



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Biotransformações dos ácidos *ent*-poliáltico e *ent*-diidroagático por
culturas microbianas e microssomas hepáticos**

Ingrid Pontes de Sousa

Ribeirão Preto
2018

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Biotransformações dos ácidos *ent*-poliáltico e *ent*-diidroagático por culturas microbianas e microssomas hepáticos

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientada: Ingrid Pontes de Sousa

Orientadora: Profa. Dra. Niege Araçari Jacometti Cardoso Furtado

Versão corrigida da tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 21/09/2018. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2018

RESUMO

SOUSA, I. P. **Biotransformações dos ácidos *ent*-poliáltico e *ent*-diidroagático por culturas microbianas e microsomas hepáticos.** 2018. 236f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Os diterpenos labdanos ácidos *ent*-poliáltico (AP) e *ent*-diidroagático (ADA) são metabólitos secundários amplamente distribuídos em diversas espécies vegetais, sendo particularmente comuns nos exsudatos extraídos dos troncos das árvores do gênero *Copaifera* (Leguminosae-Caesalpinioideae). Estas oleorresinas apresentam diversas atividades biológicas e são utilizadas na medicina popular desde a época dos índios pré-colombianos. Apesar de sua ampla utilização, não há estudos acerca de seu metabolismo. Estudos de biotransformação com constituintes bioativos como o AP e ADA podem contribuir para o entendimento de reações metabólicas *in vivo* das oleorresinas. Além de indispensáveis na fase pré-clínica de desenvolvimento e otimização de fármacos, os estudos de biotransformação *in vitro* também podem propiciar a obtenção de novas estruturas químicas farmacologicamente ativas. Assim, os diterpenos AP e ADA foram submetidos a estudos de biotransformação com diferentes tipos de biocatalisadores: fungos filamentosos, micro-organismos do trato gastrointestinal e microsomas hepáticos humanos. Foram obtidos quinze metabólitos de biotransformação com os fungos *Cunninghamella elegans*, *Cunninghamella echinulata* e *Aspergillus brasiliensis*, sendo treze estruturas ainda não descritas na literatura. A reação enzimática mais comum promovida pelos fungos sobre os diterpenoides foi a hidroxilação, porém isomerização da ligação dupla e acetilação também foram identificadas. Apesar de terem sido detectadas diminuições acentuadas nas concentrações dos diterpenos nas culturas com os micro-organismos do trato gastrointestinal, os rendimentos dos processos de biotransformação na escala de produção desenvolvida não propiciaram metabólitos em concentrações satisfatórias para isolamento. Apesar dos baixos rendimentos, foi possível propor através de espectrometria de massas a estrutura de quatro derivados oxidados e/ou metilados do ADA após incubação com *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus fermentum*, *Escherichia coli*, cultura mista com probióticos do gênero *Lactobacillus* e cultura mista com os probióticos do gênero *Bifidobacterium*. O ácido *ent*-agático foi identificado entre os metabólitos propostos, indicando a necessidade de mais estudos acerca do metabolismo dos constituintes das oleorresinas de *Copaifera*, uma vez que o ácido agático já foi reportado na literatura como abortivo em mamíferos. Para os metabólitos obtidos com microsomas hepáticos humanos foram propostas quatro estruturas oxidadas no metabolismo de fase I e quatro estruturas conjugadas com ácido glucurônico no metabolismo de fase II e fase I e II combinados. Os precursores e os derivados majoritários de biotransformação foram submetidos a ensaios de citotoxicidade com células tumorais das linhagens Caco-2, HeLa e MCF-7, além da linhagem normal MCF-10A. As mudanças químicas promovidas pelos fungos na estrutura do ADA não acarretaram mudanças significativas em sua atividade biológica, enquanto a maioria dos derivados do AP apresentou menor efeito citotóxico. Apenas o metabólito P06(AP) apresentou atividade cerca de quatro vezes maior ($IC_{50} = 62,6 \mu M$) que o precursor, sugerindo que a migração da dupla e a introdução de grupo acetato na estrutura do AP pode ser uma estratégia para obtenção de derivados mais ativos frente a linhagem HeLa. De modo geral, os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância da biotransformação como estratégia para obtenção de novas estruturas químicas e contribuem para o entendimento do metabolismo de constituintes bioativos das oleorresinas medicinais de *Copaifera*.

Palavras-chave: biotransformação, ácido *ent*-poliáltico, ácido *ent*-diidroagático, micro-organismos, microsomas hepáticos.

ABSTRACT

SOUSA, I. P. **Biotransformations of *ent*-polyalthic acid and *ent*-dihydroagathic acid by microbial cultures and liver microsomes.** 2018. 236p. Thesis (Doctoral). School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto – University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

The labdane diterpenes *ent*-polyalthic (AP) and *ent*-dihydroagathic (ADA) acids are secondary metabolites widely spread in several plants. Both diterpenes are particularly common in the oleoresins extracted from the tree trunks of *Copaifera* sp. (Leguminosae-Caesalpinioideae). These oleoresins have several biological activities and have been used in folk medicine since the pre-Columbian Indians times. Despite their wide use, research on the metabolism of the oleoresins is lacking. Biotransformation studies with their bioactive constituents such as AP and ADA may contribute to the understanding of *in vivo* metabolic reactions. *In vitro* biotransformation studies are mandatory in the preclinical stage of drug development and optimization and can also provide new pharmacologically active derivatives. Given that, the diterpenes AP and ADA were submitted to biotransformation studies with different types of biocatalysts: filamentous fungi, microorganisms from the gastrointestinal tract and human liver microsomes. The biotransformation with the fungi *Cunninghamella elegans*, *Cunninghamella echinulata* and *Aspergillus brasiliensis* afforded two known structures and thirteen new metabolites. The most common enzymatic reaction by the fungi was hydroxylation, but isomerization of the double bond and acetylation were also detected. Although the microorganisms from the gut microbiota were able to reduce the concentration of the diterpenes in the cultures, the biotransformation yields of the processes were not enough for metabolite isolation. Despite the low yields, four oxygenated and/or methylated metabolites were proposed by mass spectrometry, after incubation of ADA with *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus fermentum*, *Escherichia coli*, mixed culture with *Lactobacillus* sp. probiotics and mixed culture with *Bifidobacterium* sp. probiotics. The diterpene *ent*-agathic acid was identified among the metabolites, indicating the need for further studies on the metabolism of *Copaifera* oleoresin constituents, since agathic acid has already been reported as abortive in mammals. Four oxygenated structures and four metabolites conjugated with glucuronic acid were proposed for the phase I and phase II metabolism with human liver microsomes, respectively. The antiproliferative effects of the diterpenes and their major biotransformation derivatives were evaluated against the cancer cell lines Caco-2, HeLa and MCF-7 and the normal cell line MCF-10A. The chemical changes promoted by the fungi in the structure of ADA resulted in no significant changes in its biological activity. Most AP's derivatives displayed lower cytotoxic effects, except for the metabolite P06(AP), which showed to be four times more active ($IC_{50} = 62.6 \mu M$) than its precursor. The migration of the double bond and the introduction of the acetate group in AP's skeleton were associated with the greater biological activity. The results obtained herein reinforce the use of biotransformation as a strategy to obtain new chemical structures and contribute to the understanding of the metabolic pathways of bioactive constituents of *Copaifera* medicinal oleoresins.

Keywords: biotransformation, *ent*-polyalthic acid, *ent*-dihydroagathic acid, microorganisms, liver microsomes.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Biotransformação

*“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”
Antoine Lavoisier*

A biotransformação está presente na humanidade há centenas de milhares de anos. Os primeiros registros da utilização de processos de biotransformação datam de 5.000 a.C., quando os babilônios utilizavam micro-organismos para a conversão do etanol em ácido acético (LERESCHE & MEYER, 2006).

Acredita-se que a produção de vinagre (Figura 1) surgiu concomitantemente com produção de etanol a partir da fermentação de carboidratos, técnicas também muito utilizadas no Antigo Egito. A hidrólise da caseína para a produção de queijo é outro processo de biotransformação utilizado por nossos antepassados e seu emprego data da época de 800 a.C. (LERESCHE & MEYER, 2006).

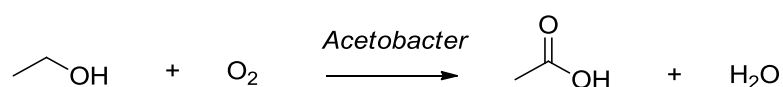


Figura 1. Produção de vinagre a partir do etanol, reportado como um dos primeiros processos de biotransformação utilizados pela humanidade (adaptado de VASIC-RACKI, 2006).

Os primeiros conceitos e definições de biotransformação, no entanto, surgiram apenas no século XX. Segundo Hanson, 1995, a biotransformação pode ser definida como o uso de sistemas biológicos para promover modificações químicas em substratos não naturais. De acordo com a IUPAC, a biotransformação é a conversão química de substâncias por organismos vivos ou preparações enzimáticas (WERMUTH et al., 2009).

É frequente observar certa confusão na utilização dos termos metabolismo e biotransformação. Ainda segundo a IUPAC, o metabolismo possui uma definição mais abrangente, englobando os processos de catabolismo e anabolismo para a manutenção da vida. No entanto, na área de farmacologia e química farmacêutica, o metabolismo geralmente refere-se à biotransformação de xenobióticos e esses termos podem ser utilizados como sinônimos (SILVERMAN & HOLLADAY, 2014). Outros autores da área, porém, consideram a biotransformação como uma etapa do metabolismo de fármacos, que seria o

conjunto dos processos de absorção, distribuição biotransformação e excreção (PARKINSON & OGILVIE, 2012).

A definição dada por Hanson (1995) supõe que metabolismo e biotransformação se diferenciariam pelas modificações enzimáticas promovidas em substratos naturais endógenos e xenobióticos, respectivamente. No entanto, de acordo com Parkinson e Ogilvie (2012), a biotransformação englobaria a conversão metabólica tanto de substratos endógenos quanto de xenobióticos.

Como é possível observar, há diferentes definições para o termo biotransformação na literatura, sendo algumas delas conflitantes e indicando a ausência de um acordo definitivo até então. Na área de química de produtos naturais, é comum o emprego dos termos biotransformação, metabolismo, bioconversão e biocatálise como equivalentes.

Vale ressaltar que alguns autores ainda diferenciam a biotransformação da biocatálise, sendo a última um termo empregado para conversões por enzimas isoladas livres ou imobilizadas, não utilizando sistemas vivos como na biotransformação (LERESCHE & MEYER, 2006).

A biotransformação de xenobióticos em organismos vivos é dividida em duas etapas conhecidas como metabolismo de fase I e metabolismo de fase II. Em humanos, estas etapas visam a conversão de substâncias hidrofóbicas em substâncias mais hidrofílicas de maior peso molecular, a fim de facilitar sua excreção através da urina, suor ou bile e evitar o acúmulo de xenobióticos no organismo (GONZALEZ, COUGHTRIE & TUKEY, 2011).

As enzimas metabólicas localizam-se na membrana intracelular e no citosol das células de órgãos do trato gastrointestinal e fígado principalmente, mas também podem ser encontradas nos rins, pulmões, mucosa ocular e cérebro (SILVERMAN & HOLLADAY, 2014; ARGIKAR et al., 2016). As enzimas de fase I catalisam oxidações, reduções e hidrólises e consistem em enzimas do citocromo P450 (CYP) e flavina monooxigenases (FMO). As enzimas de fase II em geral catalisam conjugações com substâncias endógenas polares como glutatona (glutationa-S-transferase), glutamina (glutamina-N-acetiltransferase), glicina (glicina N-aciltransferase), sulfato (sulfotransferase), ácido glucurônico (UDP-glucuroniltransferase) e acetil (acetil-transferase). Conjugações com grupos menos polares como ácidos graxos, colesterol e grupos metílicos (metil-transferase) também podem ocorrer no metabolismo de fase II.

Na Figura 2 está apresentado um esquema geral para a biotransformação de xenobióticos em humanos.

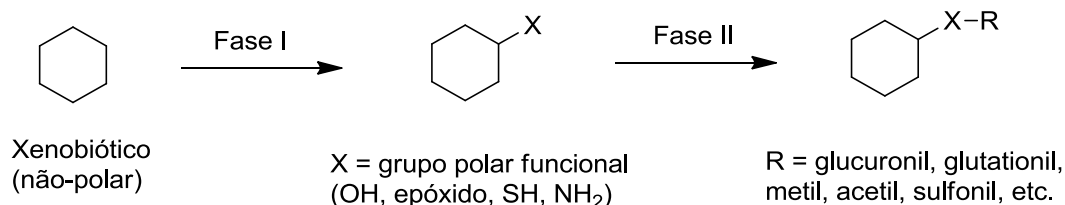


Figura 2. Esquema geral para as reações de metabolismo de fase I e metabolismo de fase II em humanos (adaptado de KOPPEL, REKDAL & BALSUS, 2017).

