

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Lucas Castelão Souza

Semissíntese de derivados A-seco-2,3-dicarboxilados a partir do
lupeol

Belo Horizonte

2025

Lucas Castelão Souza

Semissíntese de derivados A-seco-2,3-dicarboxilados a partir do lupeol

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Grasiely Faria de Sousa (Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFMG)

Coorientadora: Dra. Mariana Guerra de Aguiar (Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFMG)

Belo Horizonte

2025

UFMG

COLEGIADO DE QUÍMICA

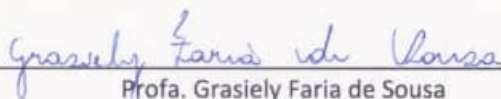
Instituto de Ciências Exatas

Fone: (031) 3409-5799/6386

E-mail: colgradqui@icex.ufmg.br

Ata da sessão de avaliação do Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Química Tecnológica da Universidade Federal de Minas Gerais, do aluno Lucas Castelão Souza, nº de registro 2021038488.

O Trabalho de Conclusão de Curso do aluno **Lucas Castelão Souza**, intitulado **"Semissíntese de derivados A-seco-2,3-dicarboxilados a partir do lupeol"**, foi avaliado e aprovado pela Banca Examinadora constituída por Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas (DQ - UFMG), Prof. Rafael Cesar Gonçalves Pereira (IFES), Profa. Grasiely Faria de Sousa (DQ - UFMG), orientadora do trabalho de conclusão de curso, e Dra. Mariana Guerra de Aguiar (DQ - UFMG), coorientadora do trabalho de conclusão de curso, no dia 27 de novembro de 2025.



Profa. Grasiely Faria de Sousa



Dra. Mariana Guerra de Aguiar



Profa. Rossimiriam Pereira de Freitas



Prof. Rafael Cesar Gonçalves Pereira



Prof. Dario Windmöller

Coordenador dos Cursos de Graduação em Química e Química Tecnológica
ICEx - UFMG

Dedico este trabalho a todos professores, amigos e familiares que me apoiaram e tornaram isso possível.

AGRADECIMENTOS

Uma simples página de agradecimentos não será capaz de evidenciar meus verdadeiros sentimentos de gratidão que carrego por todos que gostaria de aqui homenagear. Ainda assim, deixo minhas palavras para que possam manter registrado uma singela lembrança de carinho que carrego.

Agradeço imensamente à minha família, e em especial meus pais, Luiz e Adriana. Obrigado por me apoiar e incentivar a seguir dentro da carreira que escolhi. Obrigado por todo esforço e sacrifício, durante minha formação escolar e agora na graduação.

Agradeço também a todas as amigas fora da graduação que encontrei e me fortaleceram. Em especial Igor e Susan, que mesmo em cursos diferentes, nos mantivemos próximos num esforço contínuo de nos encontrarmos semanalmente, para uma lamentação coletiva sobre cada semestre.

Agradeço às amigas encontradas ao longo da graduação, colegas de curso, que compartilharam por certos momentos as dificuldades características de cada período. Em especial Ana Luisa, Camilla, Samuel H e Samuel G, cujas companhias sempre me foram agradáveis e renovadoras.

O Neplam tem meu especial carinho, por ter me recebido de portas abertas com carinho e calorosa alegria. Agradeço a todos pela companhia e pela alegria de todos os dias. Pude encontrar pessoas incríveis que tornaram meu trabalho em laboratório muito mais leve e feliz, mesmo nos dias mais maçantes. Em especial Elisabeth, Laura, Leila, Marcos, Mariana A. e G. e, uma vez mais, Samuel. Destaco ainda Sabrina, cuja colaboração se mostrou simplesmente indispensável para que os objetivos desse trabalho fossem alcançados.

Grasiely e Mariana, minhas orientadoras, que estiverem presentes durante todo o trabalho, me auxiliando e se esforçando para que pudéssemos tornar esse trabalho uma realidade. Agradeço a acolhida desde o primeiro dia que ingressei ao laboratório e por terem me inspirado e incentivado tanto. Agradeço o empenho e dedicação em todas as minhas dúvidas, em todas as etapas do projeto e por todos os trabalhos que pudemos produzir em conjunto por todo esse tempo.

Em conjunto agradeço à Professora Lucienir, que também teve colaboração direta sobre muitas etapas do trabalho, trazendo ideias que renovavam e direcionavam os trabalhos, em conjunto com todos nós. Professor Diogo e Daiane, deixo meus agradecimentos por todas as dicas e trocas que tivemos, pela experiência que puderam me transmitir que me incentivaram e me trouxeram bons direcionamentos para os trabalhos.

Deixo meus agradecimentos também aos professores que integram minha banca avaliadora. Professora Rossimiriam, agradeço pelas aulas que tive a oportunidade de frequentar, sempre recheadas de muito bom humor e excelente didática, por me inspirar e renovar o meu gosto pela química orgânica e onde pude ter meu primeiro contato com análise de RMN. Ao Professor Rafael, companhia de laboratório por um determinado período, com quem pude trocar experiências e ter o interesse despertado para a Química de Produtos Naturais.

Agradeço ao Professor Gaspar, meu primeiro orientador de Iniciação científica, com quem pude aprender tanto quanto à química orgânica sintética. E enfim, agradeço a todos os professores do Departamento de Química, com quem pude aprender tudo o que hoje conheço sobre a Química nas suas mais variadas facetas.

Agradeço também ao Professor Ângelo de Fátima e Professor Cleiton Moreira - (GEQOB/UFMG) pela doação de reagentes e à Dr^a. Luciana Viana pela realização dos ensaios enzimáticos utilizados no trabalho.

Por fim, deixo meus agradecimentos formais aos órgãos de fomento, laboratórios, instituições e grupos que deram suporte direto ao desenvolvimento de todo o trabalho realizado: ISMART, FUMP, CNPq (Processo 408726/2023-7), CAPES, FAPEMIG, INCT em inibidores de Urease de Interesse Agrícola e Medicinal, Rede Mineira de Bioestimulantes e Fertilizantes de Eficiência Aumentada (Processo CNPq n° 406744/2022-0, Processos FAPEMIG n° #RED-00082-23 e APQ-02103-23, e Processo CAPES n° 88887.954439/2024-00)) e ao LAREMAR pela realização de todas as análises de RMN.

“Natural products are the result of three billion years of development of the living world, and they have survived the natural selection process over a long period of evolution. I am convinced they always carry a message, which it is our job to decipher”

Prof. Vladimir Prelog (1985)

RESUMO

Maytenus quadrangulata é uma espécie de planta do gênero *Maytenus* comumente usada na medicina popular para o tratamento de problemas estomacais. Em estudo fitoquímico anterior dos galhos de *M. quadrangulata* foi identificado um triterpeno inédito na literatura, o ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**1**). Também foi isolado o 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**) relatado na literatura por apresentar expressiva atividade citotóxica contra as linhagens de células de câncer renal (786-0) e colorretal (HT-29), GI_{50} = 0,5 e 2,9 μ M, respectivamente. O presente trabalho teve como principal objetivo a semissíntese dos triterpenos **1** e **2**, de forma a permitir mais estudos sobre suas atividades biológicas. Utilizando-se lupeol como precursor sintético, a proposta consistiu em 4 etapas reacionais tendo como base reações semelhantes às descritas na literatura. Foi possível obter os compostos-alvo do trabalho, cujas estruturas químicas foram confirmadas pela análise de espectros de RMN de 1H e ^{13}C . O rendimento global foi aproximadamente 31%. Foram realizados ensaios enzimáticos de inibição da urease com o material de partida lupeol e com o produto intermediário da síntese, lupenona (**4**), com resultados de inibição de 15 e 33%, respectivamente. Os resultados mostram que a conversão do lupeol em lupenona levou a uma melhora na atividade inibitória do triterpeno de esqueleto lupano.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
1 OBJETIVO	15
2 REFERENCIAIS TEÓRICOS	16
3 PARTE EXPERIMENTAL	19
3.1 MÉTODOS GERAIS	19
3.1.1 Cromatografia em Coluna (CC).....	19
3.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	19
3.1.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	19
3.1.4 Preparação do Reagente de Jones.....	20
3.2 PROCEDIMENTOS REACIONAIS	20
3.2.1 Lupen-20(29)-3-ona (4).....	21
3.2.2 2-hidroxilupa-1,20(29)-dien-3-ona (3)	22
3.2.3 Ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (2).....	23
3.2.4 Ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (1).....	25
3.3 ENSAIO ENZIMÁTICO.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 ASPECTOS GERAIS	28
4.1.1 Lupen-20(29)-3-ona (4).....	28
4.1.2 2-hidroxilupa-1,20(29)-dien-3-ona (3)	31
4.1.3 Ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (2).....	35
4.1.4 Ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (1).....	38
4.2 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA UREASE	40
5 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO 1.....	46

INTRODUÇÃO

É considerado um produto natural (PN) toda substância química produzida e isolada de um ser vivo, desde microrganismos até plantas ou animais (Elshafie *et al.*, 2023). Ao longo de milhões de anos de evolução, organismos terrestres e marinhos desenvolveram novos produtos como resposta ao estresse biótico e abiótico aos quais foram expostos e se tornaram um grande acervo de compostos potencialmente terapêuticos (David *et al.*, 2015). Estima-se que mais de 95% de toda a biodiversidade do planeta ainda não tenha sido estudada quanto a sua capacidade de produzir PNs com propriedades bioativas (David *et al.*, 2015).

Os PNs, historicamente, desempenharam papel central para a humanidade na busca do tratamento de diferentes enfermidades. Um dos primeiros usos conhecidos data próximo ao ano 2400 a.C, na Mesopotâmia, com prescrições em tábuas de argila sobre a utilização de determinadas plantas para o tratamento de doenças (David *et al.*, 2015).

Milhares de anos mais tarde, no séc. XIX, ocorreu o isolamento de importante molécula da classe dos opioides, a morfina e, no séc. XX, houve a descoberta do antibiótico penicilina e do antitumoral paclitaxel (Figura 1, p. 10) (David *et al.*, 2015). Esses três fármacos ainda são de grande importância terapêutica.

Atualmente, o processo de descoberta de novos PNs em plantas se dá pelo estudo fitoquímico dos indivíduos de uma determinada espécie. As principais etapas envolvidas nesses estudos são a seleção da espécie em foco, identificação e autenticação do material vegetal coletado, extração e isolamento dos compostos, elucidação estrutural das substâncias puras obtidas e, por fim, avaliação de sua atividade biológica (Najmi *et al.*, 2022).

Estudos de síntese e modificações estruturais dos compostos naturais são igualmente importantes, especialmente quando apresentam propriedades relevantes nos ensaios *in vitro* ou *in vivo*. A semissíntese de um composto bioativo identificado, empregando-se um precursor mais abundante, pode suprir a escassez do composto de interesse e viabilizar a continuação dos ensaios de atividades biológicas. A

semissíntese também pode levar à obtenção de novos compostos com melhores características farmacocinéticas e de maior atividade contra o alvo em estudo.

Compostos como a camptotecina e o paclitaxel (Figura 1) são exemplos de PNs que protagonizaram estudos sintéticos por suas propriedades farmacológicas (Wall; Wani, 1996). Durante a década de 1960, na Califórnia, um grupo de pesquisa conduziu estudos acerca de duas espécies de plantas: *Camptotheca acuminata* e *Taxus brevifolia*. Em meio às substâncias encontradas, a camptotecina e o paclitaxel receberam destaque por suas propriedades em ensaios contra células tumorais (Wall; Wani, 1996).

No entanto, a camptotecina apresentou efeitos tóxicos nos estudos clínicos, além de baixa solubilidade em água, enquanto o paclitaxel foi obtido em pequena quantidade (0,5 g em 12 kg dos galhos e cascas de *Taxus brevifolia*) (Wall; Wani, 1996). Devido ao potencial farmacológico dessas substâncias, os estudos de síntese e modificação estrutural levaram à produção do topotecano (Figura 1), um derivado da camptotecina com maior solubilidade em água e menor toxicidade. O paclitaxel foi foco de estudos sintéticos e semissintéticos levando ao estabelecimento de metodologias de síntese total do composto, método que, apesar de possível, é economicamente inviável. Por anos, a obtenção em larga escala do fármaco foi realizada pela semissíntese, utilizando seus precursores biossintéticos de maior abundância (Wall; Wani, 1996; Manz *et al.*, 2022). Atualmente o paclitaxel é produzido em larga escala por fermentação de células vegetais (Manz *et al.*, 2022).

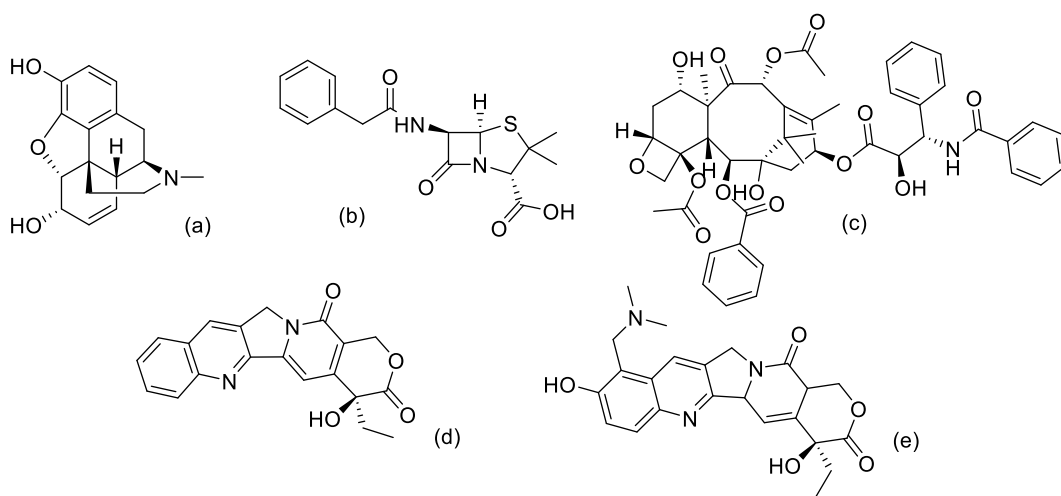


Figura 1 – Estrutura química dos compostos (a) morfina, (b) penicilina, (c) paclitaxel, (d) camptotecina, (e) topotecano.

Lupeol (**5**, Esquema 1, p. 13) é um triterpeno pentacíclico (TTPC) de esqueleto lupano que pode ser obtido a partir de plantas de diferentes espécies, como das folhas de *Stevia rebaudiana*, *Ficus carica* e *Aloe vera* ou proveniente das raízes de *Verbascum thapsus* e *Menyanthes trifoliata* (Singha *et al.*, 2025). Também há relatos do isolamento de lupeol a partir de folhas, galhos e raízes de espécies da família Celastraceae (Camargo *et al.*, 2022). Estudos recentes mostram múltiplas atividades biológicas para o lupeol, como anti-inflamatória, antioxidante, anticarcinogênica, além de propriedades cardio, hepato e neuroprotetoras (Singha *et al.*, 2025).

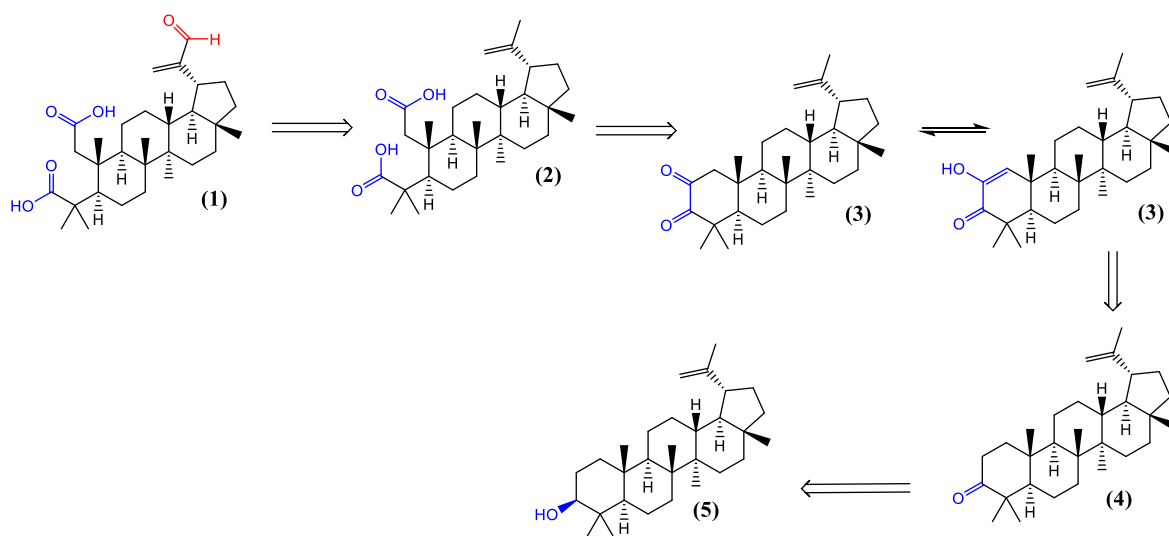
Dentro da família Celastraceae, plantas da espécie *Maytenus quadrangulata* destacam-se em investigações recentes de seus constituintes químicos. Foi demonstrado que o extrato acetato etílico das folhas é rico em catequinas e exibe potente atividade antiviral e virucida contra o vírus *Mayaro* (Nunes *et al.*, 2023). Já o extrato hexânico das folhas forneceu triterpenos inéditos com significativa citotoxicidade e seletividade superior a fármacos comerciais frente a linhagens de leucemia (THP-1 e K562), carcinomas de ovário (TOV-21G) e mama (MDA-MB-231), consolidando a espécie como fonte de compostos bioativos, especialmente com potencial para o desenvolvimento de novos agentes antivirais e antineoplásicos (De Aguilar *et al.*, 2022).

