente. Após a purificação cromatográfica, foi obtido o produto **OXI-Z1** com 10 mg (82,57 %) na forma de um sólido branco. O esquema reacional para obtenção deste derivado é mostrado na Figura 13.

Figura 13 - Esquema da reação de acetilação de **OXI-Z**.

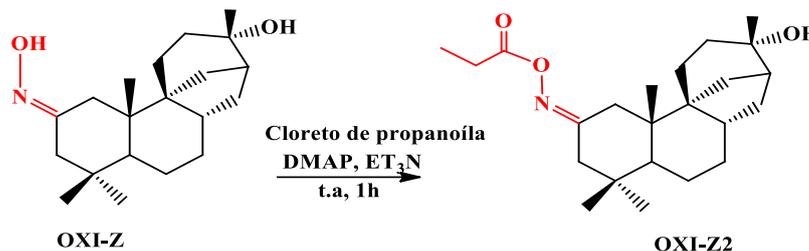


Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.4 Reação de acilação de OXI-Z com cloreto de propanoíla

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 21 mg de **OXI-Z** (0,0626 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se 7,648 mg (0,0626 mmol) de DMAP, 26,18  $\mu$ L (0,188 mmol) de Et<sub>3</sub>N e 16,33  $\mu$ L (0,188 mmol) de cloreto de propanoíla. A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente e acompanhada por CCD, utilizando-se acetato de etila/hexano 2:1 como eluente. Após o término da reação, o solvente do meio reacional foi evaporado em evaporador rotatório a 40 °C. O produto obtido foi submetido à purificação cromatográfica, em coluna aberta utilizando 6 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05$  cm;  $h = 12$  cm), em eluição isocrática com acetato de etila/hexano 2:1. Após o processo de purificação obteve-se o produto **OXI-Z2** (23,9 mg; 96,82 %) na forma de um líquido viscoso. O esquema reacional é mostrado na Figura 14.

Figura 14 - Esquema da reação de acilação de **OXI-Z** com cloreto de propanoíla

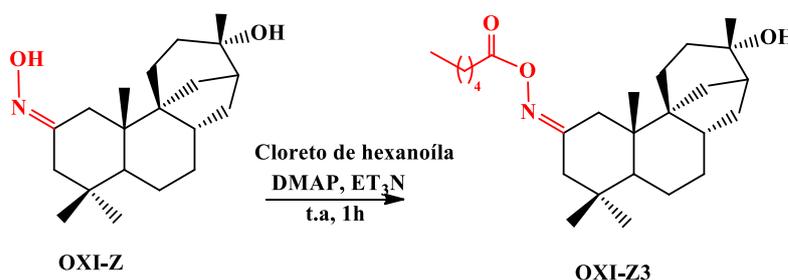


Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.5 Reação de acilação de **OXI-Z** com cloreto de hexanoíla

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 20 mg de **OXI-Z** (0,0626 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, foram adicionados 7,648 mg (0,0626 mmol) de DMAP, 26,18  $\mu\text{L}$  (0,188 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$  e 26,28  $\mu\text{L}$  (0,188 mmol) de cloreto de hexanoíla. A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e monitorada por CCD com hexano/acetato de etila 2:1 como eluente. Após o término da reação, o solvente do meio reacional foi evaporado em evaporador rotatório a 40 °C. Posteriormente, o produto obtido foi submetido à cromatografia em coluna aberta utilizando 8 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05\text{cm}$ ;  $h = 18\text{ cm}$ ) em eluição isocrática com o eluente hexano/acetato de etila 2:1. Após o processo de purificação, o produto **OXI-Z3** foi obtido com 18,2 mg (56,36 %) na forma de um líquido viscoso. O esquema reacional na Figura 15.

Figura 15 - Esquema da reação de acilação de **OXI-Z** com cloreto de hexanoíla



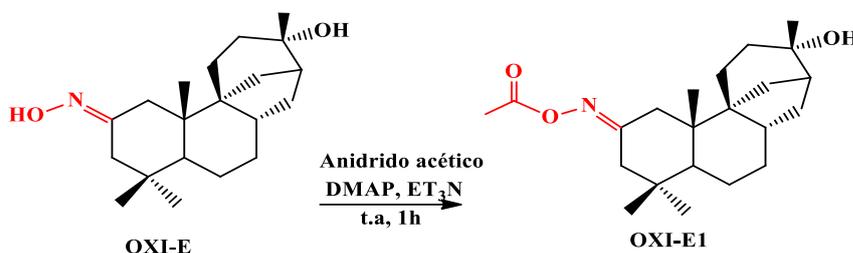
Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.6 Reação de acetilação de **OXI-E** com anidrido acético

Em um balão de fundo redondo (25 mL), foram dissolvidos 15 mg de **OXI-E** (0,053 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, 12 mg (0,094 mmol) de DMAP, 8,88  $\mu\text{L}$  (0,094 mmol) de anidrido acético e 12,8  $\mu\text{L}$  (0,094 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$ . A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e acompanhada por CCD, utilizando-se acetato

de etila/hexano 2:1 como eluente. Após o término da reação, o solvente foi removido em evaporador rotatório a 40 °C. O produto foi purificado por cromatografia em coluna aberta utilizando 8 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05$  cm;  $h = 18,0$  cm), com eluição isocrática com acetato de etila/ hexano 2:1 como eluente. Após a purificação, o produto **OXI-E1** foi obtido com 18,5 mg (96.20 %) na forma de um sólido branco. O esquema reacional é mostrado na Figura 16.

Figura 16 - Esquema da reação de acetilação de **OXI-E**

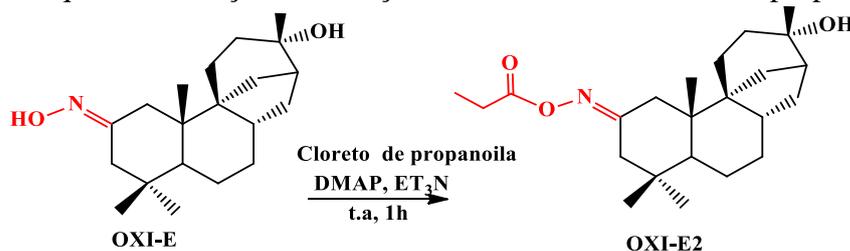


Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.7 Reação de acilação de **OXI-E** com cloreto de propanoíla

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 15 mg de **OXI-E** (0,0469 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se 5,73 mg (0,0469 mmol) de DMAP, 12,22  $\mu\text{L}$  (0,1407 mmol) de cloreto de propanoíla e 19,59  $\mu\text{L}$  (0,1407 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$ . A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e monitorada por CCD, utilizando-se acetato de etila/hexano 2:1 como eluente. Após o término da reação, o solvente foi removido em evaporador rotatório a 40 °C. Posteriormente, o produto foi purificado por cromatografia em coluna aberta utilizando-se 7 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05$  cm;  $h = 15,0$  cm), com eluição isocrática, e utilizando como eluente acetato de etila/hexano 2:1. Após o processo de purificação, foi obtido o produto **OXI-E2** com 15 mg (85,08%) na forma de um sólido branco. O esquema reacional é mostrado na Figura 17.

Figura 17 - Esquema da reação de acilação de **OXI-E** com cloreto de propanoíla.



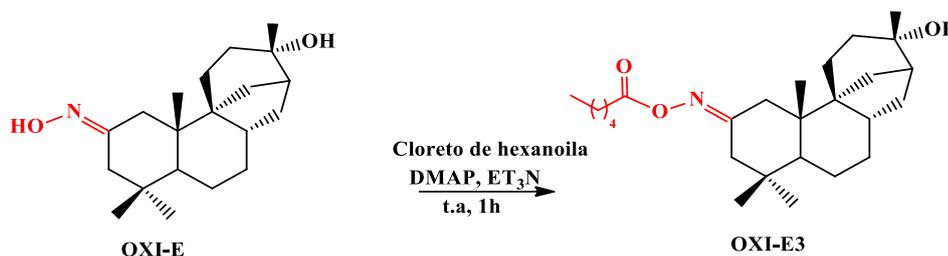
Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.8 Reação de acilação de OXI-E com cloreto de hexanoíla

Em um balão reacional (25 mL), foram dissolvidos 20 mg de **OXI-E** (0,0626 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se 7,65 mg (0,0626 mmol) de DMAP, 26,25  $\mu\text{L}$  (0,1878 mmol) de cloreto de hexanoíla e 26,15  $\mu\text{L}$  (0,1878 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$ . A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e acompanhada por CCD com o eluente acetato de etila/hexano 2:1.

Após duas horas reacionais, o solvente foi removido em evaporador rotatório a 40 °C. O produto obtido foi submetido à purificação em coluna cromatográfica utilizando-se 21 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,0$  cm;  $h = 46$  cm), em eluição isocrática com hexano/acetato de etila 1:1 como eluente. Após o processo de purificação, o produto **OXI-E3** foi obtido com 15,7 mg (60,05 %) na forma de um sólido branco. O esquema reacional para obtenção deste derivado é mostrado na Figura 18.

Figura 18 - Esquema da reação de acilação de **OXI-E** com cloreto de hexanoíla



Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.9 Acilação de OXI-E com cloreto de decanoíla

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 12,7 mg de **OXI-E** (0,0398 mmol) em 3 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se 9,72 mg (0,0796 mmol) de DMAP, 16,52  $\mu\text{L}$  (0,076 mmol) de cloreto de decanoíla e 16,73  $\mu\text{L}$  (0,1194 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$ . A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e acompanhada por CCD com o eluente acetato de etila/hexano 2:1. Após o término da reação, o solvente foi removido do meio reacional e evaporado em evaporador rotatório a 40 °C. Posteriormente, o produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica aberta utilizando 7 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,05$  cm;  $h = 15$  cm) com eluição isocrática, utilizando como eluente acetato de etila/hexano 2:1. Após o processo de purificação, o produto **OXI-E4** foi obtido com

17,5 mg (92,93%) na forma de um líquido viscoso. O esquema reacional para a obtenção deste derivado é mostrado na Figura 19.

Figura 19 - Esquema da reação de acilação de **OXI-E** com cloreto de decanoíla.

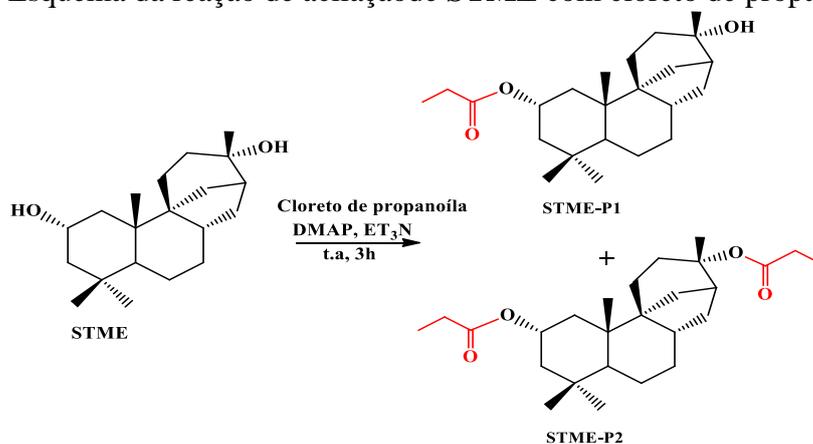


Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.4.10 Reação de acilação de **STME** com cloreto de propanoíla

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram dissolvidos 20 mg de estemodina (**SMTE**) (0,065 mmol) em 5 mL de diclorometano e, em seguida, foram adicionados 28,40  $\mu\text{L}$  (0,326 mmol) de cloreto de propanoíla, 9,05  $\mu\text{L}$  (0,065 mmol) de  $\text{Et}_3\text{N}$  e 0,79 mg (0,0065 mmol) de DMAP. A reação foi realizada sob agitação magnética à temperatura ambiente e acompanhada por CCD, utilizando-se hexano como eluente. Após três horas reacionais, o solvente foi removido em evaporador rotatório a 40  $^\circ\text{C}$ , e os produtos obtidos foram purificados em coluna cromatográfica utilizando-se 23 g de sílica para cromatografia *flash* ( $\Phi = 1,0\text{cm}$ ;  $h = 45\text{ cm}$ ), com hexano 100% como eluente. Após o processo de purificação, foram obtidos os produtos **STME-P1** (monoacilado) com 16 mg (67,65%) de rendimento e **STME-P2** (diacilado) com 8 mg (30%). Ambos os produtos foram obtidos na forma de líquidos. O esquema reacional é representado na Figura 20.

Figura 20 - Esquema da reação de acilação de **STME** com cloreto de propanoíla



Fonte: Autoria própria (2021).

## 4.5 Atividade biológica

### 4.5.1 Atividade citotóxica

Os ensaios de citotoxicidade pelo método do MTT, frente a células cancerígenas, foram realizados no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará (LOE-UFC) sob a coordenação da Dra. Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira com a supervisão da Profa. Claudia Pessoa. Análises de citotoxicidade pelo método do MTT são comumente utilizadas em centros de referência, como é o caso do programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 substâncias por ano (SKOEHAN et al., 1990).

É um método rápido, sensível e barato, que foi descrito primeiramente por Mosman (1983) e que permite analisar a viabilidade e o estado metabólico celular. É uma análise colorimétrica 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. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação.

Nos ensaios, todas as amostras foram dissolvidas em DMSO na concentração estoque de  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ , sendo mantidas sob refrigeração ( $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) até o momento do uso. Foi utilizada a Doxurrubicina como controle positivo na concentração estoque de 1 mM.

Tabela 1 - Linhagens celulares e suas especificações

Linhagens celulares	Tipos	Concentração de plaqueamento (células/ml)	Meio de cultivo
<b>HCT-116</b>	Carcinoma de colon retal	$0,7 \times 10^5$	RPMI 1640
<b>PC-3</b>	Carcinoma de próstata	$0,1 \times 10^6$	RPMI 1640
<b>HL 60</b>	Leucemia promielocítica	$0,3 \times 10^6$	RPMI 1640
<b>SNB-19</b>	Glioblastoma multiforme	$0,1 \times 10^6$	RPMI 1640

Fonte: Autoria própria (2021).

As linhagens de células cancerígenas humanas, mostradas na Tabela 1, foram plaqueadas nas concentrações de  $0,3 \times 10^6 \text{ céls.mL}^{-1}$  para HL 60,  $0,1 \times 10^6 \text{ céls.mL}^{-1}$  PC3 e SNB19, enquanto para HCT 116 foi de  $0,7 \times 10^5$ . Após 24 horas estas foram tratadas com as substâncias teste em concentração única de  $25 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$  em quadruplicata. Depois de 72 h incubadas, em estufa a 5% de  $\text{CO}_2$  na temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ , as placas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados  $100 \text{ } \mu\text{L}$  da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram reincubadas por 3h. Após a reincubação as placas foram

novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT e posteriormente foi adicionado 100  $\mu$ L de DMSO puro. Após ocorrer a total dissolução do precipitado de formazan foi realizada a leitura em espectrofotômetro de placa a 595 nanômetros

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização estrutural de estemodina (STME)

O metabólito estemodina (**STME**), Figura 21, foi obtido na forma de um sólido branco, com ponto de fusão na faixa de 189,9-192,4 °C. O espectro na região do infravermelho (IV), Figura 22, mostra bandas de deformação axial de ligação O-H em 3313 cm<sup>-1</sup>, deformação axial de ligação C-H de carbono *sp*<sup>3</sup> em 2935 cm<sup>-1</sup>, deformação axial em 1030 da ligação C-O, e deformações angulares de CH<sub>2</sub> em 1467 e CH<sub>3</sub> em 1367 cm<sup>-1</sup>.

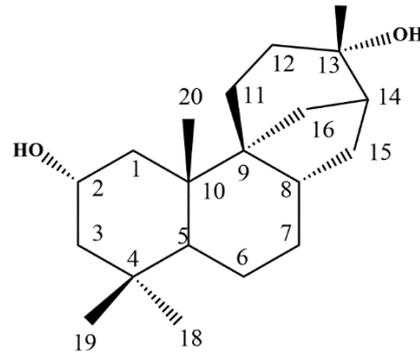
Analisando-se os espectros de RMN de <sup>13</sup>C (Figura 23), em comparação com o DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>/125 MHz), Figura 24, foi possível destacar a presença de quatro sinais de carbonos metílicos C-17 (28,21); C-18 (34,73); C-19 (23,80) e C-20 (19,76). Oito sinais de carbonos metilênicos C-1 (45,89); C-3 (50,82); C-6 (22,20); C-7 (36,61); C-11 (27,82); C-12 (32,89); C-15 (38,22); C-16 (30,20). Três sinais de carbono metínicos C-5 (46,70); C-8 (37,01); C-14 (46,29), além de dois sinais mais desprotegidos C-2 (65,47) e C-13 (72,68), possivelmente, de carbonos carbinólicos. Os sinais em 34,92; 50,30 e 40,34 ppm foram atribuídos aos carbonos C-4, C-9 e C-10, respectivamente.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/500MHz) de **STME** (Figura 25) mostrou o seguinte padrão de sinais δ: 2,00 (H-1, s, 1H); 3,74 (H-2, m, 1H); 1,75 (H-3, s, 1H); 1,22 (H-5, d, *J* = 3,3Hz, 1H), 1,40 (H-6, s, 1H); 1,91 (H-7, s, 1H); 1,73 (H-8, m, 1H); 1,63 (H-11, m, 1H); 1,51 (H-12, m, 1H); 1,97 (H-14, m, 1H); 1,70 (H-15, s, 1H); 1,82 (H-16, d, *J* = 11,6, 2H); 1,11 (H-17, s, 3H); 0,94 (H-18, s, 3H); 0,91 (H-19, s, 3H); 0,97 (H-20, s, 3H).

Os dados espectrais bidimensionais <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMBC, revelaram as correlações a longa distância (<sup>2</sup>*J* e <sup>3</sup>*J*) entre hidrogênios e carbonos (Figura 26). Dentre as correlações observadas, destacam-se as correlações entre H-17→C-12 (**a**), H-17→C-13 (**b**), H-17→C-14 (**c**), H-18→C-19 (**d**), H-18→C-4 (**e**), H-18→C-5 (**f**), H-18→C-3 (**g**), H-19→C-18 (**h**), H-19→C-5 (**i**), H-19→C-3 (**j**), H-20→C-10 (**k**), H-20→C-1 (**l**) e H-20→C-9 (**m**).

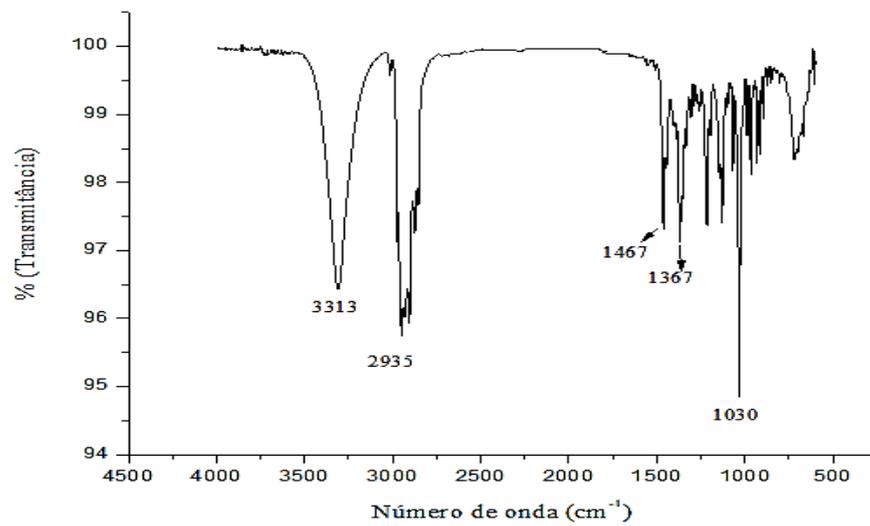
A partir das análises dos dados espectrais bidimensionais <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HSQC (Figura 27), que se encontram sumariados na Tabela 2, além de comparação com dados da literatura, foi possível fazer a atribuição inequívoca de todos os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos de **STME**. Além disso, o espectro de massa de alta resolução (Figura 28) obtido por ionização por eletrospray, mostrou no modo positivo, a presença do pico *m/z* em 329,2441 daltons, referente ao aduto de sódio [M+Na]<sup>+</sup>. Esse sinal confirma a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>, a massa molar de 306,2544 daltons.

Figura 21 - Fórmula estrutural da estemodina (**STME**)



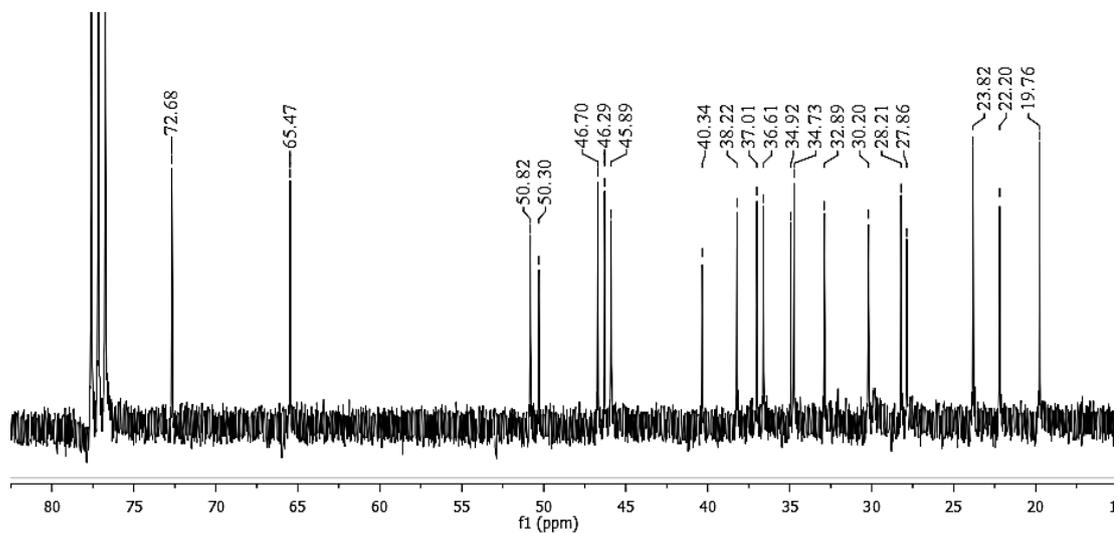
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 22 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **STME**



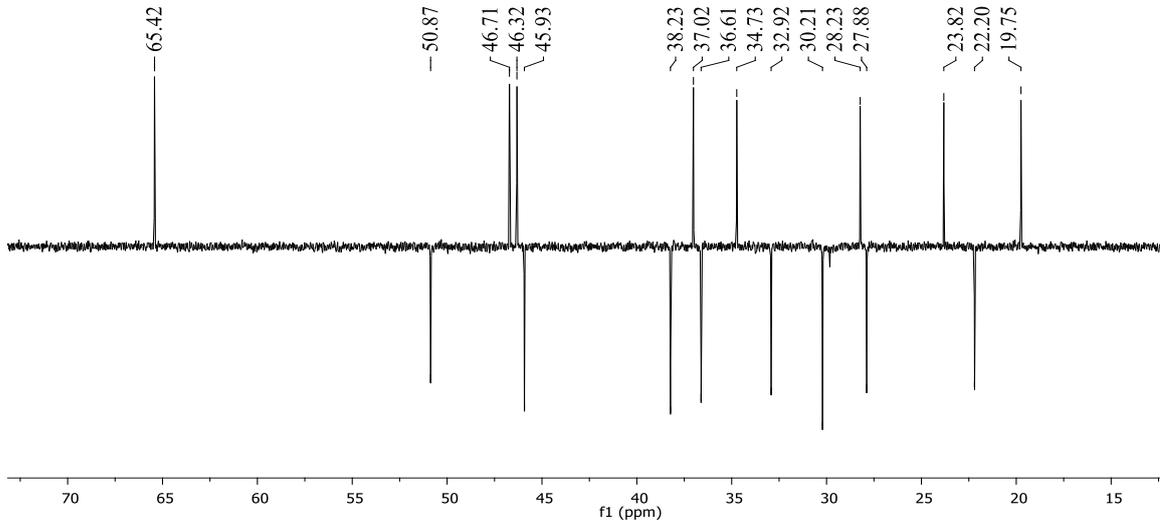
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 23 - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **STME** (CDCl<sub>3</sub>/125MHz)



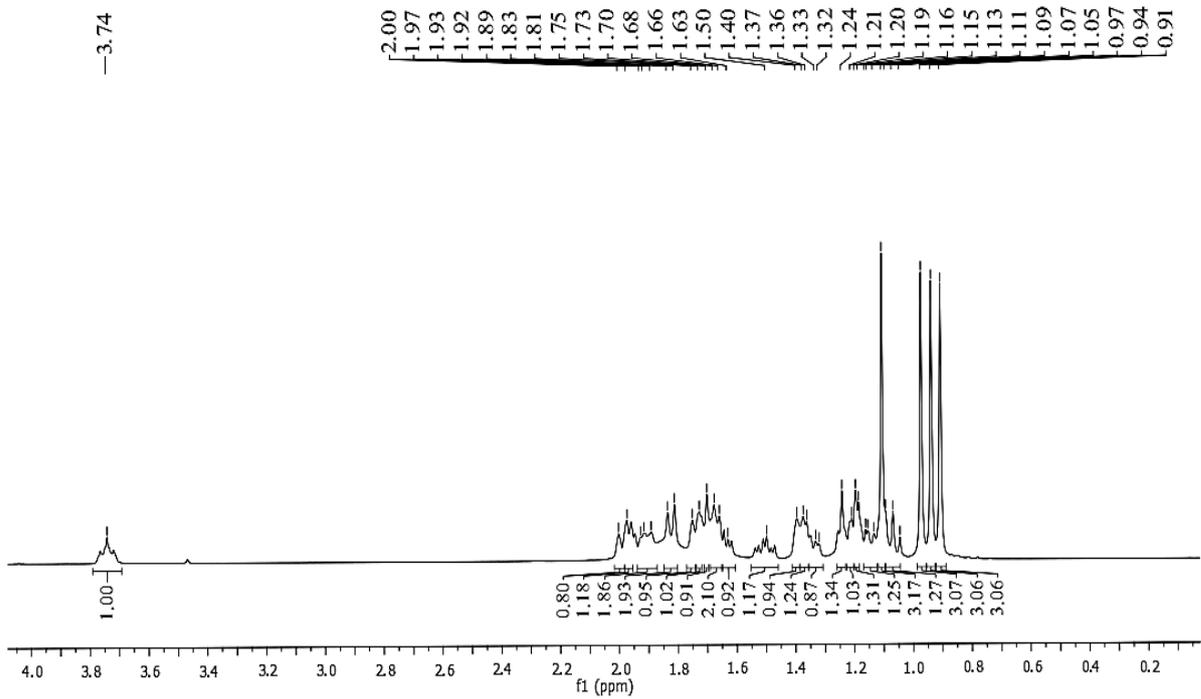
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 24 -Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135° de **STME** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



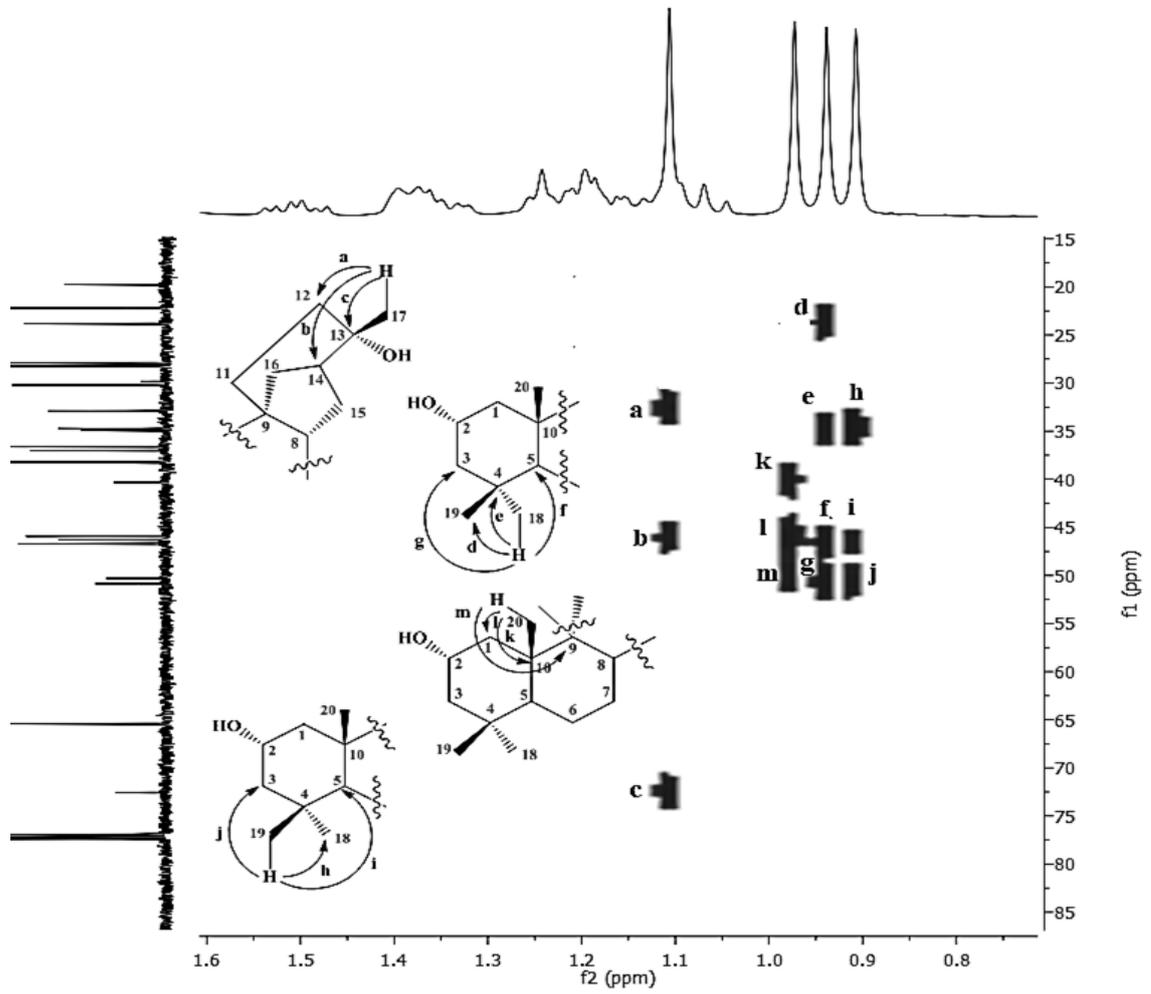
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 25 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **STME** ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ )



