



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DE DERIVADOS HALOGENADOS E GLICOSILADOS
DO ÁCIDO ACANTOICO DE *ANNONA AMAZONICA***

YASMIN CAMARÃO DIAS

Manaus/AM

Agosto/2023

YASMIN CAMARÃO DIAS

**SÍNTESE DE DERIVADOS HALOGENADOS E GLICOSILADOS
DO ÁCIDO ACANTOICO DE *ANNONA AMAZONICA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de mestre em Química, linha de pesquisa “Transformações de Moléculas Orgânicas”.

Orientador: Alisson Meza Novais

Manaus/AM

Agosto/2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

D541s Dias, Yasmin Camarão
Síntese de derivados halogenados e glicosilados do ácido acantoico de *Annona amazonica* / Yasmin Camarão Dias . 2023
101 f.: 31 cm.

Orientador: Alisson Meza Novais
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Síntese. 2. Ácido acantoico. 3. Pimaradienos. 4. Epoxidação. 5. Halogenações. I. Novais, Alisson Meza. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

YASMIN CAMARÃO DIAS

SÍNTESE DE DERIVADOS HALOGENADOS E GLICOSILADOS DO ÁCIDO ACANTOICO DE *ANNONA AMAZONICA*

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Química, linha de Transformações de Moléculas Orgânicas, do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovado em 02 de agosto de 2023.

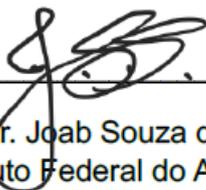
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alisson Meza Novais
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dr. Alan Diego da Conceição Santos
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dr. Joab Souza dos Santos
Instituto Federal do Amazonas

Dedico esta obra a minha mãe Marinete Camarão Dias, minha amiga e parceira, saiba que este título acadêmico, é fruto da sua educação, apoio, e principalmente determinação, em ter cuidado de mim o tempo todo, pelos conselhos e por sempre me motivar a focar nos meus estudos, obrigada por cada segundo dessa jornada, amo-te!

AGRADECIMENTOS

A Deus por me ajudar em toda minha caminhada nesse mestrado, a ter sempre determinação e força de vontade de ir atrás do que fosse necessário, ao meu Santo padroeiro São José Operário, a qual sou devota, que nos momentos mais difíceis que passei, ele me deixou firme na fé!

A minha mãe Marinete Camarão, por todo amor, educação, compreensão, e por ser sempre minha amiga, principalmente por ter ficado comigo e acreditado na minha capacidade e determinação, obrigada pela preocupação e por todo o incentivo e por ter ficado acordada de madrugada comigo, na época, na qual eu cursava disciplinas e quando eu estava escrevendo essa dissertação, só Deus mesmo, para ter feito você minha mãe, essa vitória é nossa!

A minha família, por sempre acreditarem em mim, e não terem deixado eu desistir no meio do caminho, aos meus irmãos Oséias Dias, Franklin Camarão e Izaqueu Camarão, obrigada pelo apoio dedicado a mim.

A minha ex-professora Dr. Ana Lúcia Mendes dos Santos, que me apresentou a área de Síntese Orgânica através das disciplinas experimentais de Química Orgânica 2 e 3 no IFAM, obrigada pelos seus ensinamentos, didática e principalmente por tornar a química orgânica fantástica!

Ao meu orientador Dr. Alisson Meza Novais por ter aceitado meu convite de orientação, na seleção, e aos aprendizados adquiridos.

Aos meus amigos, do LAEQ e NMRLab Brenda Leocádio, Jailson Rocha, Thomas Breno e Samuel Oliveira por terem me ajudado tanto nesses dois anos, em conselhos, companhia de bancada, disciplinas, e nas análises de verdade eu só tenho a agradecer por tudo!

A minha amiga Karoline Dutra pelos conselhos, amizade, ajuda e apoio.

Ao meu amigo Earle Júnior por ter me incentivado desde a época da graduação em Licenciatura em Química no IFAM, a fazer a prova de seleção, pela companhia, conselhos, amizade e apoio.

Ao professor Prof^o. Dr. Alan Diego da Conceição pelos conselhos, aulas e por sempre ser muito presente, quando necessário, muito obrigada de verdade.

A Prof^a. Rita Nunomura, por ter cedido o espaço para minha pesquisa no LAEQ, por sempre conversar comigo, pelos conselhos, apoio e por sempre ser solícita a me ajudar no que fosse necessário.

Ao Dr. Felipe Moura Araújo por ser sempre presente na minha pesquisa, ainda mais nos momentos mais difíceis que passei, pelos conselhos, conversas, por

ter me ajudado nas análises, nas pesquisas, e sempre me aconselhar a ser uma boa pesquisadora e nunca deixar eu desanimar, e sempre reconhecer minha dedicação a minha pesquisa, muito obrigada por tudo!!!

A minha amiga Dr^a. Rita Cynara Salles de Oliveira, pelo incentivo desde a época em que trabalhávamos juntas, pela ajuda, conselhos e parceria e ao Msc. Magno Perea Muniz pela ajuda nas análises no CA-LTQPN-INPA.

Ao Dr. André Correa de Oliveira por ter realizado o teste biológico com o derivado da reação de epoxidação feito neste trabalho.

A Msc. Sarah Larissa Gomes Flores pela ajuda e conselhos na elucidação estrutural dos derivados.

Ao LAEQ, NMRLab, LABCEM, CA-LTQPN-INPA pelo espaço e por terem realizados as análises referentes a este trabalho.

Ao Dr. Adrian Martin Pohlit por ter aceitado meu convite para a defesa de qualificação, suas contribuições e conselhos ajudaram bastante o desenvolvimento deste estudo até a defesa final.

Ao Dr. Emmanoel Vilaça Costa por ter disponibilizado a substância base para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Daniel Pereira Bezerra por fazer as análises antitumorais nos derivados adquiridos neste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ-UFAM), na qual fiz parte como discente.

A Universidade Federal do Amazonas, pelos aprendizados adquiridos.

A FAPEAM pelo financiamento do estudo com a bolsa de auxílio a pesquisa.

RESUMO

O ácido acantoico (AA) é um diterpeno do tipo pimaradieno isolado de diversas espécies vegetais, sobretudo das que pertencem à família Annonaceae. Na região amazônica, essa substância é isolada em grandes quantidades a partir do extrato hexânico dos caules de *Annona amazonica*, chegando a perfazer 65% da massa do extrato. Dessa forma, essa abundante fonte renovável configura-se como uma importante oportunidade para o desenvolvimento de novas substâncias bioativas complexas por meio de procedimentos de semissíntese. O presente estudo teve como objetivo a realização de modificações estruturais do diterpeno ácido acantoico (AA) – especificamente reações de oxigenações via epoxidação – halogenações e glicosilações. O material de partida foi isolado a partir do extrato hexânico dos caules de *A. amazonica* por cromatografia em coluna. Foram realizadas transformações químicas no (AA) através de reações de epoxidação, halogenações e redução do grupo carboxila. O produto de epoxidação foi identificado por meio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC e NOESY, bem como por espectrometria de massas (EM) e foi feito o ensaio biológico sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE) com este derivado. Com relação aos produtos das reações de halogenação, apenas o derivado de AA com o átomo de bromo, foi isolado e identificado por meio das técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C , além disso por espectrometria de massas. As reações de cloração e iodação tiveram como produto uma matriz complexa para a identificação estrutural e purificação, todavia constatou-se a eficácia das reações através da espectrometria de massas de alta resolução (EMAR). O produto residual da reação de redução do ácido carboxílico foi isolado e identificado por técnicas espectroscópicas.

Palavras-chaves: pimaradienos, halogenações, glicosilações, diterpenos.

ABSTRACT

Acanthoic acid (AA) is a pimaradiene-like diterpene isolated from many plants, especially those belonging to Annonaceae family. In Amazon rainforest, AA is massively isolated from the *n*-hexane extract of *Annona amazonica* stems, reaching up to 65% of the extract total mass. Taking it into account, this abundant and renewable resource represents an important opportunity for the development of semisynthetic based bioactive and complex new compounds. In this way, the present study aimed to perform structural modifications on the AA molecule, specially oxygenations, halogenations and glycosylations. The starting material was isolated from the hexane extract of *A. amazonica* stems by column chromatography. Chemical transformations were carried out on AA structure through epoxidation, halogenations and carboxyl reduction. The epoxide was identified by NMR ^1H , ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC and NOESY techniques, as well as mass spectrometry. The product also was evaluated for acetylcholinesterase inhibition activity. In respect to halogenated products, just the brominated product was isolated and identified through NMR and MS spectrometry, while the chlorination and iodation crude products resulted in a complex matrix of compounds, we found unable to purify. However, the success of these protocols of halogenation was verified by mass spectrometry. The reduction product of AA was isolated and identified by spectroscopic techniques.

Keywords: pimaradiene, halogenations, glycosylations, diterpenes.

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 - Mecanismo de epoxidação mediada por perácidos. Adaptado de Clayden, Greeves & Warren, 2012.	30
ESQUEMA 2 - Epoxidação nucleofílica de ésteres α - β insaturados catalisada por terc-butilperóxido de lítio.	32
ESQUEMA 3 - Epoxidação nucleofílica catalisado em meio alcalino	32
ESQUEMA 4 - Mecanismos de reações radicalares (Clayden et al., 2012)	35
ESQUEMA 5 - Reação de Glicosilação (Souza et al., 2021).	36
ESQUEMA 6 - Mecanismo geral da reação de Glicosilação (Souza et al., 2021).	37
ESQUEMA 7 - Reação de Epoxidação do AA.	40
ESQUEMA 8 - Esquema geral das reações de halogenações do AA.	41
ESQUEMA 9 - Formação do produto 1,2,3,4,6-penta-O-trimetilssilil- α -D-Glucopiranosose	42
ESQUEMA 10 - Síntese do acantol a partir do ácido acantoico.	42
ESQUEMA 11 - Proposta geral de reações de glicosilações do ácido acantoico.	45
ESQUEMA 12 - Mecanismo de reação de formação do derivado de bromo.	64

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura química do ácido acantoico.....	19
FIGURA 2 - Fotografias de graviola (<i>Annona muricata</i>) 1. Fruto; 2. Folhas; 3. Folhas e seus respectivos frutos imaturos; 4. Árvore.....	23
FIGURA 3 - Fotografias de <i>Annona amazonica</i> . 1. Árvore; 2. Folhas; 3. Galhos.....	24
FIGURA 4 - Constituintes presentes em <i>Annona amazonica</i>	25
FIGURA 5 - Derivados do (AA) provenientes de transformações moleculares (Dou et al., 2022; Kasemsuk et al., 2021).....	26
FIGURA 6 - Exemplos de diterpenos encontrados em produtos naturais.....	29
FIGURA 7 - N-Halossucinimidas.....	33
FIGURA 8 - Constituintes presentes em <i>Annona amazonica</i>	46
FIGURA 9 - Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) do AA (δ 0,5 a 2,5).....	47
FIGURA 10 - Espectro de RMN ¹ H AA (δ 4,5 a 6,0).	47
FIGURA 11 - Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) do AA (δ 0 a 220).	48
FIGURA 12 - Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) do AA (δ 0 a 80).	48
FIGURA 13 - Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) do AA (δ 220 a 100).....	49
FIGURA 14 - CCD REPAA - Revelador: Vanilina sulfúrica. Legenda: P = AA; R = reação; M = ponto misto entre P e R. Eluente: Hex:DCM (8:2)	50
FIGURA 15 - CCDP da Reação de epoxidação.	51
FIGURA 16 - EM-APCI Full Scan (M-/M+) da Y _{Cepoxi}	51
FIGURA 17 - Espectro de RMN ¹ H Y _{Cepoxi} (500 MHz, CDCl ₃ - δ -0,5–8,0 ppm).	52
FIGURA 18 - Comparação dos espectros de RMN ¹ H do Y _{Cepoxi} (A) e do AA (B) (500 MHz, CDCl ₃).....	52
FIGURA 19 - Espectro de RMN ¹ H Y _{Cepoxi} (500 MHz, CDCl ₃ - δ 0,5 a 3,0).....	53
FIGURA 20 – Escrever o nome aqui	54
FIGURA 21 - Espectros de RMN ¹³ C e DEPT-135 do produto Y _{Cepóxi} (125 MHz, CDCl ₃ - δ 5,0 a 190).....	55
FIGURA 22 - Espectro de NOESY Y _{Cepóxi} – NOESY 1H-1H.....	56
FIGURA 23 - Espectro de HSQC ¹ H ¹³ C Y _{Cepóxi}	57
FIGURA 24 - Espectro de HMBC ¹ H ¹³ C Y _{Cepóxi}	57
FIGURA 25 - Mecanismo proposto para reação de epoxidação.	58
FIGURA 26 - Espectro de massas de alta resolução Y _{Cepóxi} (M-).....	59
FIGURA 27 - Espectro de massas de alta resolução Y _{Cepóxi} (M+).....	60
FIGURA 28 - Curva de Inibição do derivado Y _{Cepóxi} inibição de AChE.	61
FIGURA 29 - Curva de Inibição padrão positivo Neostigmina	61
FIGURA 30 - EM APCI full scan (M-/M+) da reação de halogenação Método 1 (24 horas).....	62
FIGURA 31 - CCD-RBAA (2 horas de reação); B - CCDP RBAA	62
FIGURA 32 - EM - APCI Full Scan (M+/M-) RBAA.....	63
FIGURA 33 - EM - APCI Full Scan (M-/M+) Y _{CBr}	63
FIGURA 34 - Espectro de RMN ¹ H da Y _{CBr} (δ 0,5 a 3,0).	65
FIGURA 35 - Espectro de RMN ¹ H da Y _{CBr} (δ 4,5 a 6,0 ppm).	66
FIGURA 36 - Espectro de massas de alta resolução Y _{CBr} (M-)	67
FIGURA 37 - Espectro de massas de alta resolução Y _{CBr} (M+)	68

FIGURA 38 - CCD RCIAA_1 A - 24horas de reação, B - 48horas de reação e C – 72horas de reação.	69
FIGURA 39 - CCD RIAA_1 A - 24horas de reação, B - 48horas de reação e C – 72horas de reação.	69
FIGURA 40 - Espectro de RMN ¹ H Substância 1 CCDPRRAA_1 (δ -0,5 a 8,5).	70
FIGURA 41 - Espectro de RMN ¹ H Substância 1 CCDPRRAA_1 (δ 3,3 a 6,0).	70
FIGURA 42 - Espectro de RMN ¹ H do produto de perssilação da D-glucose (δ -0,5 a 7,5).	71
FIGURA 43 - Espectro de RMN ¹ H do produto de perssilação da D-glucose (δ 3,3 a 5,1).	71
FIGURA 44 - Ampliação do espectro de RMN ¹ H do produto de perssilação da D-glucose (δ 0,04 a 0,28).	72
FIGURA 45 - Posição equatorial do hidrogênio anomérico evidenciada pela conformação de Newman, gerada por meio da observação através da ligação C2-C1 (linha pontilhada), e a curva de Karplus.	73
FIGURA 46 - Espectro de RMN ¹³ C do produto de perssilação da D-glucose (δ -5,0 a 100,0).	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do AA.....	49
Tabela 2 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C $\gamma_{\text{Cepóxi}}$	58

LISTA DE ABREVIATURAS

- AA** - Ácido acantoico
- ACGs** - Acetogeninas
- CCD** - Cromatografia em camada delgada
- CCDP** - Cromatografia em camada delgada preparativa
- RMN** - Ressonância magnética nuclear
- EM** - Espectrometria de massas
- EMAR** - Espectrometria de massas de alta resolução
- EHAAC** - Extrato hexânico do caule de *Annona amazonica*
- Hex** - Hexano
- NBS** - N-bromossuccinimida
- NCS** - N-clorossuccinimida
- NIS** - N-iodossuccinimida
- AcOEt** - Acetato de etila
- DCM** - Diclorometano
- MeOH** - Álcool Metílico
- ACN** - Acetonitrila
- APCI** - Atmospheric - pressure chemical ionization
- MS** - Espectrometria de massas
- CDCl₃** - Clorofórmio Deuterado
- RBAA** - Reação com bromo com ácido acantoico
- RPAç** - Reação de persilação de açúcares
- RCIAA** - Reação com cloro com ácido acantoico
- RIAA** - Reação com iodo com ácido acantoico
- RRAA** - Reação de redução com iodo ácido acantoico
- DEPT** - Distortionless enhancement by polarization transfer
- NOESY** - Nuclear overhauser effect spectroscop
- HSQC** - Heteronuclear Single Quantum Coherence
- HMBC** - Heteronuclear Multiple Bond Correlation
- TOF-MS** - Time of flight
- AChE** - Acetilcolinesterase
- TCA** - Ácido tricloroacético

THF - Tetrahidrofurano

***t*-BPLi** - *terc*-butilperóxido de Lítio

KOH - Hidróxido de potássio

***m*-CPBA** - ácido meta 3 - cloroperbenzóico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVO.....	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 FAMÍLIA ANNONACEAE	22
3.1.1 Gênero <i>Annona</i>	22
3.2 <i>Annona amazonica</i> R. E. Fr.	23
3.2.1 <i>Ácido acantoico</i>	25
3.3 TERPENOS E DITERPENOS	27
3.4 SEMISSÍNTESE.....	29
3.4.1 <i>Reações de epoxidação</i>	30
3.4.2 Epoxidação nucleofílica.....	31
3.4.3 <i>Reação com N-halossuccinimidas</i>	32
3.5 REAÇÕES RADICALARES	33
3.6 <i>REAÇÕES DE GLICOSILAÇÕES</i>	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1 GERAL.....	38
4.2 MÉTODOS.....	39
4.2.1 REAÇÕES DE EPOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO	39
4.2.2 REAÇÕES DE HALOGENAÇÕES COM N-HALOSSUCCINIMIDAS	40
4.2.3 SÍNTESE DA 1,2,3,4,6-PENTA-O-TRIMETILSSILIL- α -D- GLUCOPIRANOSE.....	41
4.2.4 REDUÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO A ACANTOL.....	42
4.2.5 ENSAIO DA ENZIMA AChE	43
5. RESULTADOS	44
5.1. ESCOPO GERAL DA PROPOSTA DE PESQUISA	44
5.2. ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO ÁCIDO ACANTOICO	46
5.3. EPOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO	50
5.4. REAÇÕES DE HALOGENAÇÕES.....	61
5.5. REDUÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO COM LiAlH_4	69
5.6. PERSSILAÇÃO DA D-GLUCOSE	71
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXO A (Espectro de RMN de ^1H - AA)	86
ANEXO B (Espectro de RMN de ^{13}C - AA)	87
ANEXO D (Espectro de RMN de ^{13}C YC _{epóxi})	89
ANEXO E (Espectro de RMN DEPT - 135 YC _{epóxi} DEPT).....	90
ANEXO F (Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C HSQC YC _{epóxi})	92
ANEXO G (Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C HMBC YC _{epóxi}).....	93
ANEXO I (Espectro de RMN de ^1H RRAA).....	95
ANEXO J - (Espectro de RMN de ^1H D-Glucose Protegida).....	96
ANEXO K (Espectro de RMN de ^{13}C D- Glucose Protegida)	97
ANEXO L Espectro de Massas de Alta Resolução YC _{epóxi} (modo negativo)....	98
ANEXO M Espectro de Massas de Alta Resolução YC _{epóxi} (modo positivo)	99
ANEXO N - Espectro de Massas de Alta Resolução YCBr (modo negativo) ..	100
ANEXO O - Espectro de Massas de Alta Resolução YCBr (modo positivo) ...	101

1. INTRODUÇÃO

Atualmente existem estudos científicos sobre transformações em moléculas orgânicas, que comprovam a eficácia dessas modificações a partir de metabólitos secundários provenientes de fontes naturais (Menezes, 2020). Alguns exemplos de substâncias passíveis a transformações são: flavonoides, terpenos, alcaloides entre muitos outros que são encontrados e estudados pela comunidade científica, e que possuem comprovação de atividades biológicas (Veiga et al., 2005).

Dentre muitas espécies botânicas que possuem metabólitos secundários, suscetíveis a transformações ressaltam-se as espécies pertencentes à família Annonaceae. Esta família abrange 40 gêneros dos quais apenas três são importantes, sendo eles: *Annona*, *Rollinia* e *Alberona* (Mosca, 2006). Na qual apresentam espécies que despertam atenção no meio comercial. Pode-se destacar as espécies que são pertencentes ao gênero *Annona*, tais como: pinha, fruta-de conde, pinha-azeda, graviola (Heusden, 1992).

Pesquisas científicas demonstram que o gênero *Annona* produz diversos metabólitos com propriedades biológicas, tais como: antioxidante e leishmanicida, e até em alguns casos evidenciam a utilização desses constituintes como matérias-primas para insumos cosméticos e perfumaria. (Silva, et al., 2016; Zafra-polo et al., 1996; Lummen, 1998).

Tendo em vista que o gênero *Annona* possui muitas espécies que produzem substâncias promissoras, a espécie *Annona amazonica* destaca-se devido à presença do diterpeno ácido acantoico **(AA) (FIGURA 1)**, presente no caule da planta, sendo essa espécie uma importante fonte natural renovável do ácido, como descrito por (Pinheiro et al., 2009). Essa substância possui muitos relatos que apontam para ações anti-inflamatória e tripanocida contra as formas epimastigota de *Trypanosoma cruzi*.

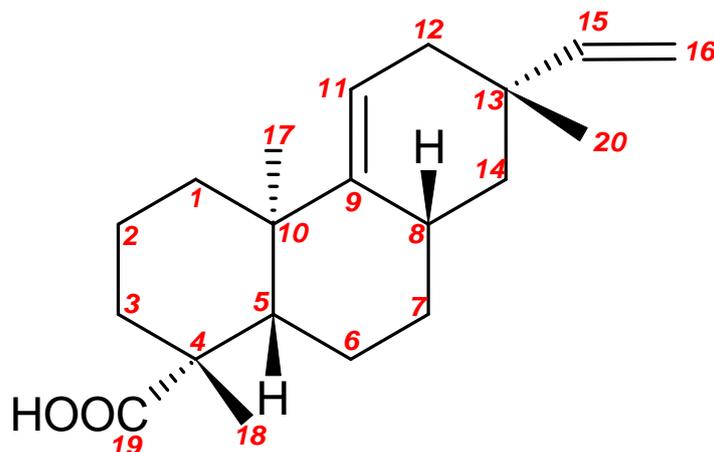


FIGURA 1 - Estrutura química do ácido acantoico.

O **(AA)** é o componente majoritário do extrato hexânico do caule de *A. amazonica*. A substância possui um esqueleto químico contendo uma olefina terminal (C16), além de uma ligação insaturada endocíclica (C11). Além disso, tem a presença do grupo funcional ácido carboxílico em (C19). Todas estas funções podem ser transformadas, a exemplo de reações de adição, substituição, eliminação entre outras. Sabe-se que existem muitas funções que potencializam atividades biológicas, dentre elas pode-se citar as funções oxigenadas, nitrogenadas e halogenadas, as quais encontram-se presentes em vários compostos dispersos entre as áreas de alimentos, farmacêutica e agroquímica. (Souto et al., 2020; Finatto et al., 2013).

Com dados encontrados na literatura em consonância com o estudo realizado neste trabalho, confirmou-se a estrutura do **(AA)** isolado da espécie *A. amazonica* através dos deslocamentos químicos (δ) pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C . Por meio dos resultados espectrais obtidos e da estrutura química elucidada, observou-se que a estrutura química do **(AA)** é propícia a reações para inserção de heteroátomos e acoplamentos, possibilitando a geração de derivados com possíveis potenciais biológicos. Devido à alta aplicação das funções orgânicas oxigenadas e halogenadas, bem como de produtos glicosilados, como relatados por (Sable, 2022; Yang, et al., 2020; Barbosa et al., 2009) optou-se por uma proposta de síntese de derivados do ácido acantoico contendo esses tipos de modificações. As reações realizadas com **(AA)** neste trabalho foram epoxidações, halogenações, especificamente clorações, bromações e iodações, e a inserção de açúcares monossacarídeos. No entanto apenas o derivado da epoxidação, obteve a elucidação e o teste biológico feito

por meio da enzima acetilcolinesterase (AChE), os demais derivados obtidos, apresentaram uma complexa matriz de separação, para serem purificados por CCDP, portanto com relação aos compostos halogenados só foi identificado os íons moleculares por (EMAR) com derivado de bromo.

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Transformar o ácido acantoico (AA) em novos derivados oxigenados, halogenados e glicosilados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar e purificar o ácido acantoico de *A. amazonica*.
- Realizar reações de epoxidação, halogenação e redução do grupo carboxila do ácido acantoico.
- Acoplar bloco de açúcar - monossacarídeo ao ácido acantoico (AA).
- Avaliar os derivados formados com teste biológico com a enzima acetilcolinesterase (AChE).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 FAMÍLIA ANNONACEAE

Annonaceae é uma família que tem distribuição pantropical, possui plantas com características lenhosas e porte arbóreo médio (Heusden, 1992). As anonáceas estão distribuídas em 40 gêneros e 900 espécies na região neotropical. Sauquet et al. (2003) identificaram cerca de 2.500 espécies nessa família, e no Brasil a família é representada por 29 gêneros e 386 espécies, sendo essas espécies bastante encontradas na região amazônica e na Mata Atlântica (Maas et al., 2013).

A família Annonaceae possui espécies que produzem frutos comestíveis bastante cultivados em pomares comerciais e coletados de forma extrativista, como é o caso da graviola (*Annona muricata* L.) (**FIGURA 2**), o araticum (*Annona cacans*), a fruta do conde (*Annona squamosa* L.) e cherimólia (*Annona cherimola* Mill.). Esses frutos possuem constituintes aromáticos, com sabor agradável, doce e pouco ácido (Mosca et al., 2006). Vale ressaltar que as espécies das anonáceas são adaptáveis a diferentes condições climáticas, úmidas e quentes, em zonas especificamente tropicais, e apresentam bom índice de produção, sendo adquiridas comercialmente pela boa rentabilidade alcançada pelo mundo (José et al., 2014).

3.1.1 Gênero *Annona*

Atualmente, existem 118 espécies no gênero *Annona*, das quais 108 são nativas da América tropical, sendo 10 nativas da África. *Annona* é considerado o principal gênero desta família. Das espécies citadas, apenas 13 produzem frutos comestíveis, das quais 9 são cultivadas, 5 são de grande valor econômico, e 3 se destacam no mercado popular (graviola, fruta-do-conde e cherimólia) (José et al., 2014). Estes frutos são bastante apreciados e reconhecidos na medicina popular devido aos seus efeitos benéficos contra a diabetes, malária e infecções (Sousa et al., 1991).

O gênero possui muitas espécies que produzem metabólitos secundários que são responsáveis pelas atividades biológicas mencionadas, como os alcaloides, isolados em boa parte das plantas. Todavia, sabe-se que essas ações biológicas estão associadas também a outros tipos de substâncias

naturais, como as acetogeninas (ACGs), as quais são isoladas de todas as partes das plantas pertencentes à família Annonaceae e também ao gênero *Annona* (Alali et al., 1999; Lima et al., 2012).

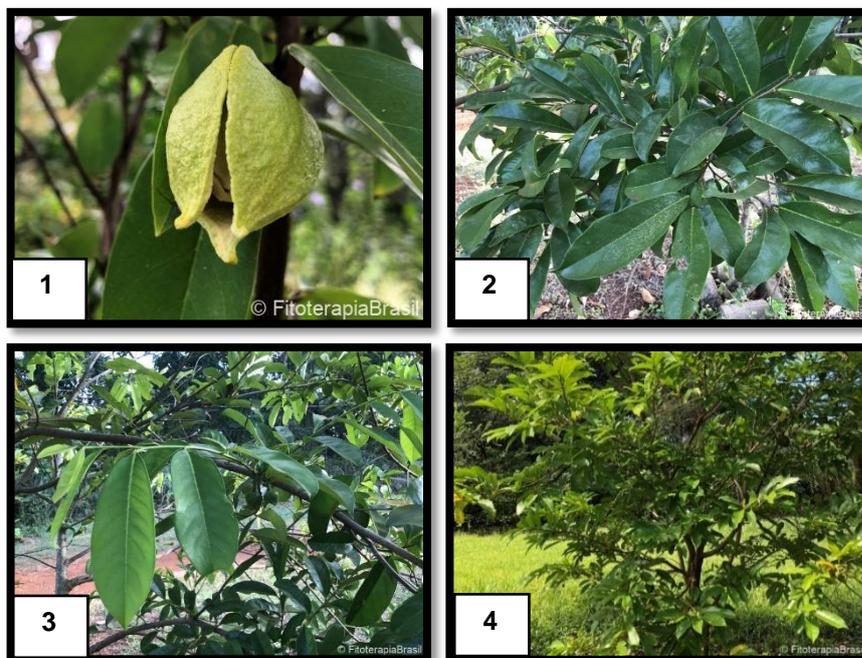


FIGURA 2 - Fotografias de graviola (*Annona muricata*) 1. Fruto; 2. Folhas; 3. Folhas e seus respectivos frutos imaturos; 4. Árvore.
Fonte: <https://fitoterapiabrasil.com.br/planta-medicinal/170/galeria>
Acessado em: 10/02/2022.

O gênero *Annona* possui alguns tipos de monoterpenos encontrados na grande maioria nos óleos essenciais de suas espécies, tais como: β -pineno, (*E*)-cariofileno; e sesquiterpenos como germacreno D e biciclogermacren. (Costa et al., 2012; Costa et al., 2013). É bastante comum encontrar os diterpenos do tipo ent-kaurano neste gênero, e vale lembrar que estes são considerados seus marcadores quimiotaxonômicos (Cruz, 2011).

3.2 *Annona amazonica* R. E. Fr.

Annona amazonica é uma espécie botânica que possui flores muito pequenas com conatas externas e pétalas internas. A árvore é de porte médio, com medidas de 20 a 25 metros de altura e 35-60cm de diâmetro. (**FIGURA 3**) (Maas et al., 2007).



FIGURA 3 - Fotografias de *Annona amazonica*. 1. Árvore; 2. Folhas; 3. Galhos
Fonte: <https://floracostaricensis.myspecies.info/taxonomy/term/20680/media>
Acessado em: 11/01/2022.

Estudos científicos constataram atividades antimicrobiana, analgésica, antialérgica, anti-inflamatória, citotóxica e inseticida nos óleos essenciais das folhas dessa espécie, e nos galhos foram relatadas ações sedativa e acaricida (Alcântara, 2015). Esta espécie possui uma grande diversidade de metabólitos secundários conhecidos, dos quais pode-se destacar o ácido acantoico (**FIGURA 1**), liriodenina (**A**), cassitina (**B**), óxido de cariofileno (**C**), esteroides, β -sitosterol e estigmasterol (**D**) (**FIGURA 4**), e por fim a presença de ésteres metílicos monoinsaturados, e o ácido oleico. Todas essas substâncias foram isoladas em extratos da espécie *Annona amazonica*, sendo **AA** o constituinte majoritário dos caules desta espécie. Portanto, essa espécie configura-se como uma fonte renovável do **AA** (Pinheiro et al., 2009). Esta substância é um diterpeno com esqueleto pimaradieno, de nome IUPAC ácido (-)-pimara-9(11)15-dien-19-oico (PubChem CID: 9861219; CAS: 119290-87-8), com fórmula molecular de $C_{20}H_{30}O_2$. Segundo as bases de dados *Science Direct*, *Scopus*, Periódicos Capes, o **AA** apresenta um grande número de relatos de atividades

biológicas descritas, e até mesmo pode ser isolado de outras fontes naturais, como nas espécies *Acanthopanax koreanum* Nakai e *Croton oblongifolius* Roxb., descrito por Yao et al. (2017), Dou et al. (2022), Kim et al. (1988) e Suwancharoen et al. (2010).

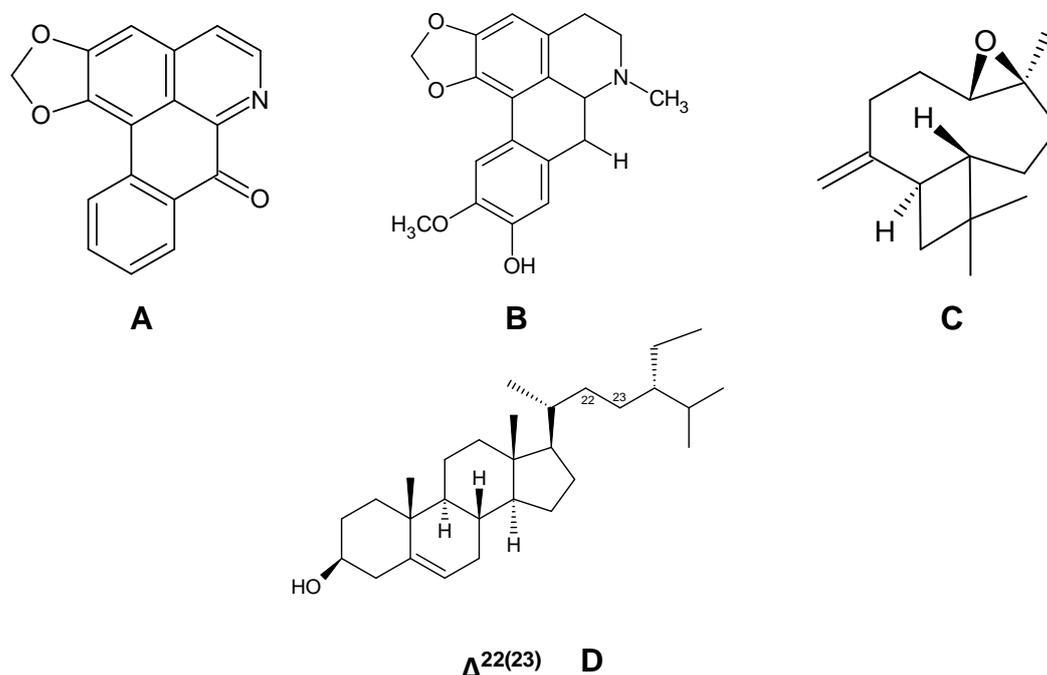


FIGURA 4 - Constituintes presentes em *Annona amazonica*

3.2.1 Ácido acantoico

O Ácido acantoico (**AA**) (**FIGURA 1**) é um ácido carboxílico do tipo diterpeno pimaradieno. O primeiro relato de isolamento dessa substância (**AA**) foi descrito por Kim et al. (1988), a partir da casca da raiz da espécie *Acanthopanax koreanum* (Araliaceae), logo depois, detectaram a presença de (**AA**) nas espécies *Mikania sp.*(Asteraceae), *Rollinia pittieri*, *R. exsucca* (Annonaceae) e *Annona amazonica* (Nunez et al., 2004; Pinheiro et al., 2009).

Desde a descoberta dessa substância, foram feitos estudos que relataram atividades biológicas, incluindo a melhora da resolução de fibrose hepática, atividade anticancerígena, antidiabética, proteção hepática, proteção gastrointestinal, proteção cardiovascular, melhora da lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeos, e por fim, ações anti-inflamatórias, assim como foram feitos estudos no (**AA**) com mecanismos moleculares. (Dou et al., 2022; Qiushi et al., 2015; Theodorakis et al., 2014).