Em um trabalho anterior, Quintão e colaboradores isolaram dois triterpenos, de esqueleto lupano, do tipo A-seco-2,3-dicarboxilados provenientes dos galhos da espécie *Maytenus quadrangulata*. Foram isolados o composto inédito, denominado ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**1**), e o ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**, Esquema 1, p.12). A partir de 2,1 kg dos galhos secos da planta, foram obtidos 10,0 mg e 31,9 mg dos compostos **1** e **2**, respectivamente (Quintão, 2023).

O composto **2** foi reportado na literatura quanto a sua atividade citotóxica contra as linhagens de células de carcinoma renal (786-0) e adenocarcinoma colorretal (HT-29) e apresentou atividade relevante, nas quais as concentrações mínimas para inibição de 50% do crescimento celular (GI₅₀) foram 0,5 e 2,9 µM, respectivamente, com índice de seletividade 107 e 18 vezes respectivamente maior para essas linhagens. (Mirowski *et al.*, 2022).

A reduzida quantidade obtida desses compostos limita os estudos sobre o mecanismo de ação nas linhagens celulares já ensaiadas e outras ainda não estudadas, bem como a investigação de novas aplicações biológicas. Nesse contexto, a semissíntese dos triterpenos **1** e **2** se mostra como uma possível forma de se ampliar os estudos desses compostos.

Analisando-se as estruturas dos triterpenos-alvo da semissíntese, é possível traçar um planejamento por uma via retrosintética (Esquema 1), partindo do triterpeno de esqueleto lupano de maior abundância, o lupeol (**5**). O triterpeno **1** pode ser obtido a partir de **2** por meio de uma oxidação alílica. A abertura do anel A, para a obtenção dos *seco*-triterpenos pode ser realizada por uma clivagem oxidativa a partir de uma dicetona (**3**), com carbonilas em C-2 e C-3. O composto **3** por sua vez, pode ser obtido pela formação de um enol utilizando-se da lupenona (**4**) como material de partida. Por fim, **4** é o produto obtido a partir da oxidação da hidroxila em C-3 do lupeol (**5**). Todas as transformações propostas integram, como metodologia central, o principal objetivo do presente trabalho.

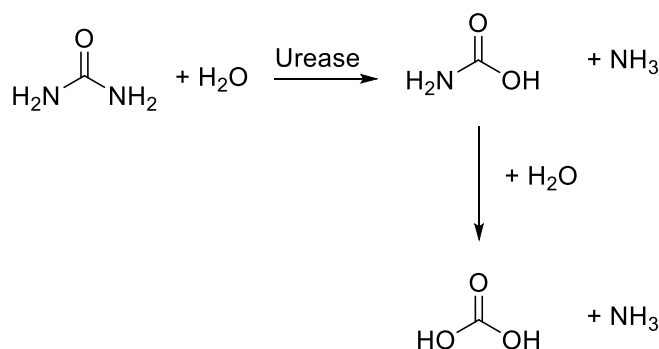


Esquema 1: Esquema de retrosíntese dos triterpenos **1** e **2**.

Além disso, no presente trabalho foi realizado teste de inibição enzimática contra a urease, uma enzima cuja inibição é de interesse no tratamento de doenças associadas à sua atividade excessiva. Também há relevância na inibição da urease

para fins agrícolas, visando reduzir perdas de nitrogênio em fertilizantes à base de ureia.

As ureases são metaloenzimas capazes de catalisar a hidrólise da ureia, produzindo amônia e ácido carbônico (Esquema 2). É uma enzima amplamente produzida por microrganismos e plantas e tem papel crucial para o desenvolvimento de muitas espécies de seres vivos, uma vez que é capaz de fornecer ao organismo uma fonte de nitrogênio, que pode ser utilizado para diversas funções vitais como a síntese de aminoácidos essenciais e não-essenciais (Viana, 2024).



Esquema 2: Esquema de reação de hidrólise da ureia catalisada por urease. Fonte: (Viana, 2024).

A inibição da urease é uma temática de interesse na medicina, uma vez que diversos microrganismos patogênicos, como a bactéria *Helicobacter pylori*, têm grande dependência da ação dessas enzimas para a sua virulência e sobrevivência no organismo humano (Ali et al., 2021).

Ademais, a modulação da ação das ureases também representa interesses agrônômicos. A ureia é utilizada como fertilizante para as plantas, se apresentando como boa fonte de nitrogênio, no entanto, o excesso da enzima no solo pode levar à hidrólise da ureia de forma rápida e causando grandes prejuízos econômicos pela perda de fertilizantes a base de ureia (Viana, 2024).

No presente trabalho, além da síntese dos derivados 2,3-dicarboxilados, foi realizado ensaio enzimático de inibição da urease. O triterpeno lupenona (**4**), primeiro intermediário da síntese, foi avaliado e comparado com o material de partida, lupeol (**5**), e com o controle positivo de inibição.

1 OBJETIVO

O trabalho teve como principal objetivo a semissíntese dos compostos **1** e **2** a partir do lupeol (**5**).

Dessa forma, os objetivos específicos propostos envolvem:

- Síntese dos triterpenos **1** e **2** a partir do lupeol, bem como dos compostos intermediários **3** e **4**.
- Caracterização estrutural dos compostos alvo e dos intermediários por meio da análise de espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .
- Realização de estudos de atividade inibitória contra a enzima urease.

2 REFERENCIAIS TEÓRICOS

Produtos naturais podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com sua origem metabólica. Do metabolismo primário fazem parte os carboidratos, proteínas, lipídeos e outros grupos de moléculas essenciais, que são altamente requisitados pelo organismo de um ser vivo (Elshafie *et al.*, 2023). No metabolismo secundário estão compreendidas as substâncias que, apesar de seu papel crucial para manutenção da vida e sobrevivência de um indivíduo, a sua ausência não leva diretamente à morte daquele organismo (Elshafie *et al.*, 2023).

Especificamente sobre as plantas, seus metabólitos secundários estão compreendidos em três grupos: terpenos, alcaloides e fenil propanoides. Dentre eles, os terpenos se destacam por sua maior diversidade estrutural, contabilizando mais de 40 mil estruturas conhecidas (Elshafie *et al.*, 2023).

A base estrutural de todo triterpeno se constitui de unidades de isopreno (Figura 2) condensadas sequencialmente, de tal forma que se subdividem em classes de acordo com o número de unidades isoprênicas (Figura 2(a)) do qual são constituídos. Monoterpenos têm como precursor o difosfato de geranila (DFG, Figura 2(b)) e são constituídos de duas unidades isoprênicas, totalizando 10 átomos de carbono. Sesquiterpenos têm como precursor o difosfato de farnesila (DFF, Figura 2(c)) e são constituídos de 15 átomos de carbono. O esqualeno (Figura 2(d)), precursor dos triterpenos, é obtido pela condensação de duas unidades de DFF, apresentando-se com 30 átomos de carbono (Camargo *et al.*, 2022).

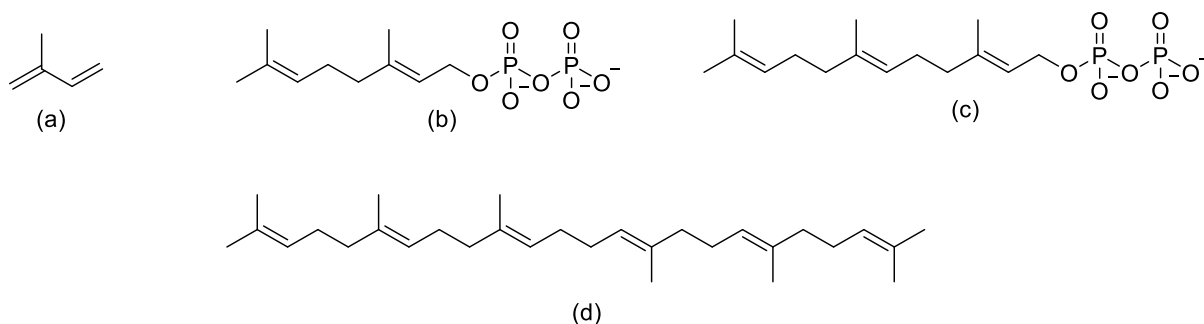


Figura 2: Estruturas químicas dos principais precursores dos terpenos. (a) isopreno (b) difosfato de geranila, DFG (c) difosfato de farnesila, DFF (d) esqualeno.

A formação dos triterpenos a partir do esqualeno se dá pela sua oxidação por ação da enzima esqualeno epoxidase, que gera o 2,3-óxido-esqualeno (Figura 3(a)). Esse processo propicia uma série de reações intramoleculares que culminam na formação do cátion lupenila (Figura 3(b)), precursor dos triterpenos pentacíclicos (TTPCs) (Camargo *et al.*, 2022).

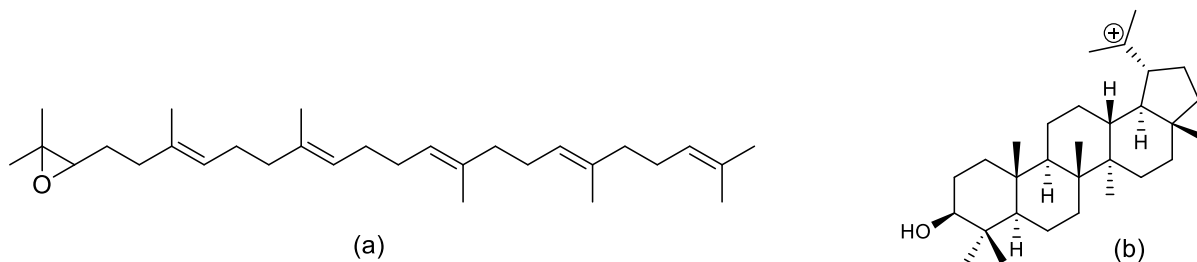


Figura 3: Estruturas químicas dos principais precursores dos TTPCs (a) 2,3-óxido-esqualeno (b) cátion lupenila.

TTPCs podem ser classificados, de acordo com seu esqueleto carbônico, em quatro principais grupos: ursanos, oleananos, lupanos e friedelanos, conforme ilustrado na Figura 4 (Xiao *et al.*, 2018). São constituídos de cinco anéis de seis membros ou de quatro anéis de seis membros e um de cinco membros, identificados de A a E e numerados tal como ilustrado na Figura 5 (p. 18). Por fim, os *secotriterpenos* são aqueles que apresentam abertura em um de seus anéis, como ocorre nos compostos **1** e **2** (Esquema 1, p. 12) (Camargo *et al.*, 2022).

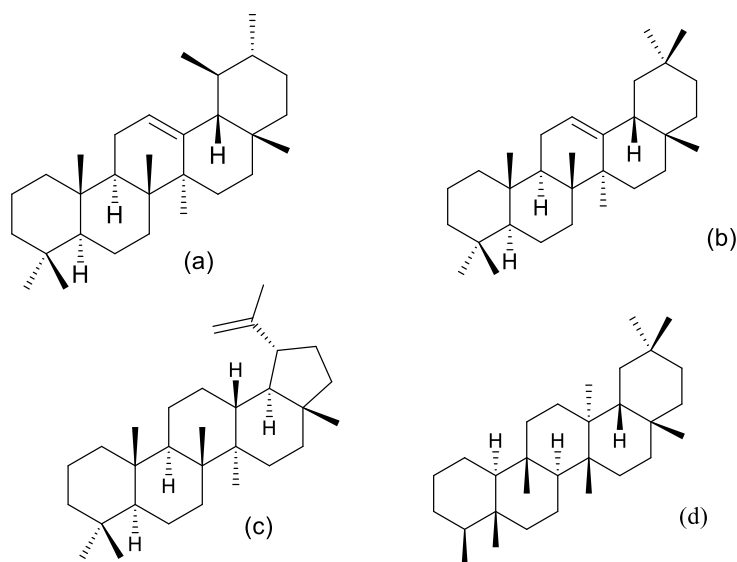


Figura 4: Principais esqueletos carbônicos de TTPCs: (a) ursano, (b) oleanano, (c) lupano, (d) friedelano.

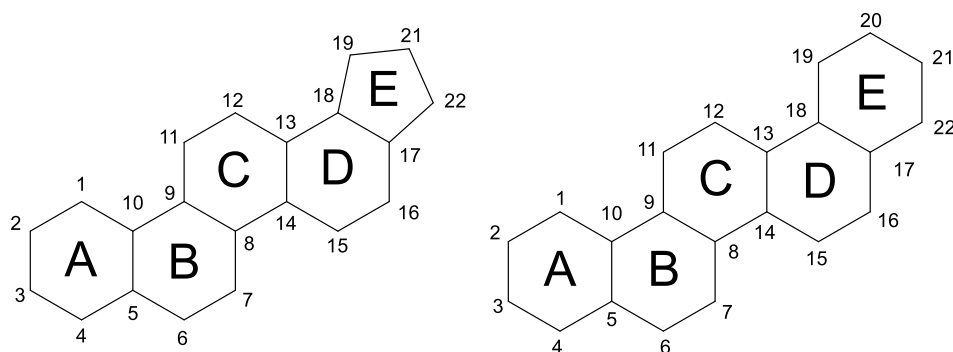


Figura 5: Identificação dos anéis de TTPCs e enumeração de seus carbonos.

Os *seco*-triterpenos (STs) são uma subclasse de triterpenoides que apresentam características únicas, tornando-os compostos de interesse em estudos quanto ao seu potencial farmacológico em diversas áreas. Tanto *seco*-triterpenos sintéticos quanto os de origem natural, apresentam potente atividade anti-inflamatória, antiviral, citotóxica, neuroprotetora e capacidade inibitória contra uma ampla gama de enzimas. Dentre os STs isolados de plantas entre 2020 a 2023, mais de 25% apresentam atividade citotóxica e 21% demonstraram atividade anti-inflamatória (Wei et al., 2024).

Entre os TTPCs do tipo ST, são mais comuns os *seco*-oleananos (representando mais de 50% das estruturas relatadas (Liu et al., 2022)), em especial os 3,4-*seco*-oleananos. Desde o ano de 2020 até 2023, apenas 15 *seco*-lupanos foram relatados na literatura como metabólitos isolados de seres vivos, dos quais 12 são do tipo 3,4-*seco*-lupanos e apenas uma pequena porção se apresenta com estruturas 2,3-*seco*-lupanos (Wei et al., 2024).

Em vias sintéticas, a obtenção de STs pode ser realizada por diferentes estratégias. Dentre elas, as estratégias que levam a abertura dos seus anéis utilizam reações de *Baeyer-Villager*, *Beckmann*, *Malaprade* e clivagens ozonolíticas (Galaiko; Grishko, 2025). Além da produção de STs, múltiplas estratégias sintéticas têm sido relatadas para a funcionalização e modulação da atividade desses compostos, levando a formação de carboxilatos, amidas, nitrilas, ésteres e uma série de compostos halogenados. Essas modificações têm sido amplamente estudadas e avaliadas quanto ao seu impacto nas atividades biológicas (Galaiko; Grishko, 2025).

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Métodos gerais

3.1.1 Cromatografia em Coluna (CC)

Para as colunas cromatográficas (CC), empregou-se como fase estacionária sílica gel 60 com granulometria entre 230 a 400 mesh. As amostras foram purificadas utilizando CC sendo impregnadas em sílica gel ou diluídas na fase móvel. Como fase móvel, foram utilizados os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol.

3.1.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As cromatoplasas foram preparadas com sílica gel 60 GF254 em mistura com água na proporção de 7g para 15 mL, aplicada sobre o vidro para obter uma espessura de 0,25 mm e ativadas em estufa a 100 °C por um tempo mínimo de 30 minutos.

A eluição das amostras aplicadas nas cromatoplasas foi realizada por uma mistura de solventes de proporções semelhantes àsquelas utilizadas na CC e logo em seguida foram analisadas sob luz ultravioleta de 254 nm. A revelação das placas foi realizada com solução 1:1 (v/v) de vanilina em etanol (1:99 m/v) e ácido perclórico em água (3:97 v/v), seguida de aquecimento em estufa a 100 °C.

3.1.3 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Todos os espectros de RMN foram obtidos nos espectrômetros Bruker avance DRX-600 do Laboratório de Ressonância Magnética de Alta resolução

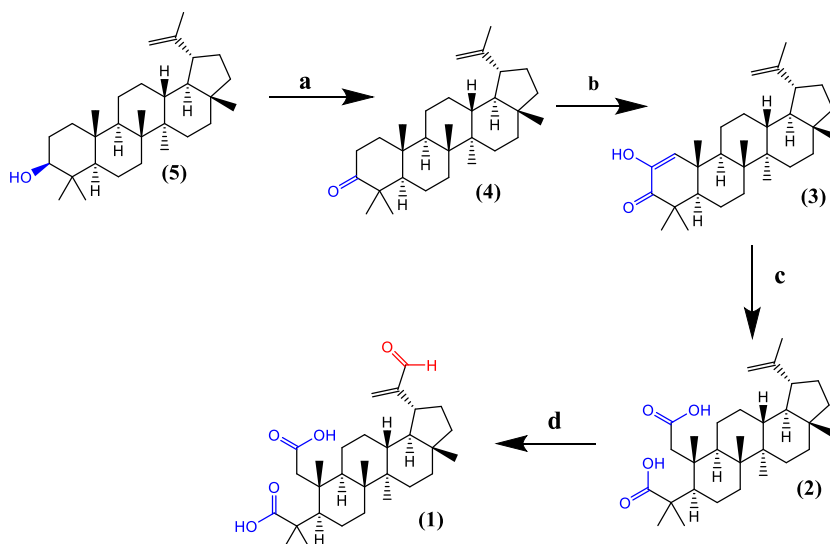
(LAREMAR), do Departamento de Química da UFMG. Tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão de referência interno, e os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm, enquanto as constantes de acoplamento registradas em Hz.