O entendimento das vias metabólicas de xenobióticos tem um papel crucial no desenvolvimento e otimização de fármacos e é considerado fundamental para a avaliação da eficácia e segurança de substâncias bioativas (ASHA & VIDYAVATHI, 2009). Os estudos de biotransformação fazem parte das análises de fase pré-clínica e de pesquisa clínica de novos candidatos a fármacos.

A pesquisa clínica especificamente direciona-se aos estudos *in vivo* em humanos (HUSSER et al., 2018). Este modelo de biotransformação é o que mais se aproxima das condições reais *in vivo*, no entanto, há diversas implicações éticas, regulatórias e de segurança a serem consideradas (FASINU, BOUIC & ROSENKRANZ, 2012).

Os estudos *in vivo* também podem ser realizados em animais como peixes (LE FOL et al., 2017), ratos, aves, cabras, bovinos, entre outros (SUN et al., 2017). Há uma série de pesquisas questionando a relevância dos resultados obtidos em animais, não apenas pelos conflitos morais e éticos da utilização de animais na ciência, mas também devido às diferenças reportadas de metabolismo interespecies (TRÉZ, 2015; NEVES, 2016). Sabe-se, por exemplo, que camundongos são mais sensíveis à exposição de tóxicos em relação aos humanos, enquanto os ratos são menos sensíveis (ORBACH et al., 2017). Essas diferenças de metabolismo se estendem inclusive para os modelos *in vitro*. Por exemplo, modelos derivados de fígado provenientes de diferentes espécies podem apresentar diferenças metabólicas que dificultam a extrapolação dos resultados para humanos.

Outra desvantagem dos modelos *in vivo* em geral é seu baixo rendimento, dificultando a obtenção de metabólitos em quantidades suficientes para isolamento e análises toxicológicas com os derivados de biotransformação. Considerando este aspecto, alguns modelos de

sistemas *in vitro* oferecem essa vantagem, como por exemplo a utilização de biocatalisadores microbianos.

Os fungos filamentosos são modelos clássicos para estudos de biotransformação e contam com aparato enzimático semelhante ao dos mamíferos, sendo muitas vezes úteis para a predição de vias metabólicas em humanos (VENISETTY & CIDDY, 2003; PALUDO et al., 2017).

As enzimas fúngicas são capazes de catalisar uma variedade de reações químicas como hidroxilação, oxidação, redução, epoxidação, O-desmetilação, O-desalquilação, O-metilação, glicosilação, entre outras, contribuindo para a diversidade de produtos de biotransformação com estes micro-organismos (SRISILAM & VEERESHAM, 2003).

Revisões publicadas por nosso grupo de pesquisa apontam a grande capacidade metabólica dos fungos do gênero *Mucor* para catalisar reações em diferentes substratos naturais como esteroides, cumarinas, flavonoides, terpenoides e substratos sintéticos como fármacos e pesticidas (SILVA et al., 2013; SILVA et al., 2015). Algumas espécies de *Mucor* apresentam enzimas com alta atividade proteolítica e lipolítica, sendo de grande interesse biotecnológico (MA et al., 2011).

Fungos do gênero *Cunninghamella* são amplamente empregados em estudos de biotransformação e apresentam um repertório de enzimas pertencentes ao citocromo P450 (ASHA & VIDYAVATHI, 2009). Esta característica lhes confere não apenas a habilidade de mimetizar reações enzimáticas em mamíferos, mas também grande potencial na descoberta de novas moléculas, dada a versatilidade das enzimas microbianas desta superfamília, algumas das quais ainda com funções desconhecidas (BHATTACHARYA & YADAV, 2018). Adicionalmente, como as CYPs são capazes de catalisar reações de detoxificação, estes fungos também podem ser importantes em processos de biorremediação, incluindo de poluentes orgânicos persistentes.

Outro gênero bastante explorado em processos biotecnológicos é o gênero *Aspergillus*. Estes fungos são capazes de promover uma atrativa variedade de reações enzimáticas tais como hidroxilações, oxidação de vários grupos funcionais, clivagem de anéis, redução de ligações duplas, desmetilação, sulfatação, hidrólise de epóxidos e conjugação sobre uma gama de substratos, incluindo compostos aromáticos e diterpenoides (HE et al., 2011; PARSHIKOV, WOODLING & SUTHERLAND, 2015; SURA, ANKIREDDY & PONNAPALLI, 2015).

O co-cultivo de fungos filamentosos com bactérias pode ser um recurso interessante para a obtenção de novos derivados. O fungo *Aspergillus niger* foi co-cultivado com a actinobactéria *Streptomyces coelicolor*, levando a produção de novos metabólitos secundários e obtenção de derivados inéditos de biotransformação do ácido *o*-cumárico e ácido cafeico (WU et al., 2015).

Os micro-organismos do trato gastrointestinal possuem um papel central na modificação de substâncias ingeridas, incluindo xenobióticos, componentes da dieta e poluentes químicos (KOPPEL, REKDAL & BALSUS, 2017). Os primeiros estudos relatando a importância da microbiota gastrointestinal no metabolismo datam da década de 50 e demonstravam as diferenças metabólicas em animais normais, animais livres de micro-organismos (*germ-free*) e animais tratados com antibióticos ou dieta condicionada (DANIELSSON & GUSTAFSSON, 1959; SOUSA et al., 2008).

Enquanto as enzimas do fígado e intestino caracterizam-se predominantemente por seu metabolismo oxidativo e conjugativo, as enzimas da microbiota intestinal caracterizam-se pela predominância de reações hidrolíticas e redutoras, expandindo o repertório de reações enzimáticas do corpo humano (ILETT et al., 1990; KOPPEL, REKDAL & BALSUS, 2017).

Assim, a utilização de bactérias e leveduras do trato gastrointestinal como biocatalisadores é uma abordagem importante a se considerar no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que as mesmas podem interferir na atividade, biodisponibilidade e toxicidade dos xenobióticos (SOUSA et al., 2008).

Nas últimas décadas, a microbiota intestinal ganhou papel de destaque nas pesquisas científicas, visto sua capacidade de interferir não apenas no metabolismo de xenobióticos, mas também em processos fisiológicos relacionados à inflamação, obesidade e até mesmo comunicar-se com o sistema nervoso central, modulando comportamentos de depressão e ansiedade (CRYAN & DINAN, 2012).

Adicionalmente, a popularização do uso de probióticos em alimentos funcionais e produtos farmacêuticos incentivou a inclusão das bactérias lácticas em estudos de biotransformação (SILVA et al., 2014; LIU, YANG & FANG, 2018). Os probióticos podem ser definidos como micro-organismos vivos capazes de promover efeitos benéficos à saúde do hospedeiro quando administrado em quantidades adequadas (BINNS, 2014). Entre os tipos mais comuns estão as bactérias lácticas do gênero *Lactobacillus*, bactérias do gênero

Bifidobacterium e as leveduras do gênero *Saccharomyces*. Os micro-organismos probióticos também podem interferir no metabolismo de fármacos e xenobióticos e estar associados a processos de detoxificação (YANG, CHU & FIX, 2002; MECA, RITIENI & MAÑES, 2012).

Diferentemente de alguns fungos filamentosos, as bactérias lácticas apresentam quantidades reduzidas de CYP, enquanto a bactéria *Escherichia coli*, por exemplo, são desprovidas das mesmas. As diferenças do arsenal enzimático desses micro-organismos podem ser interessantes para obtenção de diferentes metabólitos de biotransformação.

Outros tipos de biocatalisadores amplamente difundidos são os modelos derivados de fígado e intestino. Alguns exemplos são a utilização de células imortalizadas como Caco-2 e HT-29, hepatócitos humanos, organoides intestinais, fígado perfundido, preparações enzimáticas como microssomas, frações S9 e citosólicas e biochip de fígado (FASINU, BOUIC & ROSENKRANZ, 2012; ORBACH et al., 2017; GRÖGER et al., 2017). O desenvolvimento de modelos *in vitro* mais recentes levam em consideração a arquitetura dos órgãos *in vivo* e a integração do trato gastrointestinal com o fígado, a fim de se obter sistemas mais próximos possíveis das condições reais.

Os microssomas hepáticos são os modelos mais populares para *screening* metabólico, estudos de interação e otimização de fármacos e consistem em vesículas do retículo endoplasmático liso dos hepatócitos preparadas por centrifugação diferencial. Os microssomas propiciam uma estimativa qualitativa do metabolismo *in vivo* e são ricos principalmente em enzimas CYP450 e glucuroniltransferases. Apesar de apresentarem um repertório enzimático mais limitado que as frações S9, por exemplo, sua atividade enzimática pode ser considerada maior (FASINU, BOUIC & ROSENKRANZ, 2012).

Os microssomas são modelos de fácil utilização e também podem ser úteis na pesquisa do metabolismo de produtos naturais bioativos (ZENGER et al., 2015; BENDIKOV et al., 2016, JIA et al., 2016). Sua utilização também permite a análise de variações metabólicas interindividuais e populacionais, apesar da extrapolação quantitativa da formação de metabólitos nesses modelos serem consideradas limitadas (FASINU, BOUIC & ROSENKRANZ, 2012).

O metabolismo dos microssomas provenientes de ratos e humanos podem diferir quanto suas capacidades de glucuronidação e quanto às isoformas das CYPs, sendo o modelo derivado de fígado humano capaz de simular mais fielmente o metabolismo *in vivo* (EAGLING, TJIA & BACK, 1998; ELSBY et al., 2001; ASHA & VIDYAVATHI, 2009).

Outros biocatalisadores utilizados em estudos de biotransformação são as células vegetais e microalgas (CARVALHO & FONSECA, 2006), além da possibilidade de estudos *in silico*, os quais utilizam ferramentas computacionais a fim de prever o metabolismo de fármacos ou outras substâncias baseados em princípios físico-químicos e afinidade enzimática (ALQAHTANI, 2017). Uma abordagem mais recente consiste na combinação de células íntegras com metaloenzimas capazes de promover reações enzimáticas inéditas, contribuindo assim para a obtenção de maior diversidade de estruturas químicas nos processos de biotransformação (JESCHEK, PANKE & WARD, 2018).

Muitas vezes, as reações de biotransformação aumentam a funcionalidade dos substratos, levando a formação de derivados oxidados com maior potencial biológico que o material de partida (SOUSA, TEIXEIRA & FURTADO, 2018). A regio e estereoseletividade apresentada por muitas enzimas pode levar a formação de produtos que seriam difíceis ou até impossíveis de se obter por síntese química convencional (VENISETTY & CIDDI, 2003). A estabilidade enzimática dos sistemas vivos e regeneração natural de cofatores também apresenta uma grande vantagem, visto a maior eficiência e economia dos processos (FABER, 1997).

Por fim, o conjunto de vantagens da biotransformação tais como a possibilidade de obtenção de derivados inéditos, biologicamente ativos e enantiomericamente puros sob condições brandas e estáveis reflete o aumento do número de patentes envolvendo processos de biotransformação registradas ao longo dos últimos anos (Figura 3).

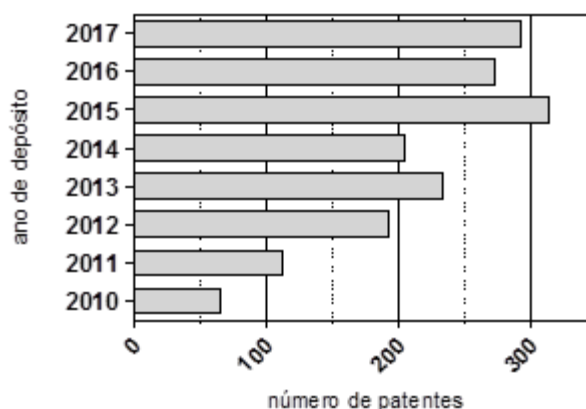


Figura 3. Evolução do número de patentes registradas entre os anos de 2010 e 2017 envolvendo processos de biotransformação (adaptado da base de dados SCIFINDER, 2018).

1.2 Oleorresinas de *Copaifera*

“A natureza não faz nada em vão”
Aristóteles

As árvores do gênero *Copaifera* L. da família Leguminosae Juss. e subfamília Caesalpinioideae Kunth são amplamente distribuídas pela região tropical da América Latina, podendo também ser encontradas na África Ocidental (VEIGA JUNIOR & PINTO, 2002). No Brasil, estão distribuídas ao longo de todo o território nacional, sendo particularmente abundantes na região Amazônica. Dentre as espécies mais comuns estão *C. multijuga* Hayne, *C. reticulata* Ducke e *C. langsdorffii* Desf. (TRINDADE, SILVA & SETZER, 2018).

Dos troncos das árvores do gênero *Copaifera* é extraído um bálsamo através de processos artesanais, o qual possui consistência oleosa e coloração amarelo-pálida a alaranjada ou esverdeada, podendo variar de acordo com a espécie e composição química da oleorresina (ROMERO, 2007). Este exsudato é popularmente conhecido como óleo de copaíba e tem função de defesa da planta contra animais, fungos e bactérias (VENEZIANI et al., 2017).