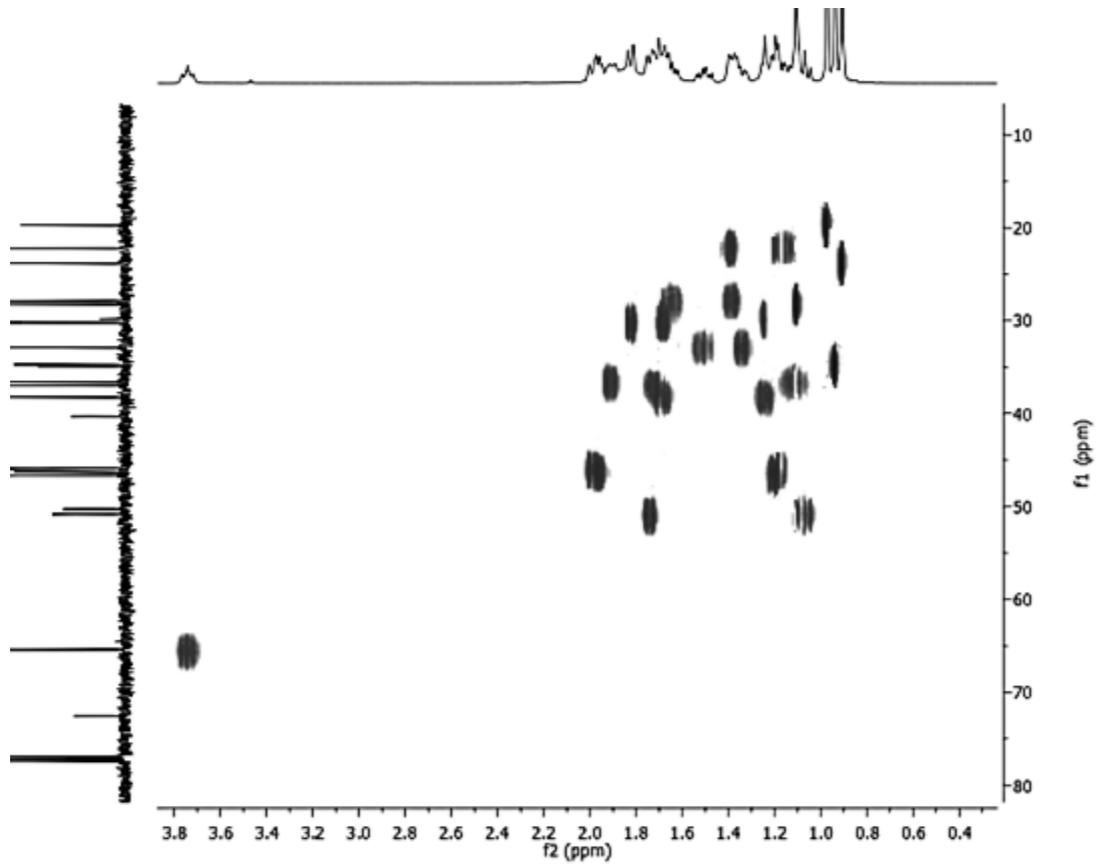
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 26 - Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de **STME** ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{ MHz}$ )



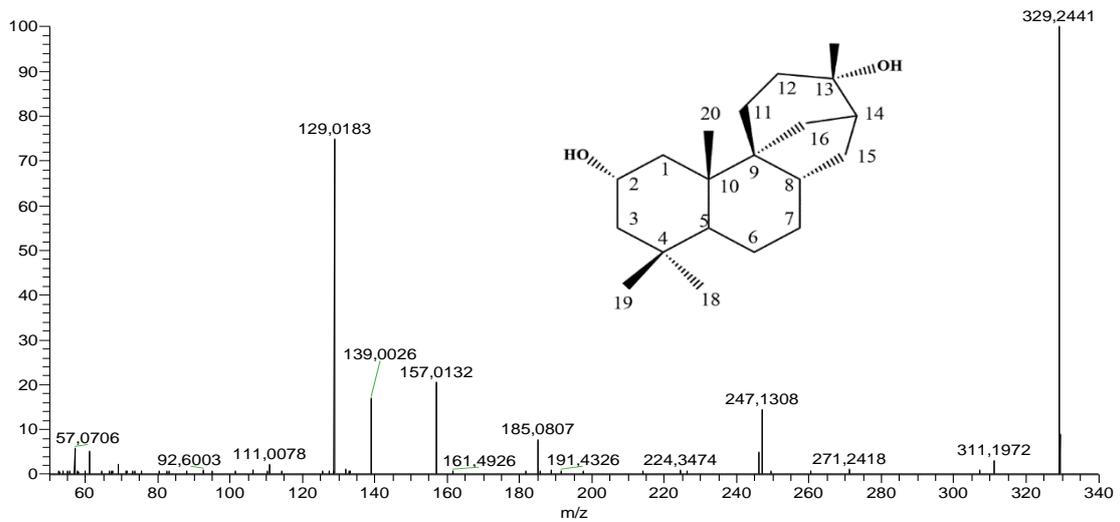
Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 27 - Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC de **STME** ( $\text{CDCl}_3/500/125$  MHz)



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 28 - Espectro de massa de alta resolução de **STME**



Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 2 - Dados de deslocamentos químicos ( $\delta$  em ppm) de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **STME** em comparação com dados da literatura (RODRIGUES et al., 2010)

#C	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$ Lit.	$\delta$ $^{13}\text{C}$	$\delta$ $^1\text{H}$
<b>1</b>	46,0	1,99; 1,21	45,89	2,00 (s, 1H); 1,16 (m, 1H)
<b>2</b>	65,5	3,77 (tt, $J=11,9$ ; 3,7 Hz)	65,47	3,74 (m, 1H)
<b>3</b>	50,9	1,78; 1,09 (t, $J=11,9$ )	50,82	1,75(s, 1H); 1,07 (m, 1H)
<b>4</b>	35,0	-	34,73	-
<b>5</b>	46,7	1,24	46,70	1,22 (d, 1H)
<b>6</b>	22,2	1,42; 1,21	22,20	1,40 (s, 1H); 1,20 (d, $J=3,3$ Hz, 1H)
<b>7</b>	36,6	1,92; 1,15	36,61	1,91(m, 1H); 1,16 (m, 1H)
<b>8</b>	37,0	1,76	37,01	1,73 (m, 1H)
<b>9</b>	50,3	-	50,30	-
<b>10</b>	40,4	-	40,33	-
<b>11</b>	27,9	1,65; 1,40	27,86	1,63 (t, 1H); 1,37 (m, 1H)
<b>12</b>	33,0	1,57; 1,43	32,88	1,51 (m, 1H); 1,33 (m, 1H)
<b>13</b>	72,6	-	72,68	-
<b>14</b>	46,3	1,96	46,29	1,97 (m, 1H)
<b>15</b>	38,3	1,74; 1,26	38,22	1,70 (s, 1H); 1,25 (m, 1H)
<b>16</b>	30,2	1,82 (d, $J=1,6$ Hz)	30,20	1,82 (d, $J=11,6$ Hz, 2H)
<b>17</b>	28,3	1,13	28,21	1,11 (s, 3H)
<b>18</b>	34,8	0,96	34,92	0,94 (s, 3H)
<b>19</b>	23,9	0,93	23,82	0,91 (s, 3H)
<b>20</b>	19,8	0,99	19,76	0,97 (s, 3H)

Fonte: Autoria própria (2021).

### 5. 1.1 Caracterização estrutural de **STME-1**

O derivado **STME-1** (Figura 29) foi obtido a partir da oxidação **STME** com reagente de Jones, com 96,33% de rendimento. O composto foi purificado na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 215,4-216,7 °C. O espectro de infravermelho (Figura 30) mostra bandas de deformação axial de ligação O-H de álcool em 3471  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial de ligação C-H de carbono  $sp^3$  em 2945  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial em 1723 da ligação C=O de carbonila de cetona, deformações angulares de  $\text{CH}_2$  em 1456 e  $\text{CH}_3$  em 1369  $\text{cm}^{-1}$ , além da deformação angular de ligação C-CO-C de cetona em 1200  $\text{cm}^{-1}$ , que justificam a formação do produto oxidado.

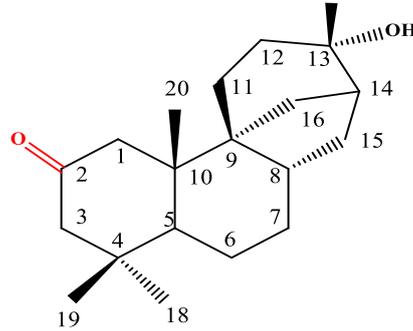
Analisando os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 31) e DEPT 135° ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) de **STME-1** (Figura 32), verificou-se a presença de vinte sinais para carbonos em diferentes ambientes eletrônicos, sendo sete sinais de CH ou  $\text{CH}_3$ , oito sinais de  $\text{CH}_2$  e cinco de carbonos

não hidrogenados. Evidencia-se o aparecimento do sinal em 212,45, de carbono não hidrogenado e que foi atribuído ao C-2. A mudança química sofrida em relação ao substrato, pode ser explicada pelo aumento da eletronegatividade do átomo de oxigênio devido a sua hibridação  $sp^2$  e conseqüentemente maior desproteção do carbono diretamente ligado a ele. Outras mudanças de aproximadamente quatro ppm foram observadas nos deslocamentos químicos de carbonos- $\alpha$  à carbonila, ou seja, C-1 e C-3 provocadas também por efeitos de desblindagem. A seguir são mostradas as correlação dos deslocamentos químicos de carbono em ppm: C-1(51,61); C-2 (212,45); C-3(56,06); C-4 (39,29); C-5 (47,41); C-6 (22,69); C-7(36,20); C-8 (37,43); C-9 (50,30); C-10 (44,91); C-11 (28,07); C-12 (32,87); C-13 (72,23); C-14 (46,07); C-15 (38,32); C-16 (30,56); C-17 (28,34); C-18 (34,57); C-19 (24,06) e C-20 (18,87).

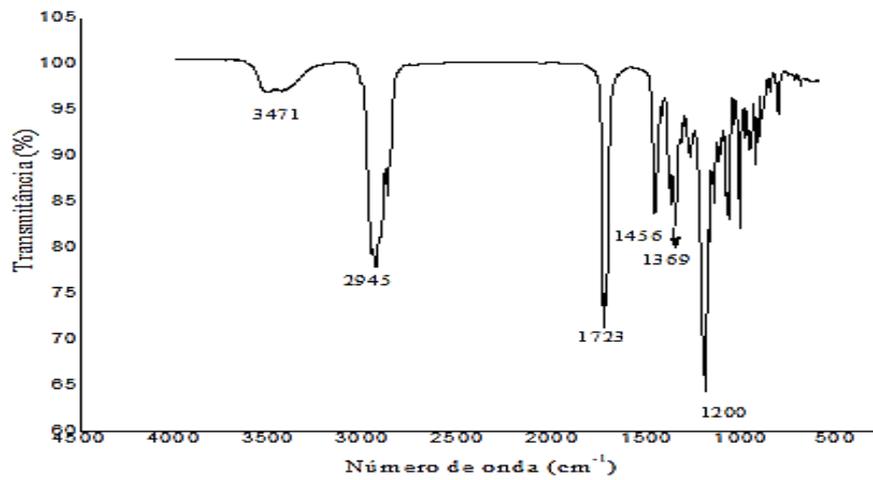
Analisando o espectro de  $^1H$  de ( $CDCl_3/500$  MHz) de **STME-1** (Figura 33) observa-se o desaparecimento do multipeto em 3,74 ppm gerado a partir do acoplamento de H-2 com H-1 e H-3. Além disso, evidencia-se os deslocamentos químicos dos hidrogênios em carbono alfa ao grupo carbonila que devido a efeitos desproteção aparecem em 2,41 (d,  $J = 12Hz$ , 1H) e 2,28 ppm (m, 2H) para os hidrogênios do C-1 e em 2,32 (m, 1H) e 2,06 (d,  $J = 12,8$  Hz, 1H) referente os hidrogênios do C-3.

O espectro mostra ainda o seguinte padrão de sinais  $\delta$ : 1,77 (H-5, m, 1,77, 1H); 1,47 (H-6, m, 1,47, 1H); 1,95 (H-7, m, 1,95, 1H) 1,24 (H-7, m, 1H); 1,73 (H-8, m, 1H); 1,49 (H-11, m, 1H); 1,35 (H-11, m, 1H); 1,49 (H-12, m, 1H); 1,34 (H-12, m, 1H); 1,98 (H-14, m, 1H); 1,72 (H-15, s, 1H); 1,80 (H-16, m, 1H); 1,77 (H-16, s, 1H); 1,11 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,91(H-19, s, 3H); 0,94 (H-20, s, 0,94, 3H).

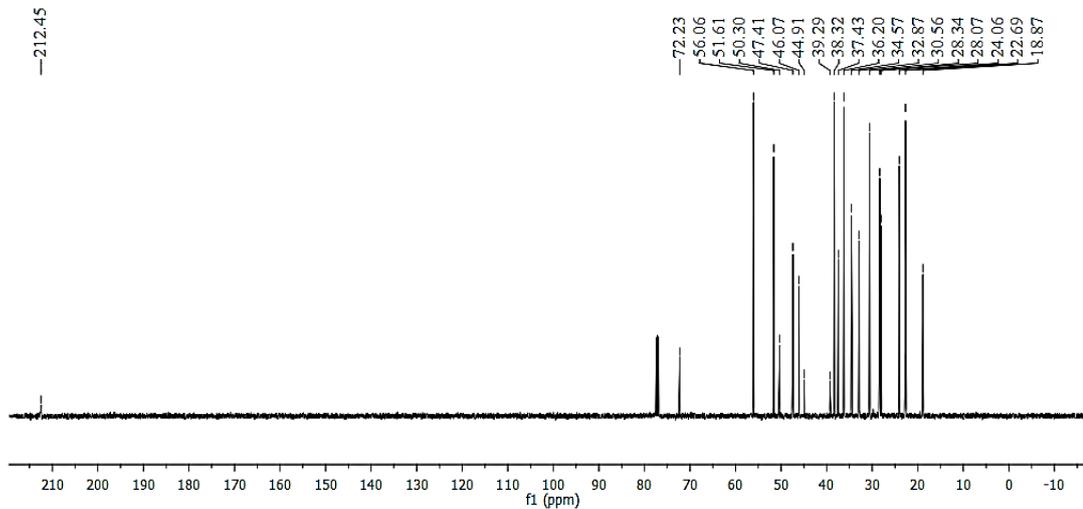
A correlação entre os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos foram determinadas a partir dos experimentos bidimensionais  $^1H,^{13}C$ -HSQC ( $CDCl_3/500/125MHz$ ) (Figura 34). O experimento bidimensional  $^1H,^{13}C$ -HMBC ( $CDCl_3/500/125MHz$ ) (Figura 35) possibilitou a análise de correlações entre carbonos e hidrogênios ( $^2J$  e  $^3J$ ) As mais importantes foram H-1 $\rightarrow$ C-9 (a); H-1 $\rightarrow$ C-10 (b); H-1 $\rightarrow$ C-2 (c); H-1 $\rightarrow$ C-20 (d); H-3 $\rightarrow$ C-19 (e); H-3 $\rightarrow$ C-4 (f); H-3 $\rightarrow$ C-5 (g); H-3 $\rightarrow$ C-1 (h); H-3 $\rightarrow$ C-2 (i); H-17 $\rightarrow$ C-13 (j); H-17 $\rightarrow$ C-14 (k); H-17 $\rightarrow$ C-12 (l); H-18 $\rightarrow$ C-3 (m); H-18 $\rightarrow$ C-5 (n); H-18 $\rightarrow$ C-4 (o); H-18 $\rightarrow$ C-19 (p); H-19 $\rightarrow$ C-18 (q); H-19 $\rightarrow$ C-4 (r); H-19 $\rightarrow$ C-5 (s); H-19 $\rightarrow$ C-3 (t). Os acoplamentos mais importantes observadas no experimento de  $^1H,^1H$ -COSY ( $CDCl_3/500MHz$ ), Figura 36, foram dos acoplamentos geminais dos hidrogênios alfa à carbonila H-1(2,40) $\rightarrow$ H-1(2,28) e H-3 (2,30) $\rightarrow$ H-3 (2,06).

Figura 29 - Fórmula estrutural de **STME-1**

Fonte: Autoria própria (2021).

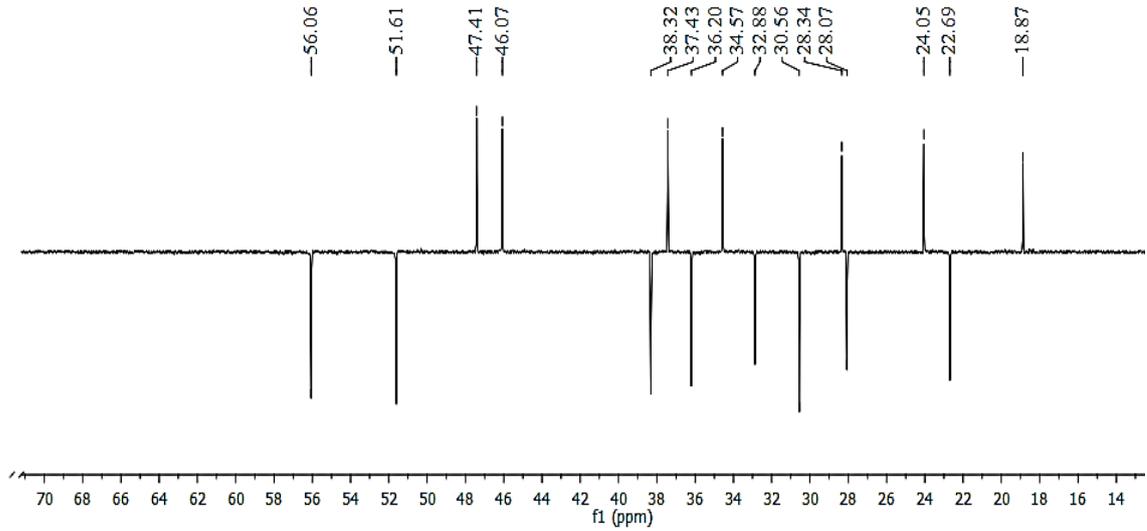
Figura 30 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **STME-1**

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 31 - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **STME-1** (CDCl<sub>3</sub>/125MHz)

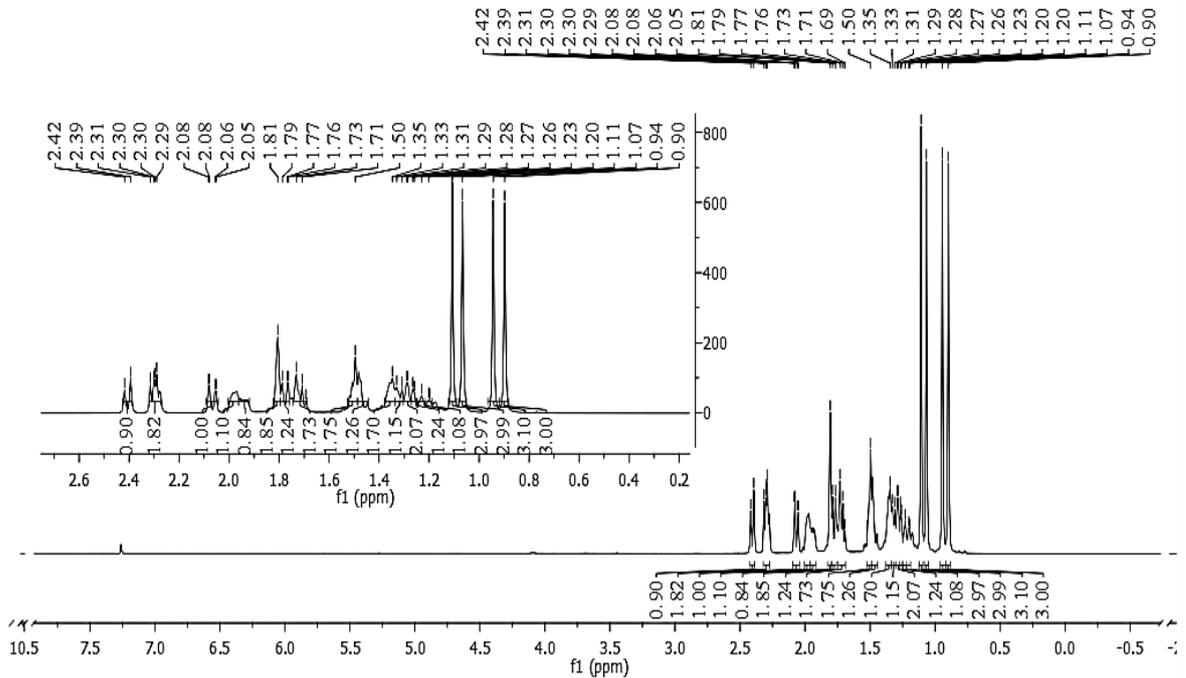
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 32 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135° de **STME-1** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



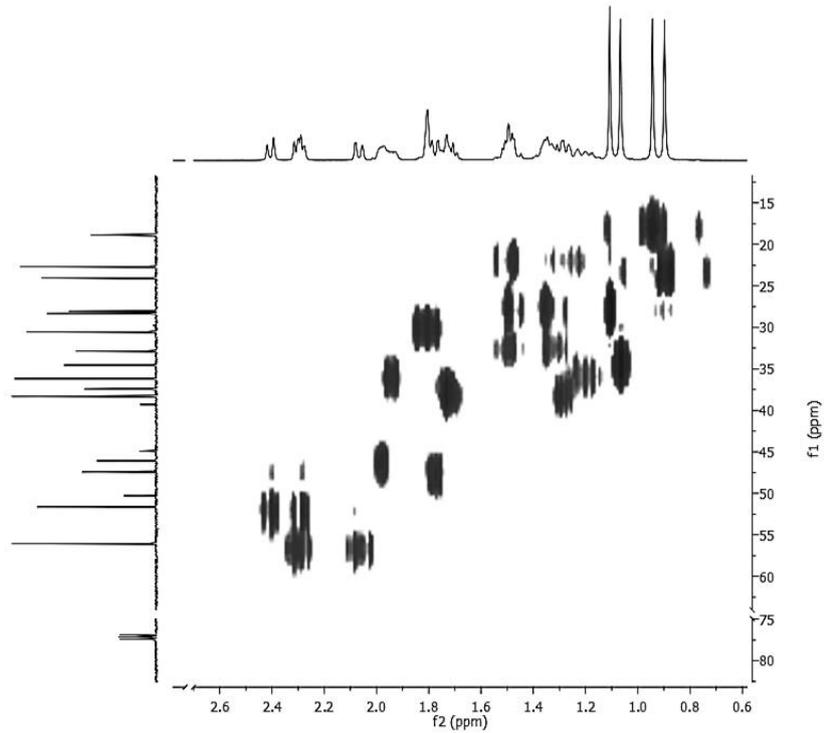
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 33 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **STME-1** e expansão ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



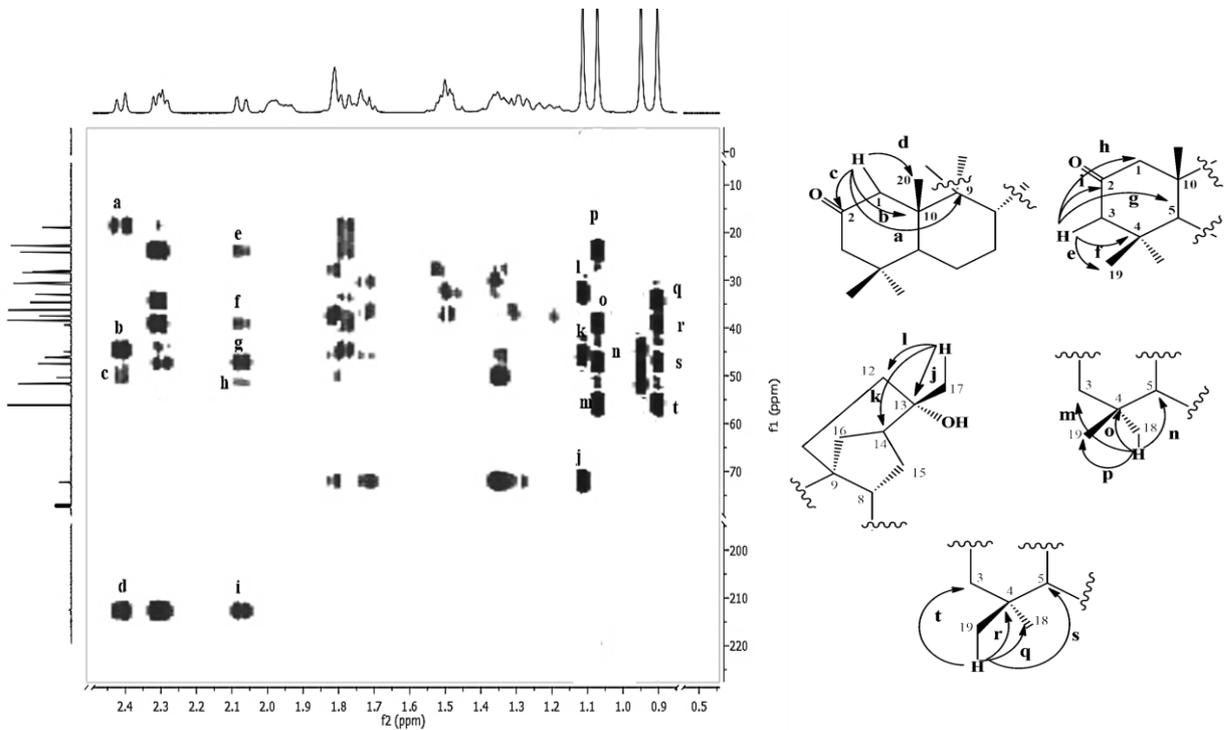
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 34 - Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC de **STME-1**( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ )



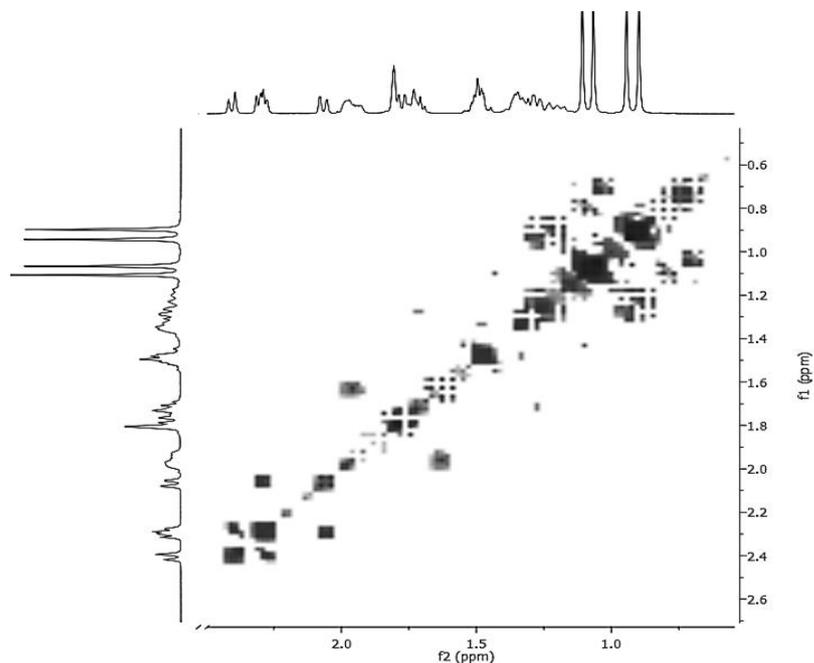
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 35 -Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC de **STME-1** ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 36 -Espectro de RMN  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY de **STME-1**( $\text{CDCl}_3$ /500MHz)



Fonte: Autoria própria, 2020.

### 5.1.2 Caracterização estrutural de OXI-Z

O derivado **OXI-Z** (Figura 37) foi obtido a partir da reação de oximação de **STME-1**, com 40% de rendimento. O produto foi isolado na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 112,4-113,5 °C. O espectro de infravermelho (IV) de (Figura 38) mostra a presença de deformações axiais da ligação O-H de álcool em  $3400\text{ cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $sp^3$  em  $2915$  e deformação axial da ligação C=N de oxima em  $1685\text{ cm}^{-1}$ .

Analisando o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ /125MHz) de **OXI-Z** (Figura 49) verifica-se a presença de vinte sinais, sendo destacada supressão do sinal do carbono da carbonila de cetona, C-2, em 212,45 ppm e o surgimento do sinal em 159,53 ppm, que pode ser atribuído ao carbono C=N do grupo oxima, e que portanto, evidencia o sucesso da reação de oximação.

Os efeitos de proteção, ou seja, blindagem magnética que o grupo hidroxila da oxima exerce sobre os carbonos- $\alpha$  têm sido descrito na literatura como um método para determinar a estereoquímica de oximas. Sabe-se que o efeito de blindagem nesses carbonos ocorre com intensidades diferentes. No carbono- $\alpha$  *syn* à hidroxila do grupo oxima ocorre um deslocamento diamagnético de aproximadamente 14 ppm, já o carbono em posição *anti* sofre uma blindagem diamagnética que provoca uma redução próxima de 9 ppm, em relação ao

derivado oxidado. Tal comportamento tem sido útil para determinar a configuração absoluta de cetoximas, mas não dispensa a análise de espectros bidimensionais (VÁGVÖLGYI et al., 2018).