Após essas evidências biológicas, surgiram também estudos sobre transformações moleculares e seus respectivos potenciais biológicos. As principais transformações químicas de **(AA)** relatadas envolvem a inserção de grupos funcionais como aminas **(E)**, ésteres **(F)**, haleto de ácido carboxílico **(G)** cetonas **(H)**, e além da incorporação de olefinas, sendo essas transformações específicas em (C13-C18 do esqueleto pimaradieno **AA**) (Kasemsuk et al., 2021; Dou et al., 2022). Existem outros estudos relacionados a transformações no **AA**, como é o caso da biotransformação feita no **AA** por meio do fungo, do tipo *Xylaria* sp. Este fungo mostrou ter um potencial para ser um agente de hidroxilação e o produto gerado foi o ácido 3,7-diidroxiacantoico. (Costa et al., 2019). Por meio desses dados encontrados na literatura constatou-se que o **AA** é uma substância promissora para o desenvolvimento de novos derivados biologicamente ativos. Na **(FIGURA 5)** encontram-se alguns derivados que já foram desenvolvidos por estudos científicos.

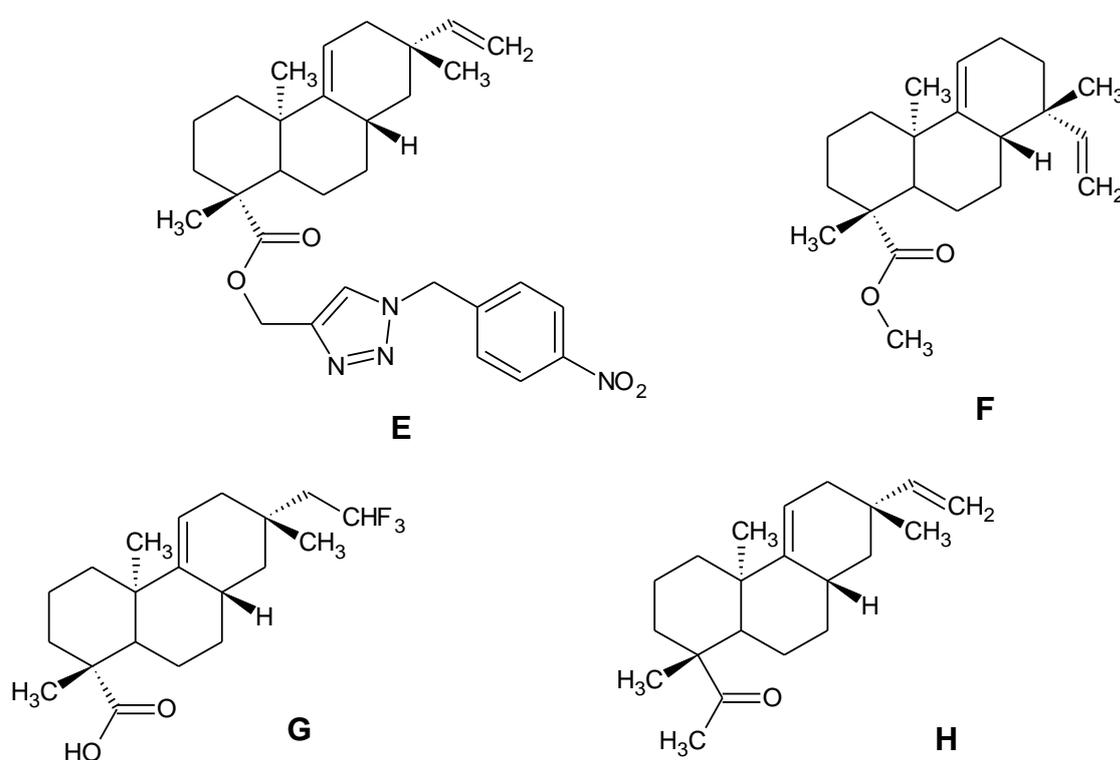


FIGURA 5 - Derivados do **(AA)** provenientes de transformações moleculares (Dou et al., 2022; Kasemsuk et al., 2021)

3.3 TERPENOS E DITERPENOS

Os terpenos, constituem a maior classe de produtos naturais com mais de 55.000 compostos conhecidos (Chang et al., 2010). Com base nos estudos de (Oz et al. 2015), alguns terpenos proporcionam às plantas odores e sabores característicos, enquanto outros terpenos são impalatáveis, repelem insetos e herbívoros, e outros atraem predadores do herbívoro; também inibem o crescimento de fungos e parasitas e atraem abelhas para a polinização. Sell (2000) descreve que o isopreno é a base destas substâncias, sendo assim, a quantidade de átomos de carbono presentes em sua composição é sempre múltipla de cinco. Os terpenos são formados por unidades de isopreno e sua classificação irá depender da quantidade de isoprenos que a molécula possui. As subclasses de terpenos são: monoterpenos (10C), sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), sesterterpenos (25C), triterpenos (30C) e tetraterpenos (40C). Alguns terpenos apresentam ligações duplas carbono-carbono, e são classificados como hidrocarbonetos insaturados, e se possuem oxigênio, são denominados terpenoides (Loomis e Croteau, 1980).

Os óleos essenciais terpênicos são formados por mono, sesqui, di e triterpenos. Os tetraterpenos formam resinas e látex. Os óleos essenciais dos terpenos possuem propriedades antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiparasitária, inseticida, anticancerígena, antiespasmódica, anti-hiperglicêmica, antialérgica, anti-inflamatória, imunomoduladora e sensorial atribuídos ao efeito terapêutico desempenhado pelas plantas medicinais que são encontrados em cerca de 90% dos óleos essenciais extraídos de diversas partes das plantas, tais como raízes, caules, folhas, flores e sementes, bem como na casa e entrecasca de caules (Almeida et al., 2011).

Os diterpenos são formados por quatro unidades de isopreno (C₂₀), muito diversos estruturalmente de planta a planta, então, cada planta produz determinados diterpenos. Alguns desses atribuem resistência e combate a pragas ou agentes patogênicos. (Schewe et al., 2011).

Os diterpenos estão amplamente distribuídos no reino dos organismos naturais e foram classificados em diferentes subgrupos de acordo com seu esqueleto de carbono produzido pelo arranjo diferente do pirofosfato de geranylgeranyl (GGP) que é o precursor de todos os diterpenos. Os diterpenos

pimaranos são formados biossinteticamente a partir da conversão do GGP no cátion (+) – copalil e este, por sua vez, no cátion sandaracopimarenil. (Reveglia et al., 2018). Vale ressaltar que os diterpenos pimaranos são frequentemente produzidos por plantas e fungos, mas raramente por bactérias, insetos e organismos marinhos, com atividades biológicas interessantes, juntamente com aplicações potenciais na agricultura e na medicina. (Reveglia et al., 2018)

Entre os diterpenos, os diterpenos pimarânicos são um subgrupo muito representativo com várias e interessantes atividades biológicas resultantes de diferentes modificações de grupos funcionais. (Reveglia et al., 2018)

Extratos vegetais e óleos essenciais contendo diterpenos são amplamente utilizados como incenso cerimonial, medicamentos tradicionais, fragrâncias, sabores e biomateriais; e que cujas aplicações na sociedade geram um comércio que fatura bilhões de dólares anualmente (Zerbe e Bohlmann, 2015).

Estudos atuais relatam o desenvolvimento de fármacos a base de diterpenos para o tratamento de uma ampla gama de condições médicas (Da Rocha et al., 2020). Pesquisadores como Romero (2007), e Veiga Junior (2002) observaram que entre os diterpenos especializados mais representativos, destacam-se: ácido copálico, ácido caurenico, ácido colavênico, colavenol, ácido hardwickiico, ácido poliáltico ácido ent-agático e ácido patagônico.

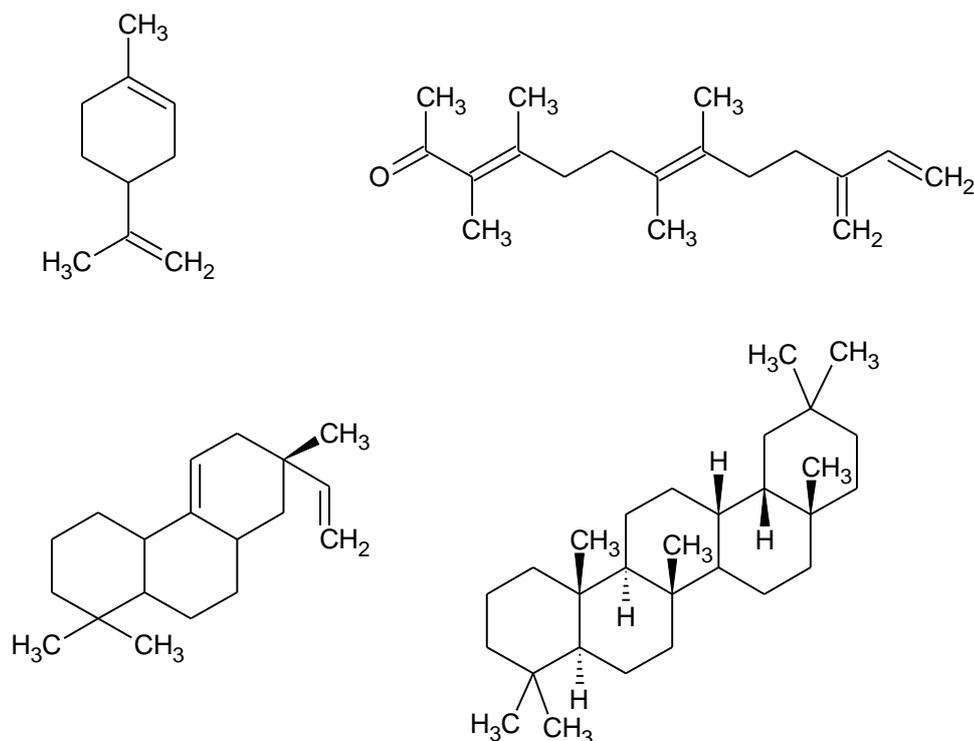


FIGURA 6 - Exemplos de diterpenos encontrados em produtos naturais

3.4 SEMISSÍNTESE

O processo de semissíntese que utiliza produtos naturais é fundamental para a descoberta de novos derivados. O estudo e a inovação de novos métodos sintéticos e semissintéticos, bem como as biotransformações, têm disponibilizado uma ampla gama de medicamentos no mercado para combater doenças, incluindo a malária (Montoia, 2013).

De acordo com Sheng e Sun (2011), a semissíntese visa a obtenção de um novo composto que possui melhor afinidade pelo farmacóforo escolhido, para reduzir a toxicidade e melhorar características físico-químicas como solubilidade, pH, lipofilicidade, retardo da metabolização, entre outros. Através da semissíntese, é possível desenvolver moléculas mais ativas que os compostos de partida, de baixo custo e menos tóxicas (Oliveira et al., 2012).

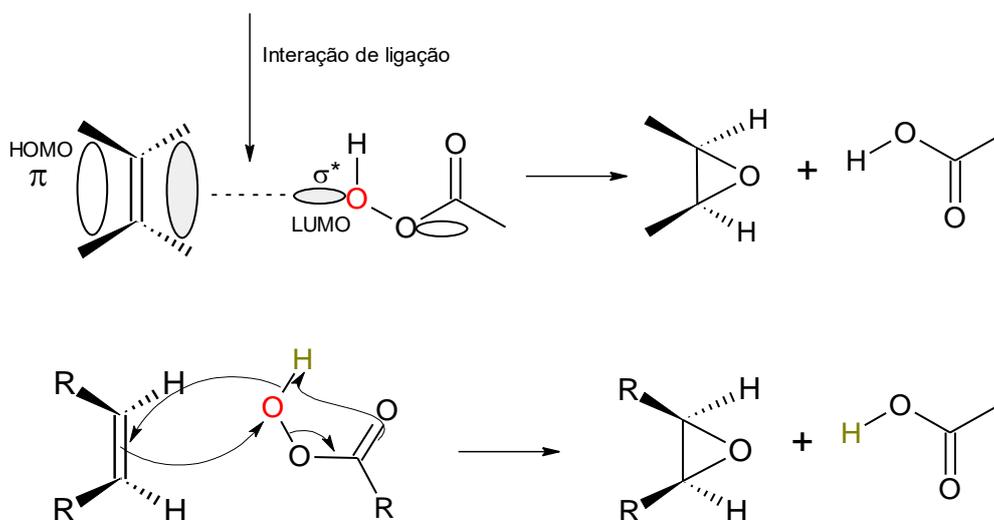
Diversas mudanças podem ser feitas em uma molécula e, dependendo de seus centros reativos, três caminhos diferentes podem ser seguidos, sendo eles, a simplificação da estrutura, a variação de substituintes e a adição de novos grupos (Gontijo et al., 2011). Dentre eles, os dois últimos são os mais comuns em química orgânica sintética, que são as reações de adição com heteroátomos,

acilação, eliminação, redução entre outras (Castanheiro et al., 2007; Ferreira, I., 2012).

3.4.1 Reações de epoxidação

Epóxidos ou oxiranos são éteres cíclicos de três membros, utilizados como intermediários versáteis em síntese orgânica devido à polaridade e à tensão do anel de três membros, e além disso tornando-os suscetíveis a reações com um grande número de nucleófilos (Von Holleben e Schuch., 1997). A alta reatividade permite a transformação de epóxidos em compostos multifuncionalizados como descritos por (Rocha et al., 2004) e Wilson (2017).

Com base em Allain et al. (1993), os reagentes epoxidantes são responsáveis pela introdução de um átomo de oxigênio a uma ligação dupla carbono-carbono formando um epóxido. Um dos métodos mais comuns de epoxidação consiste na reação de um composto insaturado com um peróxido, onde ocorre a adição sin de um oxigênio à ligação dupla (Cruz et al., 2022; Santin, 2008; Antunes, 2017; Herman, 2001). O reagente epoxidante mais utilizado é o peróxido de hidrogênio, mas é necessário ativá-lo para reagir com uma olefina devido sua baixa eletrofilicidade (Von Holleben e Schuch., 1997). Uma alternativa é o uso de perácidos, que são capazes de transformar olefinas em epóxidos, em um mecanismo concertado (**ESQUEMA 1**).



ESQUEMA 1 - Mecanismo de epoxidação mediada por perácidos. Adaptado de Clayden, Greeves & Warren, 2012.

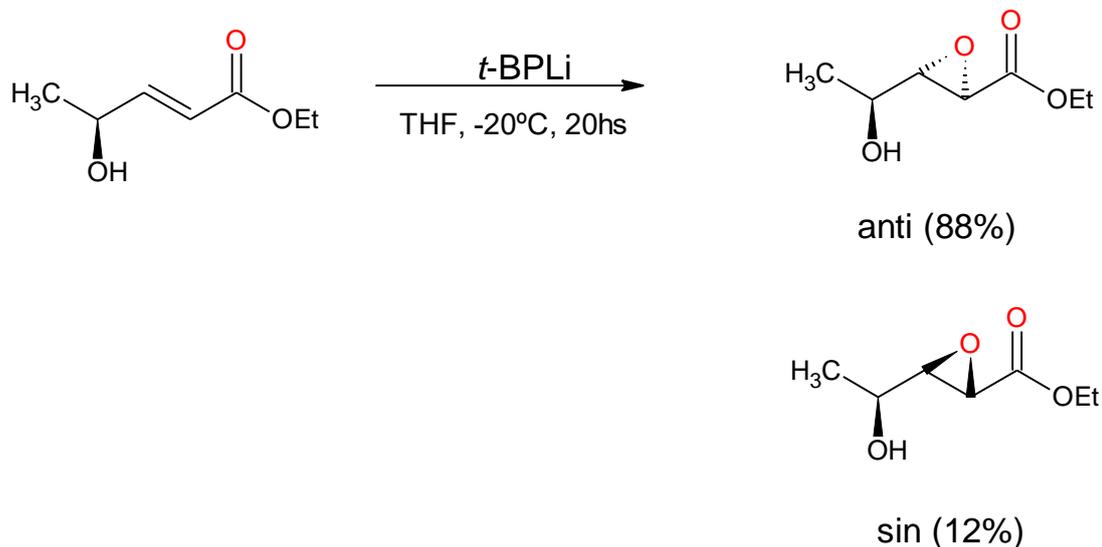
Comumente, são utilizados os perácidos alifáticos, como os ácidos perfórmico, peracético, trifluorperacético, monopermaleico e persuccínico (Lehnen, 2011). Em escala de laboratório, o perácido mais comumente utilizado é o ácido 3-cloroperbenzoico (*m*-CPBA). Industrialmente, os epóxidos são preparados através da reação de Prilaschajew, onde utiliza-se o meio ácido para a ativação do carbono carboxílico do ácido acético e a adição de peróxido de hidrogênio para a formação do ácido peracético. Por fim, o perácido irá atacar as duplas ligações formando o epóxido desejado (Lehnen, 2011).

Jorgensen (1989) explica que a epoxidação é de grande importância em síntese orgânica, pois os epóxidos formados são intermediários que podem ser transformados em uma variedade de produtos. De acordo com Cruz et al. (2022), a utilização da epoxidação para a obtenção de lubrificantes biodegradáveis de maior estabilidade térmica faz com que essa reação seja de grande importância para a indústria oleoquímica. A síntese dos epóxidos possui rotas variadas, e dentre estas pode-se destacar as vias por perácidos e a epoxidação nucleofílica que são as mais utilizadas em laboratórios de síntese orgânica (Farias, 2010).

3.4.2 Epoxidação nucleofílica

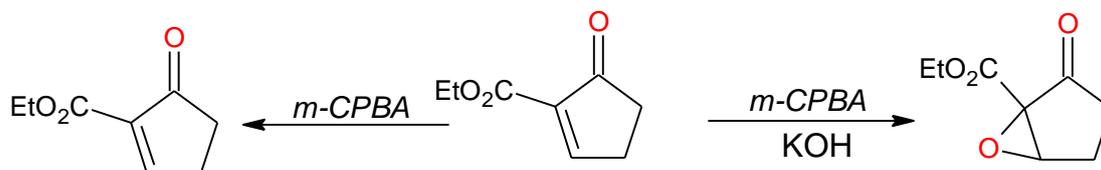
De acordo com Haines (1985), a epoxidação nucleofílica é um método eficaz para produzir epóxidos a partir de compostos α,β -insaturados contendo ligações duplas conjugadas a grupos retiradores de elétrons. Esse processo é realizado utilizando reagentes nucleofílicos em meio alcalino. Além disso, essa técnica tem se mostrado especialmente útil na obtenção de epóxidos a partir de aldeídos, nitrocompostos e cetonas.

Esse tipo de epoxidação é caracterizada pela interação entre íons hidroperóxido e olefinas eletrodeficientes (Slayden et. al, 1993). Essa transformação também pode ser chamada de epoxidação alcalina nucleofílica ou epoxidação Weitz-Scheffer. Nos esquemas **2** e **3** observamos epoxidações nucleofílicas diasterosseletivas de ésteres α,β insaturados.



ESQUEMA 2 - Epoxidação nucleofílica de ésteres α - β insaturados catalisada por terc-butilperóxido de lítio.

Fonte: (Bitencourt., 2006)



ESQUEMA 3 - Epoxidação nucleofílica catalisado em meio alcalino

Fonte: (Bitencourt., 2006)

3.4.3 Reação com *N*-halossuccinimidas

O método mais comum de halogenação na química é através da adição dos halogênios em sua forma elementar, especificamente Cl_2 , Br_2 e I_2 , com água na presença de calor (Saikia, Borah & Phukan, 2016). Todavia, existem outras alternativas de halogenação, dentre as quais podemos citar o uso de *N*-haloamidas. As *N*-haloamidas são um grupo bastante utilizado na área de síntese orgânica, devido à possibilidade de fornecer os halogênios facilmente como grupos de saídas eletrofílicos ou radicalares. Além do mais, este grupo apresenta vantagens, como proporcionar quimio e enantiosseletividade, permite mono-halogenação e funcionalização com outro nucleófilo (Furst., 2020). E uma das classes desse grupo são as *N*-halossuccinimidas (Mendonça & Mattos, 2008).

As *N*-halossuccinimidas são formadas por um heterociclo de nitrogênio de 5 membros, estando o nitrogênio deficiente em elétrons pois encontra-se ligado a dois grupos carbonílicos. A eletrofilia dos halogênios nessas espécies se dá

pela ligação com o átomo de nitrogênio que é vizinho a carbonila, na qual aumenta o caráter eletronegativo, e deixa a ligação N-X mais polarizada. (Mendonça & Mattos, 2008).

Essa classe é bastante conhecida e de fácil acesso, sendo a *N*-clorosuccinimidas (NCS) **(A)**, a *N*-bromossuccinimida (NBS) **(B)** e a *N*-iodossuccinimidas (NIS) **(C)**, os compostos representativos desta classe **(FIGURA 7)** (Mendonça & Mattos, 2008).

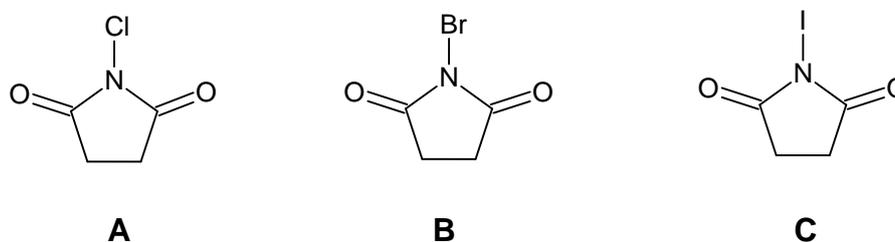


FIGURA 7 - N-Halossuccinimidas

Estudos recentes relatam o uso desses reagentes devido às reações serem mais simples e econômicas, fornecendo vários tipos de derivados com halogênios, os quais podem ser posteriormente testados com relação às suas propriedades na estrutura alvo, como desenvolvido por Yang e colaboradores (2020).

3.5 REAÇÕES RADICALARES

Os radicais livres são espécies químicas caracterizadas pela presença de um elétron desemparelhado. Eles podem ser considerados fragmentos de moléculas e são conhecidos por sua alta reatividade. Esses radicais são continuamente produzidos nas células, seja como subprodutos acidentais do metabolismo ou deliberadamente durante processos como a fagocitose. Na bioquímica dos radicais livres em células aeróbicas, os reagentes mais importantes são o oxigênio e seus derivados radicais (superóxido e radical hidroxila), além do peróxido de hidrogênio e metais de transição (Cheeseman e Slater, 1993).

Com base no trabalho de Cheeseman e Slater (1993), pode-se afirmar que existem três formas pelas quais os radicais livres podem ser formados: por meio da clivagem homolítica de uma ligação covalente em uma molécula normal, onde cada fragmento retém um dos elétrons emparelhados; pela perda de um

único elétron de uma molécula normal ou pela adição de um único elétron a uma molécula normal. A transferência de elétrons, que é a última forma mencionada, é um processo muito mais comum em sistemas biológicos do que a clivagem homolítica, que geralmente requer altas temperaturas, luz ultravioleta ou radiação ionizante para ocorrer.

A maioria das moléculas orgânicas e solventes reage com essas moléculas altamente reativas. Quando as barreiras de reação são altas, os radicais persistentes tendem a ser mais seletivos e reagem apenas por meio de reações cruzadas. Por outro lado, os radicais transitórios possuem barreiras de reação menores, o que os torna menos seletivos. Por sua vez, a estabilidade dos radicais está relacionada à termodinâmica e depende da estrutura eletrônica do radical. (Romero et al., 2018; Studer e Curran, 2016; Fischer, 2001).

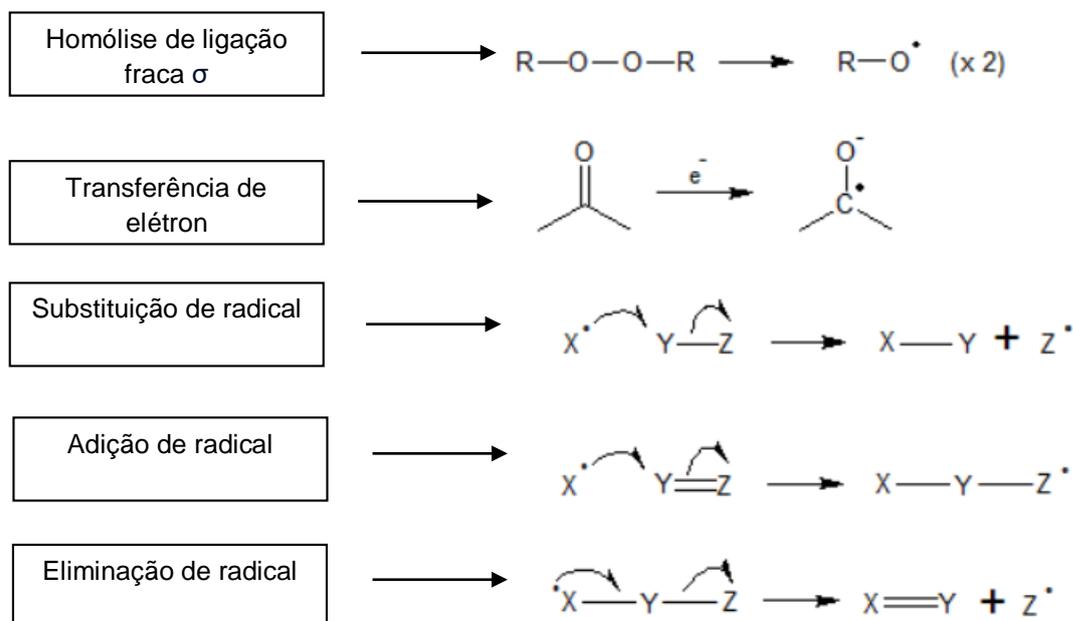
Sendo assim, as reações radicalares de acordo com Balraju et al. (2005) se tornaram uma ferramenta importante na síntese orgânica, principalmente as reações de carbociclização mediadas por hidretos de tri-organoestanho, que têm sido extensivamente aplicadas para a construção de anéis de cinco e seis membros.

Nas reações radicais, ocorre a quebra homolítica das ligações, em que um elétron segue para uma direção e o outro elétron para outra. Os radicais resultantes possuem um número ímpar de elétrons, sendo que um del

es permanece desemparelhado. Sendo assim, isso confere alta reatividade a esses radicais, tornando-os geralmente incapazes de serem isolados. Mesmo ligações fortes podem ser quebradas em íons quando polarizadas, porém, para formar radicais, são necessárias ligações fracas e simétricas, como O-O, Br-Br ou I-I. No caso do peróxido de dibenzoíla, o catalisador $\text{Ph}(\text{CO}_2)_2$, ele prontamente sofre homólise, representada pelas setas de "anzol" com uma farpa, indicando os movimentos dos elétrons, e os elétrons desemparelhados em átomos são representados por pontos. (Clayden, 2012)

As vantagens desse tipo de reação incluem condições de reação leve, alta quimiosseletividade e tolerância a diversos grupos funcionais. Normalmente, os radicais anômeros são mais nucleofílicos do que os radicais carbocíclicos normais, devido às interações com o par de elétrons não ligantes no átomo de oxigênio do anel. Sendo assim, o radical σ axial é mais estável e mais nucleofílico do que o correspondente radical σ equatorial. Dessa forma, o radical anômero

interage, por meio de sua alta SOMO, com o LUMO de um alceno pobre em elétrons ou aromático (Togo et al., 1998). No **ESQUEMA 4** observa-se a formação de radicais através de moléculas de pares spins.



ESQUEMA 4 - Mecanismos de reações radiculares (Clayden et al., 2012)

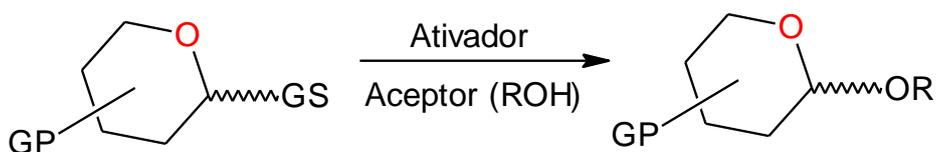
3.6 REAÇÕES DE GLICOSILAÇÕES

A busca de novas substâncias, com potencial de serem ativas biologicamente, desponta como uma importante alternativa medicamentosa, possibilitando explorar novas moléculas terapêuticas (Fuentefria., 2016). E uma boa quantidade de moléculas ativas vem sendo obtida a partir da síntese orgânica, como é o caso dos compostos glicosídeos. (Lima et al., 2006). As reações para formação dos compostos glicosídeos, são as glicosilações, que estão entre as promissoras, atraentes e desafiadoras para transformações químicas que podem ser realizadas a partir de substâncias naturais.

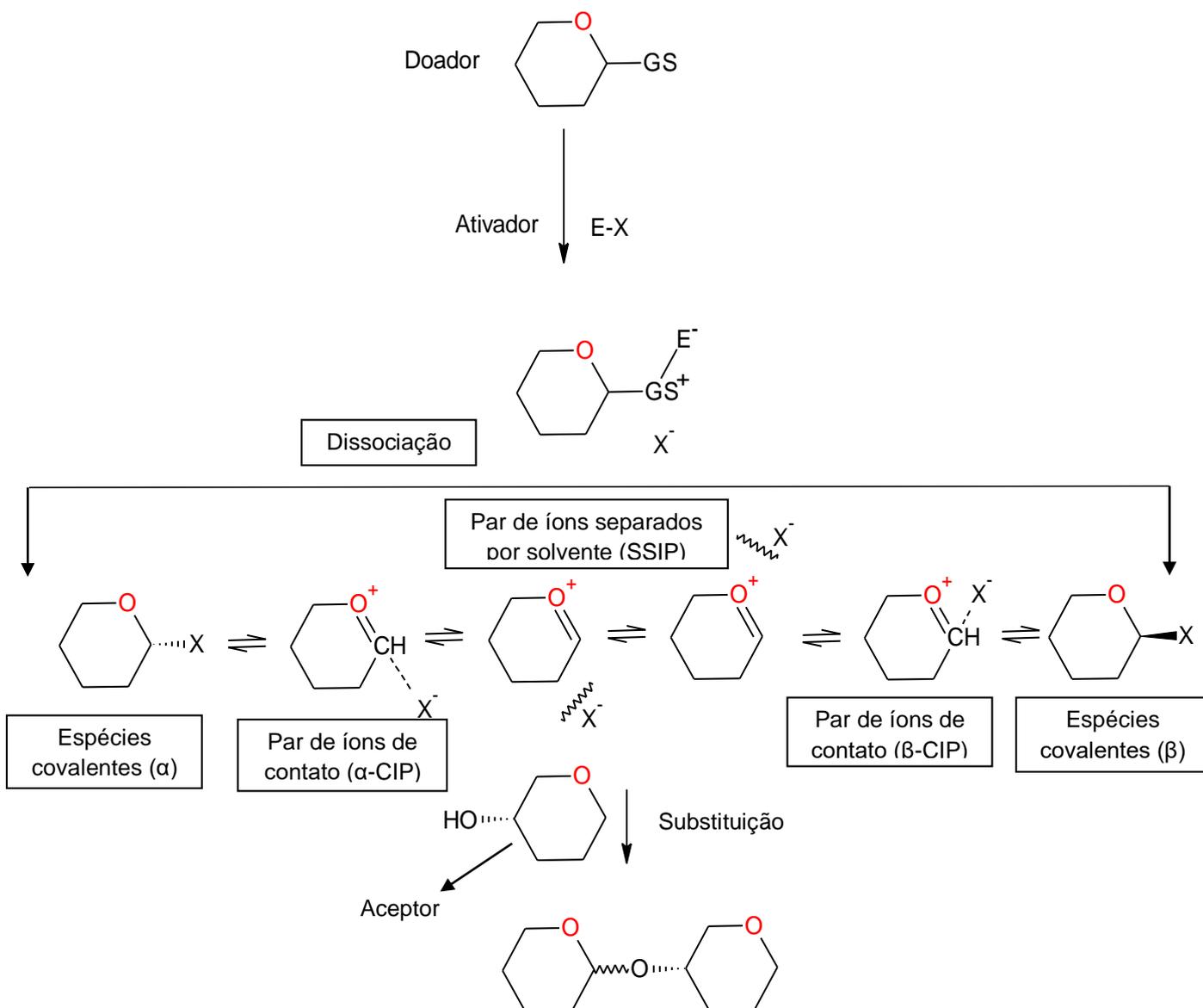
A reação de glicosilação é caracterizada pela presença de um doador de glicosila, que é ativado para fornecer uma espécie eletrofílica capaz de reagir com uma molécula simples ou complexa, como acceptora nucleofílica (Souza et al., 2021; Crich, D., 2010). Na glicosilação química, o doador de glicosila pode possuir grupos protetores que têm a função de desativar temporariamente os grupos hidroxila dos carboidratos reativos e evitar reações colaterais, e um grupo de saída na posição anomérica (Souza et al., 2021; Komarova et al., 2014).

Biologicamente, as glicosilações representam um processo bioquímico muito comum, catalisado por mais de 80 famílias de glicosil transferases. Considerando o metabolismo secundário, são conhecidos mais de 100.000 produtos naturais de origem vegetal, e uma proporção considerável destes produtos naturais encontra-se glicosilada (Polkowski et al., 2004).

Segundo (Souza et al., 2021; Nigudkar, S & Demchenko, A, 2015) a proposta de mecanismo para esse tipo de reação ocorre geralmente por via S_N1 , na qual a orientação do grupo de saída (GS) no centro anomérico é de pouca importância. Todavia, as reações de glicosilação seguem um mecanismo similar a S_N2 com inversão da configuração anomérica. Com relação a estereosseletividade deste tipo de reação, ela depende de tais fatores: catalisador, da densidade eletrônica na região anomérica; do grupo de saída e de grupos anquiméricos; o meio reacional relacionado a solvente, temperatura, pressão e volume; o mecanismo reacional, ocorrendo por substituição nucleofílica unimolecular (S_N1) ou bimolecular (S_N2), dependendo da estabilidade termodinâmica e cinética do composto; definindo assim a configuração anomérica. No **ESQUEMA 5** e **6** observamos o tipo de mecanismo geral de reações de glicosilações.



ESQUEMA 5 - Reação de Glicosilação (Souza et al., 2021).



ESQUEMA 6 - Mecanismo geral da reação de glicosilação (Souza et al., 2021).

A inserção de açúcares em produtos naturais diversos é de bastante interesse, pois fornece melhorias nas propriedades farmacológicas das substâncias, como por exemplo o aumento da hidrossolubilidade e biocompatibilidade, redução de toxicidade, e por fim, o reconhecimento e a interação molecular com biomoléculas importantes no curso do processo farmacodinâmico (Kren et al., 2001). Em muitos casos de reações com substâncias glicosiladas, a resposta biológica é dependente da presença do açúcar na estrutura do produto natural (Huang et al., 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 GERAL

O trabalho experimental envolvendo as reações químicas, purificações e o ensaio biológico com enzima AChE foi desenvolvido no Laboratório de Abertura de Amostras e Ensaio Químicos – LAEQ – da Central Analítica, Setor Norte, UFAM. Os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos das marcas Sigma Aldrich, ACS Científica, Vetec Química Fina, Neon, Êxodo Científica, Qhemis, Synth, e empregados da forma como adquiridos sem prévio tratamento. O extrato hexânico do caule da *Annona amazonica* (EHCAA), na qual foi feito o isolamento do **AA** foi fornecido pelo Dr. Prof Emmanoel Vilaça Costa do Laboratório de Produtos Naturais Q-Bioma do Departamento de Química da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas em espectrômetro de ressonância magnética nuclear do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear – NMRLab – da Central Analítica da UFAM. Marca: Bruker Avance IIIHD com frequência para o átomo de hidrogênio em 500,13 MHz e equipado com uma sonda BBFO Plus SmartProbe. Os deslocamentos químicos foram expressos em (δ) e as constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hz. Para a manipulação dos espectros de RMN foi utilizado o programa MestRENOVA 12.0.4.