Há registros da utilização destes bálsamos na medicina popular brasileira desde o período pré-colombiano, quando eram utilizados pelos índios nativos como repelente e para tratar doenças da pele (LORENZI & MATOS, 2008).

Posteriormente, as oleorresinas de *Copaifera* passaram a ter indicação nas farmacopeias para tratamento da blenorragia e seu uso estendeu-se na medicina popular como cicatrizante, anti-inflamatório, diurético, expectorante, antimicrobiano das afecções urinárias e da garganta (LORENZI & MATOS, 2008). Entre outras indicações etnofarmacológicas, estão sua utilização como estimulante, afrodisíaco, expectorante, antitumoral, no combate à incontinência urinária, cefaleia, sífilis, asma, bronquite, hemoptise, psoríase, eczema, dermatite, sinusite, pneumonia, tétano, reumatismo, herpes, leishmaniose e picada de cobra (VEIGA JUNIOR & PINTO, 2002).

Segundo o levantamento mais recente do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), são extraídas cerca de 170 toneladas de oleorresina por ano, a qual é comercializada em farmácias, feiras, lojas de produtos naturais e também exportada para diversos outros países. As oleorresinas são comercializadas não apenas na forma de óleo bruto, mas também veiculadas em produtos cosméticos, sabonetes, shampoos, cremes,

pomadas, entre outros, sendo alguns sabonetes indicados para o tratamento de acne (RIOS & PASTORE JUNIOR, 2011).

No estado do Pará, a copaíba é considerada um dos remédios naturais mais importantes provenientes da região Amazônica, sendo utilizada por pessoas de diferentes idades e classes sociais (TRINDADE, SILVA & SETZER, 2018). O óleo de copaíba pode ser aplicado topicamente ou utilizado via oral através da ingestão de cápsulas, gotas na água ou misturado a mel e limão. Nos EUA, estes bálsamos são utilizados como aromatizante em alimentos e bebidas (TAYLOR, 2005).

Alguns fazendeiros do estado do Pará utilizam o óleo de copaíba a fim de prevenir a febre aftosa em bovinos, despejando o óleo no chão próximo aos cochos de sal (SHANLEY et al., 2005).

O histórico de uso e a popularização da oleorresina de *Copaifera* levou a comunidade científica a se aprofundar no estudo de suas composições químicas e propriedades farmacológicas. Sabe-se que as oleorresinas são constituídas majoritariamente de sesquiterpenos na fração volátil e diterpenos do tipo clerodano e labdano, tanto da série normal como da série enantio na fração fixa (VEIGA JUNIOR et al., 2007, DA SILVA et al., 2017).

Diversos estudos têm comprovado as propriedades anti-inflamatória (SANTIAGO et al., 2015; GUSHIKEN et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018), antimicrobiana (ABRÃO et al., 2015; BARDAJÍ et al., 2016, LEANDRO et al., 2016), cicatrizante (PAIVA et al., 2002), antitumoral (GOMES et al., 2008; ALVES et al., 2017), gastroprotetora (PAIVA et al., 1998), esquistossomicida (BORGES et al., 2016) e leishmanicida (SANTOS et al., 2008) das oleorresinas e seus constituintes isolados, confirmando muitas das indicações populares do óleo de copaíba.

1.2.1 Ácido ent-poliáltico e ácido ent-diidroagático

Dentre os exsudatos de *Copaifera* estudados pelos pesquisadores do projeto temático ao qual este estudo esteve vinculado (processo FAPESP 2011/13630-7), a oleorresina proveniente de *Copaifera duckei* destacou-se devido a suas promissoras atividades antimicrobiana (VIEIRA et al., 2018; ABRÃO et al., 2018), antiparasitária (BORGES et al., 2016), analgésica e gastroprotetora (resultados ainda não publicados).

Através da análise fitoquímica da fração não volátil deste bálsamo, os metabólitos secundários ácido *ent*-poliáltico (AP) e ácido *ent*-diidroagático (ADA) foram identificados entre os constituintes químicos majoritários (CASCON & GILBERT, 2000; BORGES et al., 2016, CARNEIRO et al., 2018).

O AP e ADA são metabólitos secundários da classe dos diterpenos, originando-se assim a partir da condensação de quatro unidades de isopreno (C_5H_8) pela via do metileritritol fosfato ou do mevalonato (SOUSA, TEIXEIRA & FURTADO, 2018).

O esqueleto carbônico dos diterpenoides pode variar de acordo com sua biossíntese. Entre os tipos mais comuns de diterpenos acíclicos estão os fitanos, enquanto os diterpenos policíclicos podem apresentar uma variedade de núcleos do tipo labdano, clerodano, pimarano, abietano, taxano, traquilobano, beierano, caurano, entre outros (VENEZIANI et al., 2017). Na natureza, os diterpenos ácidos tem função de proteger a planta contra ataques de herbívoros e patógenos (KEELING & BOHLMANN, 2006).

Os diterpenos AP e ADA utilizados neste estudo possuem esqueletos característicos de labdanos e são pertencentes à série enantiomérica, ou seja, possuem estruturas que são imagens especulares da série normal, para a qual a fusão entre os anéis A e B ocorre da mesma forma que nos esteroides (GARCIA, OLIVEIRA & BATISTA, 2007). Suas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 4.

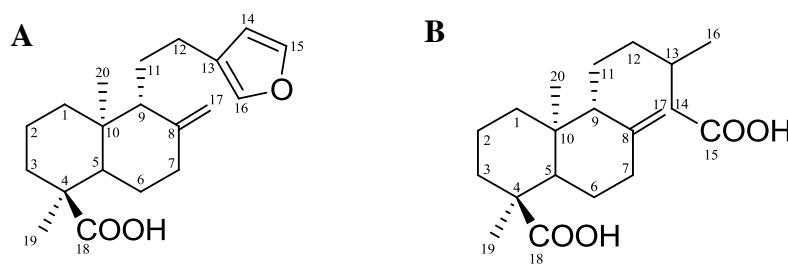


Figura 4. Estrutura química dos diterpenos labdanos **A)** ácido *ent*-poliáltico e **B)** ácido *ent*-diidroagático

O diterpeno furânico AP também pode ser encontrado em outras espécies de *Copaifera* como *C. multijuga*, *C. multianesis* e *C. reticulata* (CASCON & GILBERT, 2000), além de outras espécies vegetais tais como *Eupatorium buniifolium* (CARRERAS, ROSSOMANDO & GIORDANO, 1998) e *Croton reflexifolius* (REYES-TREJO et al.; 2008).

O AP já foi reportado como antimicrobiano (TINCUSI et al., 2002; ABRÃO et al., 2018), gastroprotetor (REYES-TREJO et al., 2008), tripanocida (IZUMI et al., 2012), leishmanicida (DOS SANTOS et al., 2013; MIZUNO et al., 2015) e esquistossomicida (BORGES et al., 2016). O AP da série normal apresentou atividade anti-mutagênica (MIYAZAWA et al., 1995) e induziu a glicação de proteínas do plasma (ATOLANI & OLATUNJI, 2014), indicando a necessidade de maior conhecimento sobre as possíveis propriedades tóxicas dos diterpenos.

Não há muitos estudos de atividade biológica com o ADA isoladamente, porém importantes pesquisas com moléculas químicas semelhantes foram reportadas.

A aplicação intravenosa do diterpeno ácido labd-8(17)-en-15-óico em ratos normotensos induziu efeitos dose-dependentes de hipotensão e taquicardia através da redução da resistência vascular e da ativação do impulso simpático para o coração, respectivamente (LAHLOU et al., 2007). O ácido junicédrico, o qual se diferencia do ADA apenas pela estereoquímica do grupo metílico da posição 20, apresentou efeito neuroprotetor contra alterações degenerativas induzidas por oligômeros relacionados à doença de Alzheimer (ZOLEZZI et al., 2018).

O diterpeno ácido isocuprêssico (Figura 5A) foi associado à indução de aborto em ruminantes após o consumo de agulha do pinheiro de determinadas espécies de coníferas contendo este diterpeno (LEE et al., 2003). O diagnóstico deste quadro é sugerido através da detecção do ácido isocuprêssico no plasma bovino, além de seus derivados estáveis ácido agático, ácido diidroagático e ácido tetraidroagático, os quais podem ser detectados mesmo após alguns dias depois do consumo da planta pelos ruminantes (SNIDER et al., 2015).

O ácido diidroagático foi identificado como um produto derivado do metabolismo do ácido isocuprêssico pelas bactérias presentes no rúmen bovino (LIN et al., 1998). No entanto, outros estudos apontam o ácido agático (Figura 5B) como responsável pelo efeito abortivo, visto que o ácido isocuprêssico pode ser rapidamente convertido em ácido agático, elevando suas concentrações no plasma (GARDNER, PANTER & STEGELMEIER, 2010; WELCH et al., 2012). Dada a semelhança das estruturas químicas do ácido agático e do ácido isocuprêssico com os diterpenoides identificados nas oleorresinas de *Copaifera*, ressalta-se a importância dos estudos de segurança com produtos naturais utilizados na medicina popular.

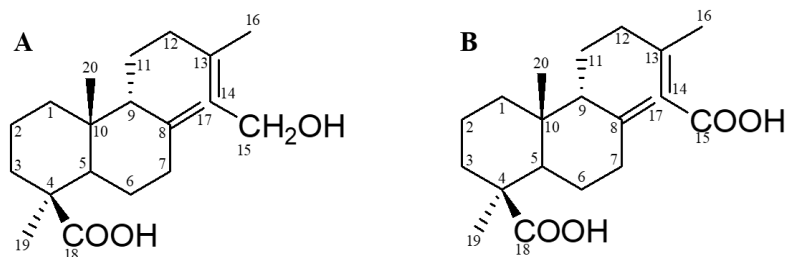


Figura 5. Estrutura química do **A)** ácido isocuprêssico e **B)** ácido agático, os quais foram associados à indução de aborto em bovinos (SNIDER et al., 2015; GARDNER, PANTER & STEGELMEIER, 2010).

1.3 Biotransformação de diterpenos

“Eu também quero a volta à natureza. Mas essa volta não significa ir para trás, e sim para a frente”.
Friedrich Nietzsche

Na literatura, há diversos artigos de revisão de estudos de biotransformação com diterpenos (GARCÍA-GRANADOS et al., 2007; FRIJA, FRADE & AFONSO, 2011; BHATTI & KERA, 2014; RICO-MARTÍNEZ et al., 2014; SOUSA, TEIXEIRA & FURTADO, 2018), porém não há estudos com o AP e ADA especificamente.

A literatura demonstra que diversos carbonos do núcleo terpenoide são suscetíveis a uma série de modificações químicas por biotransformação, incluindo hidroxilações, redução, hidrólise, epoxidação, redução de grupos carboxílicos, metilação, conjugação com ácido glucurônico, sulfato e aminoácidos (SULTANA & SAIFY, 2013; GARCÍA-GRANADOS et al., 2007; BHATTI & KERA, 2014; WANG et al., 2010; ZHANG et al., 2011).

O labdano andrografolido isolado de *Andrographis paniculata* foi submetido à biotransformação com o fungo *Rhizopus stolonifer*, levando a formação de metabólitos principalmente via oxidação e desidratação (HE et al., 2010) (Figura 6).

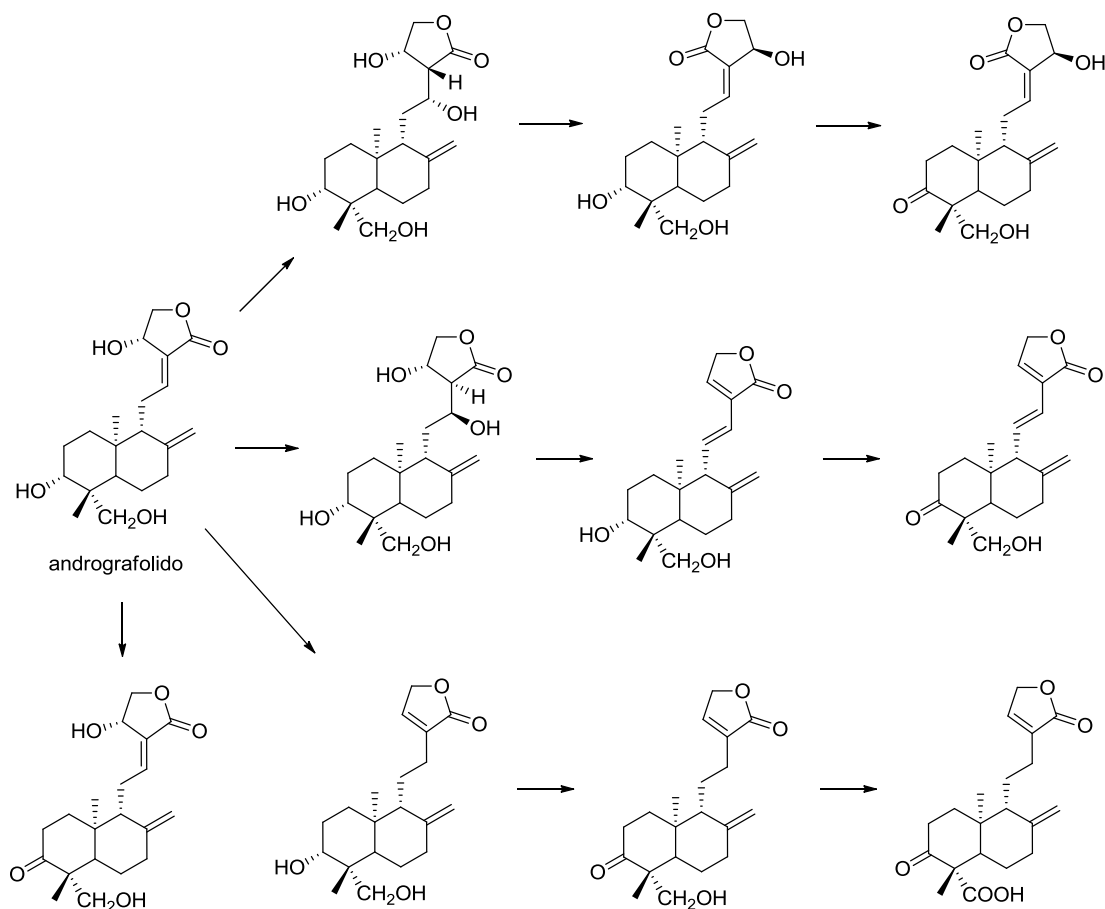


Figura 6. Andrografolido e seus derivados obtidos através da biotransformação com *R. stolonifer* (HE et al., 2010).

