



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AMIDAS SINTÉTICAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE CITOTÓXICA EM CÉLULAS TUMORAIS

MAYARA CASTRO DE MORAIS

João Pessoa

UFPB-2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AMIDAS SINTÉTICAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE CITOTÓXICA EM CÉLULAS TUMORAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de Concentração: FARMACOQUÍMICA.

Orientador: Professor Dr. Damião Pergentino de Sousa

João Pessoa

UFPB-2017

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M827a Morais, Mayara Castro de.

Amidas sintéticas derivadas do ácido ferúlico e
avaliação da atividade citotóxica em células tumorais /
Mayara Castro de Morais. - João Pessoa, 2017.
124 f. : il.

Orientação: Damião Pergentino de Sousa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Amidas sintéticas derivadas.
3. Atividade citotóxica - Células tumorais. 4. Câncer.
I. Sousa, Damião Pergentino de. II. Título.

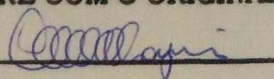
UFPB/BC



PgPNSB

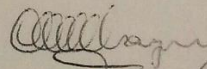
Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

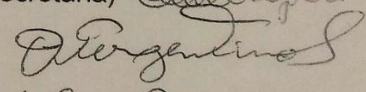
Programa de Pós-Graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
CONFERE COM O ORIGINAL

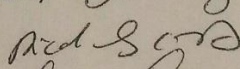

Caroline Helena M. de M. Manguiera
SIAPE C1775369
Assistente em Administração

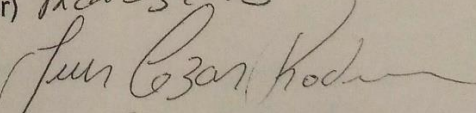
Ata da 376ª (trecentésima septuagésima sexta) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Mayara Castro de Moraes**, candidata ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

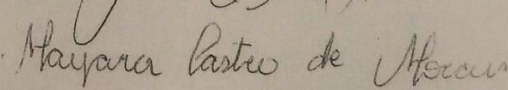
Às quatorze horas (14h00) do dia quinze de dezembro do ano de dois mil e dezessete (15.12.2017), nas dependências do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Mayara Castro de Moraes**, candidata ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os doutores Luis Cezar Rodrigues, Ph.D em Química Orgânica, Ricardo Dias de Castro, Ph.D em Farmacologia e Damião Pergentino de Sousa, Ph.D em Ciências. Sendo todos integrantes do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Damião Pergentino de Sousa, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Mayara Castro de Moraes**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Atividade citotóxica de amidas derivadas do ácido ferúlico". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADA**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se a examinada **Mayara Castro de Moraes** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguiera, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguiera (Secretária) 

Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa (Orientador) 

Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro (Examinador) 

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues (Examinador) 

Mayara Castro de Moraes (Discente) 



Dedicatória

À minha mãe Rosemary de Souza Castro Morais – in memoriam, que sempre sonhou em estar presente nesse dia, mas infelizmente não pôde. Meu porto seguro e refúgio de todas as horas, o qual continua onde estiver a cuidar de mim e acreditar que eu posso ir muito mais além. Eu te amo e sempre te amarei minha mãe.

Agradecimentos

A DEUS, por me dar saúde, força e coragem nessa nova etapa da minha vida.

Ao meu pai Guilherme, que é meu herói, minha fonte de inspiração e amor, meu tudo. Agradeço por me ensinar na prática o que é respeito, coragem, determinação, carinho, otimismo e fé. Te amo muito.

A minha mãe, Rosemary (in memoriam), você me deu tudo, fez tudo por mim e não tem um só dia em que não sinta sua falta. “Aonde está você agora além de aqui dentro de mim?” Te amo muito.

Ao meu noivo Daniel Soares, por toda força, compreensão, estímulo e incentivo oferecido, me ajudando a enfrentar as dificuldades com paciência e amor.

Aos meus avós maternos Zulmira (in memoriam) e Luiz (in memoriam), pelo amor incondicional, e por me terem ensinado a ser nobre, na essência da palavra.

A minha avó Cecília por ser um exemplo de mulher; **Ao meu avô Acácio (in memoriam)** por ser um homem tão admirável e honrado.

Aos meus tios, Roseana, Francisca, Renata, Márcia, Sueli, Linda, Luiz, Vermar, Elias, Gerson, Carlos e Guilherme, por tudo que já fizeram por mim, pela minha mãe e pelo meu pai, não existe palavras suficientes pra agradecer.

Aos meus primos, Juliana, Joyce, Paula, Rodrigo, Evandro, Marcos, Fernando, Plínio, Guilherme por serem os melhores do mundo.

As minhas melhores amigas Samanta e Fernanda, por serem as irmãs que eu não tive. Sempre estiveram comigo nos momentos mais difíceis e mais felizes.

A minha sogra Márcia Angélica, à mãe da minha sogra, dona Nicilda, e ao meu sogro Jorge por me aceitarem em sua família e sempre me ajudam quando necessito.

A meu Orientador Dr. Damião Pergentino por ter confiado em mim para executar um projeto tão grandioso, o qual fiz o possível para concretizar. Espero que possamos trabalhar em outros projetos tão grandiosos como este.

Aos professores da Pós-Graduação, especialmente a Damião, Fátima Vanderlei, Emídio, Bagnólia, Josean, Barbosa, por toda dedicação na minha formação como mestranda de Farmácia.

Aos amigos de laboratório, Mariana, Caroline, Susiane, Alex, Lázaro, Flávio, Rayane, Ana Júlia, Alana, Joyce e Carlos que me aturam no dia-a-dia.

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM-UFPB), principalmente à **Carol**, pela competência e apoio, pois foram fundamentais para o bom andamento deste trabalho.

À toda família do IPeFarM, onde, apesar das dificuldades, caminhei para a concretização de grandes realizações.

A todos aqueles que puderam contribuir de alguma forma com uma conversa, um conselho, uma compreensão ou um simples sorriso.

A todos vocês
Muito Obrigado!

RESUMO**AMIDAS SINTÉTICAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA EM CÉLULAS TUMORAIS**

Mayara Castro de Moraes

Dissertação em produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (Farmacoquímica)

Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde – 2017

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo. Atualmente, 8,2 milhões de pessoas morrem a cada ano por câncer no mundo (INCA, 2015). As amidas derivadas do ácido ferúlico possuem um amplo espectro de atividades farmacológicas, incluindo a atividade antitumoral. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade citotóxica de dez amidas derivadas de ácido ferúlico em quatro tipos de células, **HepG2** (carcinoma hepatocelular humano), **HCT116** (carcinoma do cólon humano), **HL-60** (leucemia promielocítica humana) e **MRC5** (Human fibroblasto do pulmão). Estas amidas foram preparadas através de reações de acoplamento utilizando dois tipos de agentes de acoplamento: o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio (**BOP**) e diciclo-hexilcarbodiimida (**DCC**) com 4-dimetilaminopiridina (**DMAP**). Na caracterização dos produtos foram utilizados métodos Espectroscópicos de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C , bem como Espectrometria de Massa de Alta Resolução para os derivados inéditos. Todas as amidas foram submetidas a testes citotóxicos pelo método azul alamar, com a doxorrubicina como controle positivo. As dez amidas foram obtidas com rendimentos variando entre 43-91 %, duas das quais não publicadas na literatura. Oito amidas mostraram atividade citotóxica, no entanto, duas apresentaram citotoxicidade para células de fibroblastos humanos. As amins **MA3**, **MA4**, **MA6**, **MA8**, **MA9** e **MA10** foram seletivas para o tipo de células **HL60** (células leucocitárias promielocíticas). **MA9** mostrou o CI_{50} mais baixo. Os resultados mostram que compostos com substituintes contendo dois grupos metoxílicos na posições *meta* e *para* do anel benzílico têm um aumento na atividade citotóxica, e seletividade para o tipo de célula tumoral HL60.

Palavras-chaves: câncer, fenilpropanóides, citotóxico, antitumoral.

ABSTRACT

SYNTHETIC AMIDES DERIVED FROM FERULIC ACID AND EVALUATION OF CYTOTOXIC ACTIVITY IN TUMOR CELLS

Mayara Castro de Morais

Dissertation in Natural and Synthetic Bioactive (of Pharmacochemistry) products

Federal University of Paraíba, Centro de Ciências da Saúde – 2017

Cancer is one of the leading causes of death worldwide. Currently, 8.2 million people die each year from cancer worldwide (INCA, 2015). Amides derived from ferulic acid have a broad spectrum of pharmacological activities, including antitumor activity. The objective of this work was to evaluate the cytotoxic activity of ten amides derived from ferulic acid in four celltypes, **HepG2** (human hepatocellular carcinoma), **HCT116** (human colon carcinoma), **HL-60** (human promyelocytic leukemia) and **MRC5** (Human fibroblast of the lung). These amides were prepared by coupling reactions using two types of coupling agents: benzotriazol-1-yloxy-tris-(dimethylamino) -phosphonium hexafluorophosphate (**BOP**) and dicyclohexylcarbodiimide (**DCC**) with 4-dimethylaminopyridine (**DMAP**). In the characterization of the products were used Infrared Spectroscopic Methods, ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance, as well as High Resolution Mass Spectrometry for the unpublished derivatives. All amides were submitted to cytotoxic tests using the blue alamar method, with doxorubicin as a positive control. The ten amides were obtained with yields varying between 43- 91 %, two of which were not published in the literature. Eight amides showed cytotoxic activity; however, two presented cytotoxicity to human fibroblast cells. The amines **MA3**, **MA4**, **MA6**, **MA8**, **MA9** and **MA10** were selective for the HL60 cell type (promyelocytic leukocyte cells). **MA9** showed the lowest IC_{50} . The results show that compounds with substituents containing two methoxy groups at the *meta* and *para* positions of the benzyl ring have an increase in cytotoxic activity, of the benzyl ring have an increase in cytotoxic activity, and selectivity for the HL60 tumor cell type.

Keywords: cancer, phenylpropanoids, cytotoxic, antitumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Traços característicos de uma célula tumoral.....	5
Figura 2. Representação esquemática do processo de metástase	7
Figura 3. Estruturas químicas dos agentes anticancerígenos Vimblastina (A), Vincristina (B) e Taxol (C).....	11
Figura 4. Ciclo de divisão celular para célula em mitose	12
Figura 5. Agentes antimetabólitos.....	12
Figura 6. Agentes alquilantes.....	13
Figura 7. Agentes intercalantes	13
Figura 8. Agentes inibidores de enzimas	13
Figura 9 Estrutura química do Eugenol.....	15
Figura 10. Estrutura química do Metileugenol	16
Figura 11. Estrutura química do Cinamaldeído	17
Figura 12. Estrutura química do 2'Hidroxicinamaldeído	17
Figura 13. Estrutura química do Ácido cinâmico.....	18
Figura 14. Estrutura química do Hidroxichavicol.....	18
Figura 15. Estrutura química do 1'Acetoxichavicol.....	19
Figura 16. Estrutura química dos isômeros cis e trans do ácido ferúlico.....	19
Figura 17. Exemplos de fármacos com a função amida	23
Figura 18. Exemplos de sais para a formação de ésteres ativados	24
Figura 19. Estrutura química do DMAP	26
Figura 20. Ácido 2-propenóico, 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) (ácido ferúlico).....	30
Figura 21. Aminas utilizadas como reagentes para a preparação das amidas derivadas do ácido ferúlico	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo, exceto pele não melanoma*	5
Tabela 2. Dados da reação e propriedades físico-químicas das amidas derivadas do ácido ferúlico	32
Tabela 3. Assinalamentos de IV das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA1-MA10)	37
Tabela 4. Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA1 – MA4)	38
Tabela 5. . Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA5 – MA8)	39
Tabela 6. Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA9 – MA10).....	39
Tabela 7. . Assinalamentos de RMN de ^{13}C das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA1 – MA10).....	40
Tabela 8. Dados do espectro de massas tipo MALDI das amidas MA1 e MA7	41
Tabela 9. Valores de IC_{50} para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais <i>versus</i> não tumorais (MA1-MA4)	44
Tabela 10. Valores de IC_{50} para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais <i>versus</i> não tumorais (MA5-MA8)	45
Tabela 11. Valores de IC_{50} para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais <i>versus</i> não tumorais (MA9-MA10)	46
Tabela 12. Dados das reações dos compostos MA01-MA05	54
Tabela 13. Dados das reações dos compostos MA06-MA010.....	72

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Tipos de tratamento contra o câncer	13
Esquema 2. Formação de amida pela reação de um ácido carboxílico e uma amina	21
Esquema 3. Métodos usados na síntese de amidas. Os produtos podem ser obtidos a partir de anidridos (a), cloretos ácidos (b), ésteres (c), hidratação de nitrilas (d) e rearranjo de aldoximas (e).....	22
Esquema 4. Proposta de ativação do BOP e mecanismo de reação de aminólise. (1) Ativação através da espécie fosfônica; (2) ativação pelo anel Bt.	25
Esquema 5. Mecanismo geral da produção de amidas por DCC-DMAP	26
Esquema 6. Mecanismo de ação da amidação por DCC/DMAP	27
Esquema 7. Delineamento da etapa química, estudo antitumoral e relação estrutura-atividade das amidas derivadas do ácido ferúlico e amidas	29
Esquema 8. Esquema geral da amidação pela reação de acoplamento com BOP utilizando como material de partida o ácido ferúlico	30
Esquema 9. Esquema geral da amidação pela reação de acoplamento com DCC/DMAP utilizando como material de partida o ácido ferúlico	31
Esquema 10. Esquema geral das amidas derivadas do ácido ferúlico	35

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1).....	56
Espectro 2. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1), (CDCl_3 , 200 MHz).....	56
Espectro 3. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1), (CDCl_3 , 200 MHz)	57
Espectro 4. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1), (CDCl_3 , 200 MHz)	57
Espectro 5. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1), (CDCl_3 , 50 MHz)	58
Espectro 6. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida (MA1)	58
Espectro 7. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (<i>E</i>)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (MA2)	60
Espectro 8. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (MA2), (CDCl_3 , 200 MHz)	60
Espectro 9. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (MA2), (CDCl_3 , 200 MHz)	61
Espectro 10. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona (MA2), (CDCl_3 , 50 MHz)	61
Espectro 11. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (<i>E</i>)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA3).....	63
Espectro 12. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA3), (CDCl_3 , 200 MHz)	63
Espectro 13. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA3), (CDCl_3 , 200 MHz).....	64
Espectro 14. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA3), (CDCl_3 , 200 MHz).....	64
Espectro 15. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA3), (CDCl_3 , 50 MHz).....	65

Espectro 16. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-fenilacrilamida (MA4)	67
Espectro 17. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-fenilacrilamida (MA4), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	67
Espectro 18. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-fenilacrilamida (MA4), (DMSO-d ₆ , 200 MHz)	68
Espectro 19. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-fenilacrilamida (MA4), (DMSO-d ₆ , 50 MHz)	68
Espectro 20. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de de (<i>E</i>)-N-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA5).....	70
Espectro 21. Espectro de RMN ¹ H de de (<i>E</i>)-N-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA5), (CDCl ₃ , 200 MHz).....	70
Espectro 22. Expansão do espectro de RMN ¹ H de de (<i>E</i>)-N-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA5), (CDCl ₃ , 200 MHz).....	71
Espectro 23. Espectro de RMN ¹³ C-APT de de (<i>E</i>)-N-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (MA5), (CDCl ₃ , 50 MHz)	71
Espectro 24. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metilbenzil)acrilamida (MA6)	74
Espectro 25. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metilbenzil)acrilamida (MA6), (DMSO-d ₆ , 200 MHz)	74
Espectro 26. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metilbenzil)acrilamida (MA6), (DMSO-d ₆ , 200 MHz)	75
Espectro 27. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metilbenzil)acrilamida (MA6), (DMSO-d ₆ , 50 MHz)	75
Espectro 28. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-N-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-N-(4-metoxibenzil)acrilamida (MA7).....	77
Espectro 29. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-N-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-N-(4-metoxibenzil)acrilamida (MA7), (CDCl ₃ , 200 MHz)	77
Espectro 30. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-N-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-N-(4-metoxibenzil)acrilamida (MA7), (CDCl ₃ , 200 MHz)	78

Espectro 31. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-hidróxi-3-metoxifenil)- <i>N</i> -(4-metoxibenzil)acrilamida (MA7), (CDCl_3 , 50 MHz)	78
Espectro 32. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-hidroxi-3-metoxifenil)- <i>N</i> -(4-metóxi-benzil)acrilamida (MA7)	79
Espectro 33. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA8)	81
Espectro 34. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA8), (CDCl_3 , 200 MHz).....	81
Espectro 35. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3- metoxifenil)acrilamida (MA8), (CDCl_3 , 200 MHz)	82
Espectro 36. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3- metoxifenil)acrilamida (MA8), (CDCl_3 , 200 MHz)	82
Espectro 37. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA9)	84
Espectro 38. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA9), (CDCl_3 , 200 MHz).....	84
Espectro 39. Expansão espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3- metoxifenil)acrilamida (MA9), (CDCl_3 , 200 MHz)	85
Espectro 40. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA9), (CDCl_3 , 50 MHz).....	85
Espectro 41. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de(<i>E</i>)- <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-(4-hidroxi-3metoxifenil)acrilamida (MA10)	87
Espectro 42. Espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-(4- hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA10), ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz)	87
Espectro 43. Expansão do espectro de RMN ^1H de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA10), ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz).....	88
Espectro 44. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (<i>E</i>)- <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (MA10), ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz).....	88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: acetato de etila

DIAD: Azodicarboxilato de diisopropila

DMF: dimetilformamida

Et₃N: trietilamina

H₂SO₄: ácido sulfúrico

Hex: hexano

K₂CO₃: carbonato de potássio

NaCl: cloreto de sódio

NaHCO₃: bicarbonato de sódio

Na₂SO₄: sulfato de sódio

THF: tetrahidrofurano

TPP: Trifenilfosfina

µg micrograma

APT *Attached Proton Test*

CC Cromatografia em coluna

CCDA Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CIM Concentração inibitória mínima

s Singleto

sl Singleto largo

d Dubleto

dd Duplo dubleto

t Tripleto

quint Quinteto

sex Sexteto

sept Septeto

m Multiplete

DMSO Dimetilsulfóxido

FDA Food And Drug Administration

Hz Hertz

IV Infravermelho

Me Metila

MHz Megahertz

mL mililitro

OMe Metoxila

Cl cloro

P.F. Ponto de fusão

PKa log da constante ácida

ppm Partes por milhão

QSAR Relação estrutura-atividade quantitativa

RMN ¹³C Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ¹H Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

sp subníveis de energia eletrônica s e p

UV Ultravioleta

δ Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE ESQUEMAS	XII
LISTA DE ESPECTROS	XIII
SUMÁRIO	XVIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
2.1. CÂNCER.....	3
2.1.1. Câncer Hepático	8
2.1.2. Câncer colorretal	9
2.1.3. Leucemia.....	10
2.2 TRATAMENTO	10
2.2.1 Classificação dos agentes antineoplásicos.....	12
2.3 FENILPROPANÓIDES	14
2.2.1 Fenilpropanóides com atividades antitumorais.....	15
2.2.1.1 Eugenol.....	15
2.2.1.2 Metileugenol.....	16
2.2.1.3 Cinamaldeído, 2'-Hidroxicinamaldeído e Ácido Cinâmico	16
2.2.1.3 Hidroxichavicol e Acetato de 1'-Acetoxichavicol	18
2.4 ÁCIDO FERÚLICO	19
2.5. CONSIDERAÇÕES SOBRE AMIDAS	20
2.6. SÍNTESE DE AMIDAS A PARTIR DE AGENTES ACOPLADORES.....	24
2.6.1. Agente acoplador BOP.....	24
2.6.2. Agente acoplador DCC/DMAP.....	25
3. OBJETIVOS.....	28
3.1. GERAL.....	28
3.2. ESPECÍFICOS	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO DESENVOLVIDO	29
4.2. ETAPA QUÍMICA.....	30
4.2.1. Etapa de obtenção e preparação das amidas derivadas do ácido ferúlico	30
4.3. ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DAS AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO	33
4.3.1. Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos MA1 a MA10.....	33
4.3.2. Interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos MA1 a MA10.....	35

4.3.3. Interpretação dos espectros de massas dos compostos MA1 e MA7	41
4.4. ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO	42
4.4.1. Relação estrutura-atividade das amidas citotóxicas	42
5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	49
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	50
6.1. SUBSTÂNCIAS, REAGENTES E OUTROS MATERIAIS UTILIZADOS	50
7.2. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	50
7.3. PONTO DE FUSÃO	51
7.4. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS	51
7.4.1 Infravermelho.....	51
7.4.2. Ressonância Magnética Nuclear	51
7.4.3. Espectrometria de Massa de Alta Resolução	52
7.5 PREPARO DAS AMOSTRAS	52
7.6 CÉLULAS	52
7.7 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE.....	53
8.1. OBTENÇÃO DA PRIMEIRA COLEÇÃO DE AMIDAS	54
8.1.1. MA1 – Isobutilamina ferúlica	55
8.1.2. MA2 – Pirrolidinamida ferúlica	59
8.1.3. MA3 – Ciclohexilamina ferúlica.....	62
8.1.4. MA4 – Fenilamina ferúlica.....	66
.....	66
8.1.5. MA5 – Benzilamina ferúlica	69
8.2. PREPARAÇÃO DA SEGUNDA COLEÇÃO DE AMIDAS.....	72
8.2.1. MA6 – 4-Metil-benzilamina ferúlica	73
8.2.2. MA7 – Metoxibenzilamina ferúlica.....	76
8.2.3. MA8 – 4-Cloro-benzilamida ferúlica	80
8.2.4. MA9 – 3,4-dimetoxibenzilamina ferúlica	83
8.2.5. MA10 – Piperonilamida ferúlica.....	86
9. REFERÊNCIAS	89

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo. O valor total despendido pela saúde pública para pagamento apenas de despesas com tratamentos de câncer (cirurgia oncológica, radioterapia, quimioterapia e iodoterapia) cresceu 66% em 5 anos, saltando de 2 bilhões em 2010, para 3,5 bilhões em 2015 (INCA, 2015).

Segundo Bray e colaboradores (2012), o aumento do número de casos de cânceres atualmente está relacionado a mudança no padrão de reprodutividade, fatores nutricionais e hormonais. Intervenções específicas, como efetivas estratégias de prevenção e detecção primária, vacinas e programas de tratamento efetivo, que englobem o desenvolvimento e financiamento das pesquisas para descoberta de novos fármacos, podem levar à diminuição nos aumentos previstos do número de casos.

A maioria dos medicamentos são derivados de produtos naturais, porém, somente no século XIX que os químicos começaram a questionar sobre as verdadeiras propriedades dos extratos obtidos de fontes vegetais, sendo aos poucos a utilização dos mesmos substituídos por substâncias ativas isoladas (FÃO et al., 2012). Compostos isolados de fontes vegetais fornecem moldes estruturais para a obtenção de substâncias sintéticas.

A busca por novos compostos antitumorais utilizando moléculas bioativas extraídas da natureza e seu uso como protótipo, realizando algumas alterações na estrutura com intuito de melhorar parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos (YUNES, et. al., 2001).

O estudo da relação-estrutura dos fármacos através da síntese química se torna um caminho viável e prático, oferecendo um baixo custo quando comparado ao desenvolvimento de drogas por biologia molecular e abordagens da farmacogenética. Um estudo de relação estrutura-atividade (SAR) correlacionado com o princípio ativo e a patologia em estudo, é feita com modificações nos grupos substituintes em posições definidas no protótipo, com o intuito de construir análogos com aumento de potência e especificidade, que poderão servir para alternativas medicamentosas mais eficazes (LLOYD-WILLIAMS et al., 1997).

Os derivados fenilpropanóides formam um grupo de substâncias naturais com diferentes propriedades farmacológicas e biológicas. O ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico), um constituinte amplamente distribuído nas plantas, foi primeiro isolado de *Ferula foetida* em 1866 (KANSKY, et. al., 2002), foi descrito como um potente

antioxidante pela eliminação de radicais livres e pelo aumento da resposta ao estresse celular através da regulação positiva de sistemas citoprotectores (KANSKY, et. al., 2002). Estudos anteriores indicaram que o ácido ferúlico poderia inibir a expressão e atividade de enzimas citotóxicas, incluindo óxido nítrico sintase induzível, caspases e ciclooxigenase-2 (MANCUSO, et. al., 2014). Verificou-se também que o ácido ferúlico apresenta atividade para muitas doenças, por exemplo: doença de Alzheimer (SGARBOSSA, et.al., 2015), doenças cardiovasculares (ALAM, at. al., 2013), diabetes mellitus (ROY, et. al., 2013) e doença da pele (LIN, et al. 2005).

Na literatura há relatos de sua atividade antitumoral, onde, o ácido ferúlico bloqueou significativamente o crescimento de células tumorais de mama (ZHANG, et al. 2016), pulmão, cólon (JANICKE, et. al. 2011), e sistema nervoso central com valores de CI₅₀ variando de 17,05 a 4,29 µg/mL para mama e cólon, respectivamente (JAYAPRAKASAM, et. al., 2006).

O presente estudo desenvolvido no laboratório de Química Farmaceutica/DCF/CCS/UFPB onde foram preparadas moléculas estruturalmente relacionadas, que tenham uma potencial atividade antitumoral. Foram preparadas 10 amidas derivadas do ácido ferúlico e avaliado sua atividade citotóxica perante células **Hep G2** (carcinoma hepatocelular humano), **HCT 116** (carcinoma de cólon humano), **HL-60** (leucemia promielocítica humana) e **MRC5** (fibroblasto de pulmão humano) obtidas da **ATCC** (American Type Culture Collection), com o intuito de estudar a relação entre atividade citotóxica e estrutura química, a fim de obter um derivado sintético com melhor perfil antitumoral.

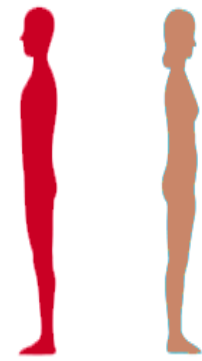
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. CÂNCER

O câncer é um grupo constituído por mais de cem doenças que tem como característica principal, uma sequência de eventos anormais na fisiologia celular que levam a uma mutação, crescimento, proliferação descontrolada e a imortalidade das células consideráveis (BLOOM et al., 2011; MARIOTTO et al., 2011, AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014). Essas células em um mesmo microambiente, podem invadir tecidos e órgãos vizinhos, podendo também, pelo sistema circulatório e linfático, migrar para regiões distantes do organismo, evento este conhecido como metástase (KUMAR *et al.*, 2004; INCA, 2010). As Nações Unidas identificaram o câncer como uma ameaça à saúde global com grandes consequências econômicas (BLOOM et al., 2011; MARIOTTO et al., 2011, AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014).

Atualmente, 8,2 milhões de pessoas morrem por ano de câncer no mundo. No Brasil, foram registradas 189.454 mortes por câncer em 2013 (INCA, 2015). Para 2016, estima-se a ocorrência de mais de 596 mil casos da doença no Brasil (INCA, 2015). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que, no ano de 2030, o número de será de 21,4 milhões de novos casos de câncer e 13,2 milhões de mortes por câncer, em decorrência do crescimento e do envelhecimento da população, bem como a diminuição na mortalidade infantil e nas mortes por doenças infecciosas em países em desenvolvimento (INCA, 2015).

Entre os homens, estima-se 295.200 novos casos, e entre as mulheres, 300.870. O tipo de câncer mais incidente em ambos os sexos será o de pele não melanoma (175.760 casos), o que corresponde a 29% do total esperado. Depois desse, para os homens, os cânceres mais incidentes serão os de próstata (61.200 novos casos/ano), pulmão (17.330), cólon e reto (16.660), estômago (12.920), cavidade oral (11.140), esôfago (7.950), bexiga (7.200), laringe (6.360) e leucemias (5.540). Entre as mulheres, as maiores incidências serão de cânceres de mama (57.960), cólon e reto (17.620), colo do útero (16.340), pulmão (10.860), estômago (7.600), corpo do útero (6.950), ovário (6.150), glândula tireoide (5.870) e linfoma não-Hodgkin (5.030) (INCA, 2015).

Localização primária	casos novos	%			Localização primária	casos novos	%
Próstata	25.800	26,9%		HomensMulheres	Mama Feminina	29.760	30,3%
Cólon e Reto	10.040	10,5%			Cólon e Reto	9.910	10,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	7.870	8,2%			Colo do Útero	4.940	5,0%
Cavidade Oral	6.030	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	4.620	4,7%
Estômago	5.710	6,0%			Corpo do Útero	4.180	4,3%
Bexiga	4.160	4,3%			Estômago	3.420	3,5%
Esôfago	3.470	3,6%			Ovário	2.960	3,0%
Laringe	2.720	2,8%			Linfoma não Hodgkin	2.800	2,9%
Linfoma não Hodgkin	2.550	2,7%			Glândula Tireoide	2.680	2,7%
Leucemias	2.480	2,6%			Cavidade Oral	2.300	2,3%

*números arredondados para para 10 ou múltiplos de 10

Tabela 1. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo, exceto pele não melanoma* (INCA, 2016).

As células cancerosas se diferem das outras células por apresentarem uma série de características fenotípicas tais como uma elevada taxa metabólica e taxa de divisão, perda da inibição por contato, perda de adesão, síntese de proteases, habilidade de invadir e colonizar domínios reservados para outras células e morfologia anormal (GRIFFITHS et al., 2006).

O tumor surge como resultado de vários eventos, podendo ser eles fatores internos como disfunção hormonal, condições imunológicas, mutações herdadas e mutações geradas em decorrência do metabolismo, e fatores externos como radiação ionizante, agentes infecciosos e agentes químicos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014). Estes fatores podem agir unidos, em sequência, em cadeia para iniciar ou promover a carcinogênese. O diagnóstico precoce é importante para o sucesso do tratamento, no entanto estima-se que pode se passar dez ou mais anos entre a exposição à fatores externos e a detecção do câncer (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014).

Todos os tipos de cânceres apresentam alterações gênicas, que envolve o controle da divisão e a morte celular (apoptose). O balanço e a dimerização competitiva entre os membros da família Bcl-2 de proteínas pró-apoptóticas (Bax, Bak, Bad, Bid) e anti-apoptóticas (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Mcl-1, A1) são os encarregados pelo destino da célula e pela regulação da resposta aos sinais apoptóticos (ADAMS; CORY, 1998; KROEMER, 1997; OLTVAI et al., 1993). Cerca de 5% de todos os cânceres são de origem hereditária, na qual, a alteração herdada dá ao paciente um risco muito alto de desenvolvimento de um ou mais tipos específicos de câncer (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2014).

Na figura abaixo, são referidos seis traços específicos das células tumorais, adquiridos como capacidades funcionais que fazem com que as células cancerosas sobrevivam, proliferem e disseminem-se. Essas funções são apresentadas em diferentes tipos de tumores por meio de diferentes mecanismos e em vários períodos durante o curso de múltiplos passos da tumorigênese. Essas características englobam a indução da angiogênese, a perda dos supressores de crescimento, a manutenção da sinalização proliferativa, a resistência à morte celular, imortalidade replicativa e a ativação da invasão e metástase (HANAHA; WEINBERG, 2000). Essas funções são executáveis por duas outras características intrínsecas às células tumorais. A mais importante delas é o desenvolvimento de instabilidade genômica, a qual gera mutações aleatórias, fazendo rearranjos cromossômicos; entre estas estão as mudanças genéticas que podem conduzir a obtenção desses traços tumorais. A segunda característica nestas células envolve o estado de inflamação causado pela célula tumoral que é dirigido pelas células do sistema imune, algumas das quais servem para promover a progressão tumoral. Na última década foi adicionada ainda duas características a esta lista, que são a reprogramação do metabolismo energético e a evasão da destruição imune (HANAHA; WEINBERG, 2011). Todas essas dez características apresentadas pelas células tumorais podem ser observadas na figura 1.



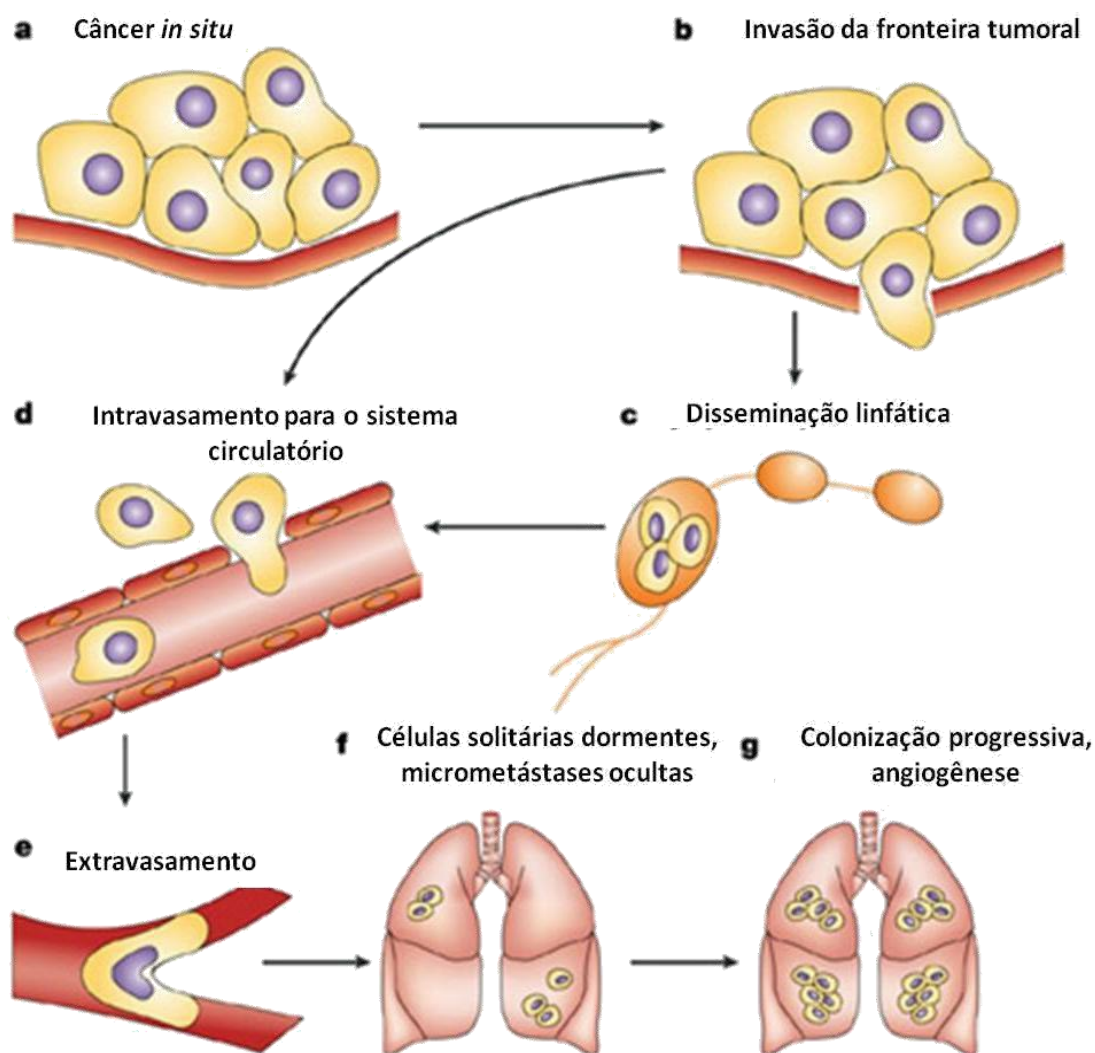
Figura 1. Traços característicos de uma célula tumoral. A figura ilustra as oito características contraídas pelas células tumorais, que são: 1. Perda de supressores de crescimento, 2. Capacidade de imortalidade replicativa, 3. Indução da angiogênese, 4.

Resistência à morte celular, **5.** Sinalização proliferativa sustentável, **6.** Prevenção da destruição imune, **7.** Ativação da invasão e metástase e, **8.** Desregulação do metabolismo energético; e as duas características intrínsecas do tumor que lhe confere todos esses traços que definem a célula tumoral, que são: **9.** A instabilidade genômica e **10.** A inflamação promovida pelo tumor (Adaptado de Hanahan & Weinberg, Cell, 2011).

Como as células normais, para que o tumor possa crescer e suprir sua grande necessidade metabólica, a formação contínua de novos vasos sanguíneos deve ocorrer. A vascularização recém-formada agregada ao tumor, gerada pelo processo de angiogênese, supre essas necessidades (HANAHAAN; WEINBERG, 2011). Este processo é estritamente regulado por proteínas de matriz, conexões célula-célula e por abundantes fatores pró e antiangiogênicos, sob condições não patológicas (POLLINA et al., 2008). Na homeostase a angiogênese é estritamente regulada, porém na tumorigênese, esses eventos ficam perturbados e há formação descontrolada de novos vasos (HIELSCHER; GERECHT, 2012). Com o avanço do tumor, um “interruptor angiogênico” é ativado e permanece ligado, gerando vasos quiescentes para, continuamente, gerarem novos vasos que sustentam a expansão do crescimento neoplásico (HANAHAAN; FOLKMAN, 1996). Acreditava-se que a angiogênese só importava quando tumores macroscópicos estavam crescendo rapidamente, mas recentemente dados indicaram que a angiogênese está presente na fase pré-maligna microscópica da progressão do tumor, estabelecendo ainda mais sua importância como uma marca integrante do câncer (HANAHAAN; WEINBERG, 2011).

A invasão e a metástase tumoral são eventos dependentes da angiogênese, os quais transformam um tumor que está confinado em um local do corpo, em um tumor sistêmico, metastático (FRIEDL; ALEXANDER, 2011). A metástase pode estar associada à metilação do DNA, na qual é capaz de regular a transcrição de genes de adesão celular, invasão e angiogênese (COCK-RADA; WEITZMAN, 2013); ou à ação de fatores de transcrição como o NFκB, Myc e Pdx1 por meio de mutações de perda de função em seus genes ou aumento/diminuição de suas expressões (ELL; KANG, 2013). Os primeiros passos da invasão local começa pela ativação de vias de sinalização que controlam as dinâmicas do citoesqueleto nas células tumorais, a renovação dos elementos da matriz extracelular das junções célula-célula, seguida pela migração ativa das células tumorais para o tecido adjacente (CHAMBERS et al., 2002; FRIEDL; WOLF, 2003; SAHAI, 2007). A metástase acontece quando as células tumorais se ligam aos vasos sanguíneos e linfáticos, penetram a membrana basal e a parede endotelial e se alastram pelo lúmen dos

vasos com consequente colonização de órgãos distantes do tumor primário (Figura 2)



(FIDLER, 2003).

Figura 2. Representação esquemática do processo de metástase. A metástase se inicia com um tumor *in situ* circundado por uma membrana basal intacta (**a**). A invasão precisa de mudanças reversíveis na adesão célula-célula e célula-matriz extracelular, destruição de proteínas na matriz e estroma e motilidade (**b**). As células em metástase podem entrar por meio dos vasos linfáticos (**c**) ou diretamente entram na corrente sanguínea (**d**). As células tumorais ficam por um certo tempo presas dentro dos vasos e depois sofrem o extravasamento do sistema circulatório (**e**). A colonização metastática de sítios distantes avança por meio de células individuais, as quais podem permanecer dormentes por anos, caracterizando micrometástases ocultas (**f**), e crescer progressivamente, originando as metástases angiogênicas (**g**). (Adaptado de Steeg, Nature Reviews Cancer, 2003).