As análises por espectrometria de massas foram realizadas em espectrômetro de massas do Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas – LABCEM – da Central Analítica da UFAM, marca: LCQ Fleet (ThermoScientific) com analisador de massas do tipo íon-trap equipado com uma fonte de APCI para aquisição de dados no modo positivo e negativo. Para a manipulação dos espectros de massas foi utilizado o programa Xcalibur.

As análises por espectrometria de massas de alta resolução foram realizadas em espectrômetro de massas do Laboratório Temático de Produtos Naturais - LTQPN da Central Analítica do INPA, marca: Bruker, com analisador de ionização APCI - TOF - MS, no modo negativo e positivo.

As purificações foram realizadas através de métodos cromatográficos, especificamente cromatografia líquida em coluna clássica (CC) e cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP).

A cromatografia em camada delgada foi realizada em cromatofolhas alumínio de tamanho 20×20cm, marca Macherey-Nagel, sílica-gel 60 com indicador de fluorescência PF254, e as revelações das placas foram feitas com revelador universal de vanilina sulfúrica. A cromatografia em camada delgada preparativa foi desenvolvida em cromatoplasmas de vidro de tamanho 10×20cm, marca Macherey-Nagel.

4.2 MÉTODOS

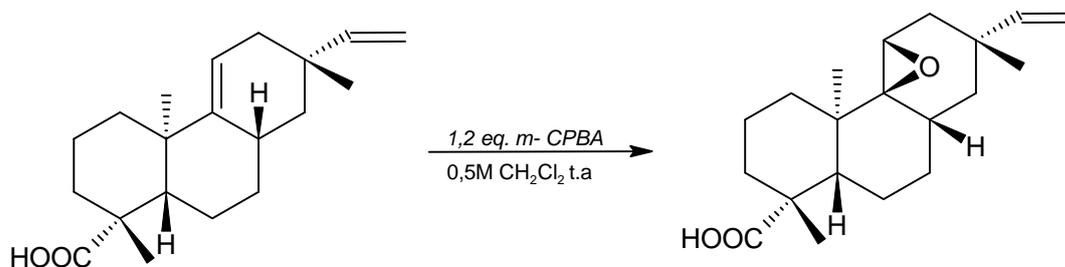
4.2.1 REAÇÕES DE EPOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO

A reação de epoxidação (**ESQUEMA 7**) seguiu o procedimento descrito por Lee et al. (2020) com modificações. Depositou-se 0,100 g (0,3305 mmol) de **AA** em um balão de fundo redondo de 25 mL. Logo em seguida, adicionou-se 0,0680 g (0,4311 mmol) de *m*-CPBA (Sigma Aldrich), e por fim adicionaram-se 4 mL de DCM ao balão. A reação foi mantida sob agitação magnética em temperatura ambiente, sendo monitorada por CCD a cada 30 minutos por 2 horas. Após o término da reação, o produto bruto foi concentrado e purificado por CCDP, eluente, Hex:AcOEt (7:3, v:v). Todas as reações de epoxidação seguiram esta metodologia, alterando-se apenas a quantidade de massa de material de partida e ajustando a estequiometria da reação.

Dados do produto: sólido branco, 0,040 g (38%).

δ RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): 0,62 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 1,09 (*m*, 4H), 1,26 (s, 3H), 1,31–2,00 (*m*, 11H), 2,22 (*m*, 2H), 2,91 (*d*, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,85 (*dd*, $J_1 = 10,7$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H), 4,89 (*dd*, $J_1 = 17,5$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H), 5,71 (*dd*, $J_1 = 17,5$ Hz, $J_2 = 10,7$ Hz, 1H);

δ RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 11,6 (CH_3), 18,8 (CH_2), 19,9 (CH_2), 23,9 (CH_3), 25,1 (CH_3), 27,7 (CH_2), 28,6 (CH), 34,2 (C), 36,2 (CH_2), 36,9 ($2\times\text{CH}_2$), 37,4 (CH_2), 39,0 (C), 43,8 (C), 50,61 (CH), 51,8 (CH), 66,7 (C), 109,7 (CH_2), 149,2 (CH), 183,9 (C).



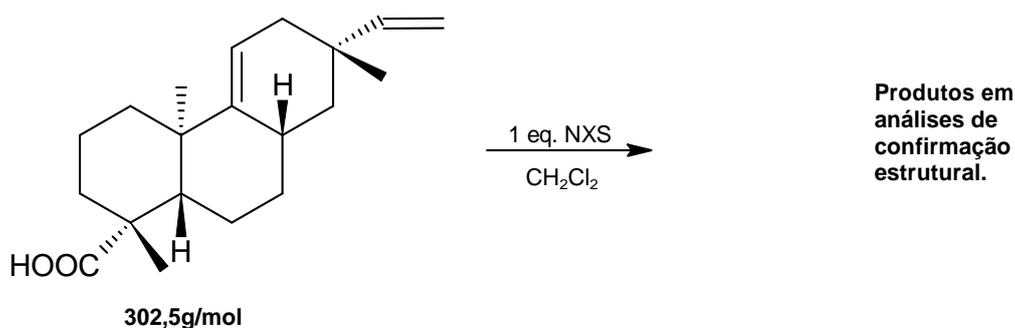
ESQUEMA 7 - Reação de Epoxidação do AA.

4.2.2 REAÇÕES DE HALOGENAÇÕES COM *N*-HALOSSUCCINIMIDAS

Foram testadas duas metodologias de halogenação do AA, descritas abaixo:

Método 1. Na primeira reação foi empregado o método descrito por Araújo et al. (2017) com adaptações. Inicialmente, pesou-se 0,100 g (0,3305 mmol) de AA em um balão de fundo redondo de duas bocas de 50 mL, juntamente com 0,0160 g (0,0979 mmol) de TCA e 1 mL de acetonitrila (ACN). A reação foi acompanhada por 4 horas em temperatura ambiente, e não foi constatado indício de transformação. Após este tempo, foi elevada a temperatura para 45 °C para avaliar o efeito da temperatura na reação, acompanhando simultaneamente por CCD. Após o tempo reacional de 24 horas, foi retirada uma alíquota da amostra e analisada por espectrometria de massas (LABCEM) - fonte APCI-MS. Não houve formação de produtos.

Método 2. A segunda reação de adição de halogênios seguiu o procedimento descrito por Vorona et al. (2013), com modificações (**ESQUEMA 8**). Colocou-se 0,0500 g (0,1652 mmol) de AA em três balões de fundo redondo de 50 mL. Logo após, pesou-se no balão **1** 0,0290 g de NBS (0,1629 mmol), no **2** 0,022 g de NCS (0,1647 mmol), e no **3** 0,037 g de NIS (0,1644 mmol). Em seguida, adicionaram-se 2 mL de DCM em cada balão, e todos ficaram sob agitação magnética sobre chapas de agitação. As reações foram acompanhadas por CCD (revelação por vanilina sulfúrica). Com exceção da reação com NBS, a qual durou 24 horas, as demais reações permaneceram o tempo reacional de 72 horas sob agitação. As três reações foram avaliadas por CCD, e a cada 24 horas, uma alíquota de cada amostra foi levada ao EM-APCI (LABCEM UFAM), para avaliar o progresso reacional. Ao final das reações, o solvente foi removido e o produto bruto foi pré-purificado por CCDP, eluente DCM: Hex (9:1).

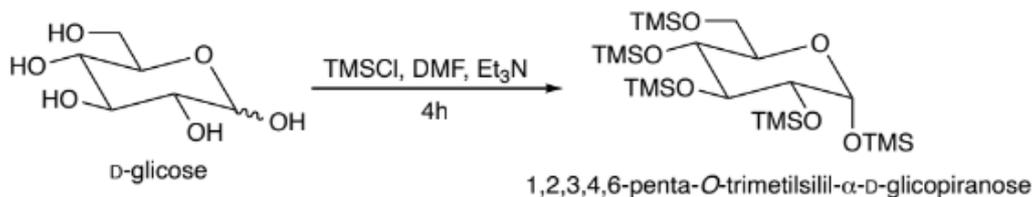


ESQUEMA 8 - Esquema geral das reações de halogenações do AA.

4.2.3 SÍNTESE DA 1,2,3,4,6-PENTA-O-TRIMETILSSILIL- α -D-GLUCOPIRANOSE

A proteção dos grupos hidroxil do monossacarídeo D-glucose seguiu o procedimento descrito por Uchiyama et al., (1996) com modificações (**ESQUEMA 9**). Pesou-se 0,500 g (2,775mmol) de D-glucose em um balão de fundo redondo de 50 mL, em seguida adicionaram-se ao balão 2,51 mL (18,04 mmol) de trietilamina simultaneamente a 15 mL de dimetilformamida (DMF), e por fim, o balão ficou imerso em um banho de gelo. Quando a temperatura alcançou 0–5 °C, foram inseridos 2,29 mL (18,04 mmol) de cloreto de trimetilssilil (TMSCl) ao balão de reação. Após a adição do TMSCl, a reação ficou sob agitação com uma barra magnética em temperatura ambiente e foi acompanhada a cada 30 minutos por CCD.

Após 4 horas de reação, foram adicionados ao balão 5 mL de água destilada e 15 mL de AcOEt, e em seguida, essa mistura foi transferida para um funil de separação de 125 mL. A fase de acetato de etila foi separada, e a fase aquosa/DMF foi extraída mais três vezes com 15mL de AcOEt. Após essa extração, o produto foi seco com sulfato de sódio, filtrado e a solução final foi concentrada no evaporador rotativo. Logo após o *work-up*, o produto foi armazenado e posteriormente analisado por RMN ^1H e ^{13}C .

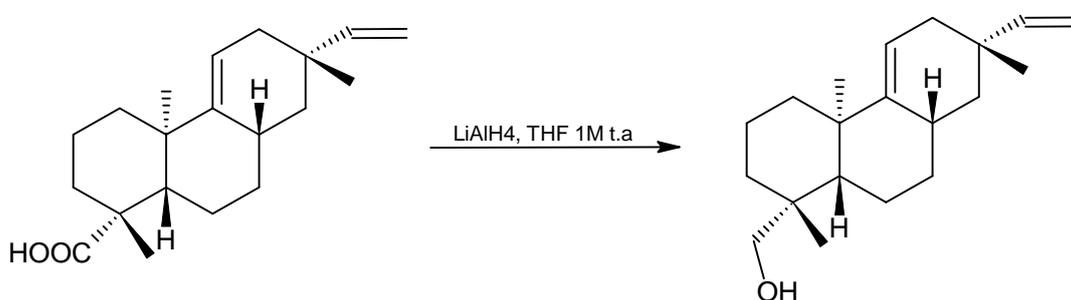


ESQUEMA 9 - Formação do produto 1,2,3,4,6-penta-O-trimetilssilil-α-D-Glucopiranoose

4.2.4 REDUÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO A ACANTOL

O procedimento de redução do AA seguiu a metodologia de Hoover et al. (2013) com modificações (**ESQUEMA 10**). Pesou-se 0,0500 g (0,1652 mmol) de AA em um balão com duas bocas de 50 mL de fundo redondo. Logo após, o balão foi purgado 3 vezes com gás nitrogênio (N₂), e posteriormente foram inseridos 7 mL da solução de hidreto de lítio e alumínio (LiAlH₄) 1 M em THF (Sigma Aldrich). Em seguida, a reação ficou sob agitação magnética em temperatura ambiente e foi acompanhada a cada 1 hora por CCD (foi retirada uma alíquota da reação, a qual foi misturada com AcOEt e ácido clorídrico diluído. A fase orgânica foi analisada).

Após 4 horas de reação, adicionaram-se 10 mL de água destilada gelada e algumas gotas de HCl até o resíduo branco formado ser dissolvido. Essa mistura foi transferida para um funil de separação, e o produto foi extraído com AcOEt (3×10 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio, filtradas, e a amostra foi concentrada no evaporador rotativo. Após a concentração, o produto bruto foi purificado por CCDP, eluente Hex: DCM (6:4).



ESQUEMA 10 - Síntese do acantol a partir do ácido acantoico.

4.2.5 ENSAIO DA ENZIMA AChE

O ensaio de AChE foi realizado por um método espectrofotométrico, e o procedimento de execução foi feito conforme proposto por (Ellman et., 1961; Gélinas et al., 2013). Pesou-se o padrão de neostigmina (1mg) e AChE (10µL) foram preparados em tampão fosfato (1mL) de uma solução 0,1 M a pH 8, e a amostra YC_{epóxi} (1mg/mL) preparado em MeOH, as concentrações na qual a amostra foi avaliada, foi de (3,12µg/mL a 100µg/mL) e do padrão Neostigmina (0,312 a 10 µg/mL).

As leituras de absorbância foram medidas a 405nm a cada 5 minutos por 30 minutos usando um leitor de microplaca (ELx800, Biotek, EUA). A porcentagem de inibição em cada concentração foi calculada de acordo com a equação inibição abaixo:

$$\text{(\%)} = \frac{\mathbf{A^2} - (\mathbf{A^1} - \mathbf{A^3}) \times 100}{\mathbf{A^2}}$$

Onde

A: É a absorção das amostras e da enzima.

A²: é a absorção da enzima sem amostra.

A³: é a absorção da amostra sem a enzima.

5. RESULTADOS

5.1. ESCOPO GERAL DA PROPOSTA DE PESQUISA

Para transformar o ácido acantoico em novos produtos para estudo de propriedades biológicas, planejou-se conduzir modificações em duas porções principais da molécula: as ligações duplas carbono-carbono e o grupo carboxila. Neste trabalho, planejou-se inicialmente estudar a incorporação de heteroátomos em uma ou em ambas as ligações duplas, de modo a gerar novos derivados com funções orgânicas com polaridade mais acentuada na estrutura do ácido acantoico. Para essa finalidade, optamos por oxigenar as ligações duplas carbono-carbono via epoxidação, até o momento ainda não relatadas. A possibilidade de produzirmos um epóxido na estrutura do ácido acantoico abre possibilidades interessantes de inserção de outros grupos ou blocos estratégicos para a química medicinal, via abertura nucleofílica do anel oxirano. Outra possibilidade interessante reside na inserção de átomos de halogênios, via reações de fácil execução com *N*-halosuccinimidas.

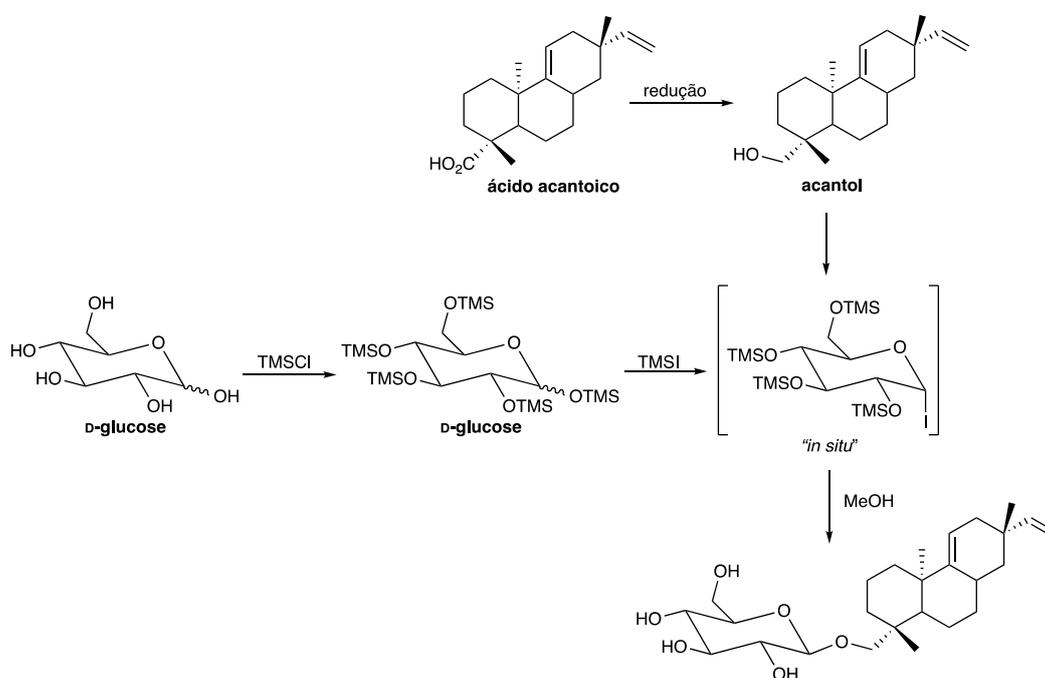
O segundo foco de estudo foi planejado no grupo carboxila em C4. Sabe-se que a inserção de resíduos de açúcares pode incrementar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas das substâncias para emprego medicinal. Tais modificações ainda não foram relatadas para o **AA**, mas para outros diterpenos, incluindo os do tipo caurano, como aquele desenvolvido por Batista e colaboradores (2007).

Diversas são as estratégias descritas na literatura para a realização de glicosilações, pois os maiores desafios desta abordagem são a eficiência e o rendimento da reação, além da quimio e estereosseletividade do método (Zhu & Schmidt, 2009). Entre as estratégias, propomos aqui o método de substituição de iodetos glicosídicos protegidos com o grupo trimetilsilil (TMS). A escolha se baseia em diversas vantagens, como o custo dos reagentes empregados, a boa reatividade dos iodetos glicídicos e a fácil remoção do grupo TMS utilizado para proteger seletivamente as hidroxilas dos carboidratos.

O processo ocorreu seguindo inicialmente o método descrito por Uchiyama e Hindsgaul (1996): Na qual consiste no carboidrato redutor (monossacarídeos), D-glicose com TMS via tratamento com cloreto de trimetilsilil em meio básico em dimetilformamida para originar um derivado glicídico

completamente protegido com TMS. A seguir, o intermediário seria tratado com iodeto de trimetilsilil (TMSI), o qual é responsável por ligar um átomo de iodo ao carbono anomérico em configuração alfa do açúcar redutor, gerando *in situ* o iodeto glicídico correspondente bastante reativo. Nessas condições, adicionaria o álcool derivado do ácido acantoico (acantol) que substituiria o iodeto e formaria a ligação O-glicosídica desejada em um processo 'one pot'. O processo geral exemplificado com a D-glucose está apresentado no **ESQUEMA 11**.

Os grupos protetores TMS poderiam ser facilmente removidos via tratamento do produto com metanol em temperatura ambiente, o que nos permitiria executar a formação de ligação O-glicosídica e a desproteção em uma única etapa, de maneira bastante eficiente. Além disso, o grupo TMS pode ser removido com bastante facilidade da mistura de produtos formados durante a destilação do solvente devido ao seu baixo ponto de ebulição. Planejou-se executar essa estratégia com diversos açúcares diferentes para termos um conjunto de derivados do ácido acantoico glicosilados com diferentes resíduos de carboidratos de diferentes tamanhos, todavia esse planejamento só foi feito com o açúcar D-Glucose, apresentando um bom resultado com relação a proteção das hidroxilas, no entanto a quantidade de ácido acantoico (**AA**) reduzido a (Acantol) não foi suficiente para se obter um derivado glicosilado.



ESQUEMA 11 - Proposta geral de reações de glicosilações do ácido acantoico.

5.2. ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO ÁCIDO ACANTOICO

O produto purificado do extrato hexânico do caule de **AA** foi analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C (**FIGURAS 8,9, 10** ^1H e **11, 12 e 13** ^{13}C ; **ANEXO A e B TABELA 1**). (Pinheiro et al., 2009) identificaram o AA no caule da *Annona amazonica* pela técnica de RMN, e os seus resultados coincidiram com a análise feita neste estudo. Na região entre δ 0,50 a 2,50, observam-se sinais característicos de metilenos diastereotópicos, hidrogênios metínicos, e de hidrogênios metílicos (metilas: C17 δ 0,86, C20 δ 0,99 e C18 δ 1,25). O padrão do espectro de RMN ^1H e ^{13}C corresponde a de um diterpeno da classe pimaradieno (**FIGURA 8**) (Pinheiro et al., 2009).

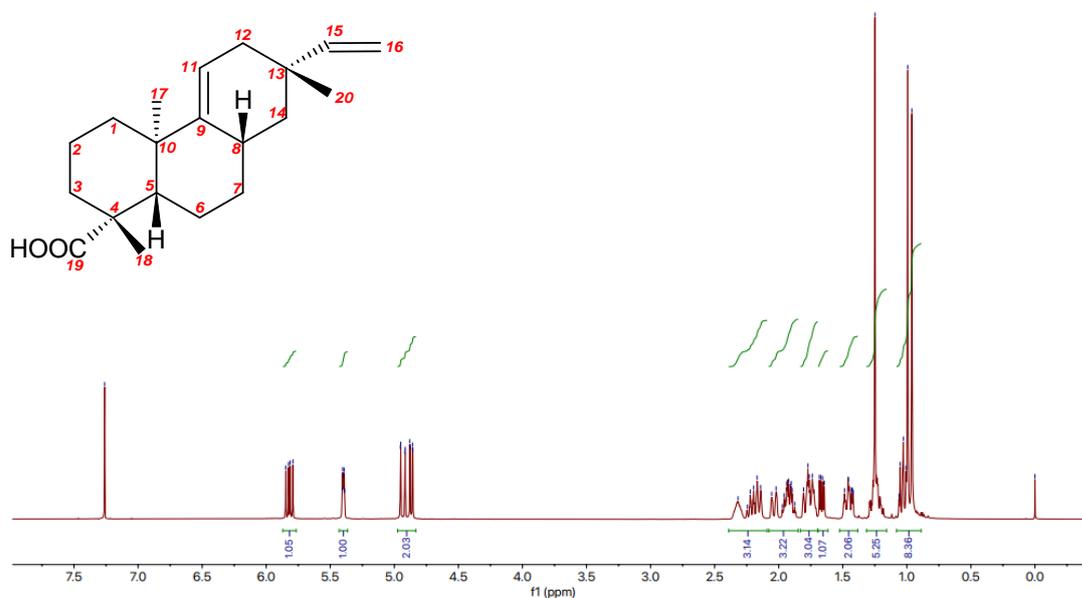


FIGURA 8 - Constituintes presentes em *Annona amazonica*

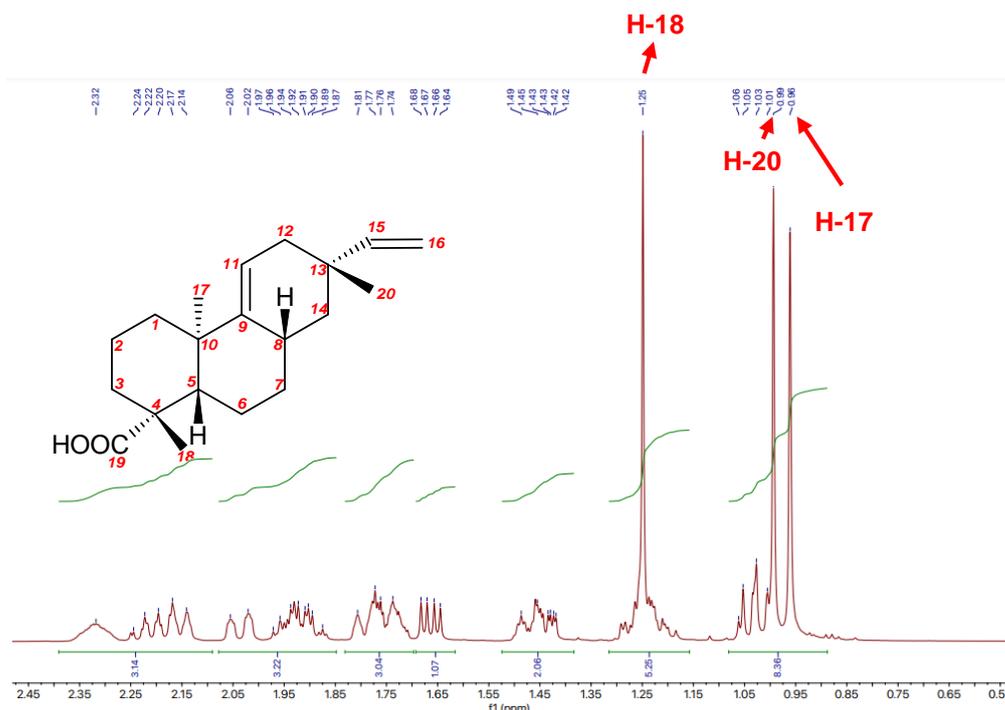


FIGURA 9 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do AA (δ 0,5 a 2,5).

Na região entre δ 4,5 a 6,0 (**FIGURA 10**) podem-se observar sinais de hidrogênios olefínicos, **H15** em δ 5,79 (1H, *dd*, $J_{trans} = 17,5 \text{ Hz}$, $J_{cis} = 10,7 \text{ Hz}$), **H16a** em δ 4,93 (1H, *dd*, $J_{trans} = 17,5 \text{ Hz}$, $J_{geminal} = 1,3 \text{ Hz}$), **H16b** em δ 4,87 (1H, *dd*, $J_{cis} = 10,7 \text{ Hz}$, $J_{geminal} = 1,3 \text{ Hz}$) e **H11** em δ 5,40 ppm (1H, *dt*, $J_1 = 4,8 \text{ Hz}$, $J_2 = 2,1 \text{ Hz}$).

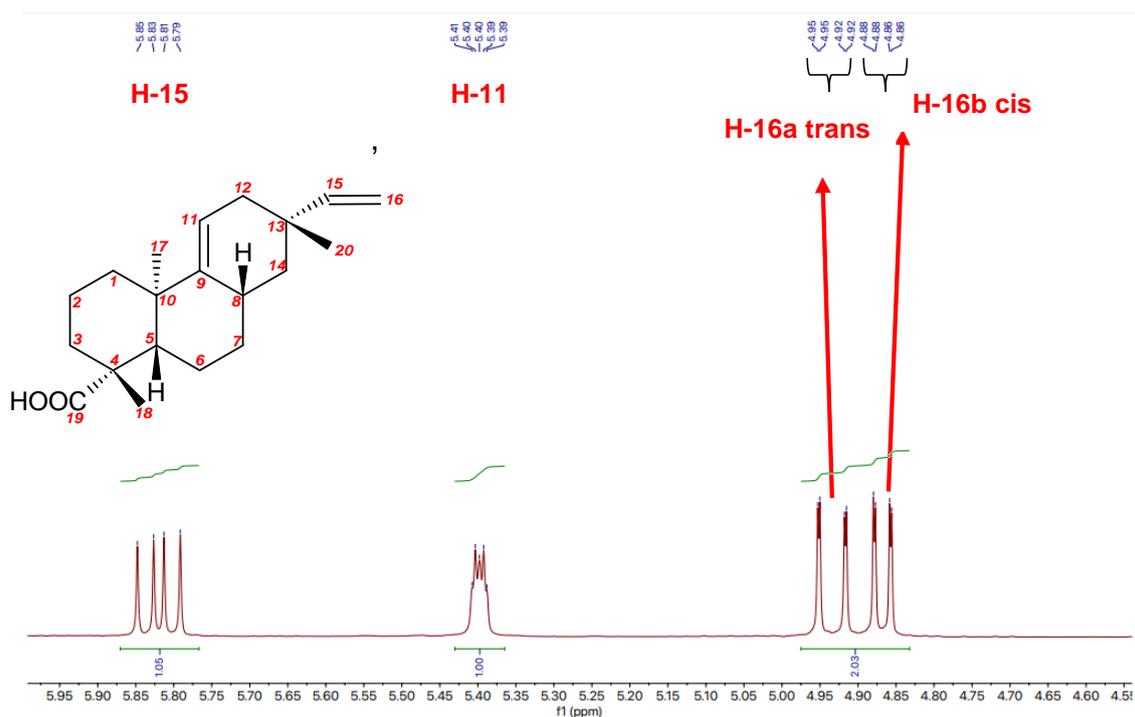


FIGURA 10 - Espectro de RMN ^1H AA (δ 4,5 a 6,0).

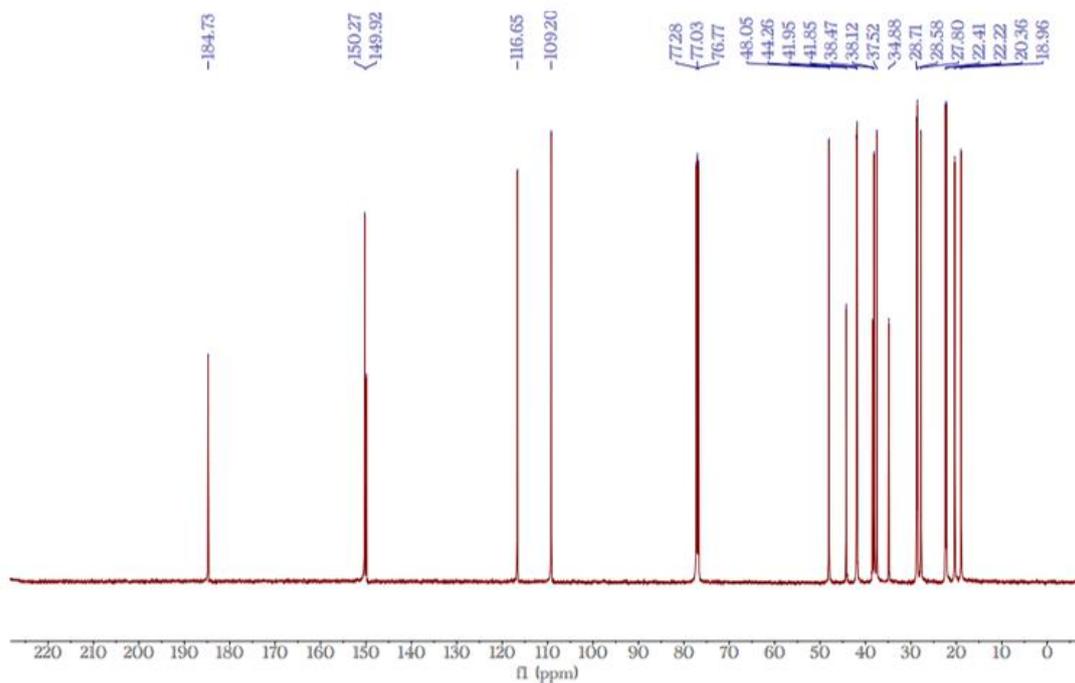


FIGURA 11 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do AA (δ 0 a 220).

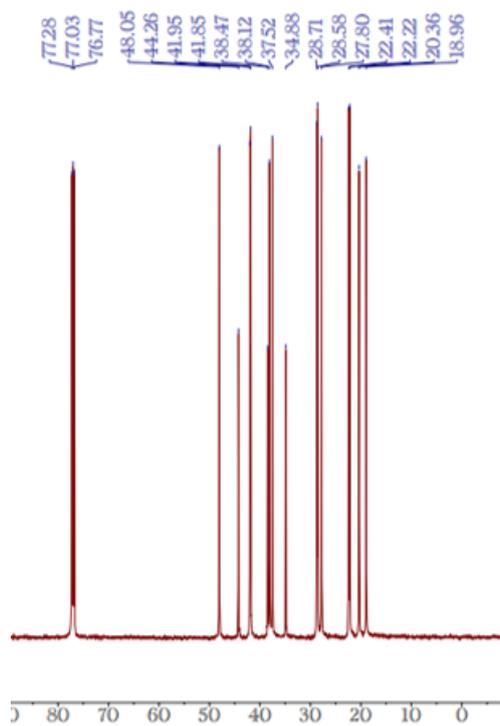


FIGURA 12 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do AA (δ 0 a 80).

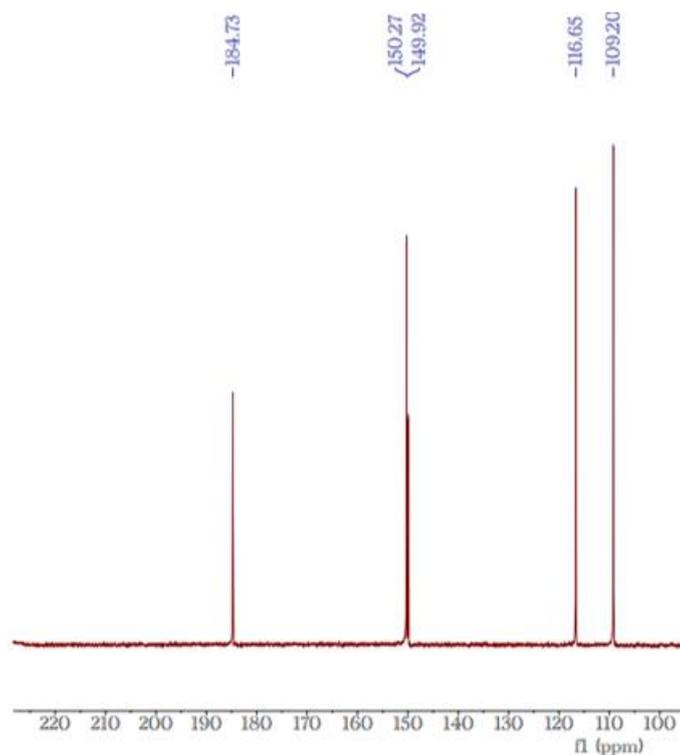


FIGURA 13 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) do AA (δ 220 a 100).