O esclareol é um diterpeno labdano extensivamente estudado em processos de biotransformação. Entre as reações mais comuns com diferentes micro-organismos estão a 3β , 6α e 18-hidroxilação (MARTINS et al., 2015; MENDOZA et al., 2015). No entanto, um exemplo raro de halogenação foi obtido através da incubação do esclareol com *Botrytis cinerea*, como apresentado na Figura 7 (FAROOQ & TAHARA, 2000).

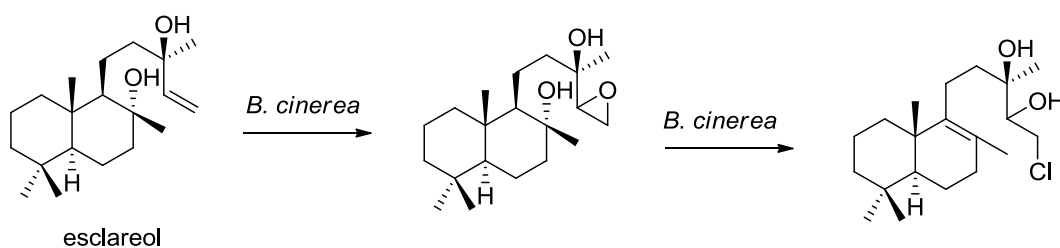


Figura 7. Epoxidação e halogenação do esclareol pelo fungo *B. cinerea* (FAROOQ & TAHARA, 2000).

A biotransformação de um diterpeno labdano semelhante ao ADA foi investigada com os fungos *Fusarium oxysporum* e *Myrothecium verrucaria* (MONTEIRO et al., 2017). Dois metabólitos hidroxilados nas posições 3 e 7 foram obtidos. Como é possível observar na Figura 8, *M. verrucaria* foi capaz de hidroxilar o anel A do precursor, enquanto *F. oxysporum* demonstrou preferência pelo anel B.

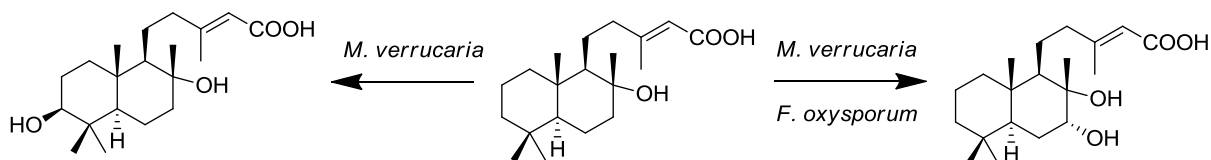


Figura 8. Derivados obtidos a partir da biotransformação do ácido (+)-(5*S*, 8*S*, 9*R*, 10*S*)-lab-13-en-8β-ol-15-óico com os fungos *M. verrucaria* e *F. oxysporum* (MONTEIRO et al., 2017).

Os tipos de biocatalisadores mais empregados para o estudo de biotransformação de diterpenoides são os fungos, sendo as bactérias e modelos derivados do fígado utilizados com menor frequência. A bactéria *Streptomyces griseus* foi utilizada para o estudo de metabolismo de um derivado do taxano sinexan A (LIU et al., 2012). Foram identificados dois metabólitos hidroxilados e um derivado furanotaxano com um sistema de anel 6/8/6/5 incomum, formado pela oxidação e arranjo intramolecular de um dos metabólitos hidroxilados, conforme apresentado na Figura 9.

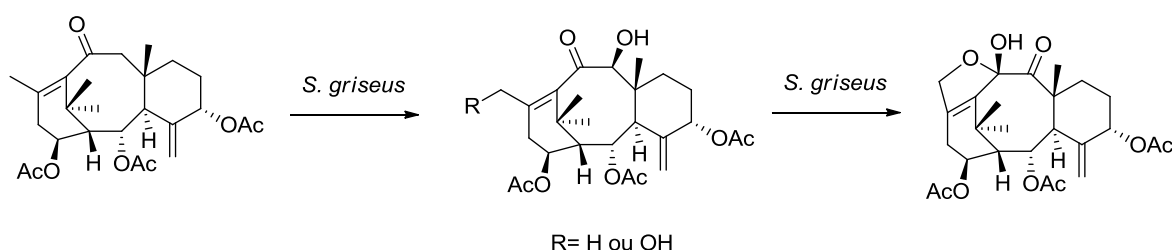


Figura 9. Biotransformação do diterpenoide derivado de sinexan A pela bactéria *S. griseus* (LIU et al., 2012).

A tanshinona I é um diterpeno quinona do tipo abietano e está presente na composição da planta medicinal *Salvia miltiorrhiza*. Seu metabolismo foi investigado através da incubação com microsomas hepáticos humanos e frações S9, levando a formação de metabólitos de fase I e fase II (LI et al., 2018). As reações enzimáticas mais comuns foram

hidroxilação, redução e glucuronidação. As vias metabólicas propostas e as isoformas enzimáticas envolvidas estão apresentadas na Figura 10.

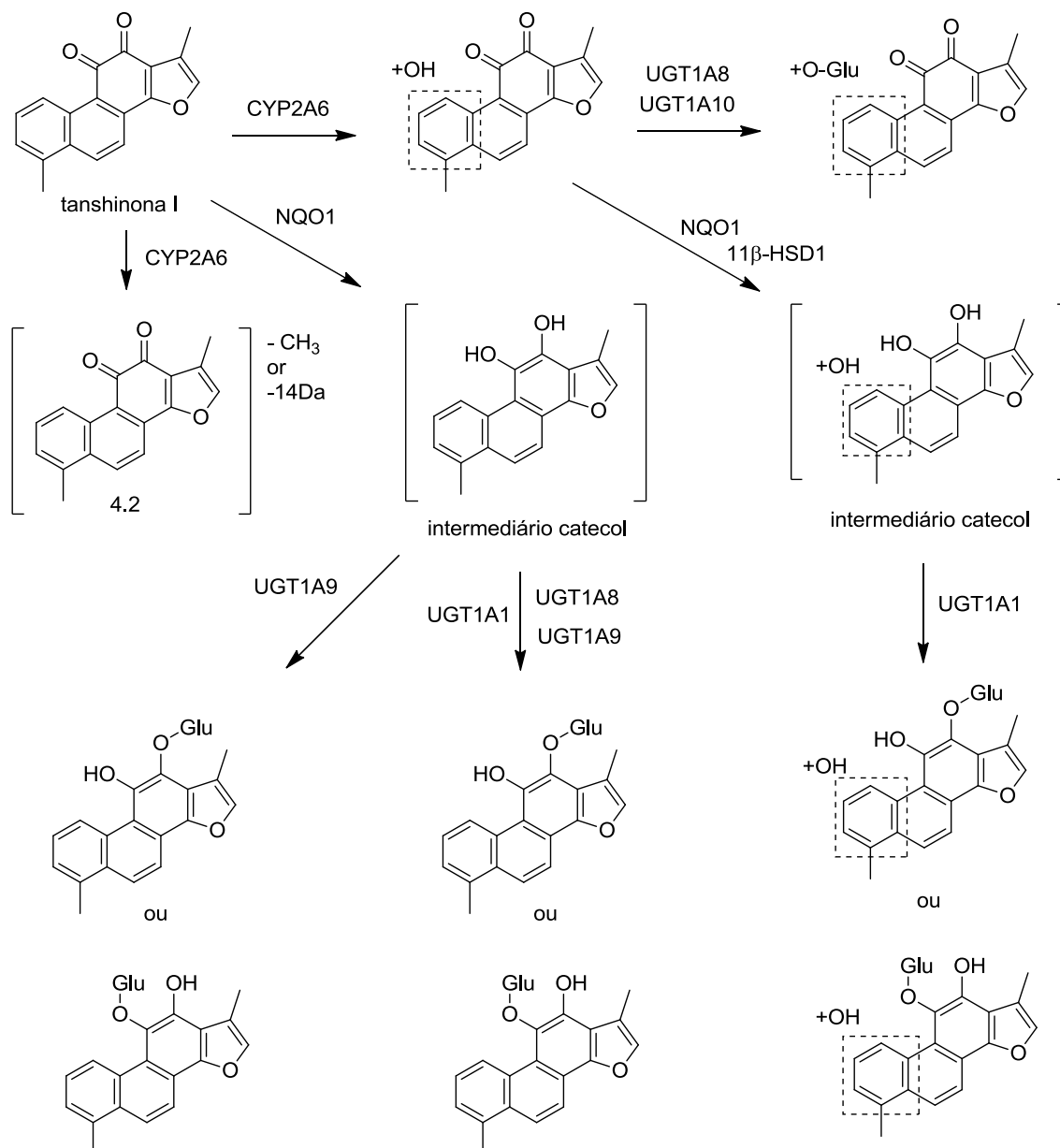


Figura 10. Vias metabólicas propostas para a biotransformação da tanshinona I com microsomas hepáticos humanos e frações S9 (LI et al., 2018).

Apesar da ampla distribuição dos diterpenos em fontes vegetais, muitas das quais são utilizadas via oral na medicina popular assim como o óleo de copaíba (GONZÁLEZ-BURGOS, CARRETERO & GÓMEZ-SERRANILLOS, 2011; HUA et al., 2017, UENO et al., 2018), a maioria dos estudos com biotransformação de diterpenos é direcionada à

obtenção de novos derivados ativos, sendo menor o enfoque na investigação de suas vias metabólicas para estudos de segurança.

Sabe-se que o efeito das biotransformações sobre a atividade biológica dos precursores pode variar, e derivados farmacologicamente ativos, inativos ou tóxicos podem ser obtidos. Considerando-se o potencial de detoxificação de sistemas biológicos, as modificações químicas ocorridas nos substratos podem diminuir sua atividade farmacológica. O metabolismo do ácido pseudolárico B pelo fungo *Chaetomium globosum* inativou o potencial antifúngico do substrato, principalmente através da conjugação com aminoácidos (ZHANG et al., 2011). A indução da produção de óxido nítrico promovida pelo deoxiandrografolido foi reduzida após a maioria das alterações químicas promovidas pelo fungo *Cunninghamella blakesleana* em sua estrutura (DENG et al., 2012).

Por outro lado, a modificação química de substratos diterpenoides por biotransformação já foi associada ao aumento das atividades antimicrobiana, gastroprotetora, alelopática, anticolinesterásica e citotóxica frente a células tumorais (SOUSA, TEIXEIRA & FURTADO, 2018). Um derivado carboxilado obtido a partir da biotransformação do ácido traquiloban-19-óico com *Syncephalastrum racemosum*, por exemplo, apresentou atividade anticolinesterásica maior não apenas que seu precursor, mas também foi seis vezes mais ativo que o controle positivo galantamina (DOS SANTOS et al., 2018).

Um exemplo clássico de toxicidade ativada após metabolização de substâncias naturais refere-se a um quadro epidêmico de hepatite tóxica na França. O metabolismo hepático de diterpenos *neo-clerodanos* presentes em *Teucrium chamaedrys* L., cujo extrato era consumido em cápsulas para fins de emagrecimento, levou a formação de metabólitos hepatotóxicos em humanos (VEIGA JUNIOR, PINTO & MACIEL, 2005). O efeito tóxico foi relacionado provavelmente à conversão dos diterpenoides (Figura 11) em metabólitos eletrofilicos pelas enzimas CYP3A, sendo a presença do anel furano determinante para a toxicidade (LEKEHAL et al., 1996).