2.1.1. Câncer Hepático

O câncer hepático representa a oitava maior incidência entre as mulheres e quinta maior em homens. Dados recentes mostram que, a taxa de sobrevivência aos 5 anos é de apenas 8,6% (BERRINO et al. 2007; VERDECCHIA et al. 2007). Essa patologia representa a terceira principal causa de morte mundial, por volta de 630.000 novos casos por ano, o que o caracteriza como um importante problema de saúde pública (KOLLER et. al., 2007; FERLAY et al., 2010).

Sua ocorrência é maior em países subdesenvolvidos e endêmicos para infecção do vírus da hepatite B (**VHB**), principalmente no continente Asiático chegando a atingir 50% das causas de morte por câncer nesses países. É também prevalente na África Subsaariana, onde representa 89% dos casos de câncer. Lugares com elevadas taxas de infecção pelo vírus da hepatite C (**VHC**), como Europa e América do Norte também apresentam um número elevado de casos desta patologia (KEW, 2010).

Calcula-se que cerca de um terço dos pacientes com cirrose irão desenvolver carcinoma hepatocelular (**CHC**) ao longo da sua vida (SANGIOVANNI et al., 2006). Em áreas de baixa prevalência de infecção por **VHB** e **VHC**, o álcool é o maior fator de risco, tendo sido definida uma relação causal, pela IARC, desde 1988 (IARC, 1988).

A incidência desta neoplasia deve-se também a outros importantes fatores importantes, como, uso de contraceptivos orais, obesidade, sobrecarga de ferro, diabetes e padrões dietéticos, estilo de vida, características demográficas e influências ambientais. (CHUANG, BOFFETTA, 2009)

Além destes, outros fatores de risco são mais fortemente associados a um tipo específico de câncer hepático, o **CHC**; sendo eles a exposição de comidas contaminadas com aflatoxinas, histórico familiar, cirrose, tabagismo, consumo excessivo de álcool e fatores virais (positividade para antígeno HbsAG). No entanto, estes fatores parecem atuar como cofatores na presença de infecção viral crônica (JEMAL et.al., MCCLUNE et. al., 2010)

Esse relacionamento entre a infecção por vírus da Hepatite B (**HBV**) e hepatocarcinoma celular foi relatado pela primeira vez em 1975, sendo atualmente reconhecido como um importante fator para o desenvolvimento desta doença. Estima-se que, hoje em dia, 350 a 400 milhões de pessoas estão infectadas cronicamente com este vírus em todo o mundo e que desse número, um quarto irá desenvolver **CHC** (MCCLUNE et. al., 2010).

O **CHC**, mundialmente, responsável por meio milhão de mortes. (TSUJI et. al., 2010). O **CHC** acomete células do parênquima hepático, os hepatócitos, tendo como origem o próprio órgão, definido como sendo um câncer primário (GISH, 2010; American Cancer Society). Mutações em hepatócitos já maduros, com estimulação de fatores externos, resulta na desregulada proliferação, morte celular ou produção de populações de células monoclonais, que formam nódulos e evolui para o tumor. Pode também se originar a partir de células embrionárias. Porém, o mecanismo pelo qual esse tumor realiza sua patogênese é muito complexo e ainda desconhecido, pela heterogeneidade desse câncer e a complexidade das funções desempenhadas pelos hepatócitos (BRUIX et. al., 2004).

2.1.2. Câncer colorretal

O câncer colorretal (**CCR**) atinge aproximadamente cerca de um milhão de pessoas no mundo a cada ano, e sua taxa de mortalidade é de 33% nos países desenvolvidos. No entanto, o **CCR** ocorre esporadicamente, foi mostrado que 25% dos pacientes tem um histórico familiar da doença, o que propõe a existência de uma correlação entre os genes e o ambiente (CUNNINGHAM, et al., LABIANCA, et al., JASPERSON, et al; 2010).

Entre os fatores de risco de desenvolvimento dessa doença pode-se destacar a obesidade, sedentarismo, idade, dieta rica em carne vermelha e gordura, ser do gênero masculino, pólipos colônicos prévios, ingestão inadequada de fibras, diabetes mellitus, tabagismo e alto consumo de álcool (Center for disease control and prevention; 2013). Outros fatores, como doenças inflamatórias intestinais crônica, aumentam a chance de **CCR** (VON ROON, et al., 2007; EADEN, et.al.; 2010).

É uma doença que apresenta inúmeros passos, particularmente relacionada ao acúmulo de mutações em genes supressores de tumor, o que o torna um dos principais modelos para estudo referente ao entendimento dos processos de múltiplos passos da carcinogênese (BULOW et al.; 1996).

Pelo elevado número de incidência mundial do **CCR**, essa doença é considerada um importante problema de saúde pública, tanto pelo impacto na qualidade de vida do paciente, quanto pelos altos custos gerados aos governos para seu tratamento. Assim, o número de pesquisas, referentes ao **CCR** vêm crescendo ano após ano, cada vez mais aprimorada aos tratamentos, visando minimizar os efeitos colaterais e otimizar a eficiência dos tratamentos quimioterápicos (INCA; 2016)

2.1.3. Leucemia

A leucemia é uma doença maligna dos glóbulos brancos (leucócitos), muitas vezes de origem desconhecida, que tem como principal característica o acúmulo de células jovens anormais na medula óssea, que substituem as células sanguíneas normais (INCA, 2017).

As leucemias podem ser classificadas de duas maneiras, uma com base nos glóbulos brancos que elas afetam ou em quão rapidamente a doença evolui e torna-se grave. Quando analisamos a evolução na gravidade da enfermidade, a doença pode ser do tipo crônica (agrava-se lentamente) ou aguda (agrava-se rapidamente). Se a classificação for dada com relação os tipos de glóbulos brancos que elas afetam, podem ser linfóides ou mielóides. As que afetam as células linfóides são chamadas de linfóide, linfocítica ou linfoblástica. A leucemia que afeta as células mielóides são chamadas mielóide ou mieloblástica (INCA, 2017).

Com essas duas classificações, podem se ter quatro tipos mais comuns de leucemia: mieloide aguda, mieloide crônica, linfoide aguda e linfoide crônica. Os principais sintomas são: fadiga, manchas roxas ou pontos vermelhos na pele, anemia, palpitação, sangramentos das gengivas e pelo nariz. O paciente também pode apresentar gânglios linfáticos inchados, indolor, normalmente na região das axilas e do pescoço; perda de peso sem motivo aparente desconforto abdominal; febre ou suores noturnos; dores nos ossos e nas articulações. Quando a doença afete o Sistema Nervoso Central (SNC), podem surgir dores de cabeça, náuseas, vômitos, visão dupla e desorientação (INCA, 2017).

Segundo dados do INCA, em 2010 foram 5.935 mortes, sendo 3.202 homens e 2.733 mulheres. Em 2016 foi estimado que teve 10.070 casos, sendo 5.540 homens e 4.530 mulheres. (INCA, 2017).

2.2 TRATAMENTO

O tratamento para o câncer requer uma terapia combinada, como por exemplo, quimioterapia, radioterapia e cirurgia (BRANDÃO et al., 2010). A quimioterapia tem por finalidade a destruição das células cancerígenas, preservando as células normais. O problema da quimioterapia é sua atuação não específica, lesando tanto células malignas quanto células normais. De forma particular, as células de rápido crescimento, como as capilares, gastrointestinais e as do sistema imunológico são as mais afetadas, explicando assim a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia, tais como perda de cabelo,

náuseas e susceptibilidade maior às infecções. A radioterapia é uma metodologia antineoplásica muito usada, juntamente com a cirurgia. Embora ocorra diminuição de tumores grandes com a utilização da radioterapia, os efeitos colaterais gerados tornam o método limitado. A cirurgia consiste na remoção de tumores e pode ser eficaz, se não houver a ocorrência de metástase (ALMEIDA et al., 2005).

Alguns agentes anticancerígenos de origem vegetal vêm sendo aplicados com sucesso no tratamento de alguns tipos de câncer. Podemos citar os alcalóides Vimblastina e Vincristina que vem sendo utilizados no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil. Já o Taxol apresentou capacidade de regredir o câncer de mama e de ovário, resistentes à terapia tradicional (MANN, 2002; BRANDÃO et al., 2010). Na Figura 3, estão as estruturas químicas destes agentes anticancerígenos obtidos de plantas.

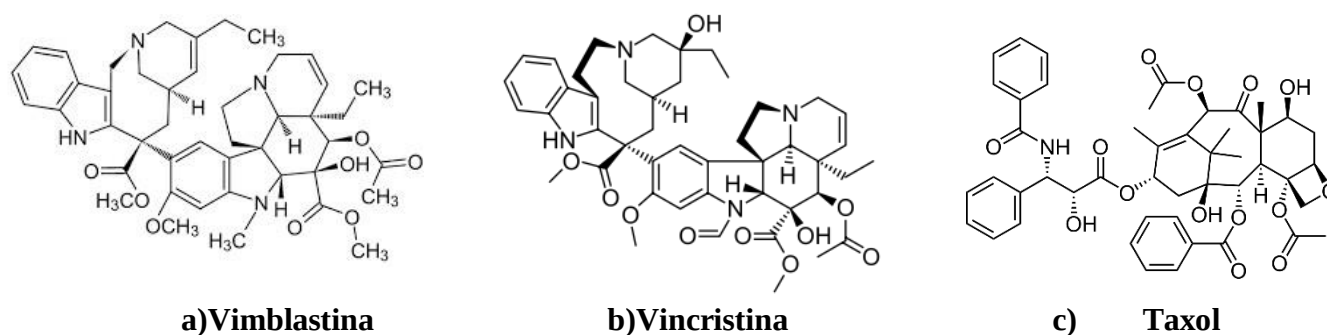


Figura 3: Estruturas químicas dos agentes anticancerígenos Vimblastina (A), Vincristina (B) e Taxol (C) (Adaptado de Brandão et al., 2010).

2.2.1 Classificação dos agentes antineoplásicos

Os agentes antineoplásicos podem ser divididos em Ciclo Celular Específico (CCE) e Ciclo Celular Não Específico (CCNE). Os fármacos específicos atuam em uma das fases do ciclo célula em mitose: G₀, G₁, S, G₂ e M (Figura 4). Já os fármacos CCNE têm a capacidade de exterminar as células tumorais independentemente de estarem atravessando o ciclo ou de estarem em repouso (ALMEIDA et al., 2005).

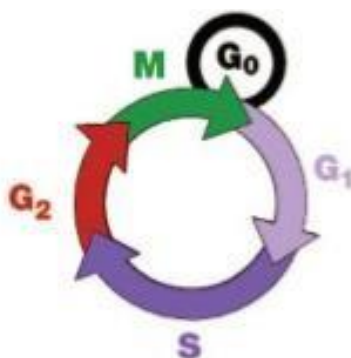


Figura 4: Ciclo de divisão celular para célula em mitose (Adaptado de de ALMEIDA et al., 2005).

A maioria dos fármacos utilizados atualmente são:

1. Antimetabolitos: São fármacos que interferem na formação de biomoléculas chave, dentro das células, incluindo os nucleotídeos, os quais são componentes básicos do DNA. Estes fármacos interferem na replicação do DNA e consequentemente, na divisão celular. Por exemplo, Fluorouracila, Metotrexato, Mercaptopurina e Pentostatina (FERNÁNDEZ, et. al. 2009; RICHARD, et.al., 2009).

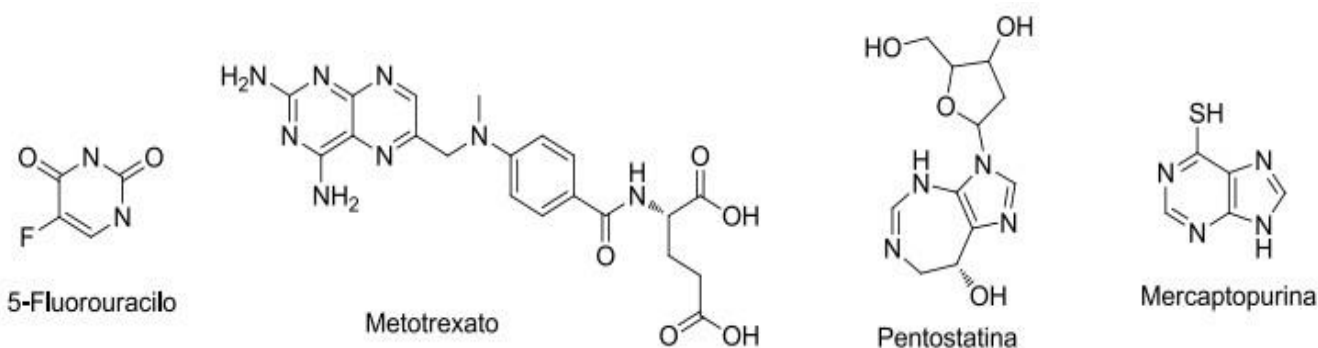


Figura 5: Agentes antimetabólitos.

2. Agentes genotóxicos: Estes fármacos causam dano no DNA, interferindo na sua replicação e na divisão celular. Estes podem se classificar em:

Agentes Alquilantes: Modificam as bases do DNA, interferindo na replicação, e na transcrição, resultando em mutações. Alguns exemplos temos: ciclofosfamida, busulfan e lomustina (FERNÁNDEZ, et. al. 2009; RICHARD, et.al., 2009).



Figura 6: Agentes alquilantes.

Agentes Intercalantes: Estes medicamentos se intercalam com os espaços dos nucleotídeos na dupla hélice do DNA, interferindo com a transcrição, a replicação e induzindo mutações. Exemplos: Doxorubicina e Epirubicina (FERNÁNDEZ, et. al. 2009; RICHARD, et.al., 2009).

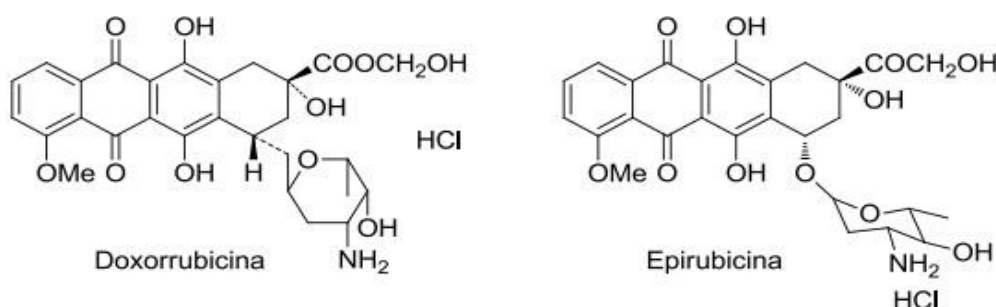


Figura 7: Agentes intercalantes.

Inibidores de Enzimas: Estes fármacos inibem enzimas chaves, tais como as topoisomerasas envolvidas na replicação do DNA, induzindo seu dano. Por exemplo: Irinotecan, Etopósido (FERNÁNDEZ, et. al. 2009; RICHARD, et.al., 2009).

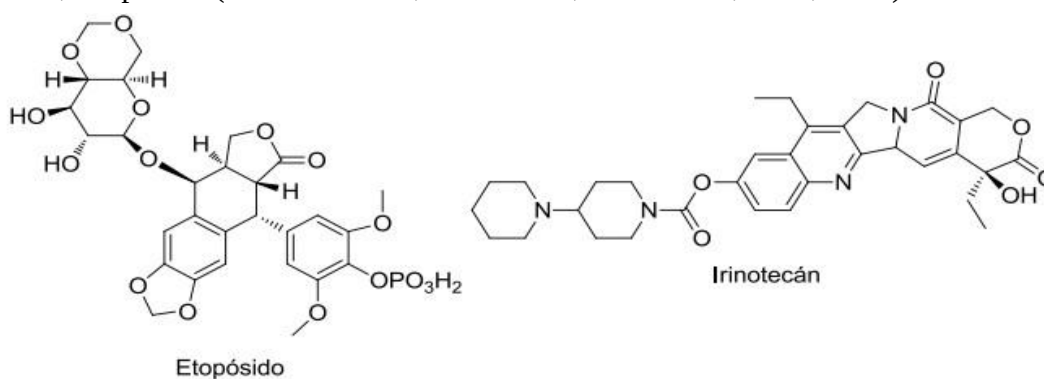


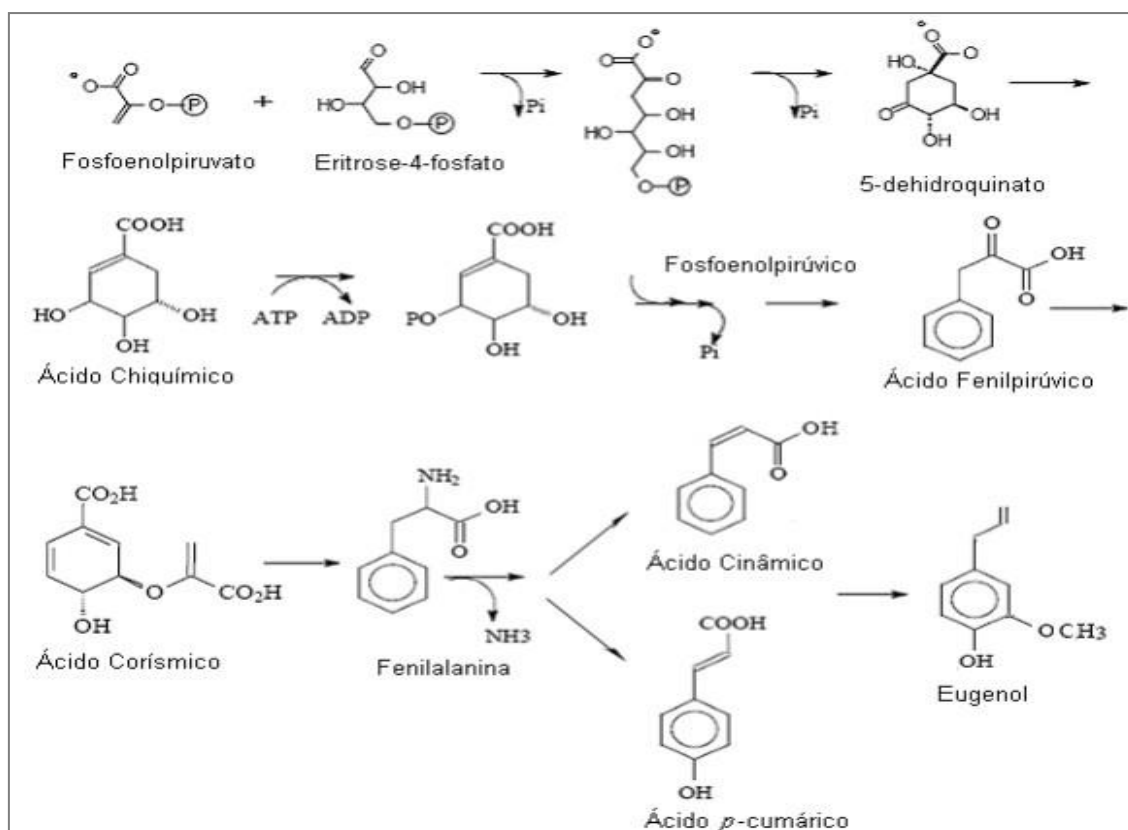
Figura 8: Agentes inibidores de enzimas.

Inibidores do fuso mitótico: Estes inibidores previnem a divisão celular apropriada a interferir com os componentes citoesqueléticos que permitem que a célula se divida em dois. Por exemplo a Vincristina.

2.3 Fenilpropanóides

Todas as partes de uma planta têm algum teor de essência aromática ou óleo essencial. Os óleos essenciais podem compor desde 0,5% do peso seco da planta até 14%, como é o caso dos botões florais da *Eugenia caryophyllata*, popularmente conhecida como cravo-da-índia. Os óleos essenciais, em alguns casos específicos, apresentam cerca de 95% de seu peso, diferentes fenilpropanóides. A composição quantitativa dos óleos essenciais pode variar sazonalmente ou até mesmo circadianamente, o que ocorre principalmente pela interconversão dos fenilpropanóides em isômeros ou em moléculas muito semelhantes (INOUE et al., 1976; ISIDOROV et al., 2001; VLACHOS et al., 2006).

Fenilpropanóides são moléculas lipofílicas, de baixo peso molecular, presentes nas essências aromáticas de praticamente todas as plantas (GANG et al., 2001; PICHERSKY et al., 2006), constituídos por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos e derivadas biossinteticamente do ácido chiquímico (Esquema 1).



Esquema 1: Biossíntese de Fenilpropanóides (LORENZO et al. 2002 e PERES, 2004)

O ácido chiquímico é formado por dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato. Através da junção do ácido chiquímico e de uma molécula de fosfoenolpiruvato ocorre a formação do ácido corísmico (PERES, 2004). O ácido corísmico é responsável por gerar aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina, a tirosina e o triptofano, que são precursores de vários alcalóides. Esses aminoácidos sofrem ação enzimática, dando origem ao ácido cinâmico ou ao ácido *p*-cumárico, também chamado de *p*-hidroxicinâmico (LORENZO et al., 2002). A partir do ácido cinâmico ou do ácido *p*-cumárico são formados compostos fenólicos simples denominados fenilpropanóides (PERES, 2004).

2.2.1 Fenilpropanóides com atividades antitumorais

2.2.1.1 Eugenol

Eugenol (**FIGURA 9**) é o componente do óleo essencial isolado do *Syzygium aromaticum* (cravo) e tem propriedades antiinflamatórias, antimutagênicas e antígeno-tóxicas (PAL et. al., 2010).

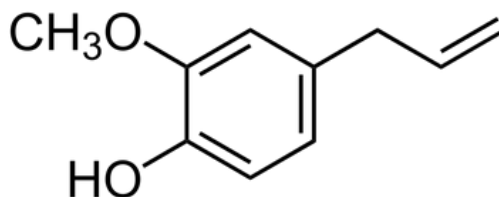


Figura 9: Estrutura química do Eugenol (PAL et. al., 2010)

O Eugenol também possui atividade citotóxica. Podem induzir a morte celular de vários tipos de tumores e células: mastócitos (PARK et. al., 2015; JAGANATHAN and SUPRIYANTO, 2012; JAAFARI et. al., 2012), adenocarcinoma de mama (JAAFARI et. al., 2012), células de melanoma (SATOOKA e KUBO, 2009; GHOSH et. al., 2005; PISANO et. al. 2009), leucemia (SATOOKA e KUBO, 2009; GHOSH et. al., 2005; PISANO et. al. 2009; FUJISAWA et.al., 2000), carcinoma do cólon (SLAMENOVA et. al., 2009), carcinoma cervical (HEMAISWARYA e DOBLA, 2013; HUSSAIN et. al., 2011; STOICHEV et. al., 1967; ZHANG et. al. 2013; ZOLOTOVICH et. al., 1969), câncer de próstata (GHOSH et. al., 2009), adenocarcinoma de glândula submandibular (FUJISAWA et. al., 2004), polpa dental humana (AWUTI et. al., 2012), macrófagos murinos peritoneais (MAHAPATRA et. al., 2011), câncer de próstata insensível aos andrógenos, carcinoma escamoso oral (FUJISAWA et. al., 2000; CARRASCO et. al., 2008), submandibular humano carcinoma de glândula (FUJISAWA et. al., 2002; Satoh

et. al., 1998), glândula salivar (SATO et. al., 1998), fibroblastos gengivais (KASHIWAGI et. al., 2001; GEROSA et. al., 1996; JENG et. al., 1994), hepatoma (JENG et. al., 1994), células de pulpa dental humana (BABICH et. al., 1993), fibroblastos gengivais humanos e células de carcinoma epidermóide derivadas de glândulas submandibulares humanas (ATSUMI et. al., 2001; ATSUMI et. al., 2000).

Além disso, o eugenol não é cancerígeno nem mutagênico e não é citotóxico nos linfócitos (SATO et. al., 2009). Verificou-se maior toxicidade do Isoeugenol quando comparado com o Eugenol em testes nas linhas celulares HSG (adenocarcinoma da glândula submandibular humana) (FUJISAWA et. al., 2004).

2.2.1.2 Metileugenol

O metileugenol (**FIGURA 10**) é um alcenilbenzeno substituído encontrado em uma variedade de alimentos e óleos essenciais. É estruturalmente semelhante ao eugenol e encontrado em muitas espécies de plantas (BURKEY et. al.,2000). Metileugenol produziu efeitos citotóxicos em hepatócitos de ratos (BURKEY et. al.,2000; LEE et. al., 2002) e leucemia (LEE et. al., 2002). O metileugenol também produziu genotoxicidade em camundongos (BURKEY et. al.,2000) e em células cultivadas (Maria Groh et. al., 2012) e causou lesões neoplásicas nos fígados de ratos Fischer 344 e camundongos B6C3F1 (BURKEY et. al.,2000).

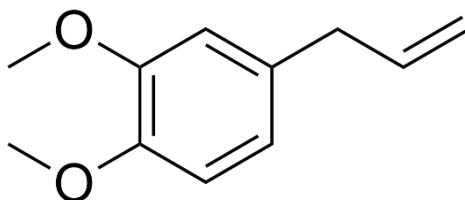


Figura 10: Estrutura química do Metileugenol (BURKEY et. al.,2000)

2.2.1.3 Cinamaldeído, 2'-Hidroxicinamaldeído e Ácido Cinâmico

O cinamaldeído (**FIGURA 11**) é um composto bioativo isolado da casca do caule da *Cassia Cinnamomum* e tem sido amplamente utilizado na medicina popular devido ao seu poder anticancerígeno (KA et al., 2003), antibacteriano (CHANG et. al., 2001), antimutagênico (SHAUGHNESSY et. al., 2001) e por apresentar efeitos imunomoduladores (KOH et. al., 1998), bem como para remediar outras doenças (PERRY, 1980). A atividade citotóxica do cinamaldeído foi confirmada em melanomas (LEE et. al., 2004; OEHLER et. al., 2012), adenocarcinoma de cólon (LEE et. al., 2004; CHEW et. al., 2010; EKMEKCIOGLU et. al., 1998), câncer de mama (CHEW et. al.,

2010), tumor hepático (NG and WU, 2011; WU, NG, and LIN, 2005), leucemia (KA et al., 2003, DORNISH, PETTERSEN, and OFTEBRO, 1988; ZHANG et. al., 2010), carcinoma cervical (LEE et. al., 2002., 2004; ZHANG et. al., 2010), pulmão, ovário, sistema nervoso central (LEE et. al., 2004), linfoma, leucemia de ratos (LEE et. al., 2002; MOON and PACK, 1983), carcinoma de pulmão de ratos (KA et al., 2003), linfócitos (KOH et. al., 1998), hepatócitos (NIKNAHAD et. al., 2003), células embrionárias (HATCJH et. al., 1986), e carcinoma de laringe (STAMMATI et. al., 1999). A sua genotoxicidade foi confirmada “in vitro” (STAMMATI et. al., 1999).

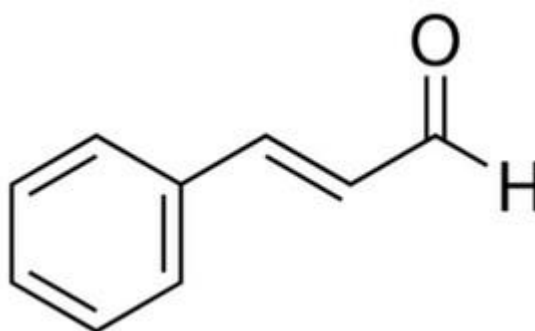


Figura 11: Estrutura química do Cinalmaldeído (PERRY, 1980).

2'-Hidroxicinamaldeído (**FIGURA 12**), um derivado do cinamaldeído estudado por seus efeitos imunomoduladores. Os efeitos preventivos dos derivados de cinamaldeído foram demonstrados na formação de carcinoma hepatocelular em camundongos transgênicos H-ras12V, onde as infiltrações de células imunes em tecidos hepáticos aumentou, provavelmente devido ao efeito imunoestimulante de longo prazo sobre as células T (MOON et. al., 2006).

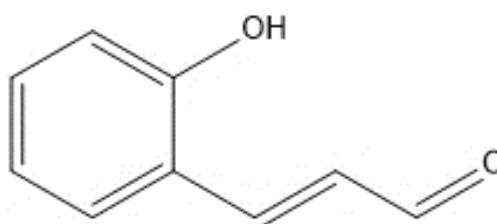


Figura 12: Estrutura química do 2'-Hidroxicinamaldeído (MOON et. al., 2006).

O ácido cinâmico (**FIGURA 13**) ocorre em todo o reino vegetal e particularmente em composições de sabor e produtos que contêm óleo de canela (HOSKINS, 1984). O ácido cinâmico inibiu a proliferação de carcinoma uterocervical (ZHANG et. al., 2010), leucemia (ZHANG et. al., 1992), adenocarcinoma de cólon (EKMEKCIOGLU et. al., 1998), glioblastoma, melanoma, próstata, carcinoma pulmonar (LIU et. al., 1995), células de sarcoma osteogênica (ZHANG et. al., 2009), células Mac Coy (SOARES et. al., 2009),

Hep G2 células (BEMANI et. al., 2012) e células epiteliais do rim (VERO) (GRAVINA et al., 2011).

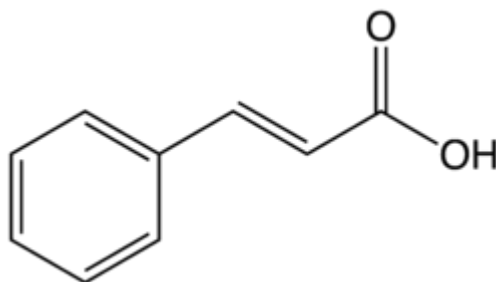


Figura 13: Estrutura química do ácido cinâmico (HOSKINS, 1984).

2.2.1.3 Hidroxichavicol e Acetato de 1'-Acetoxichavicol

O Hidroxichavicol (**FIGURA 14**) é um componente importante na folha de *Piper betle*, que é usado para mastigação na Ásia, e também é um dos principais metabolitos do safrol. Nakagawa e colaboradores demonstraram a biotransformação e os efeitos citotóxicos do hidroxichavicol em hepatócitos de ratos recém-isolados. Nos hepatócitos pré-tratados com maleato de dietilo ou salicilamida, a citotoxicidade induzida por hidroxichavicol foi aumentada e foi acompanhada por uma diminuição na formação de conjugados e inibição da perda de hidroxichavicol (NAKAGAWA et. al., 2009).

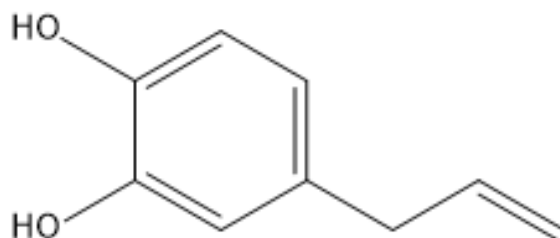


Figura 14: Estrutura química do Hidroxichavicol (NAKAGAWA et. al., 2009).

O Acetato de 1'-Acetoxichavicol (**FIGURA 15**) é obtido a partir dos rizomas de *Languas galanga* (Zingiberaceae). Estudos revelaram que o acetato de 1'-acetoxichavicol possui potentes efeitos quimiopreventivos contra carcinomas orais de ratos e inibe a formação de tumores quimicamente induzidos e o crescimento celular de células cancerosas (KONDO et. al., 1993)

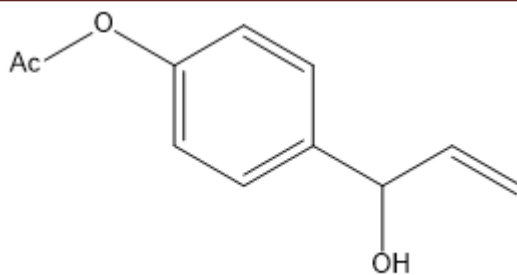


Figura 15: Estrutura química do 1'-Acetoxichavicol (KONDO et. al., 1993)

2.4 Ácido Ferúlico

O ácido ferúlico é um composto fenólico pertencente à classe dos ácidos hidroxicinâmicos, extraído pela primeira vez em 1866 a partir da planta *Ferula foetida*, originando seu nome (GRAF et. al., 1992). O ácido ferúlico é gerado a partir do metabolismo dos aminoácidos tirosina e fenilalanina, e pode ser encontrado nas mais diversas fontes naturais, tais como: café, frutas vermelhas, trigo, milho, arroz, beterraba e alcachofra seja em sua forma livre, ou conjugado a proteínas e polissacarídeos da parede celular (PAIVA et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2013).

O ácido ferúlico para uso industrial pode ser obtido por dois métodos: por meio sintético, pela condensação da vanilina com o ácido malônico, tendo como catalisador aminas terciárias ou extraído de fontes naturais por ação enzimática de microorganismos ou hidrólise (GRAF, 1992; OU; KWOK, 2004).

O ácido ferúlico apresenta isomeria *cis-trans*, sendo a forma *trans* a mais encontrada na natureza. O ácido *cis* se apresenta como um óleo amarelado, com absorção UV máxima de 316 nm, já o ácido *trans* tem formato de cristais com dois picos máximos de absorção, a saber: 284 e 307 nm (GRAF, 1992). A estrutura química dos isômeros *cis* e *trans* do ácido ferúlico podem ser observadas na Figura 13.

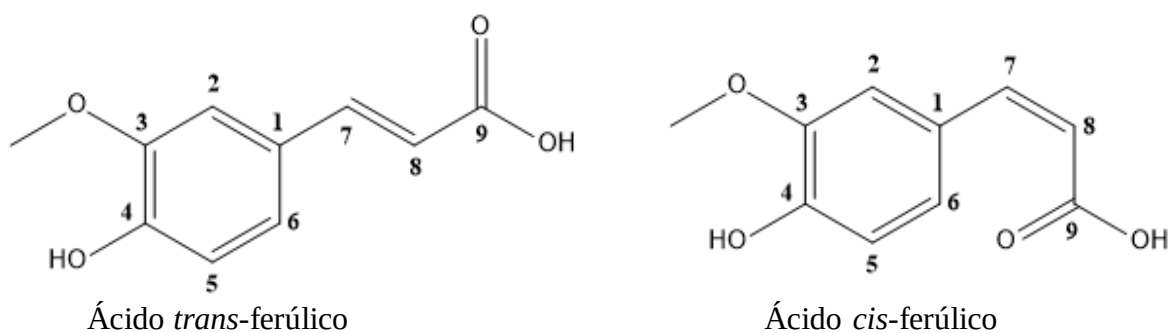


Figura 16: Estrutura química dos isômeros *cis* e *trans* do ácido ferúlico (adaptado de URBANIAK; SZELAG; MOLSKI, 2013)

Estudos anteriores demonstraram que o ácido ferúlico tem atividade terapêutica diversificada, incluindo efeitos como anti-inflamatório, antioxidante, antitrombótico, anticancerígeno, neuroprotetor e cardioprotetor. Quando aplicado sobre a pele pode apresentar um efeito fotoprotetor (MERLIN et al., 2012; STANIFORTH et al., 2012; DU; CAO; YU, 2011; WANG et al., 2011; YU et al., 2010; SCALIA et al., 2009).

As propriedades do ácido ferúlico estão relacionadas à inibição das enzimas citotóxicas associadas à inflamação, incluindo a óxido nítrico sintetase induzida e ciclo-oxigenase-2, contribuindo assim, para seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (STANIFORTH et al., 2012; ANSELMi et al., 2008; ANSELMi et al., 2006).

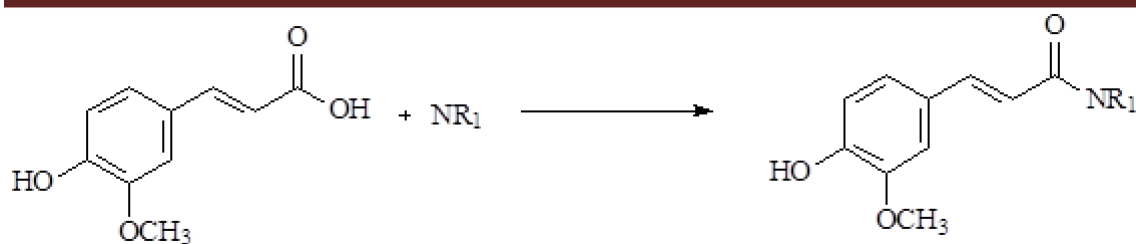
A capacidade antioxidante do AF é possivelmente devida a três características estruturais diferentes. Em particular, a presença do hidrogênio lábil pertencente ao grupo fenólico, formando um sistema totalmente conjugado, que envolve o anel aromático, a ligação dupla e a carbonila do ácido carboxílico, confere propriedades relevantes em termos de efeito antioxidante, por conduzir a formação de produtos estáveis de menor energia. A presença da insaturação na cadeia lateral proporciona sítios para o ataque por radicais livres (ITAGAKI et al., 2009). Além disso, o grupo ácido carboxílico pode permitir uma interação com a bicamada lipídica da membrana celular que fornece proteção contra a peroxidação lipídica (VASHISTH et al., 2015; ITAGAKI et al., 2009; SRINIVASAN; SUDHEER; MENON, 2007).

Apesar dessas atividades biológicas, a utilidade terapêutica do ácido ferúlico é limitada devido às suas propriedades físico-químicas desfavoráveis, notadamente a baixa solubilidade aquosa (SAIJA et al., 2000), uma vez que o fármaco apresenta natureza hidrofóbica e é um composto oxidável e fotossensível, resultando em sua conversão parcial do isômero *E* para o isômero *Z* (ANSELMi et al., 2008). Nesse sentido, sua biodisponibilidade pode ser reduzida, levando a um efeito mínimo *in vivo* por administração oral (WANG et al., 2011).

Assim, considerando as propriedades físico-químicas desfavoráveis do fármaco, torna-se desejável estabilizar o ácido ferúlico, aumentando sua biodisponibilidade.