Tabela 1 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do AA				
Posição C e H	AA obtido neste trabalho ^a		AA literatura ^b	
	^1H δ (mult., J em Hz)	^{13}C (δ)	^1H δ (mult., J em Hz)	^{13}C (δ)
1 (-CH ₂)	δ 1,42 (m)	41,85	δ 1,44 (m)	41,8
2 (-CH ₂)	δ 2,19 (m)	18,96	δ 2,15 (m)	18,9
3 (-CH ₂)	δ 1,02 (m)	38,12	δ 1,03 (m)	38,0
4 (-C)	(-)	44,26	(-)	44,2
5 (-CH)	δ 1,67 (dd $J_1 = 12,9$ e $J_2 = 6,0$ Hz)	48,05	δ 1,66 (dd $J = 12,9$ e $6,0$ Hz)	48,0
6 (-CH ₂)	δ 1,44 (m)	20,36	δ 1,46 (m)	20,3
7 (-CH ₂)	δ 1,21 (m)	27,80	δ 1,23 (m)	27,8
8 (-CH)	δ 2,32 (m)	28,71	δ 2,32 (m)	28,6
9 (-C)	(-)	149,92	(-)	149,8
10 (-C)	(-)	38,97	(-)	38,4
11 (-CH)	δ 5,40 (dt $J_1 = 4,8$ e $J_2 = 2,1$ Hz)	116,65	δ 5,39 (dt $J_1 = 4,8$ e $J_2 = 2,1$ Hz)	116,6
12 (-CH ₂)	δ 2,03 (ddd $J_1 = 17,4$, $J_2 = 4,0$ e $2,3$ Hz)	37,52	δ 2,03 (m)	37,5
13 (-C)	(-)	34,88	(-)	34,8
14 (-CH ₂)	δ 1,02 (m)	41,95	δ 1,45 (m)	41,8
15 (-CH)	δ 5,79 (dd $J_{trans} = 17,5$ e $J_{cis} = 10,7$ Hz)	150,27	δ 5,81 (dd, $J_{trans} = 17,4$ e $J_{cis} = 10,7$ Hz)	150,1
16 (-CH ₂)	H16a δ 4,93 (dd $J_{trans} = 17,5$ e $J_{geminal} = 1,3$ Hz) H16b δ 4,87 (dd $J_{cis} = 10,7$ e $J_{geminal} = 1,3$ Hz)	109,20	H16a δ 4,93 (dd $J_{trans} = 17,5$ e $J_{geminal} = 1,3$ Hz) δ 4,86 (dd, $J = 17,4$ e $1,2$ Hz)	109,2
17 (-CH ₃)	0,86 (s)	22,22	0,96 (s)	22,2
18 (-CH ₃)	1,25 (s)	28,58	1,26 (s)	28,5
19 (COOH)	7,26 (s)	184,73	7,26 (s)	184,9
20 (-CH ₃)	0,99 (s)	22,41	0,99 (s)	22,3

^aExperimento a 500 MHz para ^1H em CDCl_3 , ^{13}C 100 MHz; CDCl_3 utilizando o TMS como padrão interno. ^bPinheiro et al., 2009 (^1H : 400 MHz; CDCl_3 ^{13}C 100 MHz; CDCl_3). (δ) Deslocamentos em ppm.

5.3. EPOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO

A reação de epoxidação do ácido acantoico foi realizada por meio do tratamento do material de partida com *m*-CPBA por 2 horas em temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por (CCD) (**FIGURA 14**), e após processo reacional, o produto foi purificado por (CCDP), eluente Hex:DCM (7:3).

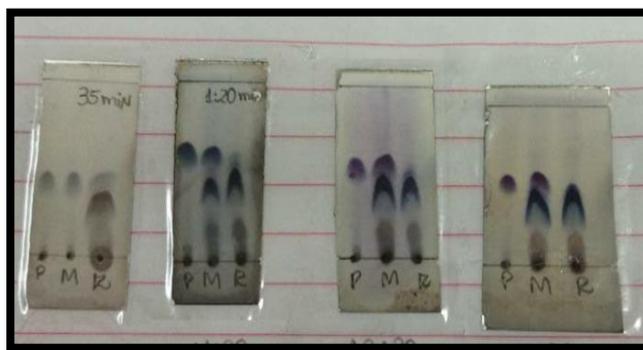


FIGURA 14 - CCD REPAA - Revelador: Vanilina sulfúrica. Legenda: P = AA; R = reação; M = ponto misto entre P e R. Eluente: Hex:DCM (8:2)

Para o processo de CCDP, utilizou-se o eluente Hex:DCM (7:3) e observaram-se três substâncias na placa (**FIGURA 15**). Em seguida, as substâncias foram separadas e filtradas em acetato de etila HPLC, e depois de previamente secas, foi retirado 1 mg de cada substância para análise por EM-APCI (LABCEM – UFAM). Verificou-se no modo negativo que a substância 3 apresentou um pico de m/z 317,3, intenso, corroborando com a massa esperada para o produto epóxido (318,3 g/mol) (**FIGURA 16**). No modo positivo, o íon esperado (m/z 319,3), não foi detectado, mas aquele relativo ao próprio AA (m/z 301,3). Pode-se especular que possa estar ocorrendo um processo de abertura do anel de epóxido nessa segunda condição, seguida de desidratação do álcool formado, o que resulta no material de partida.

Para confirmação estrutural do composto, o produto foi submetido a análises por EM-APCI de alta resolução e de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC e NOESY-2D. O rendimento total da obtenção da substância por CCDP foi 38% resultando em 0,04 g da substância pura.

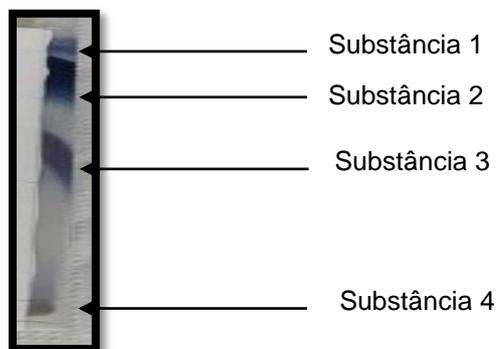


FIGURA 15 - CCDP da Reação de epoxidação.

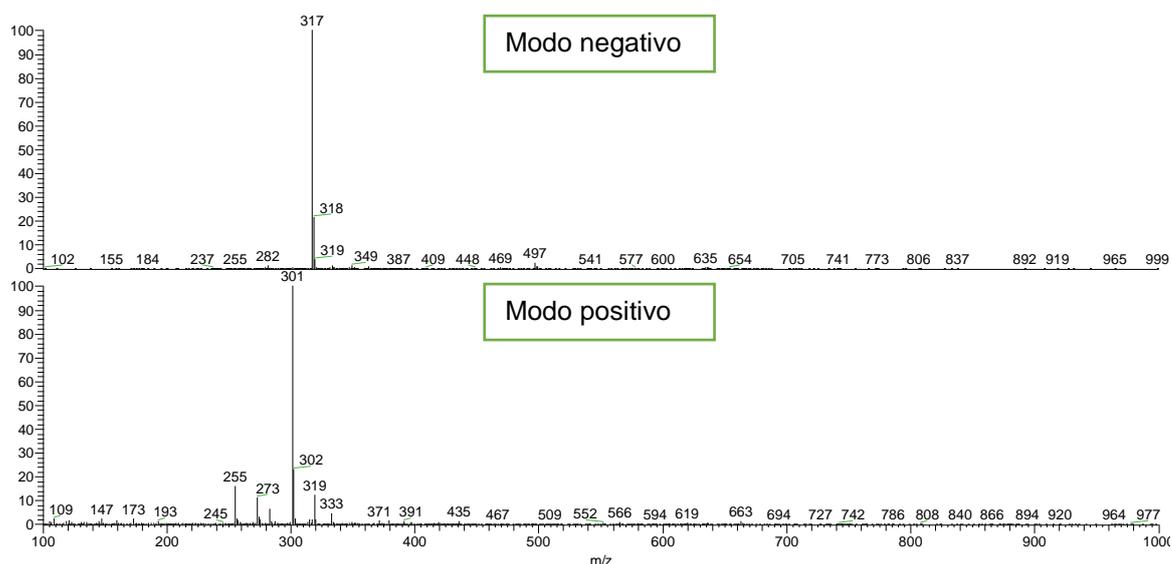


FIGURA 16 - EM-APCI Full Scan (M-/M+) da Y_{Cepoxi}.

Pela análise de espectro de RMN ^1H (500Mz, CDCl_3 , **FIGURAS 17 e 18**), observa-se mudança do deslocamento químico de sinais dos hidrogênios metílicos em C17 do AA, além do desaparecimento do duplo-triplete em δ 5,89 ppm, na região de hidrogênios vinílicos. Esses dados confirmam a ocorrência de adição eletrofílica ao alceno endocíclico da estrutura do **AA**, como esperado, uma vez que ligações duplas carbono-carbono são mais nucleofílicas graças ao efeito de hiperconjugação dos grupos alquil ligados aos carbonos olefínicos, resultando em um HOMO $\pi\text{C}=\text{C}$ mais energético e nucleofílico (Vollhardt & Schore., 2004). Na região entre δ -0,5 a 8,0, é possível observar de um modo geral que o padrão dos sinais característicos dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos e hidrogênios metínicos dos ciclos não foi alterado, comprovando que a esqueleto pimaradieno do **AA** foi mantido.

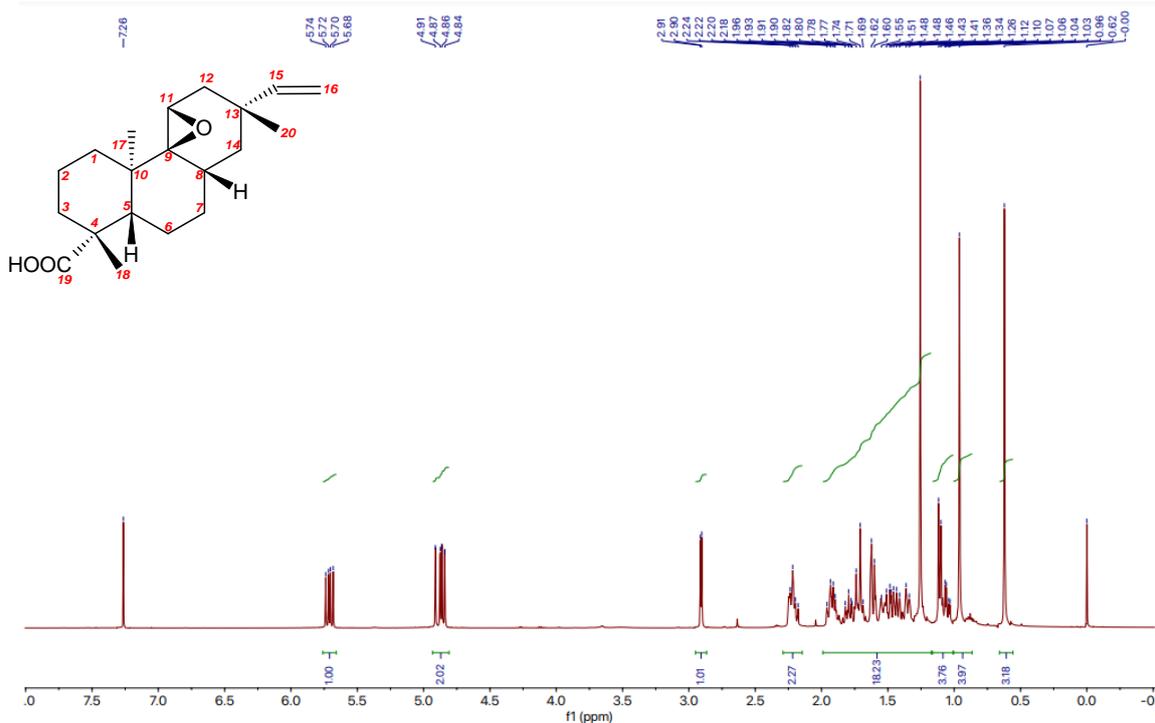


FIGURA 17 - Espectro de RMN ¹H YC_{epoxi} (500 MHz, CDCl₃ - δ -0,5–8,0 ppm).

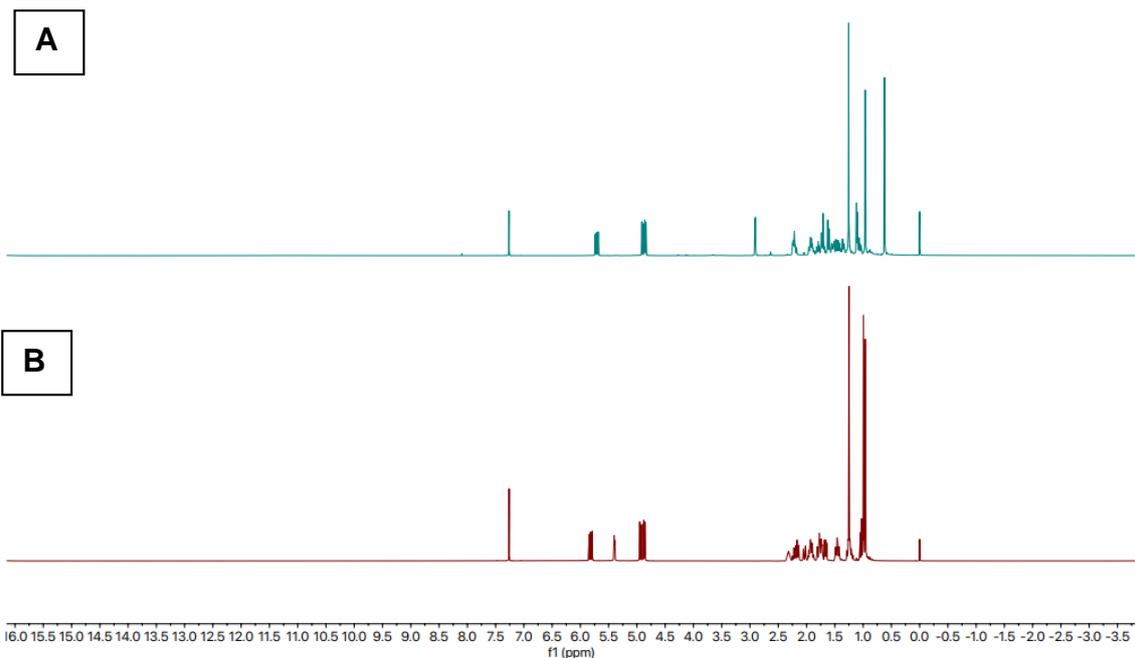


FIGURA 18 - Comparação dos espectros de RMN ¹H do YC_{epoxi} (A) e do AA (B) (500 MHz, CDCl₃).

Na região entre δ 0,5-3,0 (FIGURA 19), é possível observar sinais característicos dos hidrogênios metílicos. Nota-se que os hidrogênios alifáticos

que estão presentes em **(C-17)** no espectro de RMN ^1H de **AA** apareceram δ 0,96 (s), todavia, quando comparado com o do $\text{YC}_{\text{epóxi}}$, ele ficou mais protegido, devido à mudança de deslocamento para δ 0,62 (s). Outro aspecto conclusivo que se pode citar é o surgimento do sinal em δ 2,91 (1H, *d*, $J = 5,1 \text{ Hz}$) característico de hidrogênio metínico ligado a (C-O) do grupo epóxido. Especulamos que a rigidez do anel onde está inserido o epóxido é tal que fixa a posição de **H11** no espaço de tal modo que o ângulo diedro formado entre **H11** e um dos hidrogênios **H12** deve se aproximar de 90° , o que justificaria a multiplicidade de duplete com $J = 5,1 \text{ Hz}$ para **H11**.

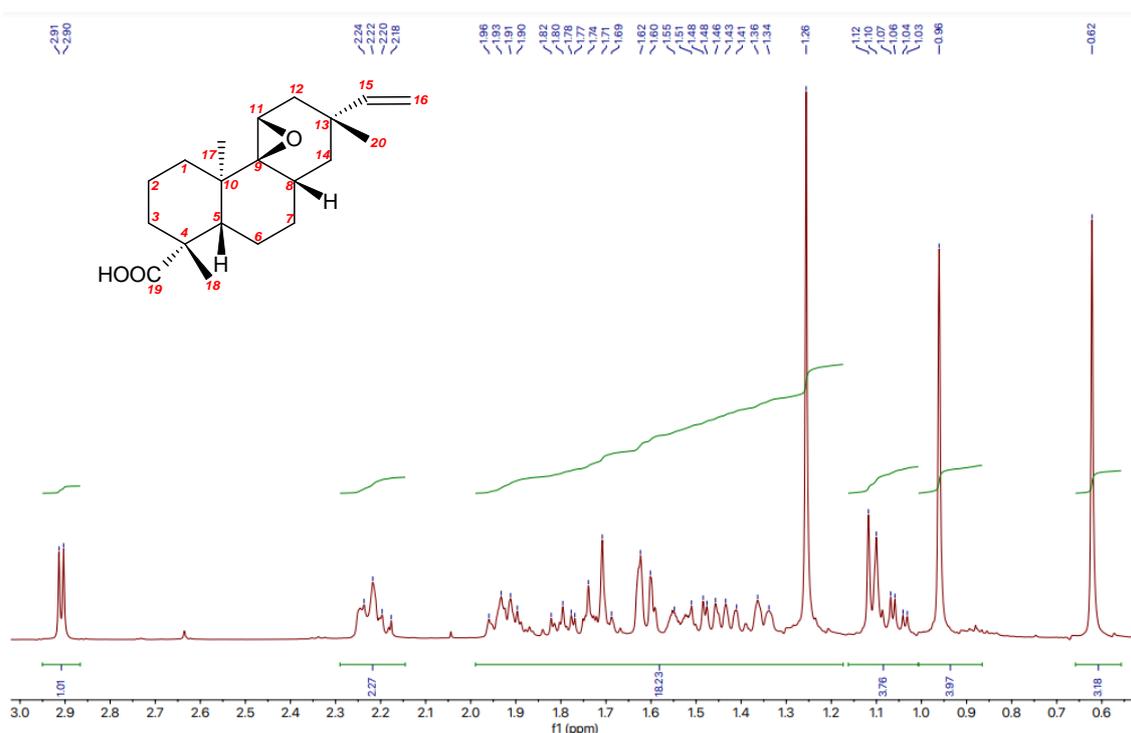


FIGURA 19 - Espectro de RMN ^1H YC_{epoxi} (500 MHz, CDCl_3 - δ 0,5 a 3,0).

Na região de δ 4,5 – 6,0, além do desaparecimento dos sinais em δ 5,39 característicos dos hidrogênios vinílicos da dupla ligação de dentro do anel (C=C-H), mantiveram-se os sinais em δ 4,84 e δ 5,74 característicos do alceno monossustituído em **C15-C16**, comprovando que essa ligação não sofreu alterações.

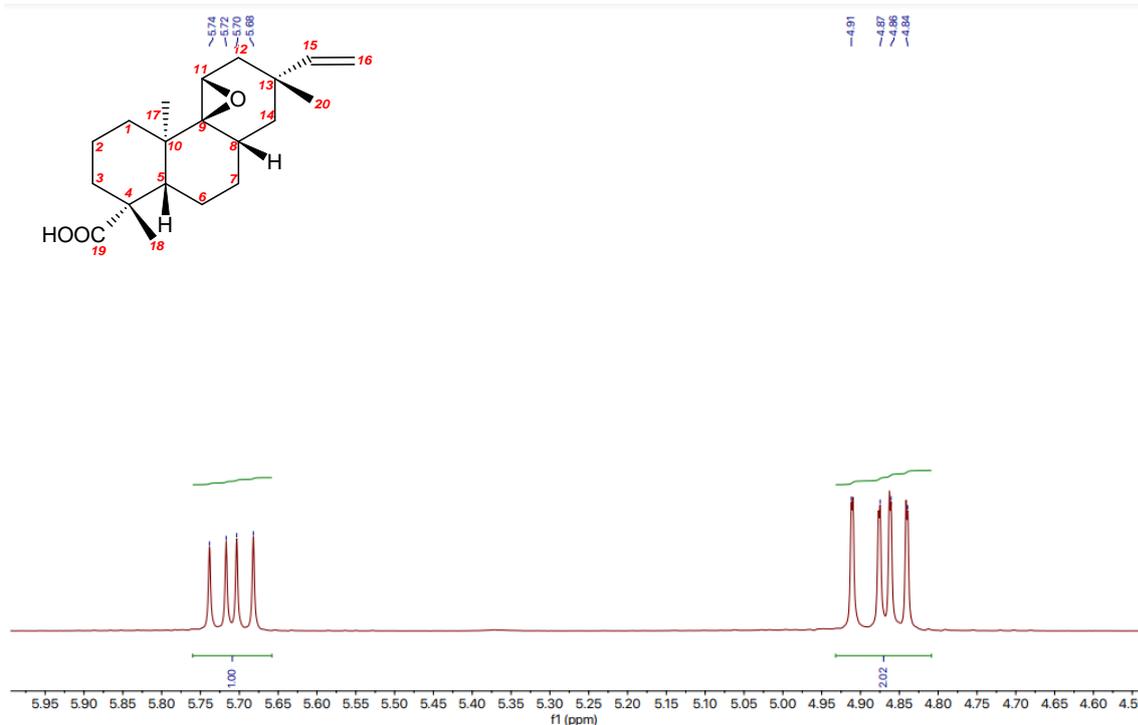


FIGURA 20 - Espectro de RMN ^1H YC_{epóxi} (500 MHz, CDCl_3 - δ 4,5 a 6,0)

O espectro de RMN de ^{13}C (**FIGURA 21**) de YC_{epóxi} apresentou 20 carbonos, sendo 7 carbonos metilênicos (**C-1**, **C-2**, **C-3**, **C-6**, **C-7**, **C-12** e **C-14**), 2 metínicos (**C-5** e **C-8**), 3 metílicos (**C-17**, **C-18** e **C-20**), e 3 quaternários (**C-10**, **C-13** e **C-14**), sendo que 2 carbonos são vinílicos em (**C-15** e **C-16**), e o carbono referente ao ácido carboxílico foi observado em δ 183,9 (**C-19**). Podemos observar dois sinais dos carbonos olefínicos em **C15** e **C16** em δ 149,2 e δ 109,2, respectivamente. Os sinais de outros carbonos olefínicos não foram detectados. Além desses sinais característicos, observamos um sinal de carbono não hidrogenado em δ 66,7, referente a **C9** (C–O), sendo que **C11** pode ser atribuído ao sinal em δ 54,4, e próxima a ele δ 50,6 referente a **C5**. Todas as demais atribuições por RMN ^{13}C e por DEPT-135 coadunam com a estrutura atribuída ao produto YC_{epóxi}.

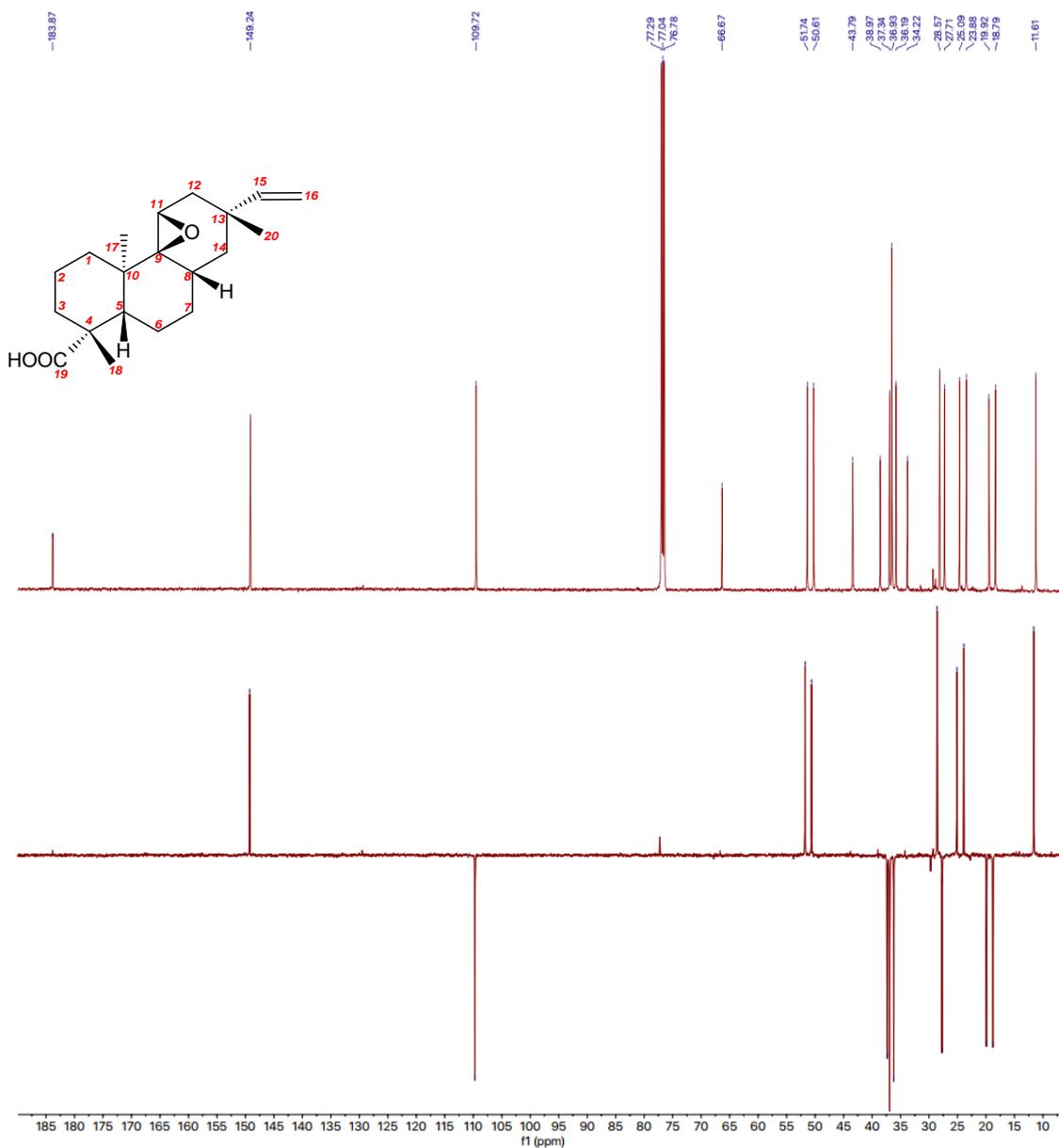


FIGURA 21 - Espectros de RMN ^{13}C e DEPT-135 do produto YC_{epoxi} (125 MHz, CDCl_3 - δ 5,0 a 190).

O experimento bidimensional homonuclear NOESY (**FIGURA 22**) fez-se necessário para se determinar a estereoquímica do anel oxirano que foi gerado na estrutura de AA. Sabe-se que os dados de ^1H e ^{13}C confirmaram que a reação aconteceu na ligação endocíclica do AA, todavia, com esses dados não foi possível atribuir de forma inequívoca a estereoquímica do anel oxirano, uma vez que as reações de epoxidação com perácidos são adições sin, concertadas, e que podem se dar em qualquer uma das duas faces estereotópicas de uma

ligação dupla carbono-carbono. Através dos dados de NOESY-2D homonuclear, pudemos confirmar que o ataque do *m* - CPBA se deu pela face da ligação dupla C9-C11 contrária ao grupo metila em C17. Essa dedução foi possível graças à correlação do hidrogênio H11 com os hidrogênios H17, que está voltada para a face oposta a qual se inseriu o anel oxirano. Na **(FIGURA 25)**, apresentamos o mecanismo proposto para formação da substância ácido (1*R*,4*aR*, 4*bS*,5*aS*,7*R*)-1,4*a*,7-trimetil-7-vinildodeca-hidro-1*H*-fenantro[4,4*a-b*]oxireno-1-carboxílico.

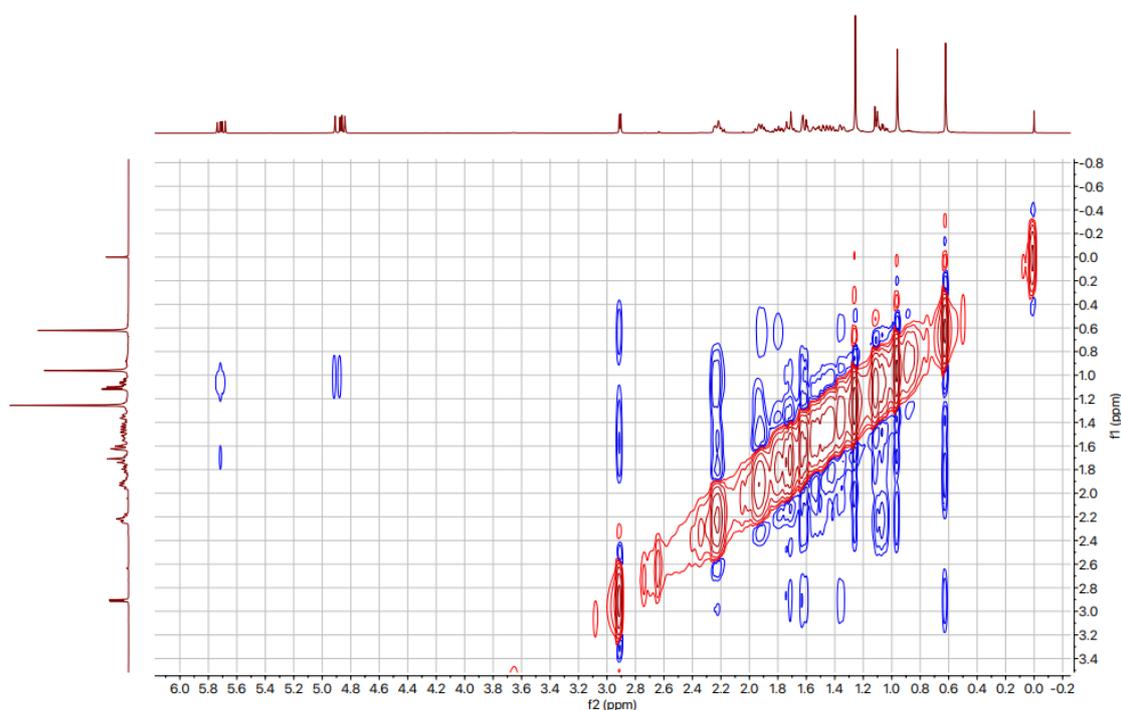
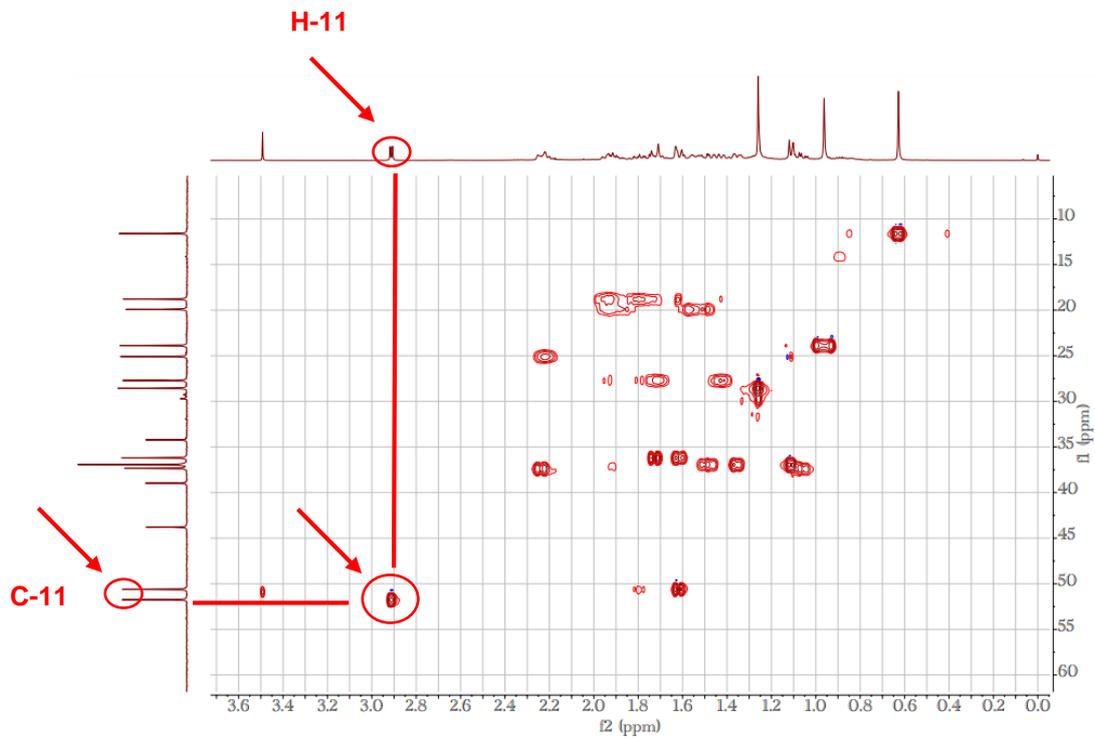
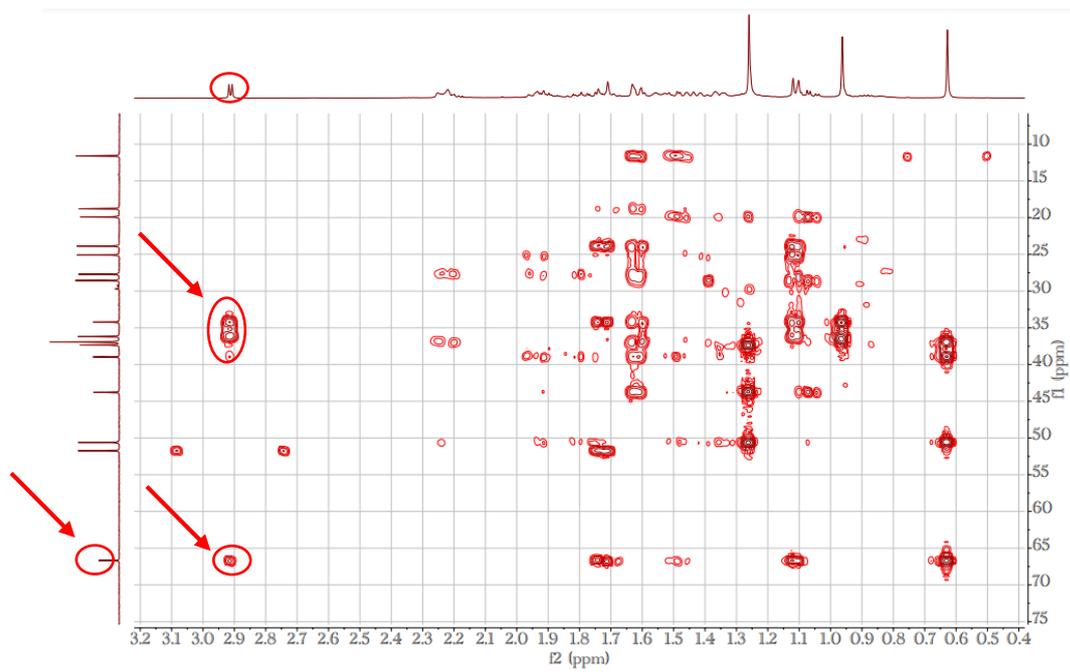


FIGURA 22 - Espectro de NOESY YC_{epóxi} – NOESY 1H-1H

Na **(FIGURA 23)** observa-se o espectro de RMN de HSQC ¹³C e ¹H na qual observa-se o sinal em δ 2,91 (1H, *d*, *J* = 5,1 Hz) diretamente ligado ao **C11**. E na **(FIGURA 24)** o espectro de RMN de HMBC ¹³C e ¹H nota-se o acoplamento a longa distância de hidrogênio e carbono, do carbono (**C-11 e H-11**).

FIGURA 23 - Espectro de HSQC ^1H ^{13}C YC_{epóxi}FIGURA 24 - Espectro de HMBC ^1H ^{13}C YC_{epóxi}

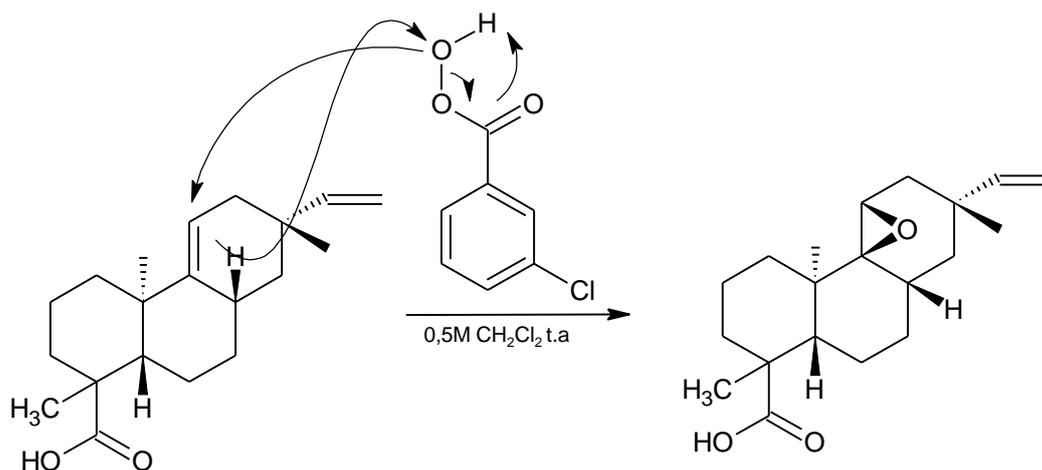


FIGURA 25 - Mecanismo proposto para reação de epoxidação.