Dada a importância dos estudos de biotransformação com diterpenoides, os estudos com os diterpenos AP e ADA especificamente podem corroborar para a utilização mais eficaz e segura das oleorresinas de *Copaifera* e também de outras fontes vegetais que contêm os diterpenos estudados. O emprego de diferentes abordagens de biotransformação podem contribuir para o entendimento do metabolismo destas substâncias *in vivo*.

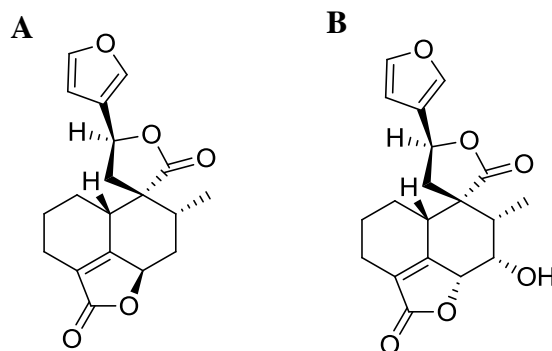


Figura 11. Diterpenos A) teuchmaedrina A e B) teucrina A, isolados de *Teucrium chamaedrys* L. e relacionados aos efeitos hepatotóxicos após metabolização pelas enzimas P450 (LEKEHAL et al., 1996).

A biotransformação dos diterpenos AP e ADA é importante não apenas para estudos de segurança, mas também é uma etapa necessária caso haja interesse em utilizá-los como protótipos de novos fármacos ou fitomedicamentos, além de propiciar informações importantes do ponto de vista biotecnológico para estratégias de obtenção de metabólitos de interesse.

Por fim, os estudos de biotransformação também podem resultar em metabólitos inéditos e farmacologicamente ativos, o que pode ser atrativo para companhias farmacêuticas interessadas em explorar substâncias bioativas oriundas da biodiversidade brasileira e agregar valor à comercialização e exportação das oleorresinas de *Copaifera*.

Há diversas patentes registradas envolvendo biotransformação de diterpenoides (SCIFINDER, 2018; United States Patent and Trademark Office – USPTO, 2018). Alguns exemplos são a utilização de micro-organismos recombinantes para a produção de glicosídeos de esteviol com elevado grau de pureza para serem utilizados como adoçantes naturais em alimentos e bebidas, utilização de leveduras para a produção de derivados a serem utilizados como fragrâncias a partir da biotransformação do larixol e manool e utilização de biotransformação para a produção de reguladores de crescimento de plantas. Processos de biotransformação com diterpenos taxanos também são patenteados para a produção de intermediários do paclitaxel, o qual é utilizado como agente antitumoral. Tais patentes indicam a importância da biotransformação de diterpenoides na indústria alimentícia, farmacêutica e agrícola.

Conclusões

5 CONCLUSÕES

As investigações realizadas neste trabalho permitiram concluir que:

♣ Reações de fase I e II foram detectadas com os fungos filamentosos, micro-organismos do trato gastrointestinal e microsomas hepáticos humanos. O metabolismo oxidativo foi predominante nos três modelos de biotransformação utilizados. No entanto, cada biocatalisador apresentou reações exclusivas como a acetilação pelas enzimas dos fungos filamentosos, a metilação pelos micro-organismos do trato gastrointestinal e a glucuronidação pelas enzimas microsomais.

♣ Comparativamente, o modelo de biotransformação com os fungos filamentosos possibilitou maiores rendimentos. As enzimas fúngicas também promoveram maior diversidade de reações sobre os substratos quando comparado às enzimas bacterianas e microsomais.

♣ Os estudos *in vitro* realizados neste trabalho contribuem para o entendimento de possíveis vias metabólicas dos diterpenos *in vivo*. Através da extrapolação para o sistema *in vivo*, baseado nos resultados obtidos nestas condições experimentais, sugere-se que no organismo humano os diterpenos AP e ADA convertam-se majoritariamente em metabólitos oxidados pelas enzimas P450 e sejam pouco metabolizados pela microbiota intestinal.

♣ Os estudos de citotoxicidade permitiram concluir que a maioria das modificações químicas promovidas pelos fungos sobre o precursor AP levou a diminuição do potencial citotóxico, enquanto a maioria das reações químicas sobre o ADA não afetou significativamente sua atividade biológica, contribuindo para os estudos de segurança das oleorresinas de *Copaifera*.

♣ No entanto, o derivado P05(ADA) obtido com o fungo *C. echinulata* apresentou maior potencial citotóxico ($IC_{50} = 191,5 \mu M$) que seu precursor ADA ($IC_{50} = 284,6 \mu M$) frente a células normais de epitélio mamário. Adicionalmente, a produção do ácido *ent*-agático a partir da transformação do ADA pela bactéria *L. fermentum* indica a necessidade de estudos mais aprofundados acerca do metabolismo dos constituintes das oleorresinas de *Copaifera*, uma vez que o ácido agático já foi reportado na literatura como abortivo em mamíferos.

♣ O aumento da atividade citotóxica contra células tumorais foi verificado apenas para o derivado P06(AP) ($IC_{50} = 62,6 \mu M$), sugerindo que a isomerização da dupla e introdução de

grupo acetato na estrutura do precursor AP ($IC_{50} = 239,5 \mu M$) pode ser uma estratégia para obtenção de derivados mais ativos frente à linhagem tumoral HeLa.

♣ De modo geral, os resultados obtidos neste estudo reforçam a importância da biotransformação como estratégia para obtenção de novas estruturas químicas e como uma valiosa ferramenta para o entendimento de vias metabólicas e relações estrutura-atividade de substâncias naturais bioativas.

Referências

6 REFERÊNCIAS

ABRÃO, F.; ALVES, J.A.; ANDRADE, G.; DE OLIVEIRA, P.F.; AMBRÓSIO, S.R.; VENEZIANI, R.C.S.; TAVARES, D.C.; BASTOS, J.K.; MARTINS, C.H.G. Antibacterial effect of *Copaifera duckei* Dwyer oleoresin and its main diterpenes against oral pathogens and their cytotoxic effect. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1, 2018.

ABRÃO, F.; COSTA, L.D.A.; ALVES, J.M.; SENEDESE, J.M.; DE CASTRO, P.T.; AMBRÓSIO, S.R.; VENEZIANI, R.C.S.; BASTOS, J.K.; TAVARES, D.C.; MARTINS, C.H.G. *Copaifera langsdorffii* oleoresin and its isolated compounds: antibacterial effect and antiproliferative activity in cancer cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 443, 2015.

AGUIAR, G.P.; CREVELIN, E.J.; DIAS, H.J.; AMBRÓSIO, S.R.; BASTOS, J.K.; HELENO, V.C.G.; VESSECCHI, R.; CROTTI, A.E.M. Electrospray ionization tandem mass spectrometry of labdane-type acid diterpenes. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 53, p. 1086-1096, 2018.

ALQAHTANI, S. *In silico* ADME-Tox modeling: progress and prospects. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 13, p. 1147–1158, 2017.

ALVES, J.M.; SENEDESE, J.M.; LEANDRO, L.F.; CASTRO, P.T.; PEREIRA, D.E.; CARNEIRO, L.J.; AMBRÓSIO, S.R.; BASTOS, J.K.; TAVARES, D.C. *Copaifera multijuga* oleoresin and its constituent diterpene (–)-copalic acid: genotoxicity and chemoprevention study. **Mutation Research-genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 819, p. 26-30, 2017.

ARGIKAR, U.A.; DUMOUCHEL, J.L.; DUNNE, C.E.; SARAN, C.; CIRELLO, A.L.; GUNDUZ, M. Ocular metabolism of levobunolol; historic and emerging metabolic pathways. **Drug Metabolism & Disposition**, v. 44, p. 1304–1312, 2016.

ASHA, S.; VIDYAVATHI, M. *Cunninghamella* – a microbial model for drug metabolism studies – a review. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 16-29, 2009.

ATOLANI, O.; OLATUNJI, G.A. Isolation and evaluation of antiglycation potential of polyalthic acid (furanoterpene) from *Daniella oliveri*. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n. 6, p. 407-411, 2014.

BARDAJÍ, D.K.R.; SILVA, J.J.M.; BIANCHI, T.C.; EUGENIO D.S.; OLIVEIRA, P.F.; LEANDRO L.F.; ROGEZ, H.L.G.; VENEZIANNI, R.C.S.; AMBROSIO S.R.; TAVARES D.C.; BASTOS J.K.; MARTINS, C.H.G. *Copaifera reticulata* oleoresin: chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe**, v. 40, p. 18-27, 2016.

BARRIOS-GONZÁLEZ J. Solid-state fermentation: physiology of solid medium, its molecular basis and applications. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 175-185, 2012.

BENDIKOV, M.Y.; MINERS, J.O.; SIMPSON, B.S.; ELLIOT, D.J.; SEMPLE, S.J.; CLAUDIE, D.J.; MCKINNON, R.A.; GILLAM, E.M.; SYKES, M.J. *In vitro* metabolism of the anti-inflammatory clerodane diterpenoid polyandric acid A and its hydrolysis product by human liver microsomes and recombinant cytochrome P450 and UDP-glucuronosyltransferase enzymes. **Xenobiotica**, v. 14, p.1-9, 2016.

BHATTACHARYA, S.; YADAV, J.S. Microbial P450 enzymes in bioremediation and drug discovery: emerging potentials and challenges. **Current Protein and Peptide Science**, v. 19, p. 75-86, 2018.

- BHATTI, H.N.; KHERA, R. A. Biotransformations of diterpenoids and triterpenoids: a review. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 16, p. 70-104, 2014.
- BINNS, N. Probióticos, prebióticos e a microbiota intestinal. In: **Monografias Concisas ILSI Europe**. São Paulo: ILSI Brasil, 2014. p. 1-36.
- BOHLMANN, F.; GRENZ, M.; DAHR, A.K.; GOODMAN M. Labdane derivatives and flavones from *Gutierrezia dracunculoides*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 105-107, 1981.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R.M.; ROBINSON, H. Gutierrezial and further diterpenes from *Gutierrezia sarothrae*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 9, p. 2007-2012, 1984.
- BORGES, C.H.G.; CRUZ, M.G.; CARNEIRO, L.J.; TAVARES, D.C.; DE OLIVEIRA, P.F.; VENEZIANI, R.C.S.; PARREIRA, R.L.T.; MAGALHAES, L.G.; AMBROSIO, S.R., DA SILVA, J.J.M.; BASTOS, J.K.; RODRIGUES, V.; CARAMORI, G.F.; NAGURNIAK, G.R. *Copaifera duckei* oleoresin and its main non-volatile terpenes: *in vitro* schistosomicidal properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 10, p. 1348-1356, 2016.
- CALDERÓN, J.S.; QUIJANO, L.; GÓMEZ-GARIBAY, F.; MORÁN, M.; RÍOS, T. Labdane diterpenes from *Brickellia glomerata*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2639-2641, 1987.
- CANO, A.; RAMÍREZ-APAN, M.T.; DELGADO, G. Biotransformation of sclareolide by filamentous fungi: cytotoxic evaluation of the derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1177-1182, 2011.
- CARNEIRO, L.J.; BIANCHI, T.C.; DA SILVA, J.J.M.; OLIVEIRA, L.C.; BORGES, C.H.G.; LEMES, D.C.; BASTOS, J.K.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R. Development and validation of a rapid and reliable RP-HPLC-PDA method for the quantification of six diterpenes in *Copaifera duckei*, *Copaifera reticulata* and *Copaifera multijuga* oleoresins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 729-737, 2018.
- CARRERAS, C.R.; ROSSOMANDO, P.C.; GIORDANO, O.S. *ent*-Labdanes in *Eupatorium buniifolium*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 1031-1034, 1998.
- CARVALHO, C.C.C.R.; FONSECA, M.M.R. Biotransformation of terpenes. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 134-142, 2006.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v.55, n.7, p.773-778, 2000.
- CASTELLANI, A. The water cultivation of pathogenic fungi. **Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale**, v. 44, n. 2, p. 217-220, 1964.
- CHEN, K.; DUGAS, T.R.; COLE, R.B. Liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry investigations of fragmentation pathways of biliary 4,4'-methylenedianiline conjugates produced in rats. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, p. 271-278, 2008.

CHEN, Y.; GUO, J.; TANG, Y.; WU, L.; TAO, W.; QIAN, Y.; DUAN, J. Pharmacokinetic profile and metabolite identification of yuanhuapine, a bioactive component in *Daphne genkwa* by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 112, p. 60-69, 2015.

CHEN, Z.; ZHU, Q.; ZONG, M.; GU, Z.; HAN, Y. Enzymatic synthesis and antibacterial activity of andrographolide derivatives. **Process Biochemistry**, v. 46, 1649-1653, 2011.