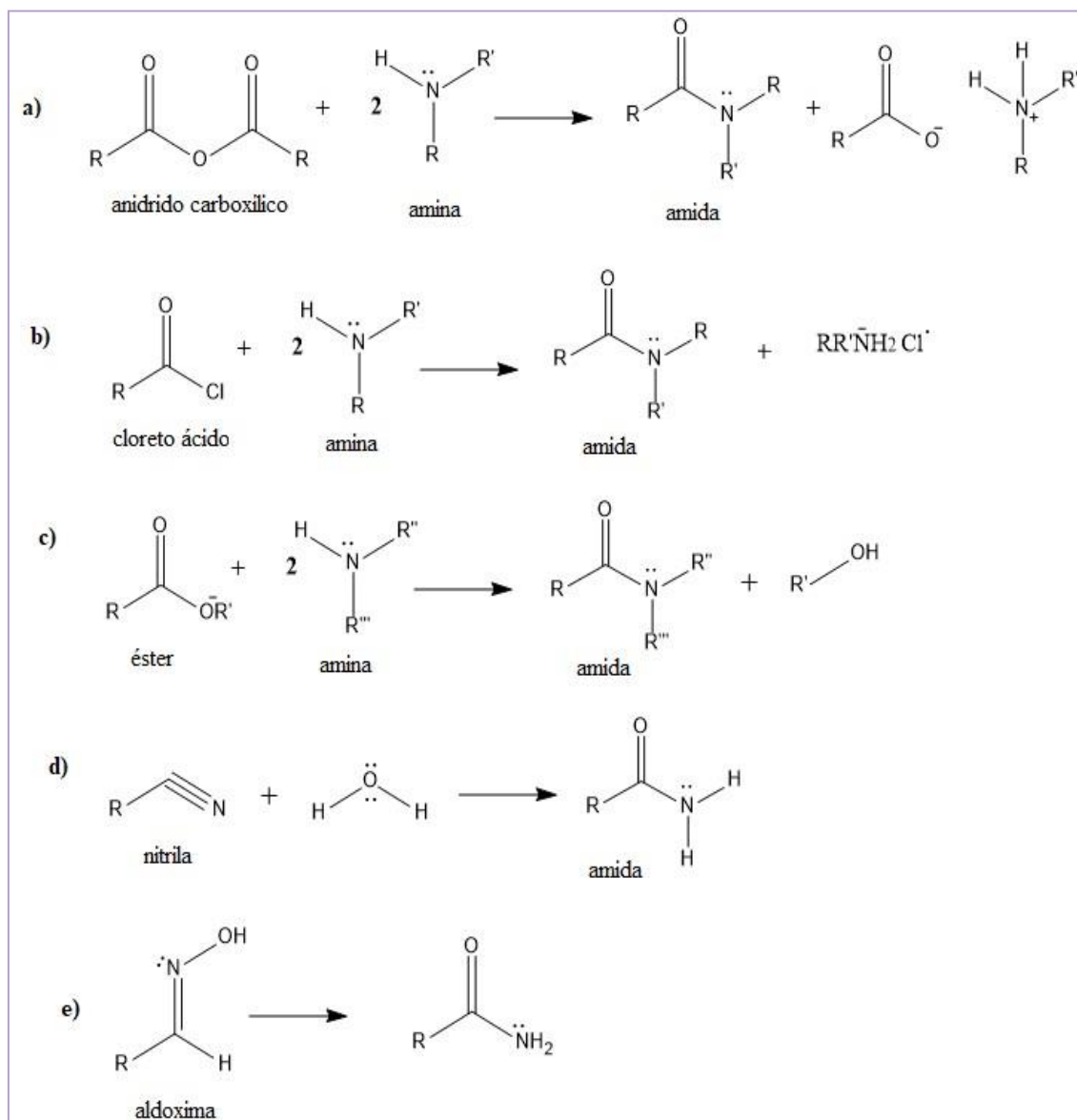
2.5. Considerações sobre amidas

O grupo carboxila é responsável por dar origem a vários compostos, que levam o nome de derivados de ácidos carboxílicos. Dentre eles, tem as amidas, que basicamente é formada pela reação de um ácido carboxílico e uma amina (Esquema 2).



Esquema 2: Formação de amida pela reação de um ácido carboxílico e uma amina.

As amidas são encontradas na natureza e se destacam por sua baixa reatividade e são capazes de formar ligações de hidrogênio altamente estáveis em comparação com os outros derivados carboxílicos. Apresentam altos pontos de fusão e ebulição, uma vez que suas interações moleculares se tornam mais fortes devido a essas ligações. Isso não se aplica às amidas terciárias (VALEUR & BRADLEY, 2009). As amidas são tipicamente sintetizadas a partir da condensação de ácidos carboxílicos e aminas. Contudo, a reação entre estes dois grupos funcionais não ocorre espontaneamente, pois de maneira geral, ácidos carboxílicos reagem com aminas formando sais à temperatura ambiente (JONES, 1994). Por esta razão, é necessária a conversão do ácido carboxílico em grupos funcionais mais reativos (JORDAN AND ROUGHLEY, 2009) e estas transformações tem sido extensivamente estudada. Em geral, estes procedimentos baseiam-se na conversão do ácido carboxílico em haletos de acila (KANGANI AND KELLEY, 2005), anidridos (MCNULTY *et. al.*; 2008), ésteres (GUO *et al.*, 2001), hidratação de nitrilas (WU *et al.* 2014) ou rearranjo de aldoximas (KIM *et al.*, 2009).



Esquema 3. Métodos usados na síntese de amidas. Os produtos podem ser obtidos a partir de anidridos (a), cloretos ácidos (b), ésteres (c), hidratação de nitrilas (d) e rearranjo de aldoximas (e).

Amidas são compostos derivados da amônia, comumente dispostos na natureza em proteínas e oligopeptídeos, através das ligações peptídicas. Na forma de polímeros, compõem o náilon, uma fibra têxtil resistente utilizada na fabricação de cordas, parafusos, engrenagens, entre outros produtos manufaturados. Na amida mais simples, um dos hidrogênios da amônia é substituído por um radical acila, que forma a amida primária. Quando mais um ou os dois hidrogênios da amina primária são substituídos por radicais alquilas ou arilas, elas são denominadas de amidas secundárias ou terciárias, respectivamente. Outros derivados das amidas são as sulfonamidas e as fosfamidas, nas quais o nitrogênio está ligado ao radical sulfônico ou a um átomo de fósforo

respectivamente. As amidas também estão presentes em alguns fármacos, como, por exemplo, no paracetamol e nas penicilinas (IUPAC, 1997; VOLLHARDT, 2011).

Comparadas com as aminas, as amidas são bases fracas, e o par de elétrons livres do nitrogênio é direcionado ao oxigênio da carbonila devido a uma maior eletronegatividade. Isso cria um momento dipolo na molécula, que aumenta a polaridade das amidas, o que explica seu alto ponto de fusão e de ebulição quando comparado com ésteres, ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas. Esse fenômeno também aumenta a capacidade das amidas de serem solvatadas por moléculas de água ou de se agregar com outras moléculas através de pontes de hidrogênio (na atualidade, são chamadas de ligações de hidrogênio) (IUPAC, 1997). O grupo funcional amida é comum em moléculas sintéticas ou de ocorrência natural e está presente em diversos produtos farmacêuticos com aplicação em clínica médica (Figura 17) (MONTALBETTI, 2005). Estima-se que a função amida faça parte da constituição química de mais de 25% dos fármacos conhecidos (GHOSE, 1999).

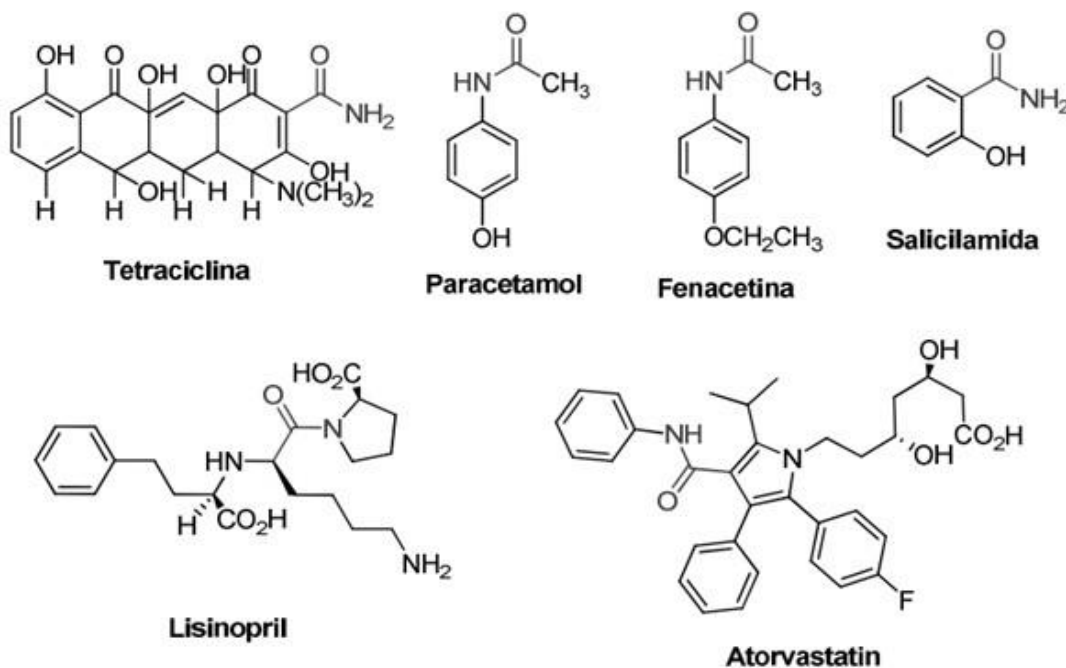


Figura 17 - Exemplos de fármacos que apresentam a função amida.

Vários estudos demonstram a síntese de amidas derivadas de ácidos hidroxicinâmicos obteve-se resultados satisfatório como promotores de apoptose em diferentes linhas de celulares cancerígenas (RAJAN *et. al.*, 2001; HUANG *et. al.*, 2005).

2.6. Síntese de amidas a partir de agentes acopladores

2.6.1. Agente acoplador BOP

Existem muitos métodos para preparar amidas, e a maioria envolve a ativação do ácido carboxílico e o transforma em bons eletrófilos na forma de cloretos ácidos (SOCl_2 , $(\text{COCl})_2$, PCl_3 , PCl_5) ou anidridos (anidrido acético), que reagem com as aminas. Um método convencional utilizado é através dos agentes acopladores, como BOP, pyBOP, HOBt, HOAt (MONTALBETTI & FALQUE, 2005; DUNETZ, *et al.*, 2016).

O uso de ésteres ativados é uma alternativa para a síntese de amidas. A formação de ésteres ativados também acontece com o uso de sais baseados na estrutura do benzotriazol, incluindo sais de urônio/amínio, fosfônio e imônio (Valeur, E.; Bradley, M; 2009) (Figura 18). Aminólise de passo único têm sido desenvolvidos para síntese de péptidos em que o éster ativo é preparado *in situ* como um intermediário e, subsequentemente, reage com a amina desejada (MONTALBETTI & FALQUE, 2005).

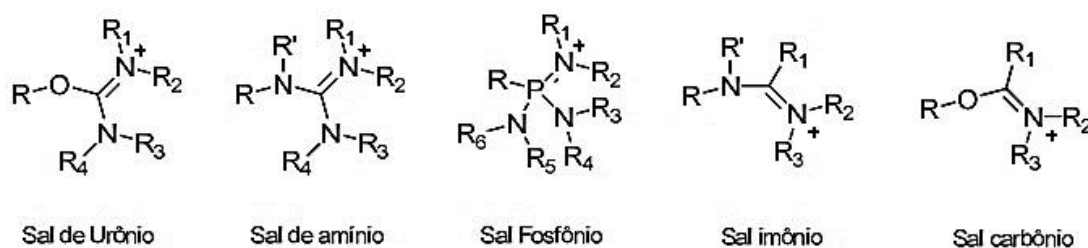
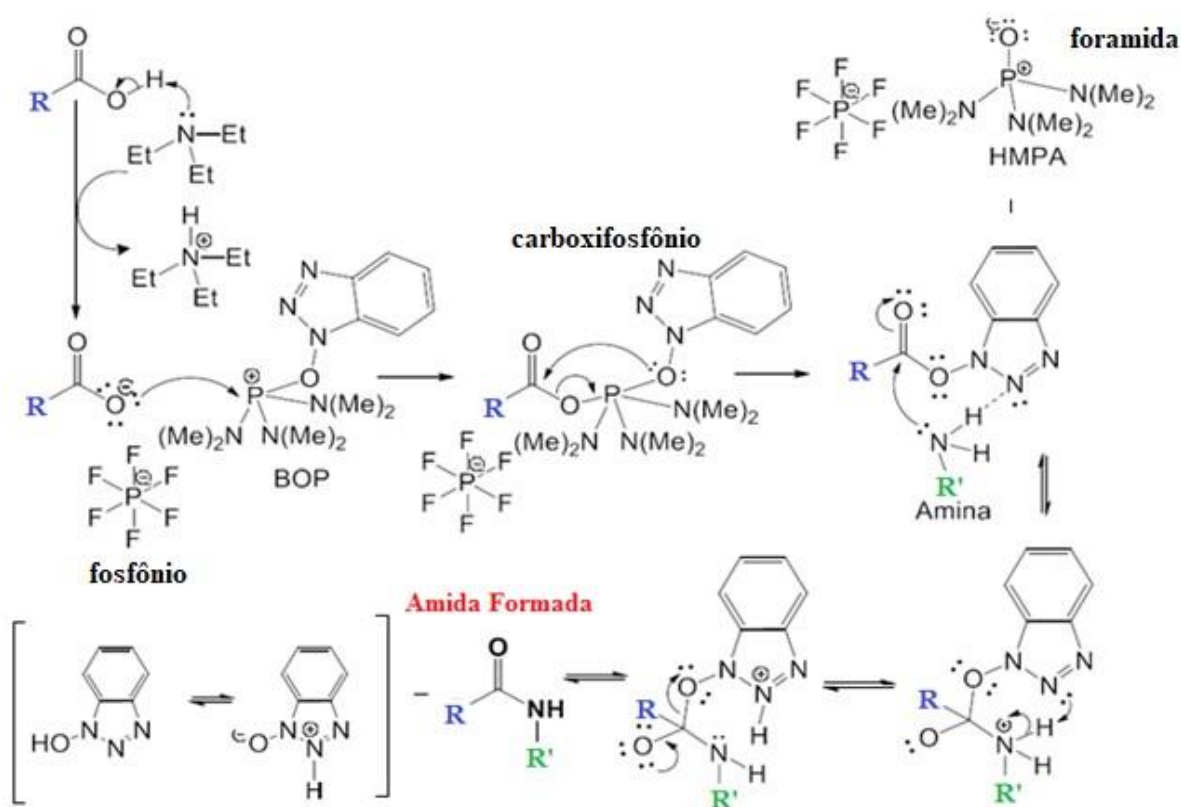


Figura 18 – Exemplos de sais para a formação de ésteres ativados (Valeur, E.; Bradley, M; 2009).

O (benzotriazol-1-iloxi)-tris-(dimetil-amino)-phosphonium-hexafluoro-fosfato, mais conhecido como BOP, é um agente acoplador comumente utilizado para sintetizar peptídeos e pode ser empregado para sintetizar amidas utilizando-se um ácido carboxílico e uma amina, como materiais de partida, dissolvidos ou diluídos em diclorometano (CH_2Cl_2), um solvente aprótico polar. Para reações de larga escala, o uso não é recomendado devido à formação de um agente carcinogênico - o hexametilfosforamida (HMPA) – em uma escala menor. Com o auxílio de um solvente aprótico polar, como a dimetilformamida (DMF), a reação de substituição do tipo $\text{S}_\text{N}2$ ocorre com mais facilidade, porque o DMF aumenta a atividade nucleofílica dos ânions mais básicos. Quando a Et_3N desprotona a hidroxila do ácido carboxílico de escolha, o DMF se encarrega de acelerar a reação do oxigênio nucleofílico com o BOP. O mecanismo de

amidação está demonstrado no esquema 5 (VOLLHARDT & SCHORE, 2011; CASTRO *et al.*, 1975; RAJAN *et al.*, 2001).

Os sais de fosfônio foram pesquisados pelos pioneiros GAWNE, KENNER & SHEPPARD (1969) e ficaram conhecidos no mundo da química orgânica pela realização de uma aminólise de passo único, gerando o reagente ativo *in situ*. De regra, a parte catiônica do sal de fosfônio se reage com o ânion do ácido carboxílico, formando um intermediário carboxifosfônio. O sal de fosfônio utilizado nesse trabalho para síntese de amidas é o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio (**BOP**) também chamado de reagente de Castro, um sólido cristalino e termolábil, utilizado na preparação de amidas a partir de várias combinações de ácidos carboxílicos com aminas orgânicas. Além disso, a reação pode ser feita sem a presença de gás inerte (N₂) e a temperatura ambiente, sendo uma reação mais prática do que as amidas por outras metodologias (MONTALBETTI & FALQUE, 2005).



Esquema 4. Proposta de ativação e mecanismo de reação por BOP (CASTRO *et al.*, 1975)

2.6.2. Agente acoplador DCC/DMAP

Como dito anteriormente, para que aconteça a reação de amidação, o ácido carboxílico tem que ser convertido em um grupo funcional mais reativo. Quando há

conversão destes, em anidridos, são capazes de reagir com nucleófilos como álcoois, tióis e aminas. Os anidridos, simétricos ou assimétricos, são preparados em uma etapa anterior à reação de amidação, pela condensação de duas moléculas do ácido carboxílico na presença de um agente desidratante, como dicicloexilcarbodiimida (DCC), fosgênio, difosgênio ou metoxiacetileno (SINGH and SHEREEVE.; 2002). As carbodiimidas, como DCC, por exemplo, são frequentemente usadas para síntese de amidas, anidridos ou ésteres (VALEUR AND BRADLEY, 2009) e na síntese de peptídeos por apresentar condições reacionais brandas e um protocolo experimental simples, preservando a integridade dos centros assimétricos (JONES *et. al.*, 1994).

De acordo com a literatura, Khan utilizou carbodiimidas para a síntese de amidas. Em seu trabalho, o autor descreve a reação entre a benzilamina e o ácido cis-15-Z- tetracosenóico com emprego de **DCC** e dimetilaminopiridina (**DMAP**) na síntese da *N*-benzil-15-**Z**-tetracosenamida, amida graxa encontrada no vegetal *Lepidium meyenii* (Esquema 12) (ZHAO *et. al.*,2005).

A **4-dimetilaminopiridina** (DMAP) é um derivado de piridina com a fórmula química $(CH_3)_2NC_5H_4N$. Este sólido incolor é de interesse porque é mais básica do que a piridina , devido à estabilização de ressonância do NMe_2 substituinte. Devido à sua basicidade, o DMAP (**Figura 19**) é um catalisador nucleofílico útil para uma variedade de reações (NACHTERGAEL *et. al.* 2015; DONALD *et.al.*; 2001).

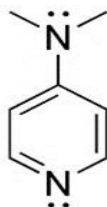
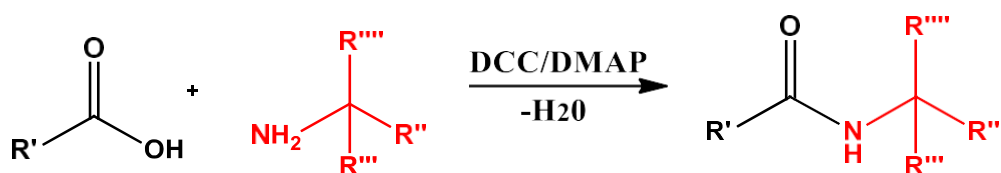


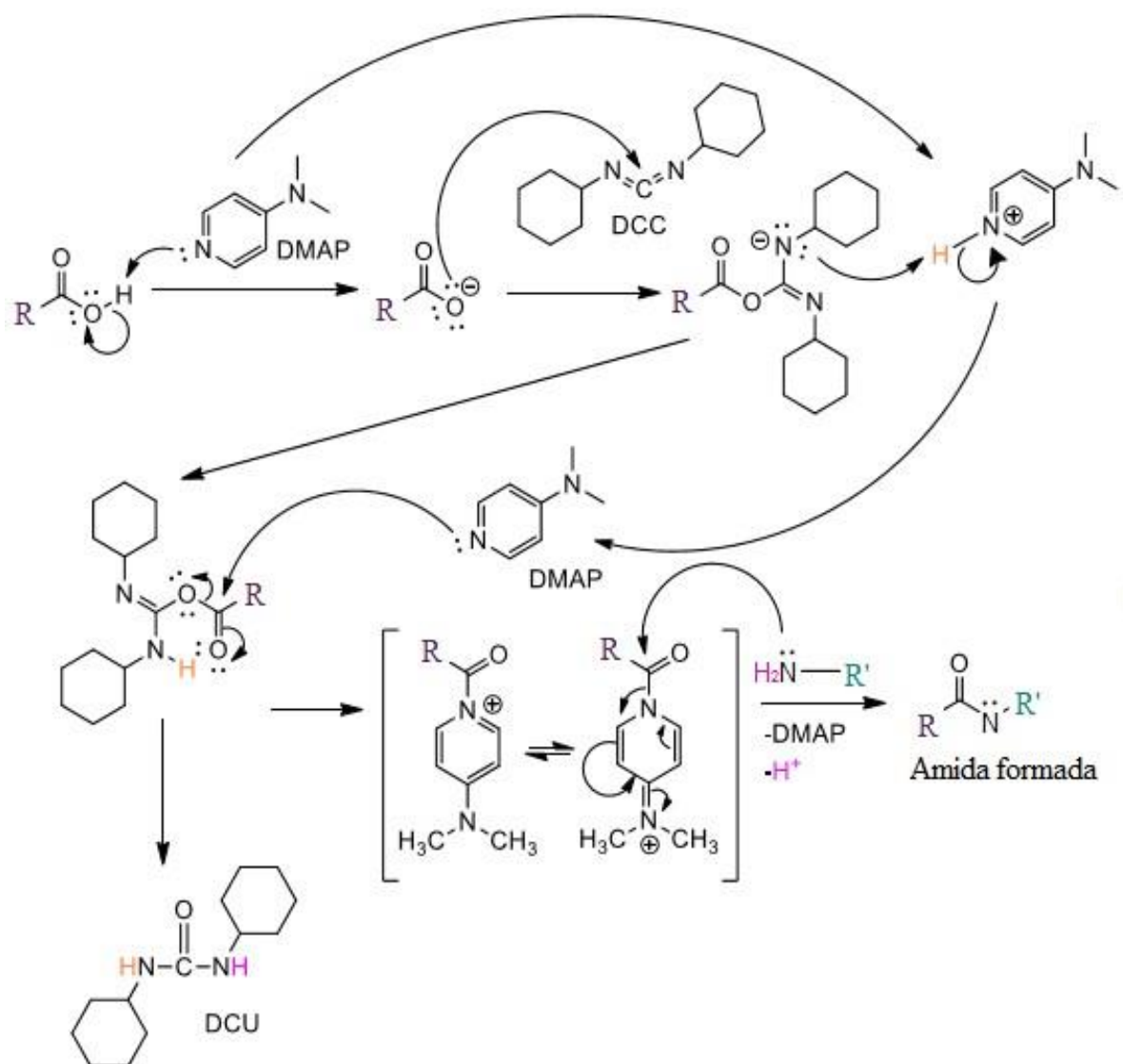
Figura 19: Estrutura química do DMAP (NACHTERGAEL *et. al.* 2015; DONALD *et.al.*; 2001).

A **amidação** com diciclohexilcarbodiimida como reagente de acoplamento e 4-dimetilaminopiridina como catalisador foi descrita pela primeira vez por Wolfgang Steglich em 1978 (NEISES AND STEGLICH, 1978).



Esquema 5: mecanismo geral da produção de amidas por DCC-DMAP (NEISES AND STEGLICH, 1978).

Esta reação ocorre à temperatura ambiente. O solvente adequado é o diclorometano (Esquema 6).



Esquema 6: Mecanismo de ação da amidação por DCC/DMAP (NEISES, *et. al.*, 1978).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a atividade citotóxica de uma coleção de derivados do ácido ferúlico estruturalmente relacionados e estabelecer uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas.

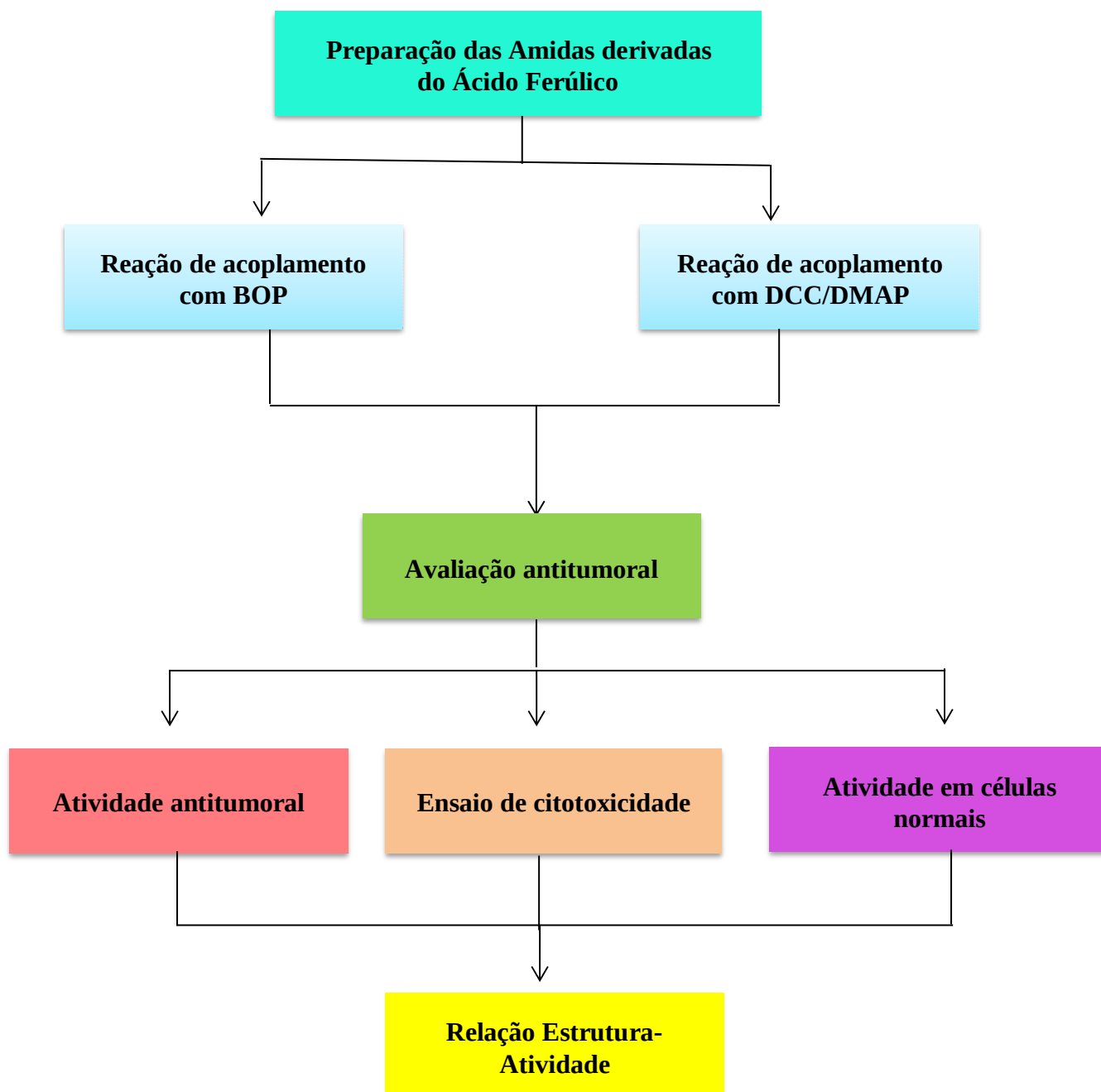
3.2. Específicos

- Preparar os derivados do ácido ferúlico, via reação de acoplamento;
- Avaliar a atividade citotóxica;
- Traçar uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas;
- Estabelecer características químicas para o desenvolvimento de agentes citotóxicos com melhor perfil biológico frente a células tumorais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Delineamento do estudo desenvolvido

O estudo desenvolvido na presente dissertação foi estruturado conforme o Esquema 4.

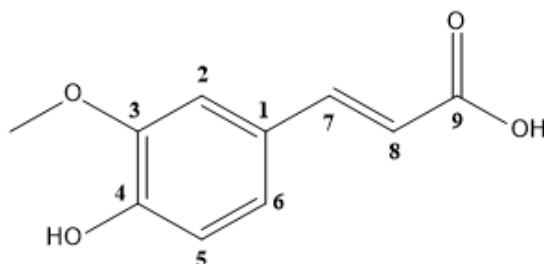


Esquema 7. Delineamento da etapa química, estudo antitumoral e relação estrutura-atividade das amidas derivadas do ácido ferúlico.

4.2. Etapa Química

4.2.1. Etapa de obtenção e preparação das amidas derivadas do ácido ferúlico

O ácido ferúlico (**Figura 20**) foi utilizado como material de partida para preparar uma coleção de amidas e posteriormente testar sua atividade antitumoral.

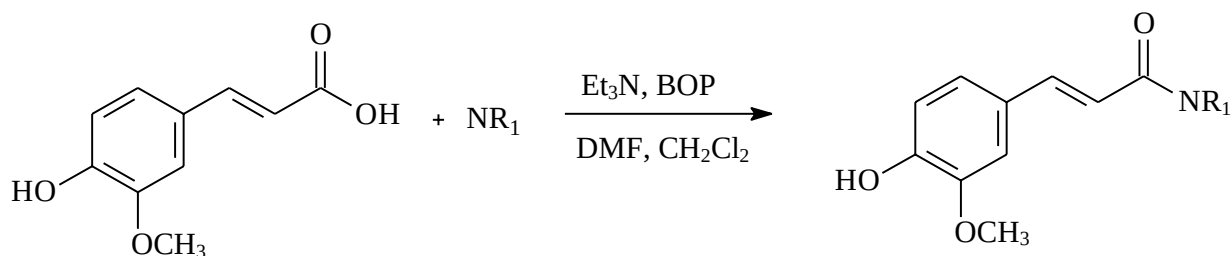


ácido *trans*-ferúlico

Figura 20: Ácido 2-propenóico, 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)

Os compostos foram obtidos por dois tipos de reação: reação de acoplamento utilizando o BOP como agente de acoplante e reação de acoplamento utilizando o DCC como o agente acoplante.

A primeira reação utilizada foi a reação de acoplamento com BOP para a obtenção de cinco amidas (MA1 a MA5), via reação do ácido ferúlico com 5 aminas, conforme mostrado no **Esquema 8**, utilizando dimetilformamida (DMF), trietilamina (Et_3N), e agente de acoplamento (BOP), monitorado por cromatografia em camada delgada analítica, segundo a metodologia de FU e colaboradores (2010). As aminas utilizadas nas reações foram: Isobutilamina, Pirrolidina, Ciclohexilamina, Benzilamina e Anilina. As reações duraram entre 4-7 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 67-91% (**Tabela 2**) a amida **MA4** com maior rendimento e a amida **MA1** com o menor tempo de reação.

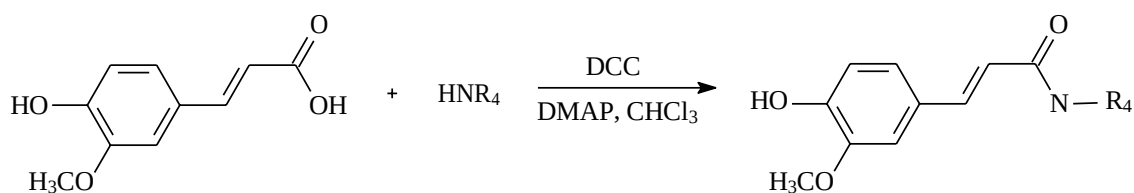


(**MA1**) $\text{R1} = \text{C}_4\text{H}_{11}$; (**MA2**) $\text{R1} = \text{C}_4\text{H}_9$; (**MA3**) $\text{R1} = \text{C}_6\text{H}_{13}$; (**MA4**) $\text{R1} = \text{C}_7\text{H}_9$; (**MA5**) $\text{R1} = \text{C}_6\text{H}_7$.

Esquema 8. Esquema geral da amidacão pela reação de acoplamento com BOP utilizando como material de partida o ácido ferúlico.

As amidas foram identificadas por métodos espectroscópicos de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C , e Espectrometria de Massas de Alta Resolução para o composto inédito **MA1**, inédito na literatura. Os produtos foram obtidos em um tempo reacional de 4 a 7 horas, apresentando rendimentos satisfatórios (67,23-91,38%).

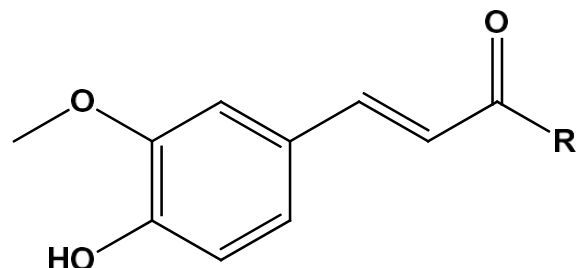
A segunda coleção de amidas foi obtida pela reação de acoplamento com DCC. O segundo grupo de amidas (**MA6 a MA10**) foi obtido a partir da reação entre o ácido ferúlico, com 5 aminas, conforme mostrado no **Esquema 9**, utilizando trietilamina (Et_3N), e agente de acoplamento (DCC/DMAP), monitorado por cromatografia em camada delgada analítica, utilizando um sistema $\text{AcOEt}:\text{Hex}$ (SIEWERT et al., 2013; JOSHUA et al., 2016). As aminas utilizadas nas reações foram: 4-metil-benzilamina, 4-metóxi-benzilamina, 4-cloro-benzilamina, 3,4-dimetoxibenzilamina, piperonilamina. De acordo com a **Tabela 2**, as reações duraram entre 24-28 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 43- 70%, sendo a amida **MA10** com maior rendimento (70,41%) e com maior tempo reacional (28 horas), a amida **MA7** o de menor rendimento (43,17%).



(MA6) $\text{R}_4 = \text{C}_8\text{H}_{11}$; **(MA7)** $\text{R}_4 = \text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}$; **(MA8)** $\text{R}_4 = \text{C}_7\text{H}_8\text{Cl}$; **(MA9)** $\text{R}_4 = \text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_3$; **(MA10)** $\text{R}_4 = \text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$.

Esquema 9. Esquema geral da amidação pela reação de acoplamento com DCC/DMAP utilizando como material de partida o ácido ferúlico e amidas.

Tabela 2. Dados da reação e propriedades físico-químicas das amidas derivadas do ácido ferúlico.



Composto	R	Fórmula molecular	Massa molar (g/mol)	Faixa de fusão	Tempo de reação (h)	Quantidade em massa mg	Sistema da coluna (Hex:ACOet)	Rendimento (%)
MA1	C ₄ H ₁₁ N	C ₁₄ H ₁₉ NO ₃	249,31	70-76 °C	I - 4	I - 85,18	06:04	I - 67,23
MA2	C ₅ H ₁₁ N	C ₁₅ H ₁₉ NO ₃	261,14	197-205 °C	I - 5	I - 110,46	06:04	I - 83
MA3	C ₆ H ₁₃ N	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	275,34	160-165 °C	I - 7	I - 87,55	06:04	I - 62,37
MA4	C ₇ H ₉ N	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	283,32	143-147 °C	I - 7	I - 132,02	06:04	I - 91,38
MA5	C ₆ H ₇ N	C ₁₆ H ₁₅ NO ₃	269,30	127-130 °C	I - 5	I - 97,00	05:05	I - 70,63
MA6	C ₈ H ₁₁ N	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	297,35	145-150 °C	II - 24	II - 98,45	06:04	II - 64,94
MA7	C ₈ H ₁₁ NO	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313,35	134-139 °C	II - 25	II - 69	06:04	II - 43,17
MA8	C ₇ H ₈ ClN	C ₁₇ H ₁₆ ClNO ₃	317,77	157-164 °C	II - 24	II - 75,97	05:05	II - 46,87
MA9	C ₉ H ₁₃ NO ₃	C ₁₉ H ₂₁ NO ₅	343,17	197-202 °C	II - 26	II - 91,93	06:04	II - 52,53
MA10	C ₈ H ₉ NO ₂	C ₁₈ H ₁₇ NO ₅	327,11	203-208 °C	II - 28	II - 117,48	06:04	II - 70,41

I – Reação de Amidação com BOP; II - Reação de Amidação com DCC/DMAP;

4.3. Análise espectroscópica das amidas derivadas do ácido ferúlico

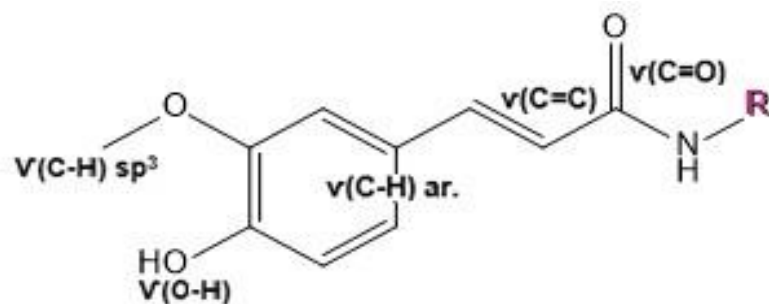
A caracterização estrutural dos compostos foi estabelecida através de dados de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e HR-MS do tipo ESI.

4.3.1. Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos MA1 a MA10

A análise dos espectros de infravermelho das amidas derivadas do ácido ferúlico foi realizada segundo os dados da literatura de SILVERSTEIN e colaboradores (2007) e PAVIA e colaboradores (2010). Pode-se evidenciar a presença de grupos funcionais, que são importantes para identificação da molécula.

Na análise dos espectros dos diferentes análogos, as estruturas moleculares dos compostos **MA1** a **MA10** apresentam o mesmo anel do ácido ferúlico. Na tabela 3 podemos observar sinais norteadores para todas as moléculas, referentes à vibração de deformação axial do grupamento OH em, aproximadamente 3300 cm^{-1} . A ocorrência de uma banda em, aproximadamente, 3000 cm^{-1} no espectro é atribuída ao estiramento assimétrico do grupamento C-H sp^2 , o estiramento axial simétrico carbonos sp^3 das metoxilas em torno de 2974 cm^{-1} . A banda em aproximadamente 1656 cm^{-1} se deve ao estiramento do grupamento carbonila conjugado ao anel aromático e três bandas intensas e características na faixa de 1618 , 1598 e 1518 cm^{-1} , correspondentes às vibrações de deformação axial do anel aromático. O estiramento simétrico N-H das amidas não foram observados por haver sobreposição pelo sinal da hidroxila. (SAJJADI; SHOKOOHINIA; MOAYEDI, 2012; WANG et. al., 2011).

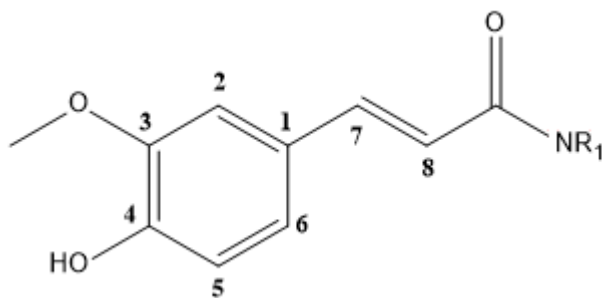
Tabela 3 – Espectroscopia de infravermelho – estiramentos (ν) das amidas 22-34 em cm^{-1}



R = Isobutila
 R = Pirrolidila
 R = Ciclohexila
 R = Fenila
 R = Benzila
 R = 4-Metilbenzila
 R = 4-Metoxibenzila
 R = 4-Clorobenzila
 R = 2,4-Dimetoxibenzila
 R = Piperonila

Composto	V(O-H)	$\nu(\text{C-H}) \text{ sp}^2$	V(C-H) sp^3	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=C})$
(01)	3286	3083	2961- 2934	1656	1592, 1548 e 1516
(02)	3108	3012	2979- 2892	1657	1618, 1579 e 1532
(03)	3283	3066	2936- 2855	1654	1614, 1542 e 1514
(04)	3361	3065	2944	1654	1583, 1555 e 1518
(05)	3337	3090	2977	1656	1621, 1587 e 1552
(06)	3327	3288	2938	1655	1597, 1559 e 1514
(07)	3356	3079	2839	1654	1592, 1552 e 1516
(08)	3335	3086	2971	1657	1590, 1559 e 1514
(09)	3227	3063	2937	1652	1593, 1549 e 1515
(10)	3300	3030	2896	1651	1598, 1534 e 1506

432 Interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos MA1 a MA10



- | | |
|---|---|
| (1) $\text{R1} = \text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ | (6) $\text{R1} = \text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ |
| (2) $\text{R1} = \text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ | (7) $\text{R1} = \text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ |
| (3) $\text{R1} = \text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ | (8) $\text{R1} = \text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClNO}_3$ |
| (4) $\text{R1} = \text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ | (9) $\text{R1} = \text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ |
| (5) $\text{R1} = \text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ | (10) $\text{R1} = \text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ |

Esquema 10. Esquema geral das amidas derivadas do ácido ferúlico.