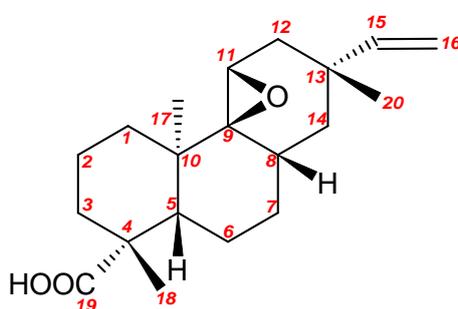


FIGURA 26 - Estrutura de Epóxido YC_{epóxi}.

Posição C e H	YCepóxi ^a		AA resultados obtidos neste trabalho ^b	
	H ¹ δ (mult., J em Hz)	¹³ C (δ)	H ¹ δ (mult., J em Hz)	¹³ C (δ)
1 (-CH ₂)	1,41 (m)	27,73	δ 1,42 (m)	41,85
2 (-CH ₂)	2,20 (m)	25,00	δ 2,19 (m)	18,96
3 (-CH ₂)	1,02 (m)	37,08	δ 1,02 (m)	38,12
4 (-C)	(-)	44,26	(-)	44,26
5 (-CH)	1,67 (dd J ₁ = 12,9 e J ₂ 6,0 Hz)	48,05	δ 1,67 (dd J ₁ = 12,9 e J ₂ = 6,0 Hz)	48,05
6 (-CH ₂)	1,44 (m)	20,36	δ 1,44 (m)	20,36
7 (-CH ₂)	1,21 (m)	27,80	δ 1,21 (m)	27,80
8 (-CH)	2,32 (m)	28,71	δ 2,32 (m)	28,71
9 (-C)	(-)	66,7	(-)	149,92
10 (-C)	(-)	38,97	(-)	38,97
11 (-CH)	2,91 (d J = 5,01 Hz)	54,6	δ 5,40 (dt J ₁ = 4,8 e J ₂ = 2,1 Hz)	116,65
12 (-CH ₂)	2,03 (ddd J ₁ = 17,4, 4,0 e 2,3)	38,47	δ 2,03 (ddd J ₁ = 17,4, J ₂ = 4,0 e 2,3 Hz)	37,52
13 (-C)	(-)	34,22	(-)	34,88
14 (-CH ₂)	1,02 (m)	43,79	δ 1,02 (m)	41,95
15 (-CH)	5,74 dd (J = 17,5 e 10,7 Hz)	149,2	δ 5,79 (dd J _{trans} = 17,5 e J _{cis} = 10,7 Hz)	150,27
16 (-CH ₂)	H16a δ 4,91 (dd, J _{trans} = 17,5 e J _{geminal} 1,3 Hz) H16b δ 4,86 (dd, J _{cis} = 10,7 e J _{geminal} 1,3 Hz)	109,2	H16a δ 4,93 (dd, J _{trans} = 17,5 e J _{geminal} 1,3 Hz) H16b δ 4,87 (dd, J _{cis} = 10,7 e J _{geminal} 1,3 Hz)	109,20

17 (-CH ₃)	δ 0,62 (s)	11,63	δ 0,96 (s)	22,22
18 (-CH ₃)	δ 1,24 (s)	23,88	δ 1,25 (s)	28,58
19 (COOH)	δ 8,09 (s)	183,9	δ 7,26 (s)	184,73
20 (-CH ₃)	δ 0,99 (s)		δ 0,99 (s)	22,41

^aExperimento a 500 MHz para ¹H em CDCl₃, ¹³C em CDCl₃ 125 MHz utilizando o TMS como padrão interno. (δ) Deslocamentos em ppm.

O espectro de massas de alta resolução identificou no modo negativo o íon base m/z 317,2 que é correspondente ao íon molecular de YC_{epóxi}. O espectro de massas de alta resolução identificou no modo positivo o íon base m/z 301,2 que é correspondente ao íon molecular da substância AA e o segundo íon menos intenso é o m/z 319,2. observa-se que neste modo a substância correspondente ao material de partida é observada, e o do produto formado é o segundo.

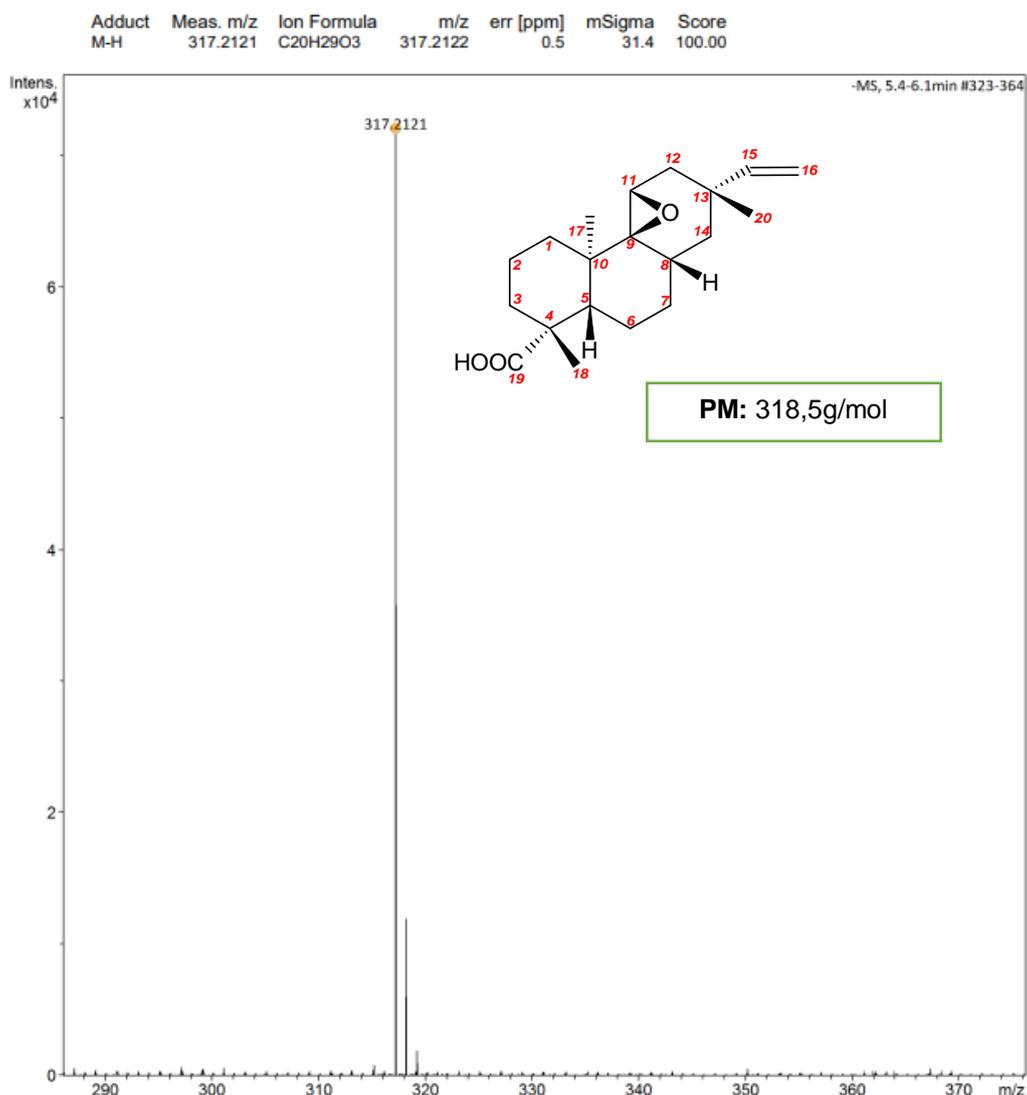


FIGURA 26 - Espectro de massas de alta resolução YC_{epóxi} (M-)

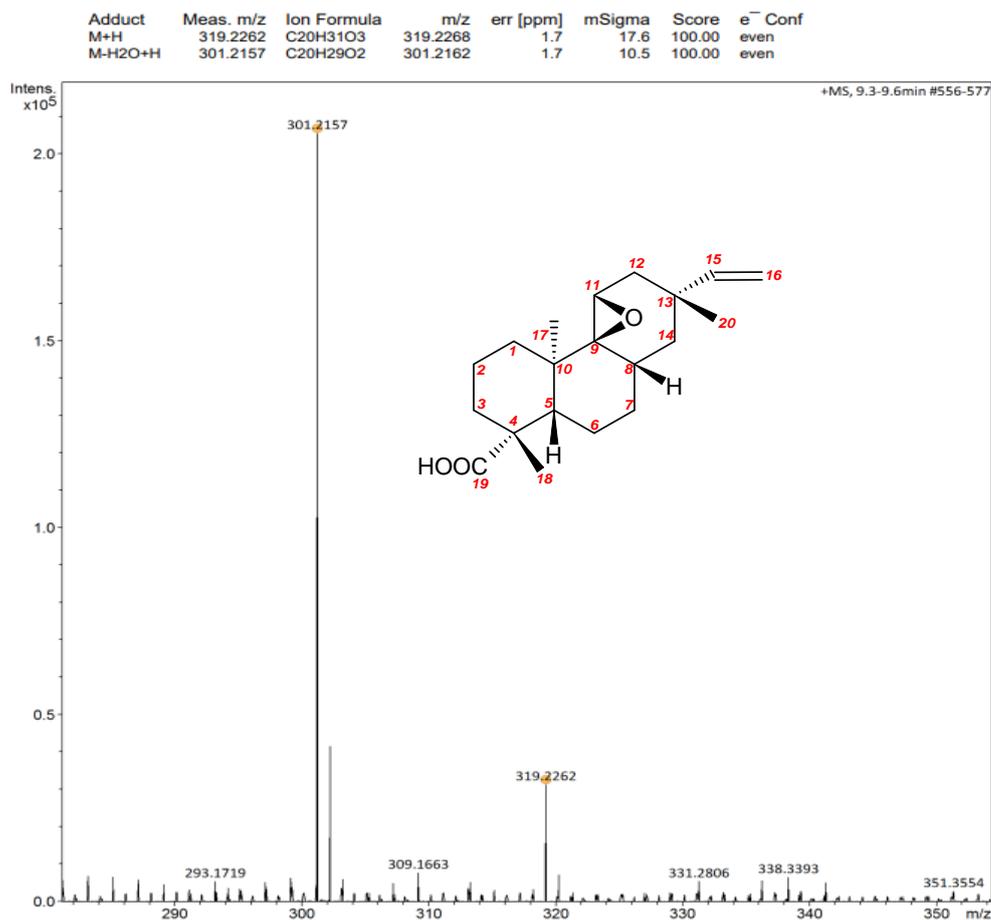


FIGURA 27 - Espectro de massas de alta resolução YC_{epóxi} (M⁺)

A substância YC_{epóxi} foi submetida ao teste com a enzima AChE e ela apresentou significativa atividade inibitória da AChE contra a AChE, com valor de IC₅₀ de 11,07 µg/mL em comparação com a neostigmina, com valor de IC₅₀ de 0,67 µg/mL **FIGURA 28** e **FIGURA 29** comprovando assim uma ação biológica boa no derivado inédito formado.

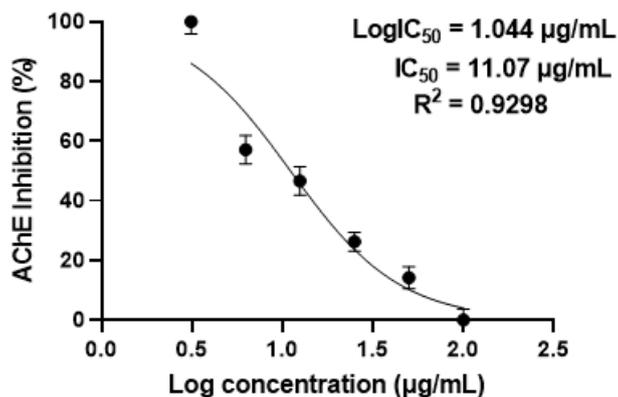


FIGURA 28 - Curva de Inibição do derivado YC_{epóxi} inibição de AChE.

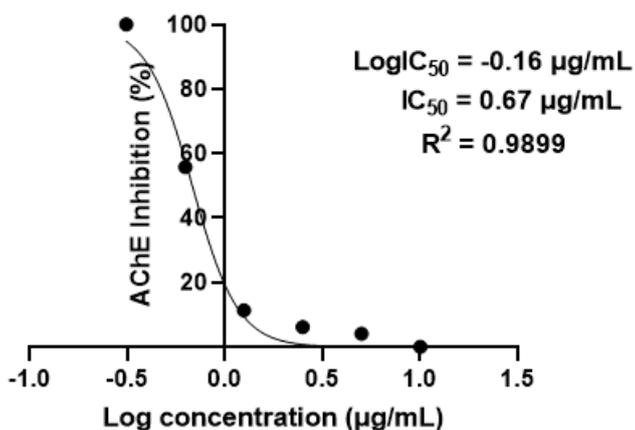


FIGURA 29 - Curva de Inibição padrão positivo Neostigmina

5.4. REAÇÕES DE HALOGENAÇÕES

Método 1. Na reação de halogenação com NBS pelo método 1, observou-se, pelo acompanhamento por CCD, que o AA não estava sendo consumido em temperatura ambiente e nem mesmo após o aumento da temperatura para 45 °C. Logo após o tempo reacional de 24 horas, a reação foi analisada por EM - APCI e verificou-se o íon m/z 301,3 correspondente ao AA. Por este motivo, reação foi interrompida e posteriormente foi feita a purificação do AA da reação. Após esta reação não ter tido um resultado positivo, foi realizado um levantamento bibliográfico para sínteses de adição de halogênios.

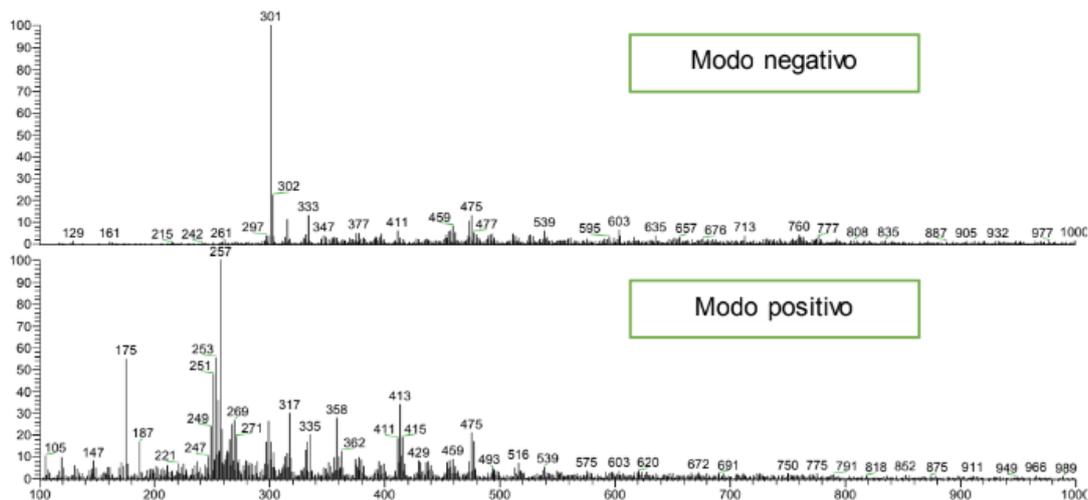


FIGURA 30 - EM APCI full scan ($M/M+$) da reação de halogenação Método 1 (24 horas)

Método 2. O segundo método consistiu simplesmente na agitação do material de partida com as *N*-halosuccinimidas por tempo variável, em temperatura ambiente. Pelo acompanhamento por CCD (**FIGURA 31 A**) da reação de bromação (RBAA), verificou-se a formação de um produto novo, que não tinha o mesmo R_f do AA. A reação foi finalizada após 2 horas, e 1 mg da mistura reacional foi levado para análise por EM-APCI no LABCEM. Observou-se o íon m/z 379 e 381, característicos de um produto de bromação contendo os íons M e $M+2$. Para purificação do produto, foi feita uma CCDP (**FIGURA 31 B**), com o eluente DCM: Hex (9:1) e observou-se 4 substâncias distintas. As quatro foram analisadas no EM-APCI e verificou-se que a substância 3 (YC_{Br}) apresentou os íons m/z 379 e 381, ausentes nos espectros das demais substâncias.

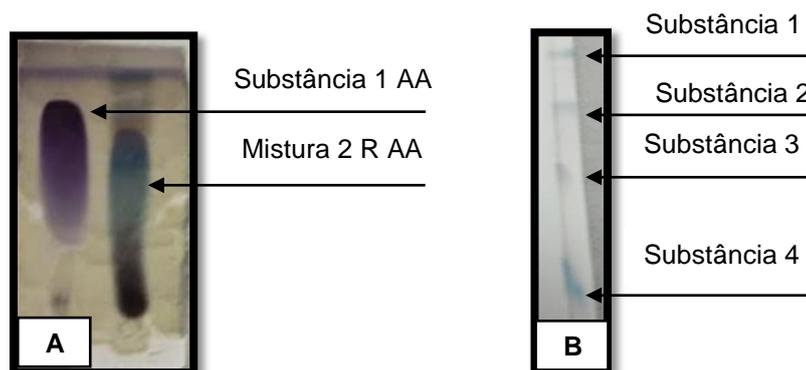


FIGURA 31 - CCD-RBAA (2 horas de reação); B - CCDP RBAA

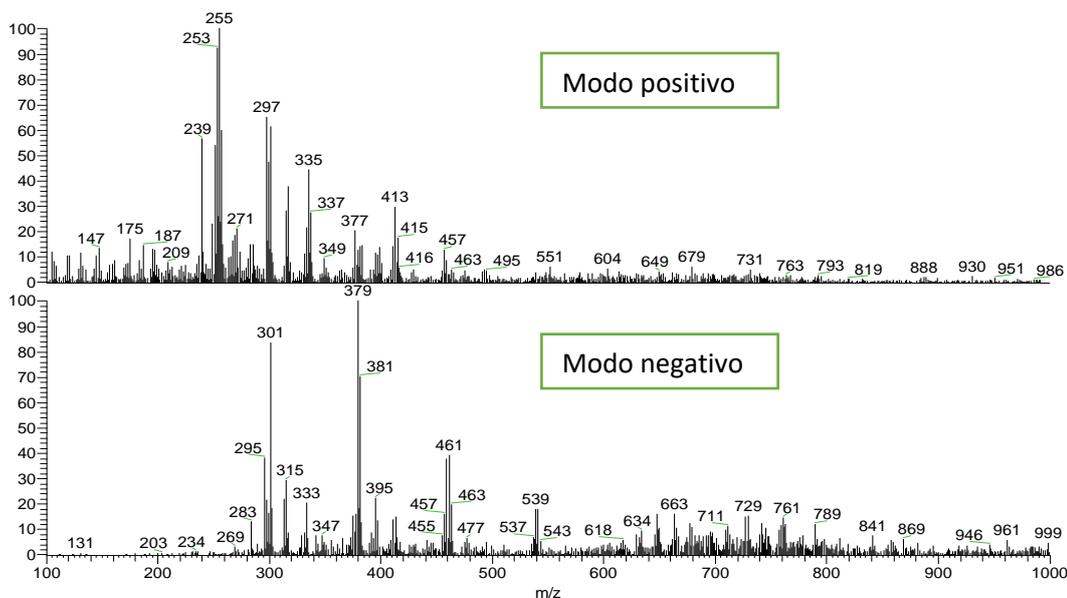


FIGURA 32 - EM - APCI Full Scan (M+/M-) RBAa

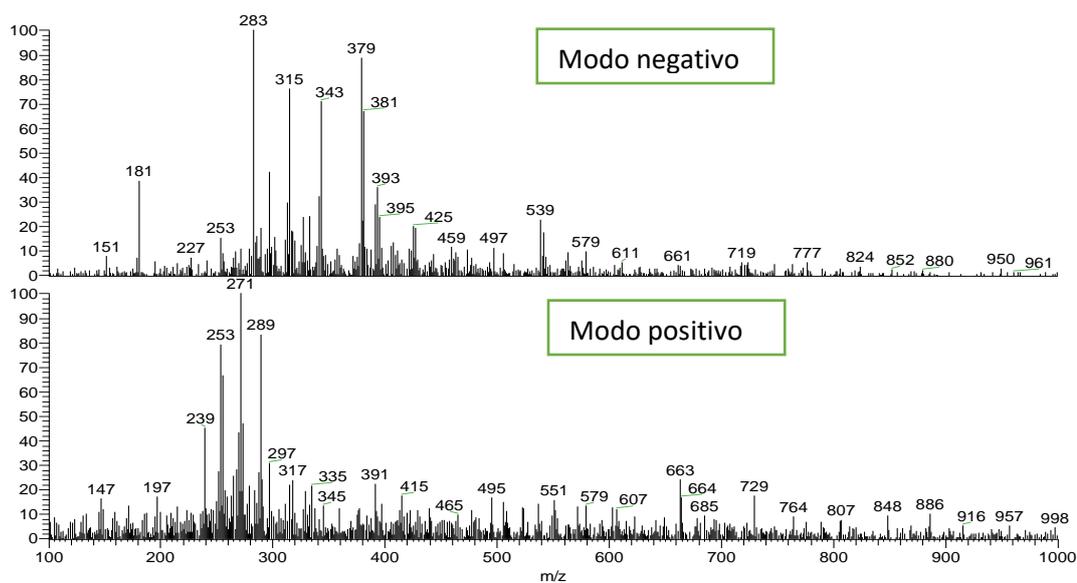


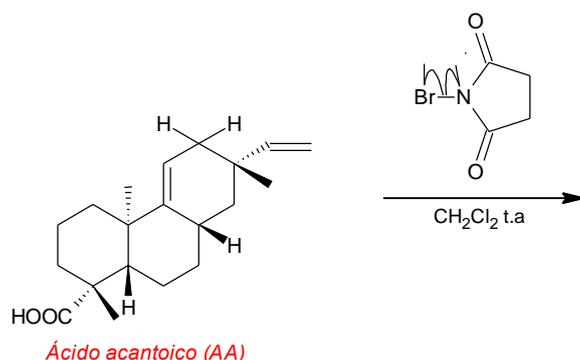
FIGURA 33 - EM - APCI Full Scan (M-/M+) YC_{Br}

A amostra YC_{Br} foi submetida a análise espectroscopia de RMN ¹H, a partir da qual foi possível observar na região entre δ 0,5 – 3,0 os sinais de deslocamentos característicos de hidrogênio metilênicos, metílicos e metínicos

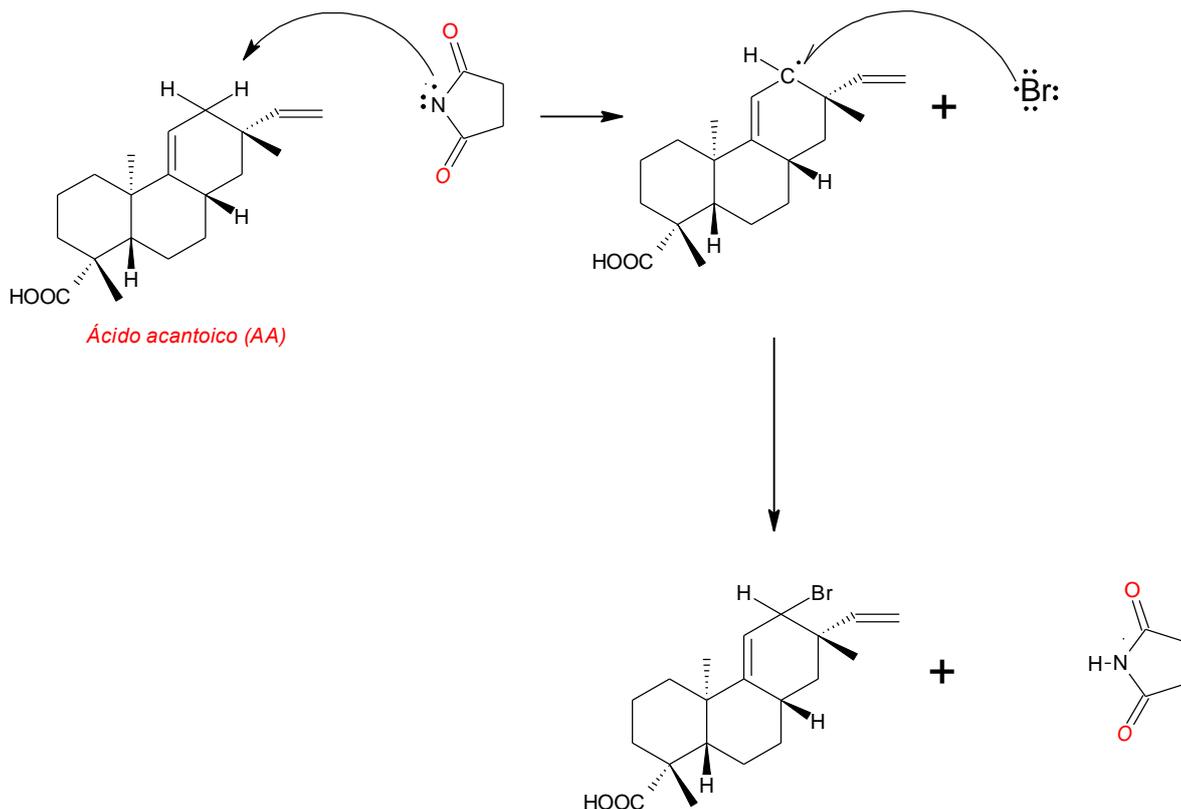
do esqueleto pimaradieno de AA (**FIGURA 34**). No entanto, notamos também um número maior de sinais de grupos metil nessa mesma região, o que nos leva a crer que trata-se de uma provável mistura de diastereoisômeros.

A proposta de mecanismo de reação (AA + halossucinimidas), no exemplo abaixo é apresentado para a reação de substituição com o átomo de Bromo, para a formação do íon molecular m/z 379,12 e 382,12, fórmula molecular $C_{20}H_{28}BrO_2$.

Etapa 1: Quebra homolítica da ligação N-Br



Etapa 2: Ataque do radical do átomo de nitrogênio ao átomo de hidrogênio



ESQUEMA 12 - Mecanismo de reação de formação do derivado de bromo

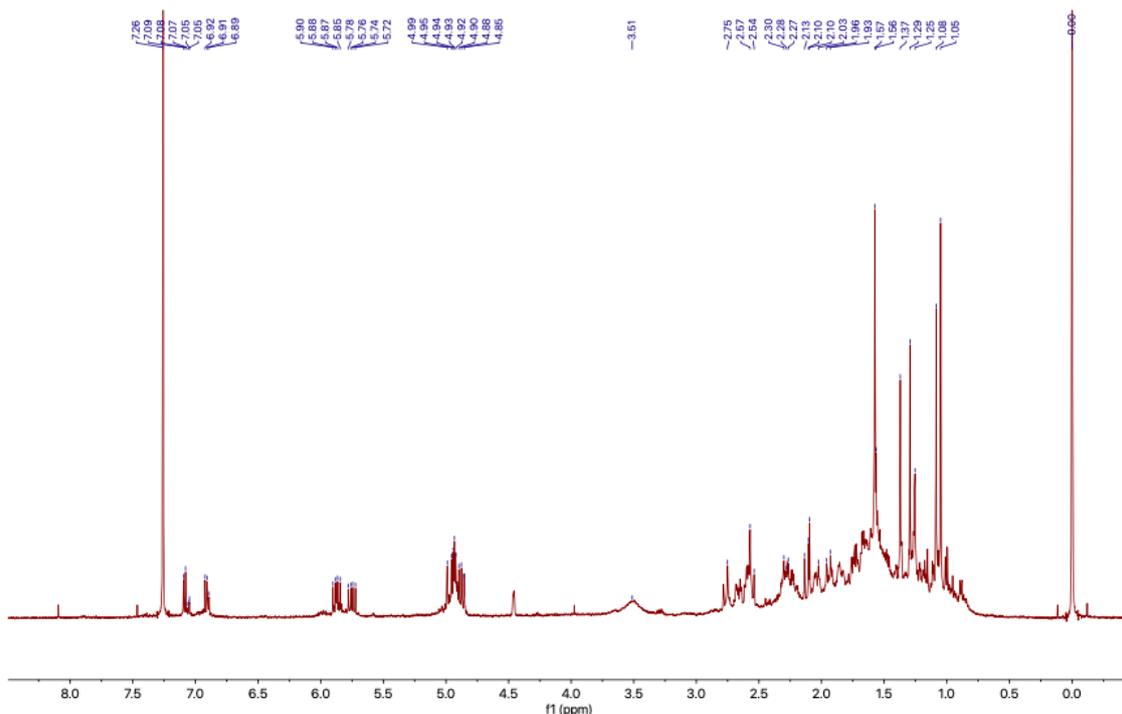


FIGURA 34 - Espectro de RMN ^1H da YC_{Br} (δ 0,5 a 3,0).

Na região de δ 4,5 - 6,0 (**FIGURA 35**), observou-se o desaparecimento dos sinais em δ 5,39 característicos dos hidrogênios vinílicos da dupla ligação endocíclica em C9-C11 do AA. Além disso, os sinais em δ 4,85 e δ 5,83, característicos de hidrogênios vinílicos terminais, apresentaram mudanças de padrão quando comparados com o espectro de RMN ^1H do AA. Constatamos que houve uma substituição do átomo de Hidrogênio com o Bromo, no hidrogênio ligado ao (C-12), porém, devido a reação ser radicalar e o átomo de Bromo ser bastante seletivo, não teve como purificar este derivado.

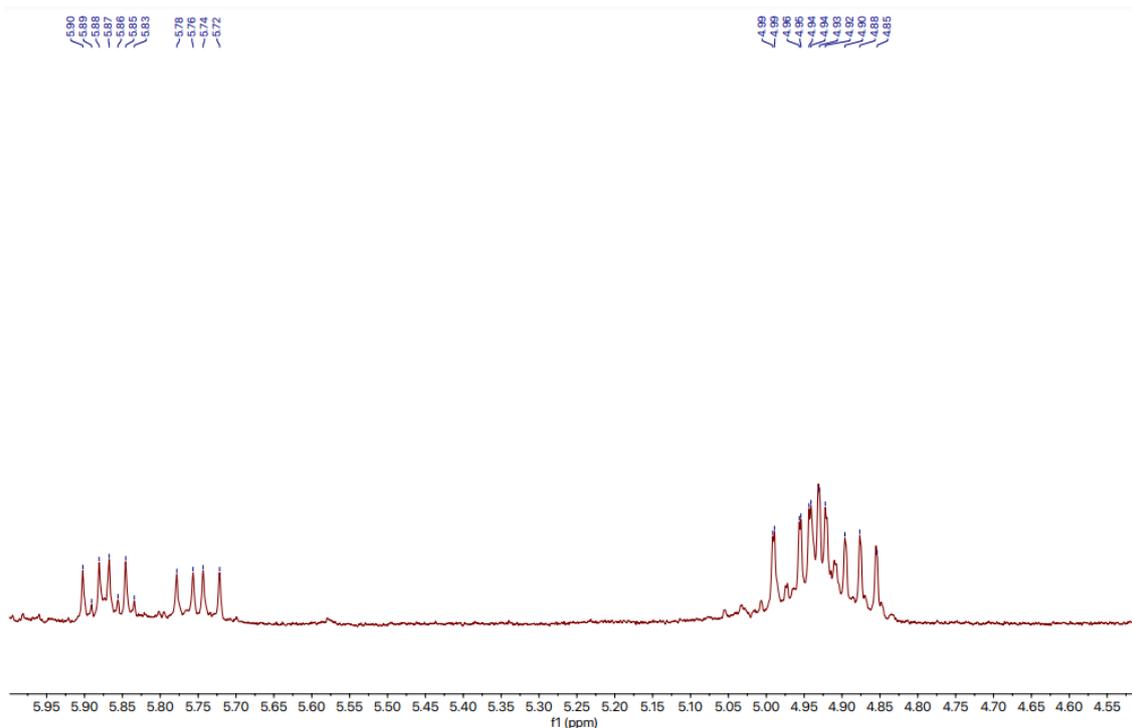


FIGURA 35 - Espectro de RMN ¹H da YC_{Br} (δ 4,5 a 6,0 ppm).

O espectro de massas de alta resolução identificou no modo negativo o íon base m/z 379,2 e 381,2, o que corresponde a razão isotópica de um átomo de Bromo, afirmando ainda mais, a presença do íon molecular, da substância YC_{Br}. O espectro de massas de alta resolução identificou no modo positivo o íon base m/z 379,12 que é correspondente ao íon molecular da substância YC_{Br} e o segundo íon menos intenso é o m/z 379,39, e no modo negativo apresentou a razão isotópica 1:2 correspondente a presença do átomo de Bromo m/z 379, 12 e m/z 381,2.