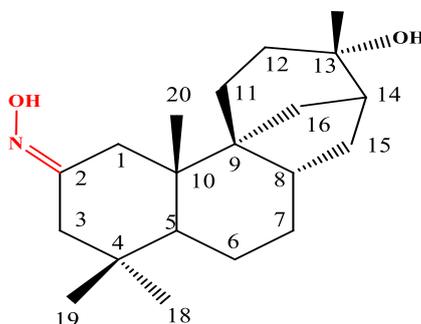
A seguir são mostradas as correlação dos deslocamentos químicos de carbono em ppm: C-1 (34,76); C-2 (212,45); C-3 (47,03); C-4 (37,76); C-5( 48,10); C-6 (22,37); C-7 (36,42); C-8 (37,00); C-9 (50,17); C-10(42,64); C-11 (28,27); C-12 (32,84); C-13(72,76); C-14 (46,27); C-15 (38,36); C-16 (30,42); C-17(28,37); C-18 (34,11); C-19 (23,17); C-20 (18,26).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-Z** (Figura 40) observam-se os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 3,41 (H-1, J=10, 1H); 1,62 (H-1, m, 1H); 2,05 (H-3, d, J=12, 1H); 1,96 (H-3, d, J=12, 1H); 1,13 (H-17, s, 3H); 1,02 (H-18, s, 1,02, 3H); 0,89 (H-19, s, 3H); 0,96 (H-20, s, 3H).

A confirmação da estrutura de **OXI-Z** foi auxiliada pela análise do espectro bidimensional  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ ) mostrado na Figura 41. Foram observadas as seguintes correlações ( $^2J$  e  $^3J$ ) H-1 $\rightarrow$ C-20 (a); H-1 $\rightarrow$ C-10 (b); H-1 $\rightarrow$ C-5 (c); H-1 $\rightarrow$ C-2 (d); H-3 $\rightarrow$ C-19 (e); H-3 $\rightarrow$ C-4 (f); H-3 $\rightarrow$ C-5 (g); H-3 $\rightarrow$ C-2 (h); H-3 $\rightarrow$ C-2, H-17 $\rightarrow$ C-12; H-17 $\rightarrow$ C-14; H-17 $\rightarrow$ C-13; H-18 $\rightarrow$ C-19; H-18 $\rightarrow$ C-4; H-18 $\rightarrow$ C-5; H-19 $\rightarrow$ C-18; H-20 $\rightarrow$ C-5; H-20 $\rightarrow$ C-1; H-20 $\rightarrow$ C-10; H-20 $\rightarrow$ C-5.

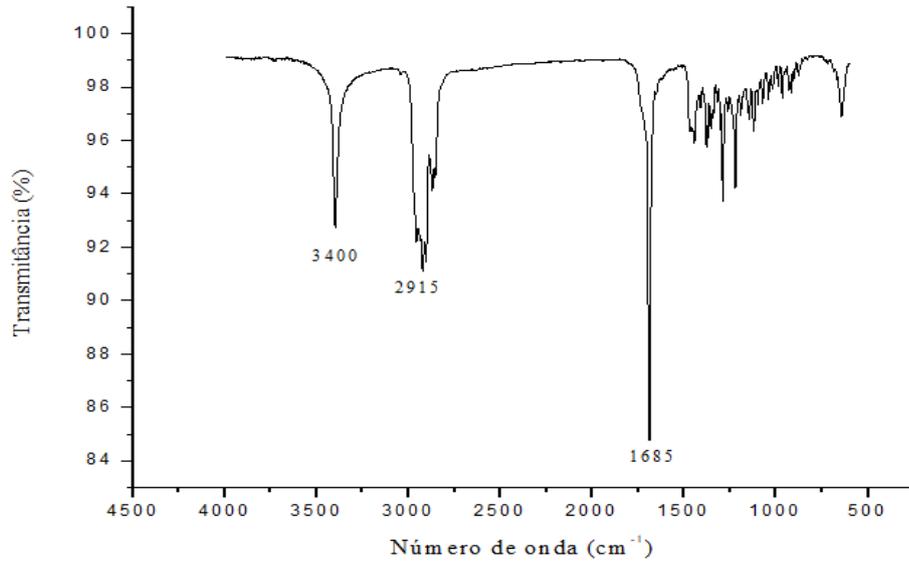
O espectro de massa de alta resolução (Figura 42) obtido pela técnica de ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em  $m/z$  342,2402 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_2$  e a massa molar calculada de 319,2505 daltons.

Figura 37 - Fórmula estrutural de **OXI-Z**



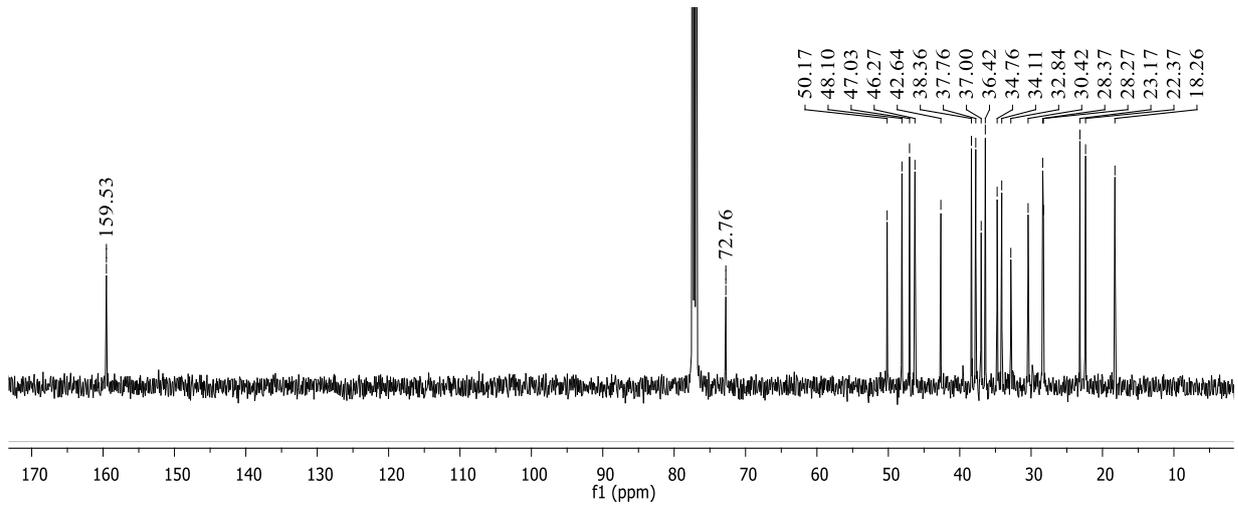
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 38 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-Z**



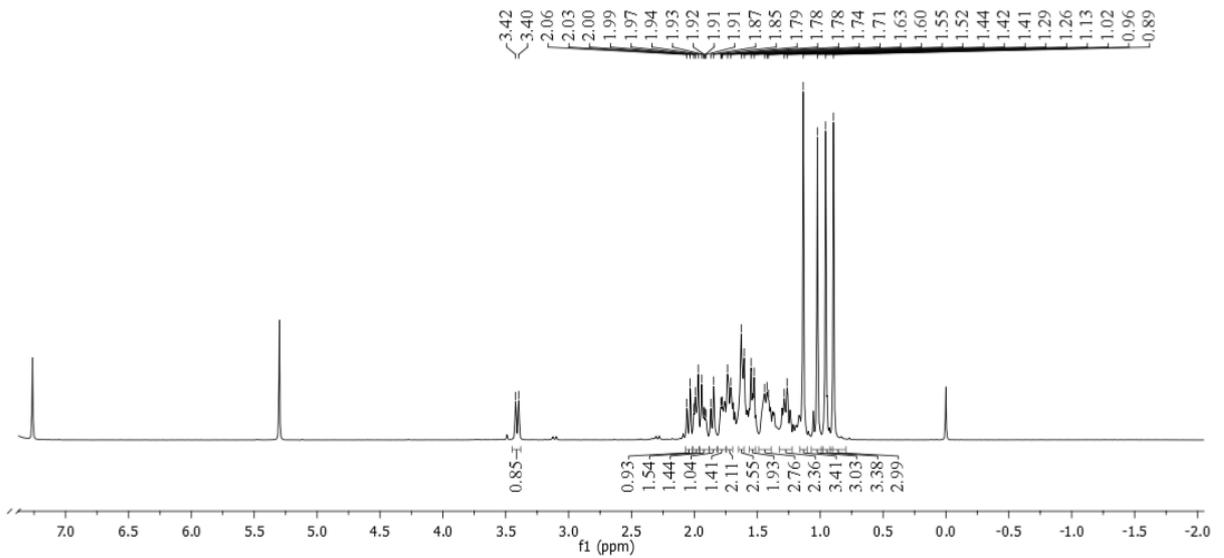
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 39 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **OXI-Z** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



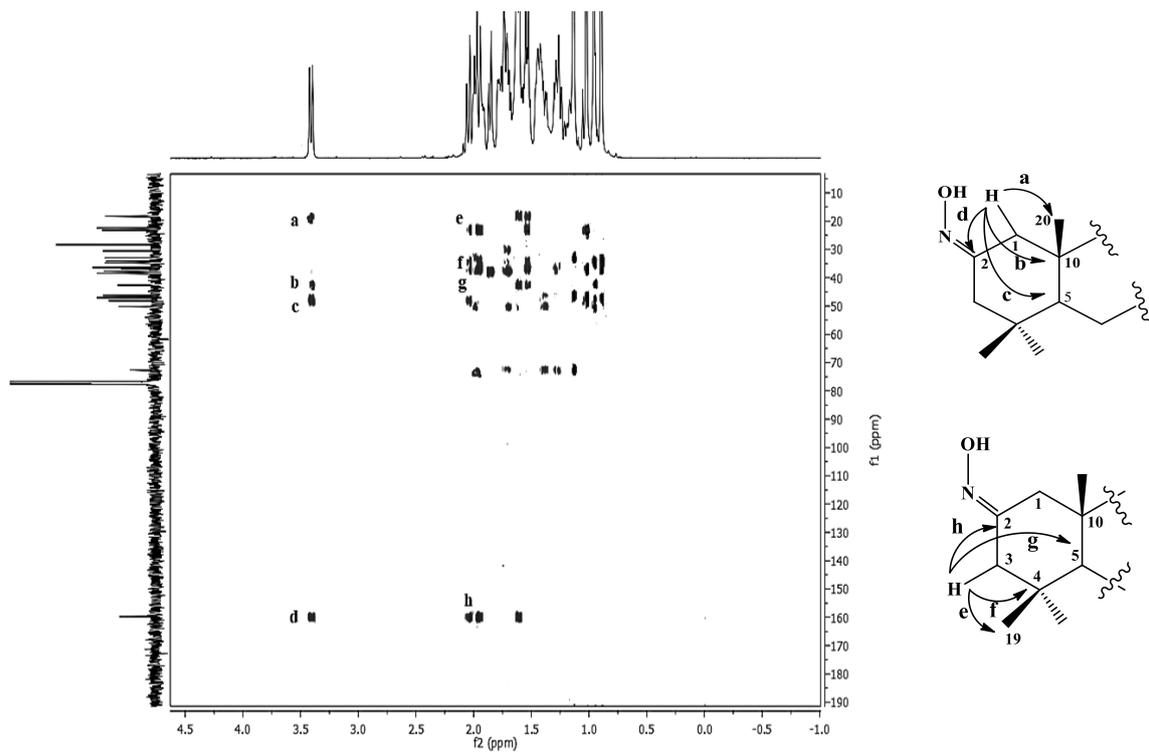
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 40 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e expansão de **OXI-Z** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )

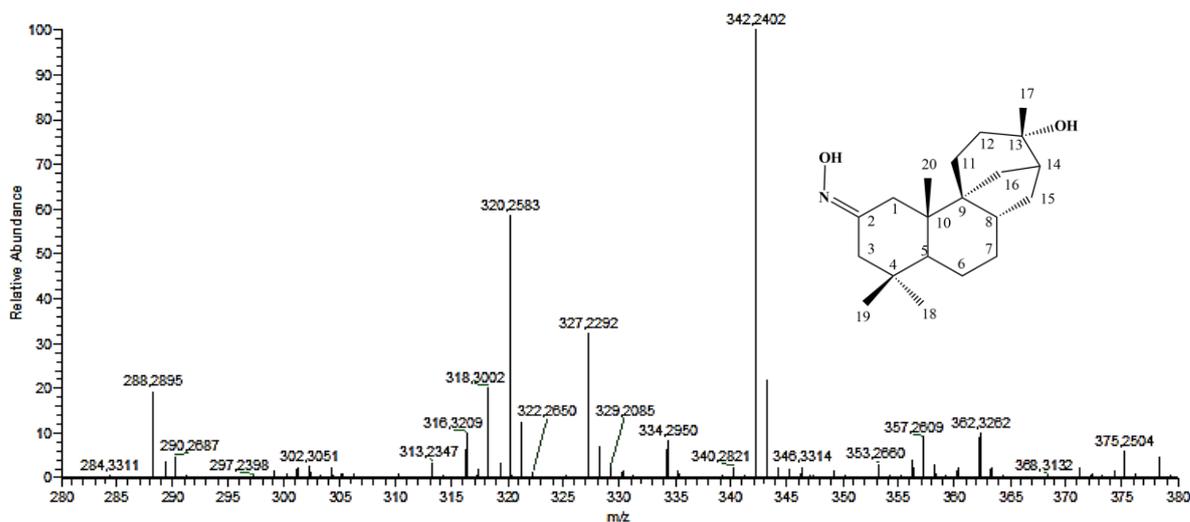


Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 41 - Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC de **OXI-Z** ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 42 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-Z**

Fonte: Autoria própria (2021).

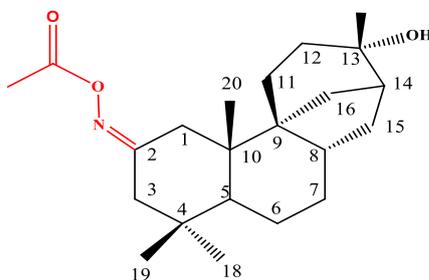
### 5.1.3 Caracterização estrutural de **OXI-Z1**

O derivado **OXI-Z1** (Figura 43) foi obtido a partir da reação de acetilação de **OXI-Z** com anidrido acético, com rendimento de 82,57%. O produto foi purificado na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 172,2-173,8 °C. No espectro de infravermelho (IV) (Figura 44) podem ser observadas bandas de deformação axial de ligação O-H de álcool em 3472, deformação axial da ligação C-H de carbono sp<sup>3</sup> em 2941, deformação axial da ligação C=O de éster em 1758 cm<sup>-1</sup> e outras deformações angulares de CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> em 1635 e 1453 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

A análise do espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Figura 45) e DEPT 135° (Figura 46)(CDCl<sub>3</sub>/125MHz) de **OXI-Z1** mostra a presença de vinte e dois sinais de carbono, sendo oito CH ou CH<sub>3</sub>, oito CH<sub>2</sub> e seis carbonos não hidrogenados que foram correlacionados da seguinte forma: C-1 (37,61); C-2 (167,38); C-3 (46,65); C-4 (37,67); C-5 (48,10); C-6 (22,32); C-7 (36,29); C-8 (37,31); C-9 (50,14); C-10(43,32); C-11 (28,42); C-12 (32,83); C-13(72,44); C-14 (46,29); C-15 (38,36); C-16 (30,52); C-17(28,44); C-18 (34,19); C-19 (23,15) C-20 (18,39). Os sinais em 169,12 e 19,84 ppm foram atribuídos ao carbono da carbonila de éster e carbono metílico do grupo acetil adicionado. A mudança de deslocamento química observado em C-2 deve-se ao efeito indutivo retirador de elétrons provocado pelo átomo de oxigênio, bem com o efeito mesomérico do oxigênio com a carbonila do éster, gerando um híbrido de ressonância com carga positiva no oxigênio, que conseqüentemente desprotege a ligação a ligação C=N.

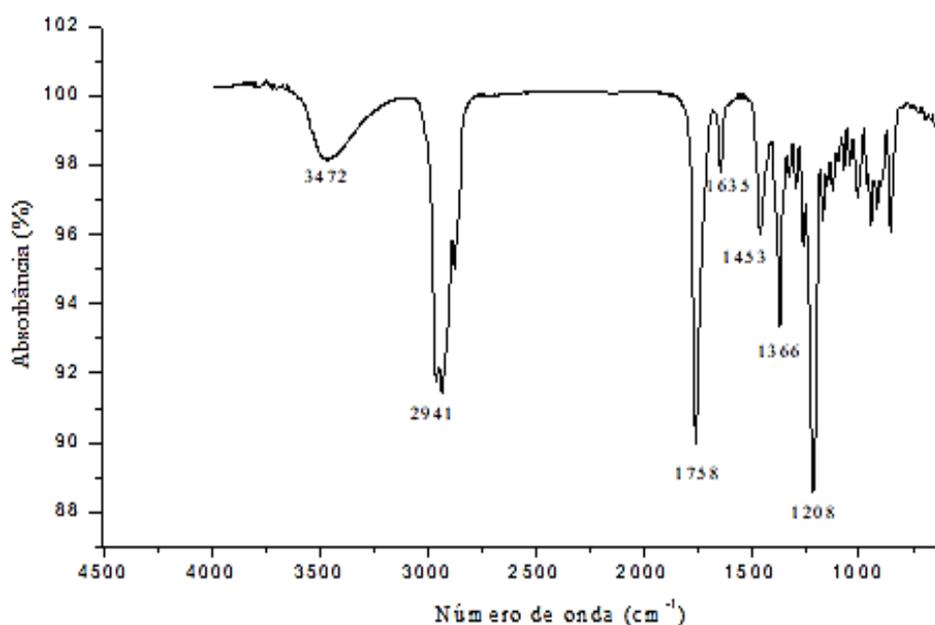
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-Z1** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) (Figura 47) mostra os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 3,29 (H-1, d,  $J=12,5$ , 1H); 2,32 (H-1, d,  $J=12,5$ , 1H); 2,04 (H-3, d,  $J=12$ , 1H); 1,83 (H-3, d,  $J=12$ , 1H); 1,14 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,92 (H-19, s, 3H); 0,94 (H-20, s, 3H). O sinal em 2,15 (s, 3H) é referente ao hidrogênios metílicos adicionados. O espectro de massa de alta resolução (Figura 48) obtido pela técnica por ionização por eletrospray mostra a presença do sinal em  $m/z$  384,2505 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_3$  e a massa molar calculada de 361,2608 daltons.

Figura 43 - Fórmula estrutural de **OXI-Z1**



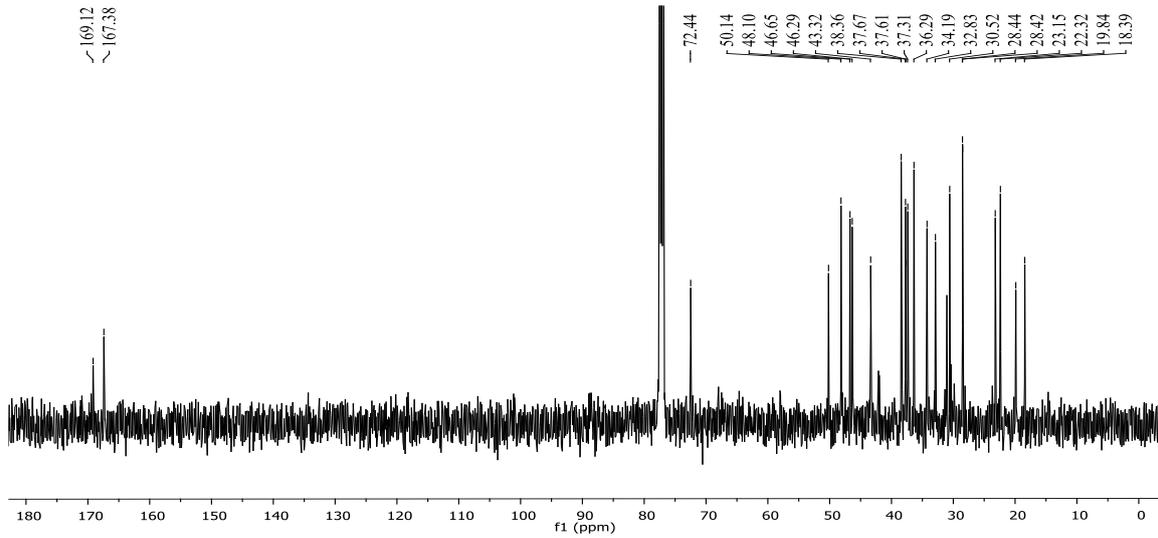
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 44 -Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-Z1**



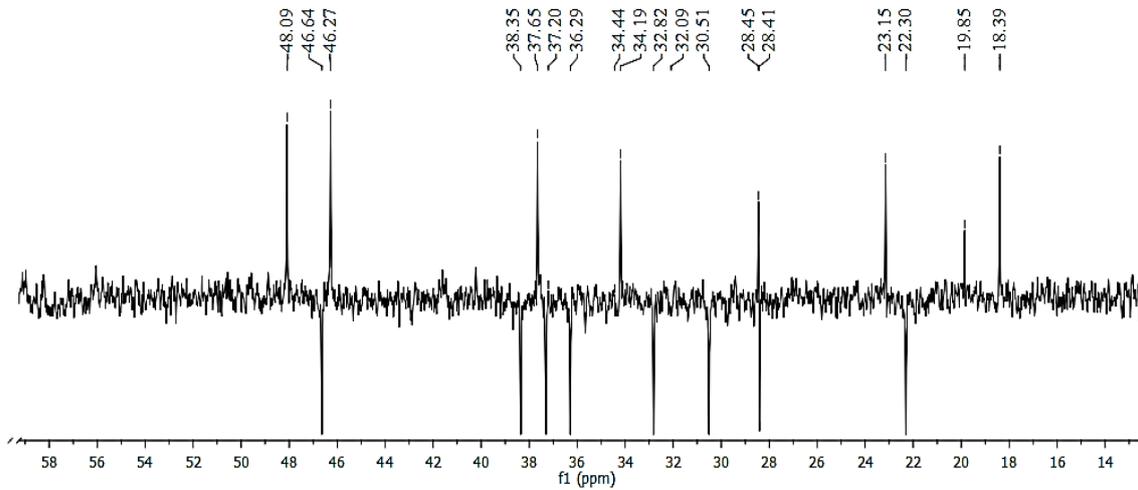
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 45 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-Z1** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



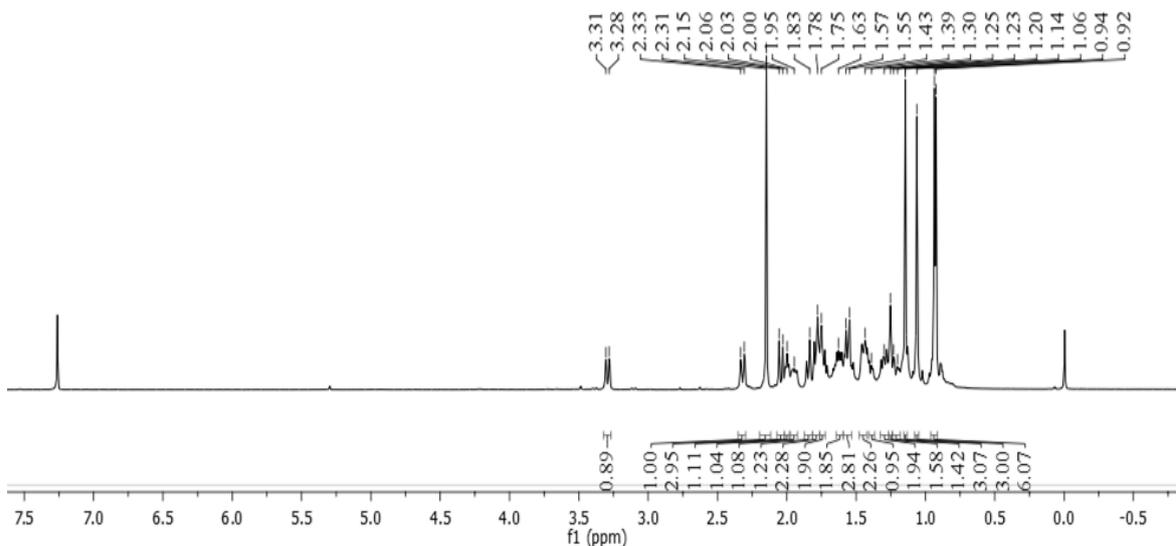
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 46 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135° de **OXI-Z1** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



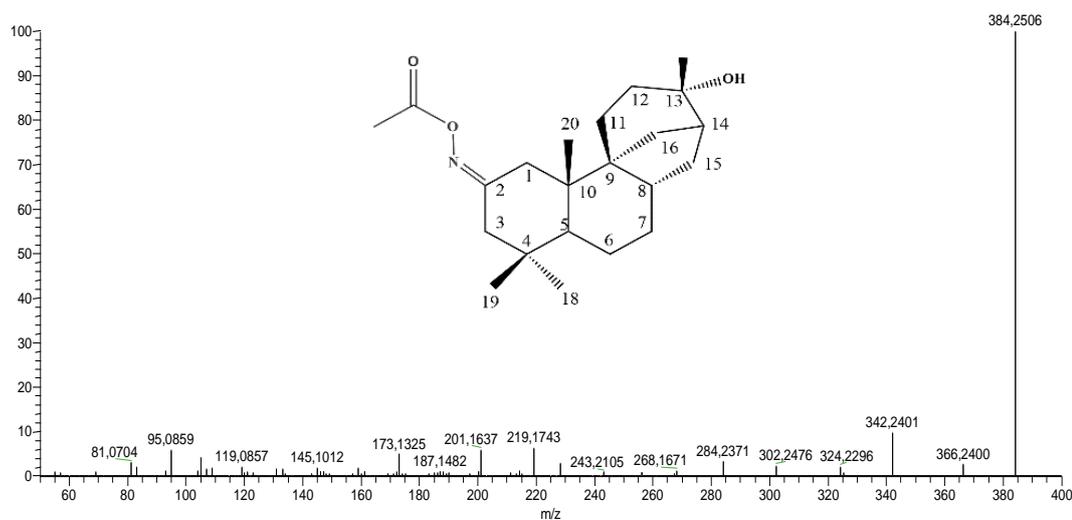
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 47 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-Z1** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 48 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-Z1**.



Fonte: Autoria própria (2021).

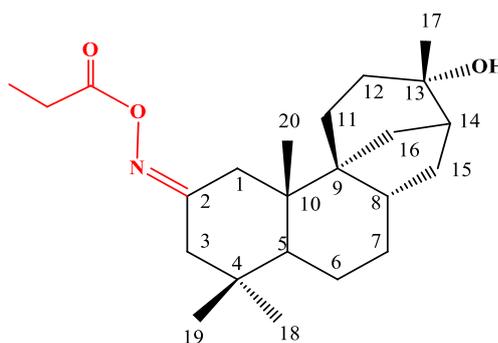
#### 5.1.4 Caracterização estrutural de **OXI-Z2**

O derivado **OXI-Z2** (Figura 49) foi obtido a partir da reação de acilação de **OXI-Z** com cloreto de propanoíla, com 96,82 % de rendimento. O composto foi isolado na forma de um líquido viscoso de coloração amarelo-esverdeado. O espectro de infravermelho (IV) (Figura 50) mostra a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em  $3461\text{ cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  em  $2935$ , deformação axial da ligação C=O de éster em  $1755\text{ cm}^{-1}$  e deformação axial da ligação C=N de oxima em  $1636\text{ cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>. O espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>/125MHz) de **OXI-Z2** (Figura 51) mostra a presença de 23 sinais para diferentes carbonos. A correlação dos deslocamento químicos em ppm é mostrada a seguir: C-1 (37,64); C-2 (167,43); C-3 (46,67); C-4 (37,64); C-5 (48,07); C-6 (22,29); C-7 (36,27); C-8 (37,25); C-9 (50,11); C-10 (43,32); C-11 (28,32); C-12 (32,80); C-13 (72,43); C-14 (46,27); C-15 (38,33); C-16 (30,48); C-17(28,41); C-18 (34,16), C-19 (23,11); e C-20 (18,35). Os deslocamentos em 172,26; 26,68 e 9,32 ppm foram atribuídos, respectivamente, ao carbono da carbonila de éster, ao carbono metilênico e ao carbono metílico do grupo propanoíla adicionado.

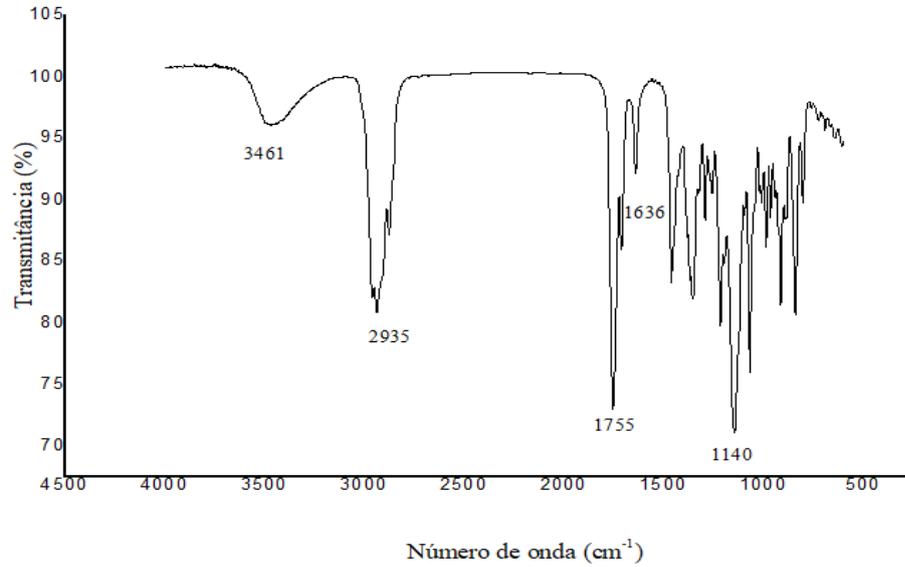
Analisando o espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDC<sub>3</sub>/500MHz) de **OXI-Z2** (Figura 52) observa-se os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 3,27 (H-1, d,  $J=12$ Hz, 1H); 2,30 (H-1, d,  $J=13$ Hz, 1H); 2,02 (H-3, d,  $J=10$  Hz, 1H); 1,83, (H-3, d,  $J=11,3$  Hz, 1H); 1,14 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,92 (H-19, s, 3H); 0,94 (H-20, s, 3H). Os sinais em 2,42 (q, 2H); 1,20 (t, 3H) referentes aos carbonos metilênicos e metílicos do grupo propanoíla adicionado. O espectro de massa de alta resolução (Figura 53) obtido pela técnica por ionização por eletrospray mostra a presença do sinal em  $m/z$  398,2660 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[M+Na]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>3</sub> e a massa molar calculada de 375,2763 daltons.