De acordo com a **Esquema 9**, os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos produtos sintetizados provenientes do ácido ferúlico, demonstram a presença de 5 (cinco) hidrogênios em comum (**H2**, **H5**, **H6**, **H7**, **H8**) sendo 3 (três) do anel aromático e 2 (dois) na cadeia lateral ligada na posição 1 (um) do anel aromático; como também, 9 (nove) carbonos em comum (**C1**, **C2**, **C3**, **C4**, **C5**, **C6**, **C7**, **C8**, **C=O**), sendo 6 (seis) do anel aromático e 3 (três) da cadeia lateral com a presença da carbonila da amida, que confirmam as estruturas das amidas derivadas do ácido ferúlico.

Os sinais de hidrogênios obtidos em (CDCl_3 , 200 MHz, ppm), com maior deslocamento, foram: para os hidrogênios olefínicos temos dois dubletos em δ 7,58 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 7,04 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), atribuídos aos hidrogênios **H7** e **H8**, respectivamente, com configuração *trans* é confirmada pela constante de acoplamento ($J = 16,0$ Hz); para os hidrogênios aromáticos temos um singleto e dois dubletos em δ 8,43 (s, 1H), 7,03 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H) e 6,89 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) concedido aos hidrogênios **H2**, **H5** e **H6**, respectivamente. As constantes de acoplamento semelhantes evidenciam o acoplamento que ocorre entre os hidrogênios vizinhos e os sinais dos hidrogênios metilênicos e metílicos das cadeias laterais saturadas assim como os sinais metínicos dos hidrogênios aromáticos são mostrados nas **Tabelas 4, 5 e 6** abaixo.

Os dados de RMN ^{13}C , evidenciados na **Tabela 7**, apresentam valores de deslocamentos químicos que confirmam também a identidade dos compostos. Para os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze, os sinais obtidos em ($\text{CDCl}_3\text{-d}_6$, 50 MHz, ppm), com maior deslocamento, foram: 166,64 característico de C=O de amida, três sinais próximo a região 127,82 – 148,82 atribuídos a carbonos **C3**, **C4**, **C7**, respectivamente, sinal 133,53 (**C1**), sinal 122,27 (**C6**), sinais 120,65 – 109,72 atribuídos aos carbonos **C8**, **C5**, **C2** respectivamente, como mostrado na **Tabela 7**. Além desses sinais, também são evidenciados os deslocamentos químicos dos carbonos das cadeias laterais saturadas e aromáticas, confirmando a estrutura de cada composto.

Tabela 4. Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA1 – MA4).

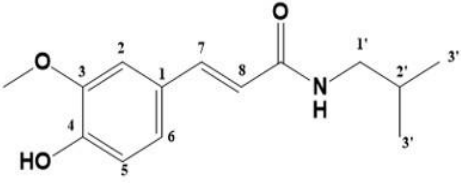
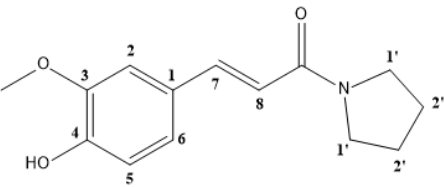
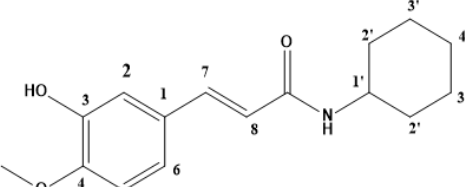
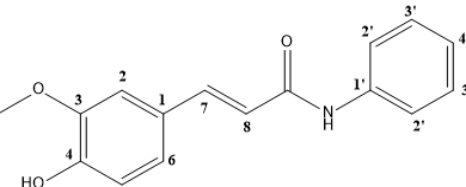
Posição	MA1	MA2	MA3	MA4
				
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-	-	-
2	6,96 (s,1H)	6,93 (s, 1H)	7,04 (s, 1H)	7,18 (s,1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	6,90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)	6,85 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)	6,98 (<i>d</i> , <i>J</i> = 14,0 Hz, 1H)	7,02 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)
6	6,80 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)	6,50 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	6,88 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)	6,65 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz; 1H)
7	7,47 (<i>d</i> , <i>J</i> = 14,0 Hz, 1H)	7,58 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	7,52 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	7,07 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)
8	6,80 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	7,04 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	6,27 (<i>d</i> , <i>J</i> = 14,0 Hz, 1H)	6,82 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)
OH	-	-	-	10,12 (s,1H)
OCH ₃	3,77 (s, 3H)	3,85(s, 3H)	3,88 (s, 3H)	3,58 (s,1H)
N-H	6,07 (s,1H)	5,23 (s, 1H)	5,65 (s, 1H)	3,81 (s, 1H)
1'	3,11 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)	3,55 (<i>t</i> , <i>J</i> = 6 Hz, 2H)	1,56 (<i>m</i> , 11H)	-
2'	1,76 (<i>sept</i> , <i>J</i> = 6,0 Hz, 1H)	1,88 (<i>sl</i> , 4H)	1,56 (<i>m</i> , 11H)	7,69 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)
3'	0,86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,0 Hz, 6H)	-	1,56 (<i>m</i> , 11H)	7,51 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)
4'	-	-	1,56 (<i>m</i> , 11H)	7,30 (<i>t</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)

Tabela 5. Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA5 – MA8).

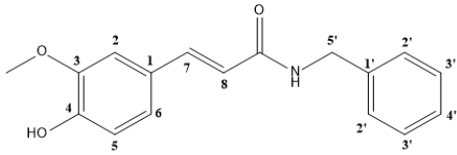
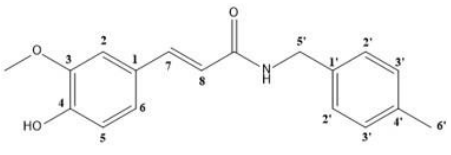
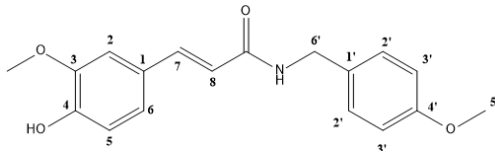
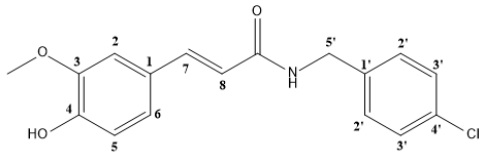
Posição	ME5	ME6	ME7	ME8
				
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-	-	-
2	7,26 (<i>sl</i> , 4H)	8,43 (<i>s</i> , 1H)	7,01 (<i>s</i> , 1H)	7,13 (<i>s</i> , 1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	6,63 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,97 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,95 (<i>d</i> , $J = 10,0$ Hz, 1H)	6,99 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	6,33 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,82 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 1H)	6,79 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
7	7,55 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,36 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,54 (<i>d</i> , $J = 14,0$ Hz, 1H)	7,52 (<i>m</i> , $J = 16,0$ Hz, 3H)
8	6,03 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,50 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,26 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 1H)	6,29 (<i>d</i> , $J = 14,0$ Hz, 1H)
OH	-	9,49 (<i>s</i> , 1H)	-	-
OCH ₃	3,77 (<i>s</i> , 3H)	3,48 (<i>s</i> , 3H)	3,74 (<i>s</i> , 1H)	3,78 (<i>s</i> , 1H)
N-H	5,21 (<i>s</i> , 1H)	5,43 (<i>s</i> , 1H)	6,14 (<i>s</i> , 1H)	5,26 (<i>s</i> , 1H)
1'	-	-	-	-
2'	7,26 (<i>sl</i> , 4H)	7,10 (<i>sl</i> , 4H)	7,20 (<i>d</i> , $J = 10,0$ Hz, 1H)	7,19 (<i>d</i> , $J = 4,0$ Hz, 1H)
3'	6,88 (<i>dt</i> , $J = 8,0$ Hz, 3H)	7,10 (<i>sl</i> , 4H)	6,85 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 1H)	7,52 (<i>m</i> , $J = 16,0$ Hz, 3H)
4'	7,26 (<i>sl</i> , 4H)	-	-	-
5'	4,48 (<i>s</i> , 2H)	4,31 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 2H)	4,45 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 2H)	4,43 (<i>d</i> , $J = 6,0$ Hz, 2H)
6'	-	3,76 (<i>s</i> , 3H)	3,83 (<i>s</i> , 3H)	-

Tabela 6. Assinalamentos de RMN de ^1H das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA9 – MA10).

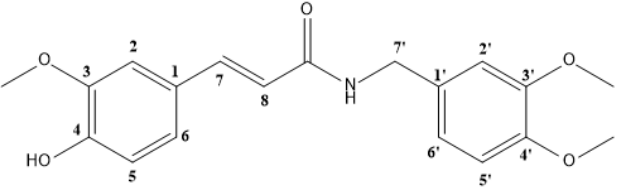
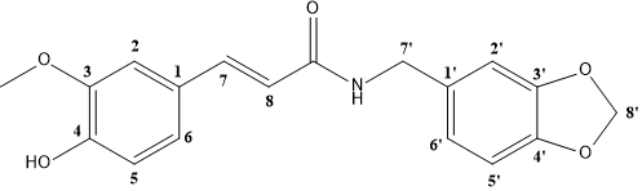
	ME9	ME10
Posição		
	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-
2	7,20 (s, 1H)	6,95 (s, 1H)
3	-	-
4	-	-
5	6,85 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,75 (d, $J = 24,0$ Hz, 1H)
6	6,74 (m, 1H)	6,63 (m, 3H)
7	7,49 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,19 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H)
8	6,24 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,32 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H)
OH	-	8,26 (s, 1H)
OCH ₃	3,75 (s, 9H)	3,62 (s, 3H)
N-H	5,21 (s, 1H)	5,35 (s, 1H)
1'	-	-
2'	6,93 (s, 1H)	6,85 (s, 1H)
3'	-	-
4'	-	-
5'	6,74 (m, 1H)	6,63 (m, 1H)
6'	6,74 (m, 1H)	6,63 (m, 1H)
7'	4,38 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H)	4,11 (s, 2H)
8'	-	5,79 (s, 2H)

Tabela 7. Asinalamentos de RMN de ^{13}C das amidas derivadas do ácido ferúlico (MA1 – MA10).

	MA1	MA2	MA3	MA4	MA5	MA6	MA7	MA8	MA9	MA10
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	127,23	121,93	127,49	128,94	127,17	126,52	130,34	126,51	130,84	133,53
2	109,72	110,20	109,75	110,99	109,91	110,83	109,85	110,89	111,21	115,75
3	147,48	147,59	147,45	148,82	147,67	148,43	147,60	148,43	148,45	148,40
4	145,85	146,88	146,82	148,06	146,96	147,96	146,87	147,96	147,64	147,92
5	114,83	110,35	114,82	115,96	110,04	115,68	114,87	115,67	117,84	118,84
6	121,95	116,12	122,27	122,23	117,81	121,79	122,20	121,78	122,17	121,71
7	141,08	127,82	141,13	140,71	141,59	139,64	141,58	139,70	141,50	139,56
8	118,06	114,91	118,48	119,10	114,95	118,86	117,85	118,80	120,22	120,65
C=O	166,61	165,28	165,46	164,30	166,64	165,60	166,32	165,60	166,39	165,54
OCH ₃	55,74	56,16	56,08	55,62	55,92	73,00	56,04	55,58	55,94	55,58
1'	47,13	46,49	48,67	139,62	138,24	136,03	127,31	136,02	127,22	126,47
2'	28,64	39,88	33,37	119,56	122,13	127,46	129,46	127,50	109,82	110,87
3'	20,11	-	24,99	126,38	128,72	129,02	114,16	129,02	149,12	146,16
4'	-	-	25,66	123,39	118,09	136,61	159,11	136,60	146,92	147,34
5'	-	-		-	43,82	55,69	55,51	-	114,90	108,12
6'	-	-	-	-	-	42,18	43,46	-	122,09	121,71
7'	-	-	-	-	-	-	-	-	43,75	42,20
8'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,92

433. Interpretação dos espectros de massas dos compostos MA1 e MA7.

Os espectros de massas das amidas inéditas na literatura foram obtidos por espectrômetro de massas tipo MALDI de alta resolução, o qual permitiu a obtenção das massas com elevada exatidão das amidas derivadas do ácido ferúlico. Segundo Brenton e Godfrey, (2010), foram considerados como massas exatas, aqueles sinais cujos valores ficaram entre $\pm 20\%$ das massas calculadas teóricas, os quais estão descritos na tabela a seguir.

Tabela 8. Dados do espectro de massas tipo MALDI das amidas MA1 e MA7.

Composto	Pico íon-molecular	Massa calculada	Massa do espectro	Erro percentual (%)
MA1	[M+H] ⁺	250,310	250,232	-3,11
MA7	[M+H] ⁺	314,350	314,236	-3,62

4.4. Atividade citotóxica das amidas derivadas do ácido ferúlico

4.4.1. Relação estrutura-atividade das amidas citotóxicas

Os estudos de relações estrutura-atividade (SAR) são utilizados para determinar as características químicas que influenciam a ação biológica de uma série de compostos análogos, pois parte da premissa geral de que um fármaco age em um sítio de ação específico localizado em uma enzima ou receptor, sendo que compostos com estruturas semelhantes tendem então a possuir a mesma atividade farmacológica e/ou toxicológica, ou seja, interagem nesse mesmo sítio (THOMAS et al., 2003).

Sabe-se que os análogos e seus respectivos alvos farmacológicos são flexíveis e têm estruturas moleculares em contínuas mudanças. Essas derivações denominam-se confômeros. Os grupamentos insaturados e os sistemas de anéis conferem mais rigidez às moléculas e reduzem a quantidade de confôrmeros, podendo haver o aumento da probabilidade de interações entre o análogo e seu alvo farmacológico. As funções químicas, como os sistemas conjugados alifáticos, os anéis aromáticos, os heteroaromáticos, os ésteres e as amidas, também são considerados grupamentos rígidos, no entanto, a rigidez das amidas é superior em comparação com os demais (THOMAS, 2003; SMIEŠKO, 2017a).

Para aumentar o caráter lipofílico de um análogo, basta aumentar o radical alquila com a inserção de grupamentos metilênicos de forma sequencial ou com ramificações. Supõe-se que a atividade melhora devido ao aumento da fluidez do composto pelas membranas biológicas, porém, a depender do tamanho da cadeia, poderá ocorrer o inverso, pois esse fenômeno também pode aprisionar o fármaco, visto que, com a redução da hidrossolubilidade, a distribuição é afetada (THOMAS, 2003; KUMAR *et al.*, 2005; SMIEŠKO, 2017b).

A mudança da atividade com a introdução de halogênios, metilas, anéis alicíclicos e aromáticos aos análogos não é previsível. Esses grupamentos tanto servem como grupos volumosos, que dificultam o ataque enzimático e a consequente degradação de um análogo em estudo, quanto aumentam a lipossolubilidade e as interações hidrofóbicas com seus respectivos alvos farmacológicos (THOMAS, 2003; BARREIRO, *et al.*, 2011). A introdução de anéis aromáticos possibilita mais rigidez molecular, que contribui para aumentar essa interação. Os anéis aromáticos heterocíclicos também são muito utilizados, e grupos funcionais, como o enxofre e o nitrogênio inseridos no anel, podem aumentar a

atividade farmacológica (THOMAS, 2003; BARREIRO, *et al.*, 2011; SMIEŠKO, 2017a; SMIEŠKO, 2017b). A atividade farmacológica com a introdução de halogênios (cloro, flúor, bromo ou Iodo) também varia de acordo com o halogênio usado e com a posição, quando inseridos em anéis aromáticos (THOMAS, 2003). A introdução de grupamentos hidroxila aumenta a hidrossolubilidade do composto, e um novo sítio para ligações de hidrogênio é formado. Isso aumenta a interação entre o análogo e o receptor (THOMAS, 2003; TASDEMIR *et al.*, 2006).

Como na literatura já temos conhecimento que o ácido ferúlico com correspondentes derivados de tipo amida apresenta atividade antitumoral (SHAHIDI *et al.*, 2010) fizemos modificações moleculares para otimizar sua atividade e potencializar o efeito citotóxico em células tumorais (THOMAS, 2003). Para avaliar a citotoxicidade das amidas derivadas do ácido ferúlico, foi feito o ensaio do alamar blue realizado após 72 horas de exposição com as substâncias teste. O alamar blue, identificado como resazurina (O'BRIEN *et al.*, 2000), é um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox. Conforme ocorre com os sais de tetrazólio, o alamar blue reduz-se em células em proliferação. A forma oxidada é azul (não fluorescente/célula não viável) e a forma reduzida é rósea (fluorescente/célula viável). A redução do alamar blue reflete a proliferação celular. Este foi inicialmente utilizado para indicar crescimento e/ou viabilidade celular no monitoramento de proliferação de linfócitos (AHMED *et al.*, 1994) e atualmente apresenta várias aplicações.

A análise da relação estrutura-atividade das amidas derivadas do ácido ferúlico foi baseada nos resultados da concentração inibitória mínima sobre as células **HepG2** (carcinoma hepatocelular humano), **HCT116** (carcinoma de cólon humano), **HL-60** (leucemia promielocítica humana) e **MRC5** (fibroblasto de pulmão humano) obtidas da ATCC. A preparação desses compostos estruturalmente semelhantes, com mudança no número da cadeia alquílica e no tipo de substituintes no anel aromático como doadores ou retiradores de elétrons, podem causar alterações significativas nas propriedades dos compostos e resultar em diferentes atividades antitumorais (O'BRIEN *et al.*, 2000). Logo, os resultados obtidos neste trabalho podem servir de referência para o desenvolvimento de novos protótipos antitumorais com perfil biológico mais promissor.

Os resultados dos ensaios de atividade antitumoral **MA1** a **MA10**, foram obtidos na Fundação Oswaldo Cruz, no Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, pelos pesquisador Dr. Daniel Pereira Bezerra, estão registrados nas **Tabelas 9, 10 e 11**.

Tabela 9. Valores de CI_{50} para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais *versus* não tumorais (MA1-MA4).

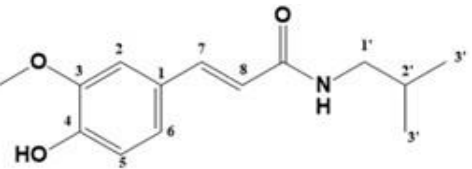
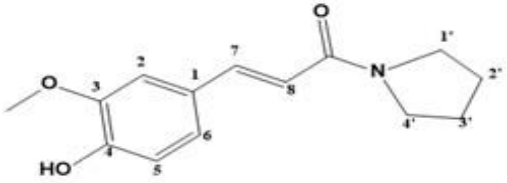
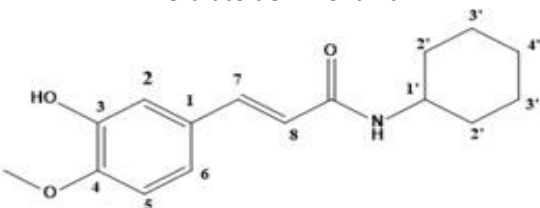
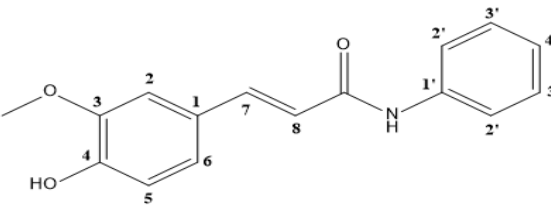
Amidas $\mu\text{g/mL}$	HCT116	HEP62	HL60	MRC5	Estruturas
MA1	>25	>25	>25	>25	 Ferulato de Isobutilamina
MA2	>25	>25	>25	>25	 Ferulato de Pirrolidina
MA3	>25	>25	18,84 (11,58 – 27,65)	>25	 Ferulato de Ciclohexilamina
MA4	>25	>25	14,28 (9,40 – 21,70)	>25	 Ferulato de Anilina

Tabela 10. Valores de IC₅₀ para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais *versus* não tumorais (MA5-MA8).

Amidas

µg/mL

HCT116

HEP62

HL60

MRC5

Estruturas

MA5

18,93

20,82

17,49

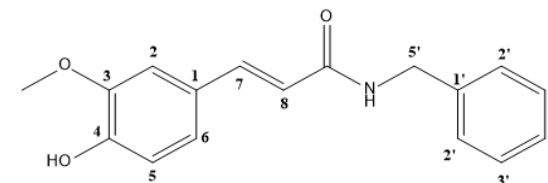
20,59

(13,48 – 26,57)

(17,45 – 28,23)

(14,24 – 21,48)

(16,22 – 26,13)



Ferulato de Benzilamina

MA6

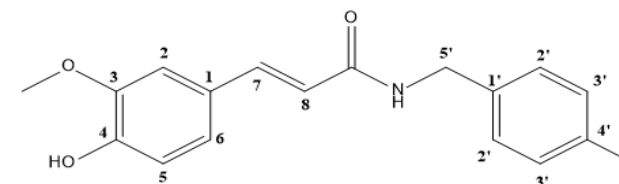
>25

>25

15,79

>25

(11,71 – 21,30)



Ferulato de 4-Metil-Benzilamina

MA7

>25

20,27

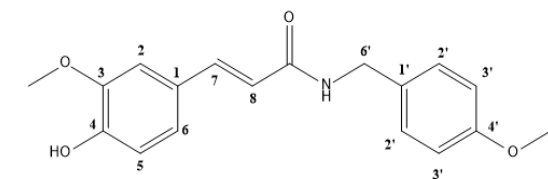
22,03

16,69

(15,94 – 25,77)

(19,89 – 29,06)

(13,18 – 21,13)



Ferulato de 4-Metóxi-Benzilamina

MA8

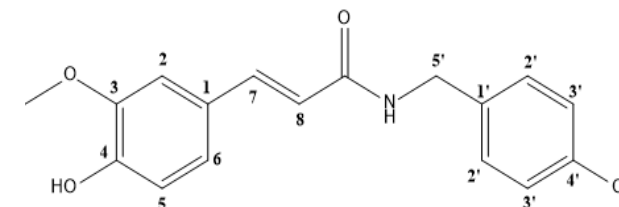
>25

>25

15,58

>25

(9,26 – 26,20)



Ferulato de 4-Cloro-Benzilamina

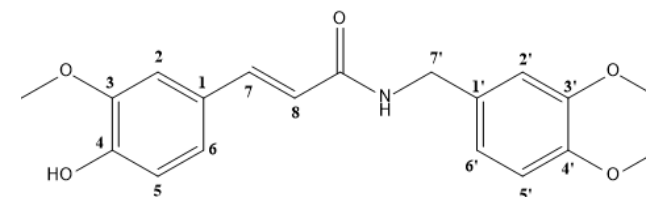
Tabela 11. Valores de CI_{50} para a atividade citotóxica em linhagens de células tumorais *versus* não tumorais (MA9-MA10).**Amidas****µg/mL****HCT116****HEP62****HL60****MRC5****Estruturas****MA9**

>25

>25

12,51
(7,41 – 18,12)

>25

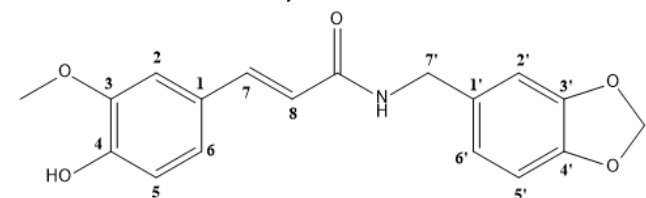
**Ferulato de 3,4-Dimetóxibenzilamina****MA10**

>25

>25

18,79
(11,29 – 26,25)

>25

**Ferulato de Piperonilamina****DOX**0,02
(0,01 – 0,44)0,01
(0,01 – 0,06)0,03
(0,01 – 1,07)1,00
(0,44 – 2,01)

*As tabelas apresentam os valores de CI_{50} (concentração inibitória média) e os respectivos intervalo de confiança de 95% obtido a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata pelo método do Alamar blue após 72 horas de exposição com as células HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HCT116 (carcinoma de cólon humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana) e MRC5 (fibroblasto de pulmão humano) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prisma versão 5.0. Doxorubicina (DOX) foi usada como controle positivo.

De acordo com os resultados explanados na **Tabelas 9, 10 e 11**, observamos que o composto **MA1** não apresentou atividade citotóxica a nenhuma célula estudada, sugerindo que o grupamento alquílico não contribui para a atividade antitumoral. **MA2** também não apresentou atividade citotóxica nas células tumorais, diferentemente do seu análogo **MA3** em que o nitrogênio não é um heteroátomo, e sim um ligante da cadeia alicíclica, onde teve uma atividade seletiva as células HL60 com resultados da $CI_{50} = 18,84 \mu\text{g/mL}$.

Ao analisar a atividade antitumoral das amidas aromáticas, tomando como referência o composto **MA4**, com um anel fenílico ligado ao nitrogênio, o mesmo apresentou citotoxicidade seletivamente as células HL60 com resultados da $CI_{50} = 14,28 \mu\text{g/mL}$. O composto **ME5**, com um anel benzílico em seu radical, apresentou citotoxicidade em todas as células tumorais estudadas, tendo seu melhor resultado nas células HL60 com o $CI_{50} = 17,49 \mu\text{g/mL}$, porém o mesmo, apresentou citotoxicidade para as células MRC5 (fibroblasto de pulmão humano), demonstrando que o composto não apresenta seletividade para células tumorais. No composto **MA6**, há um substituinte metil na posição *para* no anel benzílico, e essa substituição, comparada com o composto anterior **MA5**, causou uma seletividade às células tumorais HL60 com o $CI_{50} = 15,79 \mu\text{g/mL}$ e não apresentou citotoxicidade as células sadias. Porém, no composto **MA7**, percebemos que quando, ao invés do substituinte metil ligado à posição *para* do anel benzílico, temos uma metoxila, essa seletividade se perde e há atividade citotóxica em todas as células estudadas, inclusive na MRC5. No composto **MA8**, foi percebido que quanto mudamos o substituinte do anel aromático de uma metoxila (**composto MA7**), para um cloro, há seletividade às células HL60 com o $CI_{50} = 15,79 \mu\text{g/mL}$.

O composto **MA9**, que há uma diss substituição no anel benzílico, com metoxilas nas posição *meta* e *para*, resultou na melhor atividade citotóxica de todas as amidas estudadas. Esse composto apresentou seletividade frente as células HL60 com uma $CI_{50} = 12,51$. O composto **MA10** o qual tem um substituinte metilenodióxido apresentou sua seletividade para as células HL60. Porém sua atividade citotóxica é menor em comparação com o composto **MA9**, por ter seu $CI_{50} = 18,79 \mu\text{g/mL}$.

Diante dos resultados obtidos, os compostos mais sensíveis para as células HL60 foram o **MA9, MA5, MA8 e MA6** com atividade moderada, porém nas demais células não foram biotivos. Isso é um resultado positivo, pois, esses derivados mostraram-se

seletivos para um certo tipo de tumor, sem atacar as células MRC5. Os derivados **MA3**, **MA4**, **MA7 e MA10** apresentaram atividades fracas nas células HL60, porém, os compostos **MA4 e MA7** não foram seletivos para as células HL60, apresentando uma atividade citotóxica em todas as células estudadas. Os compostos **MA1 e MA2** não apresentaram atividade citotóxica em nenhuma das células estudadas.

A relação estrutura-atividade desses compostos sugere que alterações estruturais relacionadas a estereoquímica, formação de pontes de hidrogênio e polaridade podem influenciar a ação citotóxica de **MA9**, que é dissubstituída por duas metoxilas na posição *meta* e *para* do anel benzílico, apresentasse o melhor resultado do estudo.

5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

As dez amidas ferúlicas foram preparadas em uma única etapa e apresentaram bons rendimentos nas duas metodologias de síntese usadas. Todos os análogos foram purificados por cromatografia de coluna em sílica gel e caracterizados estruturalmente pelas técnicas de RMN ^1H e ^{13}C , IV e massa de alta resolução (para os análogos **MA1** e **MA7**).

A amida **MA9** apresentou melhor atividade citotóxica comparado ao controle positivo (doxorrubicina) na linhagem de célula tumoral HL60.

Os análogos **MA3**, **MA4**, **MA6**, **MA8**, **MA9** e **MA10**, não apresentaram atividade citotóxica para as células normais de fibroblasto de pulmão humano (MRC5) nem contra as linhagens de células tumorais HCT, HEP62, sugerindo uma certa seletividade na atividade citotóxica dessas amidas à linhagem celular tumoral HL60.

Tendo em vista a atividade citotóxica e a suposta seletividade dos compostos **MA3**, **MA4**, **MA6**, **MA8**, **MA9** e **MA10**, outros estudos poderão ser realizados com esses compostos para pesquisa de novos fármacos antitumorais para a leucemia promielocítica.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados.

A etapa química foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB); e a etapa biológica para testar a atividade antitumoral foi feita no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia - LETI, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Todos os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich. Para preparação das amidas, utilizou-se dez aminas que foram submetidas a uma reação com o ácido ferúlico. As aminas utilizadas para a preparação das amidas estão dispostas na **figura 21** abaixo:

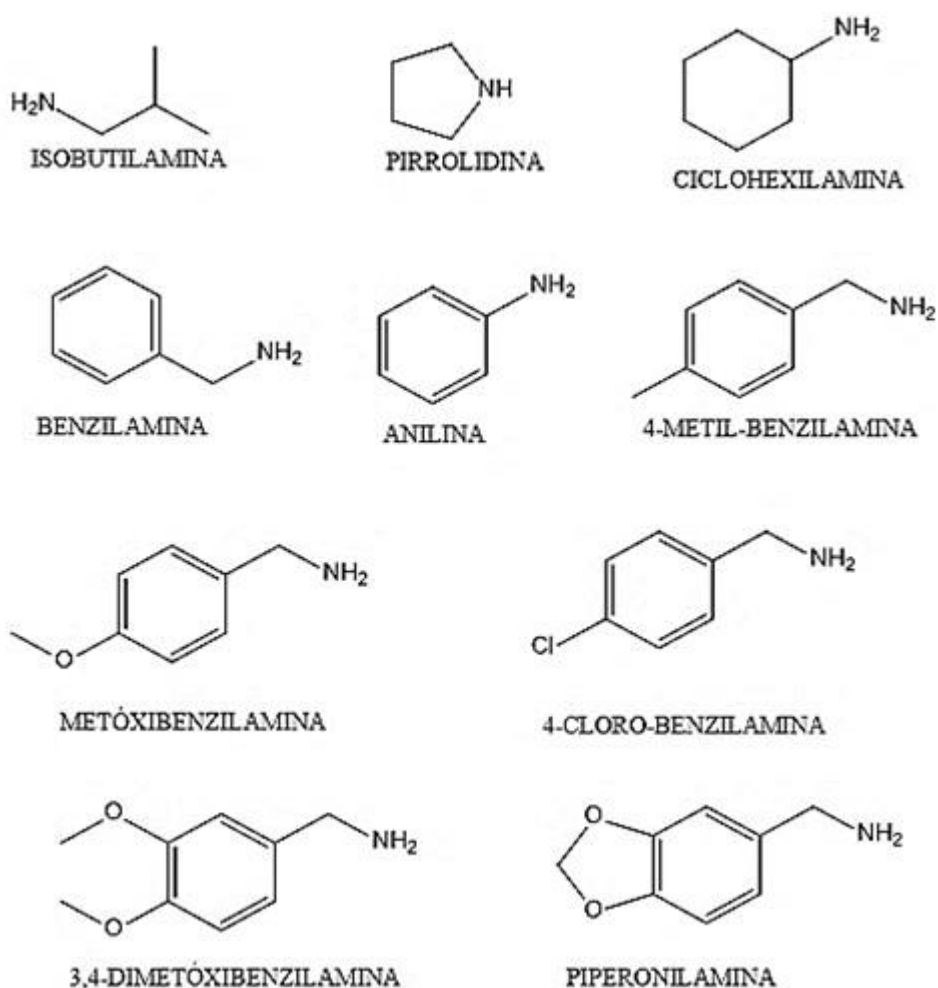


Figura 21. Aminas utilizadas como reagentes na preparação das amidas derivadas do ácido ferúlico.

7.2. Métodos Cromatográficos

A purificação dos compostos foi realizada por cromatografia de adsorção em coluna (CC) utilizando como fase estacionária, sílica gel 60, ART 7734 da MERCK, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm, tendo como suporte colunas de vidro

cilíndricas cujas dimensões variam de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Na fase móvel utilizou-se os solventes Hexano e Acetato de Etila (AcOEt:Hex), em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade. O acompanhamento reacional foi realizado através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), em cromato folhas com sílica gel 60 F254 suportada em placa de alumínio MERCK (com revelador para UV e espessura de 0,2 mm). A visualização ocorreu através do revelador químico: ácido sulfúrico a 5% em álcool etílico, bem como pela exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58.

7.3. Ponto de Fusão

O ponto de fusão (PF) de cada amostra foi determinado pelo aparelho da marca TECNAL, modelo PFM-II, a 220 V. A faixa de temperatura variou entre 0 e 350° C.

7.4. Métodos Espectroscópicos

7.4.1 Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho foi realizada com o aparelho de Irprestige-21 Shimadzu Fourier Transform – Infrared Spectrophotometer, do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IperFarm) da Universidade Federal da Paraíba. De cada amostra, foi retirado de 1,00 a 3,00 mg e misturado com brometo de potássio (KBr) para formar as pastilhas com auxílio de uma prensa hidráulica.

7.4.2. Ressonância Magnética Nuclear

Os compostos foram identificados por espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN de ^{13}C) unidimensional. Obteve-se os mesmos por meio de espectrômetro MERCURY-VARIAN operando a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C) e VARIAN-RMN-SYSTEM ambos do NUCAL-Núcleo de Caracterização e Análise/UFPB, operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C). Para as análises das amostras preparou-as dissolvendo uma pequena quantidade da mesma em DMSO deuterado da **MERCK**. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm). Como referência para RMN de ^1H , pegou-se os picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas do solvente DMSO ($\delta\text{H} = 2,50$ ppm, quinteto). Para os espectros de RMN de ^{13}C , estes mesmos parâmetros foram utilizados, através dos picos do DMSO ($\delta\text{C} = 39,5$

ppm). As multiplicidades das bandas de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (singlete), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *q* (quarteto), *quint* (quinteto), *sext* (sexteto), *sept* (septeto), *m* (multiplete).

7.4.3. Espectrometria de Massa de Alta Resolução

Os espectros de alta resolução foram desenvolvidos pelo Espectrômetro de Massas de Alta Resolução localizado no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). Matrizes e produtos químicos de calibração foram adquiridos da Sigma-Aldrich. As medições foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas Ultraflex II TOF / TOF equipado com um laser de alta performance de estado sólido ($\lambda = 355 \text{ nm}$) e um reflector. O sistema é operado pelo pacote de software FlexControl 2,4 (Bruker Daltonics GmbsH, Bremen, Alemanha).

As amostras foram irradiadas com um laser de potência de 20% e medida em forma linear e refletida, em forma de íons positivos e negativos. As amostras foram carregadas numa placa formada de aço para amostra (base de aço MTP 384; Bruker Daltonics GmbsH). Os espectros de massas foram à soma de 100 a 300 disparos de laser individuais, dependendo das condições da amostra.

7.5 Preparo das amostras

As substâncias foram diluídas em DMSO puro na concentração de 5mg/mL (para substâncias puras). As substâncias foram testadas em concentrações que variaram de 0,19-25µg/mL para substâncias puras.

7.6 Células

Foram utilizadas as células HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HCT116 (carcinoma de cólon humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana) e MRC5 (fibroblasto de pulmão humano) obtidas da ATCC. As células foram cultivadas em garrafas para cultura de células (75 cm³, volume de 250 mL), os meios utilizados foram RPMI 1640 e suplementados com 10% de soro bovino fetal. As células foram mantidas em incubadoras com atmosfera de 5 % de CO₂ a 37 °C. Diariamente acompanhava-se o crescimento celular com a utilização de microscópio de inversão. O meio foi trocado sempre que o crescimento celular atingia confluência necessária para renovação de nutrientes. Para a manutenção de células aderidas utilizou-se tripsina (0,25%) para que as células se despregassem das paredes das garrafas. As culturas de células apresentavam

negativas para microplasma, conforme avaliado pela colocação com Hoechst (Mycoplasma Stain Kit, Cat. MYC1, Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, USA).

7.7 Ensaio de citotoxicidade

Para avaliar a citotoxicidade das substâncias, o ensaio do alamar blue foi realizado após 72 horas de exposição com as substâncias teste. O alamar blue, identificado como resazurina (O'BRIEN *et al.*, 2000), é um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox. Como com os sais de tetrazólio, o alamar blue reduz-se em células em proliferação. A forma oxidada é azul (não fluorescente/célula não viável) e a forma reduzida é rósea (fluorescente/célula viável). A redução do alamar blue reflete a proliferação celular. Este foi inicialmente utilizado para indicar crescimento e/ou viabilidade celular no monitoramento de proliferação de linfócitos (AHMED *et al.*, 1994) e atualmente apresenta várias aplicações. Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades (100 µL/poço de uma solução de $0,3 \times 10^6$ células/mL para células em suspensão e $0,7 \times 10^5$ células/mL para células aderidas). Após 24 horas de incubação, as substâncias testes dissolvidas em DMSO foram adicionadas em cada poço e incubadas por 72 horas. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO. Quatro horas (vinte e quatro horas para o PBMC) antes do final do período de incubação, 20 µL da solução estoque (0,312 mg/mL) de alamar blue (resazurina) foram adicionados a cada poço. As absorbâncias foram mensuradas nos comprimentos de onda de 570 nm (reduzido) e 595 nm (oxidado) utilizando uma leitora de placa (AHMED *et al.*, 1994)

8. PREPARAÇÃO DAS AMIDAS DERIVADAS DO ÁCIDO FERÚLICO

8.1. Obtenção da primeira coleção de amidas

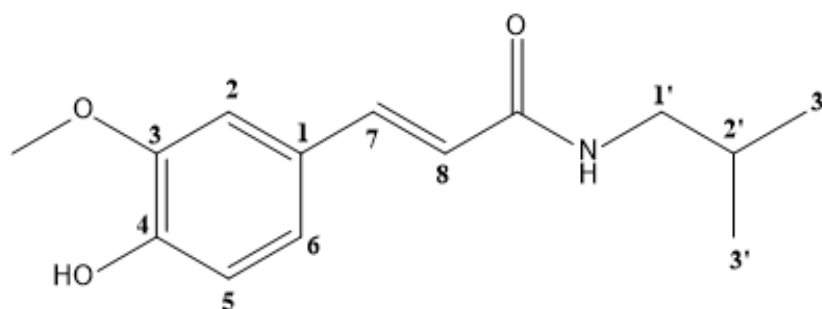
Em um balão de 50 mL equipado com agitador magnético, contendo uma solução de 0,1 g (0,51 mmol) de ácido *trans*-ferúlico em 1,02 mL (0,51 mmol) de DMF, foi adicionado 0,51 mmol da respectiva amina do composto a ser preparado, 0,068 mL (0,51 mmol) de Et₃N e outra contendo 0,225 g de BOP em 1,02 mL de diclorometano. Depois de agitada em banho de gelo por 30 minutos, a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente até o material de partida ter sido completamente consumido. Em seguida, o diclorometano foi retirado em evaporador rotativo. O conteúdo remanescente do balão foi dissolvido em 10 mL de acetato de etila, vertido em funil de separação com 10 mL de água destilada e extraído com acetato de etila (três vezes com 10 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com água destilada; depois de tratadas com 10 mL NaHCO₃ 1 M e 10 mL de HCl a 1 N, foram lavadas pela última vez com água destilada, secadas com Na₂SO₄, e o solvente evaporado. Os produtos formados foram isolados e purificados em cromatografia de coluna, em sílica gel 60. Como fase móvel, utilizou-se o sistema Hexano:Acetato de etila na proporção exposta na coluna da tabela 26 (RAJAN *et al.*, 2001).