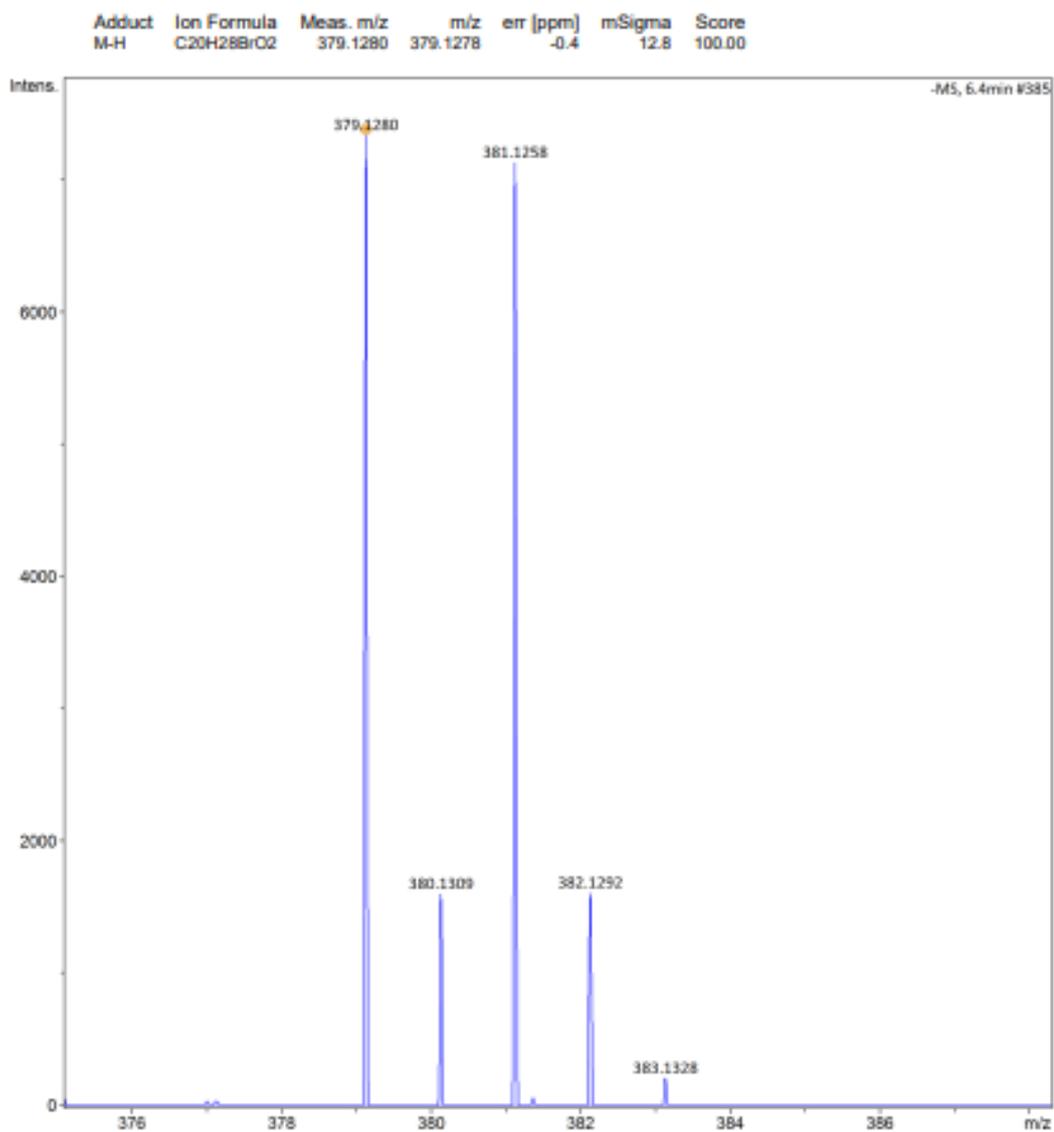


FIGURA 36 - Espectro de massas de alta resolução YC_{Br} (M⁻)

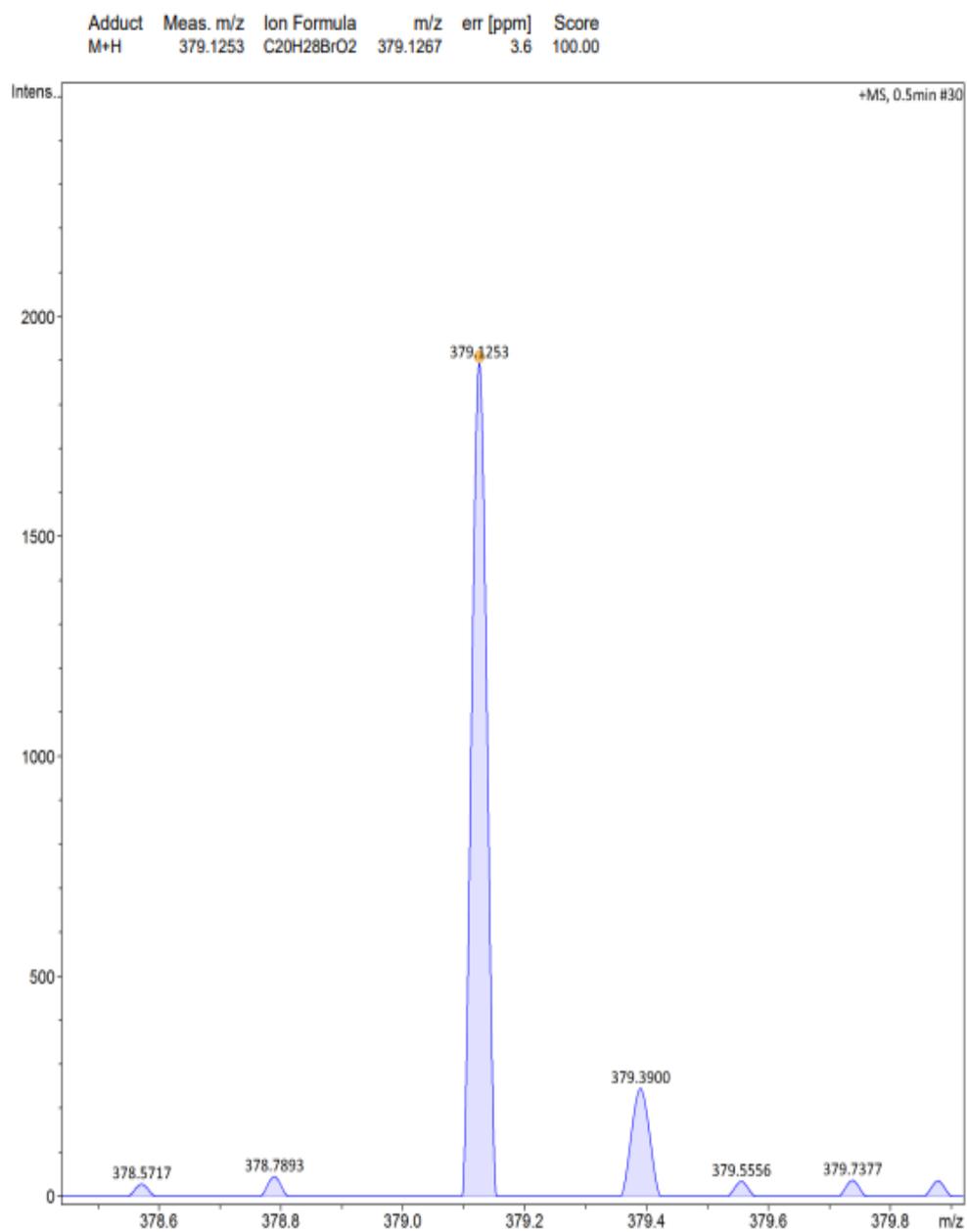


FIGURA 37 - Espectro de massas de alta resolução YC_{Br} (M⁺)

O mesmo procedimento foi empregado na busca pela cloração e iodação do AA. Pelo acompanhamento por CCD (**FIGURA 38**) e (**FIGURA 39**) da reação RCIAA_1 e RIAA_1, verificou-se que não houve mudanças significativas após 48 horas de reação por CCD. Então, as reações ficaram em agitação por 72 horas em temperatura ambiente. Após este tempo, foram feitas análises por EM-APCI de cada reação, e verificou-se uma mistura complexa de íons em ambas, o que de fato pode ser observado nas CCD.

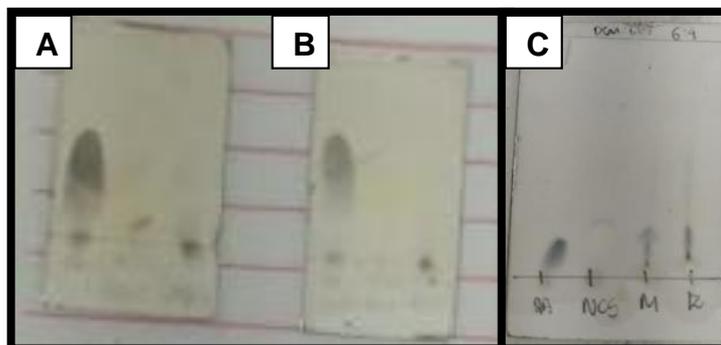


FIGURA 38 - CCD RCIAA_1 A - 24horas de reação, B - 48horas de reação e C – 72horas de reação.

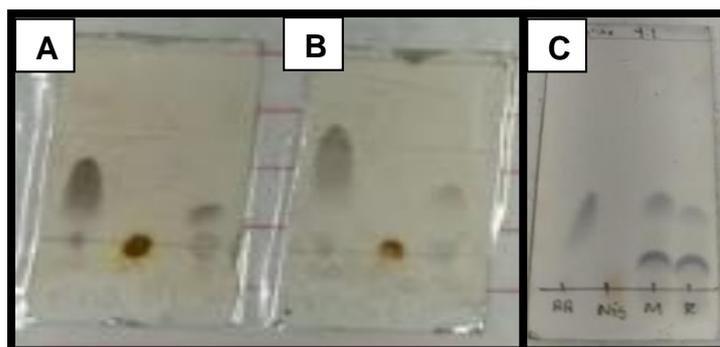


FIGURA 39 - CCD RIAA_1 A - 24horas de reação, B - 48horas de reação e C – 72horas de reação.

5.5. REDUÇÃO DO ÁCIDO ACANTOICO COM LiAlH_4

A reação de redução foi realizada por meio da mistura do ácido acantoico com solução comercial de LiAlH_4 1,0 M em THF. Na análise por CCD, verificou-se a formação de um produto novo após 4 horas. Após esse período, o produto bruto foi extraído e purificado por uma CCDP com o eluente de 3:2 Hex: AcOEt, onde foi possível observar 6 frações diferentes. A fração 1, quando comparada as outras frações da CCDP, apresentou poucas misturas e foi submetida à análise por RMN ^1H para identificação do composto acantol, que já foi isolado

anteriormente (Na et al., 2006). A massa obtida do acantol foi de 0,04 g com rendimento de 84%. O produto foi analisado por RMN ^1H (**FIGURAS 40 e 41**). Nas regiões entre δ 3,6 a 6,0 ppm notou-se sinais característicos dos hidrogênios diastereotópicos do carbinol em δ 4,03 ppm (1H, *d*, $J=11,1$ Hz) e δ 4,33 (1H, *d*, $J=11,0$ Hz), além dos hidrogênios vinílicos em δ 4,89, δ 4,96, δ 5,40 e δ 5,84, de forma análoga ao AA. Com estes dados obtidos de RMN H^1 , constatou-se que o produto acantol foi obtido com êxito neste estudo, porém encontra-se ainda impuro.

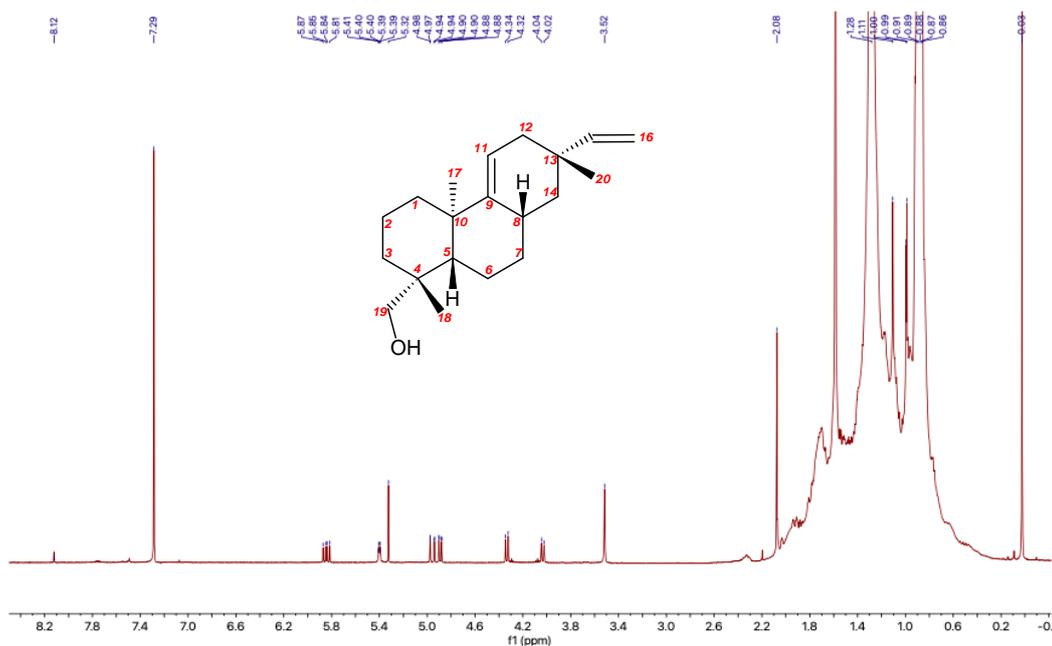


FIGURA 40 - Espectro de RMN ^1H Substância 1 CCDPRRAA_1 (δ -0,5 a 8,5).

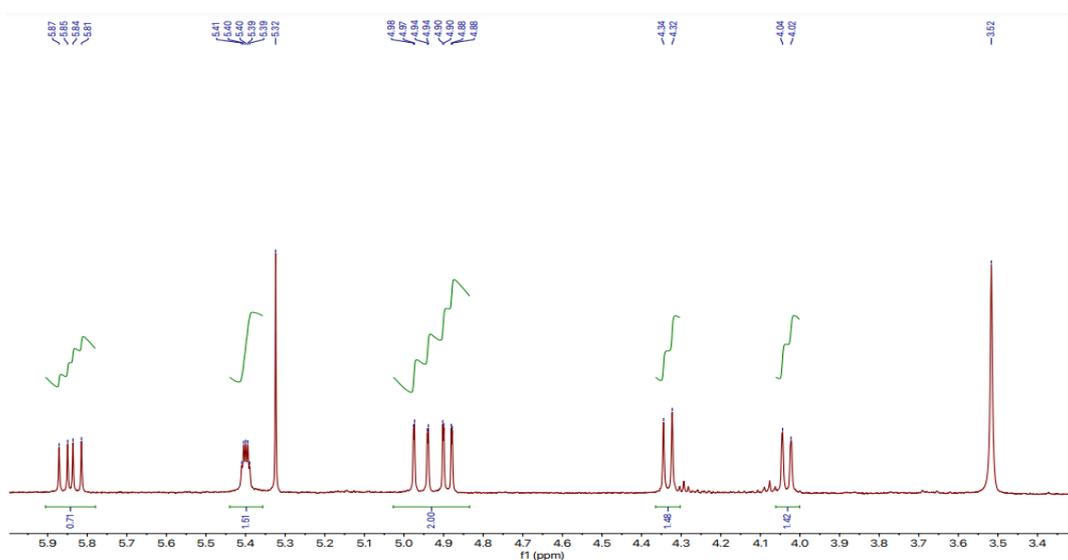


FIGURA 41 - Espectro de RMN ^1H Substância 1 CCDPRRAA_1 (δ 3,3 a 6,0).

5.6. PERSILAÇÃO DA D-GLUCOSE

Até o momento, foi possível estudar as reações de proteção da D-glucose com o grupo TMS de acordo com a proposta original de pesquisa. A glicose foi escolhida como monossacarídeo protótipo inicial de estudo pelo baixo custo e pela boa reatividade. De acordo com os espectros de ^1H (**FIGURAS 42, 43, 44** e da projeção de Newman **FIGURA 45**) e ^{13}C (**FIGURA 46**), podemos assegurar que a reação foi realizada com êxito, embora o produto ainda não esteja completamente puro.

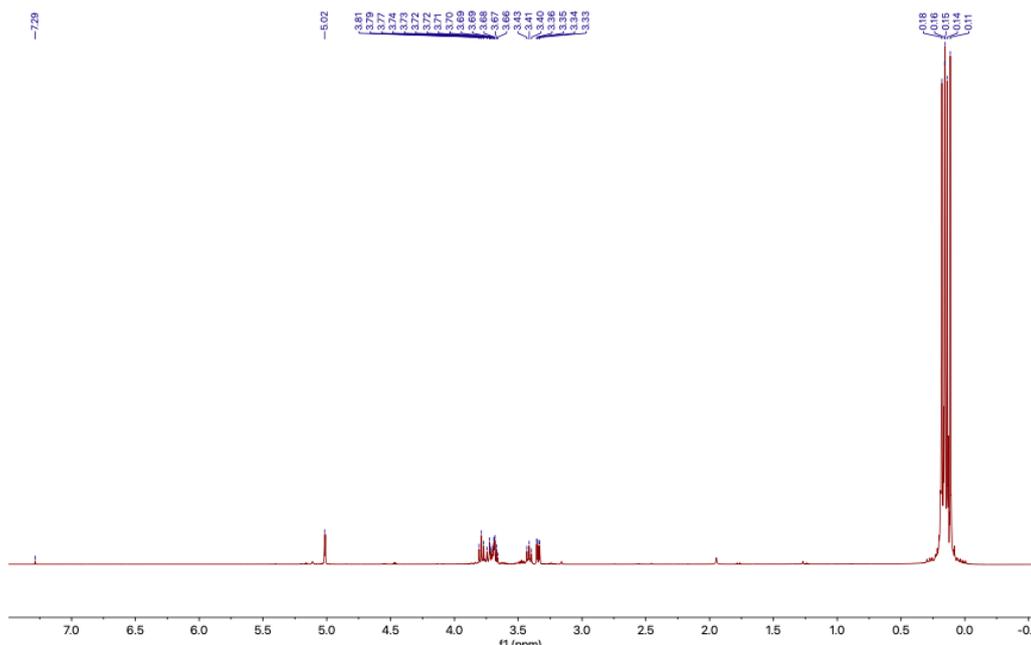


FIGURA 42 - Espectro de RMN ^1H do produto de persilação da D-glucose (δ -0,5 a 7,5).

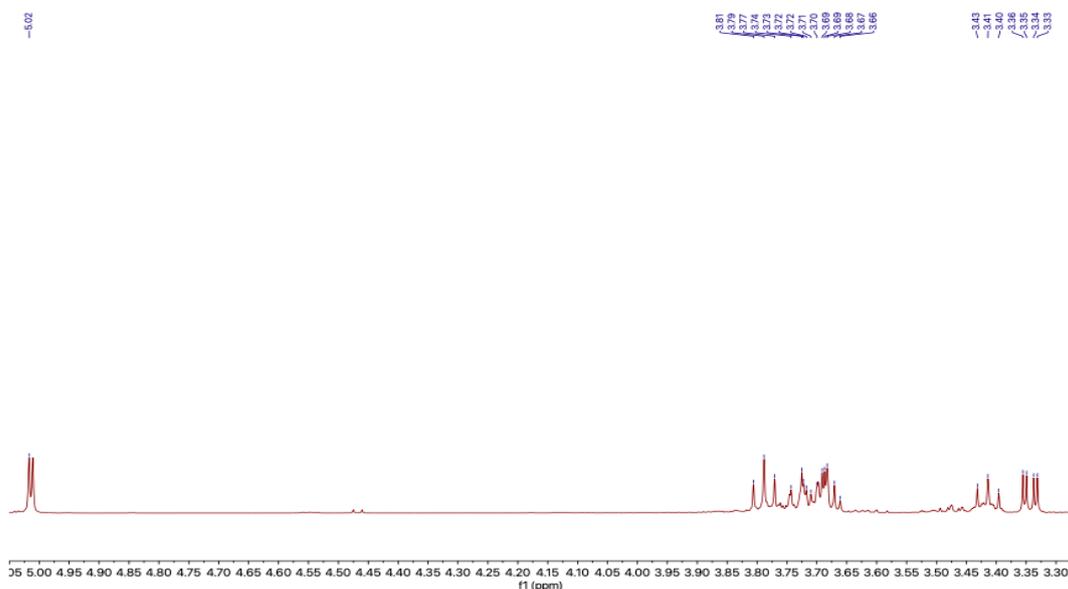


FIGURA 43 - Espectro de RMN ^1H do produto de persilação da D-glucose (δ 3,3 a 5,1).

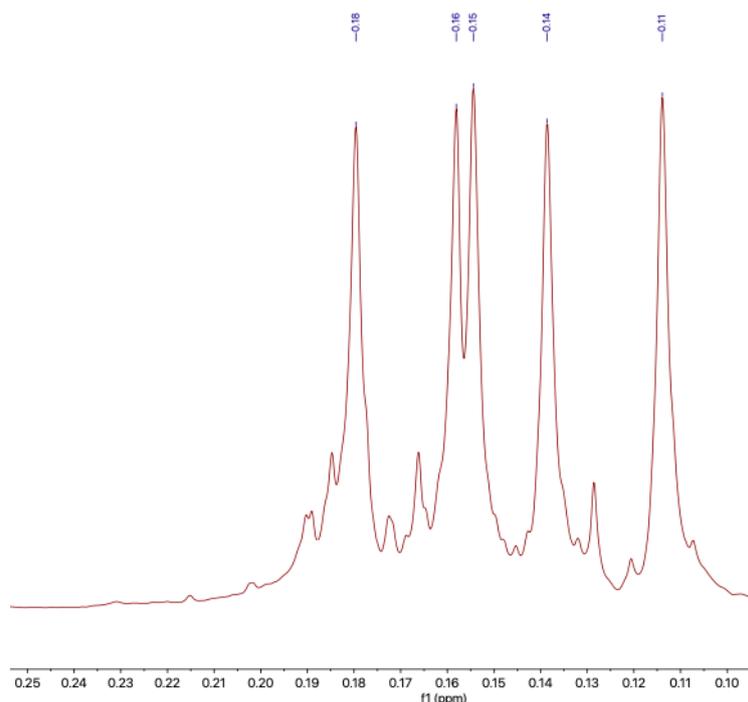


FIGURA 44 - Ampliação do espectro de RMN ^1H do produto de persilação da D-glucose (δ 0,04 a 0,28).

Além dos sinais de hidrogênios típicos de monossacarídeos entre δ 3,30 e δ 3,90, o duplo em δ 5,01 com constante de acoplamento de 3,1 Hz referente ao hidrogênio ligado ao carbono anomérico nos permite concluir que o anômero obtido é do tipo α . Pode-se concluir esse achado observando-se o ângulo diedro (θ) entre os hidrogênios **H1** e **H2**, em ângulo de aproximadamente 60° no anômero α . A constante de acoplamento em aproximadamente 3,0 Hz coaduna com essa constatação pela curva de Karplus (**FIGURA 45**). Por outro lado, o acoplamento entre dois hidrogênios em posição diaxial ($\theta \sim 180^\circ$) apresenta constante J de mais ou menos 7,0 Hz. Além disso, o sinal do próton anomérico em $\sim \delta$ 5,00 reforça a atribuição ao anômero α , já que esse mesmo sinal tende a aparecer em mais ou menos δ 4,00 no isômero β .

O sucesso da persilação pode ser comprovado pelos simpletos que aparecem entre δ 0,00 e δ 0,50 (**FIGURA 46**), onde podem ser contados 5 simpletos mais intensos, correspondendo cada um a um grupo TMS ligado a um dos cinco oxigênios não equivalentes dos grupos álcool do material de partida. As metilas de cada grupo TMS são quimicamente equivalentes entre si, e caem

em campo alto em virtude do efeito amplo de blindagem promovido pelo átomo de silício.

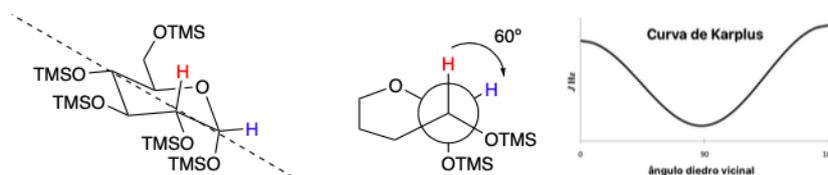


FIGURA 45 - Posição equatorial do hidrogênio anomérico evidenciada pela conformação de Newman, gerada por meio da observação através da ligação C2-C1 (linha pontilhada), e a curva de Karplus.

O espectro de RMN ^{13}C corrobora para a atribuição da estrutura do produto (**FIGURA 46**). Observam-se cinco sinais de carbonos entre $\delta -0,5$ e $1,5$ em relação a cinco grupos de carbonos equivalentes das metilas dos grupos TMS inseridos. Além deles, há seis sinais de carbonos oxigenados em $\delta 72,2$, $\delta 72,5$, $\delta 74,0$, $\delta 74,2$ e $\delta 93,9$ (esse último refere-se ao anomérico), o que confirma a atribuição estrutural do produto perssilado.

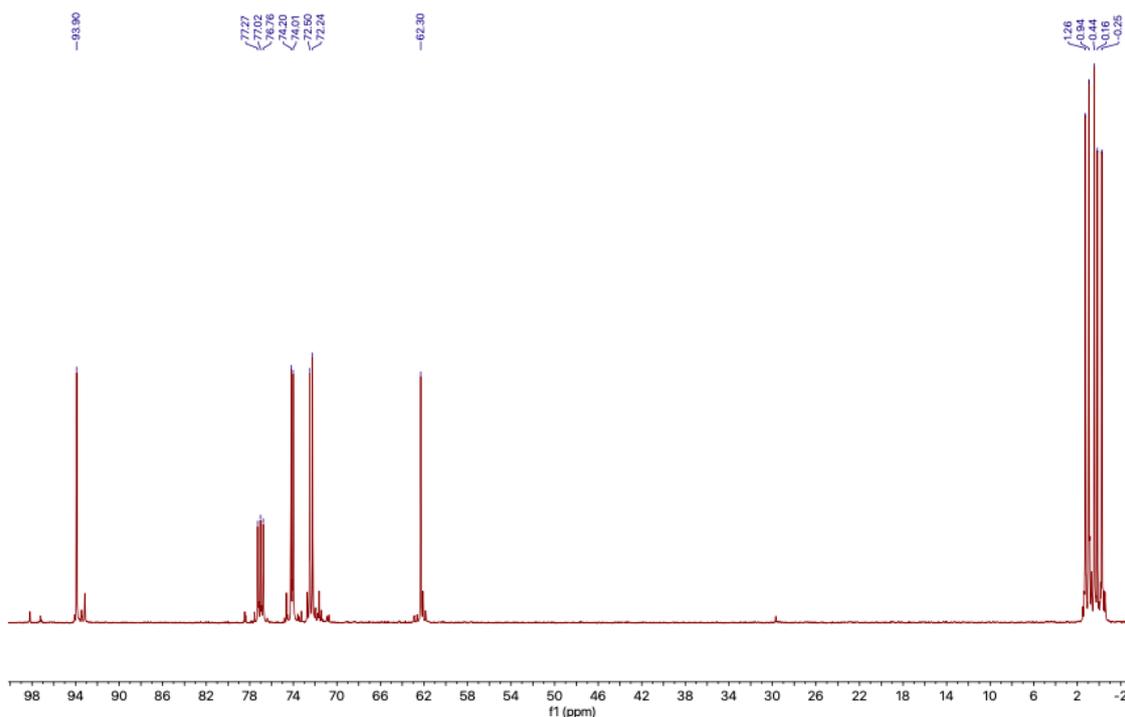


FIGURA 46 - Espectro de RMN ^{13}C do produto de perssilação da D-glucose ($\delta -5,0$ a $100,0$).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As sínteses realizadas neste trabalho, comprovaram que o AA é uma excelente substância para inserções de átomos, sua ligação dupla substituída apresentou ser um sítio nucleofílico de suma importância para os produtos formados na síntese de epoxidação, e o derivado formado nesta reação apresentou uma boa atividade com relação a enzima AcHE, e com relação as reações de halogenações, observou-se uma certa dificuldade, na separação dos derivados halogenados formados, acredita-se que é devido as reações com eles serem do tipo radicalar, o que acaba favorecendo vários derivados que são formados por reações rápidas aos carbonos alílicos. Os derivados do AA com Bromo, Cloro e Iodo, serão submetidos a análise por HPLC para verificação de um sistema móvel eficaz para separação das substâncias presentes nestas reações.

A reação de persilação de açúcares obteve grande êxito quando analisado o espectro de RMN ^1H e ^{13}C todavia a purificação da substância Acantol produto proveniente da reação de redução do AA, não teve êxito em quantidade suficiente para dá continuidade a inserção de açúcares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alali, F.Q.; LIU, X.X.; Mclaughlin, J.L. Annonaceous acetogenins: recente progress. **Journal of Natural Products**, v.62, n.3, p.504-40, 1999.

Alcântara, J. M. **Composição química e potencial biológico dos óleos essenciais de Annonaceae dos campi INPA e UFAM**. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Amazonas (UFAM), 2015.

Allain, Eric J. et al. Epoxidação altamente enantiosseletiva de alcenos dissustituídos com peróxido de hidrogênio catalisada por cloroperoxidase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 10, pág. 4415-4416, 1993.

Almeida, R. A.; Agra, M.F.; Maior, F. N. S.; Sousa, D.P. **Essential oils and their constituents: Anticonvulsivant activity: a review**. *Molecules*, v. 16, p.2726-2742, 2011

Alves, P. B.; Victor, M. M. Reação da cânfora com boroidreto de sódio: uma estratégia para o estudo da estereoquímica da reação de redução. **Química Nova**, v. 33, p. 2274-2278, 2010.

Antunes, Q. G. **Desenvolvimento de um biolubrificante derivado do óleo de moringa Oleífera Lam**. 2017.

Araújo, F. H. S. D., Figueiredo, D. R. D., Auharek, S. A., Pesarini, J. R., Meza, A., Gomes, R. D. S., ... & Oliveira, R. J. In vivo chemotherapeutic insight of a novel isocoumarin (3-hexyl-5, 7-dimethoxy-isochromen-1-one): Genotoxicity, cell death induction, leukometry and phagocytic evaluation. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, p. 665-675, 2017.

Balraju V.; Reddy. D. S.; Periasamy, M.; IQBAL, J. Synthesis of small cyclic peptides constrained with 3-(3-aminomethylphenyl)propionic acid linkers using free radical-mediated macrocyclization. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 31, p. 5207-5210, 2005.

Barbosa, J. H. P., Oliveira, S. L. D., & Seara, L. T. (2009). Produtos da glicação avançada dietéticos e as complicações crônicas do diabetes. *Revista de Nutrição*, v. 22, p. 113-124, 2009.

Batista, R., Humberto, J. L., Chiari, E., & de Oliveira, A. B. Synthesis and trypanocidal activity of ent-kaurane glycosides. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(1), p. 381-391, 2007.

Bitencourt, Thiago Bergler. **Formação de epóxidos e oxaziridinas via química-enzimática**. Dissertação de Mestrado, 2006.

Brown, H. C. Boranes in Organic Chemistry. In: **Advances in Organometallic Chemistry**. Academic Press, p. 1-20, 1973.

Castanheiro, Raquel AP et al. Dihydroxyxanthenes prenylated derivatives: synthesis, structure elucidation, and growth inhibitory activity on human tumor cell lines with improvement of selectivity for MCF-7. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 15, n. 18, p. 6080-6088, 2007.

Chang, T.-H. et al. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell**, v. 22, n. 2, p. 454–467, 2010.

Cheeseman, K. H.; Slater, T. F. An introduction to free radical biochemistry. **British medical bulletin**, v. 49, n. 3, p. 481-493, 1993.

Clayden J, Greeves N, Warren SG. **Organic Chemistry**. Oxford: Oxford University Press; 2012.

Costa, c. M. S. ; Jesus, s. C. A. ; Soares, I. N. ; Bitencourt, h. R. ; Silva, s. C. ; Silva, s. Y. S. ; Marinho, p. S. B. ; Costa, e. V. ; Marinho, a. M. R. . Biotransformation of acanthoic acid diterpene by the fungus *Xylaria* sp. (EJCP07). In: 7th Brazilian Conference on Natural products and XXXII RESEM. Rio de Janeiro-RJ. Annals of 7th Brazilian Conference on Natural products and XXXII RESEM. Rio de Janeiro-RJ: Sociedade Brasileira de Química, v. 7. p. 1-1, 2019.

Costa, E. V. et al. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. **Natural Product Research**. Abingdon, v. 27, p. 997-1001, 2013.

Costa, E. V. et al. Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Natural Product Communications**. Westerville, v. 7, n. 2, p. 265-266, 2012.

Costa, P. R. R.; Pilli, R. A.; Pinheiro, S.; Vasconcelos, M. L. A. A.; **Substâncias Carboniladas e seus Derivados**, Bookman: Porto Alegre, 2003.

Crich, David. Mechanism of a chemical glycosylation reaction. **Accounts of chemical research**, v. 43, n. 8, p. 1144-1153, 2010.

Cruz J. F. dos S.; et al. Química e sustentabilidade: Análise comparativa da obtenção de lubrificantes biodegradáveis pela epoxidação do óleo de soja comercial e usado em fritura. 2022.

Cruz, P. E. O. Estudo fitoquímico e investigação das atividades antioxidante, antimicrobiana e larvicida das cascas de *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal de Sergipe. Campus São Cristóvão, São Cristóvão, f.136, 2011.

Da Rocha, C.A. M. et al. Prospecção científica e tecnológica do ácido caurenico, um diterpeno bioativo. **Cadernos de prospecção**, v. 13, n. 1, p. 256-256, 2020.

Dou, Jia-Yi et al. Acanthoic acid, unique potential pimaradiene diterpene isolated from *Acanthopanax koreanum* Nakai (Araliaceae): A review on its pharmacology, molecular mechanism, and structural modification. **Phytochemistry**, p. 113-247, 2022.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem. Pharmacol.** 7, 88–95.

Farias, M. **Síntese, caracterização de catalisadores e estudo de suas atividades catalíticas na epoxidação de óleos vegetais**. 2010.

Feitosa, C. M. et al. Atividades biológicas, farmacológicas e nutricionais de *Annona crassiflora* Mart.(Araticum)—estado da arte. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 19, n. 3, p. 374-381, 2017.

Ferreira, I. **Síntese de compostos aromáticos e heteroaromáticos iodados fazendo uso de iodo e peróxido de hidrogênio em água promovida por ultrassom. 2012. 107 f.** 2017. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal de Dourados, Mato Grosso do Sul, 2012.

Finatto, Jordana et al. A importância da utilização da adubação orgânica na agricultura. **Revista destaques acadêmicos**, v. 5, n. 4, 2013.

Fischer, H. **The persistent radical effect: A principle for selective radical reactions and living radical polymerizations.** Chem. Rev. 101, 3581–3610, 2001.

Fuentefria AM, Andrade SF, Silveira GP, Kulkamp I, Pippi B, Machado MM, et al. Caracterização do perfil de susceptibilidade a antifúngicos azólicos de uma micoteca como embasamento para estratégias de combate a candidemias. **J Infect Control.** 2016

Furst, Carolina Garcia et al. Síntese e estudo do mecanismo de formação de 2, 3-di-hidrobenzofuranos a partir de 2-alil-fenóis e n-bromo-succinimida. 2020.

G.A. Asare et al. Antiproliferative activity os aqueous leaves extract of *Annona muricata* L. on the prostate, BPH-1 cells, and some target genes. **Integr. Cancer Ther.** (2015)

Gélinas, M., Lajeunesse, A., Gagnon, C., Gagné, F., 2013. Temporal and Seasonal variation in acetylcholinesterase activity and glutathione-S-transferase in amphipods collected in mats of *Lyngbya wollei* in the St-Lawrence River (Canada). **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 94, 54–59.

Gontijo, V. S. et al. **Planejamento e semissíntese de novos análogos da Fukugetina com potencial atividade antileishmania, antioxidante e antiproteolítica.** Dissertação de Mestrado. 2011.

Haines, A. H.; Methods for the Oxidation of Organic Compounds: Alkanes, Alkenes, Alkynes, and Arenes. **Ed.: Academic Press**, Londres, 1985.

Herman R. **Tecnologia das Matérias Graxas**, Vol. III, Livraria Triângulo Editora Ltda, São Paulo, 2001.