Figura 49 - Fórmula estrutural de **OXI-Z2**



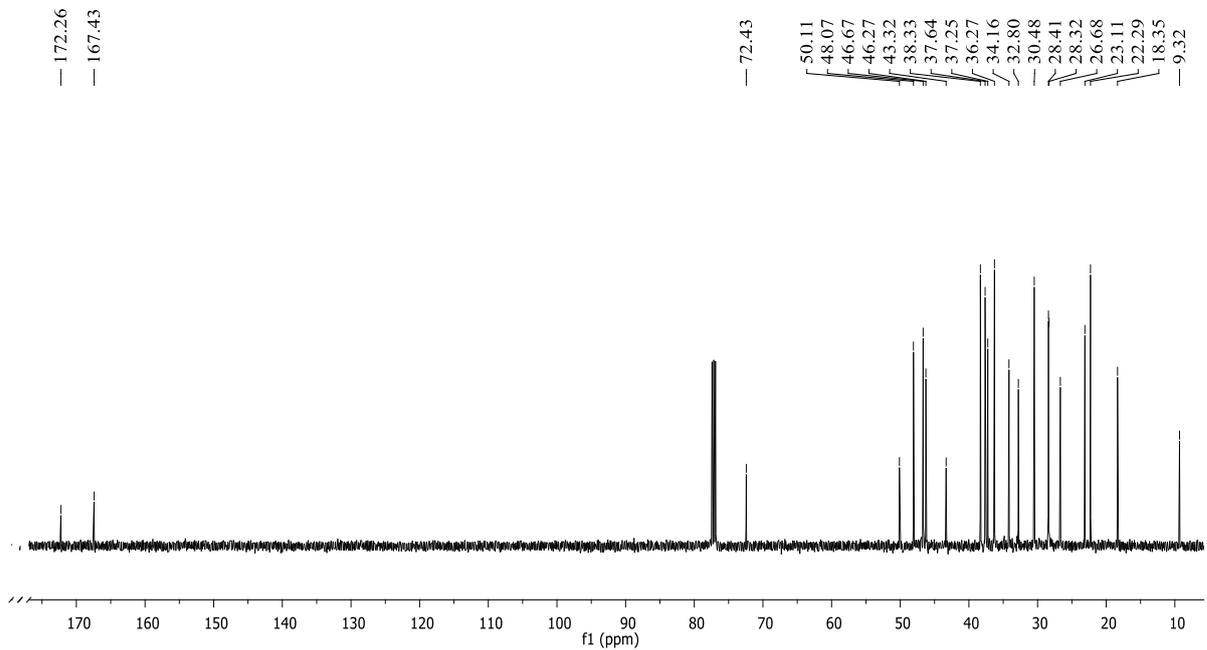
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 50 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-Z2**

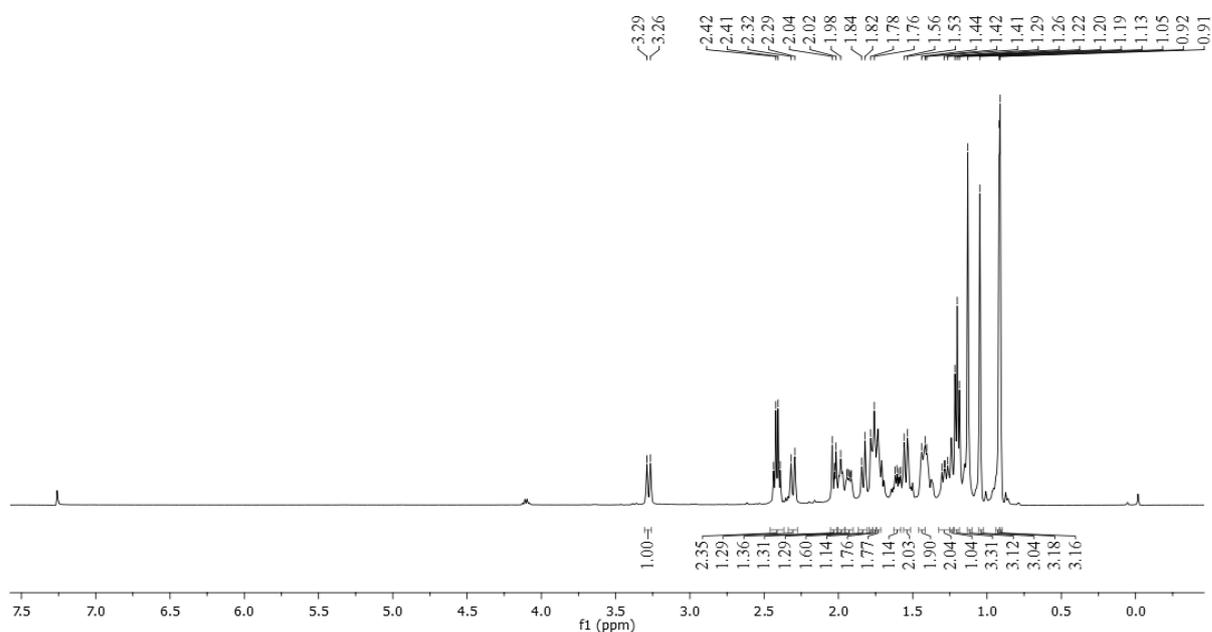


Fonte: Autoria própria (2021).

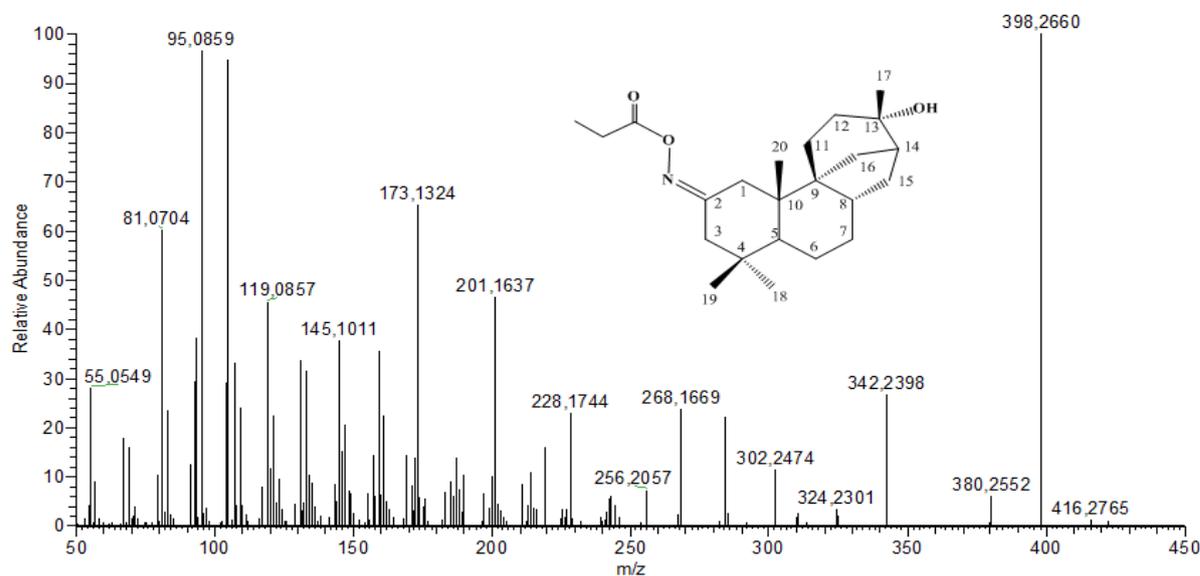
Figura 51 - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **OXI-Z2** (CDCl<sub>3</sub>/125MHz)



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 52 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-Z2** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 53 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-Z2**

Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.5 Caracterização estrutural de **OXI-Z3**

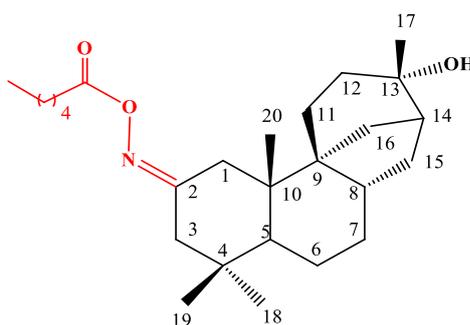
O produto **OXI-Z3** (Figura 54) foi obtido a partir da reação de acilação de **OXI-Z** com cloreto de hexanoíla, com 56,36 % de rendimento. O derivado foi obtido na forma de um líquido viscoso. Analisando o espectro de infravermelho (IV) (Figura 55) pode-se observar a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em  $3483\text{ cm}^{-1}$ ,

deformação axial da ligação C-H de carbono  $sp^3$  em 2925, deformação axial da ligação C=O de éster em  $1750\text{ cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C=N de oxima em  $1638\text{ cm}^{-1}$ . Além de deformações angulares em  $1454$  e  $1372\text{ cm}^{-1}$  de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , respectivamente.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) de **OXI-Z3** (Figura 56) mostra a presença de 26 sinais para diferentes carbonos que foram assinalados da seguinte forma: C-1 (37,66), C-2 (167,42), C-3 (46,69), C-4 (37,63), C-5 (48,10), C-6 (22,31), C-7 (36,29), C-8 (37,30), C-9 (50,13), C-10(43,31), C-11 (28,36), C-12 (32,84), C-13(72,42), C-14 (46,29), C-15 (38,34), C-16 (30,50), C-17 (28,44), C-18 (34,18), C-19 (23,15), C-20 (18,34). Os deslocamentos químicos em 171,58; 33,33; 31,47; 24,85; 22,44 e 13,98 foram atribuídos ao carbono da carbonila de éster, aos carbonos metilênicos e carbono metílico do grupo hexanoíla acoplado.

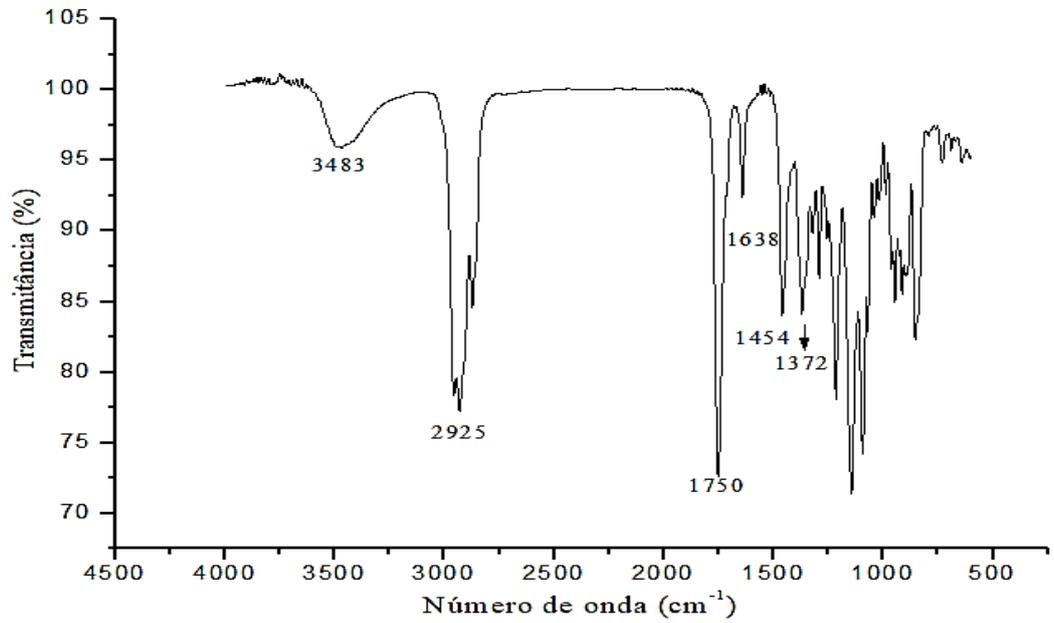
Analisando o espectro de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-Z3** (Figura 57) vale destacar os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 3,27 (H-1, d,  $J=12,5$ , 1H); 2,31 (H-1, d,  $J=12,5$ , 1H); 2,03 (H-3, d,  $J=10$ , 1H); 1,82 (H-3, d,  $J=10$ , 1H). Além dos deslocamentos em 2,38 (t, 2H); 1,69 (m, 2H); 1,27 (m, 2H); 1,33 (m, 2H) e 0,89 (t, 3H) que estão relacionados ao grupo hexanoíla acoplado. O espectro de massa de alta resolução (Figura 58) obtido pela técnica por ionização por eletrospray mostra a presença do sinal em  $m/z$  440,3130 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_3$  e a massa molar calculada de 417,3233 daltons.

Figura 54 - Fórmula estrutural de **OXI-Z3**



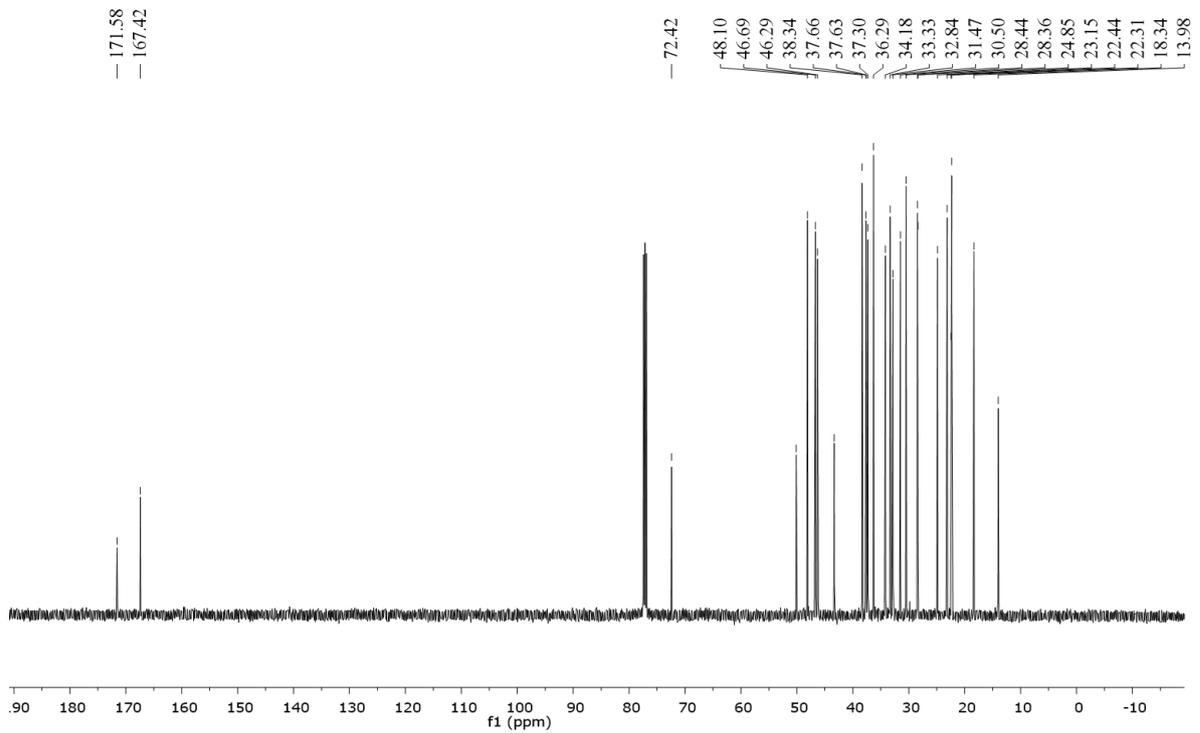
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 55 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-Z3**



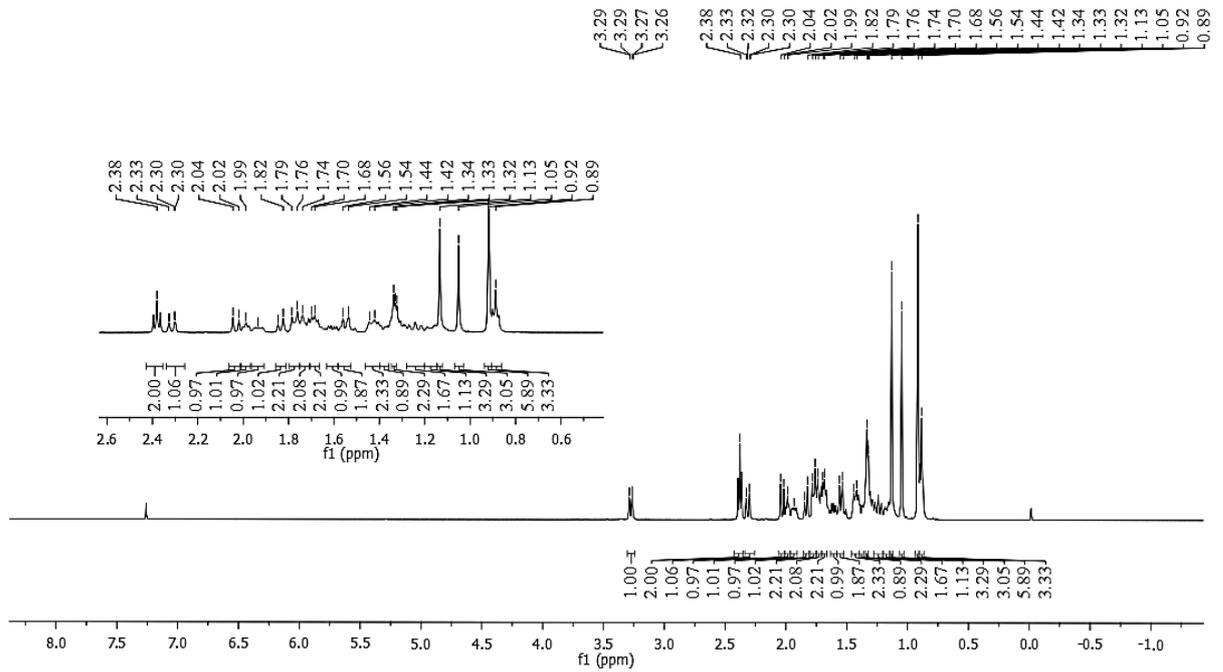
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 56 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-Z3** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



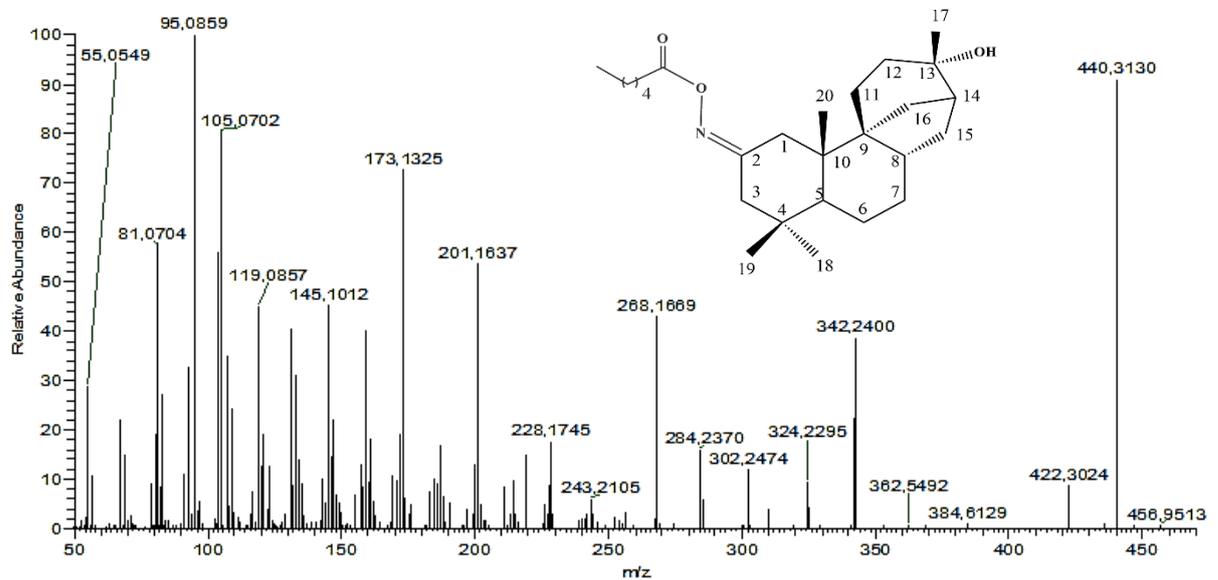
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 57 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-Z3** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 58 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-Z3**



Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.6 Caracterização estrutural de OXI-E

O derivado **OXI-E** (Figura 59) foi obtido a partir da reação de oximação de **STME-1**, com 35,08% de rendimento. O composto foi purificado na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 189,5-190,6 °C. O espectro de infravermelho (IV) (Figura 60) mostra a presença de deformações axial da ligação O-H de álcool em 3400  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $sp^3$  em 2915 e deformação axial da ligação C=N de oxima em 1685  $\text{cm}^{-1}$ .

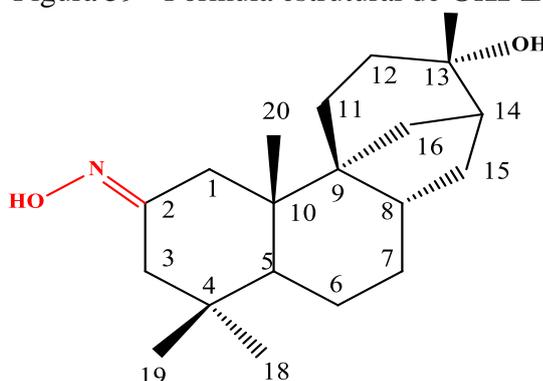
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) de **OXI-E** (Figura 61) mostra a presença de vinte sinais. A correlação de deslocamentos químicos de carbono em ppm é mostrada a seguir: C-1(42,23); C-2(159,30) C-3 (39,59); C-4 (37,00), C-5 (48,02); C-6 (22,46); C-7(36,41); C-8 (37,58); C-9 (50,18); C-10 (42,42); C-11 (28,29); C-12 (32,99); C-13 (72,53); C-14 (46,24); C-15 (38,23); C-16 (30,32); C-17 (28,17); C-18 (33,97); C-19 (23,76) e C-20 (18,62). Sendo destacada a presença do sinal em 159,30 ppm, que é atribuído ao carbono do grupo oxima. Esse deslocamento confirma o sucesso da reação de oximação. A estereoquímica do grupo oxima foi determinada com base nos valores de deslocamentos químicos dos carbonos- $\alpha$  em relação ao produto oxidado, onde se verifica uma maior proteção do carbono- $\alpha$  *syn* à hidroxila do grupo oxima. A conformação da oxima foi justificada ainda com base nos experimentos de RMN bidimensionais. As mudanças de deslocamentos químicos foram observadas em C-1 e C-3, provocadas pela proteção da hidroxila do grupo oxima.

O espectro de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-E** (Figura 62), mostra os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 2,31 (H-1, d,  $J=12,2$  Hz, 1H); 2,06 (H-1, d,  $J=12$  Hz, 1H); 3,12(H-3, d,  $J=12,8$ , 1H); 1,53 (H-3, m, 1H); 1,12 (H-17, s, 3H); 1,04 (H-18, s, 3H); 0,87 (H-19, s, 3H) e 0,92 (H-20, s, 3H). A análise do experimento bidimensional  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HSQC ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ ) de **OXI-Z** (Figura 63) possibilitou a correlação inequívoca dos carbonos com seus respectivos hidrogênios.

Com o experimento bidimensional  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC ( $\text{CDCl}_3/500/125\text{MHz}$ ) de **OXI-E** (Figura 64) foi possível verificar as correlações ( $^2J$  e  $^3J$ ) entre H-3→C-19 (a), H-3→C-4 (b), H-3→C-1 (c), H-3→C-5 (d), H-3→C-2 (e), H-1→C-20 (f), H-1→C-3 (g), H-1→C-5 (h), H-1→C-2 (i), H-17→C-12 (j), H-17→C-14 (k), H-17→C-13(l), H-18→C-19 (m), H-18→C-4 (n), H-18→C-5, H-19→C-18, H-20→C-5, H-20→C-10, H-20→C-5, H-20→C-9. O de  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-E** (Figura 65) evidenciou o acoplamento geminal dos hidrogênios em C-1 e C-3.

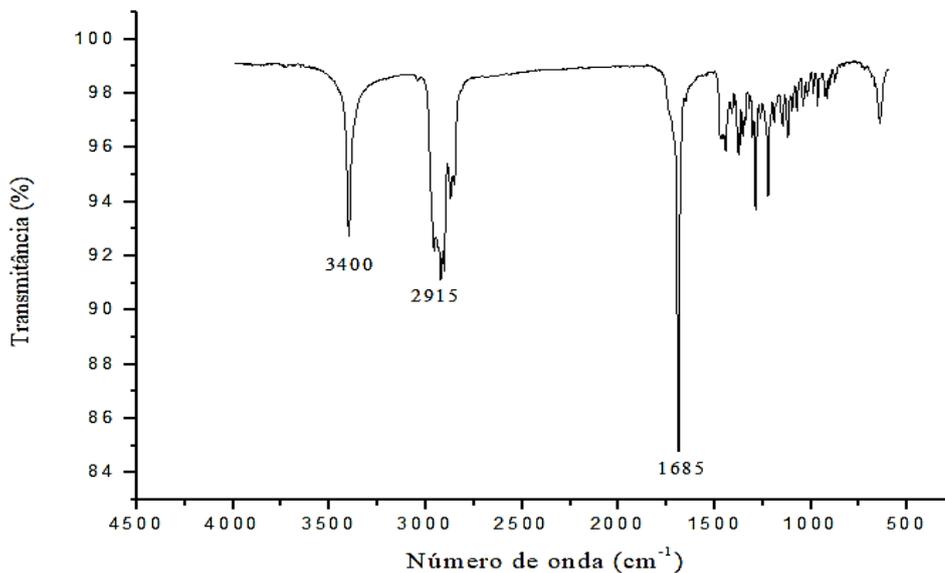
Por fim, o espectro de massa de alta resolução (Figura 66) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em  $m/z$  342,2402 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[M+Na]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $C_{20}H_{33}NO_2$  e a massa molar calculada de 319,2505 daltons.