Tabela 12 – Dados das reações dos compostos MA01- MA05

Comp.	Aminas utilizadas	Form. Mol.	Quantidade preparada (g) e rendimento (%)	M.M.	Pf (°C)	Δt	FM
MA1	Isobutilamina	C ₁₄ H ₁₉ NO ₃	0,085 (67 %)	249,31	70-76	4 h	6:4
MA2	Pirrolidina	C ₁₅ H ₁₉ NO ₃	0,110 (83 %)	261,14	197-205	5 h	6:4
MA3	Ciclohexilamina	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	0,087 (62 %)	275,34	160-165	7 h	6:4
MA4	Fenilamina	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	0,132 (91 %)	283,32	143-147	7 h	6:4
MA5	Benzilamina	C ₁₆ H ₁₅ NO ₃	0,097 (70 %)	269,30	127-130	5 h	5:5

Legenda: Composto (Comp.); fórmula molecular (Form. Mol.); massa molar em g/mol (M.M.); ponto de fusão (Pf); fase móvel (Hex:AcOEt) (FM)

8.1.1. MA1 – Isobutilamina ferúlica



(E)-N-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-isobutilacrilamida

Aspecto: Sólido amorfo de cor amarelada;

Rendimento: 67,23% (85,18 mg);

Ponto de Fusão: 75 – 81°C;

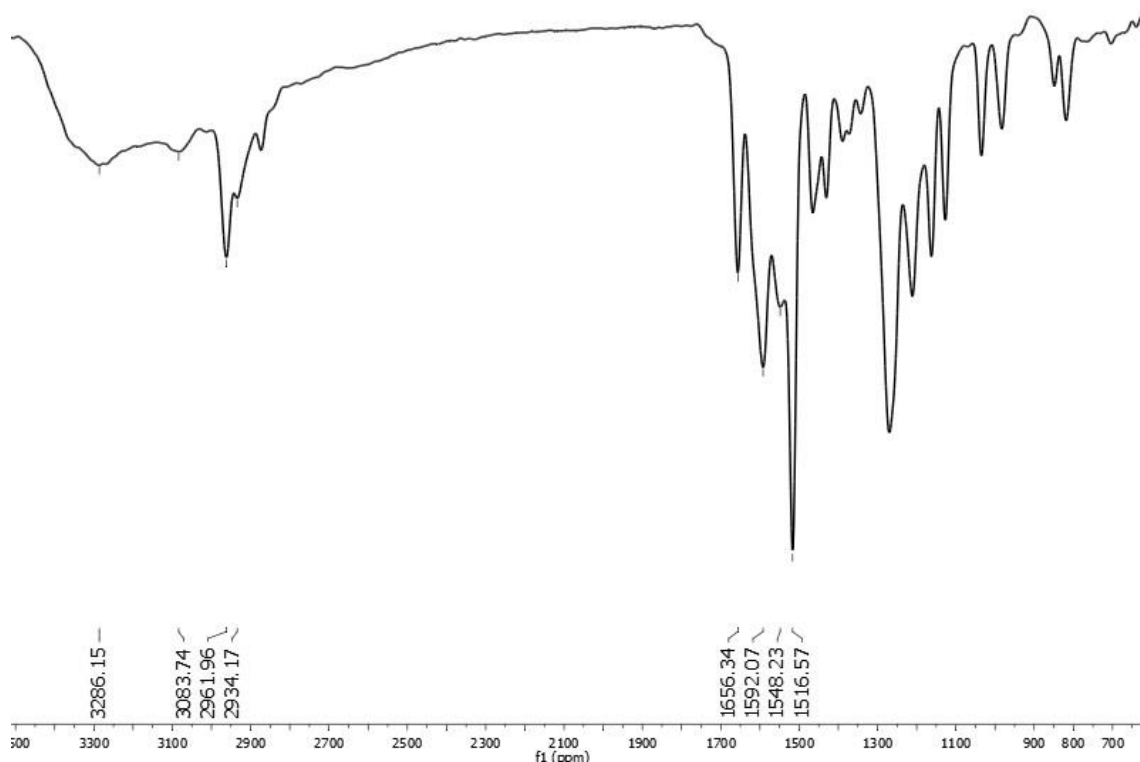
Tempo de reação: 4 horas

IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3286 (O-H), 3083 (C-H sp^2), 2961-2934 (C-H sp^3), 1656 (C=O), 1592, 1548 e 1516 (C=C aromático).

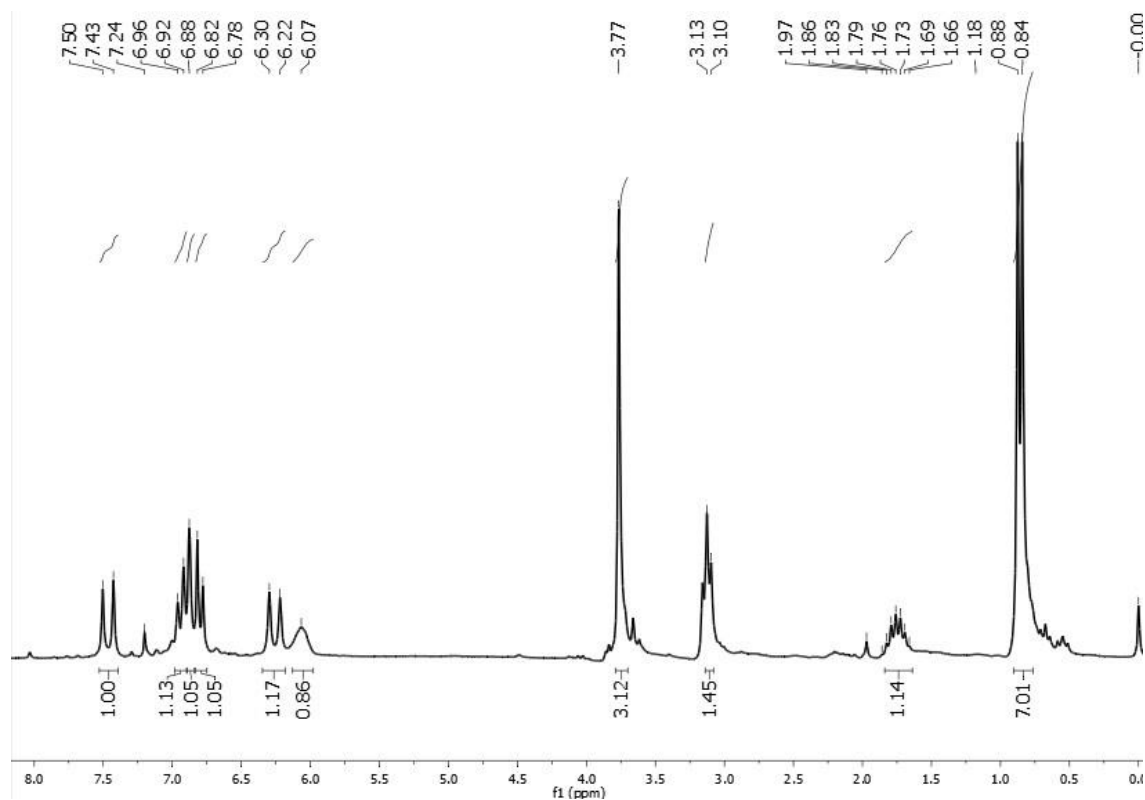
RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,47 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 6,96 (s, H-2); 6,90 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, H-5); 6,80 (d, $J=8,1$ Hz, 1H, H-6); 6,26 (d, $J=16,0$, 1H, H-8); 6,07 (s, NH); 3,77 (s, OCH_3); 3,11 (d, $J=6,0$ Hz, 2H, H-1'); 1,76 (sept, $J= 6,5$ Hz, 1H, H-2'); 0,86 (d, $J=6,0$ Hz, 6H, H-3') (SHIN et al., 2004).

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 166,61 (C=O); 147,48 (C-3); 146,85 (C- 4); 141,08 (C-7); 127,23 (C-1); 121,95 (C-6); 118,06 (C-8); 114,83 (C-5); 109,72 (C-2); 55,74 (OCH_3); 47,13 (C-1'); 28,64 (C-2'); 20,11(C-3') (SHIN et al., 2004).

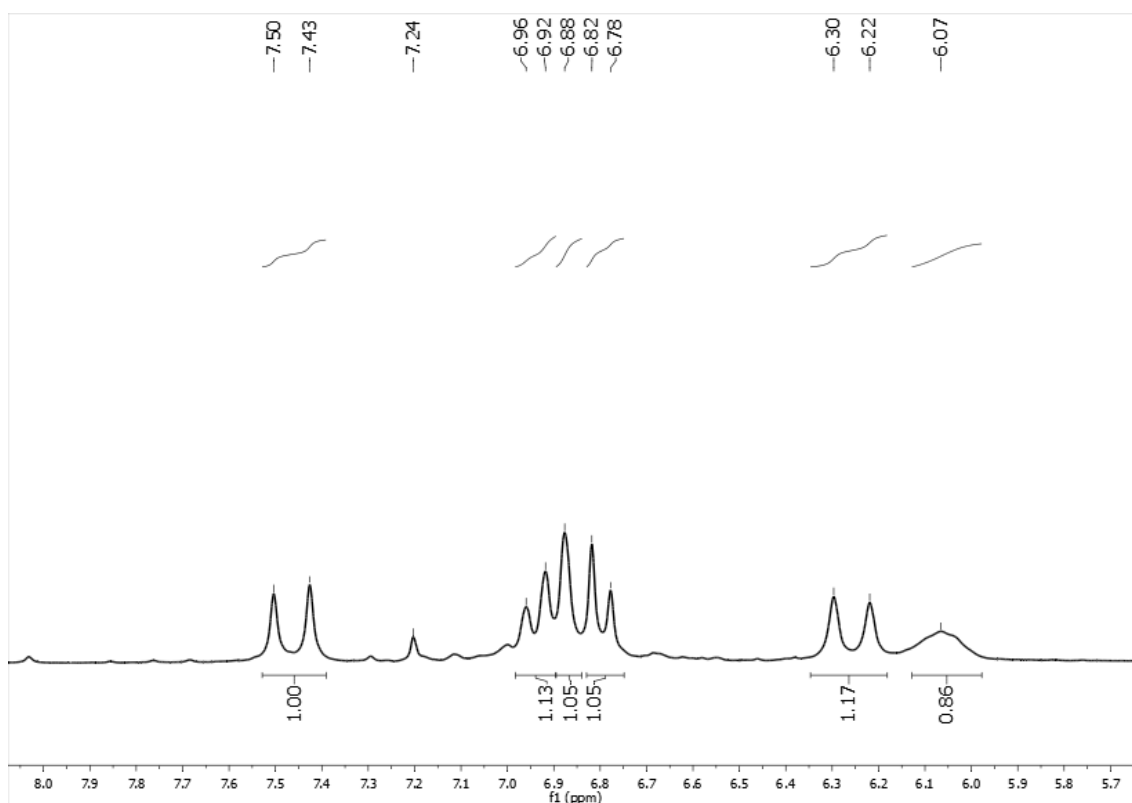
EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 250,310; encontrada 250,232.



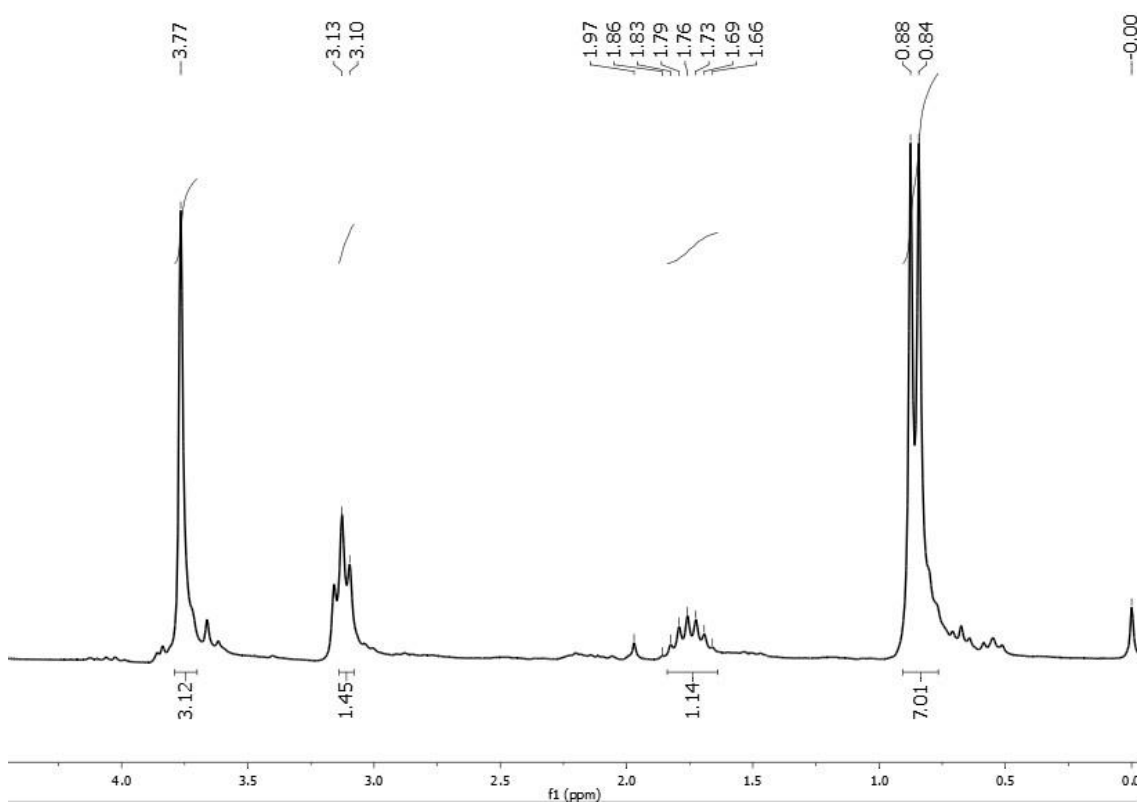
Espectro 1. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**).



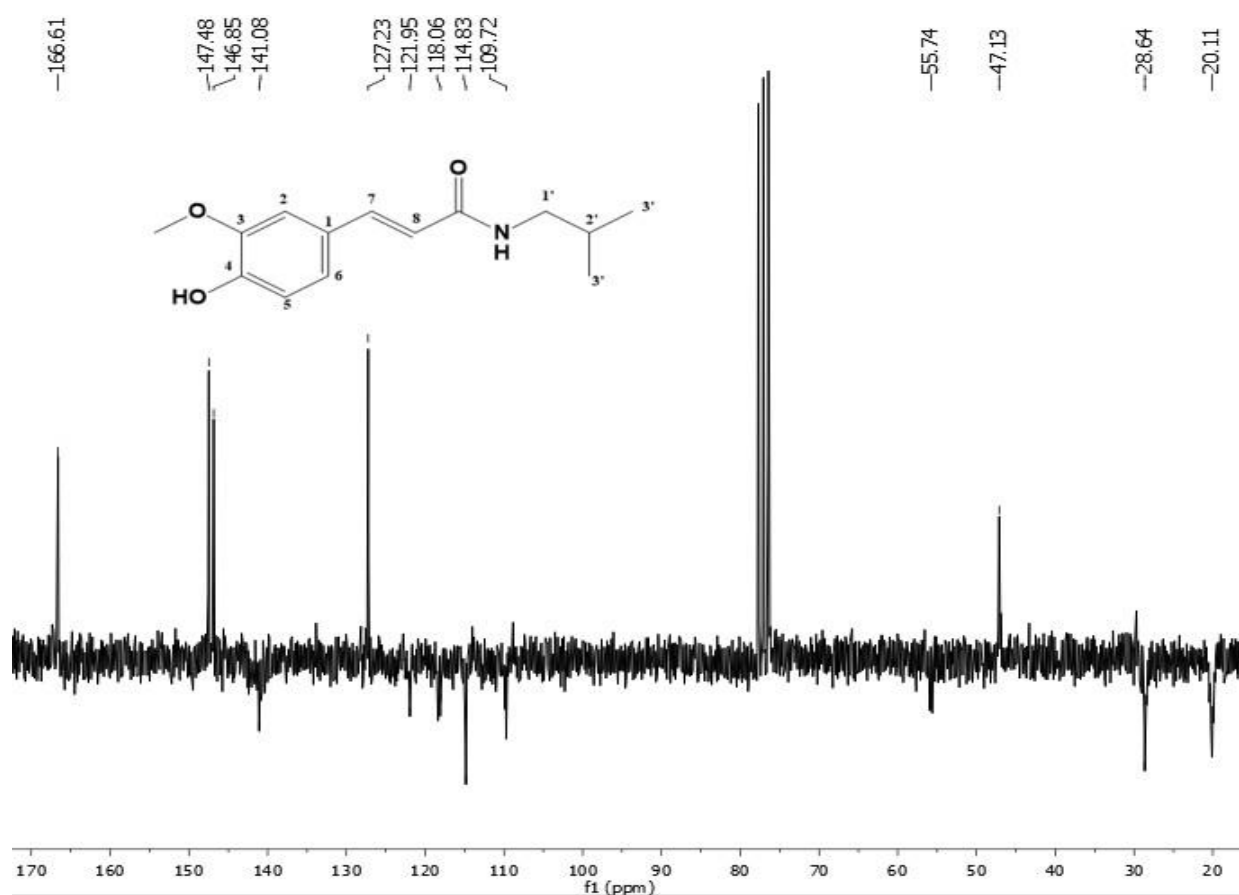
Espectro 2. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**), (CDCl_3 , 200 MHz).



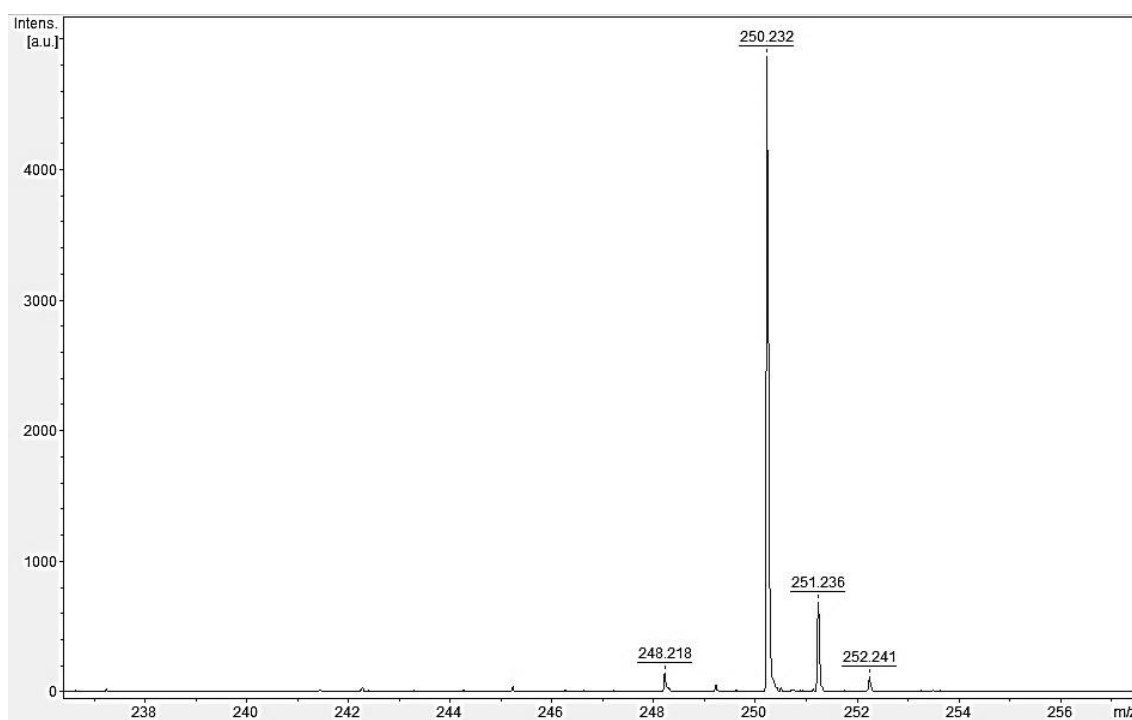
Espectro 1. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**), (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 4. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**), (CDCl_3 , 200 MHz).

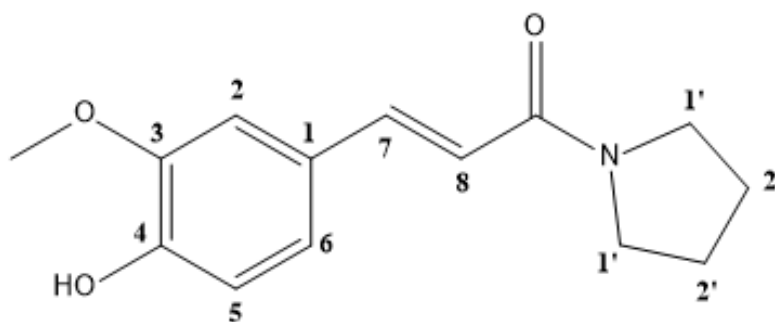


Espectro 5. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**), (CDCl₃, 50 MHz).



Espectro 6. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (*E*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-isobutilacrilamida (**MA1**).

8.1.2. MA2 – Pirrolidinamida ferúlica

**(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il)prop-2-en-1-ona**

Aspécto: Sólido amorfo marelado;

Rendimento: 83,00% (110,46 mg);

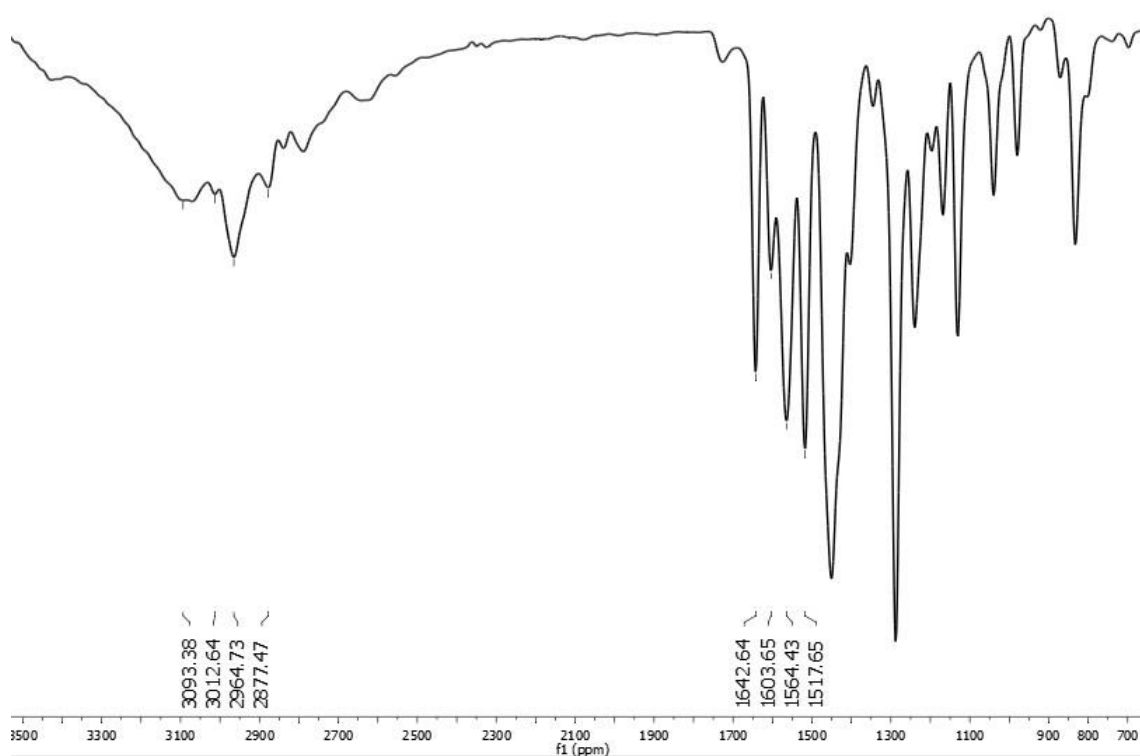
Ponto de Fusão: 197-205 °C;

Tempo de reação: 5 horas

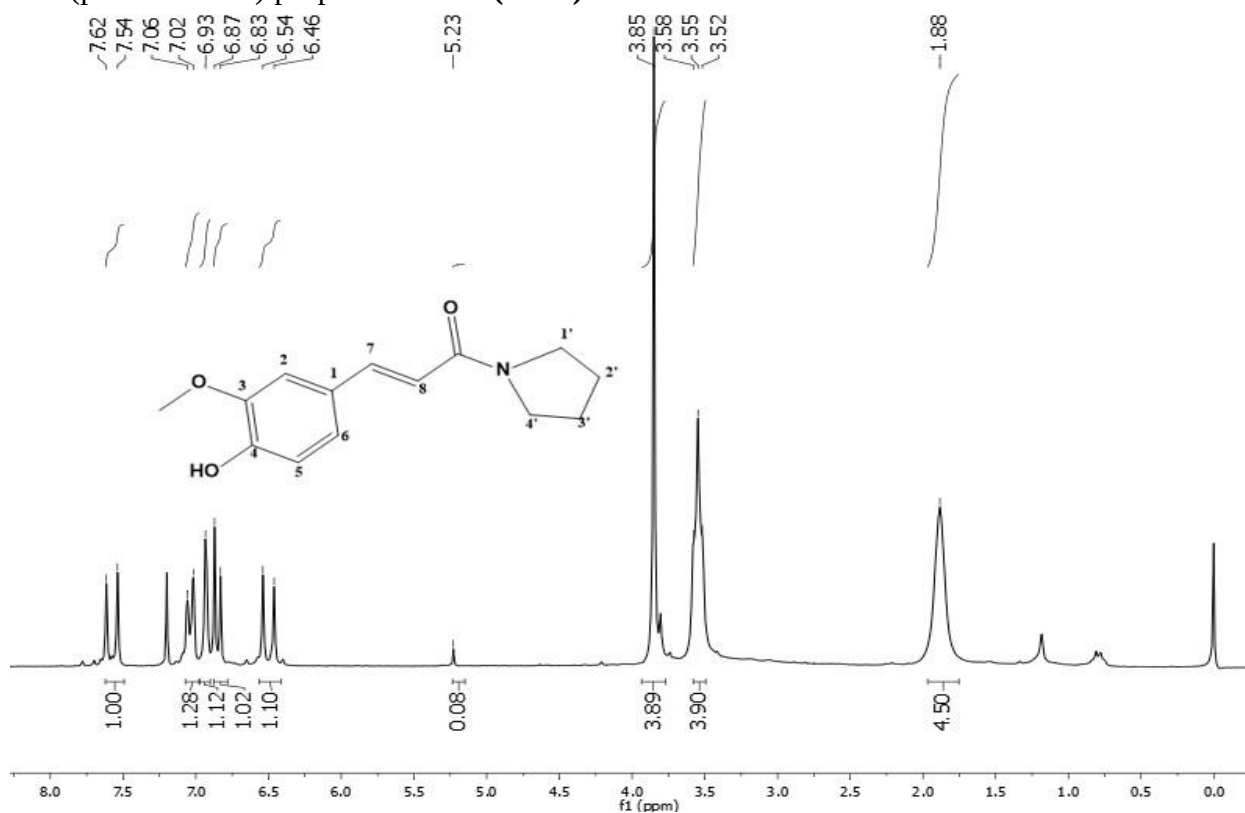
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3108 (O-H), 3012 (C-H sp^2), 2979-2892 (C-H sp^3), 1657 (C=O), 1618, 1579 e 1532 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,58 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,04 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-8); 6,93 (*s*, 1H, H-2); 6,85 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,50 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-6); 5,23 (*s*, 1H, NH); 3,85 (*s*, 1H, OCH_3); 3,55 (*t*, $J = 6,0$ Hz, 4H, H-1'); 1,88 (*sl*, 4H, H-2');

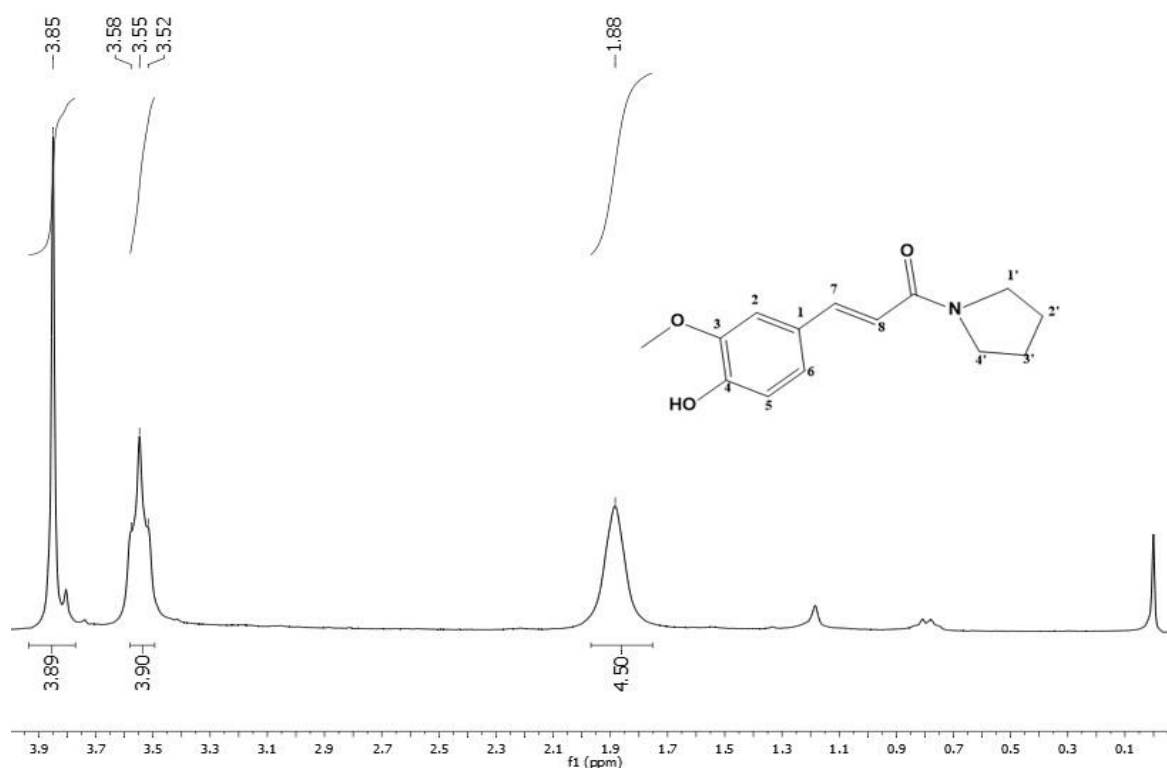
RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 165,28 (C=O); 147,59 (C-3); 146,88 (C-4); 127,82 (C-7); 121,93 (C-1); 116,12 (C-6); 114,91 (C-8); 110,35 (C-5); 110,20 (C-2); 56,16 (OCH_3); 46,49 (C-1'); 39,88 (C-2'), (JAYAPRAKASAM et al., 2006).



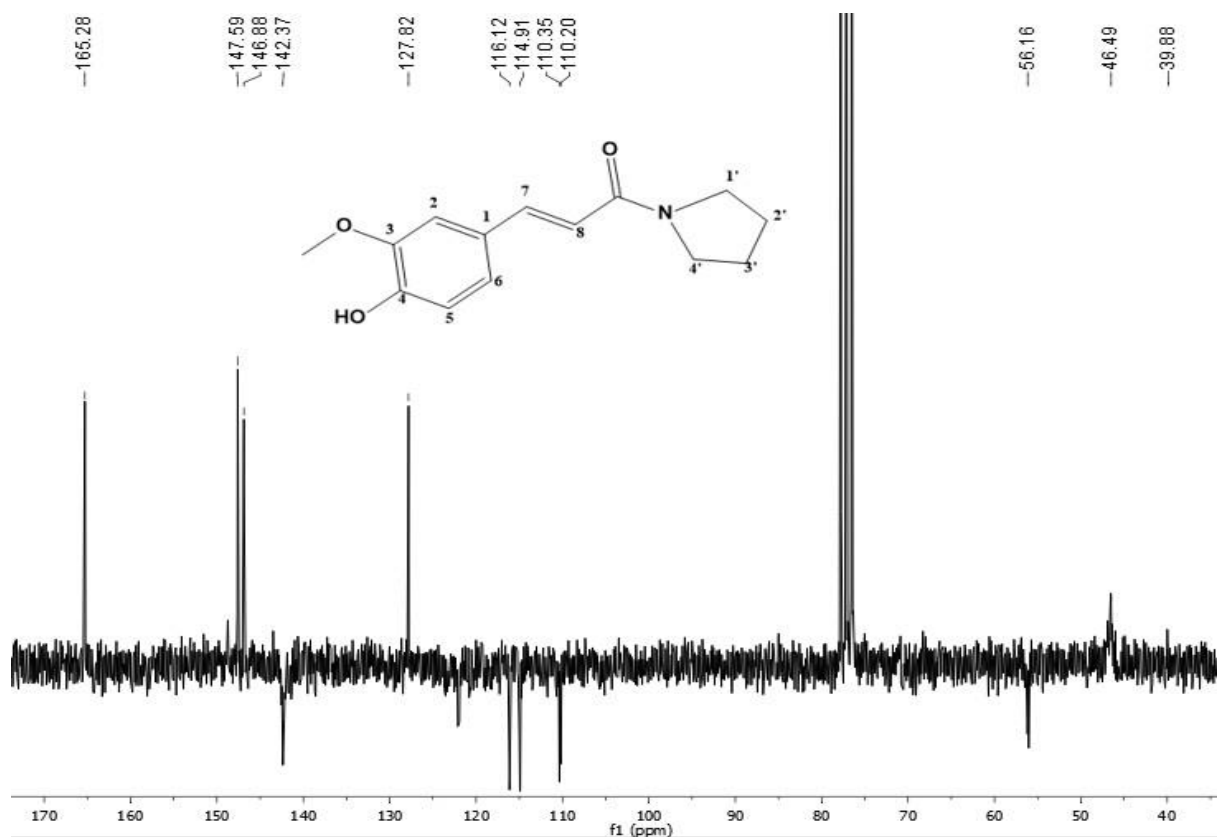
Espectro 7. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il) prop-2-en-1-ona (**MA2**).



Espectro 8. Espectro de RMN ^1H (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il) prop-2-en-1-ona (**MA2**), (CDCl_3 , 200 MHz).

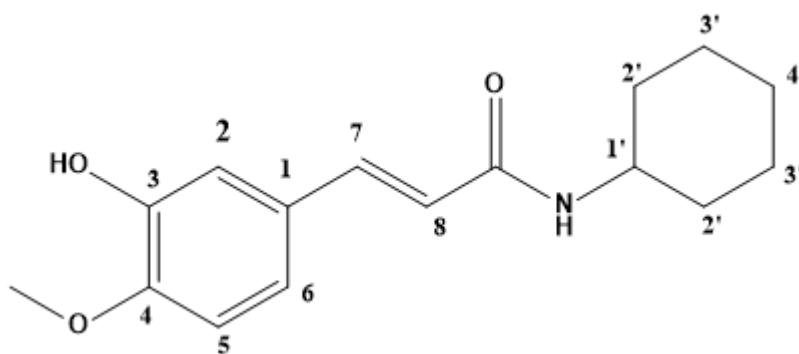


Espectro 9. Expansão do espectro de RMN ^1H (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il) prop-2-en-1-ona (**MA2**), (CDCl₃, 200 MHz).



Espectro10. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-3-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-1-(pirrolidin-1-il) prop-2-en-1-ona (**MA2**), (CDCl₃, 50 MHz).