Heusden, Van E. Flowers of annonaceae. **Blumea suppl**, v. 7, p. 1-218, 1992.

Hoover, J.M.; Stahl, S.S. Synth. Air Oxidation of Primary Alcohols Catalyzed by Cooper (I)/ TEMPO. Preparation of 2-Amino-5-bromo-benzaldehyde. **Organic Syntheses**, 90, 240, 2013

Huang, Gangliang; Mei, Xinya. Synthetic glycosylated natural products have satisfactory activities. **Current drug targets**, v. 15, n. 8, p. 780-784, 2014.

Jorgensen, K. A. Transition-metal-catalyzed epoxidations. **Chemical Reviews**, v. 89, n. 3, p. 431-458, 1989.

José, S. A. R., Pires, M. D. M., Freitas, A. L. G. E. D., Ribeiro, D. P., & Perez, L. A. A. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 86-93, 2014.

Kasemsuk, Teerapich et al. A novel synthetic acanthoic acid analogues and their cytotoxic activity in cholangiocarcinoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 29, p. 115886, 2021.

Kim et al., 1Young H.; Chung, Bo S.; SANKAWA, Ushio. Pimaradiene diterpenes from *Acanthopanax koreanum*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 6, p. 1080-1083, 1988.

Komarova, Bozhena S. et al. Is an acyl group at O-3 in glucosyl donors able to control α -stereoselectivity of glycosylation? The role of conformational mobility and the protecting group at O-6. **Carbohydrate research**, v. 384, p. 70-86, 2014.

Kren, Vladimír; Martínková, Ludmila. Glycosides in medicine: "The role of glycosidic residue in biological activity". **Current medicinal chemistry**, v. 8, n. 11, p. 1303-1328, 2001.

Krinski, D.; Massaroli, A.; Machado, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de fruticultura**, v.36, p.225-242, 2014.

Lee, F.C; Tien, H. C; Adachi, S. and Yudin, K. A. Synthesis of α -Bromoacetyl MIDA Boronate. **Organic Syntheses**, 97, 157-171, 2020.

Lehnen, D. R. **Epoxidação de biodiesel na ausência de solvente**. 2011.

Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Farias NMP, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. **Rev Bras Farmacogn.** 2006

Lima, L. A. R. S. et al. Avaliação da atividade citotóxica das sementes de *Annona cornifolia* A. St-Hil (Annonaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p.629-634, 2012.

Lima, L. A. R. S.; Pimenta, L. P. S.; Boaventura, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1129-1138, 2010.

Loomis, W. David; Croteau, Rodney. Biochemistry of terpenoids. In: **Lipids: structure and function**. Academic Press, p. 363-418, 1980.

Lummen, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1364, n.2, p.287-296, 1998.

Ma, Chaoqun; XING, Dong; HU, Wenhao. Catalyst-free halogenation of α -diazocarbonyl compounds with N-halosuccinimides: synthesis of 3-halooxindoles or vinyl halides. **Organic letters**, v. 18, n. 13, p. 3134-3137, 2016.

Maas, P. J., Maas, H., Miralha, J. M. S., & JUNIKKA, L. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. **Rodriguésia**, 58, 617-662, 2007.

Maas, P.J.M.; Rainer, H.; Lobão, A.Q. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil** Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

Mendonça, G. F., & Mattos, M. Uma metodologia simples e eficiente para a cloração de compostos aromáticos ativados utilizando o ácido tricloro-isocianúrico. **Química Nova**, v. 31, p. 798-801, 2008.

Menezes, Sabrina Lima Murussi et al. **Plantas e metabólitos secundários: uma proposta para o ensino de química orgânica**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Montoia, A. **Semi-síntese de derivados da elipticina e atividade antimalárica de isolados e infusões de *Aspidosperma vargasii***. Dissertação de Mestrado. UFAM. 2013.

Mosca, J.L.; Cavalcante, C. E. B.; Dantas, T. M. Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação. **Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical**, 2006.

Na, MinKyun et al. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by diterpenoids isolated from *Acanthopanax koreanum*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 16, n. 11, p. 3061-3064, 2006.

Nigudkar, S. S., & Demchenko, A. V. Stereocontrolled 1, 2-cis glycosylation as the driving force of progress in synthetic carbohydrate chemistry. *Chemical science*, 6(5), p. 2687-2704, 2015.

Nunez, Cecilia V. et al. Diterpene acids from *Mikania* sp. nov (Asteraceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 32, n. 2, p. 233, 2004.

Oliveira, A.C., Rejane, C.S., Carlos, A.P.L., Felipe, M.A.S., Sergio, M.N., Rosemary, A.R., Wanderli, P.T., Rita, C.S.N., 2022. Essential oil of *Piper purusanum* C.DC (Piperaceae) and its main sesquiterpenes: biodefensives against malaria and dengue vectors, without lethal effect on non-target aquatic fauna. *Environ. Sci. Pollut.*

Oliveira, M. H. DE et al. Semi-Síntese: Uma Solução Para Problemas Farmacológicos De Produtos Naturais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 1, p. 62–88, 2012.

Oz, Murat et al. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. **Pharmacology & therapeutics**, v. 152, p. 83-97, 2015.

Pinheiro, M. L. B., Xavier, C. M., De souza, A. D., Rabelo, D. D. M., Batista, C. L., Batista, R. L., ... & Nakamura, C. V. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 20, 1095-1102, 2009.

Polkowski, K., Popiołkiewicz, J., Krzeczyński, P., Ramza, J., Pucko, W., Zegrocka-Stendel, O., ... & Gryniewicz, G. Cytostatic and cytotoxic activity of synthetic genistein glycosides against human cancer cell lines. *Cancer Letters*, 203(1), p. 59-69, 2004.

Qiushi, Wang; Guanchua, Li; Guangquan, Xu. Acanthoic acid ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. **European journal of pharmacology**, v. 750, p. 32-38, 2015.

Reveglia, Pierluigi et al. Pimarane diterpenes: Natural source, stereochemical configuration, and biological activity. **Chirality**, v. 30, n. 10, p. 1115-1134, 2018.

Rocha, Tatiana LAC et al. Study of chemical modification of SBR and BR polydiene. **Polímeros**, v. 14, p. 318-321, 2004.

Romero, A. L. **Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaíba: configuração absoluta de terpenos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2007

Romero, K. J., Galliher, M. S., Pratt, D. A. & Stephenson, C. R. J. Radicals in natural product synthesis. **Chem. Soc. Rev.** 47, 7851–7866, 2018.

Sable, Dhanashri A. et al. Heteroatom-Assisted Regio- and Stereoselective Palladium-Catalyzed Carboxylation of 9-Allyl Adenine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 87, n. 19, p. 12574-12585, 2022.

Saikia, I., Borah, A. J., & Phukan, P. (2016). Use of bromine and bromo-organic compounds in organic synthesis. *Chemical reviews*, 116(12), 6837-7042.

Salida, I.; Borah, A. J.; Phukan, P. Use of Bromine and Bromo-Organic Compounds in Organic Synthesis. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 14, p. 8312-8312, 2016.

Santin, C. K. **Hidrogenação e epoxidação de polidienos como alternativa para a obtenção de novos materiais**. 2008.

Sauquet, H., Doyle, J. A., Scharaschkin, T., Borsch, T., Hilu, K. W., Chatrou, L. W., & Le Thomas, A. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 142(2), p.125-186, 2003.

Schewe, H. et al. Biooxidation of monoterpenes with bacterial monooxygenases. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 10, p. 1885-1899, 2011.

Sell, C. S.. Terpenoids. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**, 2000.

Sheng, H.; Sun, H. Synthesis, biology and clinical significance of pentacyclic triterpenes: a multi-target approach to prevention and treatment of metabolic and vascular diseases. **Natural Products Report**, v. 28, p. 543-593, 2011.

Silva, T.F et al. **Plantas leishmanicidas da Amazônia Brasileira: uma revisão**. 2016

Slayden, S. W.; Liebman, J. F.; Sawaki, Y; The Chemistry of Hydroxyl, Ether and Peroxide Groups. ED. Patai, S., Chichester: J. Wiley; 103-133, 587-656, 1993.

Smith, K.; Beauvais, R.; Holman, R. W. Selectivity versus reactivity: The safe, efficient metal hydride reduction of a bifunctional organic. **Journal of Chemical Education**, v. 70, n. 4, p. A94, 1993.

Soares, L. N **Estudo fitoquímico e citotoxicidade dos constituintes das cascas de *Annona amazonica* (ANNONACEAE)**. Trabalho de Conclusão de Curso. UFAM.2018.

Sousa, M.P.; Matos, M.E.O.; Matos, F.J.A. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza: Imprensa Universitária, p. 771, 1991.

Souto, Luís Fernando L.; SILVA, Antonio Jorge Ribeiro da. Calisteginas, alcalóides polihidroxilados presentes em hortaliças: frutos e tuberosas. **Química Nova**, v. 43, p. 37-43, 2020.

Souza Neto, P. R. D., Guimarães, B. M., de Freitas, J. J., Oliveira, R. N., & Freitas Filho, J. R. D. Desenvolvimento nos métodos de glicosilação: Uma chave para acessar suas aplicações na síntese de moléculas bioativas. *Química Nova*, 44, 432-459, 2021.

Studer, A. & Curran, D. P. **Catalysis of Radical Reactions: A Radical Chemistry Perspective**. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 55, 58–102, 2016.

Suwancharoen, S. et al. Acanthoic acid. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 66, n. 7, p. o1531-o1531, 2010.

Theodorakis, E. A. et al. Anti-inflammatory actions of acanthoic acid-related diterpenes involve activation of the PI3K p110g/d subunits and inhibition of NF-κB. **Chem Biol**, v. 21, p. 955-966, 2014.

Togo, H. et al. C-glycosidation technology with free radical reactions. **Synlett**, v. 1998, n. 07, p. 700-717, 1998.

Uchiyama, Taketo; HINDSGAUL, Ole. Per-O-trimethylsilyl-α-l-fucopyranosyl iodide: a novel glycosylating agent for terminal α-l-fucosylation. **Synlett**, v. 1996, n. 06, p. 499-501, 1996.

Veiga Junior, Valdir F., Angelo C. Pinto, and Maria Aparecida M. Maciel. "Plantas medicinais: cura segura?." **Química nova** v. 28 p.519-528, 2005.

Veiga Junior, Valdir F.; PINTO, Angelo C. O gênero *copaifera* L. **Química nova**, v. 25, p. 273-286, 2002.

Vizzoto, M., Krolow, A. C., Weber, G. E. B. *Metabólitos Secundários encontrados em plantas e sua importância*. EMBRAPA: Clima Temperado. Pelotas, RS, 2010.

Vollhard, K. Peter C; Schore, Neil E. *Química orgânica: Estrutura e função*. 4.ed. Porto Alegre: Bookman. p-1112, 2004.

Von Holleben, M. L. A.; Schuch, C. M. Ativação do peróxido de hidrogênio para a epoxidação de olefinas não-funcionalizadas. **Química Nova**, v. 20, p. 58-71, 1997.

Vorona, M. et al. Method for the Preparation of 4- Aryl - 3 – Pyrrolin - 2 - Ones and Their 5- Bromo Derivates. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v.49, n.8, November, 2013.

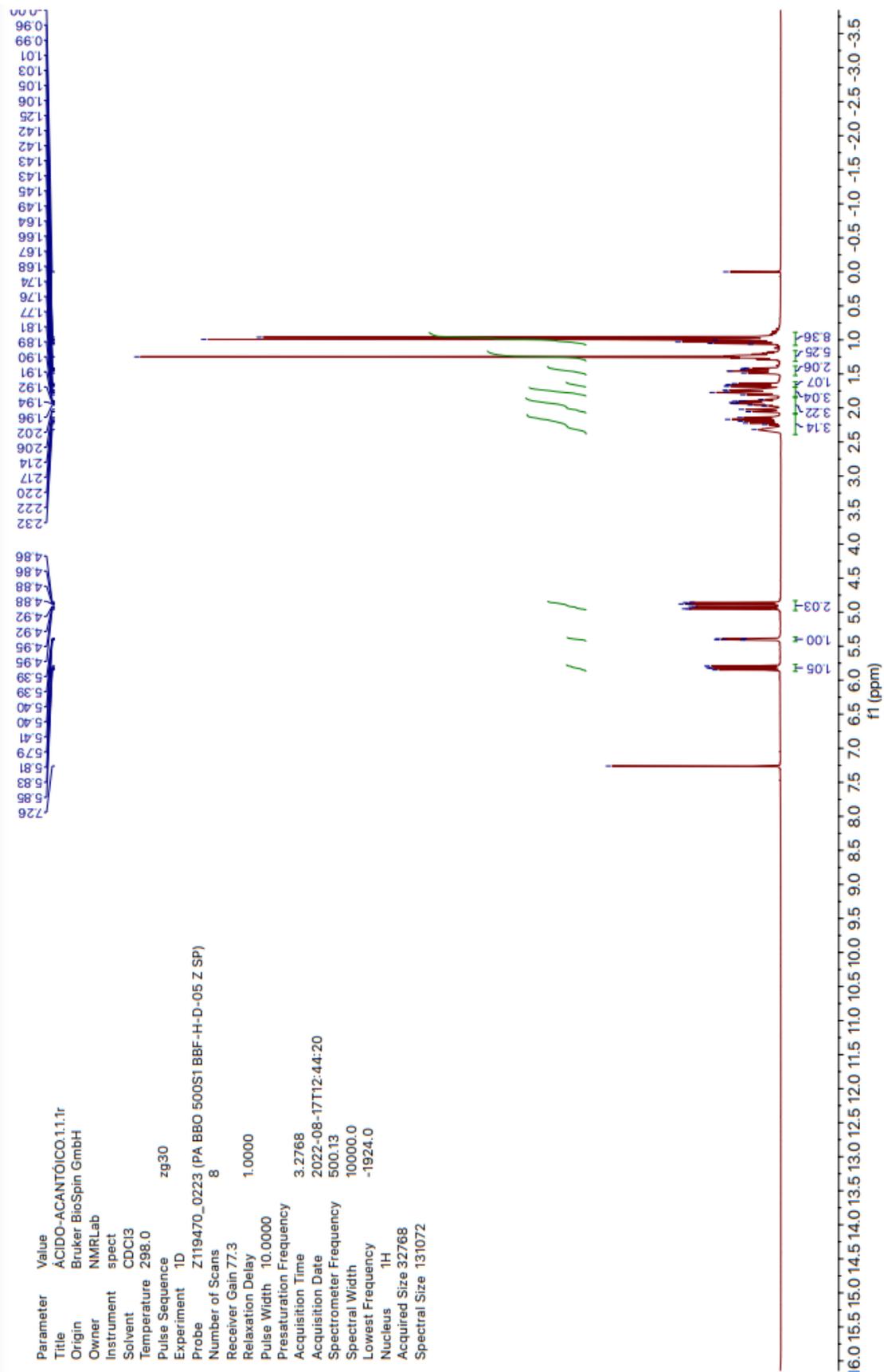
Wilson, Carolina. Determinação das estruturas cristalográficas de epóxido hidrolases de interesse biotecnológico e envolvidas na biossíntese de antibióticos ionóforos. Tese de Doutorado. Unesp, 2017.

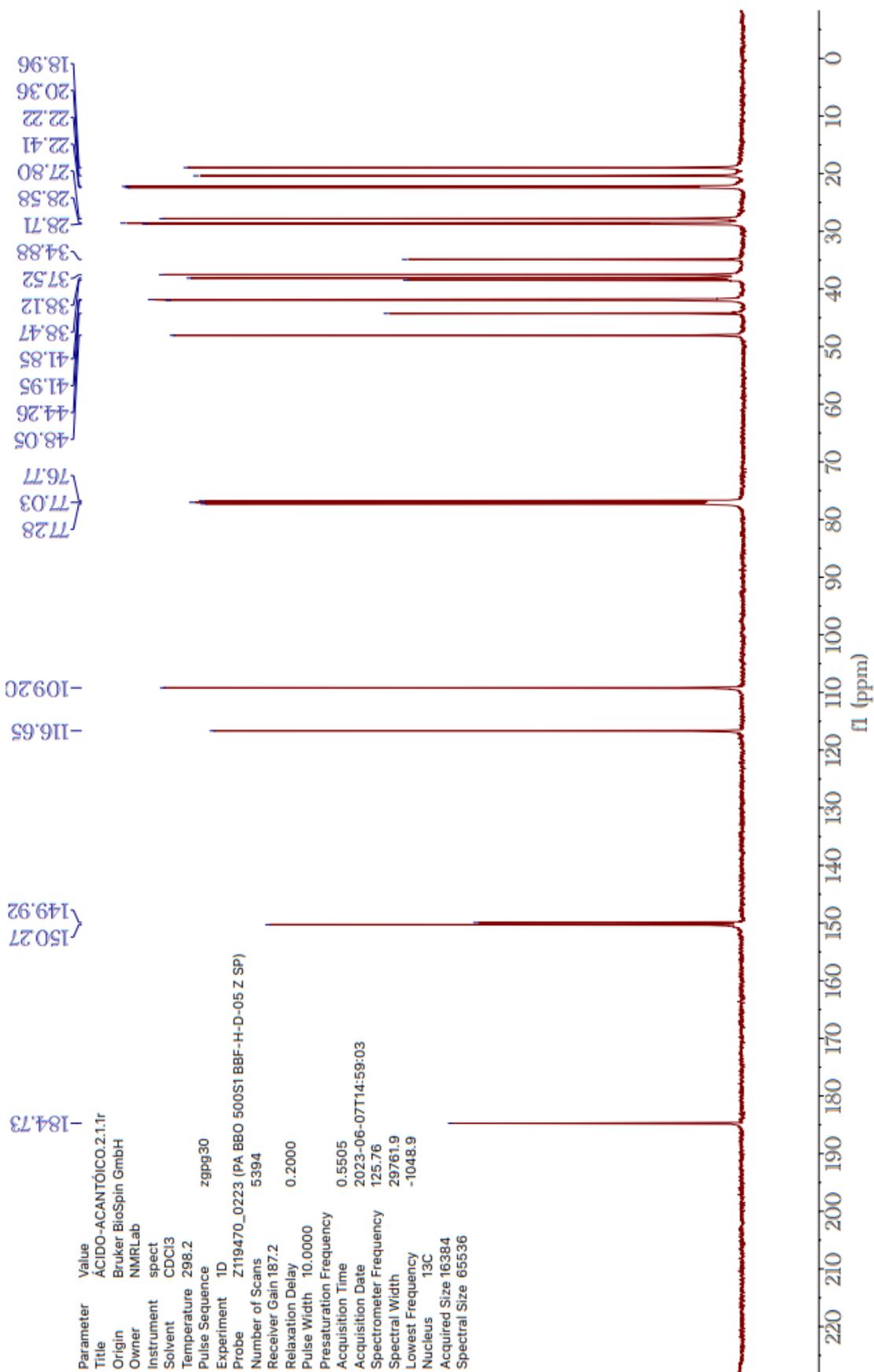
Yang, Z. et al. NCS-promoted thiocyanation and selenocyanation of pyrrolo [1, 2-a] quinoxalines. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 18, n. 44, p. 9088-9094, 2020.

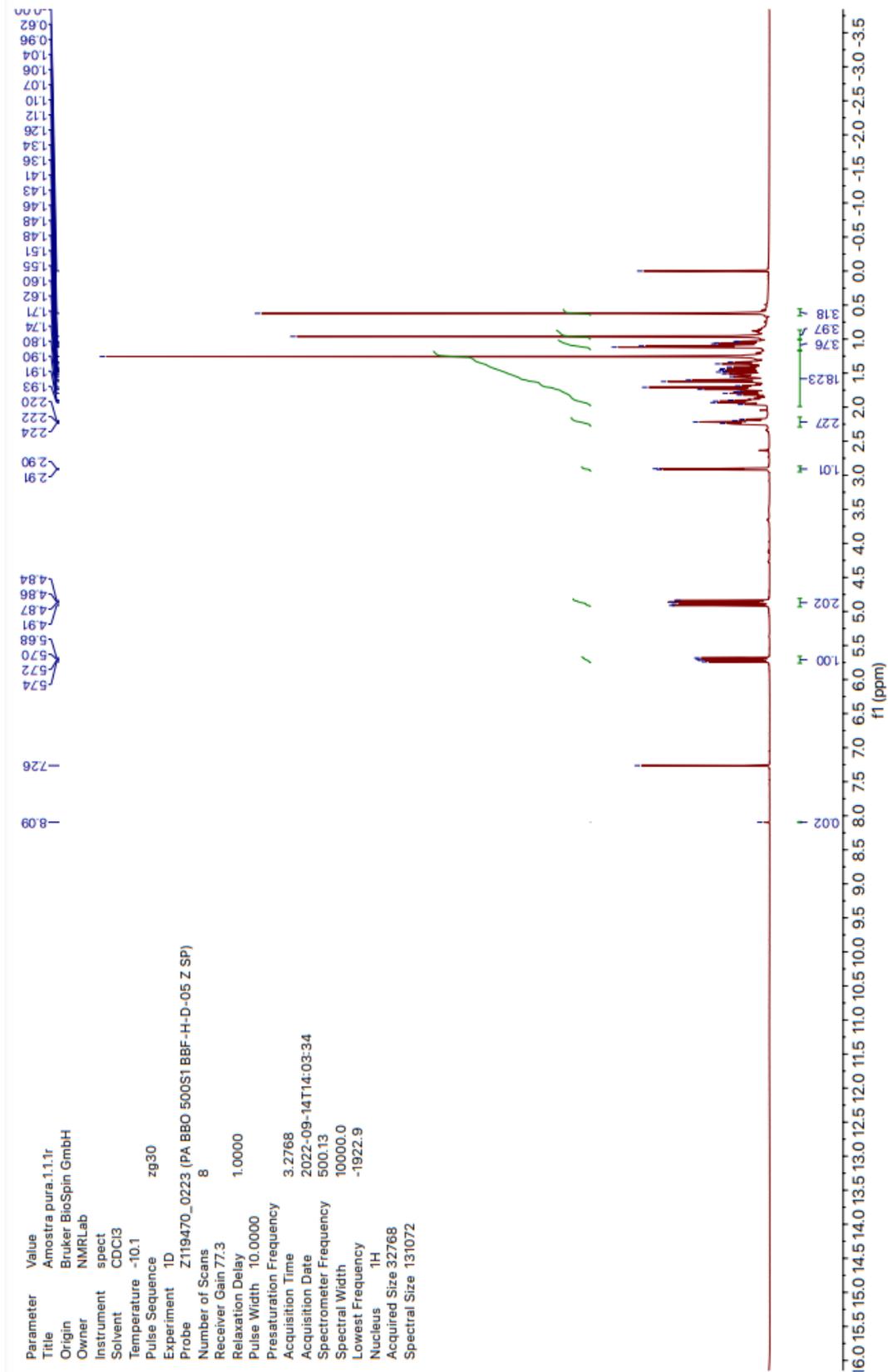
Yao, Y. L., Han, X., Song, J., Zhang, J., Li, Y.M., Lian, L.H., ... & Nan, J. X. Acanthoic acid protectagainst etanol-induced liver injury. Possible role of AMPK activation and IRAK4 inhibition. **Toxicology letters**, v. 281, p. 127-138, 2017.

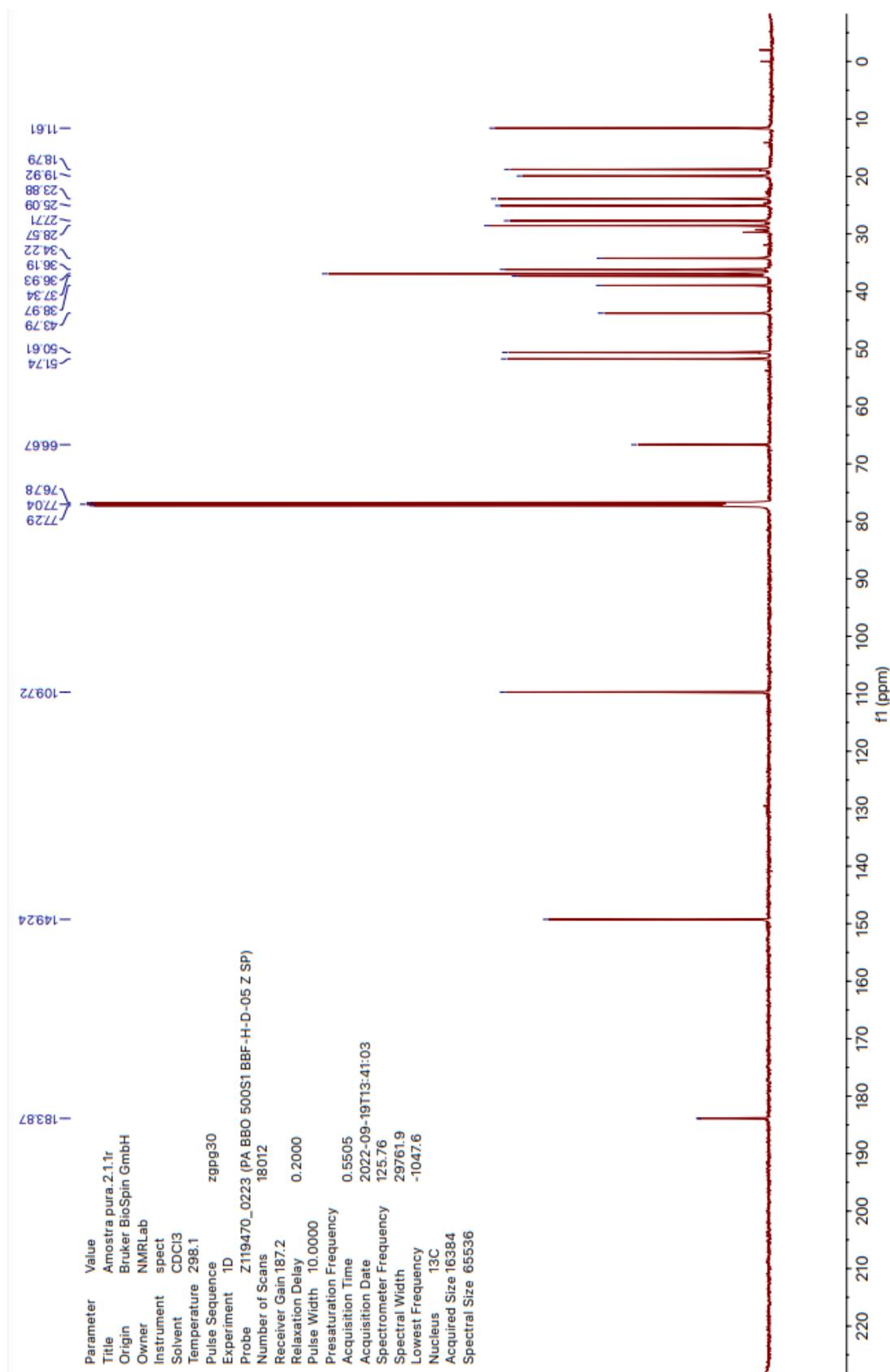
Zafra-polo, M. C.; Gonzáles, M. C.; Estornell, E.; Sahpaz, S.; Cortés, D. Acetogenins from Annonaceae, inhibitor of mitochondrial complex I. **Phytochemistry**, Oxford, v.42, p.253-271, 1996.

Zerbe, P.; Bohlmann, J. Plant diterpene synthases: exploring modularity and metabolic diversity for bioengineering. **Trends in biotechnology**, v. 33, n. 7, p. 419-428, 2015.

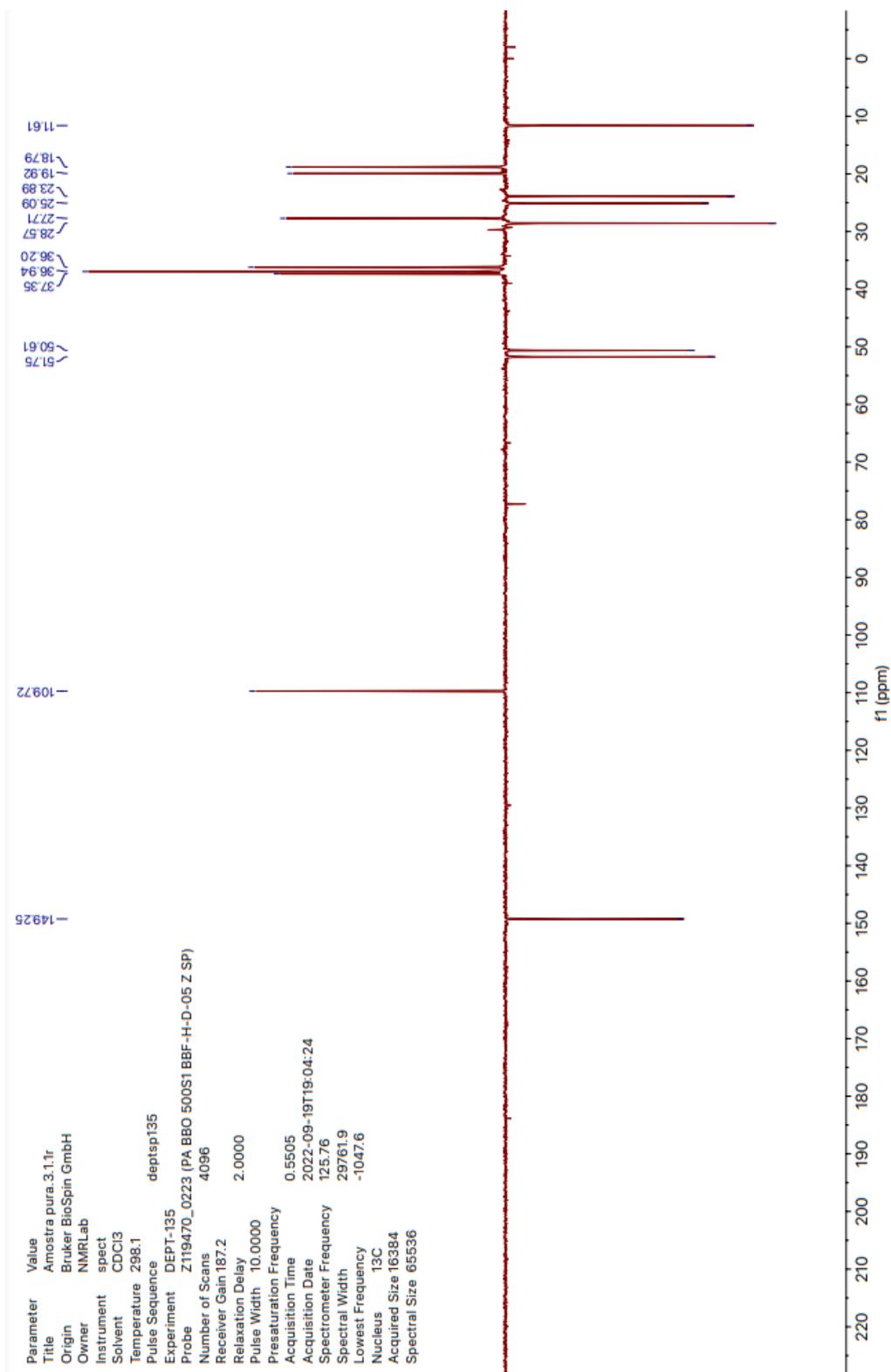
ANEXO A (Espectro de RMN de ^1H - AA)

ANEXO B (Espectro de RMN de ^{13}C - AA)

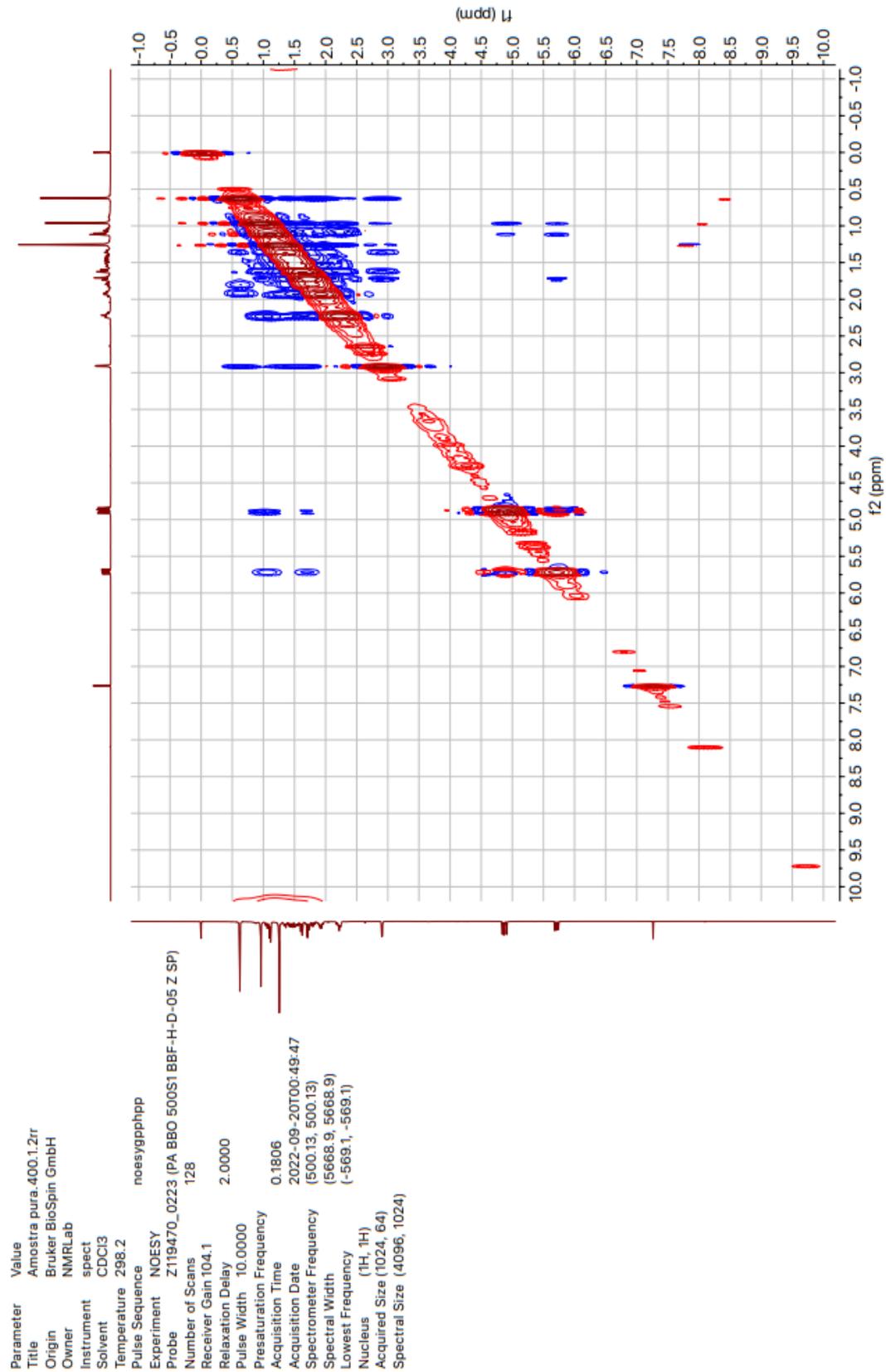
ANEXO C (Espectro de RMN ^1H - $\text{YC}_{\text{epóxi}}$)