Figura 59 - Fórmula estrutural de **OXI-E**



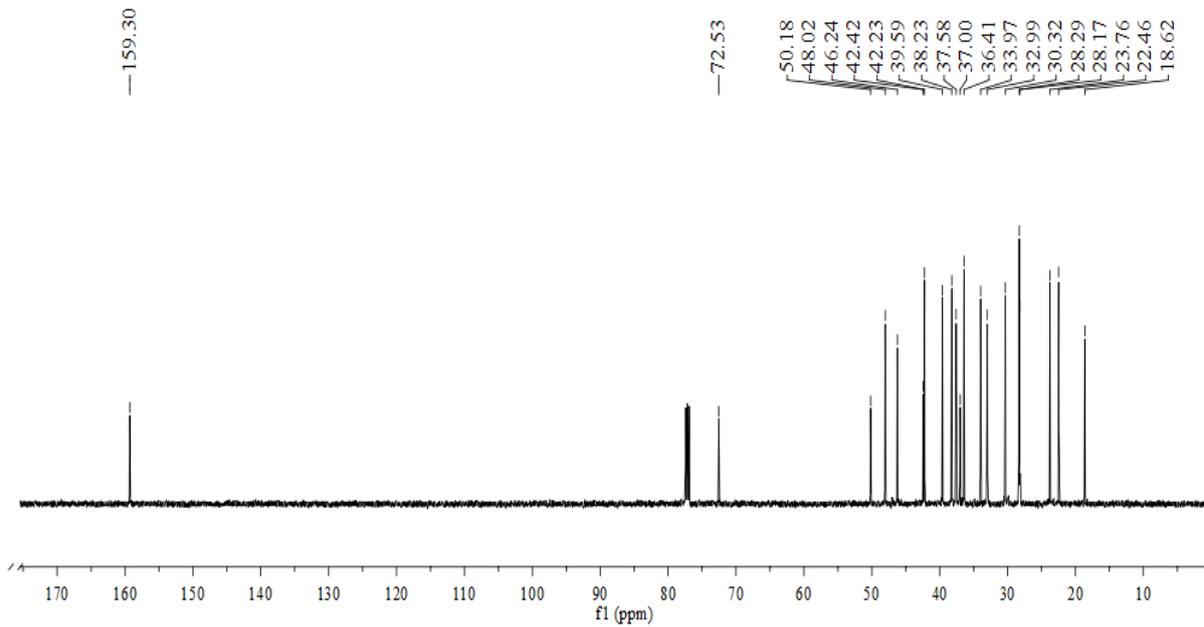
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 60 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-E**



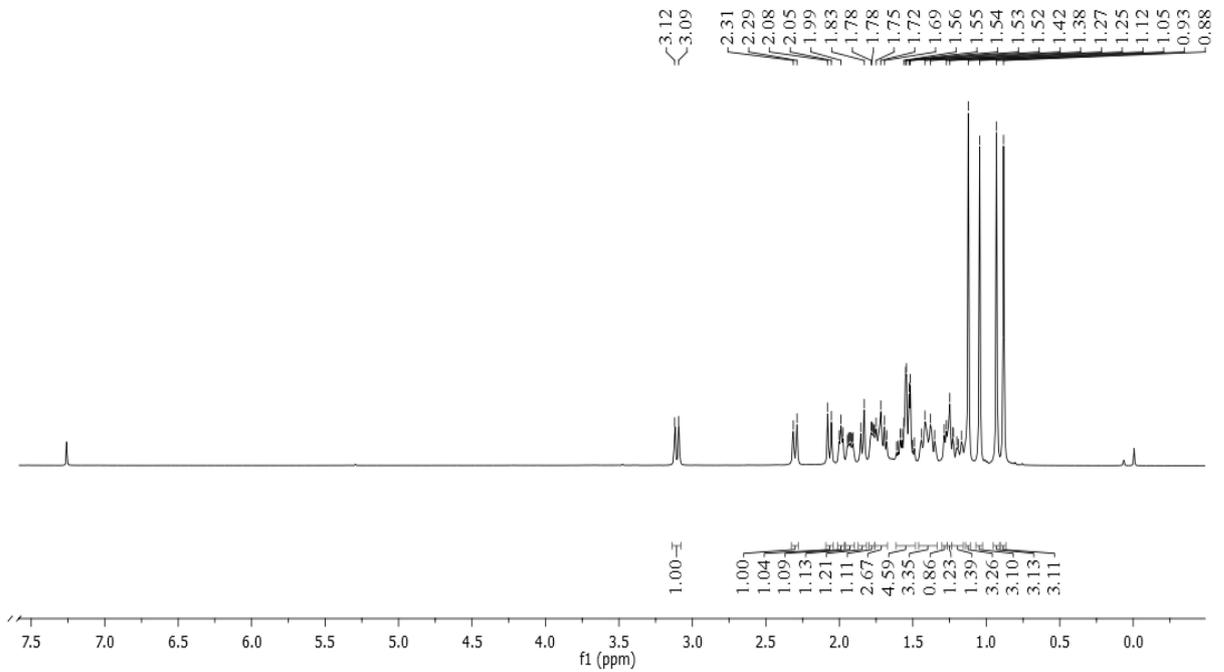
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 61 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-E** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



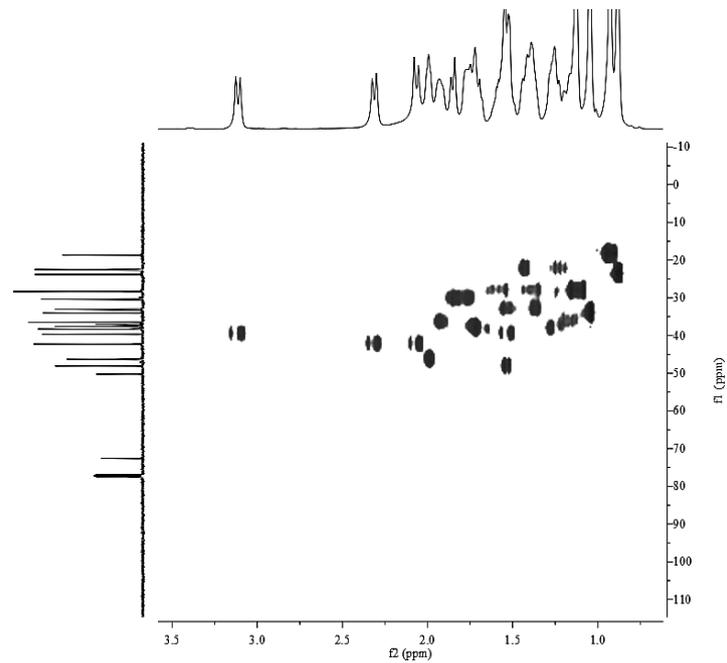
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 62 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-E** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



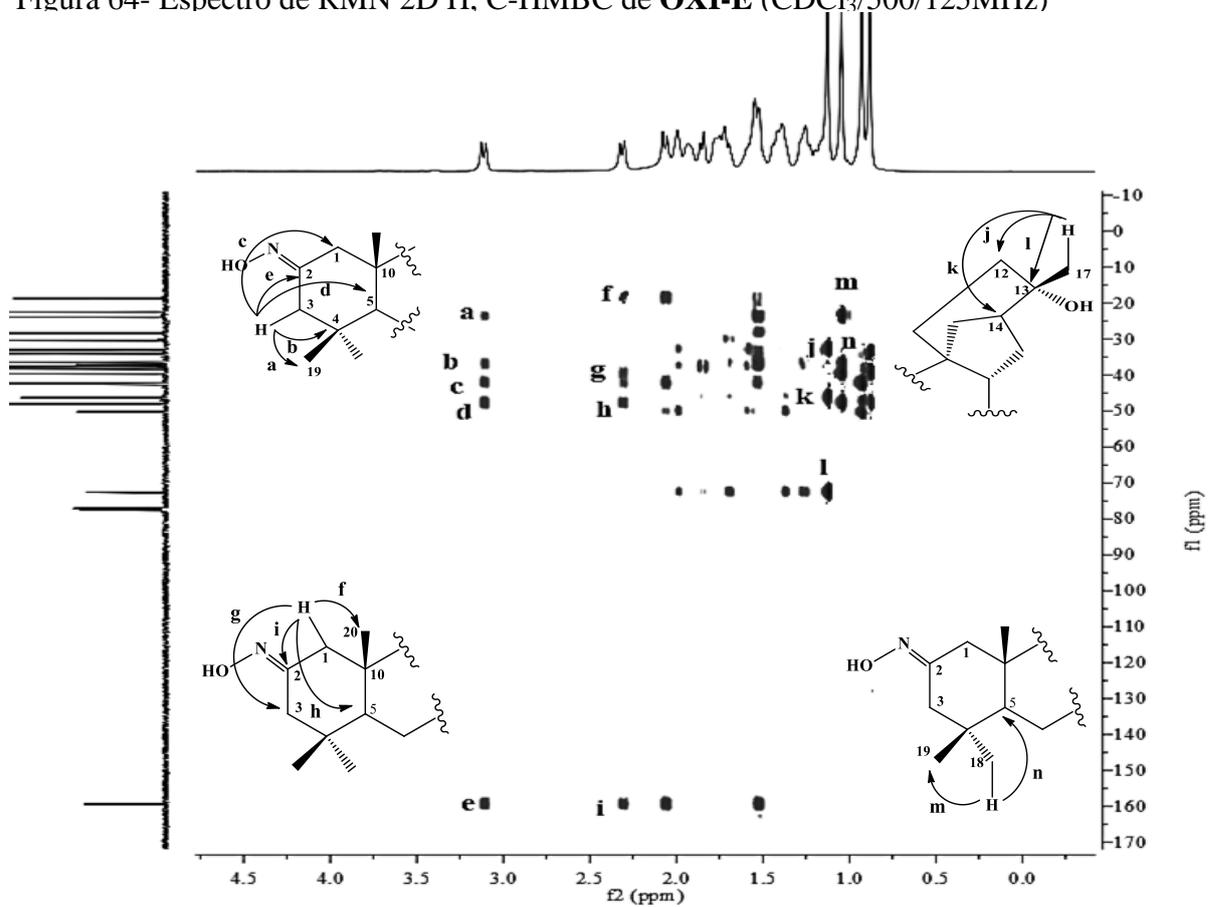
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 63- Espectro de RMN 2D H, C-HSQC de **OXI-E** (CDCl<sub>3</sub>/500/125MHz)



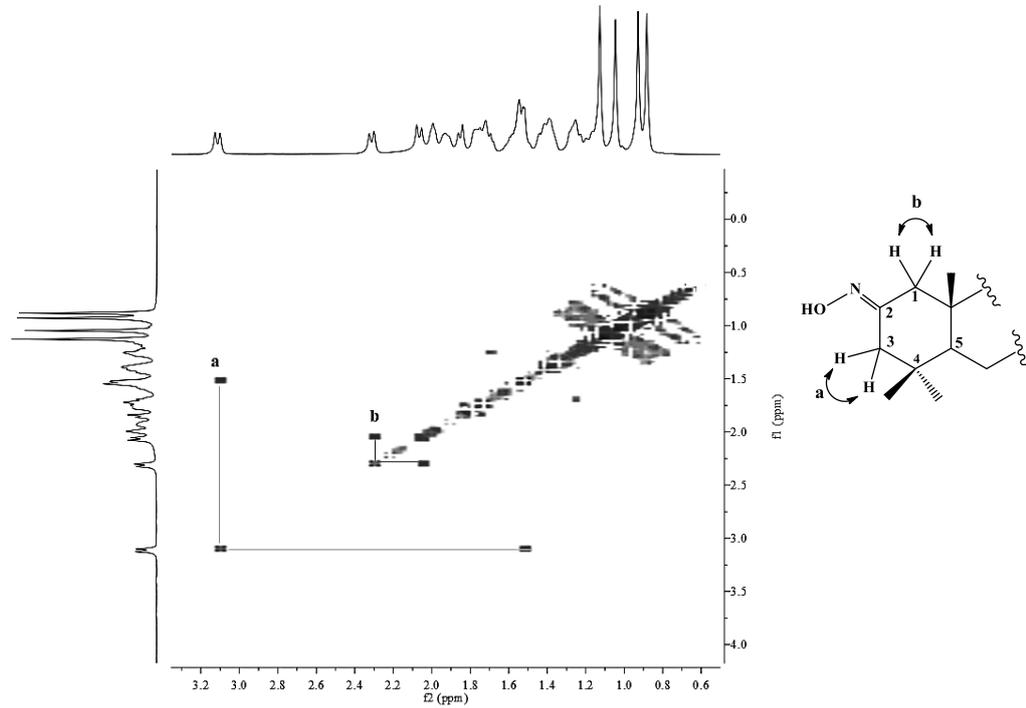
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 64- Espectro de RMN 2D H, C-HMBC de **OXI-E** (CDCl<sub>3</sub>/500/125MHz)



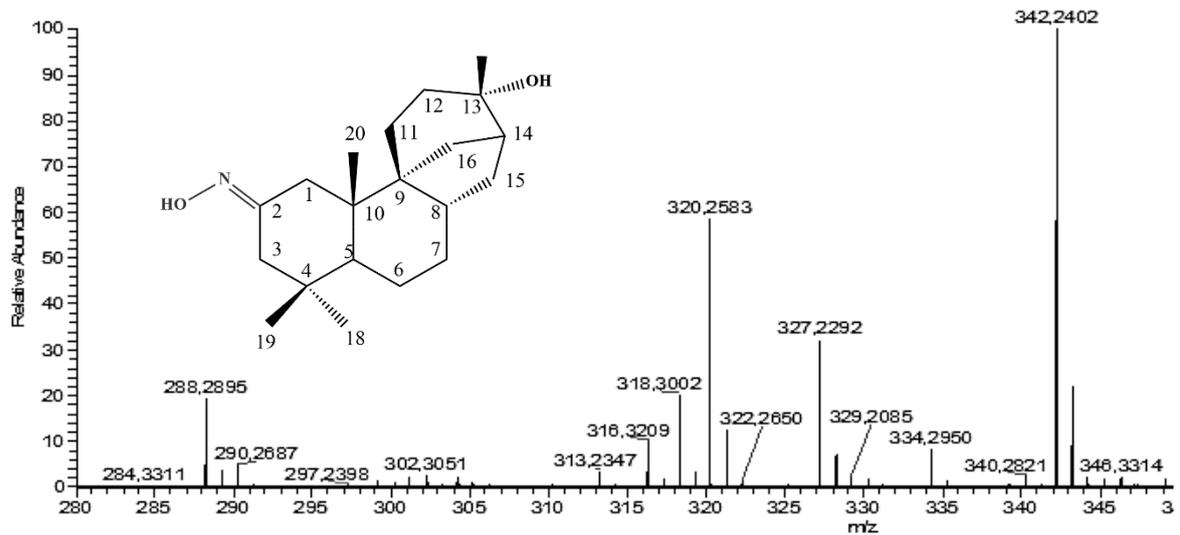
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 65 -Espectro de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY de **OXI-E** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 66 - Espectro de massas de alta resolução de **OXI-E**



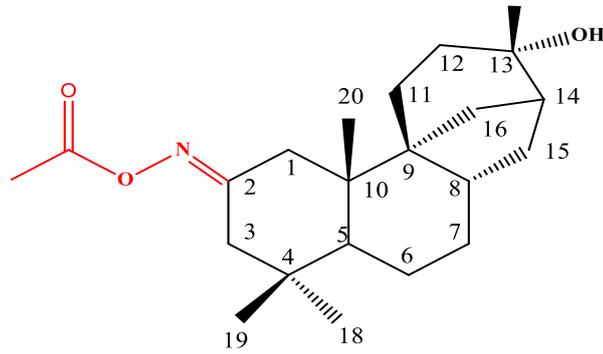
Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.7 Caracterização estrutural de OXI-E1

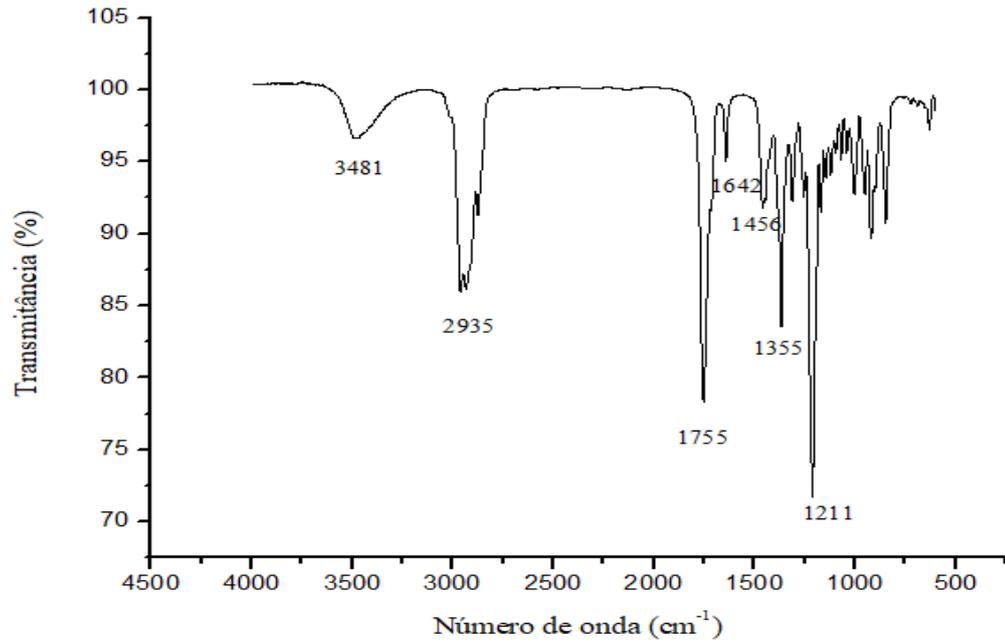
O derivado **OXI-E1** (Figura 67) foi semissintetizado a partir da reação de acetilação de **OXI-E** com anidrido acético com 96.20 % de rendimento. O composto foi obtido na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 150,6-151,8 °C. O espectro de infravermelho (IV) de **OXI-E1** (Figura 68) mostra a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em 3481 cm<sup>-1</sup>, deformação axial da ligação C-H de carbono sp<sup>3</sup> em 2935, deformação axial da ligação C=O de éster em 1755 cm<sup>-1</sup>, deformação axial da ligação C=N de oxima em 1642 cm<sup>-1</sup>.

Os espectros de RMN de <sup>13</sup>C (Figura 69) e DEPT 135° (Figura 70) (CDCl<sub>3</sub>/125MHz) de **OXI-E1** mostram a presença de 23 sinais para diferentes carbonos, sendo oito CH ou CH<sub>3</sub>, oito CH<sub>2</sub> e sete carbonos não hidrogenados. Os deslocamentos químicos foram correlacionados da seguinte forma: C-1(42,04); C-2 (167,34), C-3 (41,91); C-4 (37,77), C-5 (47,85); C-6 (22,40); C-7(36,25); C-8 (37,46); C-9 (50,35); C-10 (43,02); C-11 (28,03); C-12 (32,98); C-13 (72,33); C-14 (46,18); C-15 (38,20); C-16 (30,30); C-17 (28,34); C-18 (33,90); C-19 (23,63) e C-20 (18,60). Os sinais em 169,24 e 19,82 ppm são pertencentes ao carbono carbonílico e ao carbono metílico do grupo acetila acoplado.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/500MHz) de **OXI-E1** (Figura 71) mostrou os seguintes padrões de sinais δ: 2,99 (H-3, d, J=12,9 Hz, 1H); 2,54 (H-1, d, J=12,4 Hz, 1H); 2,16 (s, 2H); 1,99 (5-H, m, 1H); 1,94 (H-8, m, 1H); 1,84 (H-16, d, J=1,2 Hz, 1H); 1,80 (H-16, m, 2H); 1,72 (H-15, d, J= 6,1 Hz, 1H); 1,11 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,97 (H-20, s, 3H); 0,87 (H-19, s, 3H). Além disso, os sinais em 2.13 (s, 3H) referente a metila do grupo acetila acoplado. O espectro de massa de alta resolução (Figura 72) obtido pela técnica por ionização por eletrospray mostra a presença do sinal em m/z 384,2501 daltons referente ao aduto de sódio com o composto [M+Na]<sup>+</sup>. Esse sinal confirma a fórmula molecular C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>3</sub> e a massa molar calculada de 361,2604 daltons.

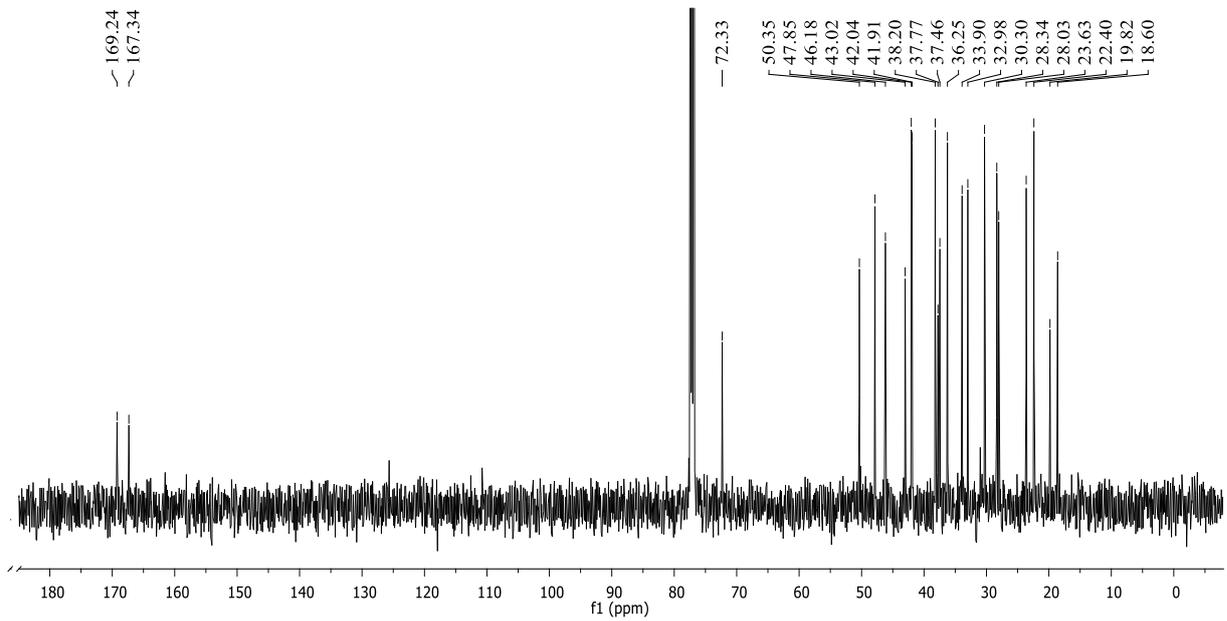
Figura 67 - Fórmula estrutural de **OXI-E1**

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 68 - Espectro na região do infravermelho de **OXI-E1**

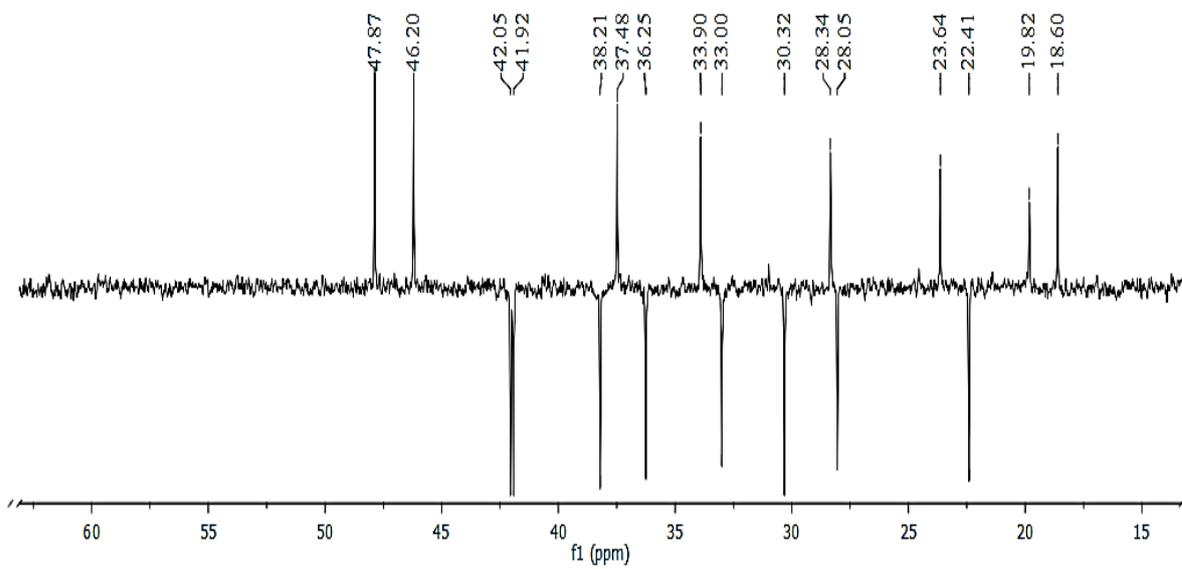
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 69 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-E1**( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



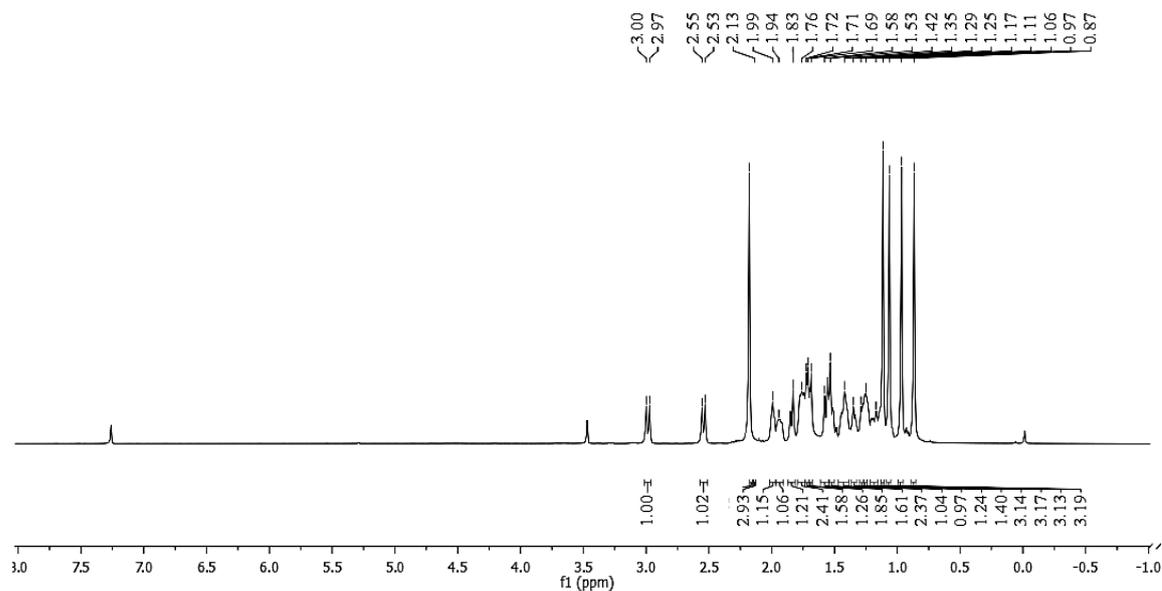
Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 70 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135° de **OXI-E1**



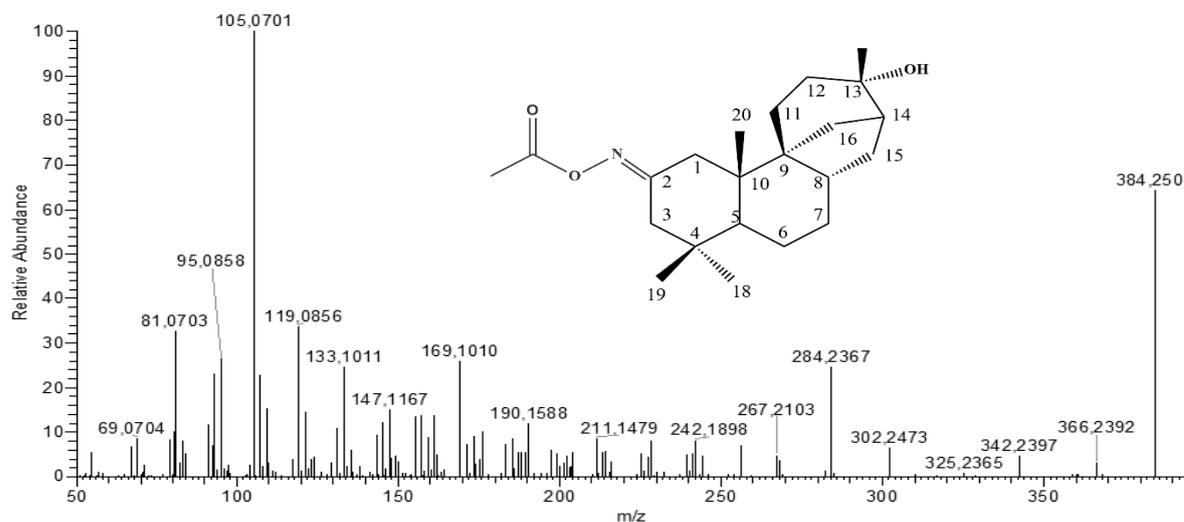
Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 71 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-E1** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 72 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-E1**



Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.8 Caracterização estrutural de **OXI-E2**

O derivado **OXI-E2** (Figura 73) foi semissintetizado a partir da reação de acetilação de **OXI-E** com anidrido acético, com 85% de rendimento. O composto foi obtido na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 123,4-124,6 °C. O espectro de infravermelho (IV) de **OXI-E2** (Figura 74) mostra a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em  $3491\text{ cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  em 2925,

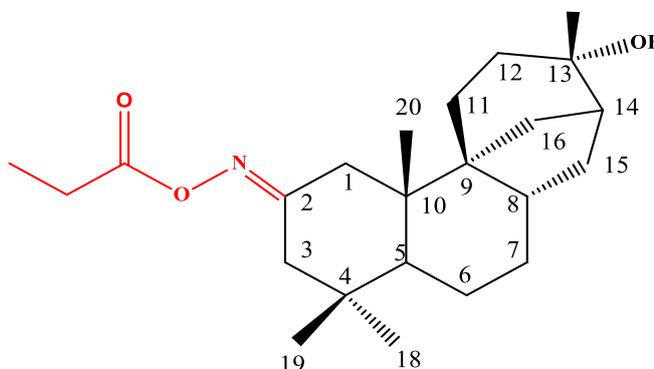
deformação axial da ligação C=O de éster em  $1755\text{ cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C=N de oxima em  $1636\text{ cm}^{-1}$ , além de deformações angulares de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  em  $1456$  e  $1359\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

Os experimentos de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) (Figura 75) e DEPT  $135^\circ$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) (Figura 76) de **OXI-E2** mostraram a presença de 23 sinais para diferentes carbonos, sendo oito CH ou  $\text{CH}_3$ , nove  $\text{CH}_2$  e seis carbonos não hidrogenados, que foram correlacionados da seguinte forma: C-1(42,07); C-2 (167,39), C-3 (41,93); C-4 (37,79), C-5 (47,87); C-6 (22,41); C-7(36,26); C-8 (37,47); C-9 (50,37); C-10 (43,06); C-11 (28,04); C-12 (33,00); C-13 (72,34); C-14 (46,20); C-15 (38,21); C-16 (30,31); C-17 (28,35); C-18 (33,91); C-19 (23,63) e C-20 (18,61). Os sinais em 172,38; 26,66 e 9,29 pertencem respectivamente ao carbono carbonílico ao carbono metilênico e ao carbono metílico do grupo propanoíla acoplado.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **OXI-E2** (Figura 77) mostrou os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 2,98 (H-3, dd,  $J=12,9$ , 1,9 Hz, 1H); 2,55 (H-1, dd,  $J=12,5$ , 1,7 Hz, 1H); 2,14 (H-1, d,  $J=12,5$  Hz, 1H); 1,99 (H-5, t,  $J=6,1$  Hz, 1H); 1,94 (H-8, m, 1H); 1,84 (H-16, d,  $J=11,3$  Hz, 1H); 1,11 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,86 (H-19, s, 3H); 0,97 (H-20, s, 3H). Além disso, os sinais em 2,42 (q, 2H), 1,20 (t,  $J = 7,6$  Hz, 3H) referentes aos hidrogênios do grupo propanoíla acoplado.

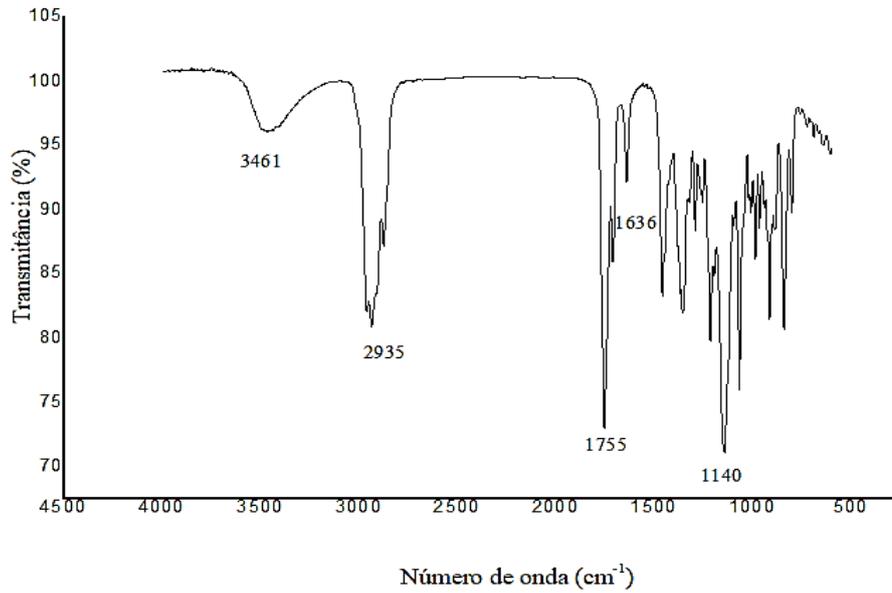
O espectro de massa de alta resolução (Figura 78) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em  $m/z$  398,2659 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_3$  e a massa molar calculada de 375,2762 daltons.