8.1.3. MA3 – Ciclohexilamina ferúlica



(E)-N-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo de cor marrom;

Rendimento: 62,37% (87,55 mg);

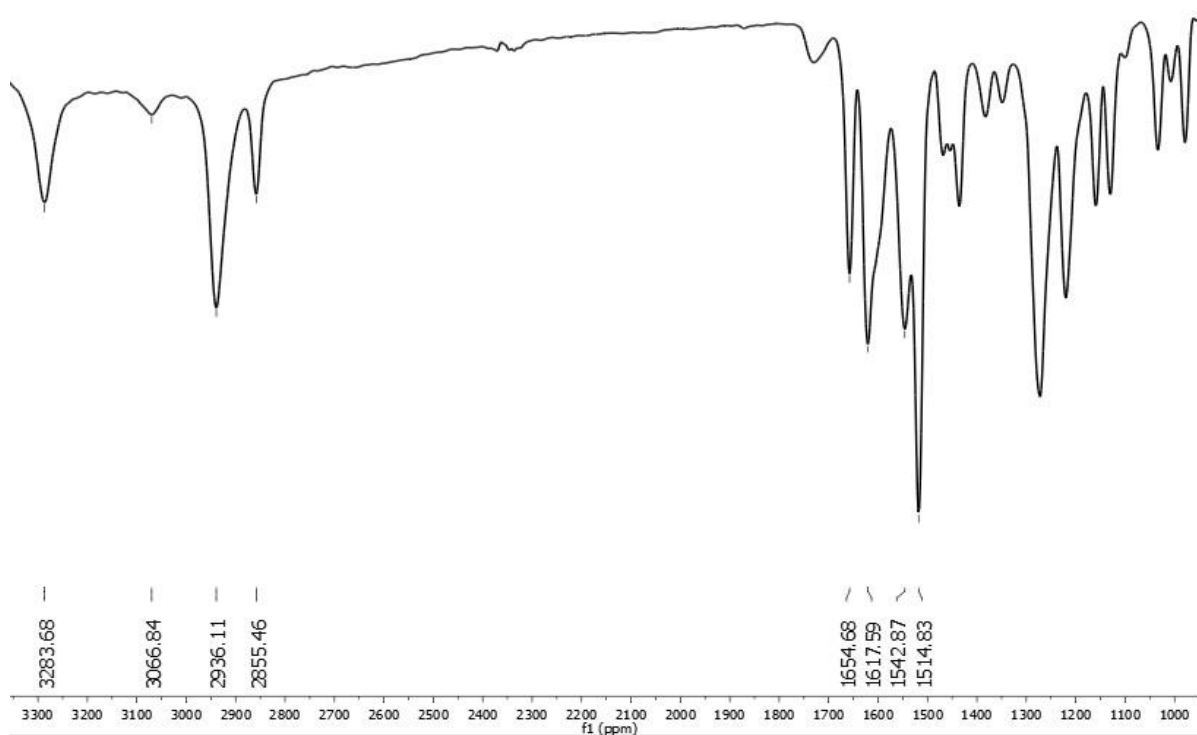
Ponto de Fusão: 165-170 °C;

Tempo de reação: 7 horas

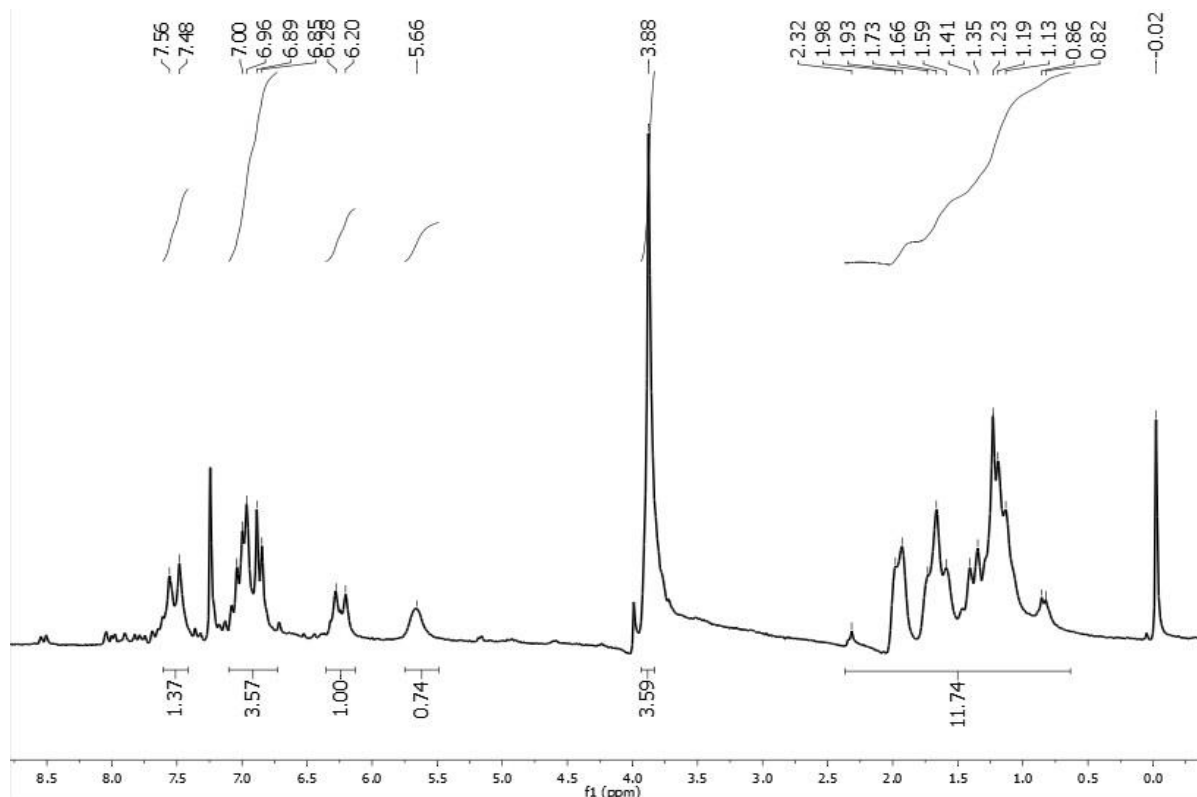
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3283 (O-H), 3066 (C-H sp^2), 2936-2855 (C-H sp^3), 1654 (C=O), 1617, 1542 e 1514 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,52 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,04 (s, 1H, H-2); 6,98 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H, H-5); 6,88 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,27 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H, H-8); 5,65 (s, NH); 3,88 (s, OCH_3); 1,56 (m, 11H, H-1', H-2', H-3', H-4');

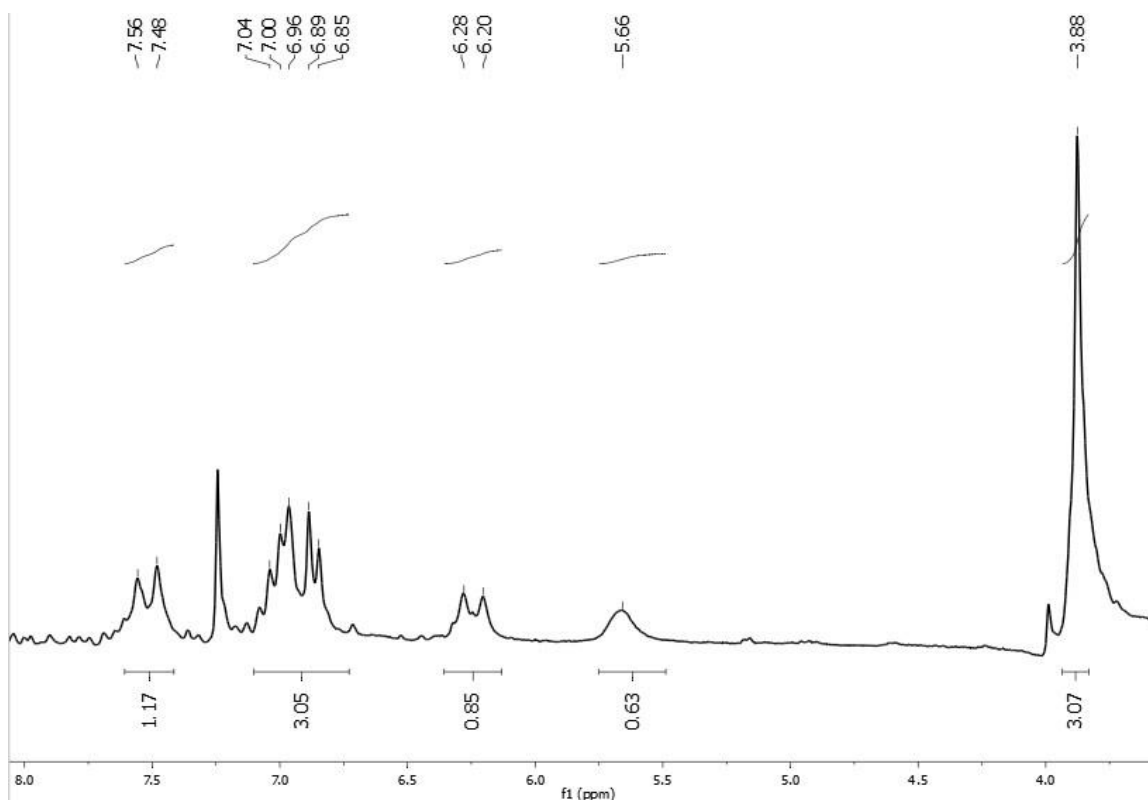
RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 165,46 (C=O); 147,45 (C-3); 146,82 (C-4); 141,13 (C-7); 127,49 (C-1); 122,27 (C-6); 118,48 (C-8); 114,82 (C-5); 109,75 (C-2); 56,08 (OCH_3); 48,67 (C-1'); 33,37 (C-2'); 25,66 (C-4'); 24,99 (C-3') (JAYAPRAKASAM et al., 2006).



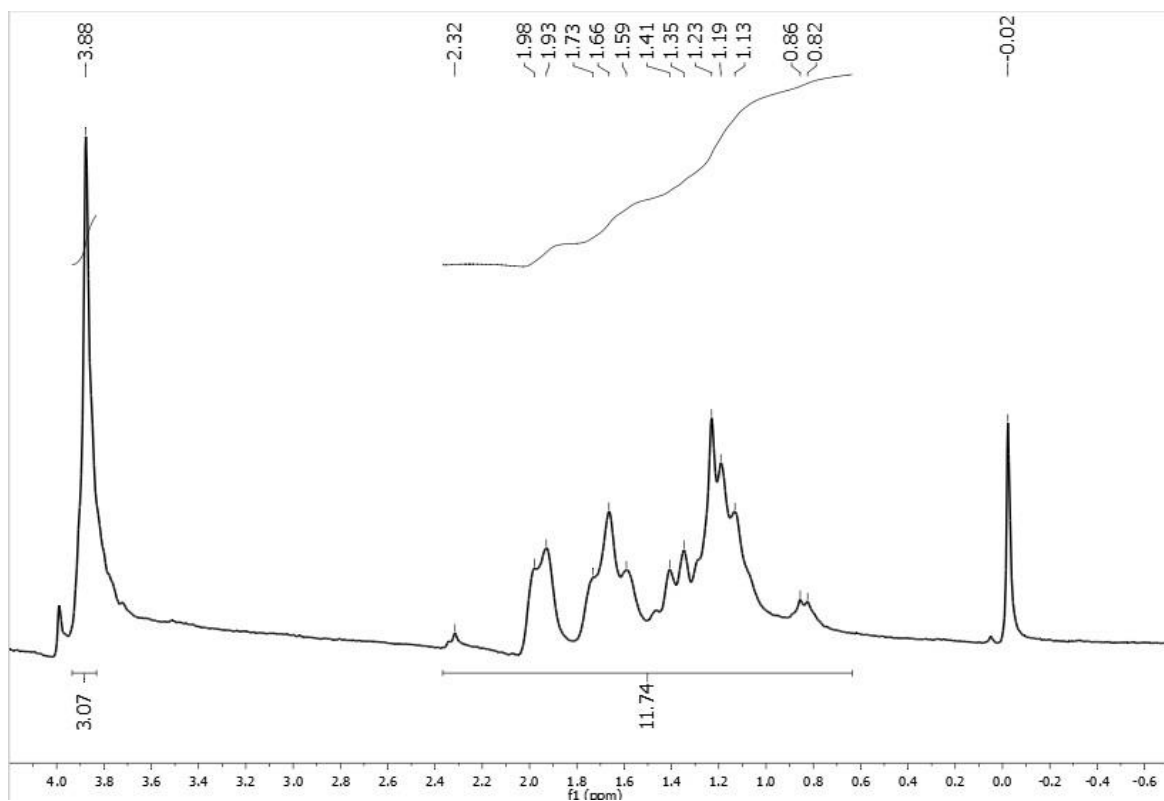
Espectro 11. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) (*E*)-*N*-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA3**).



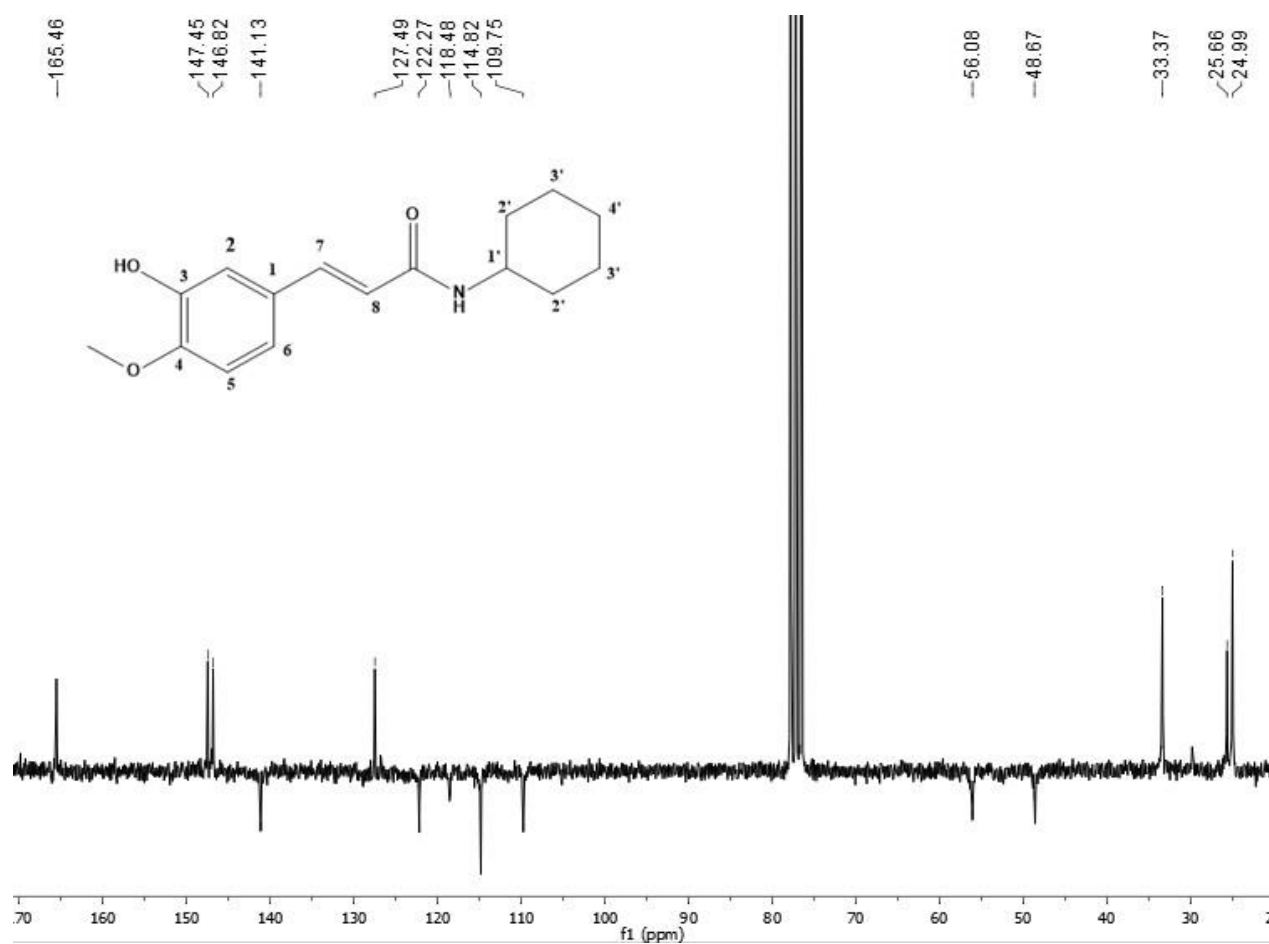
Espectro 22. Espectro de RMN ¹H de (*E*)-*N*-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA3**), (CDCl₃, 200 MHz).



Espectro 13. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA3**), (CDCl_3 , 200 MHz).

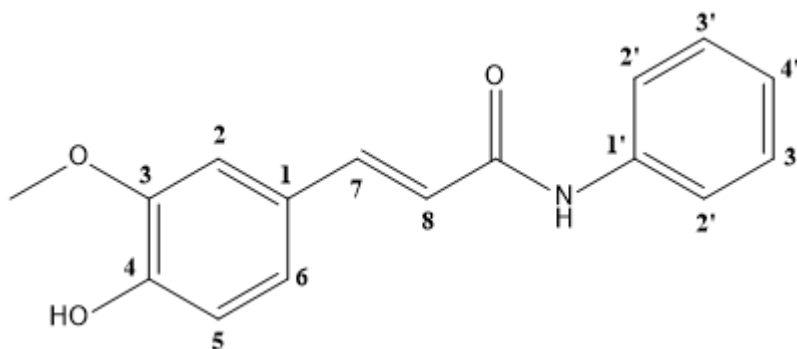


Espectro 14. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA3**), (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 15. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-*N*-ciclohexil-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA3**), (CDCl_3 , 50 MHz).

8.1.4. MA4 – Fenilamina ferúlica



(E)-N-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-fenilacrilamida

Aspecto: Sólido amorfo de cor amarelada;

Rendimento: 91,38% (132,02 mg)

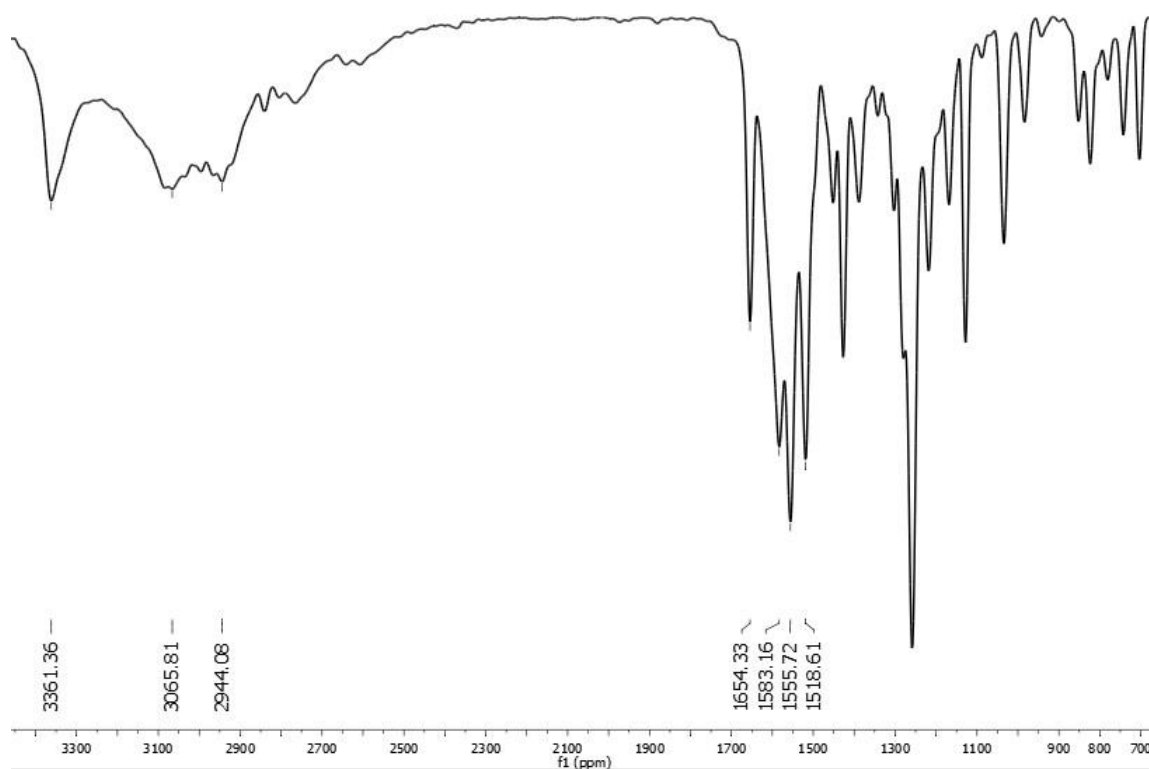
Ponto de Fusão: 143 – 147 °C;

Tempo de reação: 7 horas

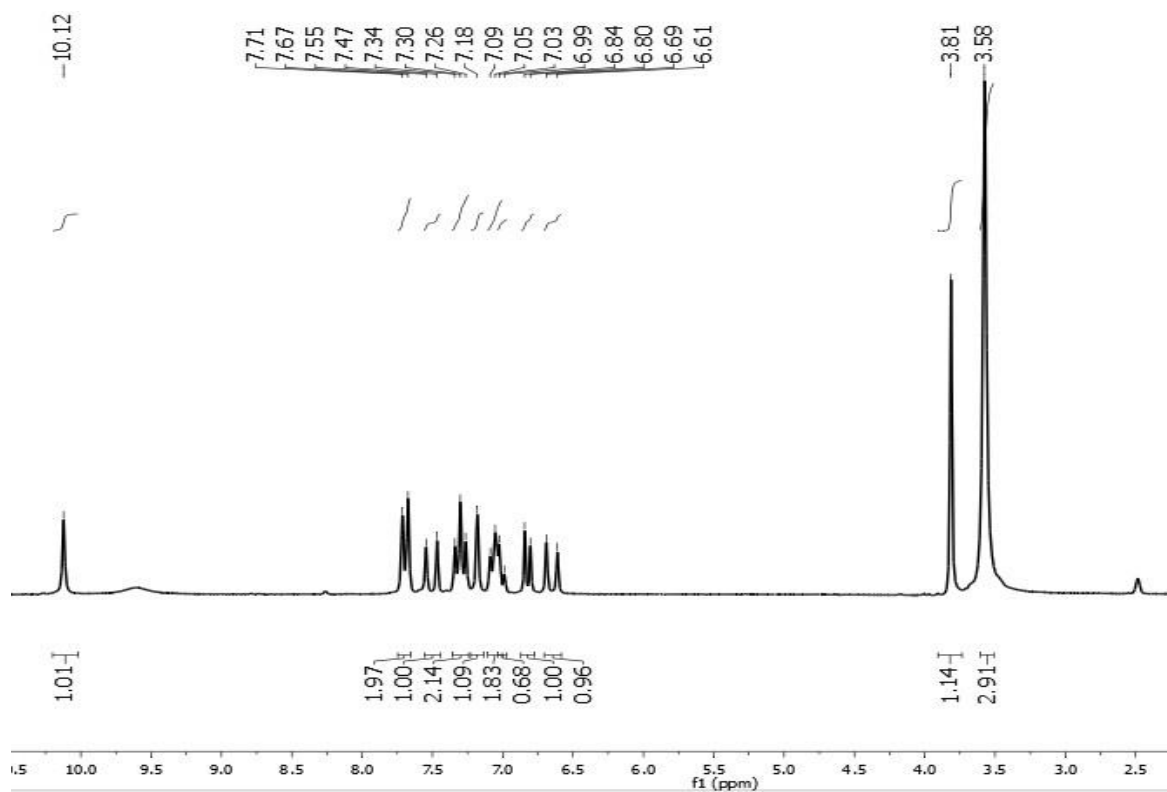
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3361 (O-H), 3065 (C-H sp^2), 2944 (C-H sp^3), 1654 (C=O), 1583, 1555 e 1518 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 10,12 (s, OH); 7,69 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-2'); 7,51 (d; $J=16,0$; 1H; H-3'); 7,30 (t, $J=8,0$ Hz, 2H, H-4'); 7,18 (s, 1H, H-2); 7,07 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, H-7); 7,02 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,82 (d, $J=8,0$, 1H, H-8); 6,65 (d, $J=16,0$ Hz, 1H, H-6); 3,81 (s, NH); 3,58 (s, OCH_3).

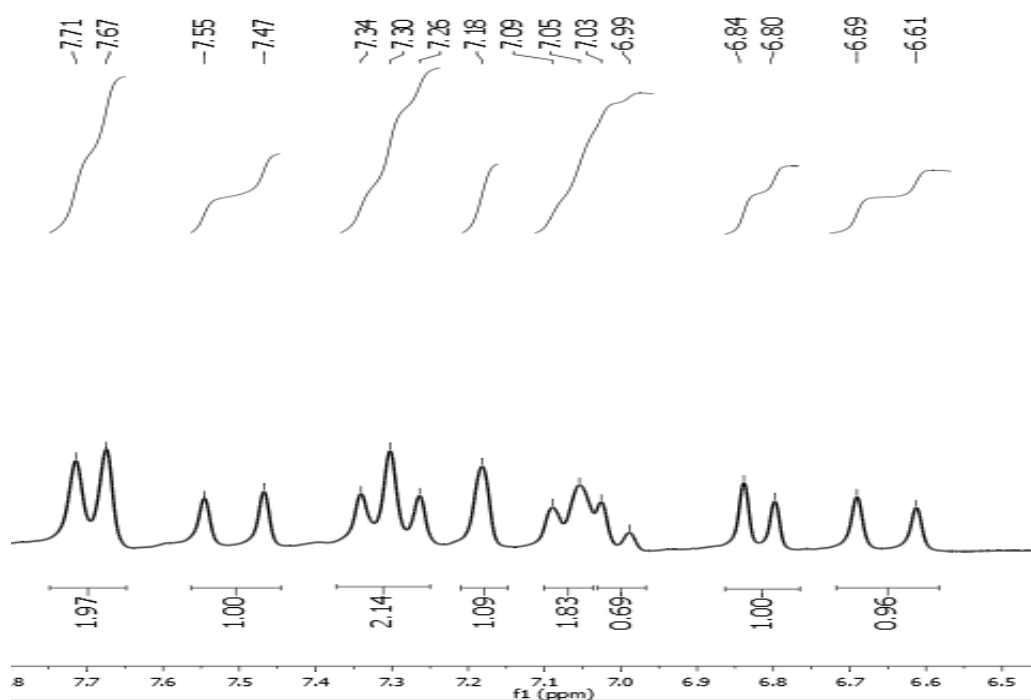
RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 164,30 (C=O); 148,82 (C-3); 148,06 (C- 4); 140,71 (C- 7); 139,62 (C- 1'); 128,94 (C- 3'); 126,38 (C- 1); 123,39 (C-4'); 122,23 (C- 6); 119,56 (C-8); 119,10 (C- 2'); 115,96 (C- 5); 110,99 (C- 2); 55,62 (OCH_3) (NOMURA *et al.*, 2003).



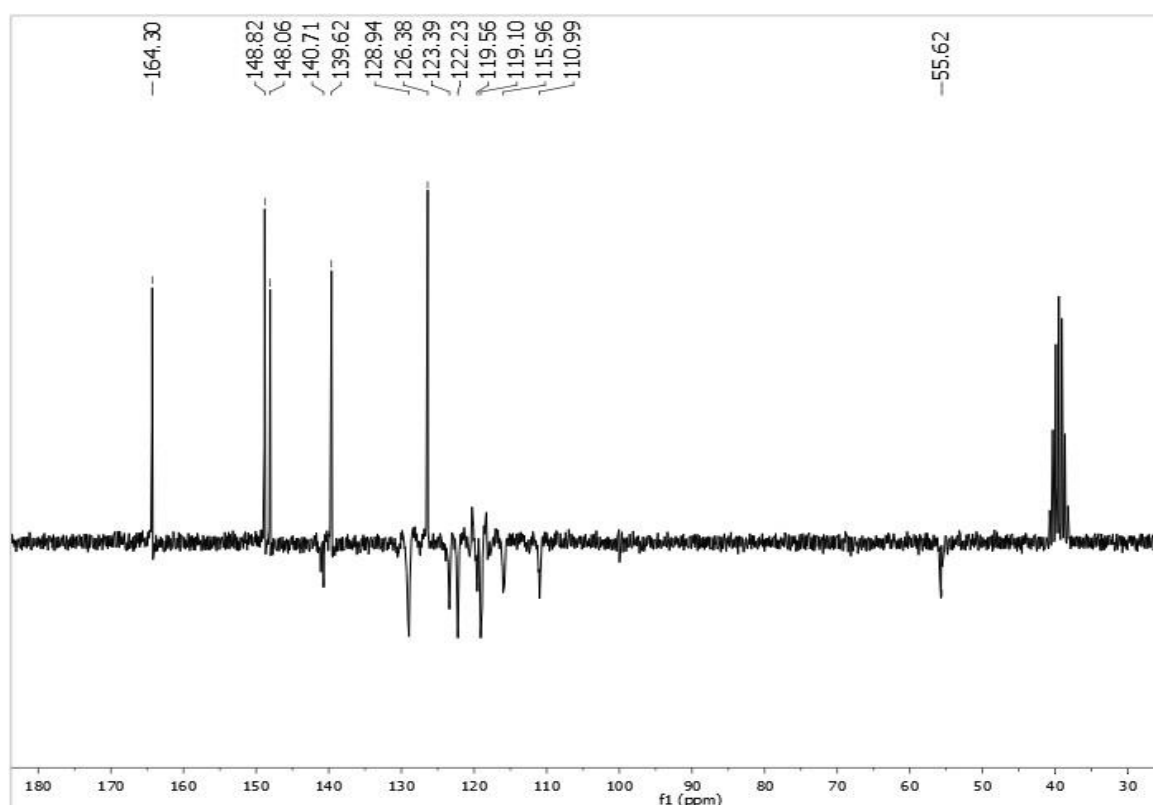
Espectro 16. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-fenilacrilamida (**MA4**).



Espectro 37. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-fenilacrilamida (**MA4**), (DMSO-d_6 , 200 MHz)

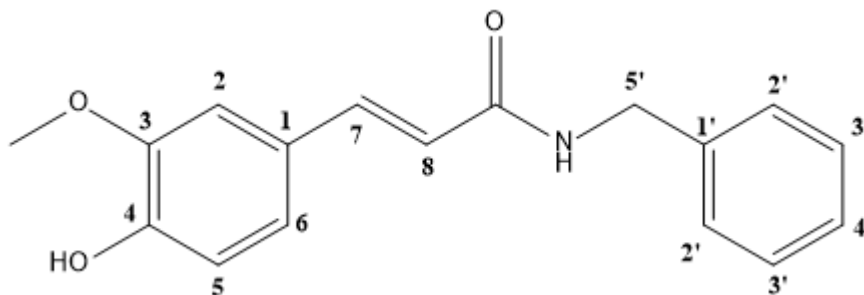


Espectro 18. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-fenilacrilamida (**MA4**), (DMSO- d_6 , 200 MHz)



Espectro 19. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-fenilacrilamida (**MA4**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

8.1.5. MA5 – Benzilamina ferúlica

**(E)-N-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida**

Aspecto: sólido amorfo de cor âmbar;

Rendimento: 70,63 % (97,0 mg);

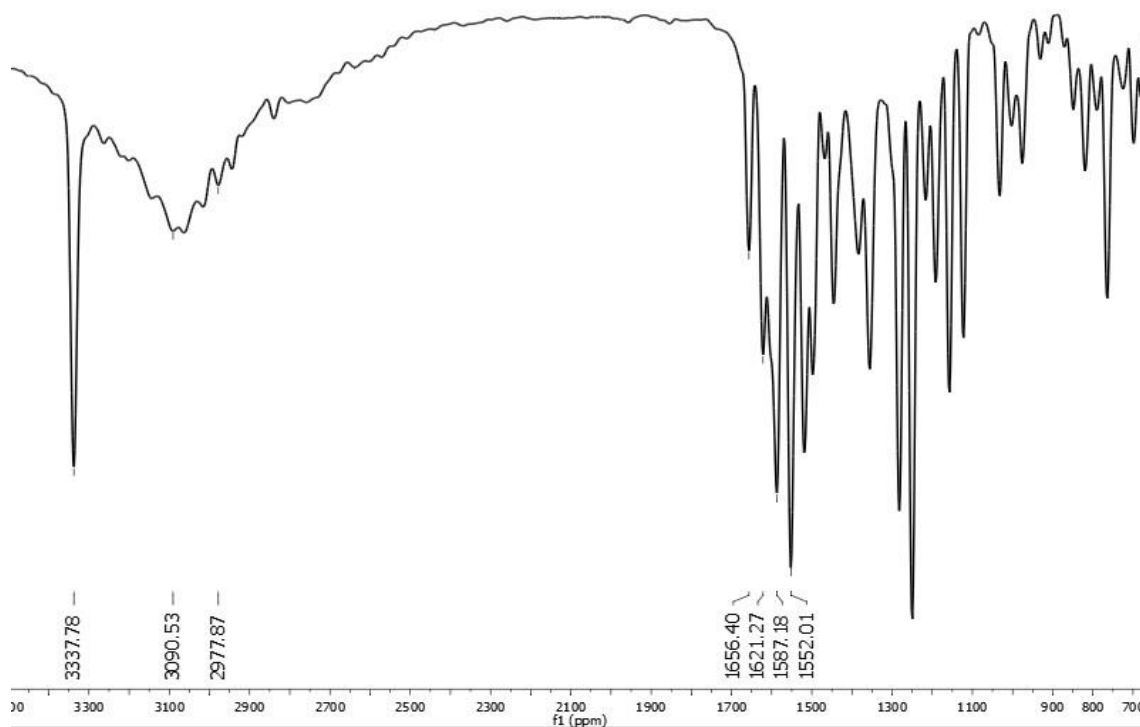
Ponto de Fusão: 143-147 °C;

Tempo de reação: 5 horas

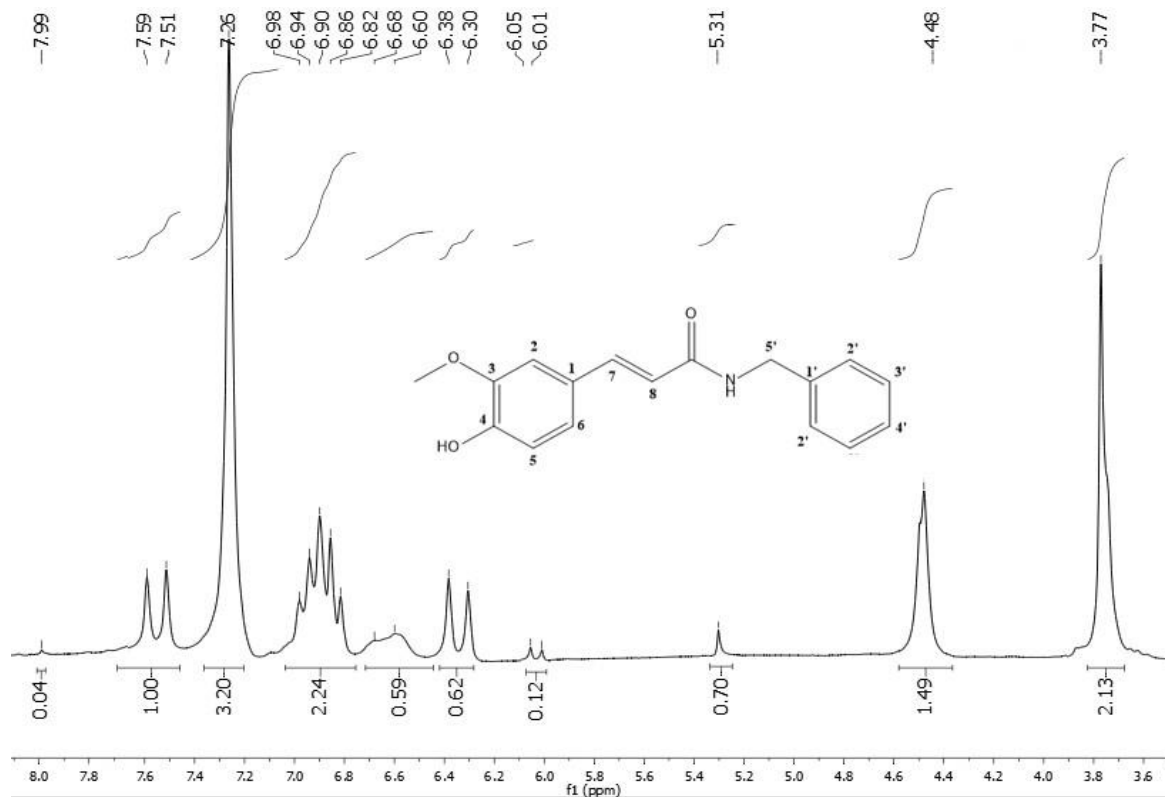
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3337 (O-H), 3090 (C-H sp^2), 2977 (C-H sp^3), 1656 (C=O), 1621, 1587 e 1552 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,55 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,26 (*sl*, 4H, H-2, H-2', H-4'); 6,88 (*t*, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-3'); 6,63 (*d*, $J = 6,0$ Hz, 1H, H-5); 6,33 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-6); 6,03 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-8); 5,21 (*s*, 1H, NH); 4,48 (*s*, 2H, H-5'); 3,77 (*s*, OCH_3).

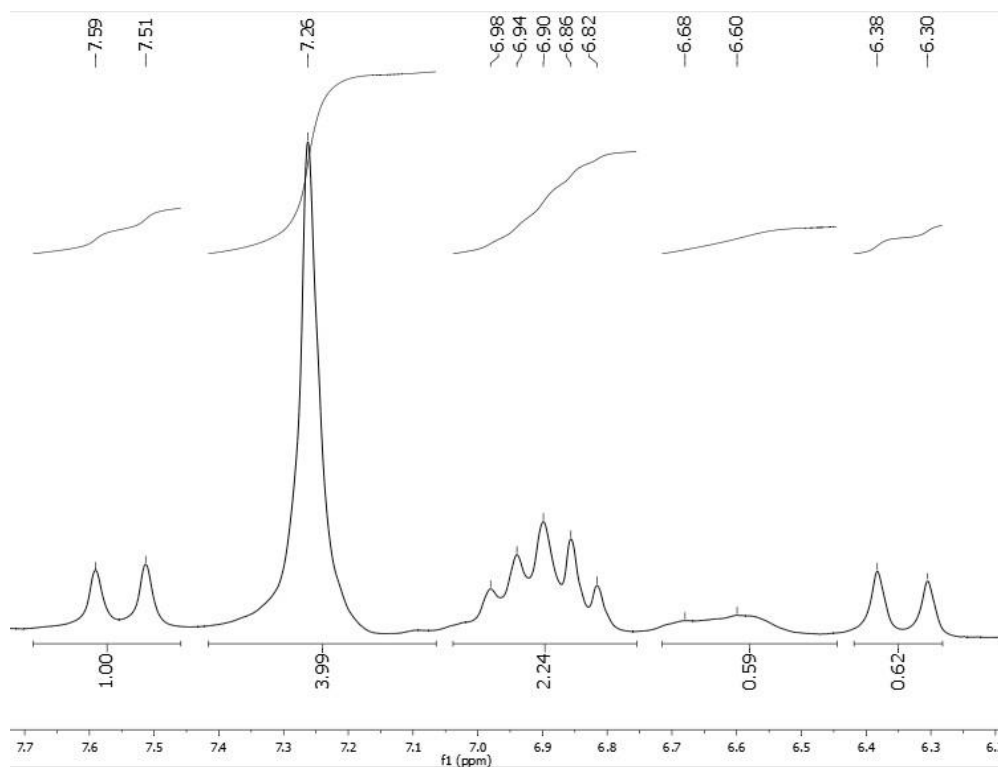
RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 164,3 (C=O); 146,9 (C-3); 146,2 (C-4); 140,8 (C-7); 137,5 (C-1'); 128,0 (C-2'); 126,9 (C-3'); 126,4 (C-1); 121,4 (C-4'); 117,2 (C-6); 114,2 (C-8); 109,4 (C-5); 104,3 (C-2); 55,04 (OCH_3); 43,09 (C-5') (KUMAR et al., 2016).