CHERNOV, S.V.; SHUL'TS E.E.; SHAKIROV, M.M.; TOLSTIKOV, G.A. Synthetic transformations of higher terpenoids: XII. Transformation of lambertianic acid into 14,16-epoxyabietane diterpenoids. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 42, n. 1, p. 36-41, 2006.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; 2nd ed. Approved standard M38-A2, **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 28, n. 16, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSIa). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; 9th ed. Approved standard M07-A9, **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 32, n. 2, 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSIb). Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; 8th ed. Approved standard M11-A8, **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 32, n. 5, 2012.

CRYAN, J.F.; DINAN, T.G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behavior. **Nature Reviews**, v. 13, p. 701-712, 2012.

DA SILVA, J.J.M.; CREVELIN, E.J.; CARNEIRO, L.J.; ROGEZ, H.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R.; BERALDO, M.L.A.; BASTOS, J.K. Development of a validated ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of acid diterpenes in *Copaifera* oleoresins. **Journal of Chromatography A**, v. 1515, p. 81-90, 2017.

DANIELSSON, H.; GUSTAFSSON, B. On serum-cholesterol levels and neutral fecal sterols in germ-free rats; bile acids and steroids 59. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 83, p. 482-485, 1959.

DEMARQUE, D.P.; CROTTI, A.E.M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Products Reports**, v. 33, p. 432-455, 2016.

DENG, S.; ZHANG, B.J.; WANG, C.Y.; TIAN, Y.; YAO, J.H.; AN, L.; HUANG, S.S.; PENG, J.Y.; LIU, K.X.; MA, X.C. Microbial transformation of deoxyandrographolide and their inhibitory activity on LPS-induced NO production in RAW 264.7 macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 1615-1618, 2012.

DOS SANTOS, A.O.; IZUMI, E.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B.P.; VEIGA JUNIOR, V.F.; NAKAMURA, C.V. Antileishmanial activity of diterpene acids in copaiba oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 59-64, 2013.

DOS SANTOS, G.F.; LIMA, G.S.; OLIVEIRA, G.P.; SOUZA FILHO, J.D.; AMARAL, L.S.; RODRIGUES-FILHO, E.; TAKAHASHI, J.A. New AChE inhibitors from microbial transformation of trachyloban-19-oic acid by *Syncephalastrum racemosum*. **Bioorganic Chemistry**, v. 79, p. 60–63, 2018.

EAGLING, V.A.; TJIA, J.F.; BACK, D.J. Differential selectivity of cytochrome P450 inhibitors against probe substrates in human and rat liver microsomes. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 45, p. 107-114, 1998.

ELSBY, R.; MAGGS, J.L.; ASHBY, J.; PARK, B.K. Comparison of the modulatory effects of human and rat liver microsomal metabolism on the estrogenicity of bisphenol A: implications for extrapolation to humans. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 297, p. 103-113, 2001.

FABER, K. **Biotransformations in organic chemistry**. 3a ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997.

FAROOQ, A.; TAHARA, S. Biotransformation of two cytotoxic terpenes, α -santonin and sclareol by *Botrytis cinerea*. **Zeitschrift Naturforschung C**, v. 55c, p. 713–717, 2000.

FASINU, P.; BOUIC, P.J.; ROSENKRANZ, B. Liver-based *in vitro* technologies for drug biotransformation studies—A review. **Current Drug Metabolism**, v. 13, p. 215-224, 2012.

FISHER, M.B.; JACKSON, D.; KAERNER, A.; WRIGHTON, S.A.; BOREL, A.G. Characterization by liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy and liquid chromatography-mass spectrometry of two coupled oxidative conjugative metabolic pathways for 7-ethoxycoumarin in human liver microsomes treated with alamethicin. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 30, p. 270-275, 2002.

FONSECA, A.P.; ESTRELA, F.T.; MORAES, T.S.; CARNEIRO, L.J.; BASTOS, J.K.; SANTOS, R.A.; AMBRÓSIO, S.R.; MARTINS, C.H.; VENEZIANI, R.C. *In vitro* antimicrobial activity of plant-derived diterpenes against bovine mastitis bacteria. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 7865-7862, 2013.

FRAGA, B.M.; GONZÁLEZ, P.; GUILLERMO, R.; MELCHOR, G.H. The biotransformation of manoyl oxide derivatives by *Gibberella fujikuroi*: the fungal epimerization of an alcohol group. **Tetrahedron**, v. 54, p. 6159-6168, 1998.

FRAGA, B.M.; GUILLERMO, R.; HERNANDÉZ, M.G.; CHAMY, M.C.; GARBARINO, J.A. Biotransformation of two stemodane diterpenes by *Mucor plumbeus*. **Tetrahedron**, v. 60, p. 7921-7932, 2004.

FRIJA, L.M.T.; FRADE, R.F.M.; AFONSO, C.A.M. Isolation, chemical, and biotransformation routes of labdane-type diterpenes. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 8, p. 4418-4452, 2011.

GARCÍA-GRANADOS, A.; FERNANDÉZ, A.; GUTIÉRREZ, M.C.; MARTÍNEZ, A.; QUIRÓS, R.; RIVAS, F.; ARIAS, J.M. Biotransformation of *ent*-13-*epi*-manoyl oxides difunctionalized at C-3 and C-12 by filamentous fungi. **Phytochemistry**, v. 65, p. 107-115, 2004.

GARCÍA-GRANADOS, A.; MARTÍNEZ, A.; PARRA, A.; RIVAS, F. Manoyl-oxide biotransformations with filamentous fungi. **Current Organic Chemistry**, v. 11, p. 679-692, 2007.

GARCÍA-TAPIA, M.; SÁNCHEZ, J.R.G; ARRIETA, J.; OLIVARES-CORICHI, I.M.; SANTIAGO-CRUZ, J.A.; AHUMADA-ANAYA, A.K.; SÁNCHEZ-MENDOZA, M.E. Effects of polyalthic acid from *Croton reflexifolius* on viability of cancerous cells. **International Journal of Pharmacology**, v. 13, n. 3, p. 286-291, 2017.

GARCIA, P.A.; OLIVEIRA, A.B.; BATISTA, R. Occurrence, biological activities and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. **Molecules**, v. 12, p. 455-483, 2007.

GARDNER, D.R.; PANTER, K.E.; STEGELMEIER, B.L. Implication of agathic acid from *Utah juniper* bark as an abortifacient compound in cattle. **Journal of Applied Toxicology**, v. 30, n. 2, p.115-119, 2010.

GOMES, N.D.M.; REZENDE, C.D.M.; FONTES, S.P.; HOVELL, A.M.C.; LANDGRAF, R.G.; MATHEUS, M.E. Antineoplastic activity of *Copaifera multijuga* oil and fractions against ascitic and solid Ehrlich tumor. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 1, p. 179-184, 2008.

GONZÁLEZ-BURGOS, E.; CARRETERO, M.E.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M.P. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities - A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 209-225, 2011.

GONZALEZ, F.J.; COUGHTRIE, M.; TUKEY, R.H. Drug Metabolism. In: BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. (Ed.) **Goodman and Gilman's - The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 12a ed. New York: McGraw Hill, 2011. p. 123-143.

GRÖGER, M.; DINGER, J.; KIEHNTOPF, M.; PETERS, F.T.; RAUEN, U.; MOSIG, A.S. Preservation of cell structure, metabolism, and biotransformation activity of liver-on-chip organ models by hypothermic storage. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, e1700616, 2017.

GUSHIKEN, L.F.S.; HUSSNI, C.A.; BASTOS, J.K.; ROZZA, A.L.; BESERRA, F.P.; VIEIRA, A.J.; PADOVANI, C.R.; LEMOS, M.; POLIZELLO JUNIOR, M.; SILVA, J.J.M.; NÓBREGA, R.H.; MARTINEZ, E.R.M.; PELLIZZON, C.H. Skin wound healing potential and mechanisms of the hydroalcoholic extract of leaves and oleoresin of *Copaifera langsdorffii* Desf. Kuntze in rats. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-16, 2017.

HANSON, J.R. **An Introduction to Biotransformations in Organic Chemistry**. 1a ed. Oxford: W.H. Freeman Spektrum, 1995

HARAGUCHI, H.; OIKE, S.; MUROI, H.; KUBO, I. Mode of antibacterial action of totarol, a diterpene from *Podocarpus nagi*. **Planta Medica**, v. 62, n. 2, p. 122-125, 1996.

HE, W.; LI, Y.; QIN, Y.; TONG, X.; SONG, Z.; ZHAO, Y.; WEI, R.; LI, L.; DAI, H.; WANG, W.; LUO, H.; YE, X.; ZHANG, L.; LIU, X. New cryptotanshinone derivatives with anti-influenza A virus activities obtained via biotransformation by *Mucor rouxii*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, p. 6365-6374, 2017.

HE, X.; WANG, Y.; HU, H.; WU, Y.; ZENG, X. Novel bioconversion products of andrographolide by *Aspergillus ochraceus* and their cytotoxic activities against human tumor cell lines. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 68, p. 89-93, 2011.

- HE, X.; ZENG, X.; HU, H.; WU, Y. Cytotoxic biotransformed products from andrographolide by *Rhizopus stolonifer* ATCC 12939. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 62, p. 242–247, 2010.
- HUA, J.; LUO, S.; LIU, Y.; LIU, Y.; TAN, Y.; FENG, L.; XIAO, C.; ZHANG, K.; LI, S.; NIU, X. New bioactive macrocyclic diterpenoids from *Euphorbia helioscopia*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, e1700327, 2017.
- HUSSER, C.; PÄHLER, A.; SEYMOUR, M.; KUHLMANN, O.; SCHADT, S.; ZELL, M. Profiling of dalcetrapib metabolites in human plasma by accelerator mass spectrometry and investigation of the free phenothiol by derivatisation with methylacrylate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 152, p. 143-154, 2018.
- ILETT, K. F.; TEE, L. B. G.; REEVES, P. T.; MINCHIN, R. F. Metabolism of drugs and other xenobiotics in the gut lumen and wall. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 46, n. 1, p. 67-93, 1990.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da extração vegetal e da Silvicultura 2016 [Acesso em 13 jul. 2018]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html>
- ISHIHAMA, A. Modulation of the nucleoid, the transcription apparatus and the translation machinery in bacteria for stationary phase survival. **Genes to Cells**, v. 4, n. 3, p. 135-143, 1999.
- IZUMI, E.; UEDA-NAKAMURA, T.; VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Terpenes from *Copaifera* demonstrated *in vitro* antiparasitic and synergic activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 2994-3001, 2012.
- JACKSON, M.; KARWOSWSKI, J. P.; HUMPHREY, P. E.; KOHL, W. L.; BARLOW, G.J.; TANAKA, S. K. Calbistrins, novel antifungal agents produced by *Penicillium restrictum*. **The Journal of Antibiotics**, v. 46, p. 34-38, 1993.
- JESCHEK, M.; PANKE, S.; WARD, T.R. Artificial metalloenzymes on the verge of new-to-nature metabolism. **Trends in Biotechnology**, v. 36, p. 60–72, 2018.
- JIA, Y.W.; ZENG, Z.Q.; SHI, H.L.; LIANG, J.; LIU, Y.M.; TANG, Y.X.; LIAO, X. Characterization of *in vitro* metabolites of irisfloreantin by rat liver microsomes using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Biomedical Chromatography**, v. 30, p. 1363-70, 2016.
- KEELING, C.I.; BOHLMANN, J. Diterpene resin acids in conifers. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2415-2423, 2006.
- KIMURA, K.; MINAMIKAWA, Y.; OGASAWARA, Y.; YOSHIDA, J.; SAITOH, K.; SHINDEN, H.; YE, Y.Q.; TAKAHASHI, S.; MIYAKAWA, T.; KOSHINO, H. Kujigamberol, a new dinorlabdane diterpenoid isolated from 85 million years old Kuji amber using a biotechnological assay. **Fitoterapia**, v. 83, n. 5, p. 907-912, 2012.
- KIREN, Y.; NUGROHO, A.E.; HIRASAWA, Y.; SHIROTA, O.; BEKENOVA, M.; NARBKOVICH, N.O.; SHAPILOVA, M.; MAENO, H.; MORITA, H. Mumiic acids A-E: new diterpenoids from mumiyo. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, n. 1, p. 199-205, 2014.

KOPPEL, N.; REKDAL, V.M.; BALSUS, E.P. Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota. **Science**, v. 356, n. 6344, 2017.

KUDO, T.; GODA, H.; YOKOSUKA, Y.; TANAKA, R.; KOMATSU, S.; ITO, K. Estimation of the contribution of CYP2C8 and CYP3A4 in repaglinide metabolism by human liver microsomes under various buffer conditions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 9, p. 2847-2852, 2017.

KUMAR, R.; SAHA, A.; SAHA, D. Biotransformation of 16-oxacleroda-3,13(14)E-dien-15-oic acid isolated from *Polyalthia longifolia* by *Rhizopus stolonifera* increases its antifungal activity. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 34, p. 212-218, 2016.