Figura 73 - Fórmula estrutural de **OXI-E2**



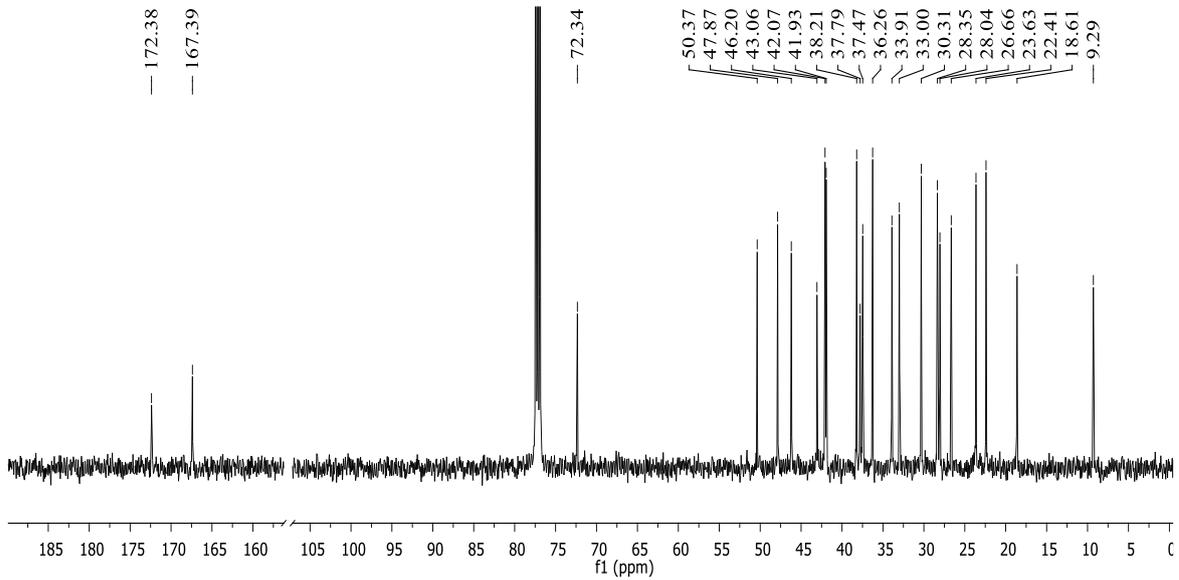
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 74 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-E2**



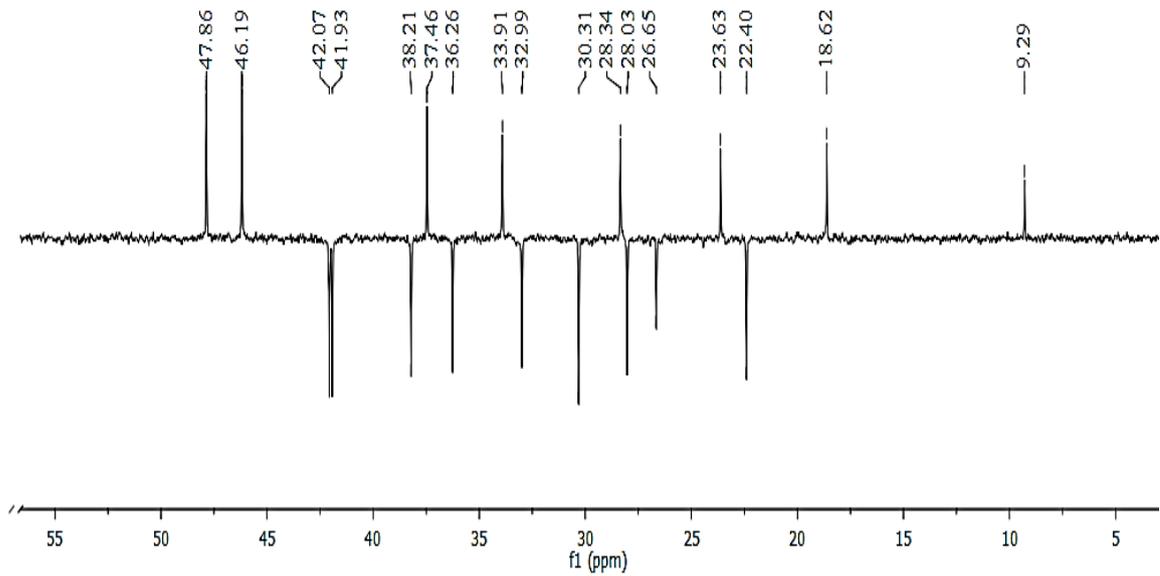
Fonte: Autoria própria, 2021

Figura 75- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>/125MHz) de **OXI-E2**



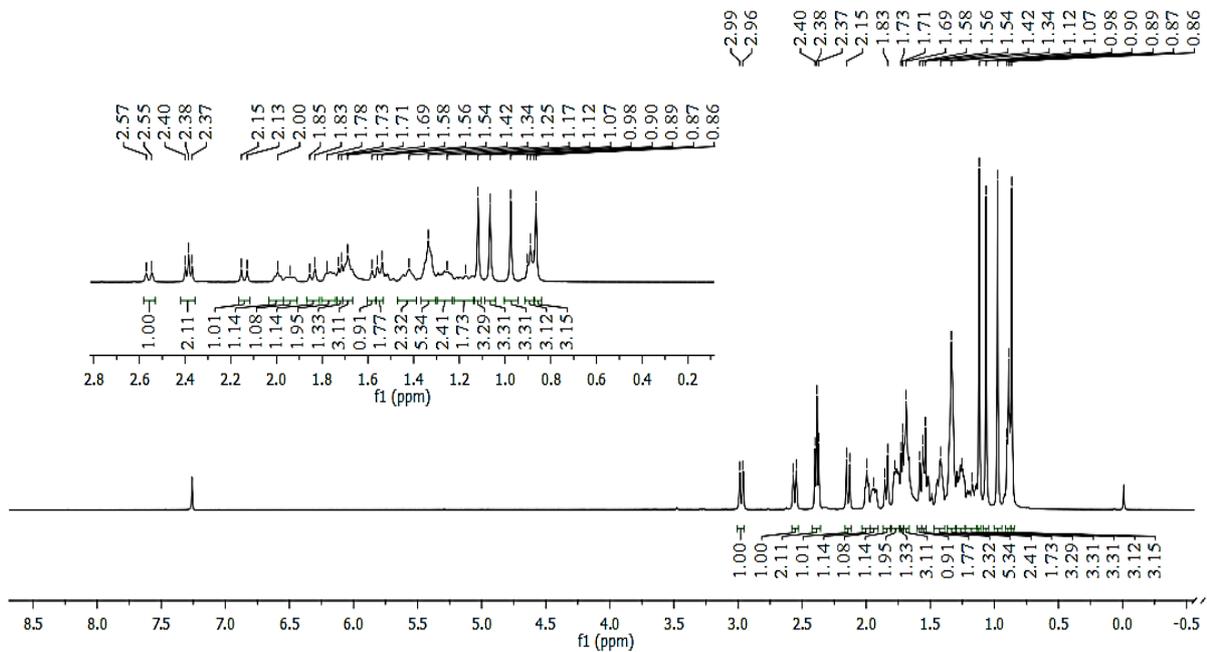
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 76 - Espectro de RMN de DEPT 135° (CDCl<sub>3</sub>/125MHz) de **OXI-E2**

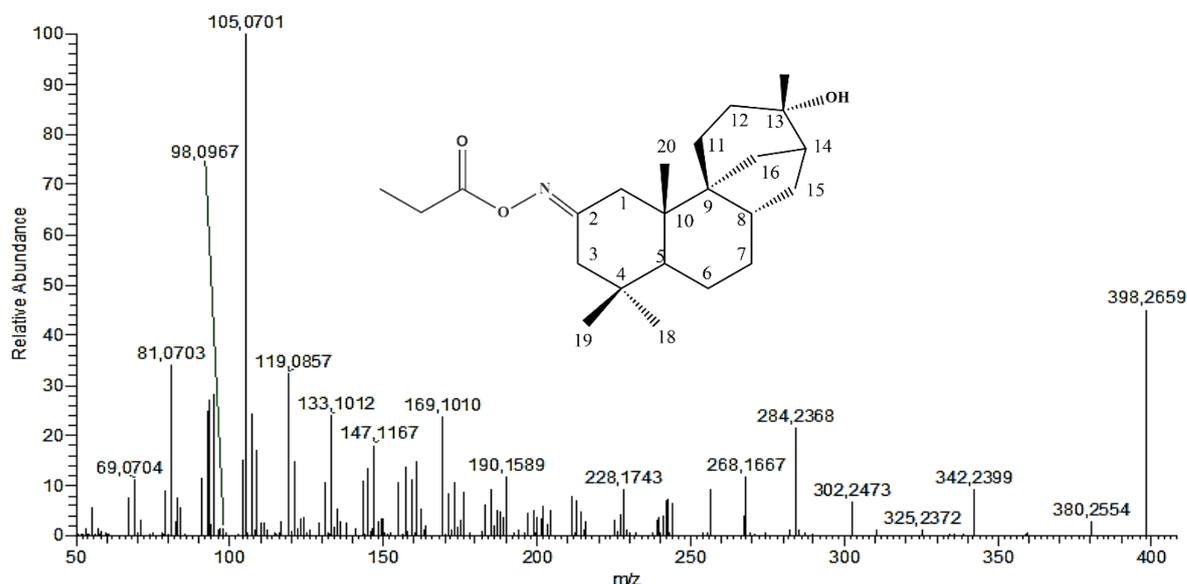


Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 77 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/500MHz) de **OXI-E2**



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 78 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-E2**

Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.9 Caracterização estrutural de **OXI-E3**

O derivado **OXI-E3** (Figura 79) foi semissintetizado a partir da reação de acilação de **OXI-E** com cloreto de hexanoíla, com 60,05% de rendimento. O composto foi obtido na forma de um sólido branco com ponto de fusão de 95,9-96,7 °C. O espectro de infravermelho (IV) (Figura 79) mostra a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em 3481  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $sp^3$  em 2935, deformação axial da ligação C=O de éster em 1755  $\text{cm}^{-1}$  e deformação axial da ligação C=N de oxima em 1638  $\text{cm}^{-1}$ .

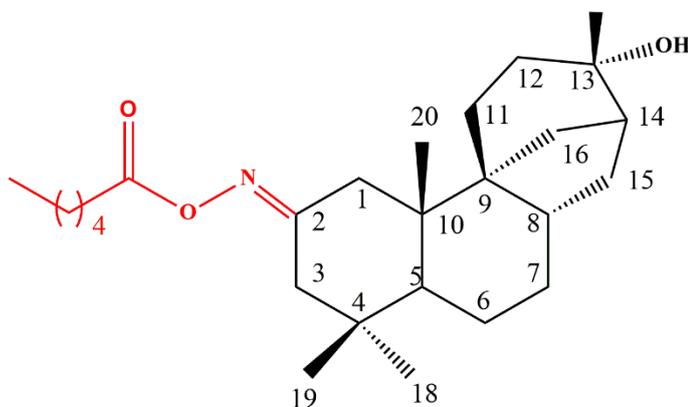
Os experimentos de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) (Figura 80) e DEPT 135° ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) (Figura 81) de **OXI-E3** mostraram a presença de 26 sinais para diferentes carbonos, sendo oito CH ou  $\text{CH}_3$ , onze  $\text{CH}_2$  e sete carbonos não hidrogenados que foram correlacionados da seguinte forma: C-1 (42,01); C-2 (167,39), C-3 (42,10); C-4 (37,78), C-5 (47,91); C-6 (22,43); C-7(36,29); C-8 (37,51); C-9 (50,40); C-10 (43,07); C-11 (28,07); C-12 (33,05); C-13 (72,34); C-14 (46,24); C-15 (38,24); C-16 (30,35); C-17 (28,38); C-18 (33,30); C-19 (23,66) e C-20 (18,63). Os sinais em 171,69; 31,57; 24,83; 23,66; 22,43, 13,99 são pertencentes ao grupo hexanoíla adicionado.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ) de **OXI-E3** (Figura 82) mostrou os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 2,98 (H-3, dd,  $J = 12,9, 1,9\text{ Hz}$ , 1H); 2,55 (H-1, dd,  $J = 12,5, 1,7\text{ Hz}$ , 1H); 2,14 (H-1, d,  $J = 12,5\text{ Hz}$ , 1H); 1,99 (H-5, t,  $J = 6,1\text{ Hz}$ , 1H); 1,94 (H-8, m, 1H); 1,84

(H-16, d,  $J = 11,3$  Hz, 1H); 1,12 (H-17, s, 3H); 1,07 (H-18, s, 3H); 0,98 (H-20, s, 3H), 0,86 (H-19, s, 3H). Os sinais em 2,38 (t, 2H); 1,69 (m, 3H); 1,33(m, 3H) e 0,89 (t, 3H) são referentes aos hidrogênios do grupo hexanoíla acoplado.

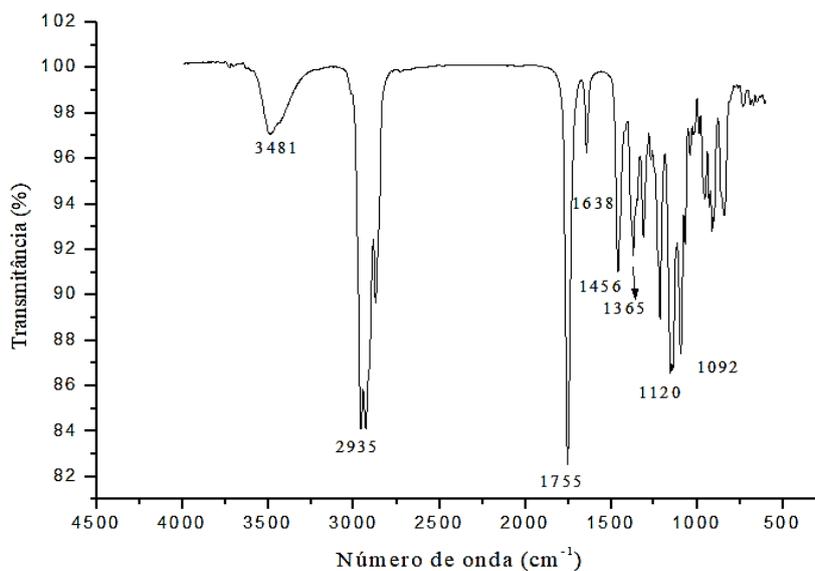
O espectro de massa de alta resolução (Figura 83) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em  $m/z$  440,3124 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[M+Na]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $C_{26}H_{43}NO_3$  e a massa molar calculada de 417,3227 daltons.

Figura 79 - Fórmula estrutural de **OXI-E3**



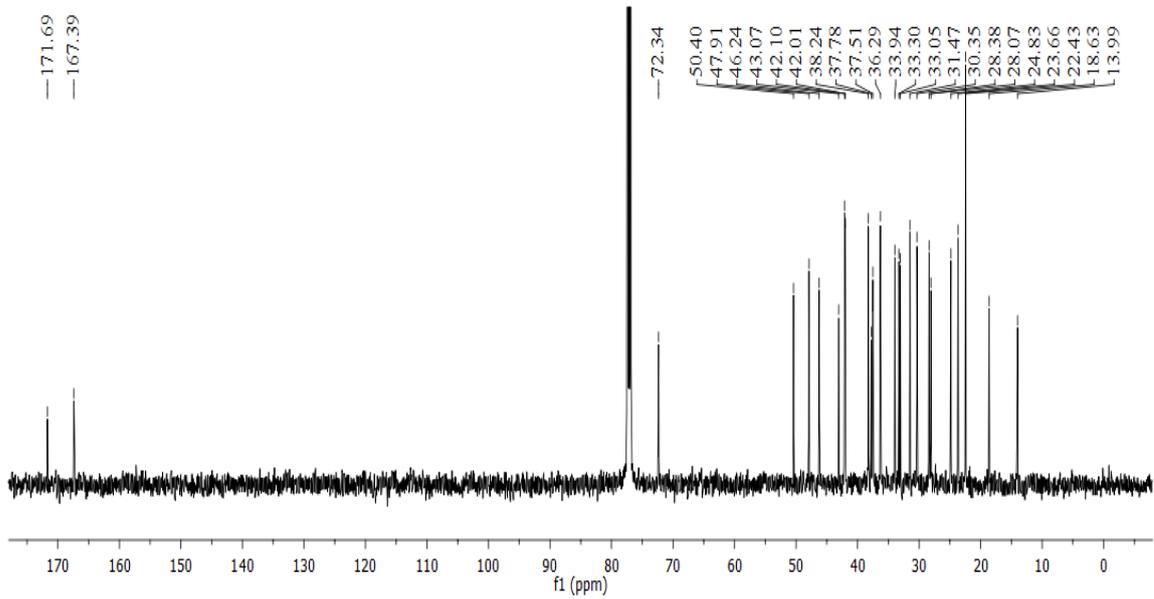
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 80 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-E3**



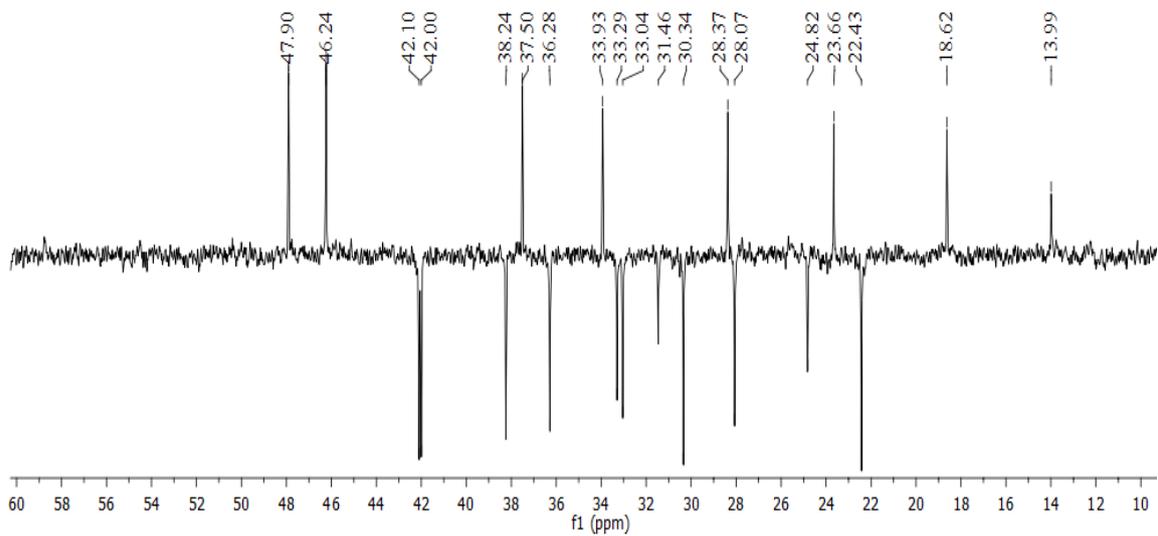
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 81 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-E3** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



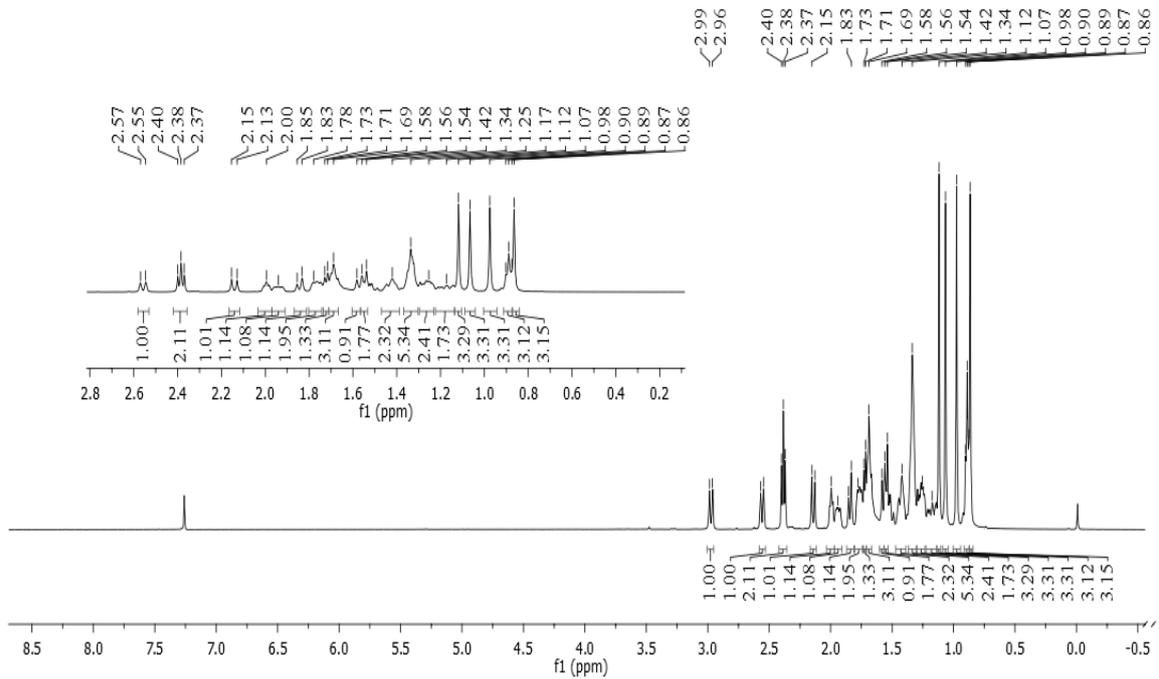
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 82 - Espectro de RMN DEPT  $135^\circ$  de **OXI-E3** ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ )



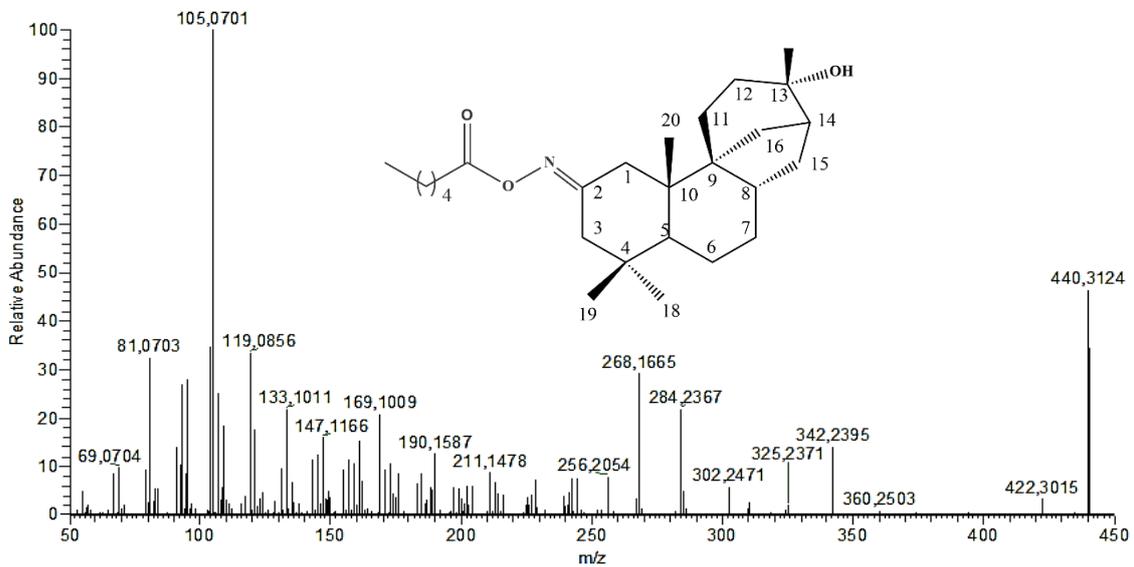
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 83 - Espectro de  $^1\text{H}$  de **OXI-E3** ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ )



Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 84 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-E3**



Fonte: Aatoria própria (2021).

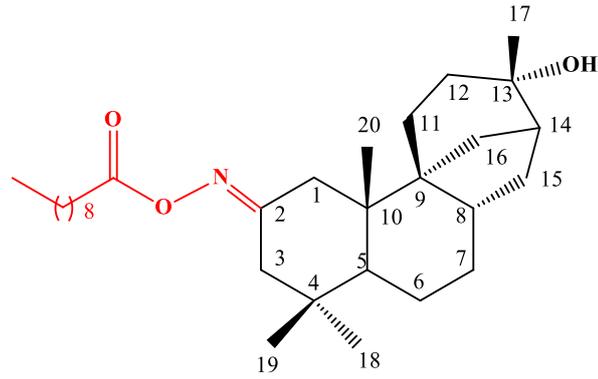
### 5.1.10 Caracterização estrutural de OXI-E4

O derivado **OXI-E4** (Figura 85) foi semissintetizado a partir da reação de acetilação de **OXI-E** com cloreto de decanoíla com 85,08% de rendimento. O composto foi obtido na forma de um sólido branco com ponto de fusão na faixa de 150,6-151,8 °C. O espectro de infravermelho (IV) (Figura 86) mostra a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação O-H de álcool em 3481  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  em 2935, deformação axial da ligação C=O de éster em 1755  $\text{cm}^{-1}$ , deformação axial da ligação C=N de oxima em 1642  $\text{cm}^{-1}$ .

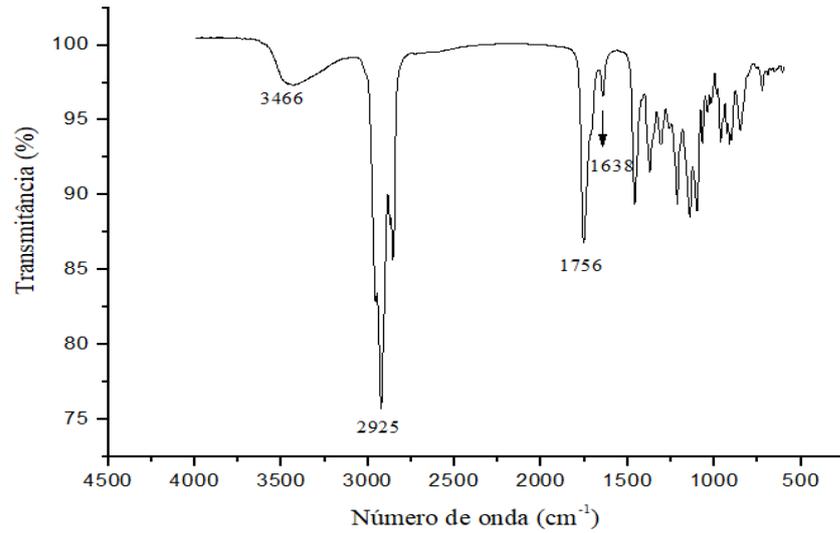
Os experimentos de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) (Figura 87) e DEPT 135° ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ) (Figura 88) de **OXI-E4** mostraram a presença de 23 sinais para diferentes carbonos, sendo oito CH ou  $\text{CH}_3$ , quinze  $\text{CH}_2$  e sete carbonos não hidrogenados, que foram sumarizados da seguinte forma: C-1(42,00); C-2 (167,39); C-3 (42,09); C-4 (37,78); C-5 (47,90); C-6 (22,43); C-7 (36,28); C-8 (37,50); C-9 (50,39); C-10 (43,06); C-11 (28,06); C-12 (33,02); C-13 (72,38); C-14 (46,23); C-15 (38,23); C-16 (30,34); C-17 (28,35); C-18 (33,34); C-19 (23,67) e C-20 (18,62). Os sinais em 171,70; 33,93; 31,99; 29,55; 29,38; 29,31; 25,15; 24,96; 22,78 e 14,19 foram atribuídos aos carbonos do grupo decanoíla acoplado.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ ) de **OXI-E4** (Figura 89) mostrou os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 2,98 (H-3, dd,  $J=12,9$ , 1,9 Hz, 1H); 2,55 (H-1, dd,  $J=12,5$ , 1,7 Hz, 1H); 2,14 (H-1, d,  $J=12,5$  Hz, 1H); 1,99 (H-5, t,  $J=6,1$  Hz, 1H); 1,94 (H-8, m, 1H); 1,84 (H-16, d,  $J=11,3$  Hz, 1H); 1,12 (H-17, s, 3H); 1,06 (H-18, s, 3H); 0,85 (H-19, s, 3H) 0,97 (H-20, s, 3H). Além disso, os sinais em 2,38 (m, 2H); 2,33(m, 1H); 1,25 (m, 12H); 0,92 (s, 1H) 0,88-0,85(m, 3H) são referentes aos hidrogênios do grupo decanoíla acoplado.

O espectro de massa de alta resolução (Figura 90) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em 496,3757 daltons referente ao aduto de sódio do composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{NO}_3$  e a massa molar calculada de 473,3860 daltons.