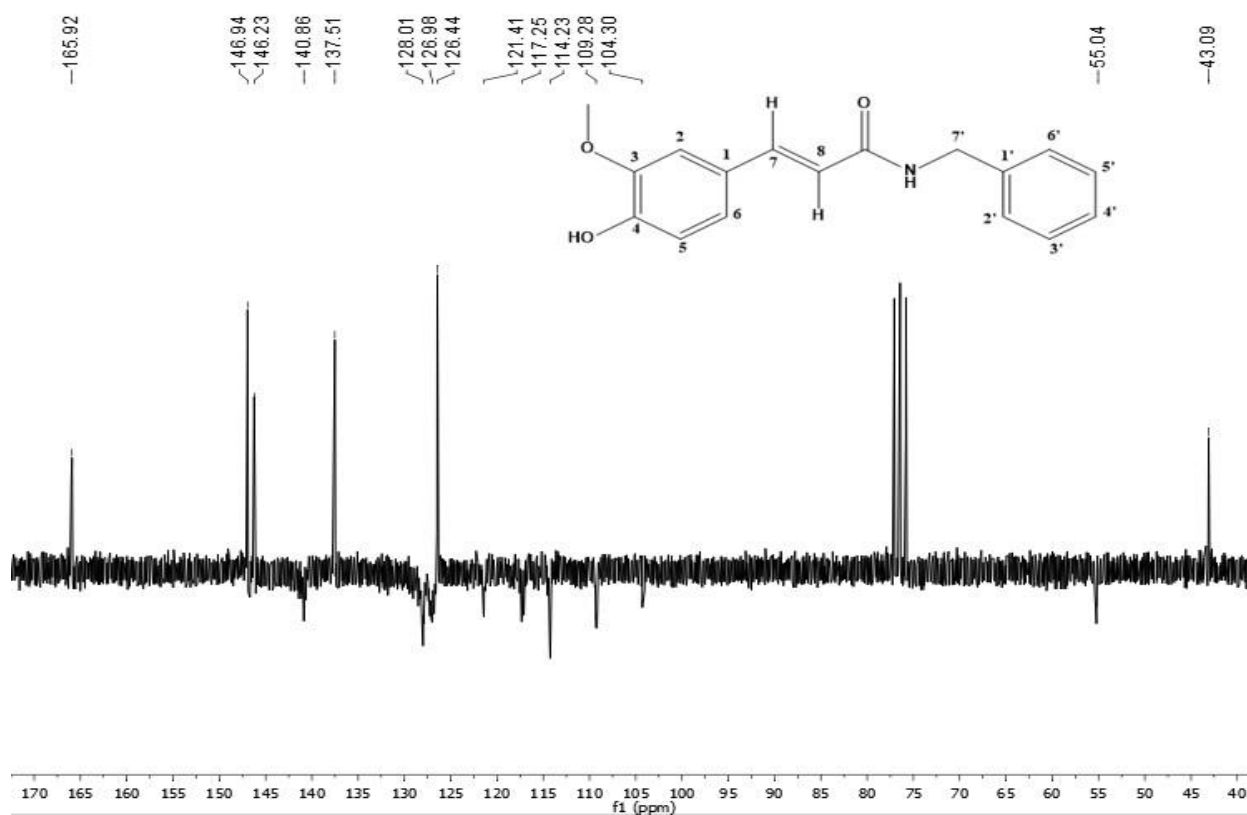
Espectro 20. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA5**).



Espectro 21. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA5**). (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 22. Expansão do espectro de RMN ^1H de de (*E*)-*N*-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA5**) (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 23. Espectro de RMN ^{13}C -APT de de (*E*)-*N*-benzil-3-(4-hidroxi-4-metoxifenil)acrilamida (**MA5**) (CDCl_3 , 50 MHz).

8.2. Preparação da segunda coleção de amidas

Em um balão de 50 mL equipado com agitador magnético que continha 3 mL de diclorometano, foram adicionados 0,1 g (0,51 mmol) de ácido *trans*-ferúlico, 0,51 mmol da respectiva amina (Tabela 25), 0,006 g de DMAP, que corresponde a 10% de mol, e 0,105 g de DCC (0,51 mmol). Após agitação de 24h a temperatura ambiente o diclorometano foi retirado em evaporador rotativo. O conteúdo remanescente do balão foi dissolvido em 10 mL de acetato de etila, vertido em funil de separação com 10 mL de água destilada e extraído com acetato de etila (três vezes com 10 mL). As fases orgânicas foram reunidas e lavadas três vezes com água destilada e, depois de tratadas com 10 mL de NaHCO₃ 1 M e 10 mL de HCl a 1 N, foram lavadas com água destilada, secadas com Na₂SO₄, e o solvente, evaporado. Os produtos formados foram isolados e purificados em cromatografia de coluna em sílica gel 60. Como fase móvel, foi utilizado o sistema hexano: acetato de etila na proporção exposto na coluna FM da tabela 24 (KONGKATHIP *et al.*, 2013).

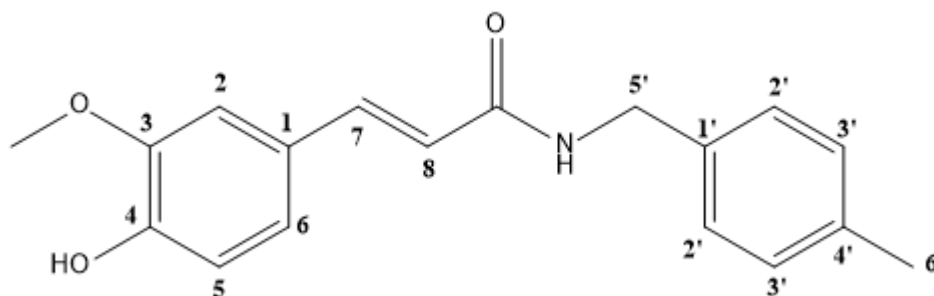
Tabela 13 – Dados das reações dos compostos MA06- MA10

Comp.	Amidas utilizadas	Form. Mol.	M.M.	Quantidade preparada (g) e rendimento (%)	Pf (°C)	Δt	FM
MA6	4-metil-benzilamida	C ₁₈ H ₁₉ OO ₃	297,35	0,098 (65 %)	145-150	24h	6:4
MA7	Metóxi-benzilamida	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313,35	0,069 (43 %)	134-139	25h	6:4
MA8	4-cloro-benzilamida	C ₁₇ H ₁₆ NO ₃	317,77	0,075 (46 %)	157-164	24h	5:5
MA9	3,4-dimetóxi-benzilamida	C ₁₉ H ₂₁ NO ₅	343,17	0,091 (52 %)	197-202	26h	6:4
MA10	Piperonilamida	C ₁₈ H ₁₇ NO ₅	327,11	0,117 (70%)	203-208	28h	6:4

Legenda: Composto (Comp.); Fórmula molecular (Form. mol.); Massa molar em g/mol (M.M.);

Ponto de fusão (Pf); Fase móvel (Hex:AcOEt) (FM).

8.2.1. MA6 – 4-Metil-benzilamina ferúlica



(E)-N-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metilbenzil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Rendimento: 64,94% (98,45 mg);

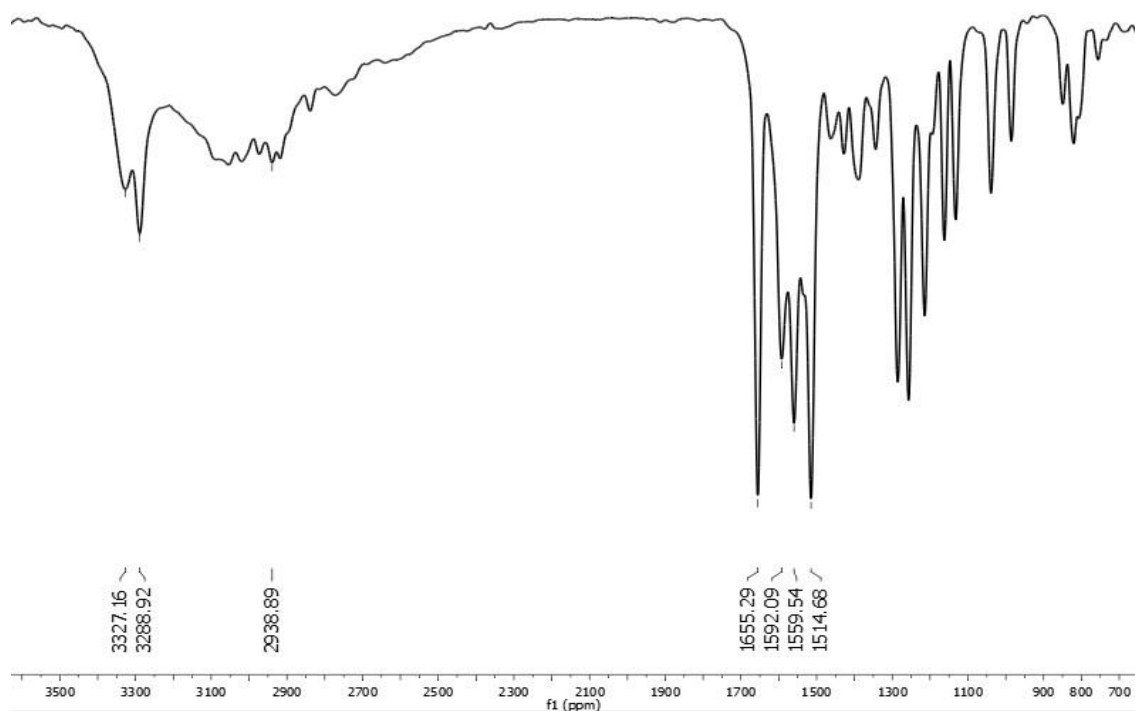
Ponto de Fusão: 143-147 °C;

Tempo de reação: 24 horas

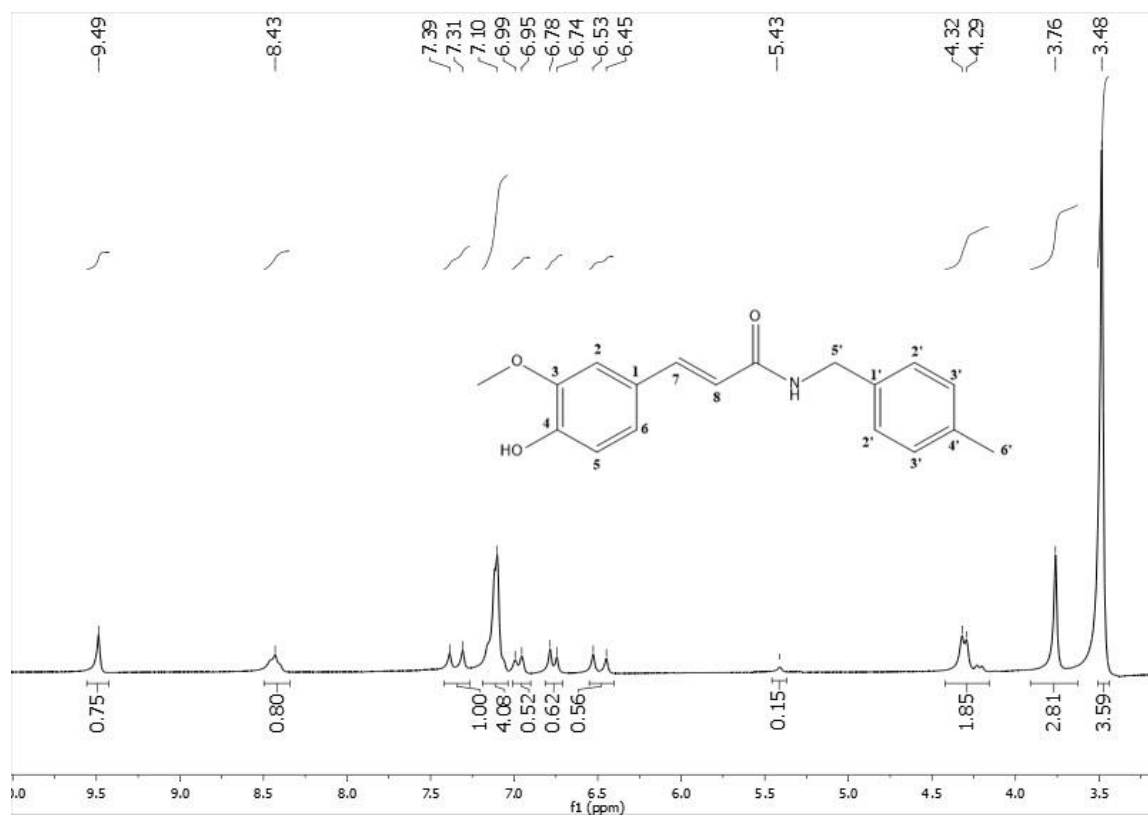
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3327 (O-H), 3288 (C-H sp^2), 2938- 2838 (C-H sp^3), 1655 (C=O), 1592 e 1427 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 9,49 (s, O-H); 8,43 (s, H-2); 7,36 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,10 (s, 4H, H-2',H-3'); 6,97 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,76 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,50 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,43 (s, 1H, NH); 3,76 (s, 3H, H-6'); 3,48 (s, 3H, OCH₃);

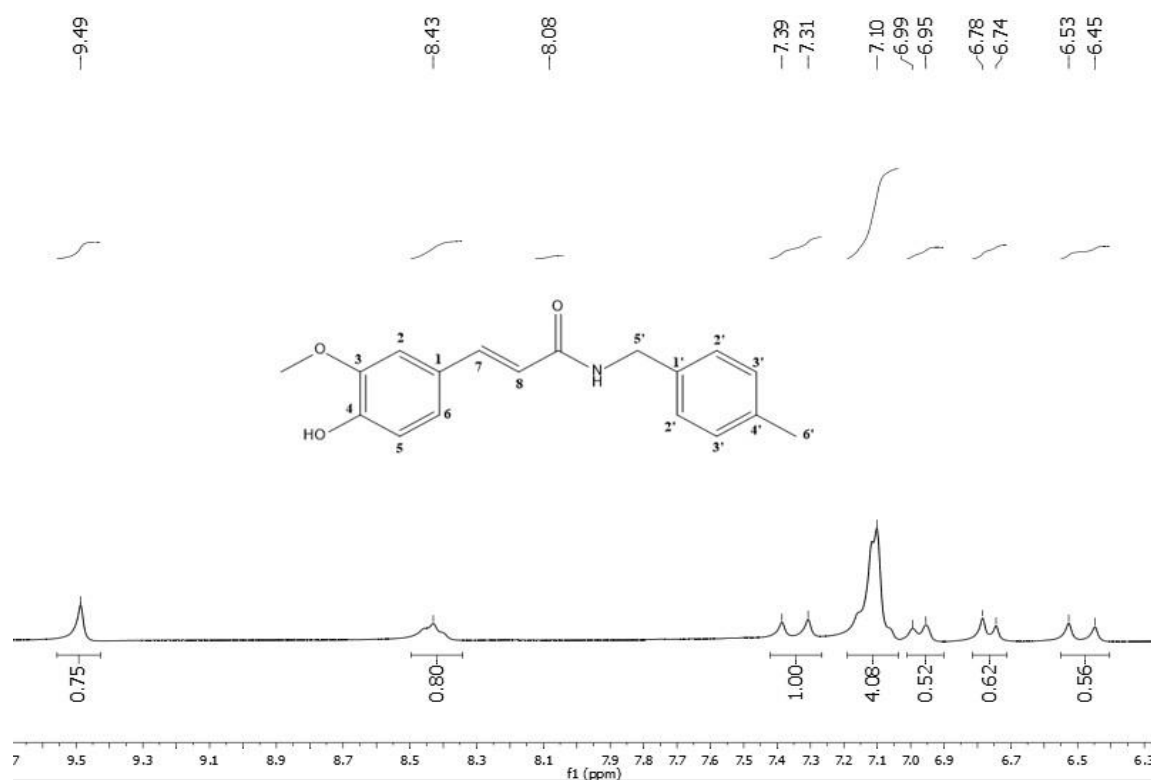
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 165,60 (C=O); 148,43 (C-3); 147,96 (C-4); 139,64 (C-7); 136,61 (C-4'); 136,03 (C-1'); 129,02 (C-3', C-5'); 127,46 (C-2', C-6'); 126,52 (C-1); 121,79 (C-6); 118,86 (C-8); 115,68 (C-5); 110,83 (C-2); 73,00 (OCH₃); 55,69 (C-5'); 42,18 (CH₃- Ar), (Kumar et al., 2016).



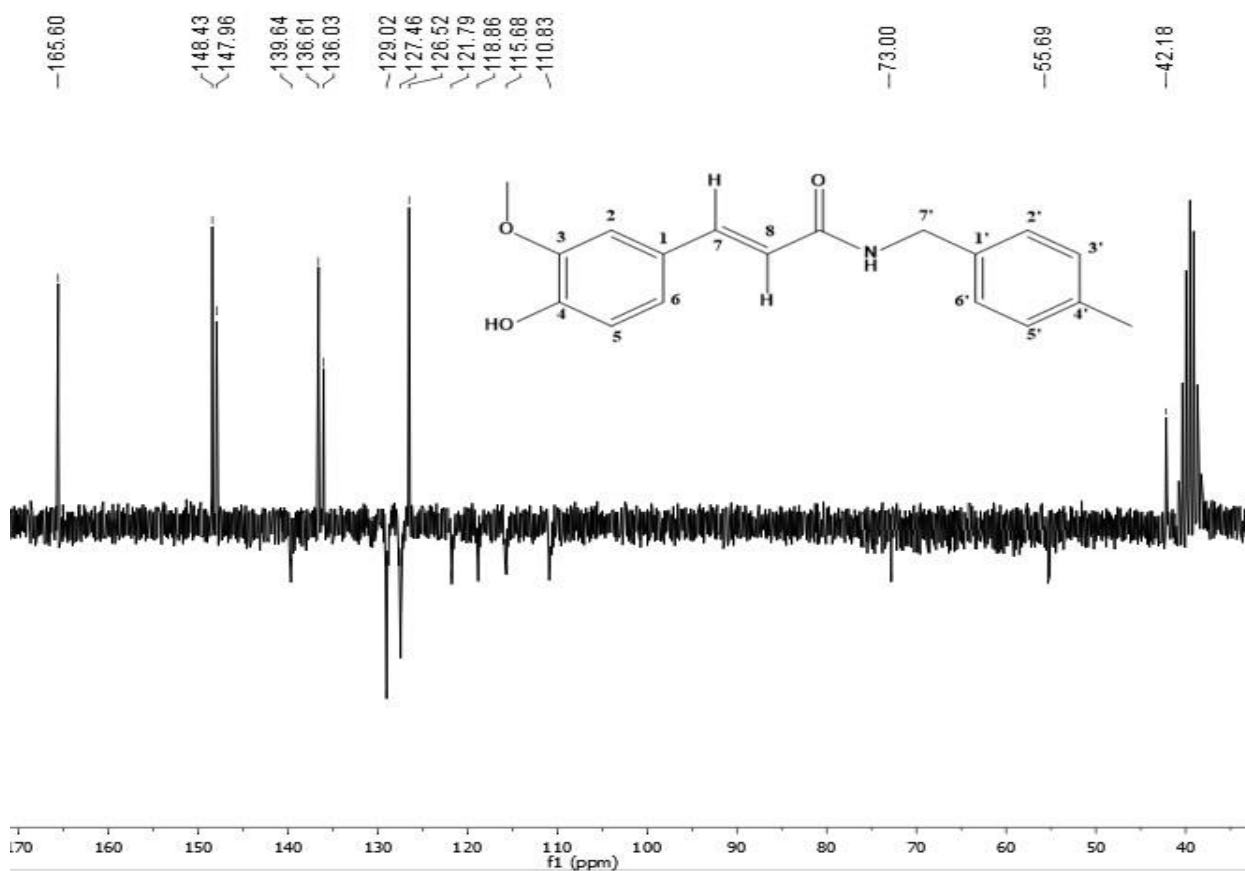
Espectro 24. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metilbenzil)acrilamida (**MA6**).



Espectro 25. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metilbenzil)acrilamida (**MA6**), (CDCl_3 , 200 MHz).

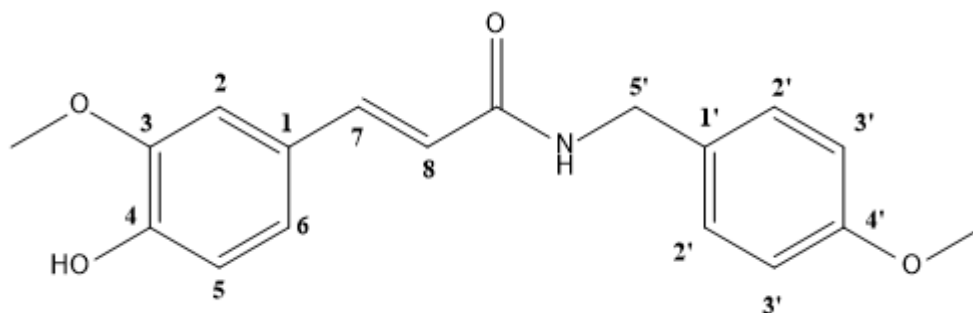


Espectro 26. Expansão do espectro de RMN ¹H (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metilbenzil)acrilamida (**MA6**), (CDCl₃, 200 MHz).



Espectro 27. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metilbenzil)acrilamida (**MA6**), (CDCl₃, 50 MHz).

8.2.2. MA7 – Metoxibenzilamina ferúlica



(E)-N-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-N-(4-metóxibenzil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Rendimento: 43,17% (69 mg);

Ponto de Fusão: 143-147 °C;

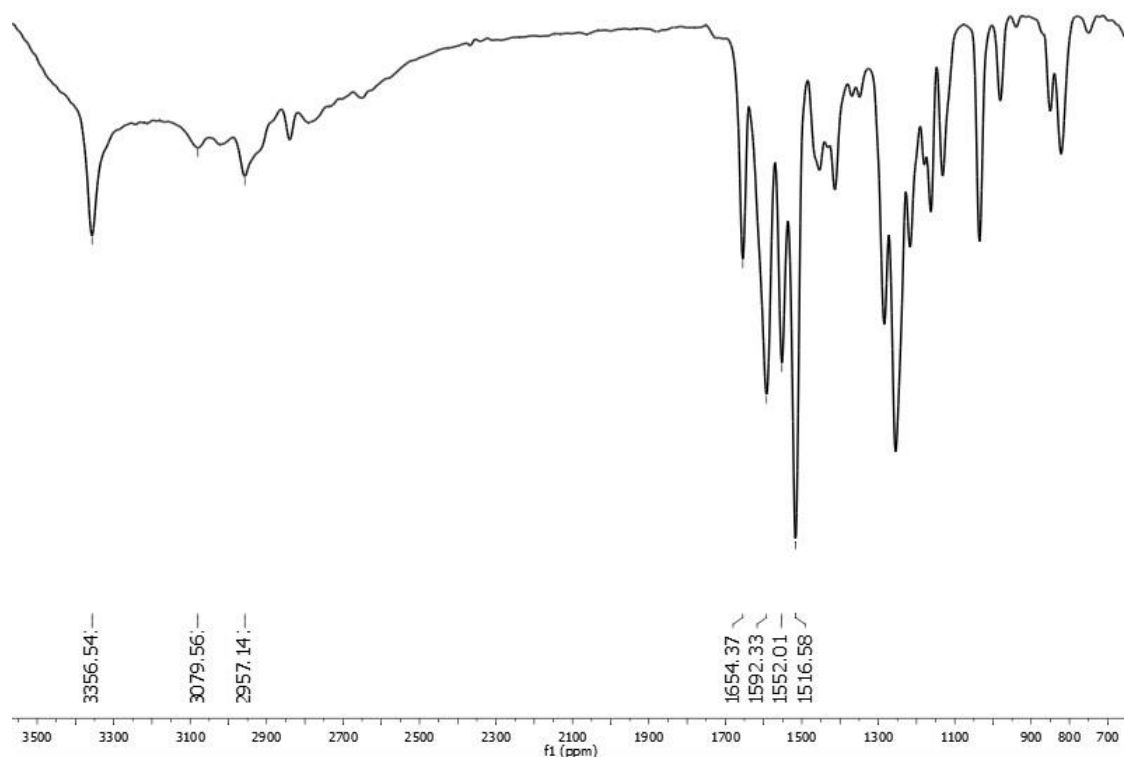
Tempo de reação: 25 horas

IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3356 (O-H), 3079 (C-H sp^2), 2957- 2839 (C-H sp^3), 1654 (C=O), 1592 e 1454 (C=C aromático).

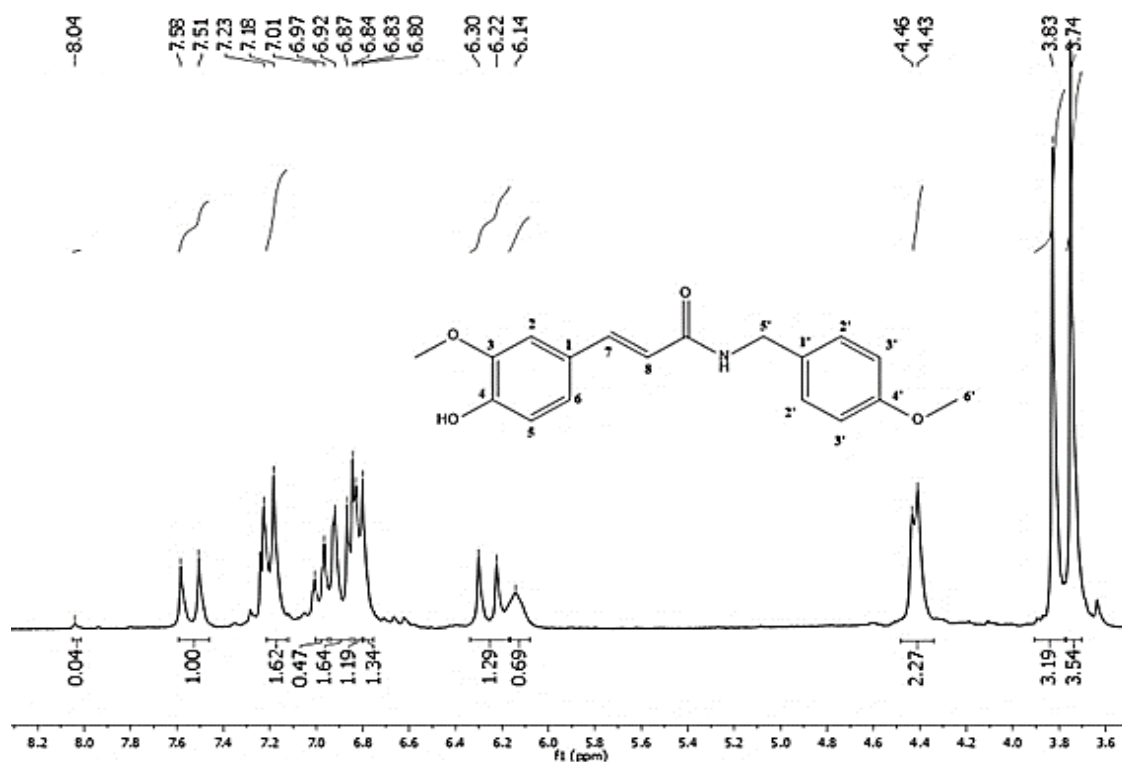
RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,54 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H, H-7); 7,20 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H, H-2'); 7,01 (s, H-2); 6,95 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H, H-5); 6,85 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, H-3'); 6,82 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,26 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H, H-8); 6,14 (s, 1H, NH); 4,45 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, H-5'); 3,83 (s, 3H, H-6'); 3,74 (s, 3H, OCH_3);

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 166,32 (C=O); 147,60 (C-3); 159,11 (C-4'); 146,87 (C-4); 141,58 (C-7); 130,34 (C-1); 129,46 (C-2'); 127,31 (C-1'); 122,20 (C-6); 117,85 (C-8); 114,87 (C-5); 114,16 (C-3'); 109,85 (C-2); 56,04 (OCH_3); 55,51 (OCH_3); 43,46 (C-5') (UWAI et al., 2008).

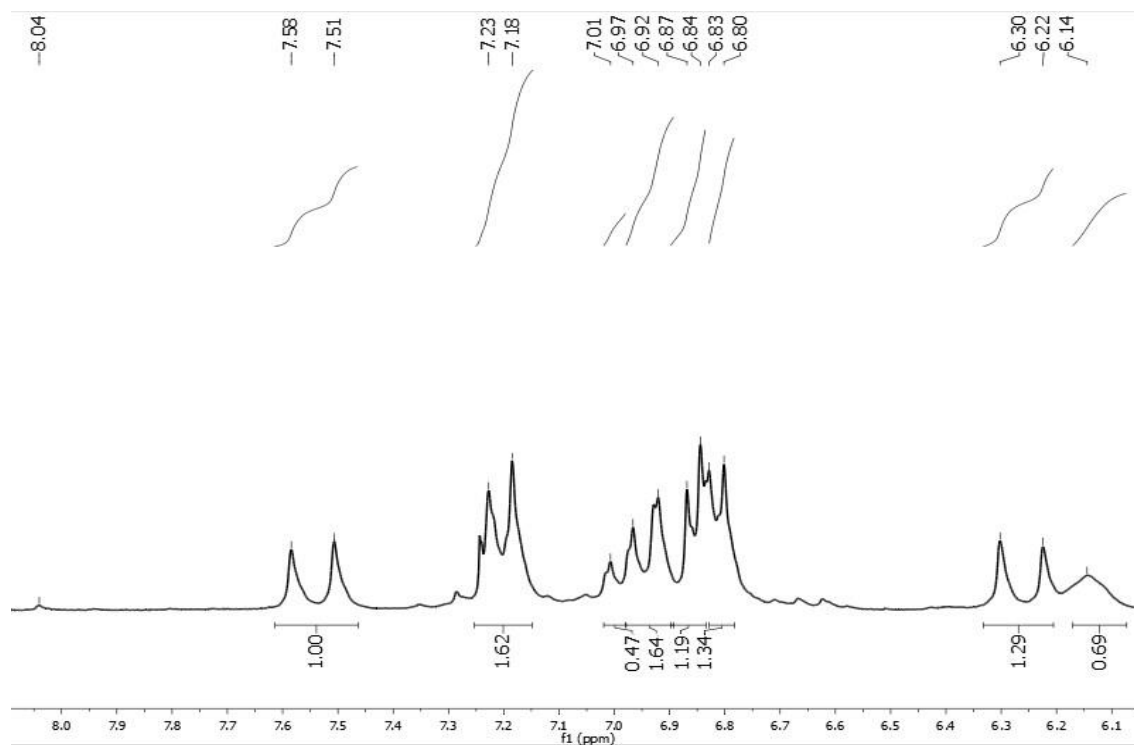
EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 314,350; encontrada 314,236.



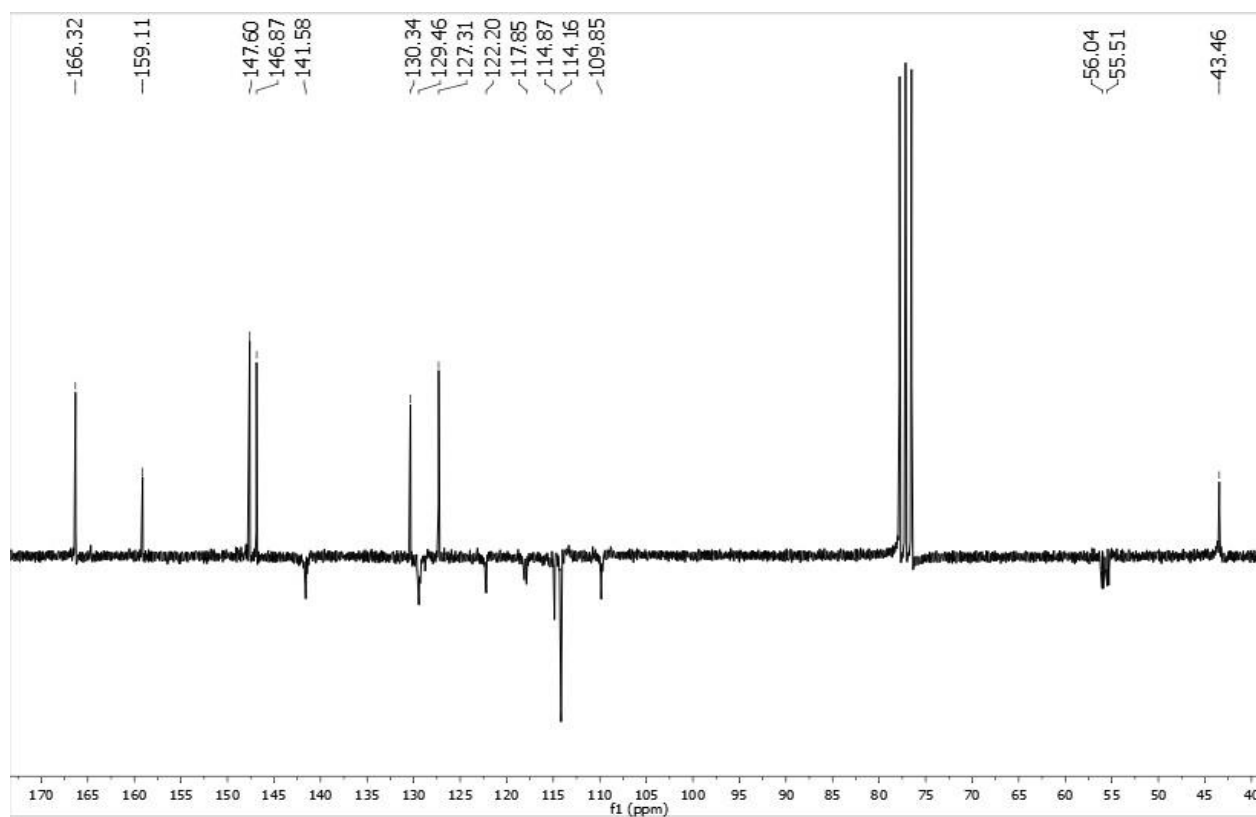
Espectro 28. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metoxibenzil)acrilamida (**MA7**).



Espectro 4. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-hidróxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metoxibenzil)acrilamida (**MA7**), (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 30. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metoxibenzil)acrilamida (**MA7**). (CDCl₃, 200 MHz).

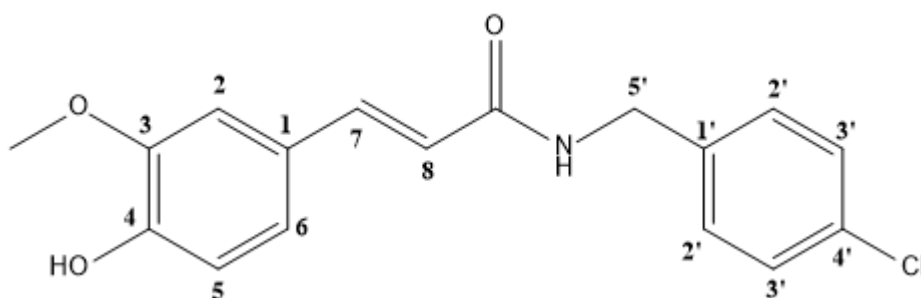


Espectro 5. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metoxibenzil)acrilamida (**MA7**), (CDCl₃, 50 MHz).



Espectro 32. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-*N*-(4-metoxibenzil)acrilamida (**MA7**).

8.2.3. MA8 – 4-Cloro-benzilamida ferúlica



(E)-N-(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Rendimento: 46,87% (75,97 mg);

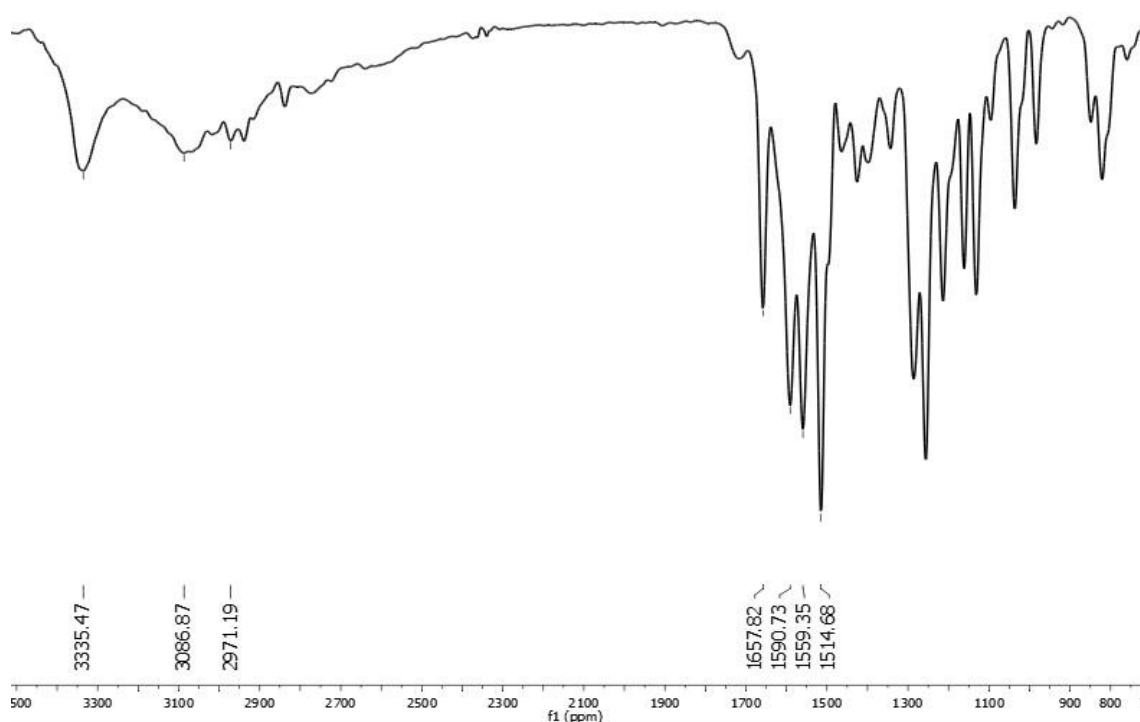
Ponto de Fusão: 143-147 °C;

Tempo de reação: 24 horas

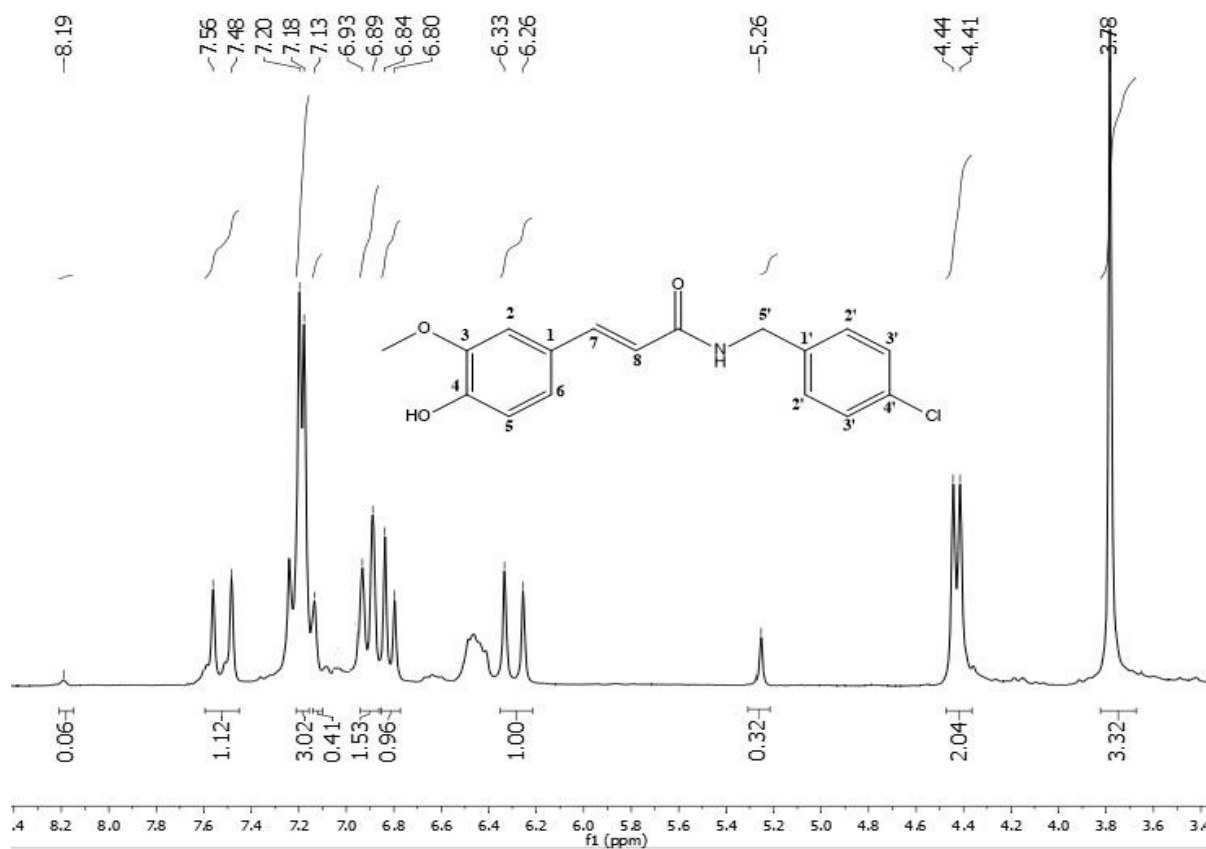
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3335 (O-H), 3086 (C-H sp^2), 2971 (C-H sp^3), 1657 (C=O), 1590, 1559 e 1514 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,52 (d, $J=16,0$ Hz, 3H, H-7); 7,19 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H, H-1); 7,15 (m, 1H, H-2, H-2'); 7,13 (s, 1H, H-2); 6,99 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,79 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,29 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H, H-8); 5,26 (s, 1H, NH); 4,43 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-5'); 3,78 (s, 3H, OCH_3);

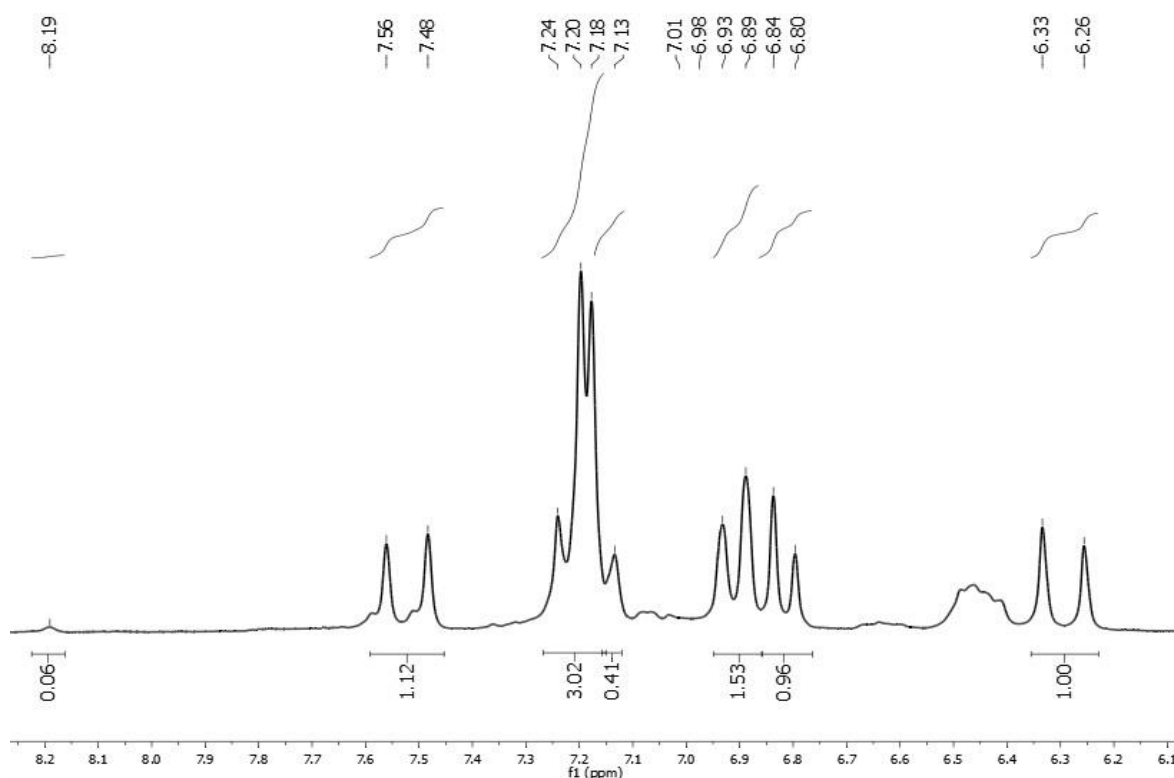
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 166,46 (C=O); 147,54 (C-3); 146,76 (C-4); 141,65 (C-7); 136,90 (C-1'); 133,26 (C-4'); 129,16 (C-2'); 127,16 (C-1'); 122,22 (C-3'); 117,89 (C-6); 114,94 (C-8); 109,98 (C-5); 109,87 (C-2); 55,83 (OCH_3); 43,11 (C-5'), (UWAI et al., 2008).