3.1.4 Preparação do Reagente de Jones

A solução do reagente de Jones foi preparada a partir de 25 g de CrO_3 diluídos em 75 mL de água destilada, aos quais foram adicionados, gradualmente, 25 mL de H_2SO_4 em banho de gelo (Li, 2014).

3.2 Procedimentos Reacionais

Considerando-se o planejamento descrito no esquema 1 (p.13) foi proposta a semissíntese que engloba todas as etapas reacionais, partindo de **5** como precursor sintético até a obtenção de **1** como produto final (Esquema 3). A seguir, estão descritos todos os procedimentos reacionais utilizados no trabalho.



Esquema 3: Proposta de semissíntese de **1** a partir de **5**. (a) CrO_3 , H_2SO_4 , Acetona, 0°C , 30 min (b) O_2 , $t\text{-BuOK}$, $t\text{-BuOH}$, 40°C , 3h (c) H_2O_2 , KOH , MeOH , 100min, refluxo (d) SeO_2 , EtOH , 24h, refluxo.

3.2.1 Lupen-20(29)-3-ona (4)

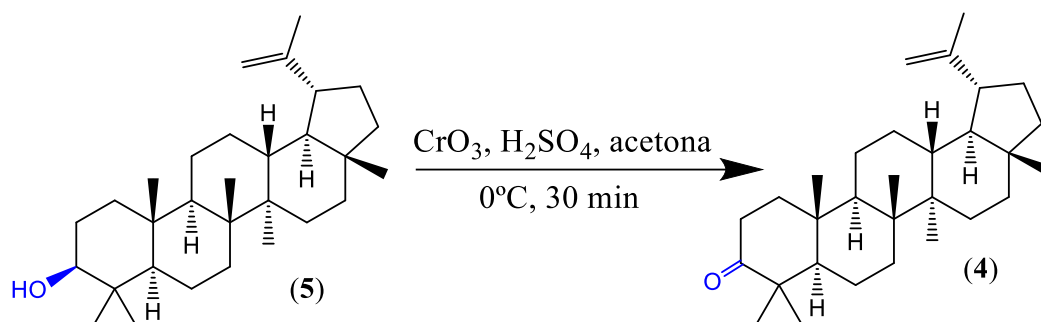


Figura 6: Esquema reacional para obtenção de **4**.

Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se o composto **5** (1,00 g, 2,34 mmol) e acetona (100 mL). O sistema foi mantido sob agitação até completa dissolução do substrato e, em seguida, foi submetido a banho de gelo. Posteriormente, adicionou-se o reagente de Jones (aprox. 2 mL) gota a gota até a permanência da coloração laranja característica do reagente. O sistema foi mantido sob agitação e banho de gelo por 30 minutos. Após esse período, adicionou-se metanol (aprox. 10 mL) à mistura até mudança de cor da solução para verde. Após secagem do solvente em rota-evaporador à pressão reduzida, adicionou-se 50 mL de água destilada à mistura e realizaram-se três extrações sucessivas com 50 mL de clorofórmio, seguidas de filtração em Celite e secagem com Na_2SO_4 anidro (Castro *et al.*, 2018; Urban *et al.*, 2004). Para a purificação em CC, foram empregadas as seguintes misturas de solvente na eluição: Hex: CHCl_3 (1:1), Hex: CHCl_3 (3:7), CHCl_3 , CHCl_3 :AcOEt (1:1), AcOEt e MeOH. Após purificação em CC, obteve-se o produto na forma de um sólido branco nas frações eluídas em Hex: CHCl_3 (3:7) (%rend. = 86%).

Dados do produto obtido

Fórmula molecular: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$

Massa molar (g mol^{-1}): 424,71

RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3): δ_{H} 4,71 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 4,59 (dq, $J = 2,8, 1,4$ Hz, 1H), 2,50 (ddd, $J = 15,6, 9,8, 7,6$ Hz, 1H), 2,45 – 2,36 (m, 2H), 1,99 – 1,87 (m, 2H), 1,71 – 1,69 (m, 5H), 1,09 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,81 (s, 3H).
RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3): δ_{C} 218,2; 150,9; 109,4; 54,9; 49,8; 48,2; 48,0; 47,3; 43,0; 42,9; 40,8; 40,0; 39,6; 38,2; 36,9; 35,5; 34,2; 33,6; 29,8; 27,4; 26,7; 25,2; 21,5; 21,0; 19,7; 19,3; 18,0; 16,0; 15,8; 14,5.

3.2.2 2-hidroxilupa-1,20(29)-dien-3-ona (3)

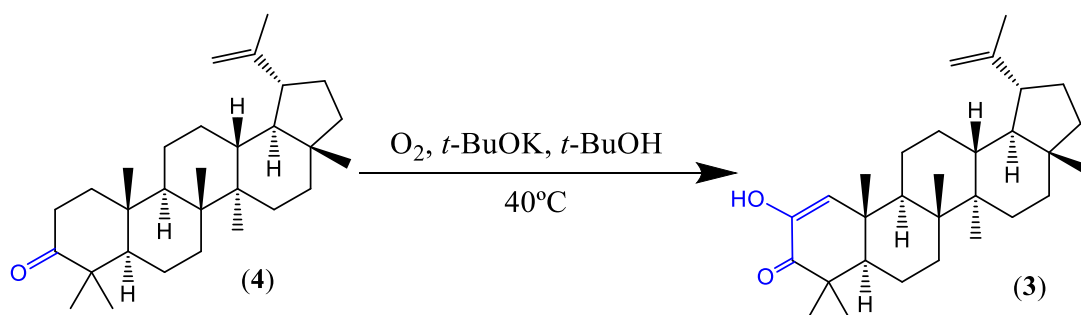


Figura 7: Esquema reacional para obtenção de 3.

Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo tritubulado foram adicionados o composto 4 (0,30 g, 0,7 mmol) e $t\text{-BuOH}$ (33 mL). O sistema foi submetido à agitação e aquecimento a 40°C até completa solubilização do substrato. Foram acoplados ao balão o condensador de bolas e o injetor de ar comprimido. Em seguida, adicionou-se $t\text{-BuOK}$ (1,96 g, 17,5 mmol) ao sistema, que foi mantido sob agitação, injeção de ar e aquecimento constantes durante 3 h. Após esse período, a solução foi transferida para um balão de fundo redondo e removeu-se o solvente utilizando rota-evaporador à pressão reduzida. Foram adicionados, em seguida, 20 mL de acetato de etila e 20 mL de HCl 1 mol L^{-1} . Dessa solução foram realizadas três extrações com 20 mL de clorofórmio e a fração orgânica obtida foi seca com sulfato de sódio anidro (Denner *et al.*, 2024). Após a secagem de solvente do produto bruto, obteve-se um líquido laranja viscoso, com massa de 366 mg. A análise de RMN do produto bruto levou à conclusão

da formação do produto esperado e em decorrência das dificuldades encontradas para a purificação desse produto, decidiu-se utilizar o produto bruto nas reações posteriores. A seguir estão dispostos os dados obtidos que indicam a presença do composto **3** na mistura.

Dados que levaram à identificação do produto obtido na mistura

Fórmula molecular: C₃₀H₄₆O₂

Massa molar (g mol⁻¹): 438,70

RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃): δ_H 6,46 (s, 1H), 4,72 (d, *J* = 2,5 Hz, 2H), 4,63 – 4,60 (m, 2H), 2,40 (tq, *J* = 12,8, 7,0 Hz, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,82 (s, 3H).

RMN de ¹³C (150 MHz, CDCl₃): δ_C 201,3; 150,7; 143,9; 129,1; 109,5; 54,0; 48,2; 47,9; 45,6; 44,0; 43,0; 41,7; 40,0; 38,1; 35,5; 33,9; 29,8; 27,3; 27,1; 25,0; 21,6; 21,2; 20,2; 19,3; 18,7; 18,0; 16,5; 14,4.

3.2.3 Ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**)

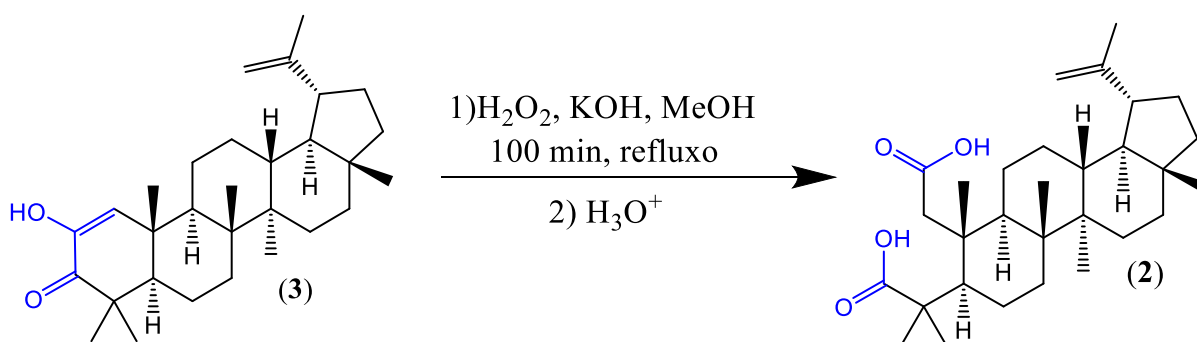


Figura 8: Esquema reacional para obtenção de **2**.

Procedimento geral

Em um balão bitubulado foram adicionados o composto **3** (190 mg, aprox. 0,43 mmol) e metanol (34 mL). Após completa dissolução do substrato, adicionou-se KOH (630 mg, 11,16 mmol) e o sistema foi acoplado a um condensador de bolas e a um funil de adição contendo a solução de H₂O₂ 30% (3,4 mL, 33 mmol). A adição de H₂O₂ se iniciou após o início da ebulição do meio reacional e foi realizada gradualmente ao longo de 100 minutos, acompanhada por periódicas análises em CCD para controle do progresso da reação. Após o término da reação, a solução foi transferida para balão de fundo redondo e o solvente foi evaporado em rota-evaporador à pressão reduzida. Posteriormente, adicionaram-se 20 mL de água destilada fria e gotejou-se uma solução de HCl 1 mol L⁻¹ até atingir pH 2. Em seguida, foram realizadas três extrações sucessivas com 50 mL de clorofórmio e a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro (Urban *et al.*, 2004; Wei; Ma; Hattori, 2009). Após secagem do solvente, o produto se apresentou como um óleo amarelo claro e foi purificado em CC com gradiente de CHCl₃ e AcOEt (9:1 até 1:1), AcOEt e MeOH. Após a purificação, obteve-se o composto **2** puro em uma fração com 40 mg (CHCl₃ e AcOEt (7:3)), mas foi possível detectá-lo por RMN em outras frações da mesma coluna com pureza inferior, totalizando 80 mg adicionais. Considerando a massa total obtida do composto **2** (120 mg) e a massa inicial do composto **4**, o rendimento indireto da reação foi de 36%.

Dados do produto obtido

Fórmula molecular: C₃₀H₄₈O₄

Massa molar (g mol⁻¹): 472,71

RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃): δ_H 4,72 – 4,68 (m, 1H), 4,59 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 2,61 – 2,47 (m, 3H), 2,40 (td, J = 11,3, 5,5 Hz, 1H), 1,98 – 1,88 (m, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,81 (s, 3H).

RMN de ¹³C (150 MHz, CDCl₃): δ_C 187,1; 178,0; 150,9; 109,5; 48,4; 48,3; 48,0; 45,8; 43,2; 43,0; 41,9; 41,1; 41,0; 40,8; 40,0; 38,0; 35,5; 33,6; 29,8; 29,7; 27,5; 25,0; 21,5; 20,6; 19,6; 19,3; 18,0; 16,0; 14,6.

3.2.4 Ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (1)

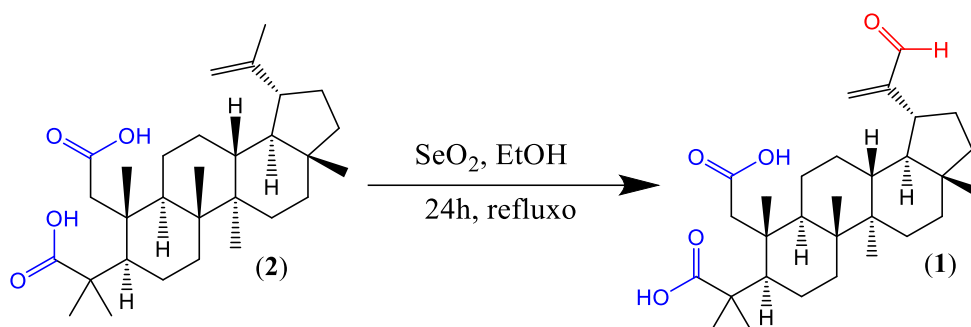


Figura 9: Esquema reacional para obtenção de **1**.

Procedimento geral

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados o composto **2** (27 mg, 0,06 mmol) e etanol (3 mL). Após dissolução do substrato, adicionou-se SeO_2 (16 mg, 0,15 mmol), o balão foi acoplado a um condensador de bolas e o sistema mantido em refluxo e agitação durante 24h. A reação foi acompanhada por CCD, e após 24h foi identificado o total consumo do material de partida. O solvente foi evaporado em rota-evaporador a pressão reduzida, em seguida, adicionaram-se 10 mL de água fria e acidificou-se a solução até pH 2 com gotejamento de solução HCl 1 mol L^{-1} . Foram realizadas três extrações sucessivas com 30 mL de clorofórmio e a fase orgânica foi seca em Na_2SO_4 anidro (Castro *et al.*, 2018). Após a secagem do solvente, o produto bruto se apresentou como um óleo amarelo claro. Esse produto foi submetido a purificação em CC com gradiente de eluição variando de misturas de CHCl_3 :AcOEt (95:5) a (1:1), seguida de AcOEt e MeOH. Obtiveram-se ao final, 25 mg de **1** em três diferentes frações, das quais 8 mg se apresentam com maior pureza. Considerando-se a massa total obtida (25 mg), o rendimento da reação é de aprox. 88%.

Dados do produto obtido

Fórmula molecular: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$

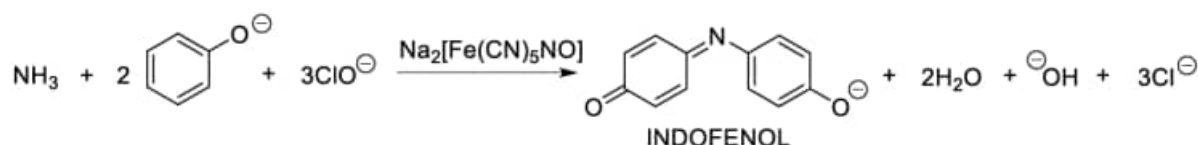
Massa molar (g mol^{-1}): 486,69

RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3): δ_{H} 9,53 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 5,96 (s, 1H), 2,82 – 2,63 (m, 2H), 2,56 – 2,38 (m, 3H), 2,16 (s, 1H), 1,27 (s, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,94 (s, 6H), 0,83 (s, 3H),

RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3): δ_{C} 195,2; 187,3; 178,3; 48,3; 45,8; 43,3; 43,1; 41,9; 41,0; 40,7; 39,9; 37,6; 35,3; 33,8; 29,7; 27,4; 21,9; 21,4; 20,7; 19,4; 17,8; 15,9; 14,4.

3.3 Ensaio Enzimático

A atividade inibitória de urease foi avaliada pelo método do indofenol, que consiste na formação desse composto como produto de reação da amônia com fenol na presença de um agente oxidante, catalisada por nitroprussiato de sódio. A reação para formação do indofenol é mostrada no Esquema 4. O indofenol tem coloração azul intensa e pode ser quantificado por sua respectiva absorbância no comprimento de onda de 630 nm (Weatherburn, 1967).



Esquema 4: Formação do indofenol a partir da reação entre amônia e fenol, na presença de hipoclorito de sódio, catalisada por nitroprussiato de sódio.

Os compostos **4** e **5** (Figura 10, p. 27) foram analisados em triplicata, a uma concentração de 100 μM , utilizando-se o ácido acetohidroxâmico (AAH, Figura 15) como controle positivo. A inibição média dos compostos foi determinada para a urease de *Canavalia ensiformis* (tipo III), a uma concentração de 2,5 U mL^{-1} e na presença de ureia a 100 mM. Os testes foram realizados pela Dr^a Luciana Pereira e graduanda Ana Júlia Batista, supervisionadas pelo Prof. Dr. Ângelo de Fátima, no Grupo de Estudos em Química Orgânica Biológica (GEQOB) na UFMG.

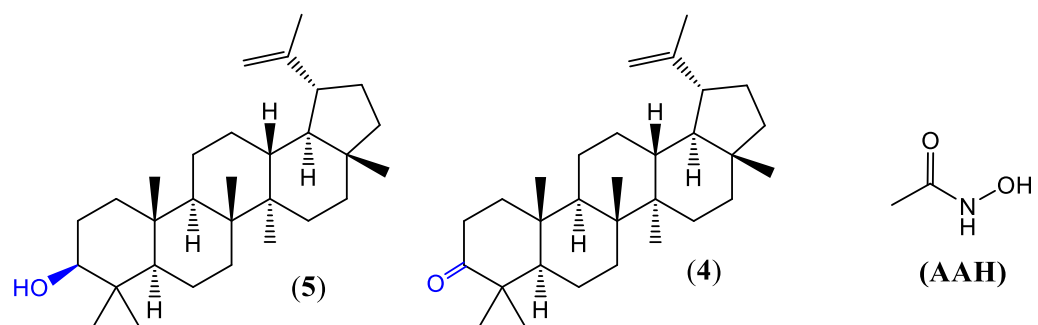


Figura 10: Estruturas químicas dos compostos utilizados no ensaio de inibição de urease.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Aspectos gerais

Após a realização de cada reação o produto obtido foi caracterizado por espectroscopia no RMN. No Anexo 1 (p. 45-52) são apresentados os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT dos compostos **1** a **5**.