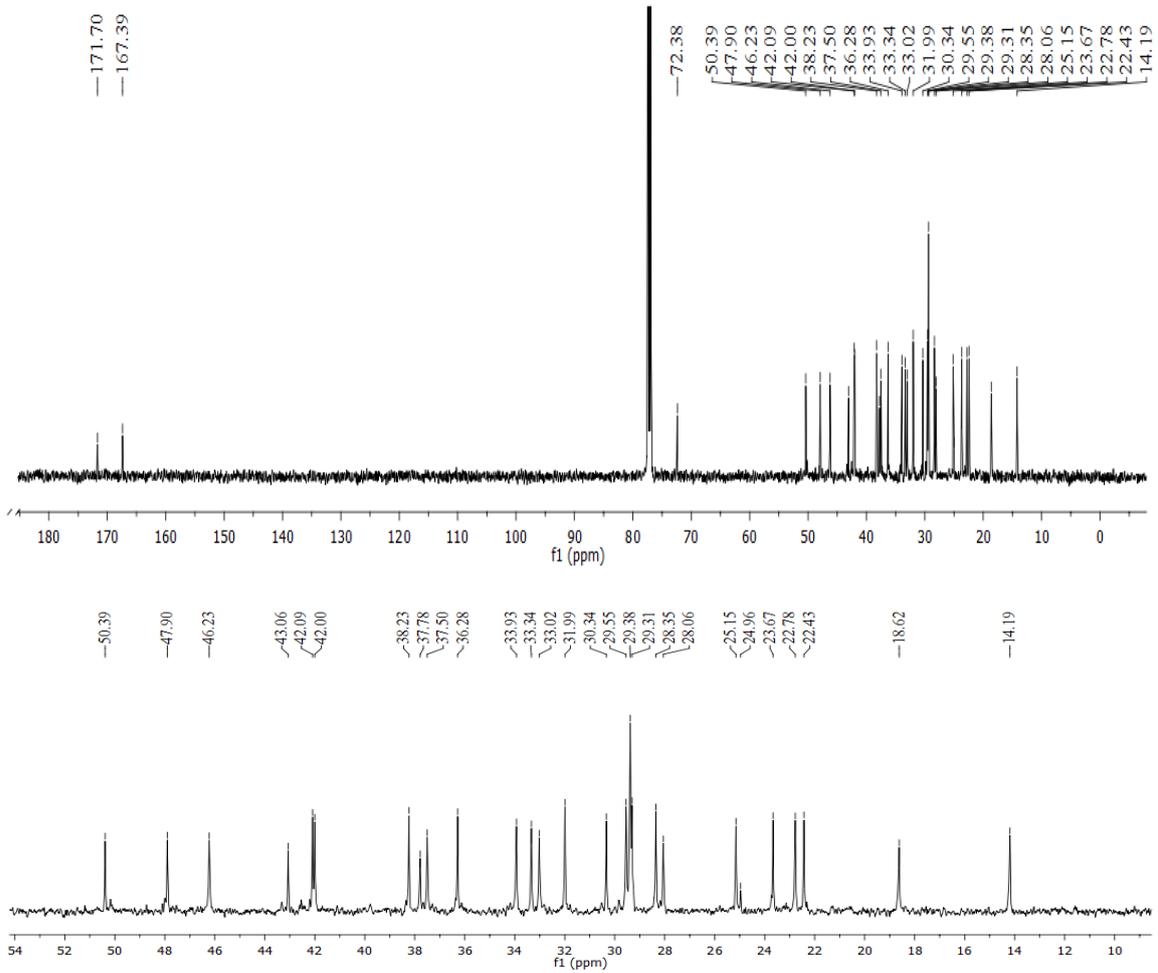
Figura 85 - Fórmula estrutural de **OXI-E4**

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 86 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **OXI-E4**.

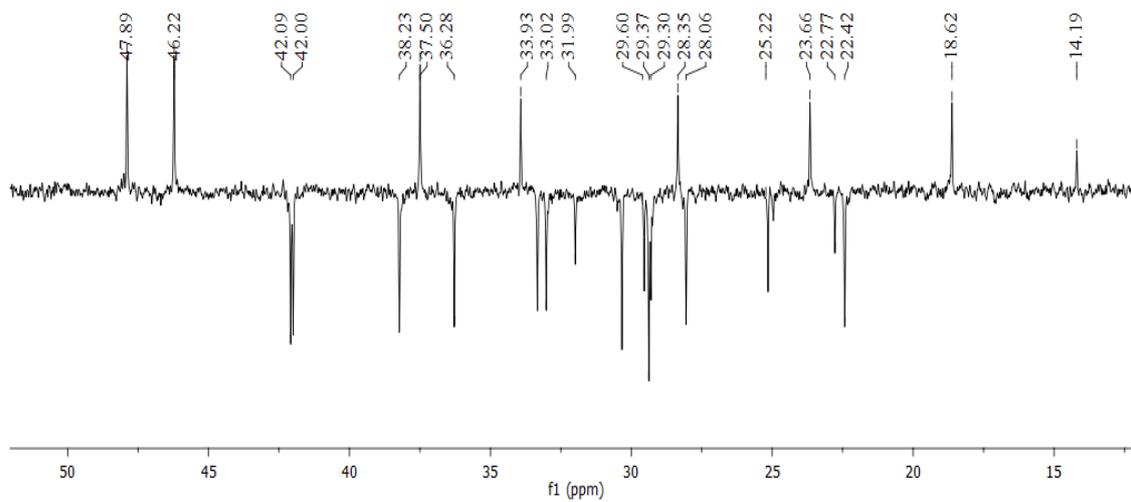
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 87 - Espectro e expansão de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **OXI-E4** ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ )



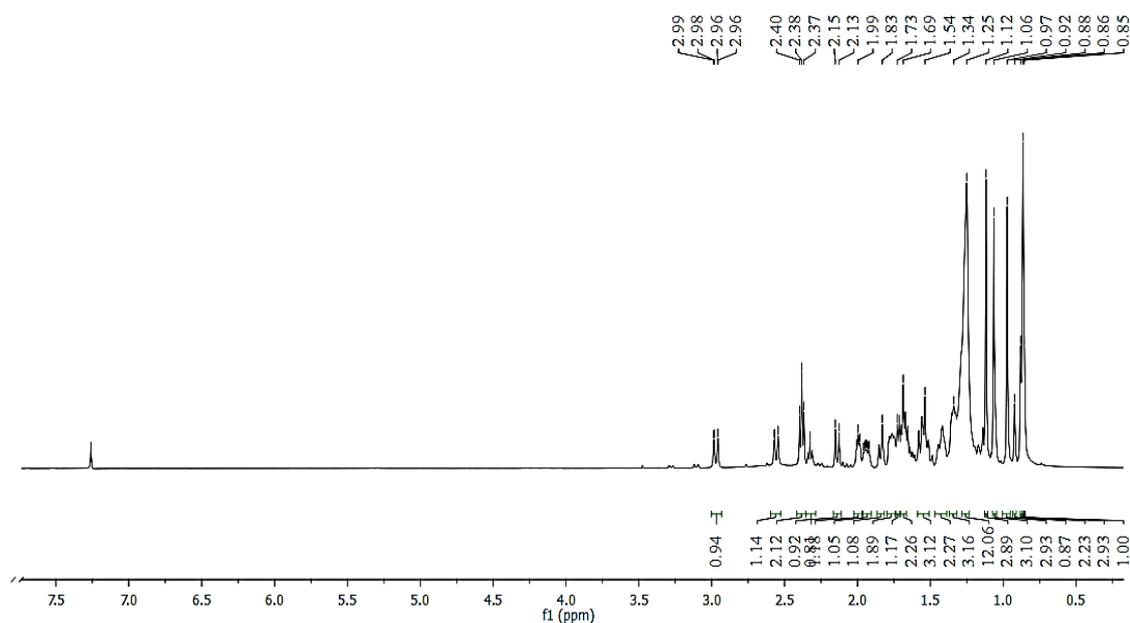
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 88 - Espectro de RMN DEPT  $135^\circ$  de **OXI-E4** ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ )



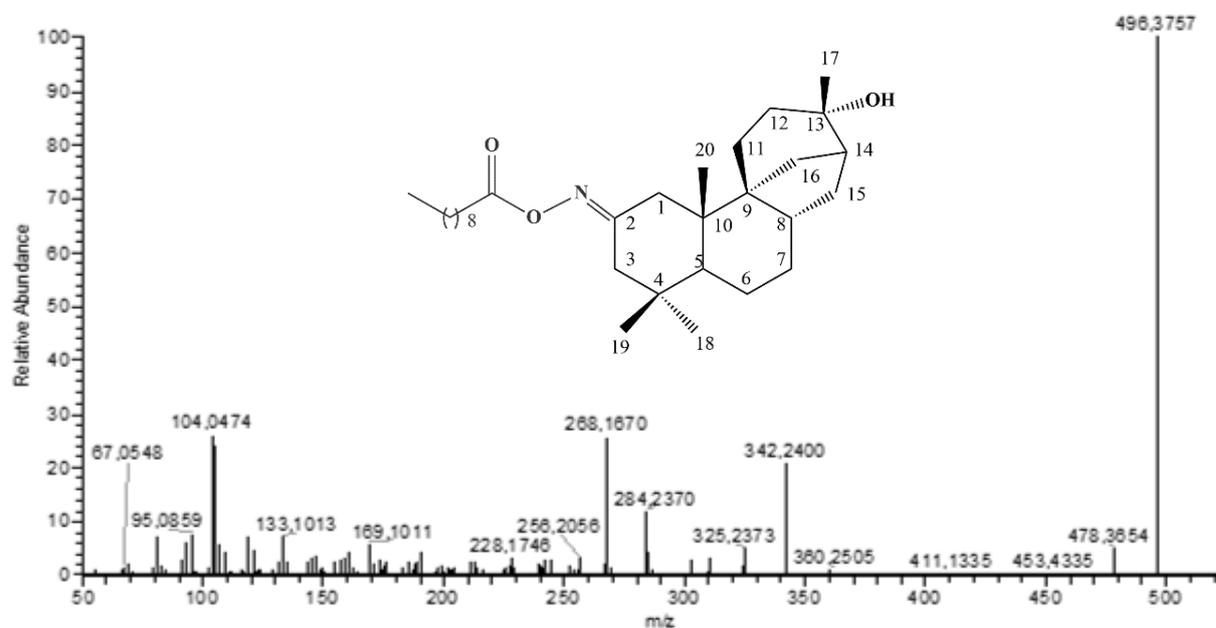
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 89 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **OXI-E4** ( $\text{CDCl}_3/5000\text{ MHz}$ )



Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 90 - Espectro de massa de alta resolução de **OXI-E4**



Fonte: Aatoria própria (2021).

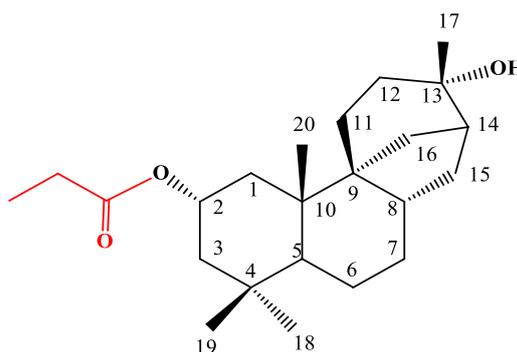
### 5.1.11 Caracterização estrutural de STME-P1

O produto **STME-P1** (Figura 91) foi semissintetizado a partir da acilação de **STME** com cloreto de propanoíla com 67,65% de rendimento. O derivado foi obtido na forma de um líquido viscoso. Analisando o espectro de infravermelho (IV) de **STME-P1** (Figura 92)

verifica-se presença de bandas de absorções de deformação axiais da ligação O-H de álcool em  $3471\text{ cm}^{-1}$ , deformação axiais da ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  em  $2945$ , deformação axiais da ligação C=O de éster em  $1733\text{ cm}^{-1}$  e deformação angular de  $\text{CH}_2$  em  $1456\text{ cm}^{-1}$  e  $\text{CH}_3$   $1356\text{ cm}^{-1}$ . O espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ ) de **STME-P1** (Figura 93) mostra a presença de 23 sinais, que foram correlacionados da seguinte forma  $\delta$ : C-1(41,91); C-2 (69,22); C-3 (46,76); C-4 (34,88); C-5 (46,90); C-6 (22,16); C-7 (36,57); C-8 (37,05); C-9 (50,37); C-10 (40,31); C-11 (27,94); C-12 (33,00); C-13 (72,57); C-14 (46,37); C-15(38,23); C-16 (30,23); C-17 (28,34); C-18 (34,66); C-19 (23,66); C-20 (19,50). Os sinais em 174,21; 28,14 e 9,27 pertencem ao carbono da carbonila de éster, carbono metilênico e metila do grupo propanoíla adicionado.

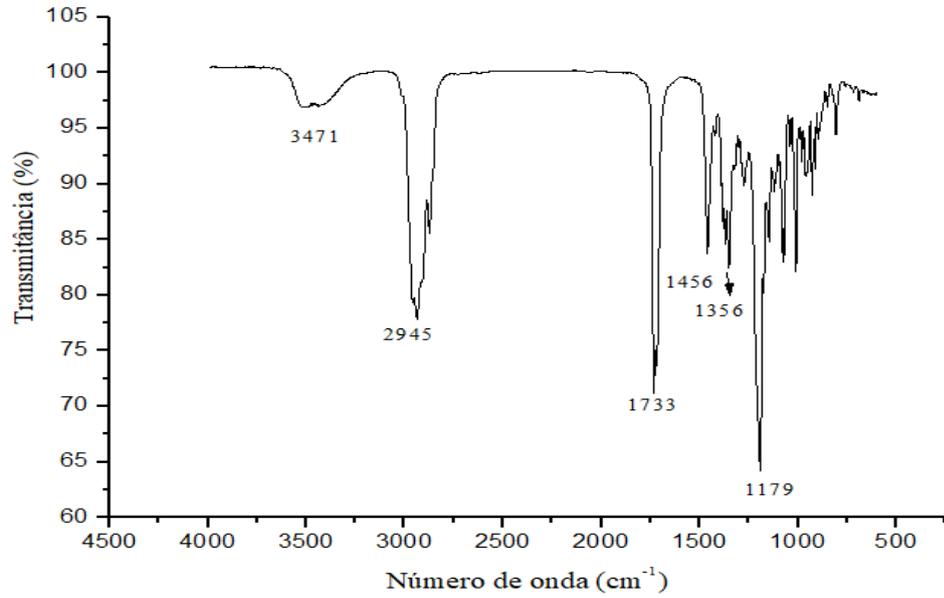
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **STME-P1** (Figura 94) mostra os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 1,99 (H-1, m, 1H); 4,91 (H-2, m, 1H); 1,74 (H-3, m, 1H); 1,21 (H-5, m, 1H), 1,41 (H-6, m, 1H); 1,93 (H-7, s, 1H); 1,72 (H-8, m, 1H); 1,97 (H-14, m, 1H); 1,80 (H-16, d,  $J=11,6$ , 1H); 1,12 (H-17, s, 3H); 1,04 (H-18, s, 3H); 0,95 (H-19, s, 3H); 0,96 (H20, s, 3H). Os sinais em 2,28 (q, 2H) e 1,11-1,14 (m, 3H) são pertencentes ao grupo propanoíla acoplado. O espectro de massa de alta resolução de **STME-P1** (Figura 95) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em 385,2711 daltons referente ao aduto de sódio do composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3$  e a massa molar calculada de 362,2814 daltons.

Figura 91 - Fórmula estrutural de **STME-P1**



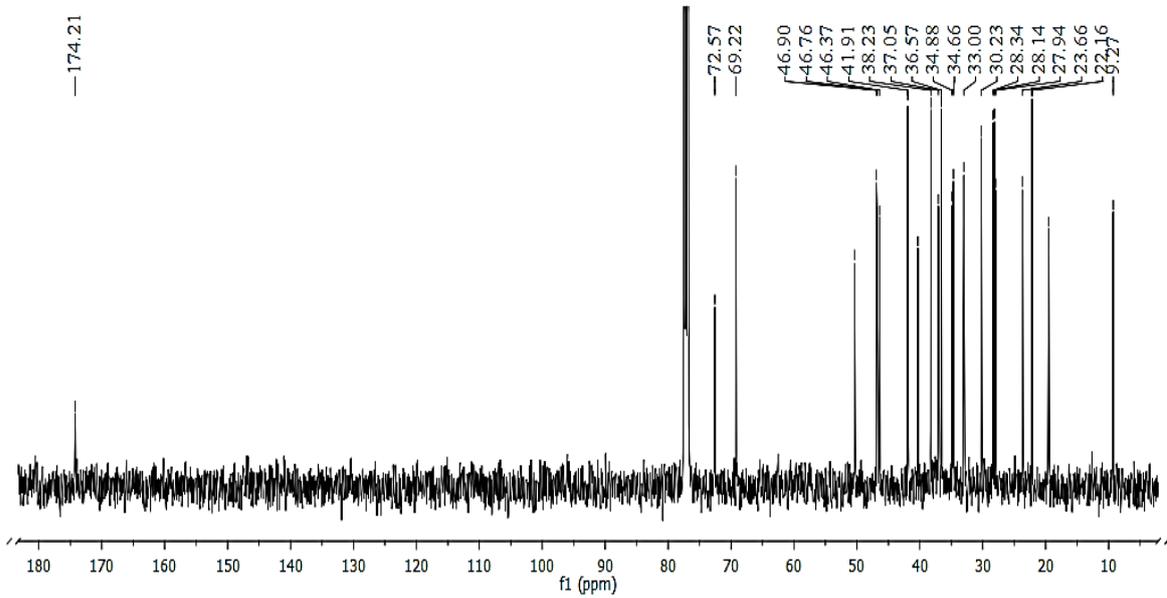
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 92 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **STME-P1**



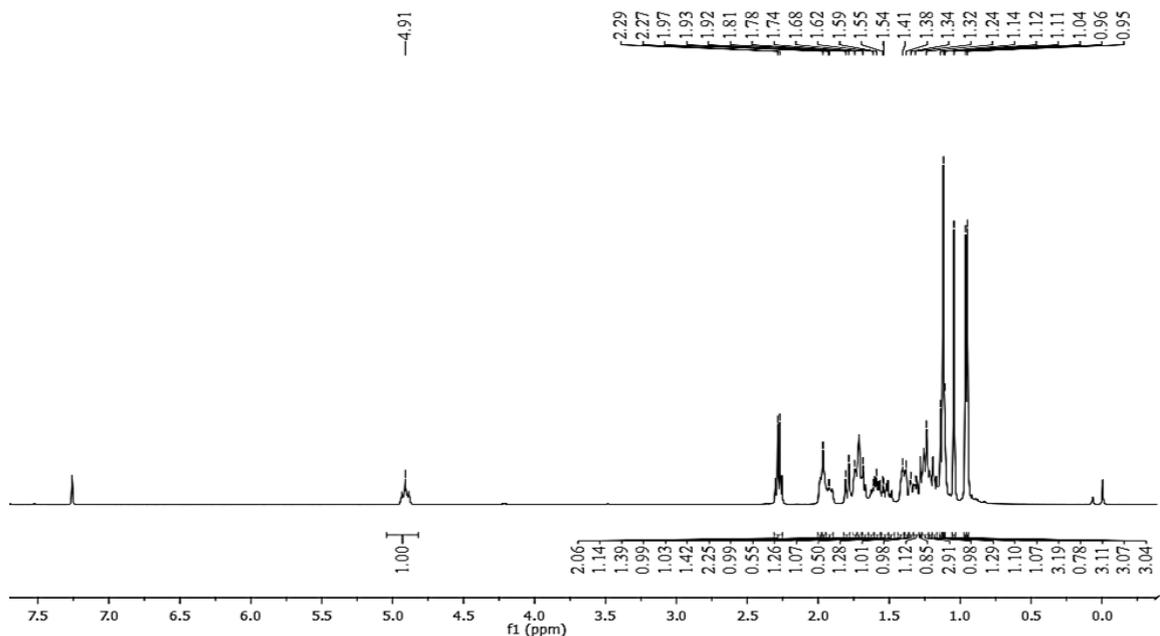
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 93 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **STME-P1** ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ )



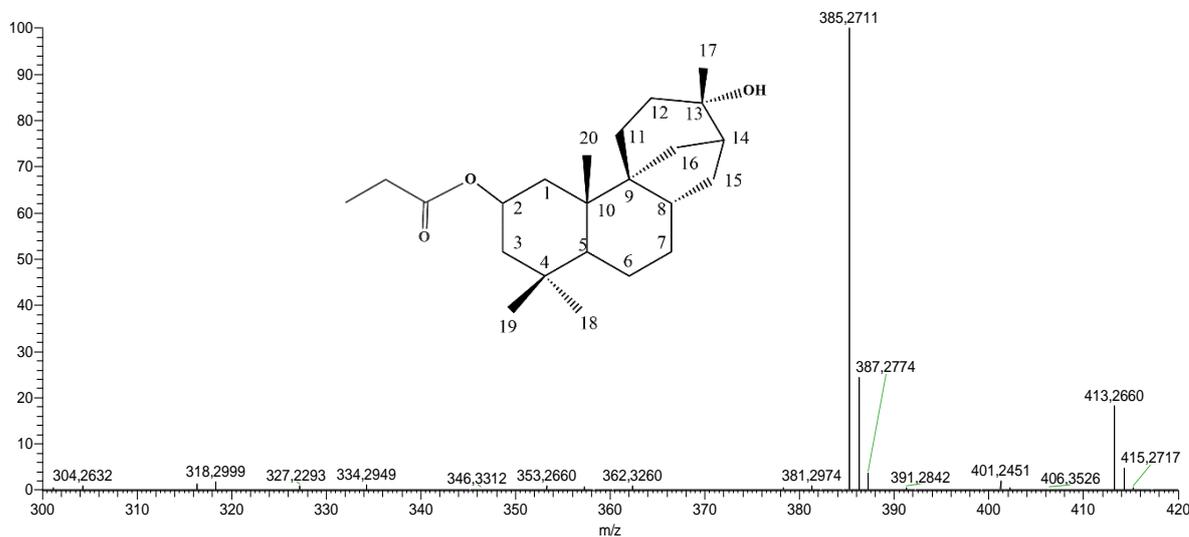
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 94 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **STME-P1**( $\text{CDCl}_3$ /500MHz)



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 95 - Espectro de massa de alta resolução de **STME-P1**



Fonte: Autoria própria (2021).

### 5.1.12 Caracterização estrutural de **STME-P2**

O produto **STME-P2** (Figura 96) foi semissintetizado a partir da acilação de **STME** com cloreto de propanoíla com 30,09 % de rendimento. O derivado foi obtido na forma de um líquido viscoso. Analisando o espectro de infravermelho (IV) de **STME-P2** (Figura 97) verifica-se a presença de bandas de absorção de deformação axial da ligação C-H de carbono

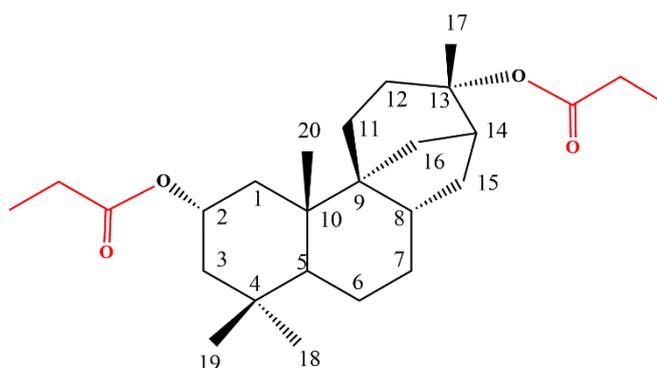
$sp^3$  em 2929, deformação axial da ligação C=O de éster em 1738  $\text{cm}^{-1}$  e deformações angulares de  $\text{CH}_2$  em 1456  $\text{cm}^{-1}$  e  $\text{CH}_3$  1356  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3/125\text{MHz}$ ) de **STME-P2** (Figura 98) mostra a presença de 26 sinais que foram sumarizados da seguinte forma  $\delta$ : C-1(41,63); C-2 (69,18); C-3 (46,84); C-4 (34,89); C-5 (46,87); C-6 (22,17); C-7 (36,48); C-8 (37,41); C-9 (50,20); C-10 (40,33); C-11 (29,15); C-12 (31,21); C-13 (84,31); C-14 (43,22); C-15(37,49); C-16 (30,51); C-17 (23,04); C-18 (34,68); C-19 (23,65); C-20 (19,54). Os sinais em 174,24; 173,91; 28,18; 28,03; 9,55 e 9,31 pertencem aos carbonos dos grupos propanoílas acoplados.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/500\text{MHz}$ ) de **STME-P2** (Figura 99) mostrou os seguintes padrões de sinais  $\delta$ : 1,93 (H-1, m, 1H); 4,91 (H-2, m, 1H); 1,91 (H-14, m, 1H); 1,31 (H-17, s, 3H); 1,04 (H-18, s, 3H); 0,95 (H-19, s, 3H); 0,96 (H-20, s, 3H). Os sinais em 2,28 (m, 4H) e 1,11-1,14 (m, 6H) são pertencentes ao grupo propanoíla acopLado.

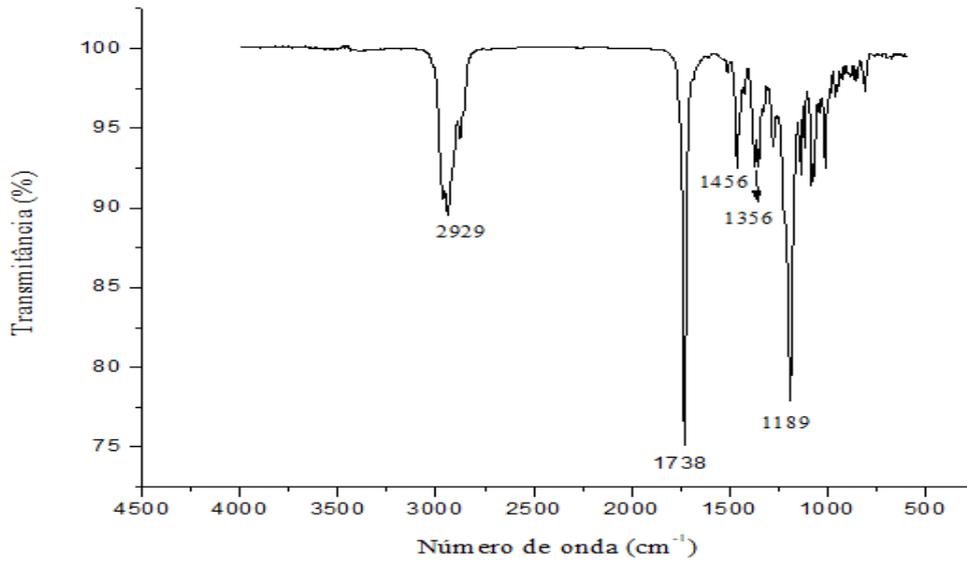
O espectro de massa de alta resolução (Figura 100) obtido pela técnica por ionização por eletrospray, no modo positivo, mostra a presença do sinal em  $m/z$  441,2971 daltons referente ao aduto de sódio com o composto  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Esse sinal confirma a fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4$  e a massa molar calculada de 418,3074 daltons.

Figura 96 - Fórmula estrutural de **STME-P2**



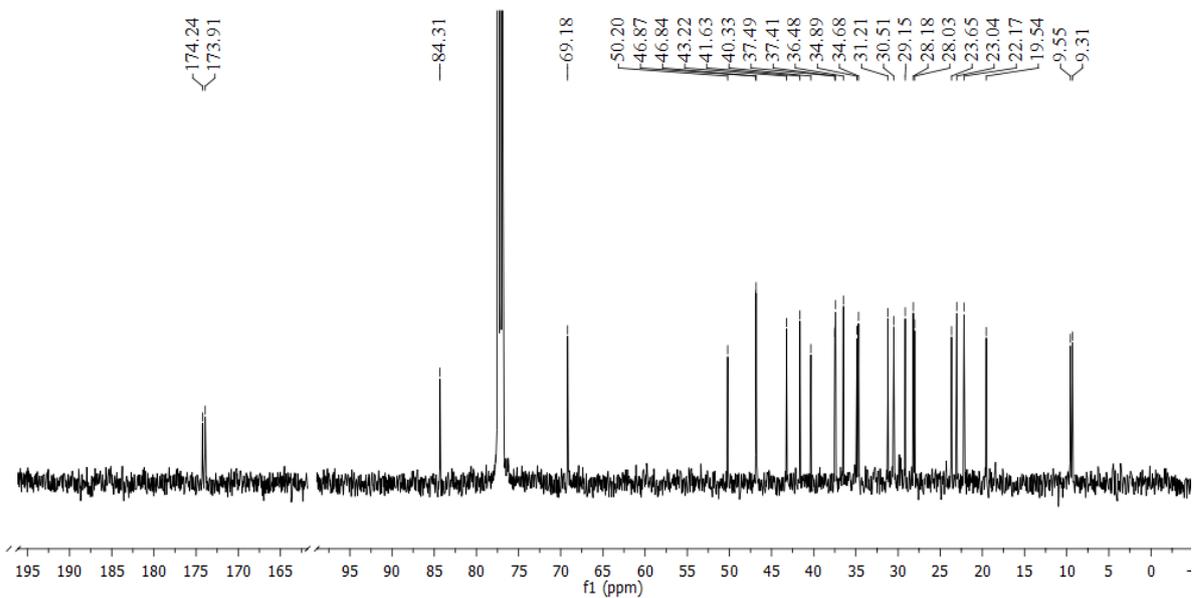
Fonte: A autoria própria (2021).