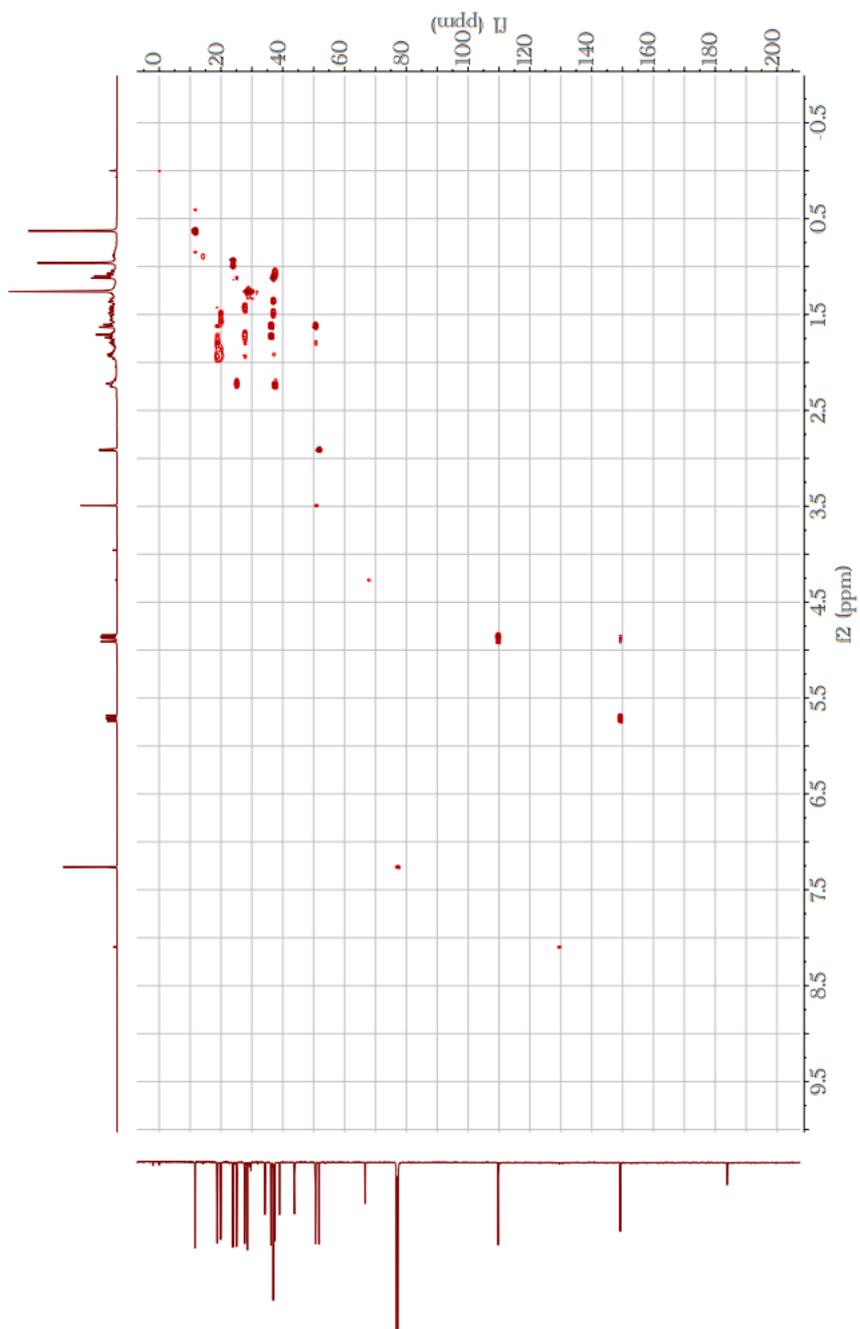
ANEXO D (Espectro de RMN de ^{13}C YC_{epóxi})

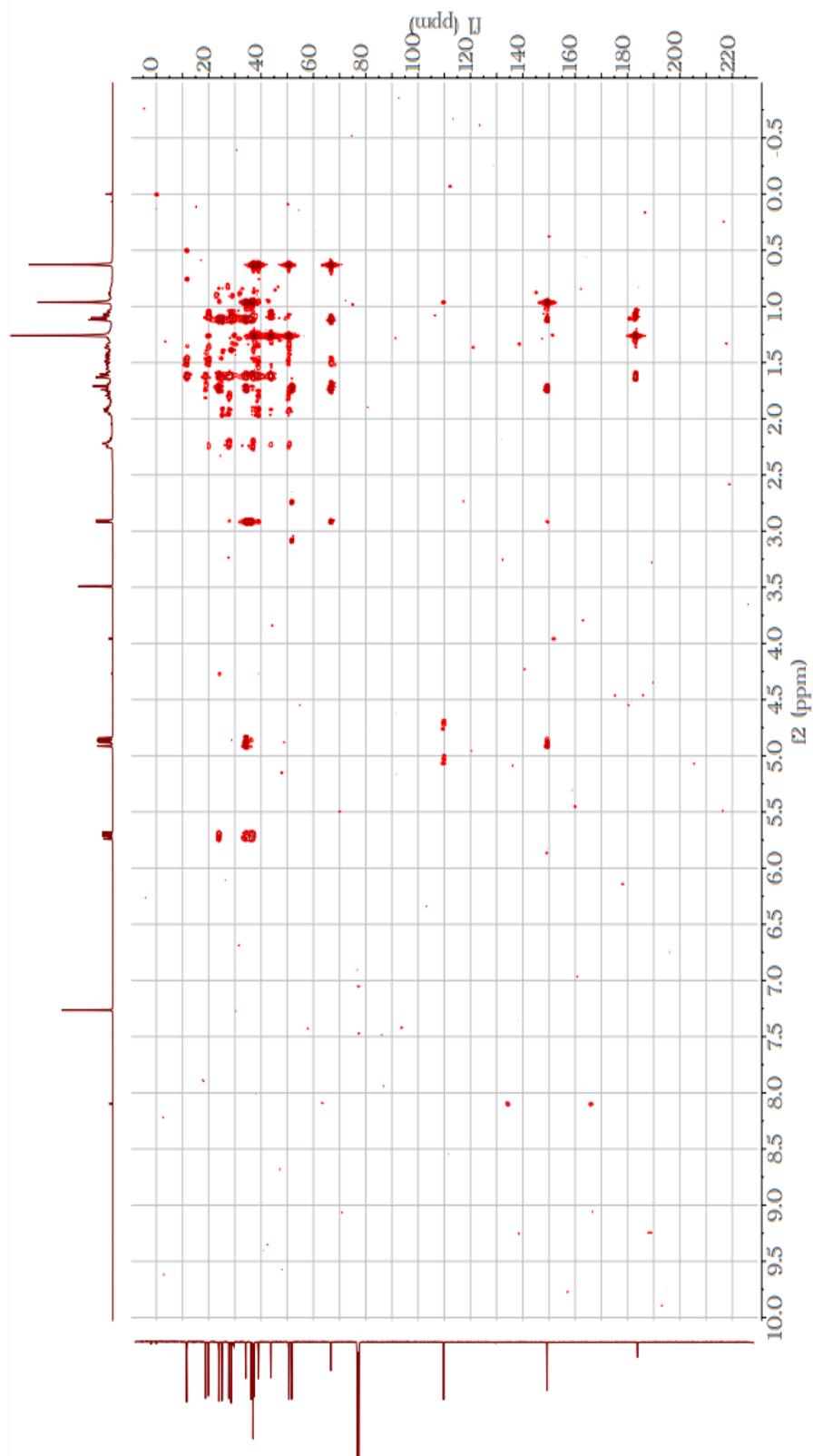
ANEXO E (Espectro de RMN DEPT - 135 YCepóxi DEPT)

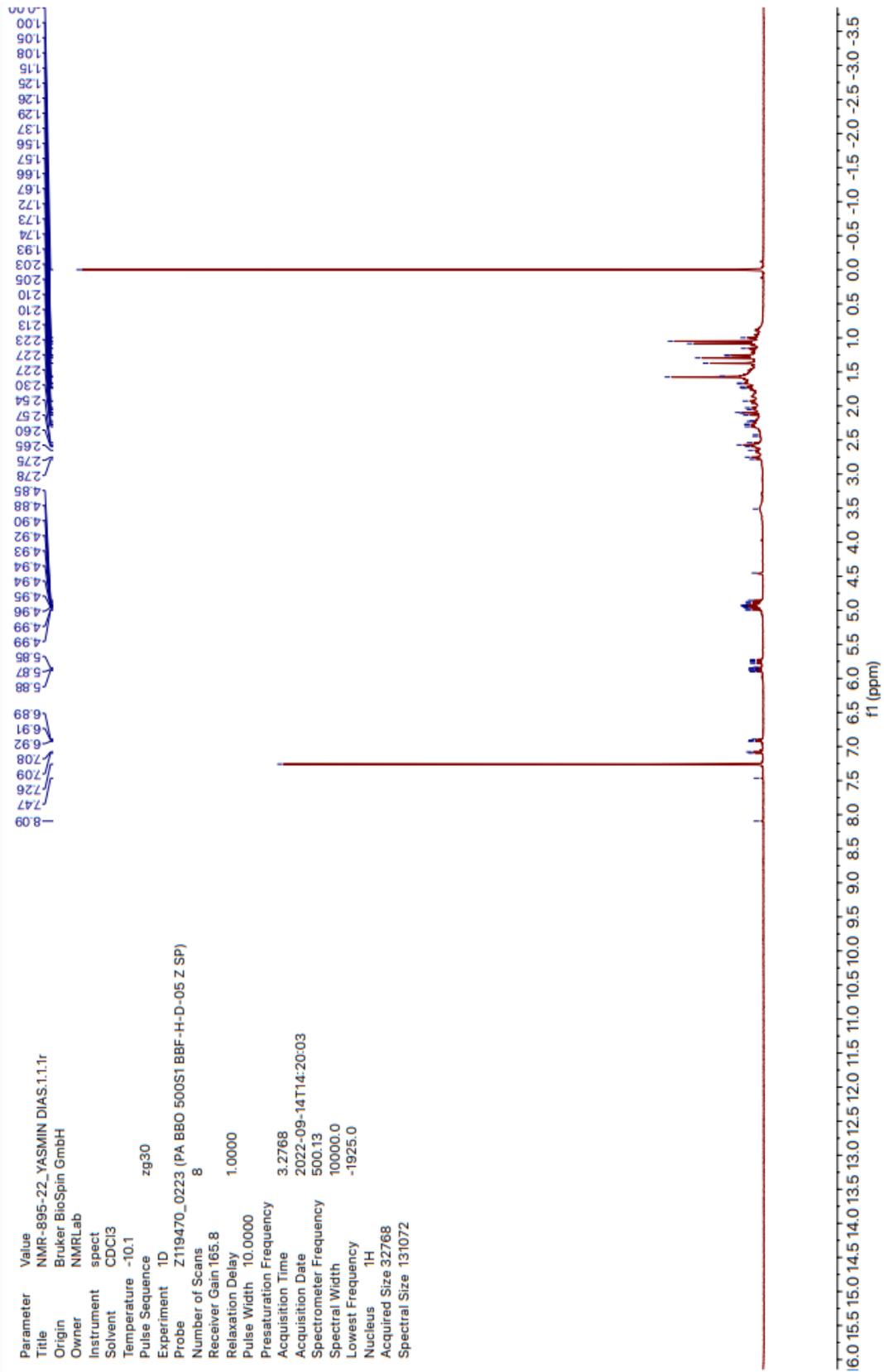


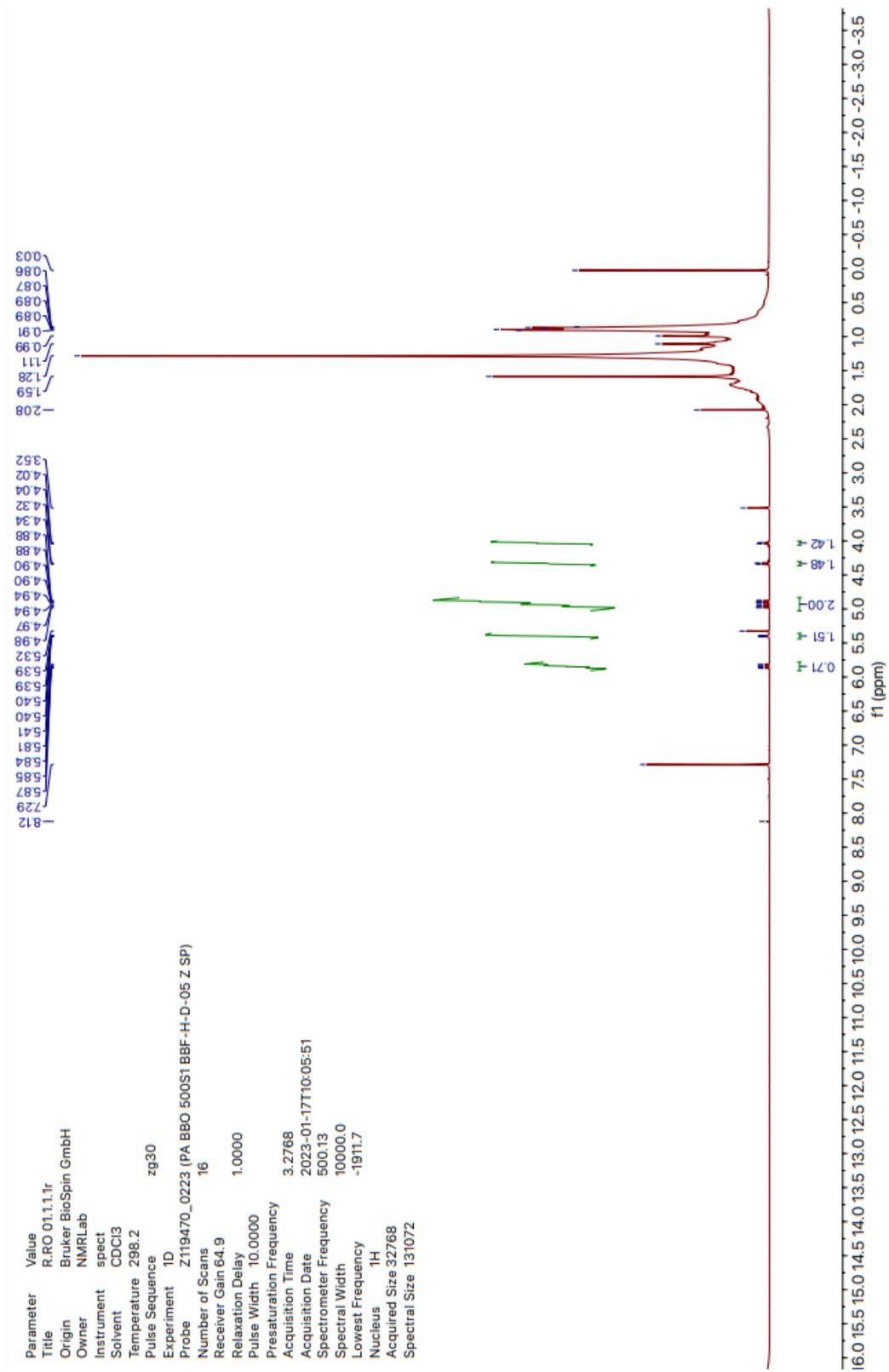
ANEXO E (Espectro de RMN NOESY - YCepóxi)

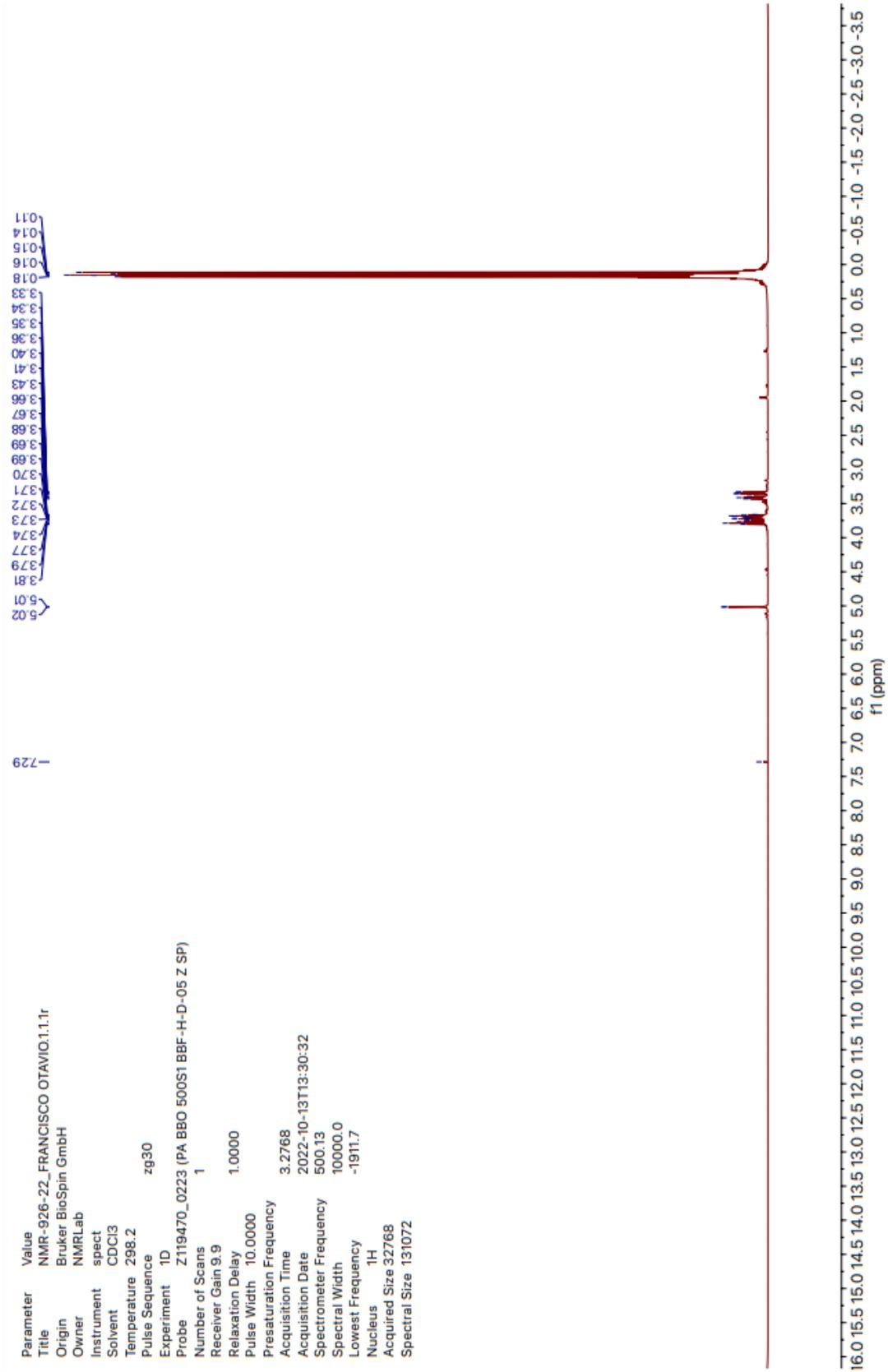


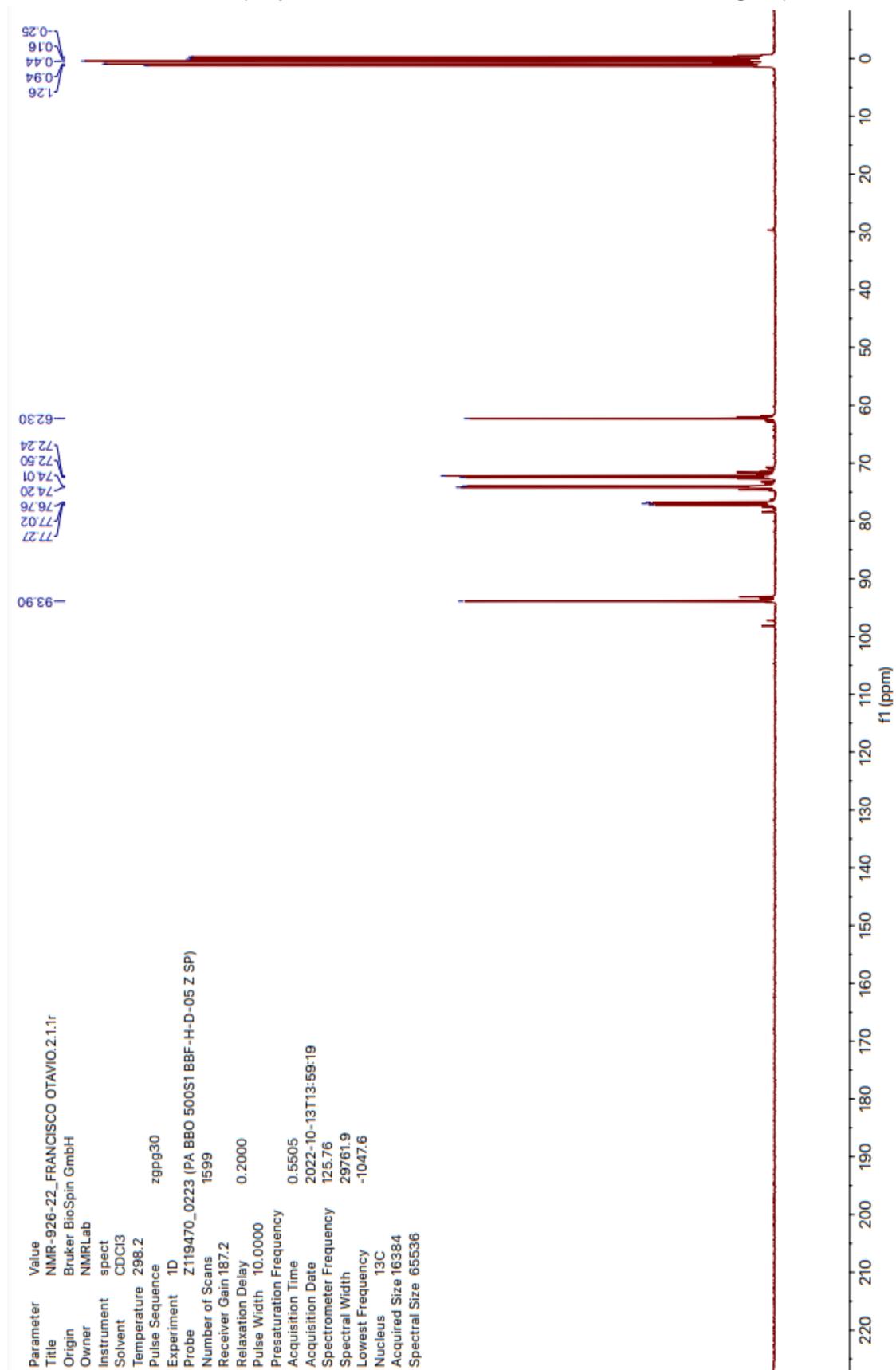
ANEXO F (Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C HSQC YC_{epóxi})

ANEXO G (Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C HMBC YC_{epóxi})

ANEXO H (Espectro de RMN de ^1H YCBr)

ANEXO I (Espectro de RMN de ^1H RRAA)

ANEXO J - (Espectro de RMN de ^1H D-Glucose Protegida)

ANEXO K (Espectro de RMN de ^{13}C D- Glucose Protegida)

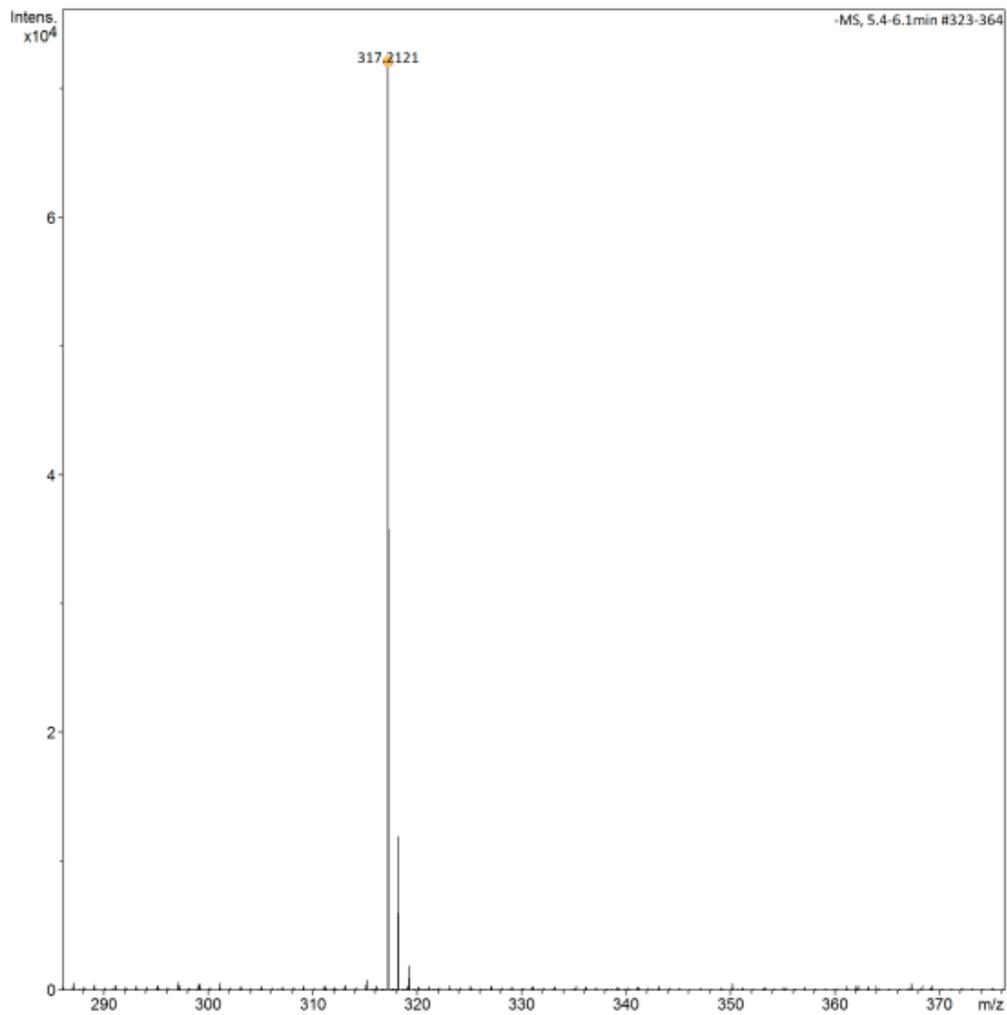
ANEXO L Espectro de Massas de Alta Resolução YC_{epóxi} (modo negativo)

Generic Display Report

Analysis Info

Acquisition Date 10/26/2022 2:13:15 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\Externo\Alunos\Yasmin-UFAM-Rita\MS\26-10-22\ID_APCI_EpOxiPuro.d
Method ID_APCI__50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m Operator BDAL@DE
Sample Name ID_APCI_EpOxiPuro Instrument micrOTOF-Q
Comment Diluição = 40uL (1mg/mL_MeOH) + 960uL MeOH

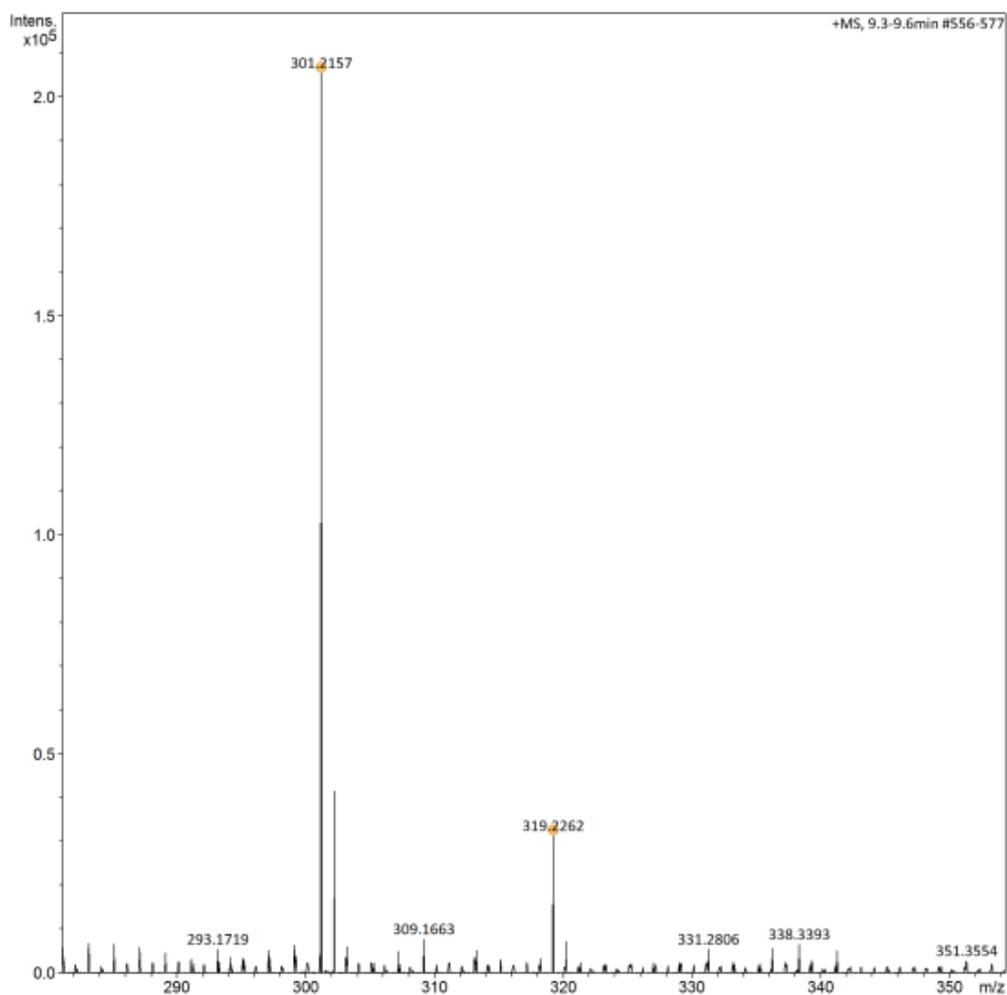
Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	317.2121	C ₂₀ H ₂₉ O ₃	317.2122	0.5	31.4	100.00



ANEXO M Espectro de Massas de Alta Resolução YC_{epóxi} (modo positivo) Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 10/26/2022 1:54:02 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\Externo\Alunos\Yasmin-UFAM-Rita\NMS\26-10-22\ID_APCI+_EpOxiPuro.d
Method ID_APCI+__50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m Operator BDAL@DE
Sample Name ID_APCI+_EpOxiPuro Instrument micrOTOF-Q
Comment Diluição = 40uL (1mg/mL_MeOH) + 960uL MeOH

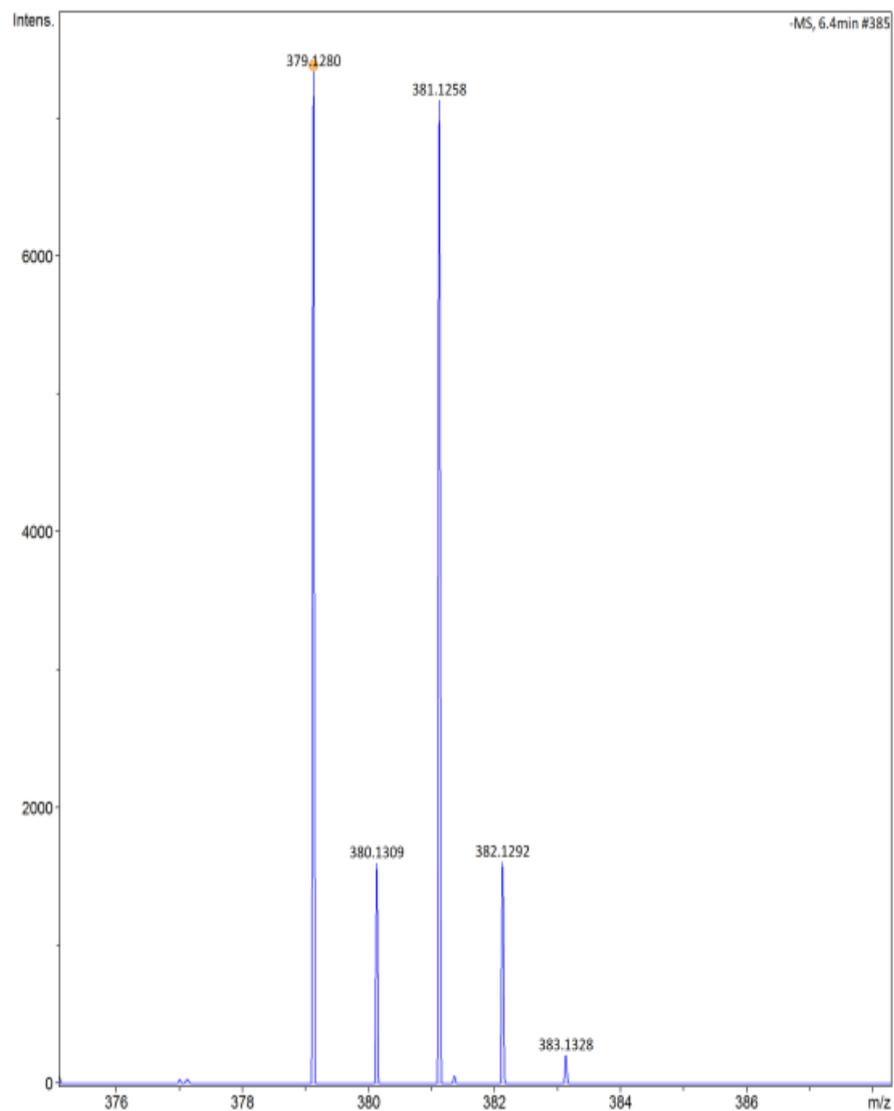
Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score	e ⁻ Conf
M+H	319.2262	C ₂₀ H ₃₁ O ₃	319.2268	1.7	17.6	100.00	even
M-H ₂ O+H	301.2157	C ₂₀ H ₂₉ O ₂	301.2162	1.7	10.5	100.00	even



ANEXO N - Espectro de Massas de Alta Resolução YCBr (modo negativo)**Generic Display Report**

Analysis Info	Acquisition Date	4/26/2023 7:53:39 PM
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2023\Externo\Alunos\Yasmin_UFAM\MS\26-04-2023\ID_APCI_BromoP17.d	
Method	ID_APCI-_50-1600 SEM FOCO_TUNEMIX APCI.m	Operator BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI_BromoP17	Instrument micrOTOF-Q
Comment	Diluição = 50ul (1mg/mL em MeOH) + 950uL MeOH	

Adduct	Ion Formula	Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	C20H28BrO2	379.1280	379.1278	-0.4	12.8	100.00



ANEXO O - Espectro de Massas de Alta Resolução YCBr (modo positivo)**Generic Display Report**

Analysis Info		Acquisition Date 4/26/2023 8:10:40 PM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2023\Externo\Alunos\Yasmin_UFAM\MS\26-04-2023\ID_APCI+_BromoP17__d		
Method	ID_APCI+_50-2500 SEM FOCO_TUNEMIX APCI.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI+_BromoP17__	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	Diluição = 50ul (1mg/mL em MeOH) + 950uL MeOH		