Os procedimentos experimentais empregados foram adequados para levar a obtenção de todos os triterpenos inicialmente planejados. De forma indireta, o rendimento global foi calculado de acordo com a quantidade de lupeol utilizado até a quantidade obtida do composto **1**, de forma proporcional às quantidades utilizadas em cada reação, levando a um rendimento aproximado de 31%.

4.1.1 Lupen-20(29)-3-ona (**4**)

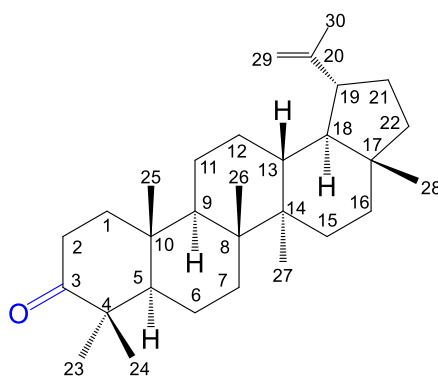


Figura 11: Estrutura química de lupen-20(29)-3-ona (**4**).

A reação para obtenção de **4** (Figura 11) não apresentou obstáculos significativos. Aplicando-se os procedimentos descritos foi possível obter rendimentos de até 86%, após purificação em CC.

Essa reação se inicia com um ataque ao átomo de cromo pela hidroxila do substrato orgânico, em meio ácido, gerando um intermediário organocromico. Este

intermediário, após a abstração do próton do carbono carbinólico, leva à formação da cetona do respectivo álcool e, posteriormente, à formação de cromo (III) de coloração verde (Figura 12) (Li, 2014).

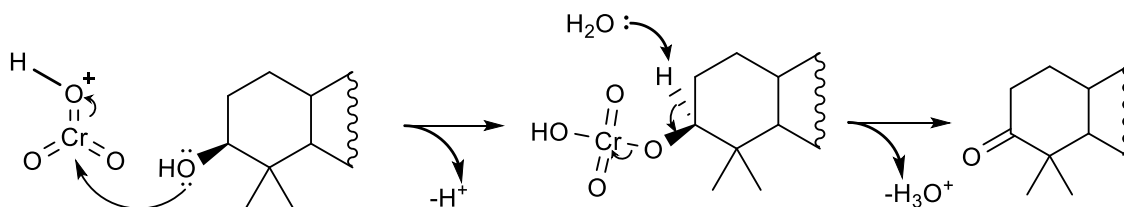


Figura 12: Mecanismo reacional adaptado da oxidação de Jones (Li, 2014).

A confirmação de formação do produto foi feita pelas análises dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação dos dados com os disponíveis na literatura. Comparando-se os espectros de RMN dos compostos **5** e **4** (Figuras A1 a A6, p. 46 a 48), é possível encontrar mudanças significativas nos sinais presentes, que confirmam a formação do produto.

Nas expansões dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **5** e **4** (Figura 13, p. 30), destaca-se o sinal em δ_{H} 3,21, atribuído a H-3, observado apenas no material de partida. O não aparecimento desse sinal no espectro do composto **4** evidencia a formação da carbonila cetônica nessa posição. Outra mudança significativa comparando as duas expansões é o aparecimento de um multiplete entre δ_{H} 2,45-2,55 (1H) no espectro de **4** e a mudança do valor de integração do multiplete entre δ_{H} 2,35-2,40 de um para dois hidrogênios (Figura 13, p 30). Esses novos sinais centrados em δ_{H} 2,41 e 2,50 são atribuídos aos dois hidrogênios α -carbonílicos diastereotópicos H-2, sendo que um dos hidrogênios H-2 ficou sobreposto ao sinal de outro hidrogênio. O outro hidrogênio com sinal em δ_{H} 2,4 é atribuído a H-19 presente em ambos os compostos.

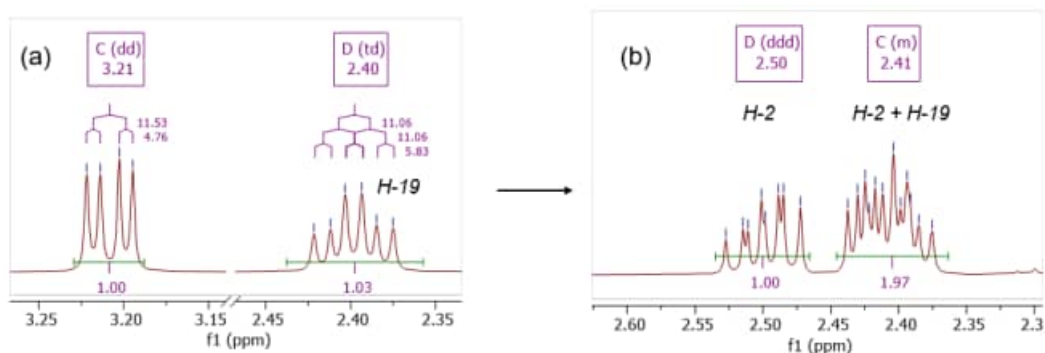


Figura 13: (a) Expansão do espectro RMN de ^1H de **3**, (b) Expansão do espectro de RMN de ^1H de **4**.

Além disso, observa-se a mudança no deslocamento dos sinais atribuídos aos grupos $-\text{CH}_3$ dos carbonos C-23 a C-28 (Figura 14). Originalmente, podem ser observados seis singletos distintos, com deslocamentos variando de δ_{H} 0,78 a 1,05, que se convertem em apenas cinco singletos distintos, com deslocamentos variando de δ_{H} 0,81 ppm a 1,09, e esse último sinal integrado para 6H. Essa mudança ocorre pela formação da cetona em C-3, tornando os hidrogênios em C-23 e C-24 praticamente idênticos, levando a sobreposição de seus sinais.

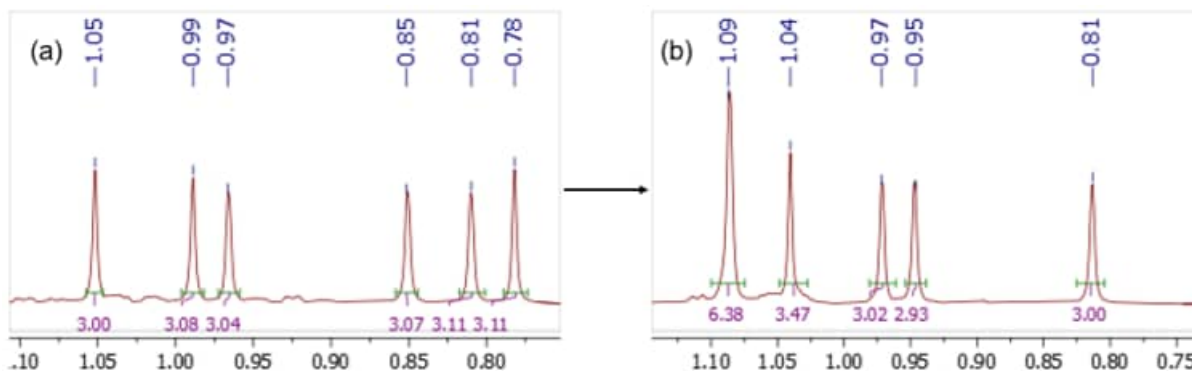


Figura 14: (a) Expansão do espectro RMN de ^1H de **3**, (b) Expansão do espectro RMN de ^1H de **4**.

Nos espectros de RMN de ^{13}C , destaca-se como mudança mais evidente, o sinal do carbono C-3, que originalmente tem deslocamento em δ_{C} 79,0 para o composto **5**, característico de carbono carbinólico, e passa a ter deslocamento de δ_{C} 218,2 para o composto **4**, característico de carbono carbonílico de cetona. A Tabela 1, apresenta os dados de RMN de ^{13}C obtidos para **4** e a comparação com os da literatura (Xu *et al.*, 2018).

Tabela 1: Dados de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **4** e comparação com dados da literatura (25 MHz, CDCl_3) (Xu *et al.*, 2018)

Nº	Tipo	δ (ppm)	Xu <i>et al.</i> δ (ppm)	Nº	Tipo	δ (ppm)	Xu <i>et al.</i> δ (ppm)
1	CH_2	39,6	39,6	16	CH_2	35,5	35,5
2	CH_2	34,2	34,1	17	C	43,0	42,9
3	C=O	218,2	218,2	18	CH	48,0	47,9
4	C	47,3	47,2	19	CH	48,2	48,2
5	CH	54,9	54,9	20	C	150,9	150,8
6	CH_2	19,7	19,6	21	CH_2	29,8	29,8
7	CH_2	33,6	33,5	22	CH_2	40,0	39,9
8	C	40,8	40,7	23	CH_3	26,7	26,6
9	CH	49,8	49,8	24	CH_3	21,0	20,9
10	C	36,9	36,8	25	CH_3	15,8	15,7
11	CH_2	21,5	21,4	26	CH_3	16,0	15,9
12	CH_2	25,2	25,1	27	CH_3	14,5	14,4
13	CH	38,2	38,1	28	CH_3	18,0	17,9
14	C	42,9	42,8	29	CH_2	109,4	109,5
15	CH_2	27,4	27,4	30	CH_3	19,3	19,2

4.1.2 2-hidroxilup-1,20(29)-dien-3-ona (**3**)

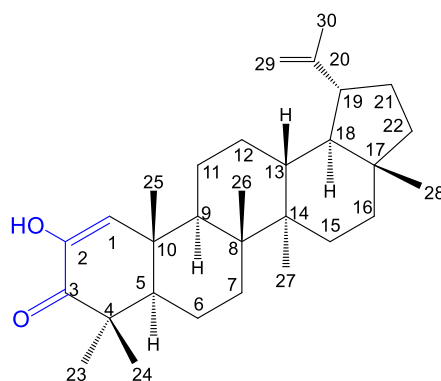


Figura 15: Estrutura química de 2-hidroxilup-1,20(29)-dien-3-ona (**3**).

A obtenção de **3** (Figura 15) foi a etapa que apresentou os maiores desafios. Considerando-se a montagem do sistema e os reagentes empregados, esta reação destacou-se como a mais complexa de se realizar. Além disso, fatores externos como

a temperatura ambiente e umidade relativa do ar também afetam diretamente os resultados.

A segunda etapa reacional consiste na formação de uma dicetona cíclica, cujo mecanismo proposto é ilustrado na Figura 16. Esse mecanismo envolve a formação de um intermediário α -ceto-hidroperóxido, auxiliado pela presença do ânion *tert*-butóxido, que promove a desprotonação do carbono α . A decomposição desse intermediário leva à formação do diosfenol como produto (Rao et al., 1979).

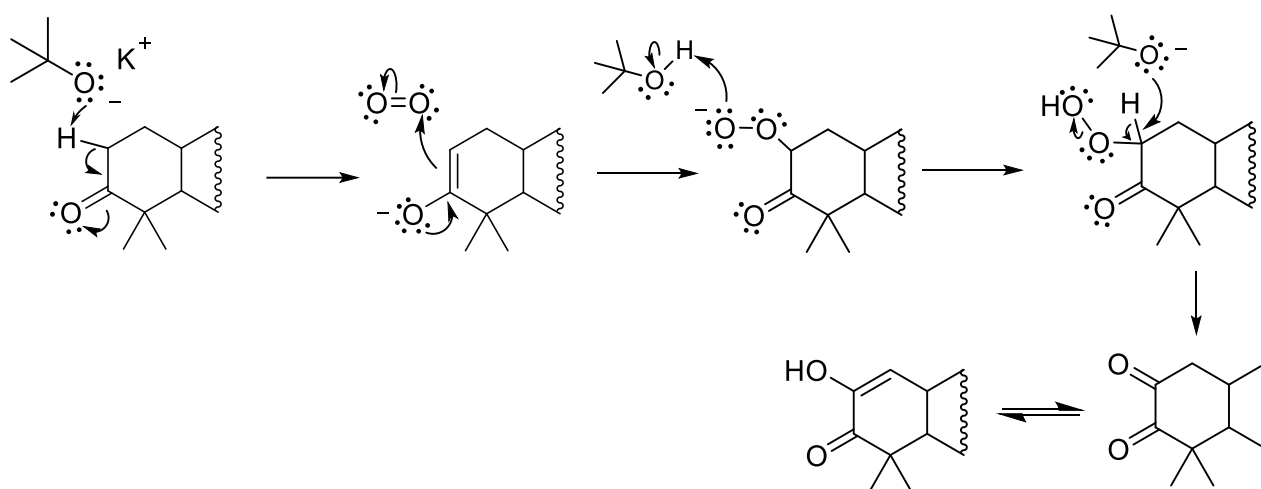


Figura 16: Mecanismo adaptado da auto-oxidação de cetonas cíclicas para formação de diosfenóis (Rao et al., 1979).

Apesar das diversas tentativas de purificação por cromatografia em coluna, o produto não pôde ser isolado eficientemente do produto bruto da reação. Em alguns casos, as frações obtidas da coluna apresentavam múltiplas manchas nas cromatoplaças, as quais não foram observadas nas CCDs do material antes de ser submetido à CC, indicando possível degradação do produto em contato com a sílica. Em outras tentativas, o produto bruto apresentava muitas manchas na cromatoplaça antes da purificação, dificultando a identificação da formação do produto desejado.

De acordo com a literatura, esta reação pode levar a formação de subprodutos dependendo de fatores como a concentração de O_2 e tempo de reação (Urban et al., 2004; Wei; Ma; Hattori, 2009). Considerando-se que empregou-se ar atmosférico como fonte de oxigênio, fatores como a umidade relativa e impurezas podem ter impactado negativamente nos resultados obtidos. Assim, visando maior

rendimento em etapas posteriores, o produto bruto foi analisado por RMN de ^1H e ^{13}C e, após confirmada a sua presença na amostra, foi utilizado como substrato da reação seguinte. Comparando-se os espectros de RMN dos compostos **3** e **4** (Figuras A4 a A9, p. 46 a 49), é possível encontrar mudanças significativas nos sinais presentes, que confirmam a formação do produto.

No espectro de RMN de ^1H (Figura A7, p. 49), destaca-se o aparecimento de um singlete em δ_{H} 6,46, atribuído ao hidrogênio em C-1, referente ao hidrogênio do grupo enol (Figura 17). Além disso, os sinais atribuídos aos hidrogênios dos carbonos metílicos (C-23 a C-28), sofrem mudança em seus respectivos deslocamentos. Em decorrência da deslocalização eletrônica no grupo enol envolvendo os carbonos C-1 a C-3, os carbonos C-23 a C-26 têm blindagem eletrônica menor, aumentando os deslocamentos de seus respectivos hidrogênios (Figura 18, p. 34). Os sinais entre δ_{H} 4,5 e 4,8 (Figura 17 e A7, p. 49), referentes os hidrogênios olefínicos H-29, indicam a presença de mais de um triterpeno de esqueleto lupânico, sendo associados às duas formas possíveis do equilíbrio ceto-enólico de **3** (dicetona e o diosfenol).

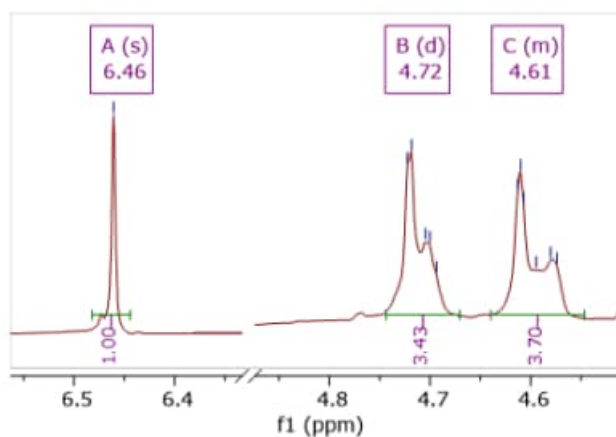


Figura 17: Expansão do espectro RMN de ^1H de **3**.

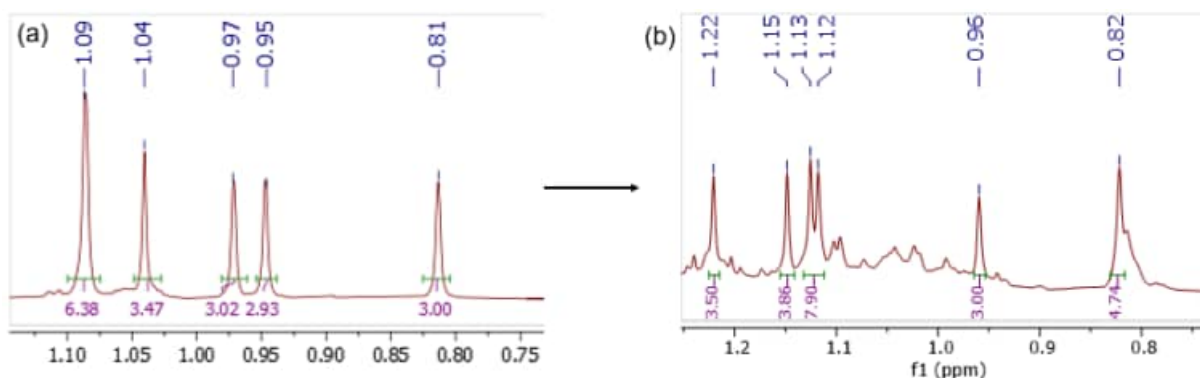


Figura 18: (a)Expansão do espectro RMN de ^1H de **4**, (b) Expansão do espectro RMN de ^1H de **3**.

Nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT135 de **3** (Figura A8 e A9, p. 49 e 50) é possível observar a presença dos sinais em δ_{C} 144,1 e δ_{C} 129, atribuídos a C-1 e C-2, que indicam a formação do enol do composto **3**. Ocorreu a mudança do deslocamento de C-3 de δ_{C} 218 em **4** para δ_{C} 201,3 em **3**. Essa diminuição do deslocamento está relacionada a formação de uma dupla ligação em conjugação com a carbonila originalmente presente na estrutura. Na Tabela 2 consta a comparação dos sinais do espectro de RMN de ^{13}C obtido (Figura A8, p. 47) com dados da literatura (Kacharov *et al.*, 2013).

Tabela 2: Dados de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **3** e comparação com dados da literatura (75 MHz, CDCl_3) (Kacharov *et al.*, 2013)

Nº	Tipo	δ (ppm)	Kacharov <i>et al.</i> δ (ppm)	Nº	Tipo	δ (ppm)	Kacharov <i>et al.</i> δ (ppm)
1	CH	129,1	129,23	16	CH_2	35,5	35,75
2	C-OH	143,9	144,10	17	C	44,0	44,20
3	C=O	201,3	201,48	18	CH	48,2	48,40
4	C	45,6	45,85	19	CH	47,9	48,17
5	CH	54,0	54,21	20	C	150,7	150,92
6	CH_2	21,2	21,41	21	CH_2	29,8	30,03
7	CH_2	33,9	34,16	22	CH_2	40,0	40,21
8	C	43,0	43,25	23	CH_3	27,4	27,58
9	CH	48,2	48,16	24	CH_3	20,2	20,41
10	C	41,7	41,92	25	CH_3	18,8	18,99
11	CH_2	21,6	21,85	26	CH_3	16,5	16,72
12	CH_2	25,0	25,23	27	CH_3	14,4	14,68
13	CH	38,1	38,88	28	CH_3	18,0	18,29
14	C	43,0	43,41	29	CH_2	109,6	109,78
15	CH_2	27,1	27,35	30	CH_3	19,3	19,53

4.1.3 Ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**)

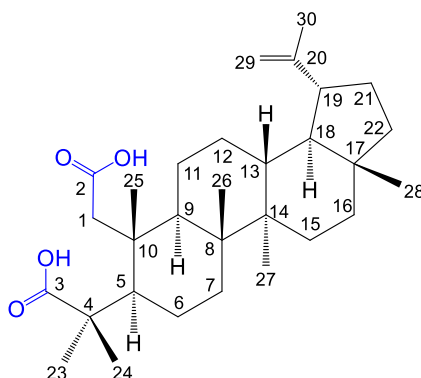


Figura 19: Estrutura química de ácido 2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**).

Dentre os principais desafios relativos à obtenção do composto **2** (Figura 19), destaca-se a sua purificação. Ainda assim, foi possível detectar o completo consumo do material de partida e a formação do produto desejado, por meio de análise em CCD comparado ao produto obtido pelo extrato natural.

A clivagem do anel A para a formação do composto **2**, é realizada com peróxido de hidrogênio em meio básico (hidróxido de potássio). Pelo equilíbrio ceto-enólico, o substrato (**3**) pode também se apresentar na forma de uma dicetona, cujas carbonilas se tornam disponíveis para um ataque nucleofílico do ânion hidroperóxido formado no meio. Logo em seguida, a estrutura sofre um rearranjo e forma um intermediário anidrílico cíclico, de 7 membros. Esse intermediário passa por uma hidrólise, em decorrência dos íons hidróxido, levando à formação do triterpeno dicarboxilado **2** (Figura 20, p. 35) (Yaremenko *et al.*, 2016).

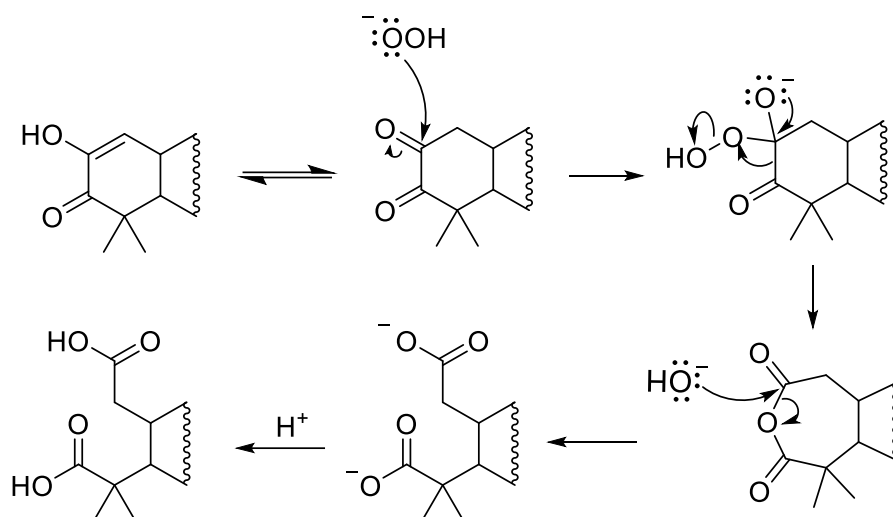


Figura 20: Mecanismo adaptado de clivagem do anel A do triterpeno **3** (Yaremenko et al., 2016).

As dificuldades encontradas para a purificação do produto foram em decorrência de impurezas da etapa anterior. Foram isoladas três diferentes frações, com massa total de 120 mg. Dessas frações, foi possível isolar 40 mg em estado de considerável pureza, de acordo com os dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C .

Nos espectros de RMN de ^1H (Figura A10, p. 50), a ausência do singlete em δ_{H} 6,5 se destaca como principal evidência do consumo de **5** como reagente. Além disso, o multipletto com deslocamento centrado em δ_{H} 2,52 (H-1) aponta a mudança das ligações sofridas pelo carbono C-1 (Figura 21). Observa-se também a mudança nos deslocamentos dos carbonos metílicos (Figura 22, p.36), em que é possível observar seis singletos, dos quais dois têm deslocamentos em δ_{H} 1,20 e 1,27, atribuídos aos hidrogênios H-23 e H-24, que ficaram mais desblindados por sofrerem efeito indutivo retirador de elétrons em decorrência da carboxila em C-3.

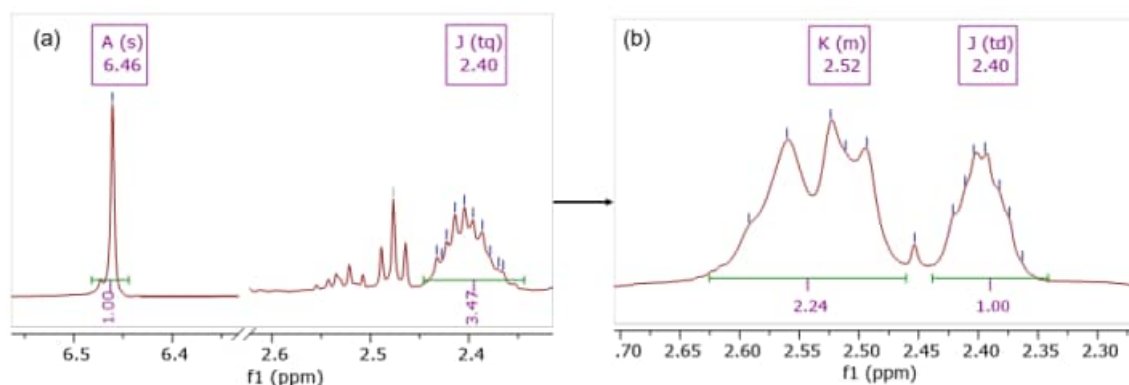


Figura 21: (a) Expansão do espectro RMN de ^1H de **3** (b) Expansão do espectro de RMN de ^1H de **2**

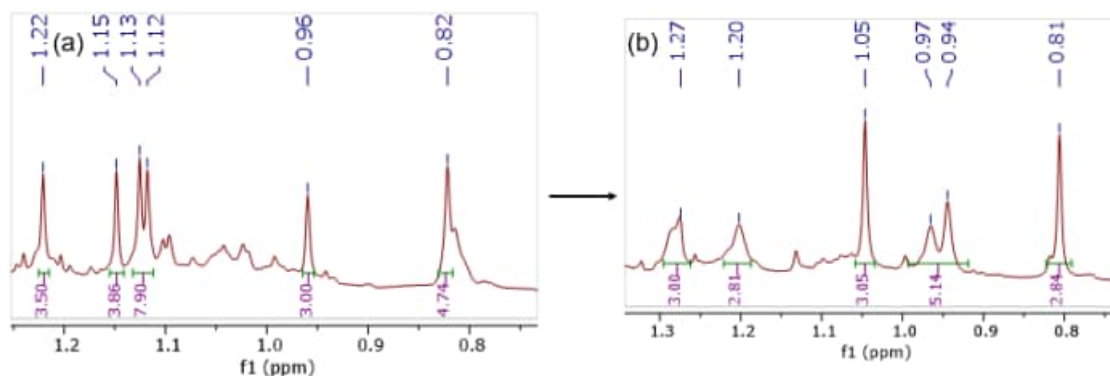


Figura 23: (a) Expansão do espectro RMN de ^1H de **3** (b) Expansão do espectro de RMN de ^1H de **2**.

Analogamente, a principal evidência da formação do composto **2** nos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (Figura A11 e A12, p. 51) é a mudança dos deslocamentos dos sinais atribuídos aos carbonos C-1 a C-3. Observa-se a ausência da detecção dos sinais em δ_{C} 129,3 e 143,9 relativos ao enol, e o surgimento de sinais em δ_{C} 187,1 e 178,0 dos carbonos C-2 e C-3, característico de ácidos carboxílicos. A similaridade dos dados de RMN de ^{13}C obtidos com os dados disponíveis na literatura (Camargo *et al.*, 2022) confirmam a obtenção do composto **2** (Tabela 3).

Tabela 3: Dados de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **2** e comparação com dados da literatura (CDCl_3) (Camargo *et al.*, 2022)

Nº	Tipo	δ (ppm)	Camargo <i>et al.</i> δ (ppm)	Nº	Tipo	δ (ppm)	Camargo <i>et al.</i> δ (ppm)
1	CH_2	41,0	40,9	16	CH_2	35,5	35,5
2	CO_2H	178,0	178,5	17	C	43,2	43,2
3	CO_2H	187,1	187,5	18	CH	48,4	48,4
4	C	45,8	45,6	19	CH	48,0	48,0
5	CH	48,3	48,2	20	C	150,9	150,9
6	CH_2	21,5	21,3	21	CH_2	29,8	29,8
7	CH_2	33,5	33,7	22	CH_2	40,0	39,9
8	C	41,9	41,8	23	CH_3	29,7	29,8
9	CH	41,2	41,7	24	CH_3	21,5	21,3
10	C	40,7	40,7	25	CH_3	20,6	20,8
11	CH_2	19,6	19,2	26	CH_3	16,0	15,9
12	CH_2	25,1	24,9	27	CH_3	14,6	14,6
13	CH	38,0	37,9	28	CH_3	18,0	18,0
14	C	43,0	43,2	29	CH_2	109,5	109,4
15	CH_2	27,5	27,5	30	CH_3	19,3	19,2

4.1.4 Ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**1**)

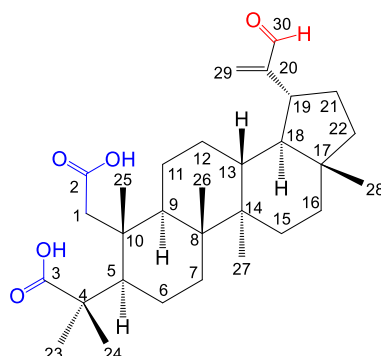


Figura 24: Estrutura química do ácido 30-oxo-2,3-seco-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**1**).

A última etapa reacional, após purificação, permitiu obtenção de uma massa total de 25 mg do produto **1** (Figura 24). Os dados obtidos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figura A13 a A15, p. 52 e 53), em comparação com os resultados de Quintão e colaboradores (Quintão, 2023), confirmam a formação do produto desejado, como mostrado na Tabela 5.

A última reação da semissíntese ocorre pelo ataque do par de elétrons da dupla ligação ao átomo de selênio. Simultaneamente, um dos oxigênios abstrai um hidrogênio do carbono $-\text{CH}_3$ alílico. Essa etapa permite a mudança de localização da dupla ligação. Por um ataque intramolecular, o intermediário sofre novo rearranjo em sua estrutura, no qual o oxigênio se liga ao carbono $=\text{CH}_2$ terminal e reestabelece-se a dupla ligação do alceno original da estrutura. Após esse processo, o composto sofre uma segunda desprotonação que leva à formação do aldeído como produto final e a formação de água e selênio elementar como subprodutos da reação (Figura 25) (Nakamura; Nakada, 2013).

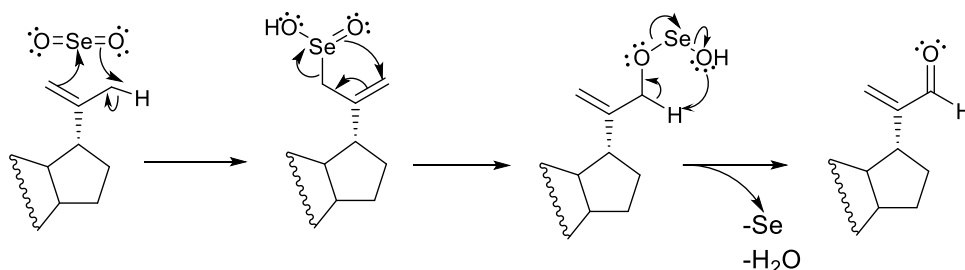


Figura 25: Mecanismo de oxidação alílica na presença de SeO_2

De acordo com o espectro de RMN de ^1H (Figura A13, p. 52) da amostra observam-se evidências que indicam a formação de **1**. Destacam-se como sinais mais relevantes, os singletos em δ_{H} 9,53, 6,31 e 5,96, atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos do aldeído (C_{30}) e da dupla (C_{29}), respectivamente (Figura 26). Além disso, a ausência de um singlete em δ_{H} 1,7, relativo à metila C-30 do composto **2**, é uma confirmação da formação do produto esperado.

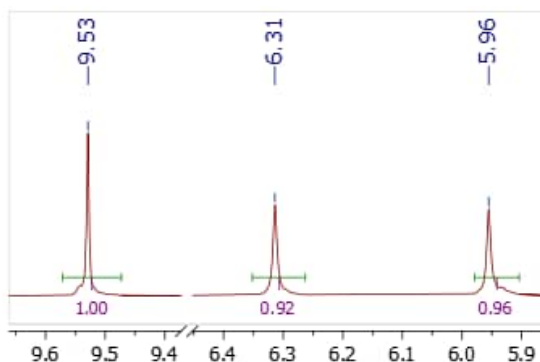


Figura 26: Expansão do espectro RMN de ^1H de **1**.

Quanto aos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT-135, destacam-se os sinais em δ_{C} 195,3, 187,3 e 178,3 sendo associados a C-30, C-3 e C-2, respectivamente. Apesar da ausência de alguns dos sinais esperados para a substância as evidências observadas nos espectros de RMN de ^{13}C e de ^1H confirmam a formação do composto **1**.

Tabela 4: Dados de RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **1** em comparação com dados da literatura (CDCl_3) (Quintão, 2023).

Nº	Tipo	δ (ppm)	Quintão <i>et al.</i> δ (ppm)	Nº	Tipo	δ (ppm)	Quintão <i>et al.</i> δ (ppm)
1	CH_2	41,0	41,1	16	CH_2	35,3	35,4
2	CO_2H	178,3	178,0	17	C	43,3	43,3
3	CO_2H	187,3	187,0	18	CH	48,4	48,3
4	C	45,8	45,9	19	CH	48,4	48,3
5	CH	48,4	48,0	20	C	-	166,7
6	CH_2	21,4	21,5	21	CH_2	33,9	33,7
7	CH_2	33,9	33,8	22	CH_2	39,9	39,9
8	C	41,9	41,9	23	CH_3	29,7	28,8
9	CH	41,9	41,8	24	CH_3	21,9	22,1
10	C	40,7	40,7	25	CH_3	19,4	20,5
11	CH_2	20,7	21,5	26	CH_3	15,9	15,9
12	CH_2	-	22,7	27	CH_3	14,4	14,4
13	CH	37,6	37,6	28	CH_3	17,8	17,8
14	C	43,1	43,1	29	CH_2	-	133,6
15	CH_2	27,4	27,3	30	CHO	195,2	195,3

4.2 Ensaio de Inibição da Urease

O ensaio de inibição da urease foi conduzido com o objetivo de avaliar o potencial de triterpenos na modulação da atividade enzimática. Neste trabalho, foi possível realizar os testes com os compostos **4**, **5** e o controle positivo (Figura 10, p. 27). Os demais derivados, devido ao tempo necessário para sua obtenção, ainda não foram avaliados, mas serão submetidos aos ensaios futuramente.

Os dois compostos testados apresentaram porcentagem de inibição de 15,0% para lupeol e 33,1% para lupenona, enquanto o controle positivo, AAH, apresentou valor igual a 36,0% (Tabela 5). Observa-se que a modificação estrutural do lupeol (**5**) para lupenona (**4**), levou a significativo aumento da atividade inibitória. Isso demonstra resultados promissores para a lupenona (**4**) e reforçam a importância de realizar os ensaios para os demais derivados obtidos nas etapas de modificações seguintes,

tornando a continuação do estudo necessária para o aprofundamento da compreensão da atividade de triterpenos como inibidores de urease.