LAHLOU, S.; CORREIA JUNIOR, C.A.B.; DOS SANTOS, M.V.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; DUARTE, G.P.; MAGALHÃES, P.J.C. Mechanisms underlying the cardiovascular effects of a labdenic diterpene isolated from *Moldenhawera nutans* in normotensive rats. **Vascular Pharmacology**, v. 46, p. 60-66, 2007.

LE FOL, V.; BRION, F.; HILLENWECK, A.; PERDU, E.; BRUEL, S.; AÏT-AÏSSA, S.; CRAVEDI, J.P.; ZALCO, D. Comparison of the *in vivo* biotransformation of two emerging estrogenic contaminants, BP2 and BPS, in zebrafish embryos and adults. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, 704, 2017.

LEANDRO, LF.; MARTINS, C.H.G.; MORAES, T.S.; VARANDA, E.A.; BASTOS, J.K.; TAVARES, D.C.; DE GRANDIS, R.A.; RESENDE, F.A.; SENEDESE, J.M.; OLIVEIRA, P.F.; OZELIN, S.D.; ALVES, J.M. Assessment of the antibacterial, cytotoxic and mutagenic potential of the phenolic-rich hydroalcoholic extract from *Copaifera trapezifolia* Hayne leaves. **Journal of Medical Microbiology**, v. 65, p. 937-950, 2016.

LEE, S.T.; GARDNER, D.R.; GARROSIAN, M.; PANTER, K.E.; SERREQUI, A.N.; SCHOCH, T.K.; STEGELMEIER, B.L. Development of enzyme-linked immunosorbent assays for isocupressic acid and serum metabolites of isocupressic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3228-3233, 2003.

LEKEHAL, M.; PESSAYRE, D.; LEREAU, J.M.; MOULIS, C.; FOURASTE, I.; FAU D. Hepatotoxicity of the herbal medicine germander: metabolic activation of its furano diterpenoids by cytochrome P450 3A depletes cytoskeleton-associated protein thiols and forms plasma membrane blebs in rat hepatocytes. **Hepatology**, v. 24, n. 1, p. 212-218, 1996.

LERESCHE, J.; MEYER, H. Chemocatalysis and biocatalysis (biotransformation): some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. **Organic Process Research & Development**, v. 10, p. 572-580, 2006.

LEVERRIER, A.; MARTIN, M.T.; SERVY, C.; OUAZZANI, J.; RETAILLEAU, P.; AWANG, K.; MUKHTAR, M.R.; GUERITTE, F.; LITAUDON, M. Rearranged diterpenoids from the biotransformation of *ent-trachyloban-18-oic acid* by *Rhizopus arrhizus*. **Journal of Natural Products**, v. 73, p. 1121-1125, 2010.

LI, Y.; FAN, Y.; SU, H.; WANG, Q.; LI, G.; HU, Y.; JIANG, J.; TAN, B.; QIU, F. Metabolic characteristics of tanshinone I in human liver microsomes and S9 subcellular fractions. **Xenobiotica**, 2018.

LIN, S. J.; SHORT, R. E.; FORD, S. P.; GRINGS, E. E.; ROSAZZA, J. P. N. *In vitro* biotransformations of isocupressic acid by cow rumen preparations: formation of agathic and dihydroagathic acids. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 1, p. 51-56, 1998.

- LIU, J.; WU, J.; WANG, X.; CAI, Z. Study of the phase I and phase II metabolism of a mixture containing multiple tanshinones using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, p. 2992-2998, 2007.
- LIU, W.S.; YANG, C.Y.; FANG, T.J. Strategic ultrasound-induced stress response of lactic acid bacteria on enhancement of β -glucosidase activity for bioconversion of isoflavones in soymilk. **Journal of Microbiological Methods**, v. 148, p. 145-150, 2018.
- LIU, X.; XIE, D.; CHEN, R.; MEI, M.; ZOU, J.; CHEN, X.; DAI, J. A furantaxane with an unusual 6/8/6/5 ring system and potent tumor MDR reversal activity obtained via microbial transformation. **Organic Letters**, v. 14, p. 4106-4109, 2012.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. 2a ed. Santo André: IPSIS, 2008.
- MA, L.; LIU, X.; LIANG, J.; ZHANG, Z. Biotransformations of cinnamaldehyde, cinnamic acid and acetophenone with *Mucor*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 27, n. 9, p. 2133 - 2137, 2011.
- MAFEZOLI, J.; OLIVEIRA, M.C.F.; PAIVA, J.R.; SOUSA, A.H.; LIMA, M.A.S.; SILVA JÚNIOR, J.N.; BARBOSA, F.G.; WIJERATNE, K.; GUNATILAKA, A.A.L. Stereo and regioselective microbial reduction of the clerodane diterpene 3,12-dioxo-15,16-epoxy-4-hydroxycleroda-13(16),14-diene. **Natural Product Communications**, v. 9, p. 759-762, 2014.
- MARQUINA, S.; PARRA, J.L.; GONZALEZ, M.; ZAMILPA, A.; ESCALANTE, J.; TREJO-HERNÁNDEZ, M.R.; ALVAREZ, L. Hydroxylation of the diterpenes *ent*-kaur-16-en-19-oic and *ent*-beyer-15-en-19-oic acids by the fungus *Aspergillus niger*. **Phytochemistry**, v. 70, p. 2017-2022, 2009.
- MARTINS, M.P.; OUZZANI, J.; ARCILE, G.; JELLER, A.H.; LIMA, J.P.F.; SELEGHIM, M.H.R.; OLIVEIRA, A.L.L.; DEBONSI, H.M.; VENÂNCIO, T.; YOKOYA, N.S.; FUJII, M.T.; PORTO, A.L.M. Biohydroxylation of (-)-Ambrox®, (-)-sclareol, and (+)-sclareolide by whole cells of Brazilian marine-derived fungi. **Marine Biotechnology**, v. 17, p. 211-218, 2015.
- MATEOS DIAZ, J.C.; RODRÍGUEZ, J.A.; ROUSSOS, S.; CODOVA, J.; ABOUSALHAM, A.; CARRIERE, F.; BARATTI, J. Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 5, p. 1042-1050, 2006.
- MECA, G.; RITIENI, A.; MAÑES, J. Reduction in vitro of the minor *Fusarium mycotoxin beauvericin* employing different strains of probiotic bacteria. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 435-440, 2012.
- MENDOZA, L.; ESPINOZA, P.; URZUA, A.; VIVANCO, M.; COTORAS, M. *In vitro* antifungal activity of the diterpenoid 7 α -hydroxy-8(17)-labden-15-oic acid and its derivatives against *Botrytis cinerea*. **Molecules**, v. 14, p. 1966-1979, 2009.
- MENDOZA, L.; SEPÚLVEDA, C.; MELO, R.; COTORAS, M. Characterization of the antifungal activity against *Botrytis cinerea* of sclareol and 13-epi-sclareol, two labdane-type diterpenoids. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 60, p. 3024-3028, 2015.

- MIYAZAWA, M.; SHIMAMURA, H.; NAKAMURA, S.; KAMEOKA, H. Antimutagenic activity of (+)-polyalthic acid from *Vitex rotundifolia*. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 43, p. 3012-3015, 1995.
- MIZUNO, C.S.; SOUZA A.B.; AMBROSIO, S.R.; TEKWANI, B.L.; VENEZIANI, R.C.S. Synthesis and biological evaluation of polyalthic acid derivatives for the treatment of neglected diseases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 23, p. 5529-5531, 2015.
- MONTEIRO, A.F.; SEIDL, C.; SEVERINO, V.G.P.; CARDOSO, C.L.; CASTRO-GAMBOA, I. Biotransformation of labdane and halimane diterpenoids by two filamentous fungi strains. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 11, 170854, 2017.
- MULLER, J.L.; PROTTI, K.L.; MACHADO, M.S.; LACERDA, L.L.V.; BRESOLIN, T.M.B.; PODLECH, P.S. Comparison of *Saccharomyces boulardii* growth in an air-lift fermentor and in a shaker. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 4, p. 688-693, 2007.
- NEVES, A.L.C. **As controvérsias em torno da experimentação animal: contribuições para divulgação científica por meio de uma análise dialética** [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Educação, Instituto de Física, Instituto de Química e Instituto de Biociências, 2016.
- ORBACH, S.M.; LESS, R.R.; KOTHARI, A.; RAJAGOPALAN, P. *In vitro* intestinal and liver models for toxicity testing. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 3, p. 1898-1910, 2017.
- PAIVA, L.A.F.; CUNHA K.M.D.; SANTOS, F.A.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R.; RAO, V.S.N. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 8, p. 737-739, 2002.
- PAIVA, L.A.F.; RAO, V.S.N.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleoresin on experimental gastric ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 73-78, 1998.
- PALUDO, C.R.; SILVA-JUNIOR, E.A.; SILVA, E.O.; VESSECCHI, R.; LOPES, N.P.; PUPO, M.T.; EMERY, F.S.; GONÇALVES, N.S.; SANTOS, R.A.; FURTADO, N.A.J.C. Inactivation of β -lapachol cytotoxicity by filamentous fungi that mimic the human blood metabolism. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 42, p. 213-220, 2017.
- PARKINSON, A.; OGILVIE, B.W. Biotransformação de xenobióticos. In: KLAASSEN, C.D.; WATKINS, J.B. (Ed.) **Fundamentos em Toxicologia de Casarett & Doull**. 2a ed. Porto Alegre: AMGH, 2012; p. 72.
- PARSHIKOV, I.A.; WOODLING, K.A.; SUTHERLAND, J.B. Biotransformations of organic compounds mediated by cultures of *Aspergillus niger*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 17, p. 6971-6986, 2015.
- PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introduction to spectroscopy**. 4a ed. Belmont: Cengage Learning, 2009.
- PENG, J.; KASANA, N.; STANLEY, C.E.; CHADWICK, J.; FRONCZEK, F.R.; HAMANN, M.T. Microbial metabolism studies of cyanthiwigin B and synergic antibiotic effects. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 5, p. 727-730, 2006.

PEREIRA, H.S.; LEÃO-FERREIRA, L.R.; MOUSSATCHÉ, N.; TEIXEIRA, V.L.; CAVALCANTI, D.N.; COSTA, L.J.; DIAZ, R.; FRUGULHETTI, I.C. Antiviral activity of diterpenes isolated from the Brazilian marine alga *Dictyota menstrualis* against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). **Antiviral Research**, v. 64, p. 69-76, 2004.

PERTINO, M.W.; THEODULOZ, C.; PALENZUELA, J.A.; AFONSO, M.M.; YESILADA, E.; MONSALVE, F.; GONZÁLEZ, P.; DROGUETT, D.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Synthesis and pharmacological activity of diterpenyl-naphthoquinone derivatives. **Molecules**, v. 16, p. 8614-8628, 2011.

PORTO, T.S.; SIMÃO, M.R.; CARLOS, L.Z.; MARTINS, C.H.G.; FURTADO, N.A.J.C.; SAID, S.; ARAKAWA, N.S.; SANTOS, R.A.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R. Pimarane-type diterpenes obtained by biotransformation: antimicrobial properties against clinically isolated Gram-positive multidrug-resistant bacteria. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 1502-1507, 2013.

REYES-TREJO, B.; SÁNCHEZ-MENDOZA, M.E.; BECERRA-GARCÍA, A.A.; CEDILLO-PORTUGAL, E.; CASTILLO-HENKEL, C.; ARRIETA, J. Bioassay-guided isolation of an anti-ulcer diterpenoid from *Croton reflexifolius*: role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, n. 7, p. 931-936, 2008.

RIBEIRO, V.P.; ARRUDA, C.; EL-SALAM, M.A.; BASTOS, J.K. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253-268, 2018.

RICO-MARTÍNEZ, M.; MEDINA, F.G.; MARRERO, J.G.; OSEGUEDA-ROBLES, S. Biotransformation of diterpenes. **RSC Advances**, v. 4, p. 10627-10647, 2014.

RIOS, M.N.D.S.; PASTORE JUNIOR, F. **Plantas da Amazônia: 450 Espécies de Uso Geral**. Brasília: Universidade de Brasília, 2011.

ROCHA, A.D.; VIEIRA, H.S.; TAKAHASHI, J.A.; BOAVENTURA, M.A.D. Synthesis of a new allelopathic agent from the biotransformation of *ent*-15 α -hydroxy-16-kauren-19-oic acid with *Fusarium proliferatum*. **Natural Product Research**, v. 31, p. 2647-2653, 2017.

ROMERO, A.L. **Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaíba: configuração absoluta de terpenos** [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2007.

SANTIAGO, K.B.; CONTI, B.J.; TELES ANDRADE, B.F.; SILVA, J.J.M.; ROGEZ, H.L.G.; CREVELIN, J.E.; MORAES, L.A.B.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R.; BASTOS, J.K.; SFORCIN, J.M. Immunomodulatory action of *Copaifera* spp oleoresins on cytokine production by human monocytes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 70, p. 12-18, 2015.