Figura 97 - Espectro na região do infravermelho (IV) de **STME-P2**



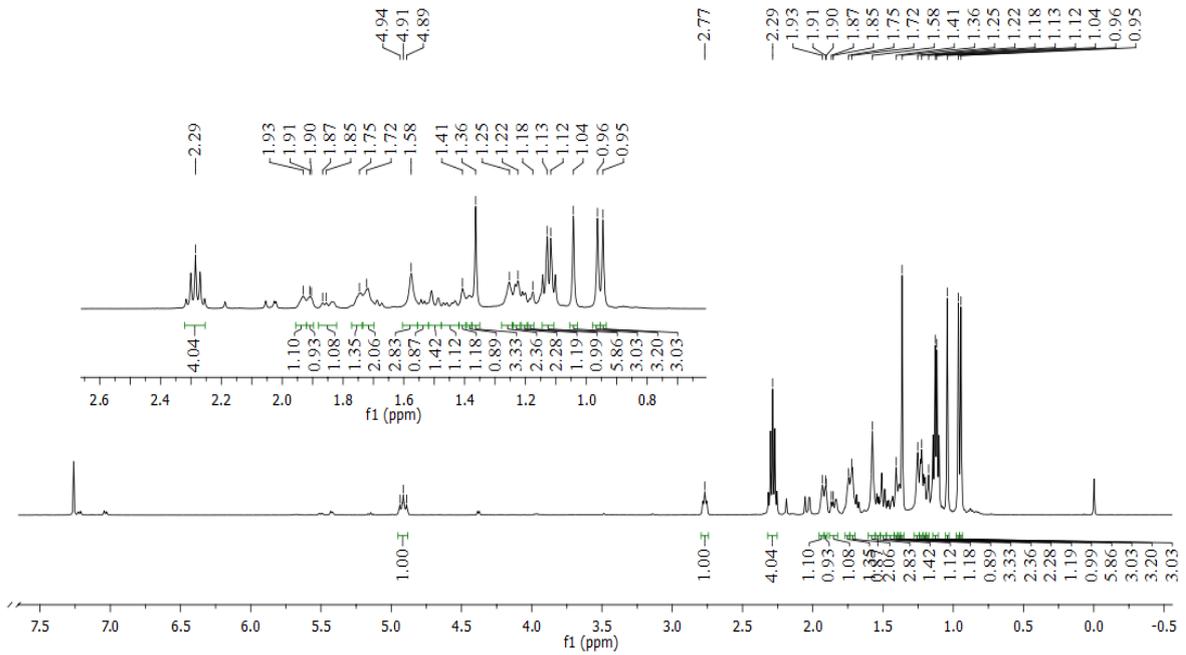
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 98 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **STME-P2** ( $\text{CDCl}_3/125\text{ MHz}$ )



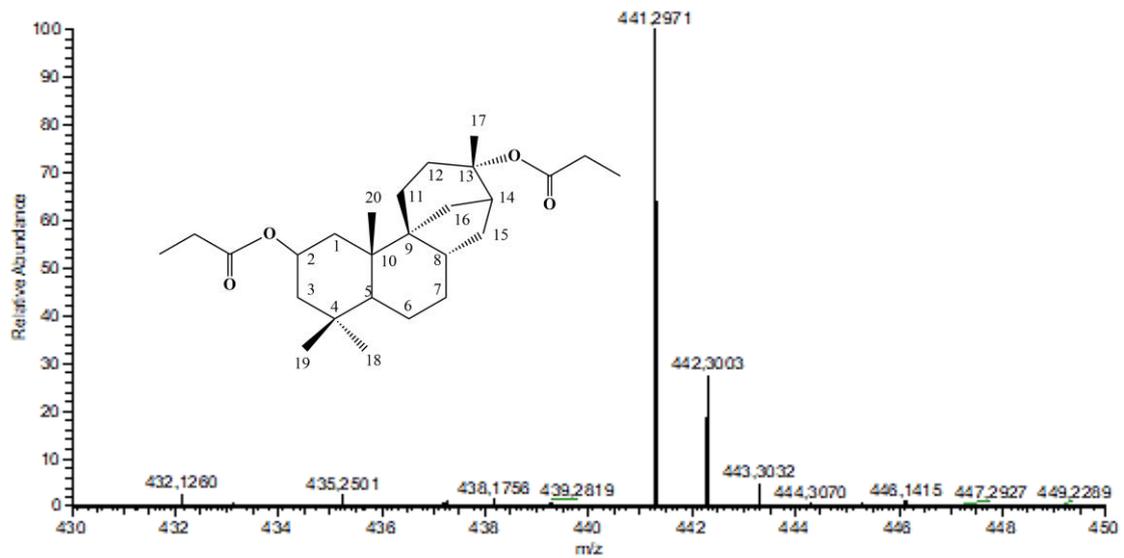
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 99 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **STME-P2** ( $\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$ )



Fonte: Aatoria própria (2021).

Figura 100 - Espectro de massa de alta resolução de **STME-P2**



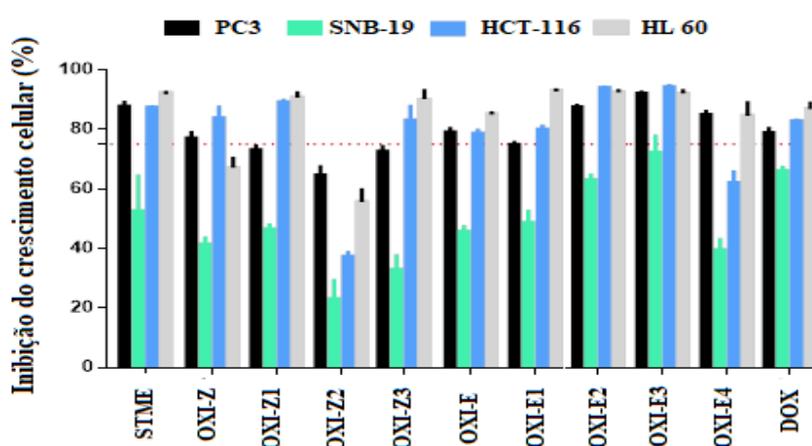
Fonte: Aatoria própria (2021).

## 5. 2 Bioensaios

### 5.2.1 Atividade citotóxica frente a linhagens de células de câncer humano

A estemodina e os derivados **OXI-Z**, **OXI-Z1**, **OXI-Z2**, **OXI-Z3**, **OXI-E**, **OXI-E1**, **OXI-E2**, **OXI-3** e **OXI-E4** foram testados *in vitro* quando as suas capacidades de inibição de quatro linhagens de células cancerígenas humanas (**HCT-116**, **PC-3**, **HL 60** e **SNB-19**) pelo método do MMT, utilizando a doxurrubicina como controle positivo. De forma geral, todos os compostos a uma concentração de  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , foram capazes de inibir o crescimento de alguma das linhagens celulares estudadas. Esses resultados, Gráfico 1 e Tabela 3.

Gráfico 1- Percentual de inibição dos compostos estudados



Fonte: Autoria própria (2021).

A estemodina (**STME**) apresentou percentual de inibição de crescimento celular para as três linhagens, **PC3**, **HCT-116** e **HL60** de 87,82%, 87,35% e 92,18%, respectivamente. Esses percentuais de inibição foram maiores, inclusive, que o controle positivo (doxurrubicina), Tabela 3 e Gráfico 2. Em relação ao derivado **OXI-Z**, observou-se que apenas para a linhagem **HCT-116**, foi observada maior atividade que o controle positivo, mas não superior à atividade de inibição da estemodina. O derivado **OXI-Z1**, quando testado contra **HCT-116**, apresentou melhor percentual inibitório (83,84 %) que **STME** e que a doxurrubicina (82,76%). O derivado **OXI-Z2** não apresentou resultados significativos. Já o composto **OXI-Z3**, que embora tenha apresentado atividade superior a do controle padrão positivo, contra **HCT-116** (83,11%) e **HL60** (90,06%), o mesmo foi inferior à estemodina, Tabela 3 e Gráfico 1.

Tabela 3 - Percentual de inibição de crescimento celular da **OXI-Z** e seus ésteres

Amostras	Porcentagem de Inibição ( $\pm$ desvio padrão)			
	PC3	SNB-19	HCT-116	HL60
<b>STME</b>	87,82 $\pm$ 1,30	52,48 $\pm$ 11,77	87,35 $\pm$ 0,19	92,18 $\pm$ 0,16
<b>OXI-Z</b>	77,15 $\pm$ 1,74	41,40 $\pm$ 2,00	83,84 $\pm$ 3,60	67,15 $\pm$ 3,05
<b>OXI-Z1</b>	73,07 $\pm$ 1,17	46,39 $\pm$ 1,47	89,19 $\pm$ 0,53	90,65 $\pm$ 1,61
<b>OXI-Z2</b>	64,66 $\pm$ 2,30	23,02 $\pm$ 6,17	37,32 $\pm$ 1,27	55,62 $\pm$ 4,10
<b>OXI-Z3</b>	72,59 $\pm$ 1,10	32,87 $\pm$ 4,59	83,11 $\pm$ 4,54	90,06 $\pm$ 2, 94
<b>DOX</b>	78,93 $\pm$ 1,35	66,05 $\pm$ 1,07	82,76 $\pm$ 0,28	86,87 $\pm$ 1,94

Fonte: Autoria própria (2021).

Comparando-se os resultados obtidos para **OXI-Z** e seus ésteres, com o diterpeno estemodina, verifica-se que de forma geral, **STME** apresentou melhor atividade citotóxica. Tal constatação sugere que a presença da hidroxila em C-2 na estemodina, tenha importância para atividade citotóxica majoritária de **STME** e que, portanto, a formação da oxima-Z diminui a atividade dos análogos semissintéticos. Além disso, a comparação das atividades dos ésteres da oxima-Z, não permite estabelecer uma correlação direta entre o tamanho da cadeia lipofílica adicionada e a atividade dos compostos.

Com relação ao derivado **OXI-E**, a análise dos dados, mostrou que este, também apresentou menores índices de inibição de crescimento celular do que a estemodina. Reforçando a ideia de importância da hidroxila em C-2, também em relação à oxima-E, para a atividade citotóxica (Tabela 4). Contudo, resultados diferentes foram observados para os ésteres da oxima-E, em relação aos ésteres da oxima-Z. Neste caso, o análogo **OXI-E1** mostrou contra a linhagem **HL60** melhor percentual de inibição (93,12%), que o substrato estemodina (92,18%) e o controle positivo (86,87%), Tabela 4 e Gráfico 1.

Analisando-se os dados para o derivado **OXI-E2**, verificou-se que este foi mais seletivo contra as linhagens **HCT-116** e **HL60**, com inibições de 93,97 e 92,53%, respectivamente. Neste caso, os resultados foram melhores, quando comparados com **STME** e a doxorrubicina. A análise dos percentuais de inibição para o derivado **OXI-E3**, mostrou resultados interessantes, pois o análogo apresentou maior atividade que **STME** e a doxorrubicina, contra as linhagens **PC3** (92,05%), **SNB-19** (72,22%) e **HCT-116** (94,27%). Já o derivado **OXI-E4** não apresentou percentuais de inibição relevantes. Diferentemente dos ésteres que foram obtidos a partir de **OXI-Z** (oxima-Z), para os ésteres de **OXI-E** (oxima-E), foi possível identificar algum grau de correlação entre a estrutura e a atividade inibitória. Isto tornou-se evidente, a partir da identificação de uma relação direta entre a atividade e o tamanho

da cadeia lipofílica adicionada (LIPINSKI et al., 2001; PARDRIDGE, 2003; PORAT e DAHAN, 2018).

Tabela 4 - Percentual de inibição de crescimento celular da **OXI-E** e seus ésteres

Amostras	Porcentagem de Inibição ( $\pm$ desvio padrão)			
	PC3	SNB-19	HCT-116	HL60
<b>STME</b>	87,82 $\pm$ 1,30	52,48 $\pm$ 11,77	87,35 $\pm$ 0,19	92,18 $\pm$ 0,16
<b>OXI-E</b>	79,13 $\pm$ 1,17	45,68 $\pm$ 1,53	78,61 $\pm$ 1,04	85,12 $\pm$ 0,40
<b>OXI-E1</b>	74,90 $\pm$ 0,64	48,66 $\pm$ 3,70	79,99 $\pm$ 1,10	93,12 $\pm$ 0,10
<b>OXI-E2</b>	87,48 $\pm$ 0,50	62,96 $\pm$ 1,61	93,97 $\pm$ 0,11	92,53 $\pm$ 0,50
<b>OXI-E3</b>	92,05 $\pm$ 0,43	72,22 $\pm$ 5,43	94,27 $\pm$ 0,28	91,96 $\pm$ 1,02
<b>OXI-E4</b>	85,01 $\pm$ 1,00	39,49 $\pm$ 3,40	62,08 $\pm$ 3,53	84,56 $\pm$ 4,36
<b>DOX</b>	78,93 $\pm$ 1,35	66,05 $\pm$ 1,07	82,76 $\pm$ 0,28	86,87 $\pm$ 1,94

Fonte: Autoria própria (2021).

Foi observado, que o incremento da cadeia carbônica do éster até seis átomos de carbonos, aumentou a atividade dos derivados de **OXI-E** em relação a oxima original, para as linhagens **PC3**, **SNB-19** e **HCT-116**. O incremento de uma cadeia maior, como no caso do grupo decanoila, reduziu a atividade do derivado semissintético. Estas observações podem está relacionadas com a capacidade das substâncias permearem a membrana celular, que apresenta caráter lipofílico e hidrofílico. Assim, o transporte dos ésteres mais ativos de **OXI-E** através das membranas celulares das linhagens testadas, pode estar relacionado com as características anfifílicas (polares e apolares ou hidrofílica e lipofílica) dos derivados. Outro aspecto interessante, é que fatores estéricos podem influenciar e contribuir com a atividade citotóxica. Isto poderia justificar o fato dos ésteres de oxima-Z (derivados de **OXI-Z**) serem menos ativos que os ésteres de oxima-E, derivados de **OXI-E**.

Portanto, apesar das oximas-E/Z (**OXI-E** e **OXI-Z**) serem menos ativas do que o substrato estemodina; de maneira geral, os estereoisômeros *E* dos ésteres de **OXI-E** apresentaram melhores atividades citotóxicas do que os estereoisômeros *Z* dos ésteres de **OXI-Z**, o que aponta para a necessidade de estudos mais aprofundados de relação estrutura-atividade. Além disso, os derivados bioativos mais promissores (**OXI-E1**, **OXI-E2** e **OXI-E3**), devem ser submetidos a estudos de determinação da  $CI_{50}$  e avaliação da citotoxicidade em células saudáveis.

## 6 CONCLUSÕES

A partir das folhas da espécie *Stemodia maritima* Linn., uma planta popular no Nordeste brasileiro, foi possível isolar e purificar o diterpeno bioativo estemodina, em quantidade apreciável. A estemodina foi utilizada como substrato para obtenção de derivados semissintéticos com potencial biológico. As modificações estruturais foram realizadas a partir de reações como oxidação, oximação e esterificação, que possibilitaram a semissíntese de doze derivados, com rendimentos que variaram de 56,36 a 96,33%.

Somado a isso, dentre todos os derivados produzidos, destacam-se as oximas-*E/Z* e os seus respectivos ésteres, cujas estruturas químicas são inéditas na literatura. Além disso, todos os produtos semissintetizados neste estudo, bem como o substrato, foram devidamente caracterizados por análises de dados espectrométricos (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensional, IV, EM de alta resolução), além de dados físicos como ponto de fusão (p.f.). Com isso, o estudo irá contribuir com dados experimentais e estruturais de novas entidades químicas na literatura.

A avaliação da atividade citotóxica da estemodina e dos derivados semissintéticos **OXI-Z**, **OXI-Z1**, **OXI-Z2**, **OXI-Z3**, **OXI-E**, **OXI-E1**, **OXI-E2**, **OXI-3** e **OXI-E4** frente a células tumorais humanas (**HCT-116**, **PC-3**, **HL60** e **SNB-19**), mostrou que a estemodina apresentou melhores percentuais de inibição que a doxorrubicina (controle positivo) para as linhagens **PC3** (87,82%), **HCT-116** (87,35%) e **HL60** (92,18%). Apesar das oximas-*E/Z* (**OXI-E** e **OXI-Z**) serem menos ativas do que o substrato estemodina; de maneira geral, os estereoisômeros *E* dos ésteres de **OXI-E** com cadeias laterais até seis átomos de carbono, apresentaram melhores atividades citotóxicas do que os estereoisômeros *Z* dos ésteres de **OXI-Z**, o que aponta para a necessidade de estudos mais aprofundados de relação estrutura-atividade. O derivado **OXI-E3** foi o composto mais promissor apresentando altos índices de inibição frente a três linhagens das células testadas **PC3** (92,05%), **SNB-19** (72,22 %) e **HCT-116** (94,27 %) esses resultado são interessantes e mostram a relevância destas substâncias como potenciais candidatos a agentes anticâncer.

Em conclusão, os objetivos propostos para este estudo foram alcançados e como perspectivas, os derivados bioativos mais promissores (**OXI-E1**, **OXI-E2** e **OXI-E3**), devem ser submetidos a estudos de determinação da  $\text{CI}_{50}$  e avaliação da citotoxicidade em células saudáveis. Além disso, as investigações computacionais das propriedades farmacológicas e físico-químicas bem como estudos de *Docking* molecular destas moléculas poderão dar suporte as atividades experimentais observadas.

## REFERÊNCIAS

- AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 239-244, 2011.
- AZEVEDO, José Leonaldo Miranda. **Efeito do extrato etanólico das folhas da *Stemodia Maritima* Linn. e do diterpeno estemodina em modelos de hipernocicepção inflamatória aguda na articulação temporomandibular de ratos**. 2019. 84f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de pós-graduação em ciências morfofuncionais da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.
- BADRIA, F. A.; HUFFORD, C. D. Microbial transformations of stemodin, a *Stemodia* diterpene. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 30, n. 7, p. 2265-2268, 1991.
- BAIPING, M.; BING, F.; HONGZHI, H.; YUWEN, C. Biotransformation of chinese herbs and their ingredients. **World Science and Technology**, [s. l.], v.12, n. 2, p.150-154, 2010.
- BARNES, E. C.; KUMAR, R.; DAVIS, R. A. The use of isolated natural products as scaffolds for the generation of chemically diverse screening libraries for drug discovery. **Natural Product Report**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 372-381, 2016.
- BUCHANAN, G. O.; REESE, P. B. Biotransformation of diterpenes and diterpene derivatives by *Beauveria bassiana* ATCC 7159. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 141-151, 2001.
- CAMP, D.; DAVIS, R. A.; EVANS-ILLIDGE, E. A.; QUINN, R. J. Guiding principles of the natural products drug discovery. **Future Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 4, n. 9, p. 1067-1084, 2012.
- CHEN, A. R. M.; PIOVANO, M.; GARBARINO, J. A.; GAMBARO, V. Stemodane and stemarane diterpenoid hydroxylation by *Mucor plumbeus* and *Whetzelinia sclerotiorum*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 66, n. 16, p. 1898-1902, 2005.
- DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha* Diterpenes: a Review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [s. l.], v. 88, n.3, p. 301-322, 2011.
- FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M. Opiáceos, Opióides de ação analgésica e antagonistas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, [s. l.], v. 26, n. 2, p.125-136, 2005.
- FLÓRIO, V. Raízes do estar bem. **Ciência e Cultura**, [s. l.], v. 71, n. 2, p. 17-18, 2019.
- FURA, A. Role of pharmacologically active metabolites in drugs discovery and development. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 11, n.3, p. 133-142, 2006.
- GUO, Z. The modification of natural products for medical use. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 119-136, 2017.
- KRISHNAMURTI, C.; RAO, S. C. The isolation of morphine by Sertürner. **Indian Journal of Anesthesia**, [s. l.], v. 60, n. 11, p 861- 862, 2016.

HANSON, J.; REESE, P. B.; TAKAHASHI, J. A.; WILSON, M. R. Biotransformation of some stemodane diterpenoids by *cephalosporium aphidicola*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 36, n. 6. p. 1391-1393, 1994.

HANSON, J. R. Aphidicolin: Its chemistry and biosynthesis. **Journal of Chemical Research**, [s. l.], v. 42, n. 8, p. 395-401, 2018.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 12, n. 6, p.639-657, 1995.

HEGAZY, M. E. F.; MOHAMED, T. A.; SHAMY, A. I.; MOHAMED, A. E. I. H. H.; MAHALEL, U. A.; REDA, E. H.; SHAHEEN, A. M.; TAWFIK, W. A.; SHAHAT, A. A.; SHAMS, K. A.; ABDEL-AZIM, N. S.; HAMMOUDA, F. M. Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: A review, **Journal of Advanced Research**, [s. l.], v.6, n. 1, p. 17-33, 2015.

HSU, S. Y.; PERUSSE, D.; HOUGARD, T.; SMANSKI, M. J. Semisynthesis of the neuroprotective metabolite, serofendic acid. **ACS Synthetic Biology**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. 2397-2403, 2019.

HUFFORD, C. D.; GUERRERO, R. O.; DOORENBOS, N. J. Two new diterpenes from *Stemodia maritima* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 65, n. 5, p. 778-80, 1976.

HUFFORD, C. D.; BADRIA, F. A.; ABOU-KARAM, M.; SHIER, W. T.; ROGERS, R. D. Preparation, characterization, and antiviral activity of microbial metabolites of stemodin. **Journal of the Natural Products**, [s. l.], v.54, n.6, p. 1543-1552, 1991.

HUFFORD, C. D.; OGUNTMEIN, B. O.; MUHAMMAD, I. New stemodane diterpenes from *Stemodia maritima*. **Jornal of Natural Products**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 48-52, 1992.

JAEGER, R.; CUNY, E. Terpenoids with special pharmacological significance: A review. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 11, n. 9, p.1373-1390, 2016.

JIN, Y. X.; SHI, L. L.; ZHANG, D. P.; WEI, H. Y.; SI, Y.; MA, G. X.; ZHANG, L. A review on daphnane-type diterpenoids and their bioactive studies. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 9, p. 1842-1861, 2019.

JUNIOR, VIEGAS.; BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 2, p.326-337, 2006.

KELLY, R. B.; HARLEY, M. L.; ALWARD, S. J.; MANCHAND, P. S. Total synthesis of racemic 2-desoxystemodinone and stemodinol; the identity o natural “stemodinol” with stemarin. **Canadian Journal Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 5, p. 675-677, 1982.

LAMM, A. S.; REYNOLDS, W. F; REESE, P. B. Bioconversion of *Stemodia maritima* diterpenes and derivatives by *Cunninghamella echinulata* var. *elegans* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 67, n.11, p. 1088-1093, 2006.

LEONELLI, F.; MIGNECO, L. M.; VALLETTA, A.; MARINI BETTOLO, R. Stemodane Diterpenes and Diterpenoids: Isolation, Structure Elucidation, Biogenesis, Biosynthesis, Biological Activity, Biotransformations, Metabolites and Derivatives Biological Activity, Rearrangements. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n.9, p. 2761, 2021.

LI, R.; MORRIS-NATSCHKEB, S. L.; LEE, K. H. Clerodane diterpenes: sources, structures, and biological activities. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 1166-1226, 2016.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 12, n.1, p. 23-49, 2005.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B-W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advance Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 3-26, 2001.

LUCAS-BARBOSA, D.; SUN, P.; HAKMAN, A.; DICKE, M. Visual and odour cues: plant responses to pollination and herbivory affect the behaviour of flower visitors. **Functional Ecology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 431-441, 2016.

MAJHI, S.; DAS, D. Chemical derivatization of natural products: Semisynthesis and pharmacological aspects-A decade update. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 131801, 2021.

MANCHAND, P. S.; WHITE, J. D.; WRIGHT, H.; CLARDY, J. Structures of stemodin and stemodinone. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v.95, n. 8, p.2705-2706, 1973.

MANCHAND, P. S.; BLOUNT, J. F. X-ray structure and absolute stereochemistry of stemarin, a diterpene with a new skeleton. **Journal of The Chemical Society. Chemical Communications**, [s. l.], v. 5, n.21, p. 894-895, 1975.

MANCHAND, P. S.; BLOUNT, J. F. X-ray structure and absolute stereochemistry of stemolide, a novel diterpene bisepoxide. **Tetrahedron Letters**, [s. l.], v. 17, n. 29, p. 2489-2492, 1976.

MARTIN, G. D. A.; REYNOLDS, W. F.; REESE, P. B. Investigation of the importance of the C-2 oxygen function in the transformation of stemodin analogues by *Rhizopus oryzae* ATCC 11145. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 65, n. 6, p.701-710, 2004.

MARTIN, G. D. A.; REYNOLDS, W. F.; REESE, P. B. Stemodane skeletal rearrangement: chemistry and microbial transformation. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 66, n. 8, p. 901-909, 2005.

MASON, P. A.; BERNARDO, M. A.; SINGER, M. S. A mixed diet of toxic plants enables increased feeding and anti-predator defense by an insect herbivore. **Oecologia**, [s. l.], v. 176, n. 2, p. 477-86, 2014.

MATHUR, S.; HOSKINS, C. Drug development: lessons from nature (Review). **Biomedical Reports**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 612-614, 2017.

MESQUITA, B. M.; NASCIMENTO, P. G. G.; SOUZA, L. G. S.; FARIAS, I. F.; SILVA, R. A. C.; LEMOS T. L. G.; MONTE, F. J.Q.; OLIVEIRA, I. R.; TREVISAN, M. T. S.; SILVA,

- H. C.; SANTIAGO, G. M. P. Synthesis, larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of carvacrol/ thymol and derivatives. **Química Nova**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 412-416, 2018.
- MIGNANI, S.; HUBER, S.; TOMÁS, H.; RODRIGUES, J.; MAJORAL, J. P. Compounds high-quality criteria: a new vision to guide the Development of drug, current situation. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 573-584, 2016.
- MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. (Org.). **Farmacobotânica: aspectos Teóricos e aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2018.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, [s. l.], v.65, n. 1-2, p 55-63, 1983.
- MUFFLER, K.; LEIPOLD, D.; SCHELLE, M. C.; HASS, C.; STEINGROEWER, J.; BLEY, T. Biotransformation of triterpenes. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 1-15, 2011.
- NEWMAN, D. J. The influence of Brazilian biodiversity on searching for human use pharmaceuticals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 402-414, 2017.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Natural Product**, [s. l.], v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.
- OLIVEIRA, L. F. et al (Org). **Farmacognosia pura**. Porto Alegre: SAGAH, 2018.
- PARDRIDGE, W. M. Blood–brain barrier drug targeting: the future of brain drug Development. **Molecular Interventions**, [s. l.], v.3, n. 2, p.90–105, 2003.
- PARRA, A.; MARTIN-FONSECA, S.; RIVAS, F.; REYES-ZURITA, F. J.; MEDINA-O'DONNELL, M.; RUFINO-PALOMARES, E. E.; MARTIN, A.; GRANADOS-GARCIA, A.; LUPIAÑEZ, J. A.; ALBERICIO, F. Solid-phase library synthesis of bi-functional derivatives of oleanolic and maslinic acids and their cytotoxicity on three cancer Cell lines. **ACS Combinatorial Science**, [s. l.], v.16, n.8, p. 428–447, 2014.
- PORAT, D.; DAHAN, A. Active intestinal drug absorption and the solubility-permeability interplay. **International Journal of Pharmaceutics**. [s. l.], v. 537, n. 2, p. 84-93, 2018.
- POTT, D. M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J. G. From central to specialized metabolism: an overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, n. 5, p .835, 2019.
- RAVINA, E. The evolution of drug discovery: From traditional medicines to modern drugs. **ChemMedChem**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 1746-1750, 2011.
- ROBLES, O.; ROMO, D. Chemo- and site-selective derivatizations of natural products enabling biological studies. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 318-334, 2014.

- RODRIGUES, F. E. A. LIMA, J. Q.; OLIVEIRA, M. C. F.; VASCONCELOS, J. N.; SANTIAGO, G. M. P.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R.; ARRIAGA, A. M. C. Diterpene and other constituents from *Stemodia maritima* (Scrophulariaceae). **Jornal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 1581-1586, 2010.
- RONCERO, A. M.; TOBAL, I. E.; MORO, R. F.; DIÉZ, D.; MARCOS, I. S. Halimane diterpenoids: sources, structures, nomenclature and biological activities. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 35, n. 9, p. 955-991, 2018.
- RUSSEL, F. A.; MULABAGAL, V.; THOMPSON, D. R.; SINGH-WILMONT, M. A.; REYNOLDS, W. F.; NAIR, G. M.; LANGER, V.; REESE, P. B. Stemodin-derived analogues with lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation inhibitory activities. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 72, n. 18, p. 2361-2368, 2011
- SILVA, F. R. L.; RODRIGUES, F. E. A.; GOMES, A. R. S.; ARRIAGA, A. M. C. A.; MAFEZOLI, J.; LEMOS, T. L.G.; ALMEIDA, M. C. S. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical study, antioxidante and antibacterial activities of *Stemodia marítima*. **Química Nova**, [s. l.], v. 37, n. 9, p. 1474-1478, 2014.
- SOUSA, Rayane Siqueira de. **Investigação dos efeitos neurofarmacológicos de *Stemodia maritima* (linn): alterações comportamentais e avaliação do estresse oxidativo**. 2017. 81f. Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal, Sobral, 2017.
- SILVA, Francisca Renata Lopes da. ***Tephrosia toxicaria* Pers. e *Stemodia maritima* Linn.: Estudo químico e atividades biológicas**. 2017. 203 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- SILVA, Francisca Renata Lopes da. **Contribuição ao estudo de *Tephrosia toxicaria* Pers. (Fabaceae) e *Stemodia maritima* Linn. (Scrophulariaceae)**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- SILVA, D. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; OLIVEIRA, O. F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 223-236, 2006.
- SIMÕES, C. M. O (Org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, [s. l.], v. 82, n. 13, p. 1107-1112.
- SOUSA, R. S.; SILVA, J. A. G.; BORBA, E. F. O.; SOUZA, M. G. O.; SILVA, S. J. L.; SILVA, T. G. Phytochemical analysis and gastroprotective effect of the hexanic extract of *stemodia maritima* l. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, [s. l.], v. 17, n. 2 p. 456-474, 2021.

SZCZEPANSKI, A. J. Allelopathy as a means of biological control of water weeds. **Aquatic Botany**, [s. l.], v. 3, n. 2, p.193-197, 1977.

TEIXEIRA, A. H.; FREIRE, J. M. O.; SOUZA, L. H. T.; PARENTE, A. T.; SOUZA, N. A.; ARRIAGA, A. M. C.; SILVA, F. R. L.; MELO, I. M.; SILVA, I. I. C.; PEREIRA, K. M. A.; GOES, P.; COSTA, J. J. N. C.; CRISTINO-FILHO, G.; PINTO, V. P. T.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M. *Stemodia maritima* L. extract decreases inflammation, oxidative stress, and alveolar bone loss in an experimental periodontitis rat model. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 1-10,2017.

THOMPSON, R. E.; MUIR, T. W. Chemoenzymatic semisynthesis of proteins. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 120, n. 6, p. 3051-3126, 2020.

VÁGVÖLGYI, M.; MARTINS, A.; KULMÁNY, A.; ZUPKÓ, I.; GÁTI, T.; SIMON, A.; TÓTH, G.; HUNYADI, A. Nitrogen-containing ecdysteroid derivatives vs. multi-drug resistance in cancer: Preparation and antitumor activity of oximes, oxime ethers and a lactam. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 144, n. 2, p. 730-739, 2018.

WANG, H. B.; WANG, X. Y.; LIU, L. P. L.; QIN, G. W.; KANG, T. G. Tiglane diterpenoids from the *Euphorbiaceae* and *Thymelaeaceae* families. **Chemical Reviews**, [S.l.], v. 115, n. 9, p. 2975-3011, 2015.

XIAO, Z.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LEE, K. Strategies for the optimization of natural leads to anticancer drugs or drug candidates. **Medicinal Research Reviews**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 32-91, 2016.

ZIDORN, C. Secondary metabolites of seagrasses (Alismatales and Potamogetonales; Alismatidae): chemical diversity, bioactivity, and ecological function. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 124, p. 5-28, 2016.