Tabela 5: Porcentagem da média de inibição de urease dos compostos AAH, 4 e 5

Composto	% média de inibição	Desvio padrão
AAH	36,0	±3,4
5	15,0	±3,6
4	33,1	±6,3

5 CONCLUSÃO

Nesse trabalho, foram sintetizados dois triterpenos pentacíclicos A-*seco* dicarboxilados, identificados como ácido 30-oxo-2,3-*seco*-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**1**) e ácido 2,3-*seco*-lup-20(29)-eno-2,3-dioico (**2**), atingindo-se assim, o objetivo principal do estudo. A síntese desses compostos foi possível a partir da metodologia proposta e confirmada pela análise dos espectros RMN de ^1H e ^{13}C , demonstrando a sua viabilidade e se apresentando como via promissora para o aprofundamento de estudos de atividade biológica desses compostos.

A metodologia ainda precisa passar por revisões e melhorias, com o objetivo de se contornar os problemas enfrentados em cada etapa, de forma a obter melhores rendimentos e frações de pureza elevada, requisito essencial para estudos de bioatividade. Ainda assim, foi possível obter rendimento global aproximado de 31%, mostrando sua relevância e pertinência na síntese dos compostos em questão.

Os ensaios enzimáticos realizados para inibição de urease mostram que a modificação estrutural do lupeol pode levar a estruturas de maior atividade inibitória e abre espaço para exploração de outras modificações na busca de triterpenos com maior afinidade para esse grupo de enzimas de interesse medicinal e agrícola.

REFERÊNCIAS

- ALI, Fayaz *et al.* *N* -Aryl-3,4-dihydroisoquinoline Carbothioamide Analogues as Potential Urease Inhibitors. **ACS Omega**, 2021.
- CAMARGO, Karen Caroline *et al.* Pentacyclic Triterpenoids Isolated from Celastraceae: A Focus in the ¹³C-NMR Data. **Molecules**, 2022.
- CASTRO, María Julia *et al.* Oxidation at C-16 enhances butyrylcholinesterase inhibition in lupane triterpenoids. **Bioorganic Chemistry**, 2018.
- DAVID, Bruno; WOLFENDER, Jean-Luc; DIAS, Daniel A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, 2015.
- DE AGUILAR, Mariana *et al.* Friedelane Triterpenes with Cytotoxic Activity from the Leaves of *Maytenus quadrangulata* (Celastraceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2022.
- DENNER, Toni C. *et al.* Synthesis of Rhodamine-Conjugated Lupane Type Triterpenes of Enhanced Cytotoxicity. **Molecules**, 2024.
- ELSHAFIE, Hazem S.; CAMELE, Ippolito; MOHAMED, Amira A. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. **International Journal of Molecular Sciences**, 2023.
- GALAIKO, N. V.; GRISHKO, V. V. Synthesis and Transformations of A-Seco-Triterpenoids. **Chemistry of Natural Compounds**, 2025.
- KACHAROV, Alexey D. *et al.* Stereoselectivity of A-ring contraction for 3-oxotriterpenoids. **RSC Advances**, 2013.

LI, Jie Jack. Jones oxidation. *In*: LI, Jie Jack (Org.). **Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications Fifth Edition**. Cham: Springer International Publishing, 2014.

LIU, Yingkai *et al.* Seco-Tetracyclic and Seco-Pentacyclic Triterpenoids from Nature: Phytochemistry, Biological Activity: A Review. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, 2022.

MANZ, Christina *et al.* Switching cell fate by the actin–auxin oscillator in *Taxus*: cellular aspects of plant cell fermentation. **Plant Cell Reports**, 2022.

MIROWSKI, Patrick da Silva *et al.* Selective tumor cell growth inhibition by lignans and a seco-triterpenoid from *Combretum mellifluum*. **Natural Product Research**, 2022.

NAJMI, Asim *et al.* Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. **Molecules**, 2022.

NAKAMURA, Akihiko; NAKADA, Masahisa. Allylic Oxidations in Natural Product Synthesis. **Synthesis**, 2013.

NUNES, Damiana Antônia De Fátima *et al.* Virucidal antiviral activity of *Maytenus quadrangulata* extract against Mayaro virus: Evidence for the presence of catechins. **Journal of Ethnopharmacology**, 2023.

QUINTÃO, Sandy Veríssimo Morais. **Estudo fitoquímico do extrato clorofórmico dos galhos de *Maytenus quadrangulata* (Celastraceae)**, Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel-Química) Universidade Federal de Minas Gerais, 2023.

RAO, Durvasula V.; STUBER, Fred A.; ULRICH, Henri. Base-catalyzed autoxidation of cyclic ketones. **The Journal of Organic Chemistry**, 1979.

SINGHA, Achinta; CHAKRABORTY, Anirban; SIL, Samir Kumar. Lupeol: ethnopharmacological insights and therapeutic potential in human health. **3 Biotech**, 2025.

URBAN, Milan *et al.* Synthesis of A-Seco Derivatives of Betulinic Acid with Cytotoxic Activity. **Journal of Natural Products**, 2004.

VIANA, Luciana Pereira Silva. **ÁCIDOS CINAMOILIDROXÂMICOS COMO INIBIDORES DE UREASE: síntese, avaliação da atividade inibitória e estudos sobre o mecanismo de inibição.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2024.

WALL, Monroe E.; WANI, Mansukh C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. **Journal of Ethnopharmacology**, 1996.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, 1967.

WEI, Xi-Fan *et al.* Review of natural plant-derived seco-triterpenoids and derived saponins from 2020 to 2023: new compounds, distributions, diverse activities and structure–activity relationships. **Phytochemistry Reviews**, 2024.

WEI, Ying; MA, Chao-Mei; HATTORI, Masao. Synthesis and evaluation of A-seco type triterpenoids for anti-HIV-1protease activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2009.

XIAO, Sulong *et al.* Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. **Medicinal Research Reviews**, 2018.

XU, Feng *et al.* Beneficial health effects of lupenone triterpene: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2018.

YAREMENKO, Ivan A. *et al.* Rearrangements of organic peroxides and related processes. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, 2016.

ANEXO 1

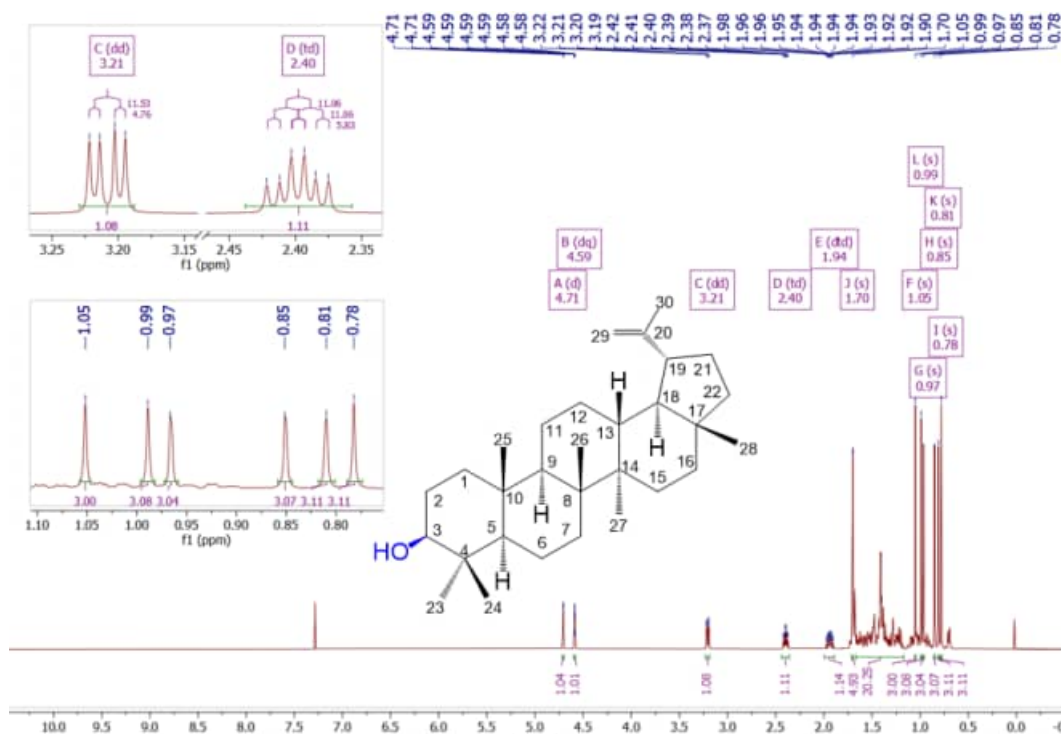


Figura A1: Espectro de RMN de ^1H do composto **5** (CDCl_3 , 600 MHz)

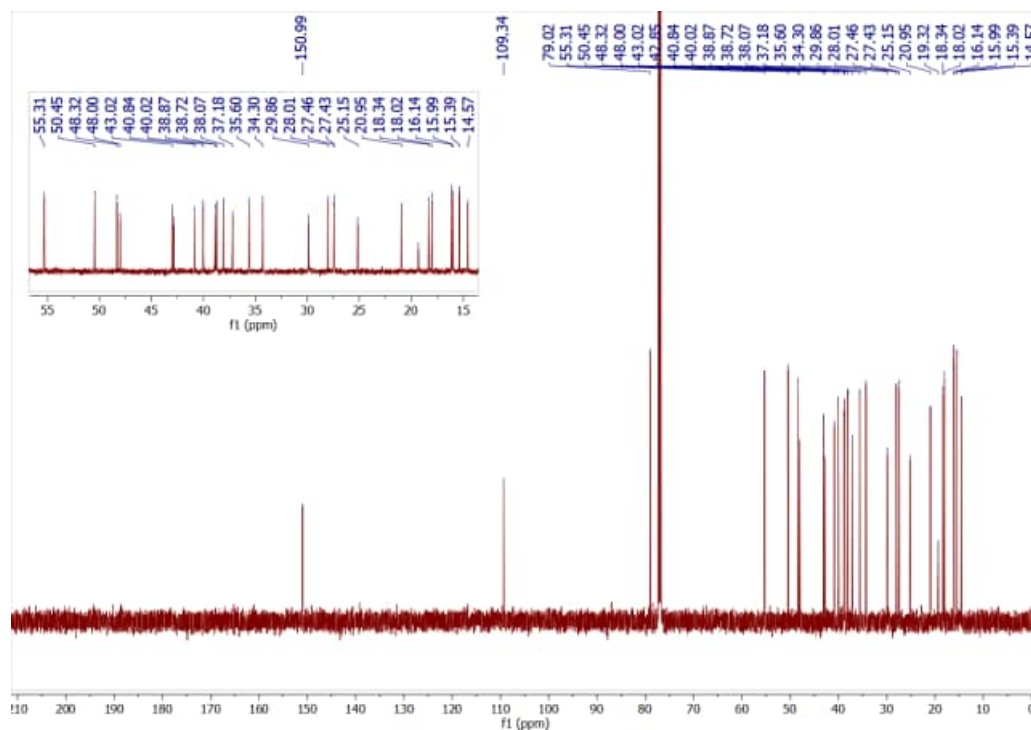


Figura A2: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **5** (CDCl_3 , 150 MHz)

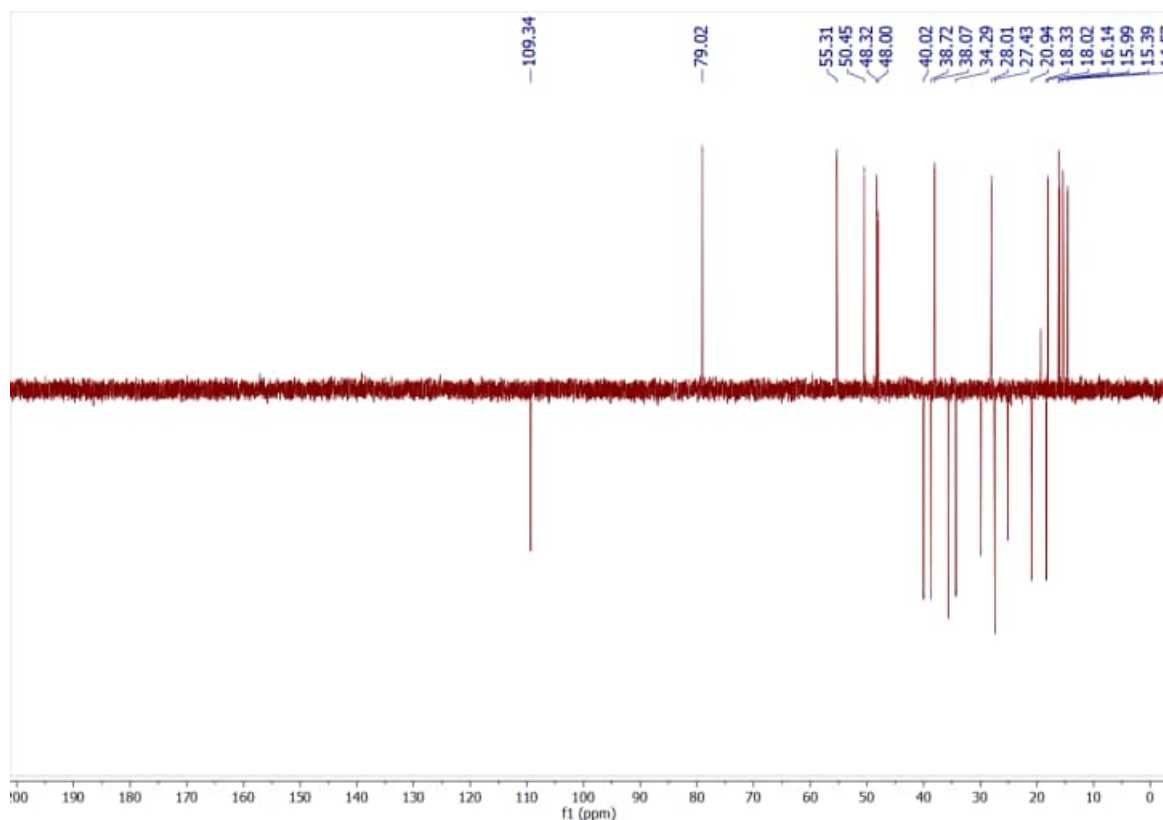


Figura A3: Espectro DEPT do composto **5** (CDCl₃, 150 MHz)

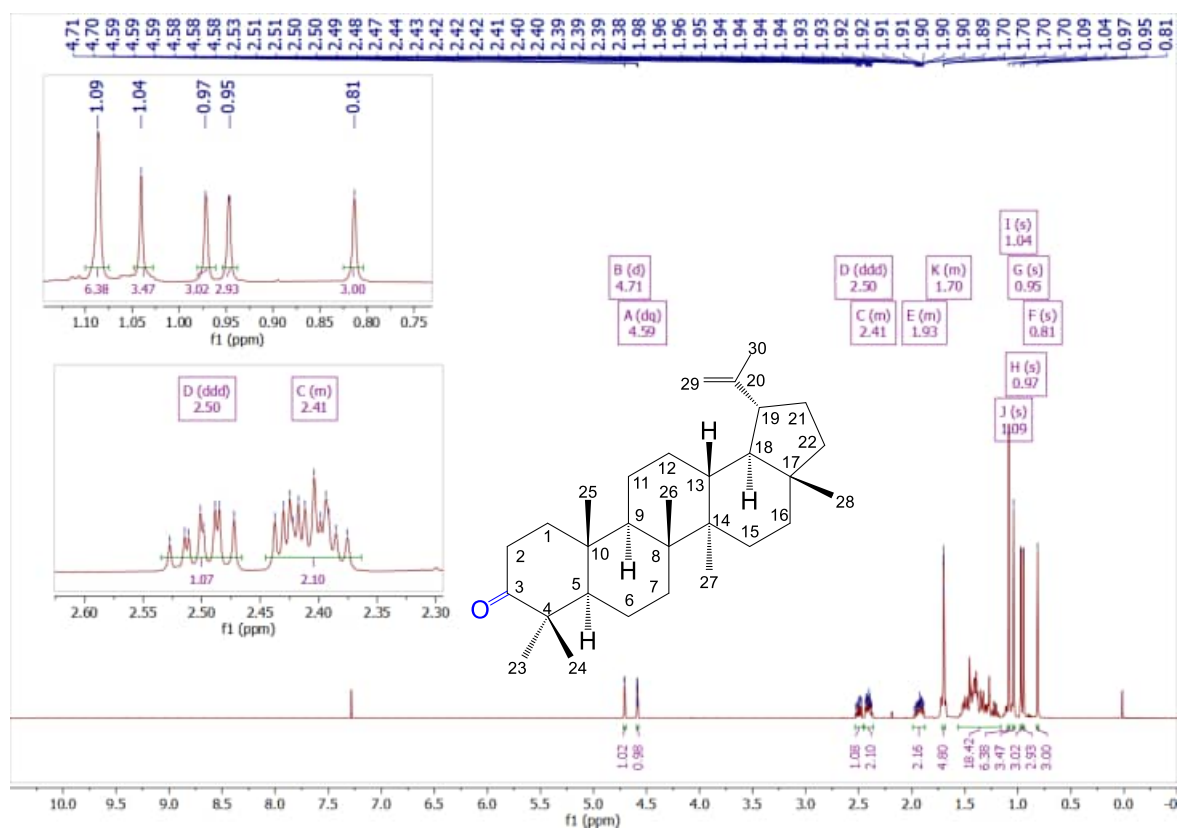


Figura A4: Espectro de RMN de ¹H do composto **4** (CDCl₃, 600 MHz)