SANTOS, A.O.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS, B.P.; VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; NAKAMURA, C.V. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 204-208, 2008.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ARANDA, C.; KURINA, M.; RODRÍGUEZ, J.A.; THEODULOZ, C. Biotransformations of imbricatolic acid by *Aspergillus niger* and *Rhizopus nigricans* cultures. **Molecules**, v. 12, n. 5, p.1092-1100, 2007.

SCIFINDER [acesso em 15 mai. 2018]. Disponível em: <https://scifinder.cas.org/>

SEPÚLVEDA, B.; QUISPE, C.; SIMIRGIOTIS, M.; GARCÍA-BELTRÁN, O.; ARECHE, C. Gastroprotective effects of new diterpenoid derivatives from *Azorella cuatrecasasii* Mathias & Constance obtained using a β -cyclodextrin complex with microbial and chemical transformations. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 3220-3222, 2016.

SEVERIANO, M.E.; SIMAO, M.R.; PORTO, T.S. MARTINS, C.H.; VENEZIANI, R.C.; FURTADO, N.A.J.; ARAKAWA, N.S.; SAID, S.; DE OLIVEIRA, D.C.; CUNHA, W.R.; GREGÓRIO, L.E.; AMBRÓSIO, S.R. Anticariogenic properties of *ent*-pimarane diterpenes obtained by microbial transformation. **Molecules**, v. 15, p. 8553–8566, 2010.

SHANLEY, P.; LEITE, A.; ALECHANDRE, A.; AZEVEDO, C. Copaíba: *Copaifera* spp. In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. (Ed.) **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR and IMAZON, 2005. p. 85–94.

SILVA, E.O.; CARVALHO, T.C.; PARSHIKOV, I.A.; SANTOS, R.A.; EMERY, F.S.; FURTADO, N.A.J.C. Cytotoxicity of lapachol metabolites produced by probiotics. **Letters in Applied Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 108-114, 2014.

SILVA, E.O.; FURTADO, N.A.J.C.; ALEU, J.; COLLADO, I.G. Non-terpenoid biotransformations by *Mucor* species. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, n. 5, p. 745-764, 2015.

SILVA, E.O.; FURTADO, N.A.J.C.; ALEU, J.; COLLADO, I.G. Terpenoid biotransformations by *Mucor* species. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, p. 857–876, 2013.

SILVA, J.L.E. **Utilização de modelos microbianos para estudos de metabolismo *in vitro* do ácido copálico** [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2013.

SILVERMAN, R.B.; HOLLADAY, M.W. Drug Metabolism. In: **The organic chemistry of drug design and drug action**. 3a ed. San Diego: Academic Press, 2014. p. 357-422.

SNIDER, D.B.; GARDNER, D.R.; JANKE, B.H.; ENSLEY, S.M. Pine needle abortion biomarker detected in bovine fetal fluids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 27, n. 1, p. 74-79, 2015.

SOUSA, I.P.; TEIXEIRA, M.V.S.; FURTADO, N.A.J.C. An overview of biotransformation and toxicity of diterpenes. **Molecules**, v. 23, n. 6, e1387, 2018.

SOUSA, T.; PATERSON, R.; MOORE, V.; CARLSSON, A.; ABRAHAMSSON, B.; BASIT, A.W. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, p. 1-25, 2008.

SOUZA, A.B.; MARTINS, C.H.G.; SOUZA, M.G.M.; FURTADO, N.A.J.C.; HELENO, V.C.G.; SOUSA, J.P.B.; ROCHA, E.M.P.; BASTOS, J.K.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R. Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. against cariogenic bacteria. **Phytotherapy Research**, v. 25, p. 215-220, 2011.

SRISILAM, K.; VEERESHAM, C. Biotransformation of drugs by microbial cultures for predicting mammalian drug metabolism. **Biotechnology Advances**, v. 21, p. 3–39, 2003.

STÉVIGNY, C.; JIWAN, J.H.; ROZENBERG, R.; HOFFMANN, E.; QUETIN-LECLERCQ J. Key fragmentation patterns of aporphine alkaloids by electrospray ionization with multistage mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 18, p. 523-528, 2004.

SUBRAMANIYAM, R.; VIMALA, R. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. **International Journal of Science and Nature**, v. 3, n. 3, p. 480-486, 2012.

SULTANA, N.; SAIFY, Z.S. Enzymatic biotransformation of terpenes as bioactive agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 1113–1128, 2013.

SUN, F.; YANG, S.; ZHANG, H.; ZHOU, J.; LI, Y.; ZHANG, J.; JIN, Y.; WANG, Z.; LI, Y.; SHEN, J.; ZHANG, S.; CAO, X. Comprehensive analysis of tiamulin metabolites in various species of farm animals using ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole/time-of-flight. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 199-207, 2017.

SURA, M.B.; ANKIREDDY, M.; PONNAPALLI, M.G. Biotransformation of agallochaexcoerin A by *Aspergillus flavus*. **Natural Product Research**, v. 29, p. 838-841, 2015.

TAKAHASHI, J.A.; GOMES, D.C.; LYRA, F.H.; SANTOS, G.F.; MARTINS, L.R. The remarkable structural diversity achieved in *ent*-kaurane diterpenes by fungal biotransformations. **Molecules**, v. 19, p. 1856-1886, 2014.

TAPIA, L.; TORRES, J.; MENDOZA, L.; URZÚA, A.; FERREIRA, J.; PAVANI, M.; WILKENS, M. Effect of 13-*epi*-sclareol on the bacterial respiratory chain. **Planta Medica**, v. 70, p. 1058-1063, 2004.

TAYLOR, L. **The healing power of rainforest herbs: a guide to understanding and using herbal medicinals**. 1a ed. New York: Square One Publishers, 2005.

TENG J.; ZHANG, R.; ZHANG, Y.; DUAN, H.; TAKAISHI, Y. A new labdanic norditerpene from *Pinus sylvestris*. **Natural Product Research**, v. 24, n. 17, p. 1587–1591, 2010.

TENG, R.; MCMANUS, D.; AYLWARD, J.; OGBOURNE, S.; ARMSTRONG, D.; MAU, S.; JOHNS, J.; BACIC, A. Biotransformation of ingenol-3-angelate in four plant cell suspension cultures. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 27, p. 186-194, 2009.

TIAN, T.; JIN, Y.; MA, Y.; XIE, W.; XU, H.; ZHANG, K.; ZHANG, L.; DU, Y. Identification of metabolites of oridonin in rats with a single run on UPLC-Triple-TOF-MS/MS system based on multiple mass defect filter data acquisition and multiple data processing techniques. **Journal of Chromatography B**, v. 1006, p. 80-92, 2015.

TINCUSI, B.M.; JIMÉNEZ, I.A.; BAZZOCCHI, I.L.; MOUJIR, L.M.; MAMANI, Z.A.; BARROSO, J.P.; RAVELO, A.G.; HERNÁNDEZ, B.V. Antimicrobial terpenoids from the oleoresin of the Peruvian medicinal plant *Copaifera paupera*. **Planta Medica**, v. 68, p. 808–812, 2002.

TRÉZ, T. Experimentação Animal: um obstáculo ao avanço científico. 1a ed. Porto Alegre: Tomo Editorial, 2015.

TRINDADE, R.; SILVA, J.K.; SETZER, W.N. *Copaifera* of the Neotropics: a review of the phytochemistry and pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, 1511, 2018.

UENO, A.K.; BARCELLOS, A.F.; COSTA-SILVA, T.A.; MESQUITA, J.T.; FERREIRA, D.D.; TEMPONE, A.G.; ROMOFF, P.; ANTAR, G.M.; LAGO, J.H.G. Antitrypanosomal activity and evaluation of the mechanism of action of diterpenes from aerial parts of *Baccharis retusa* (Asteraceae). **Fitoterapia**, v. 125, p. 55-58, 2018.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE (USPTO) [acesso em 15 mai. 2018]. Disponível em: <https://www.uspto.gov/patent>.

URANO, R.P.M.; RODRIGUES, F.T.; BERLINCK, R.G.S. Utilização de detecção por espalhamento de luz evaporativo para a análise de produtos naturais. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1198-1208, 2012.

VASIC-RACKI, D. History of industrial biotransformations – dreams and realities. In: LIESE, A.; SEELBACH, K.; WANDREY, C. (Ed.) **Industrial Biotransformations**. Weinheim: Wiley, 2006. p. 1-36.

VEHOVEC, T.; OBREZA, A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p.1549-1556, 2010.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: Cura segura? **Química Nova**, v. 3, p. 519-528, 2005.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

VEIGA JUNIOR, V.F.; ROSAS, E.C.; CARVALHO, M.V.; HENRIQUES, M.G.M.O.; PINTO, A.C. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne – a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, n. 2, p. 248-254, 2007.

VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R.; MARTINS, C.H.G.; CROTTI, A.E.M.; TIRAPELLI, C.R. Diterpenos: aspectos químicos e biológicos. In: FURTADO, N.A.J.C.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R.; EMERY, F.S.; MARCHETTI, J.M. (Ed.) **Farmacognosia**. 1a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2017. p. 293-313.

VENISETTY, R. K.; CIDDI, V. Application of microbial biotransformation for the new drug discovery using natural drugs as substrates. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 4, p. 153-167, 2003.

VIEIRA, R.G.L.; MORAES, T.S.; SILVA, L.O.; BIANCHI, T.C.; VENEZIANI, R.C.S.; AMBRÓSIO, S.R.; BASTOS, J.K.; PIRES, R.H.; MARTINS, C.H.G. *In vitro* studies of the antibacterial activity of *Copaifera* spp. oleoresins, sodium hypochlorite, and peracetic acid against clinical and environmental isolates recovered from a hemodialysis unit. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 7, n. 14, p. 1-13, 2018.

VYLKOVA, S. Environmental pH modulation by pathogenic fungi as a strategy to conquer the host. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 2, e1006149, 2017.

VYLKOVA, S.; CARMAN, A.J.; DANHOF, H.A.; COLLETTE, J.R.; ZHOU, H.; LORENZ, M.C. The fungal pathogen *Candida albicans* autoinduces hyphal morphogenesis by raising extracellular pH. **MBio**, v. 2, n. 3, e00055-11, 2011.

WANG, M.; DAI, H.; LI, X.; LI, Y.; WANG, L.; XUE, M. Structural elucidation of metabolites of tanshinone I and its analogue dihydrotanshinone I in rats by HPLC-ESI-MSⁿ. **Journal of Chromatography B**, v. 878, p. 915-924, 2010.

WARIDEL, P.; WOLFENDER, J.; LACHAVANNE, J.; HOSTETTMANN, K. *ent*-Labdane glycosides from the aquatic plant *Potamogeton lucens* and analytical evaluation of the lipophilic extract constituents of various *Potamogeton* species. **Phytochemistry**, v. 65, n. 7, p. 945-954, 2004.

WELCH, K.D.; GARDNER, D.R.; PFISTER, J.A.; PANTER, K.E.; ZIEGLAR J.; HALL, J.O. A comparison of the metabolism of the abortifacient compounds from *Ponderosa pine* needles in conditioned versus naive cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p. 4611-1617, 2012.

WERMUTH, C.G.; GANELLIN, C.R.; LINDBERG, P.; MITSCHER, L.A. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998 - online). **Pure and Applied Chemistry**, v. 70, p. 1129-1143, 2009.

WU, C.; ZACCHETTI, B.; RAM, A.F.J.; WEZEL, G.P.; CLAESSEN, D.; CHOI, Y.H. Expanding the chemical space for natural products by *Aspergillus-Streptomyces* co-cultivation and biotransformation. **Scientific Reports**, v. 5, 10868, 2015.

WU, Y.; CAO, Y.; LIU, X.; CHENG, Z.H. Regio- and stereo-selective hydroxylations of ingenane diterpenoids by *Mortierella ramanniana* and *Gibberella fujikuroi*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 14, p. 939-945, 2016.

YAMAZAKI, H.; INOUE, K.; MIMURA, M.; ODA, Y.; GUENGERICH, F.P.; SHIMADA, T. 7-ethoxycoumarin O-deethylation catalyzed by cytochromes P450 1A2 and 2E1 in human liver microsomes. **Biochemical Pharmacology**, v. 51, p. 313-319, 1996.

YANG, L.; CHU, J. S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, n. 1 - 2, p. 1 - 15, 2002.

ZENGER, K.; AGNOLET, S.; SCHNEIDER, B.; KRAUS, B. Biotransformation of flavokawains A, B and C, chalcones from Kava (*Piper methysticum*) by human liver microsomes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 28, p. 6376-6385, 2015.

ZHANG, X.; YE, M.; GONG, Y.; FENG, L.; TAO, S.; YIN, J.; GUO, D. Biotransformation of pseudolaric acid B by *Chaetomium globosum*. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 2064-2067, 2011.

ZOLEZZI, J. M.; LINDSAY, C.B.; SERRANO, F.G.; URETA, R.C.; THEODULOZ, C.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; INESTROSA, N.C. Neuroprotective effects of ferruginol, jatrophone, and junicedric acid against amyloid- β injury in hippocampal neurons. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 63, n. 2, p. 705-723, 2018.