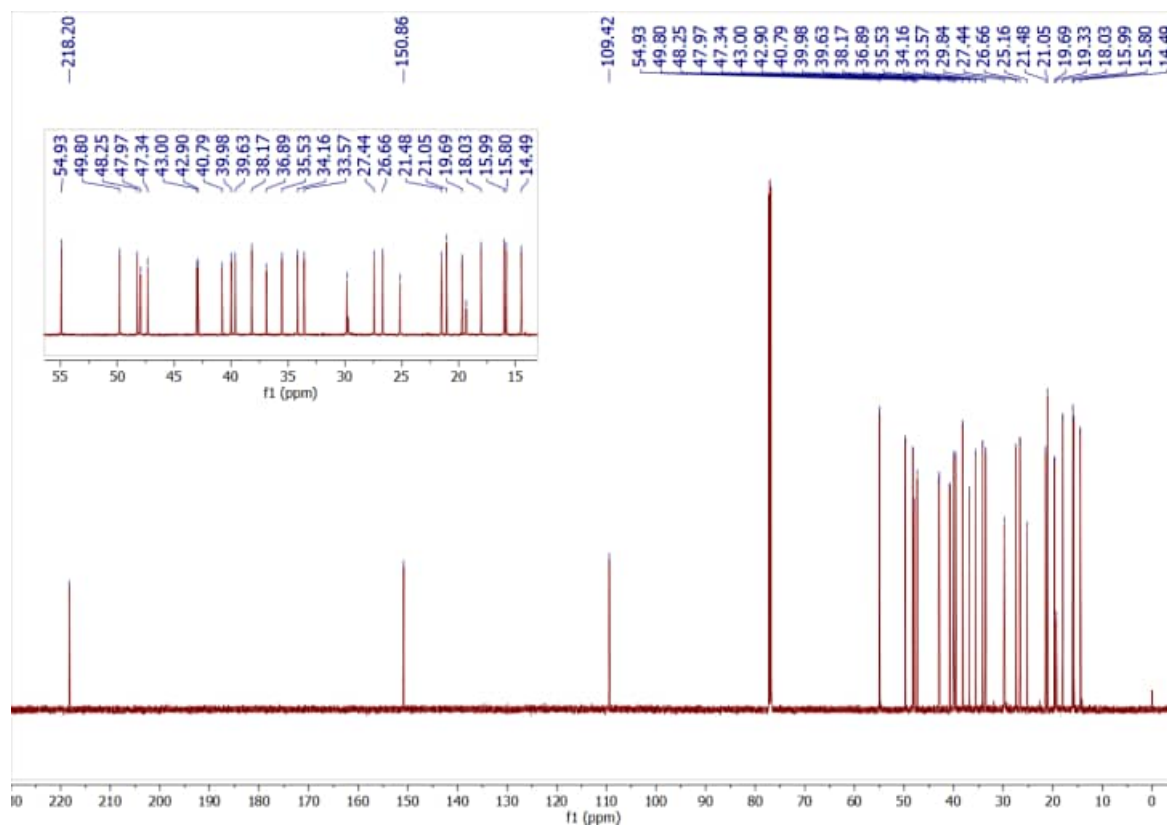


Figura A5: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **4** (CDCl_3 , 150 MHz)

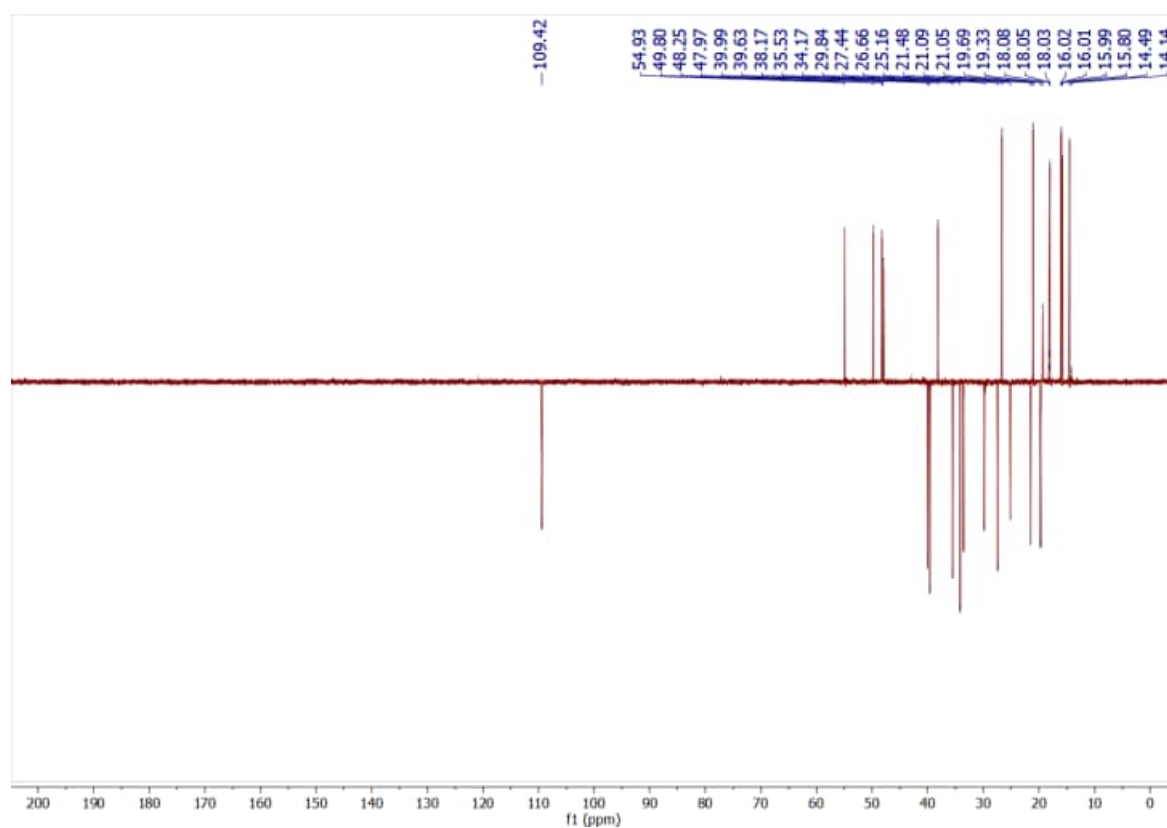


Figura A6: Espectro DEPT-135 do composto **4** (CDCl_3 , 150 MHz)

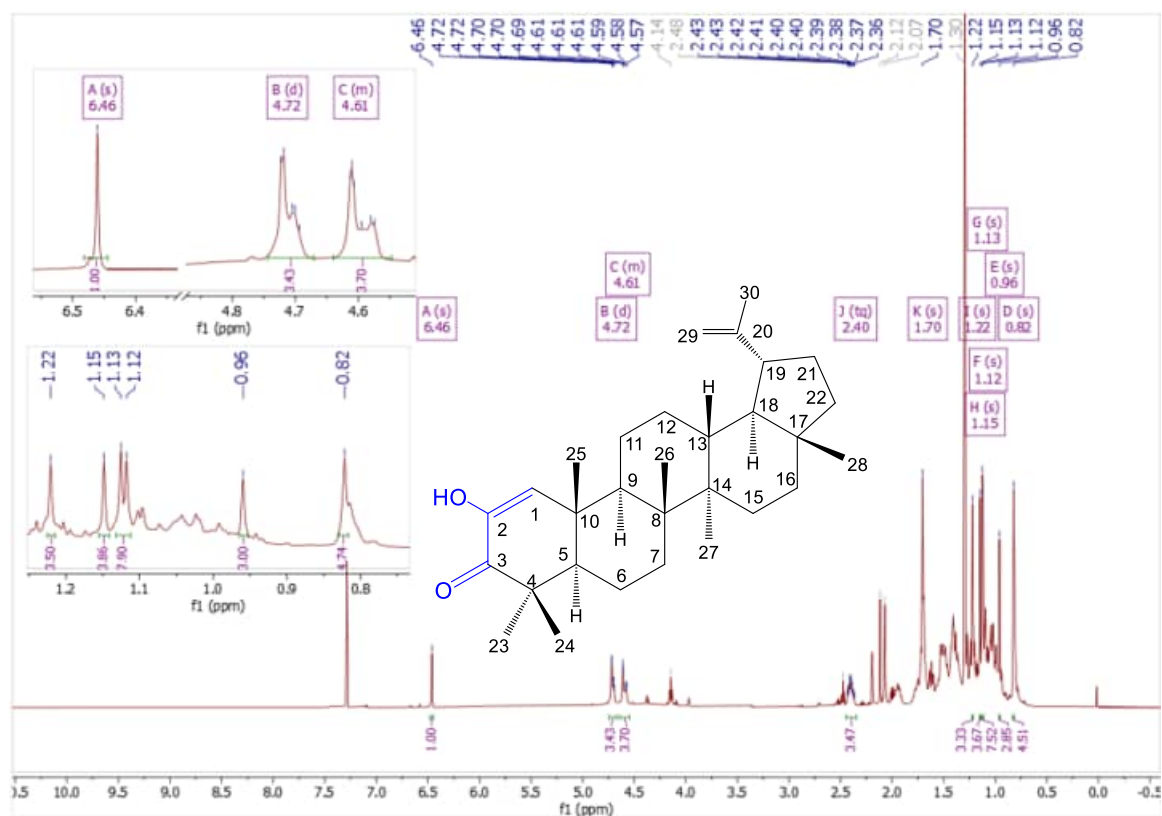


Figura A7: Espectro de RMN de ¹H do composto **3** (CDCl₃, 600 MHz)

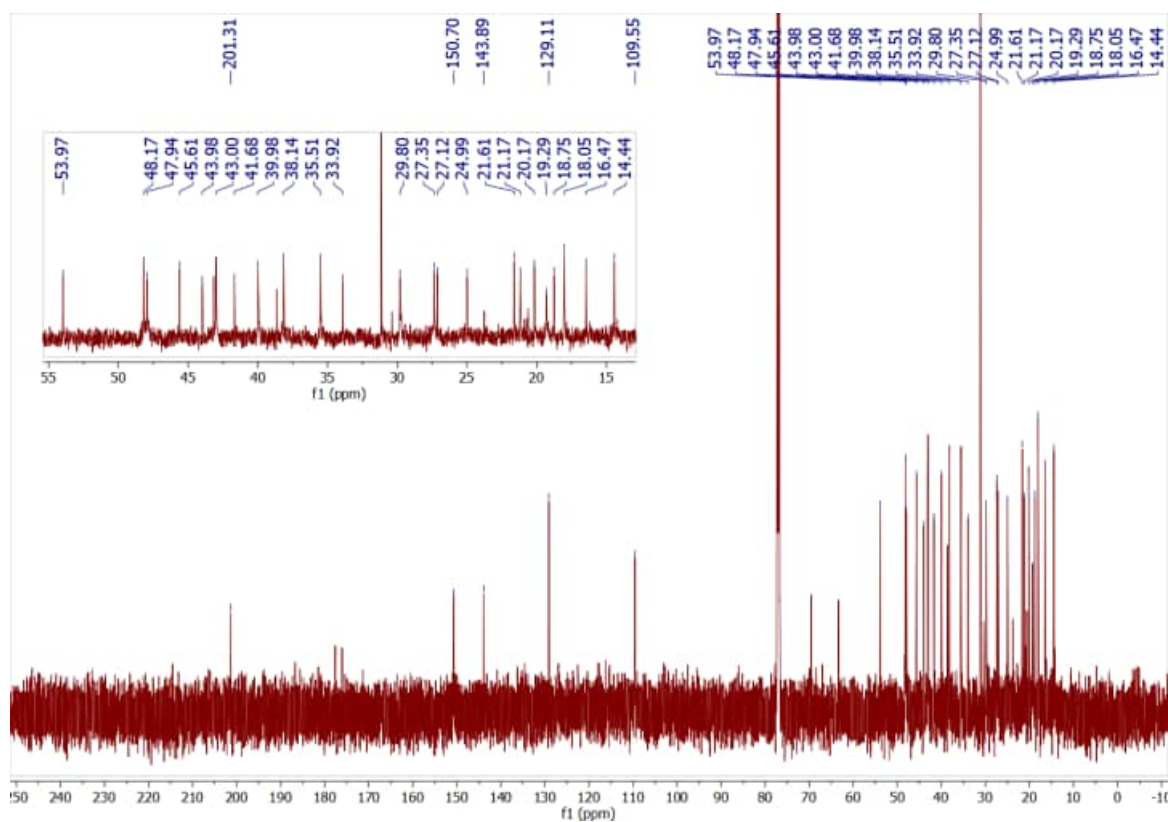


Figura A8: Espectro de RMN de ¹³C do composto **3** (CDCl₃, 150 MHz)

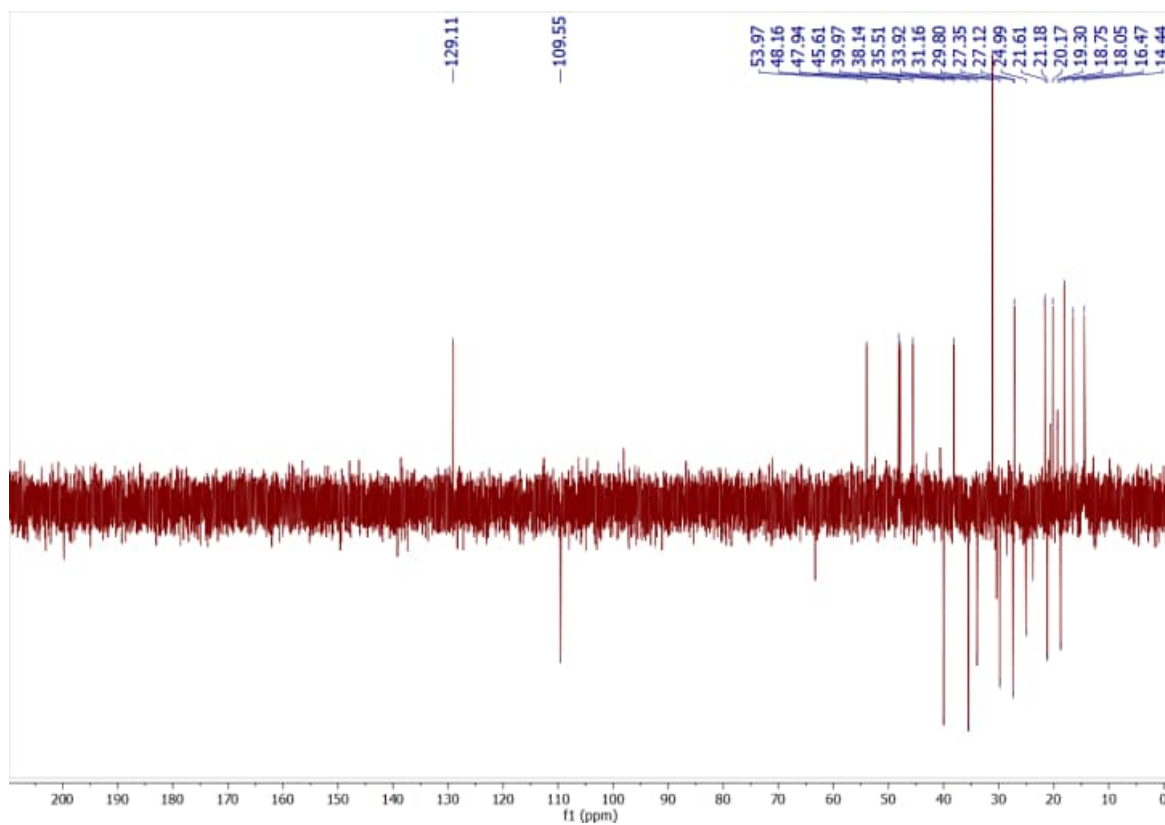


Figura A9: Espectro DEPT-135 do composto **3** (CDCl_3 , 150 MHz)

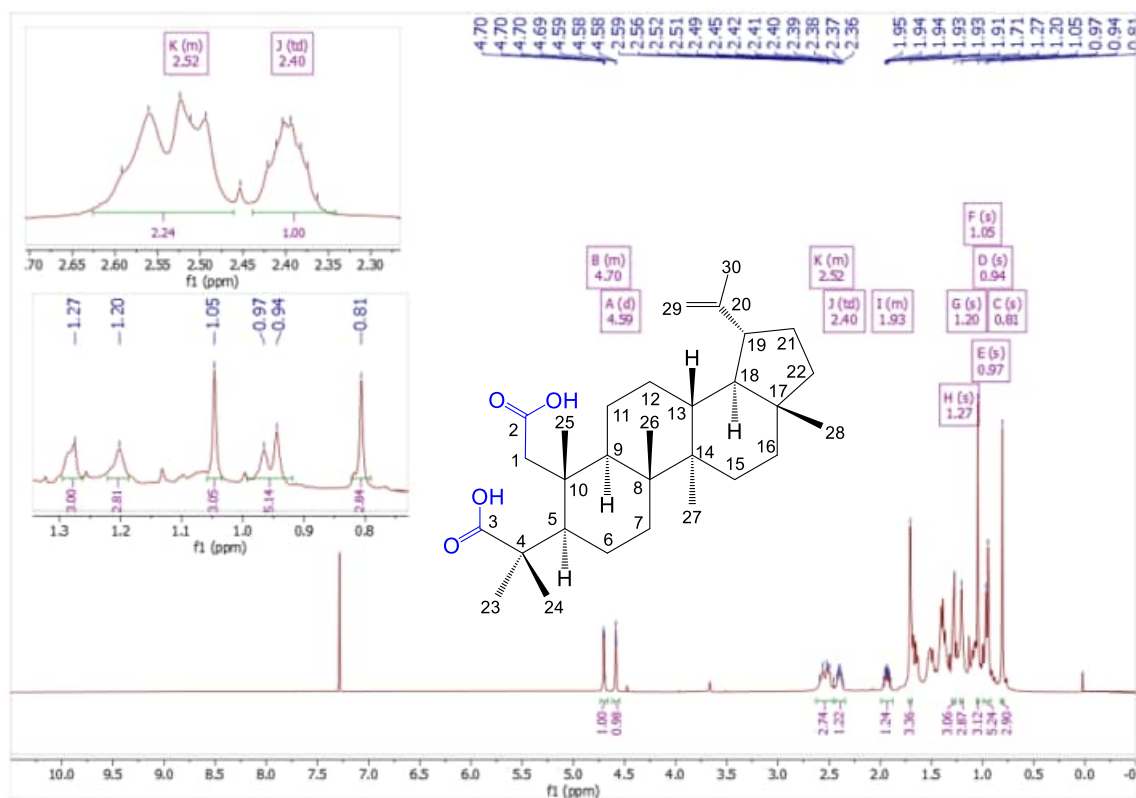


Figura A10: Espectro de RMN de ^1H do composto **2** (CDCl_3 , 600 MHz)

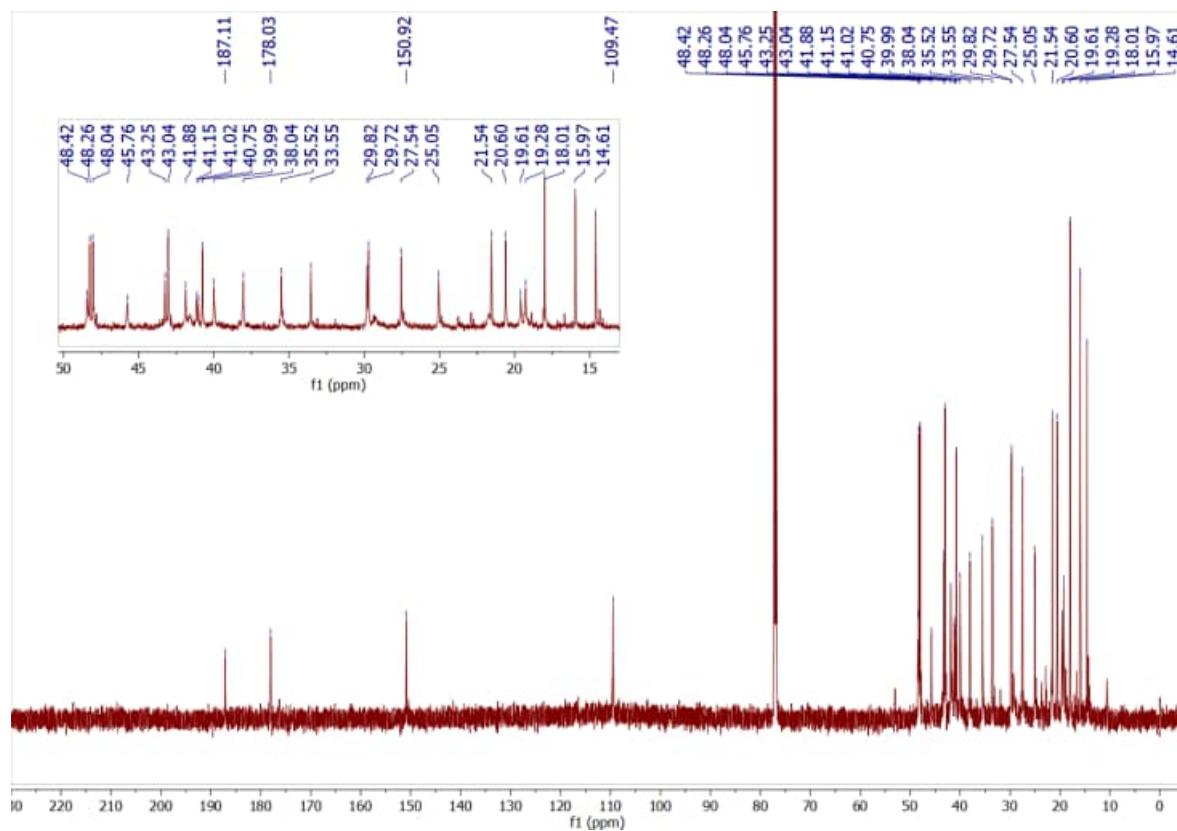


Figura A11: Espectro de RMN de ¹³C do composto **2** (CDCl₃, 150 MHz)

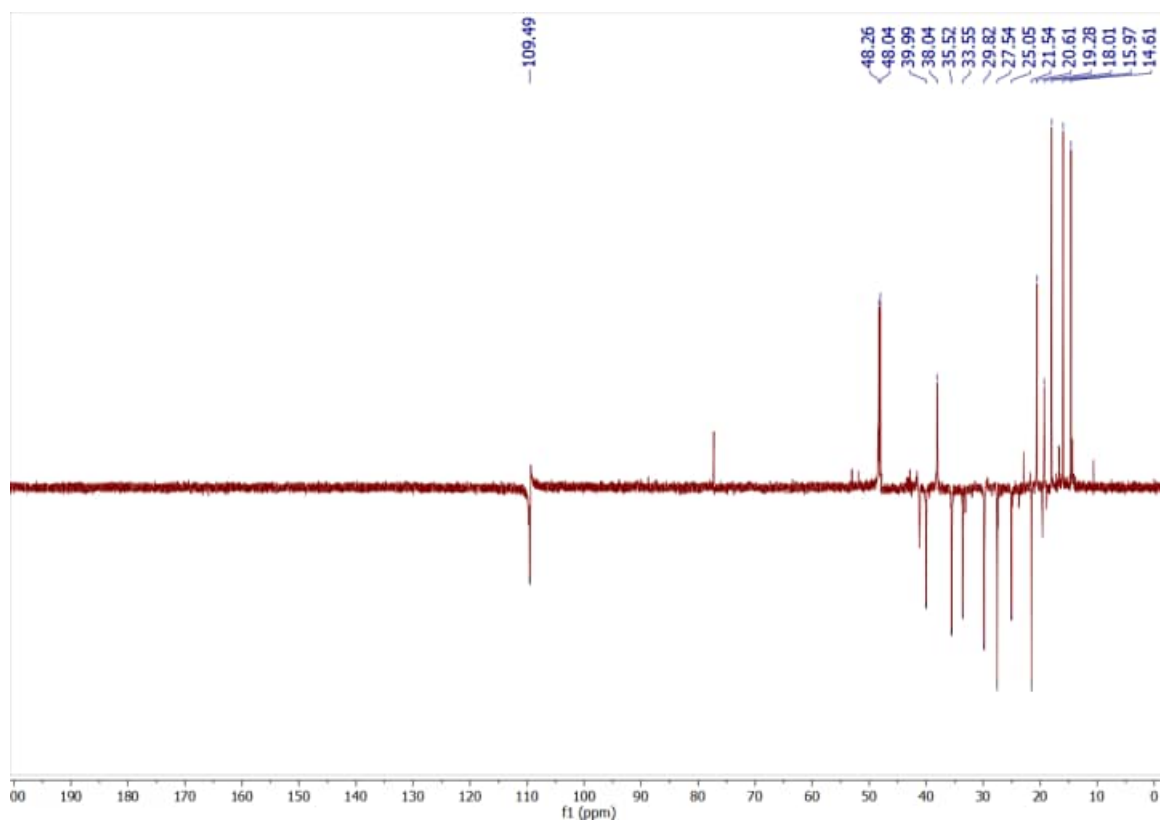


Figura A12: Espectro DEPT-135 do composto **2** (CDCl₃, 150 MHz)

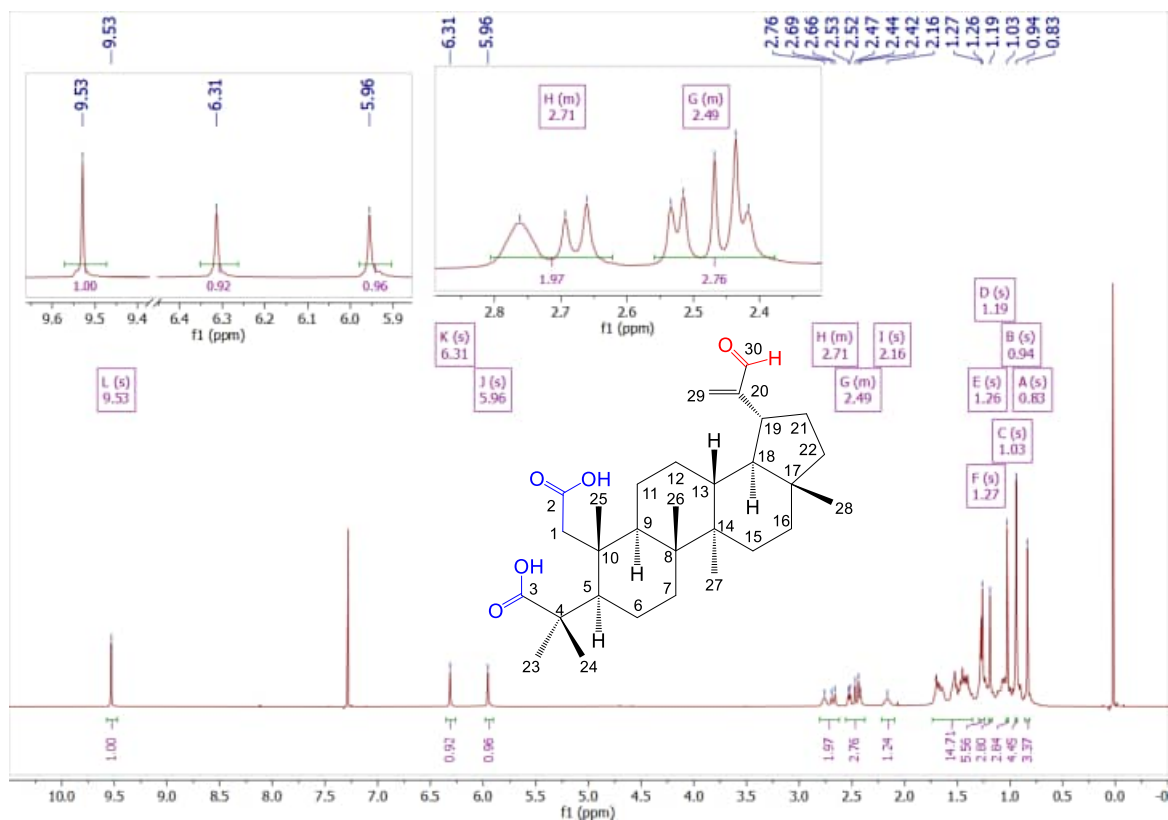


Figura A13: Espectro de RMN de ¹H do composto **1** (CDCl₃, 600 MHz)

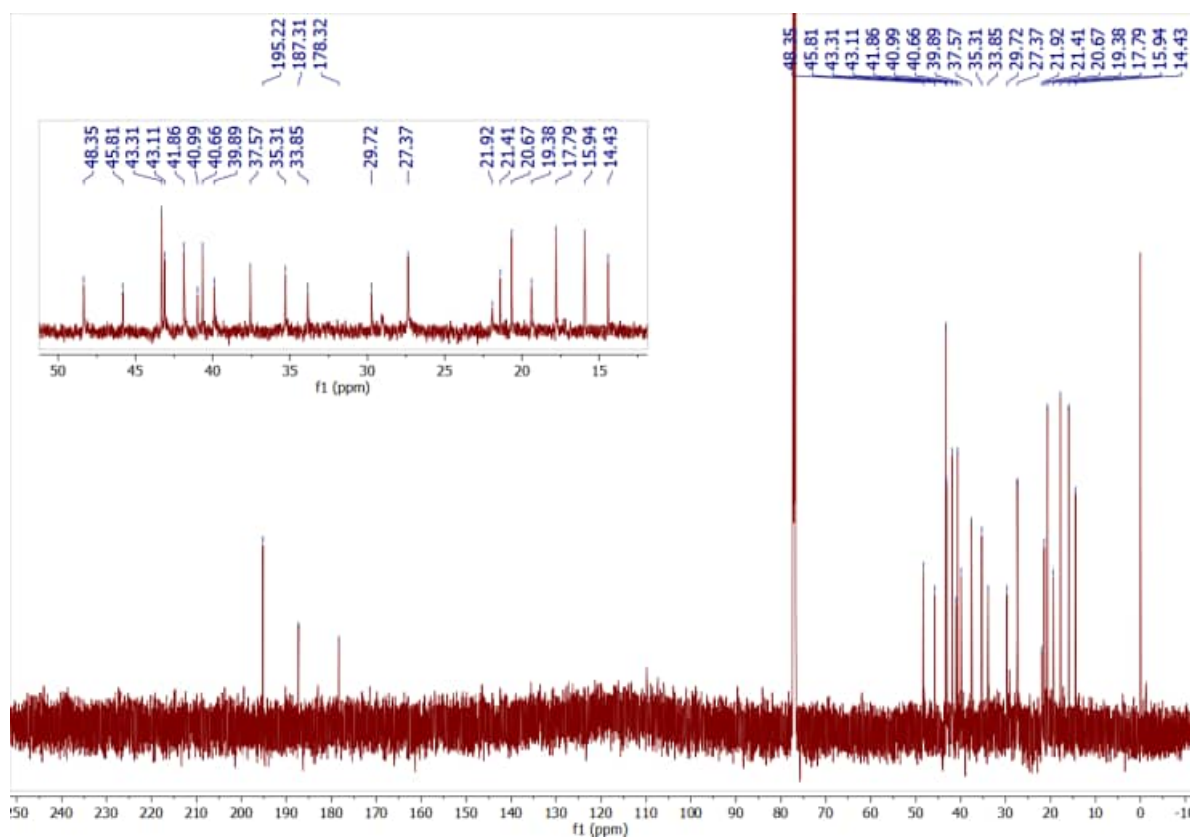


Figura A14: Espectro de RMN de ¹³C do composto **1** (CDCl₃, 150 MHz)

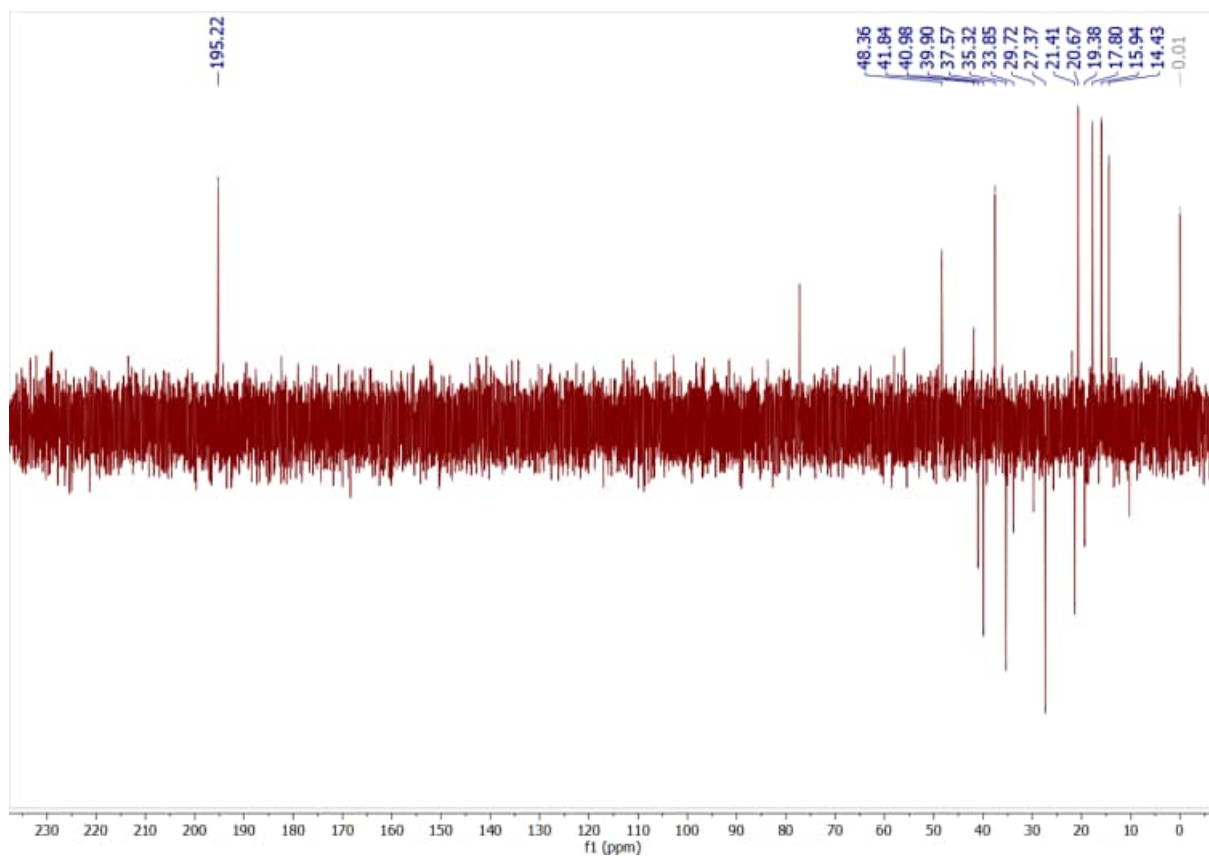


Figura A15: Espectro DEPT-135 do composto **1** (CDCl₃, 150 MHz)