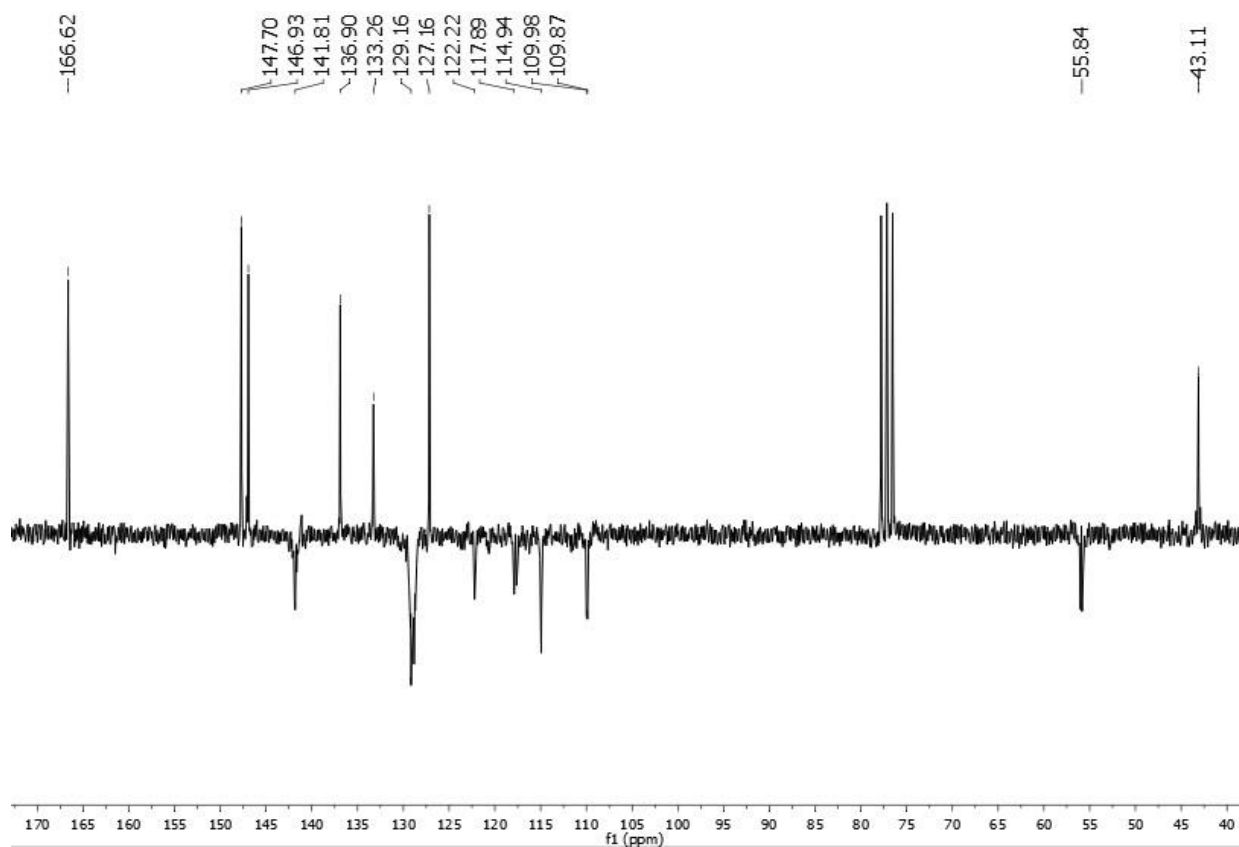
Espectro 33. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA8**).



Espectro 34. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA8**), (CDCl_3 , 200 MHz).

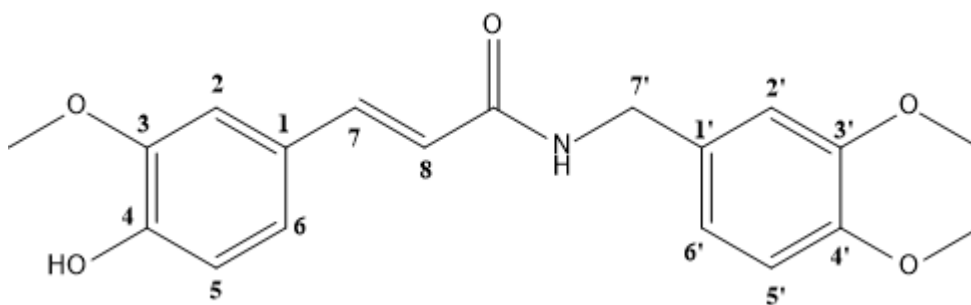


Espectro 35. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA8**), (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 36. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-*N*-(4-clorobenzil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA8**), (CDCl_3 , 50 MHz).

8.2.4. MA9 – 3,4-dimetoxibenzilamina ferúlica



(E)-N-(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Rendimento: 52,53% (91,93 mg);

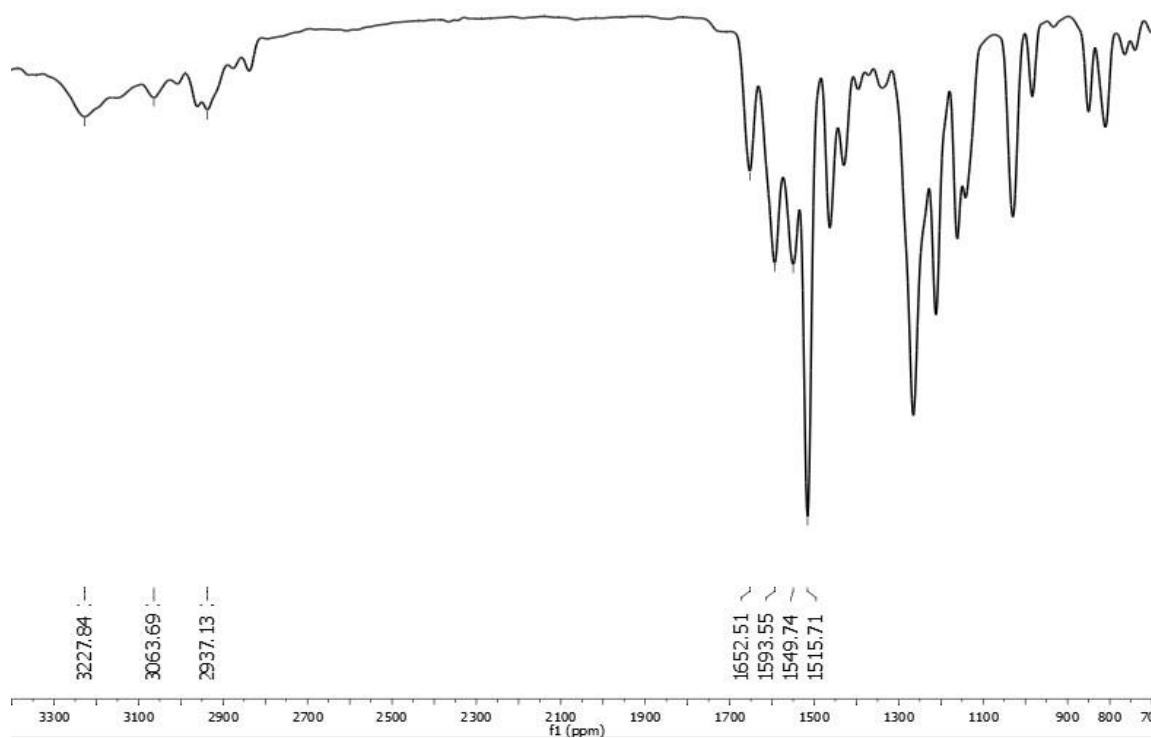
Ponto de Fusão: 143-147 °C;

Tempo de reação: 26 horas

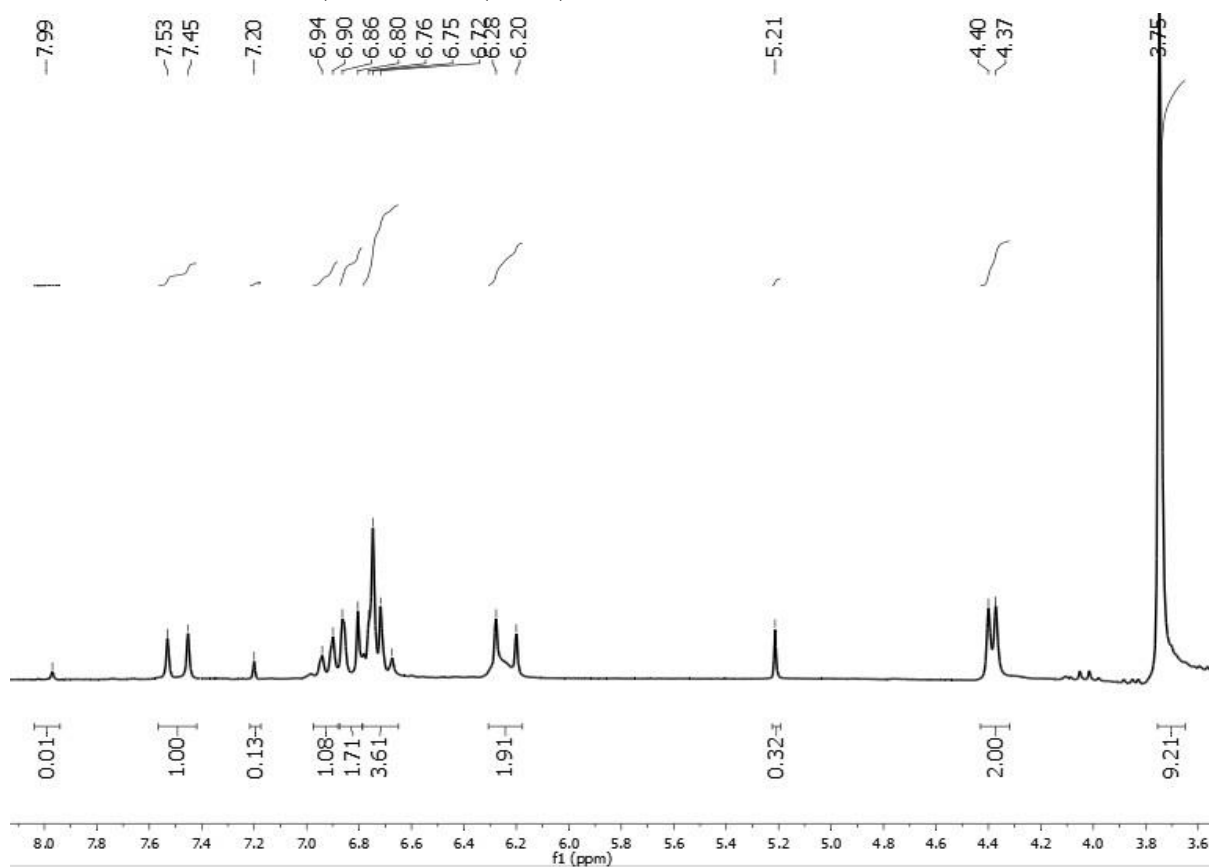
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3227 (O-H), 3063 (C-H sp^2), 2937 (C-H sp^3), 1652 (C=O), 1593 1549 e 1515 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 7,49 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,20 (*s*, 4H, H-2); 6,93 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-2'); 6,85 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,74 (*m*, 3H, H-6', H-6, H5'); 6,24 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,21 (*s*, 1H, NH); 4,38 (*d*, $J = 6,0$ Hz, 2H, H-7') 3,75 (*s*, 3H, OCH_3);

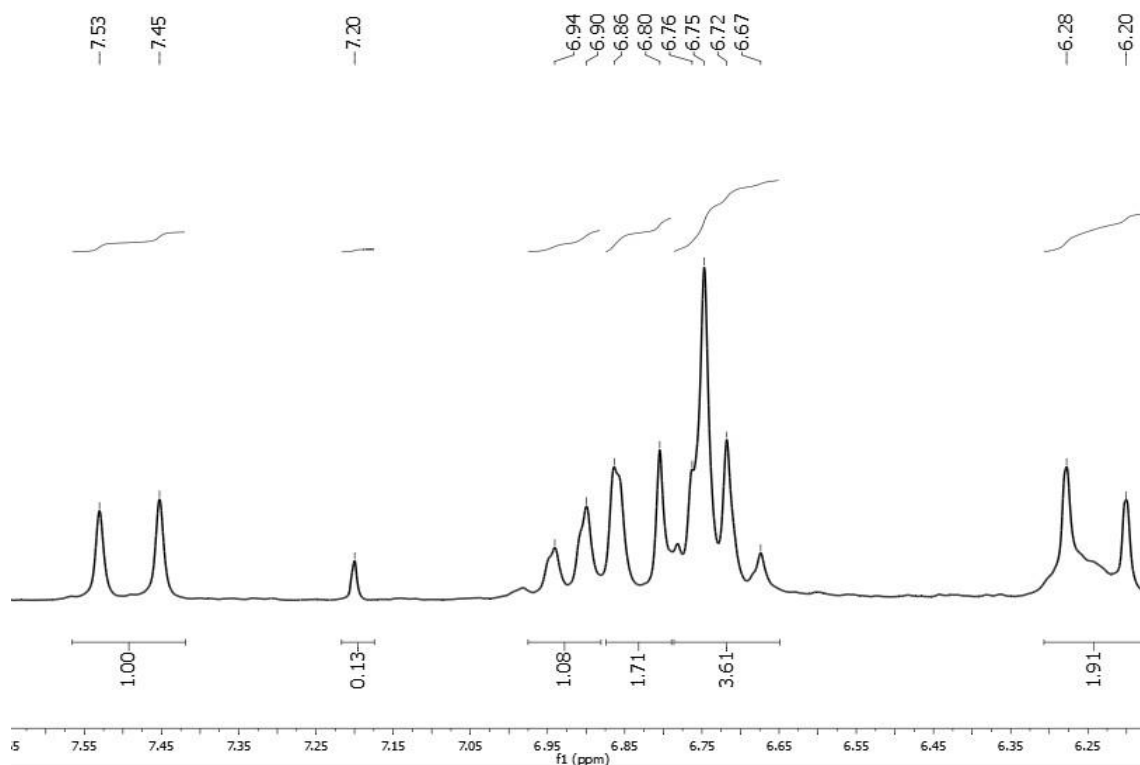
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 166,39 (C=O); 149,12 (C-3'); 148,45 (C-3); 147,64 (C-4); 146,92 (C-4'); 141,50 (C-7); 130,84 (C-1); 127,22 (C-1'); 122,17 (C-6); 122,09 (C-6'); 120,22 (C-8); 117,84 (C-5); 114,90 (C-5'); 111,21 (C-2); 109,82 (C-2'); 55,94 (OCH_3); 43,75 (C7'); (KUMAR et al., 2016).



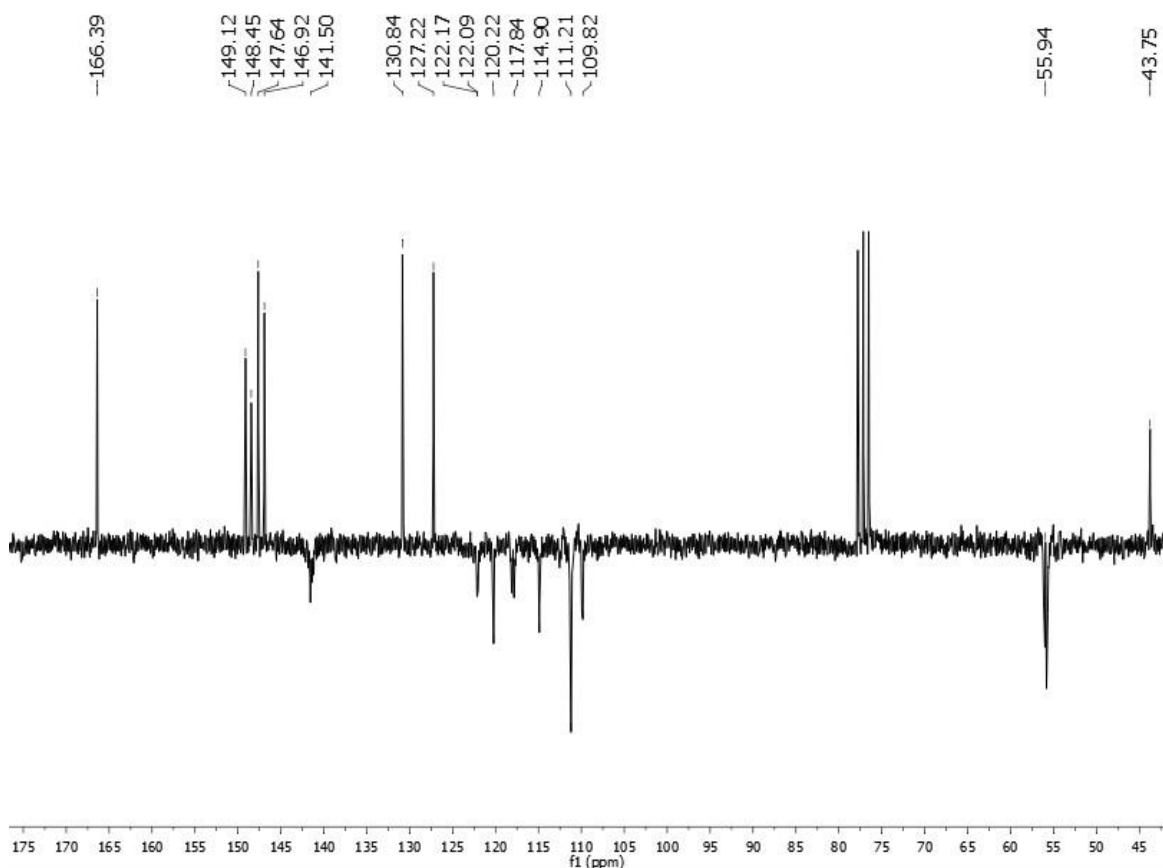
Espectro 37. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA9**).



Espectro 38. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA9**), (CDCl_3 , 200 MHz).

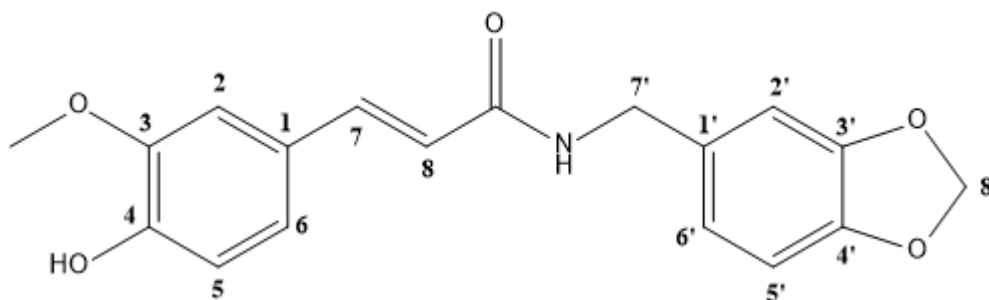


Espectro 39. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA9**), (CDCl_3 , 200 MHz).



Espectro 40. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-*N*-(3,4-dimetoxifenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA9**), (CDCl_3 , 50 MHz).

8.2.5. MA10 – Piperonilamida ferúlica



(E)-N-(1',3'-benzodioxol)-N-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Rendimento: 70,41% (117,48 mg);

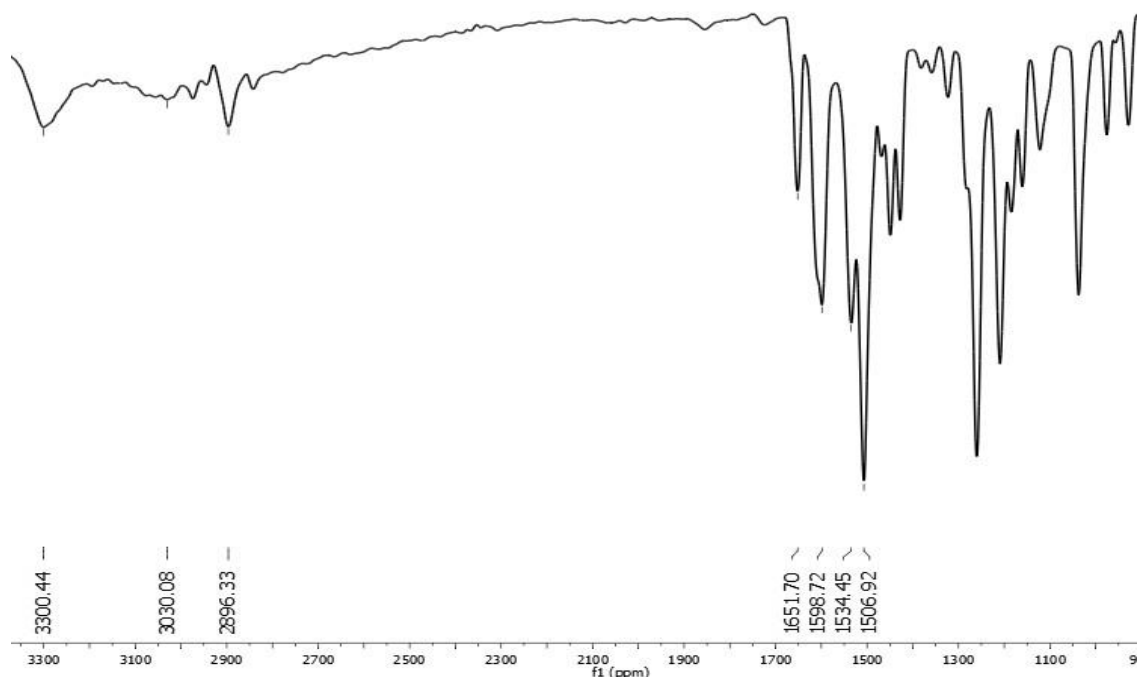
Ponto de Fusão: 143-147 °C;

Tempo de reação: 28 horas

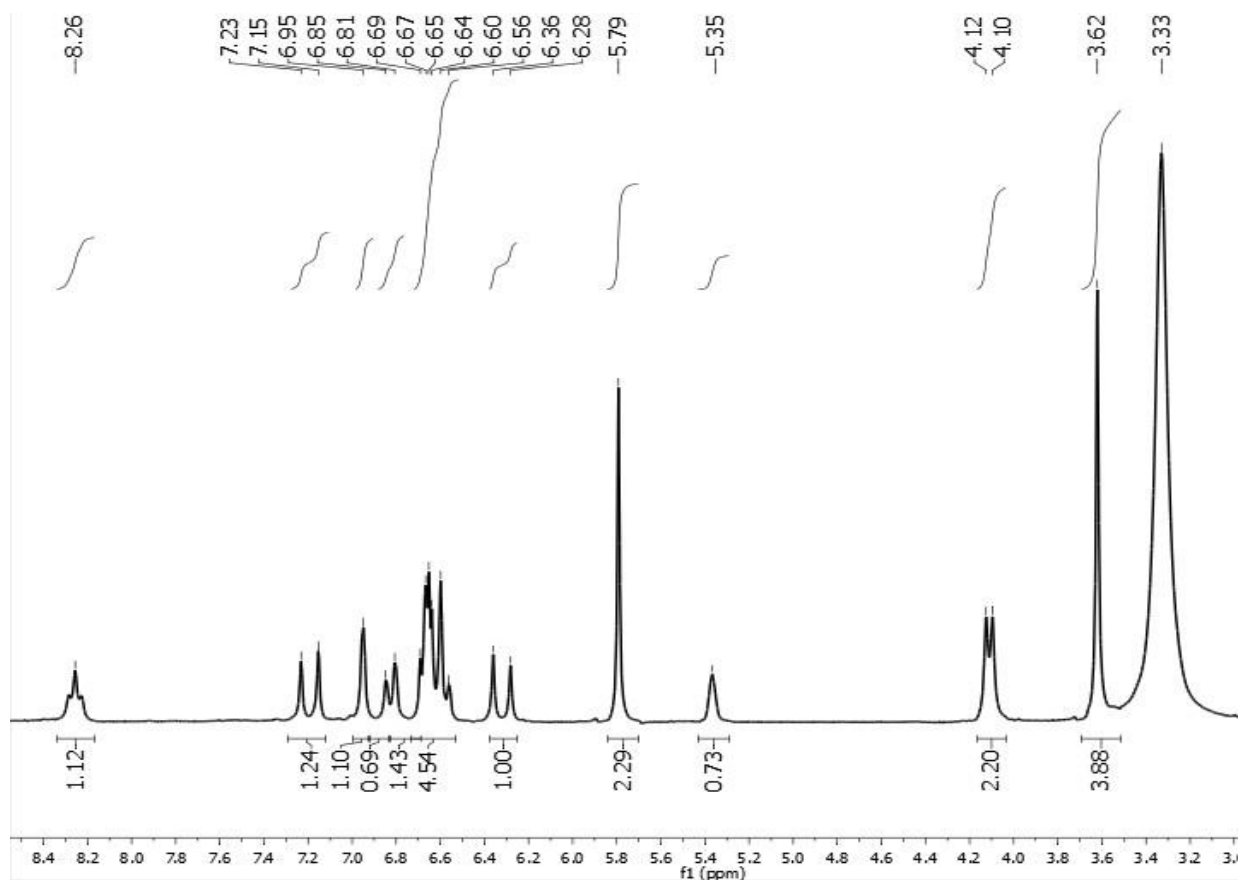
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3300 (O-H), 3030 (C-H sp^2), 2896 (C-H sp^3), 1651 (C=O), 1598, 1534 e 1506 (C=C aromático).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 8,26 (s, OH); 7,19 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H, H-7); 6,95 (s, H-2); 6,85 (s, 4H, H-2'); 6,75 (d, $J = 24,0$ Hz, 1H, H-5); 6,63 (m, 3H, H-5', H-6, H-6'); 6,32 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,79 (s, 2H, H-8'); 5,35 (s, 1H, NH); 4,11 (d, $J = 4,0$ Hz, 2H, H-7'); 3,62 (s, 3H, OCH₃);

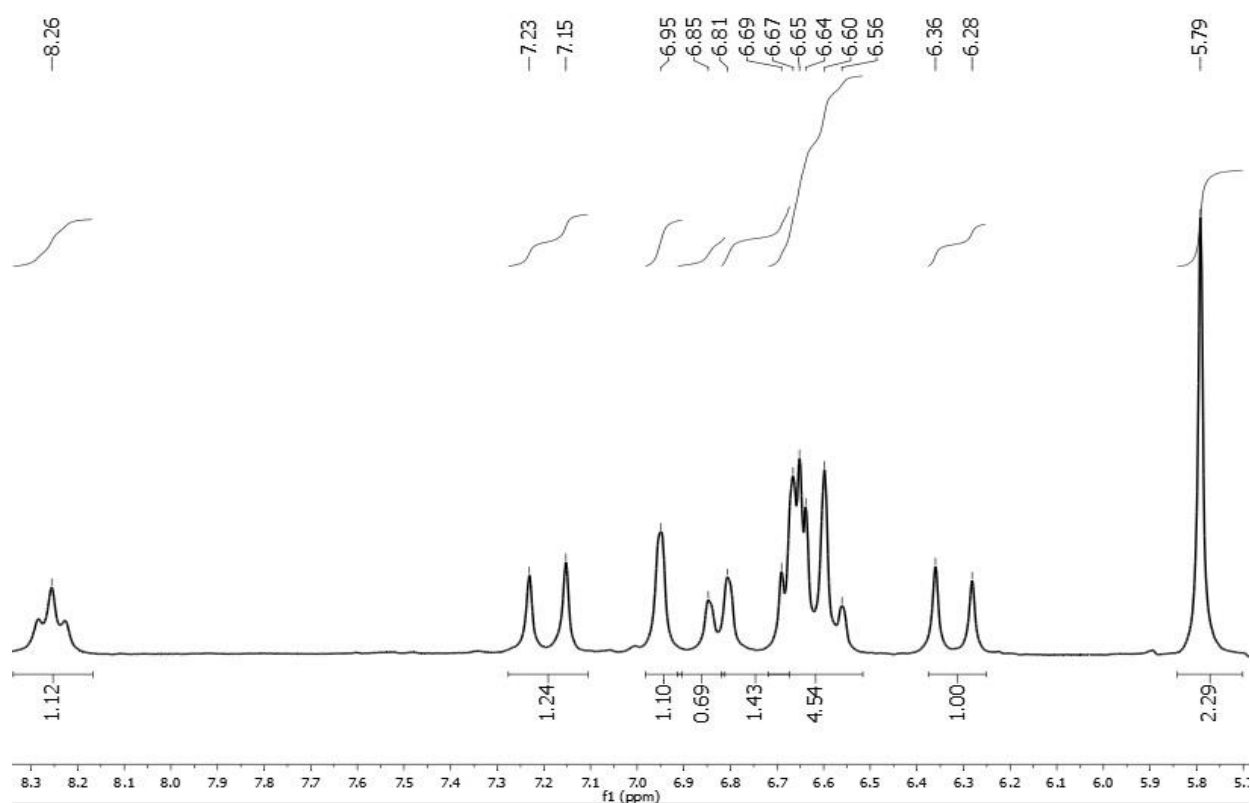
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 165,54 (C=O); 148,40 (C-3); 147,92 (C-4); 147,34 (C-4'); 143,16 (C-3'); 139,56 (C-7); 133,53 (C-1); 126,47 (C-1'); 121,71 (C-6); 121,71 (C-6'); 120,65 (C-8); 118,84 (C-5); 115,75 (C-2); 110,84 (C-2'); 108,12 (C-5'); 100,92 (C-8'); 55,58 (OCH₃); 42,20 (C-7'); (KUMAR et al., 2016).



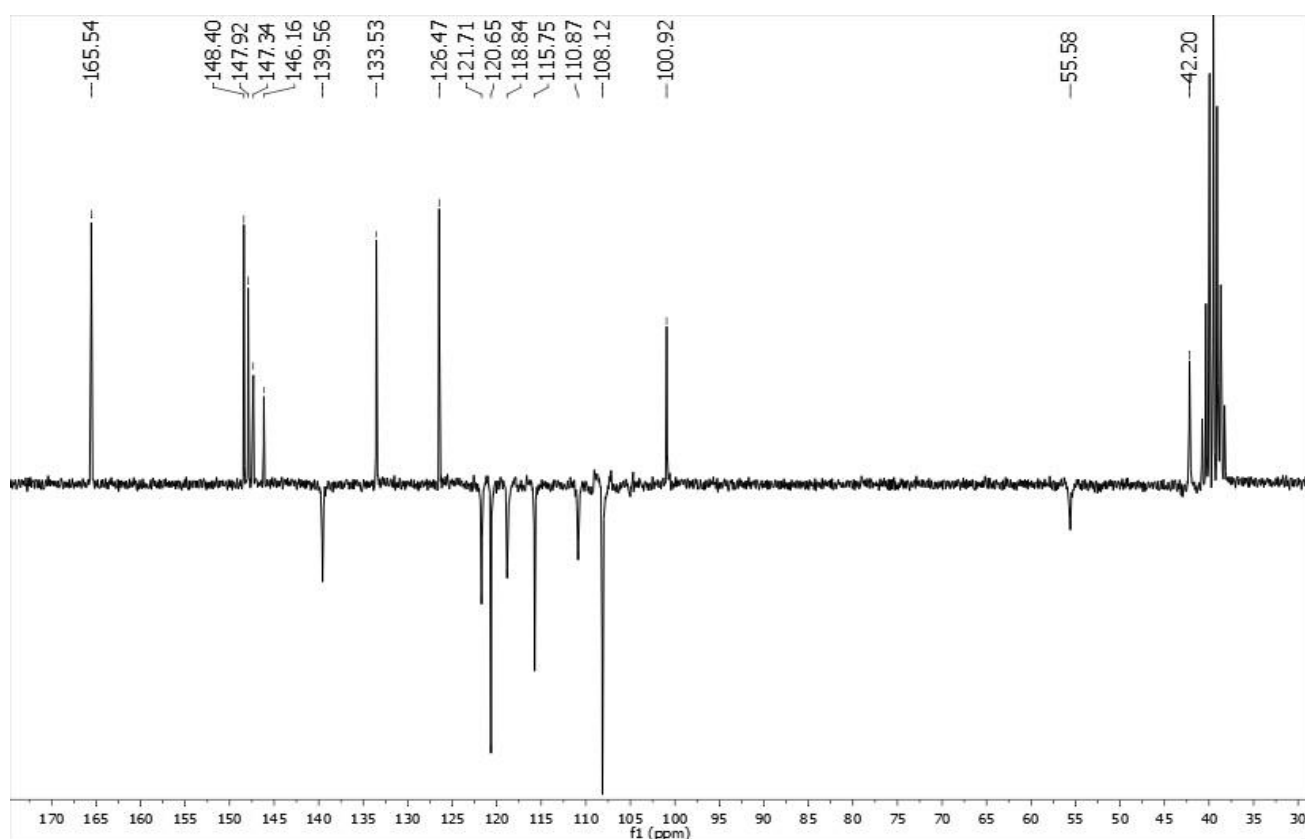
Espectro 41. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-*N*-(1',3'-benzodioxol)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA10**)



Espectro 42. Espectro de RMN ^1H) de (*E*)-*N*-(1',3'-benzodioxol)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA10**), ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz)



Espectro 6. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-*N*-(1',3'-benzodioxol)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA10**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 44. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-*N*-(1',3'-benzodioxol)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida (**MA10**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

9. REFERÊNCIAS

ADAMS, J. M.; CORY, S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, v. 281, n. 5381, p. 1322–1326, 1998.

Ahmad H., V. Valdivia, A. Cadena et al., “Myristicin: inducer of phase-II drug metabolizing enzymes and prospective chemoprotective agent against cancer,” *Acta Horticulturae*, vol. 841, pp. 47–54, 2009.

AHMED, S.A.; GOGAL, R.M.; WALSH, J.E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. *Journal of immunological methods*, v.170, p.211 - 224, 1994.

Al-Harbi M. M., S. Qureshi, M. Raza, M. M. Ahmed, A. B. Giangreco, and A. H. Shah, “Influence of anethole treatment on the tumour induced by Ehrlich ascites carcinoma cells in paw of Swiss albino mice,” *European Journal of Cancer Prevention*, vol. 4, no. 4, pp. 307–318, 1995.

Almeida R. N., M. de Fátima Agra, F. N. S. Maior, and D. P. de Sousa, “Essential oils and their constituents: anticonvulsant activity,” *Molecules*, vol. 16, no. 3, pp. 2726–2742, 2011.

AMERICAN CANCER SOCIETY, ACS. Revisado em: 31/05/17. Disponível em: <http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-treatingsurgery>.

AMERICAN CANCER SOCIETY. *Cancer Facts & Figures 2014*. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2014.

Anpo M., K. Shirayama, and T. Tsutsui, “Cytotoxic effect of eugenol on the expression of molecular markers related to the osteogenic differentiation of human dental pulp cells,” *Odontology*, vol. 99, no. 2, pp. 188–192, 2011.

Ashour H. M., “Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oils and extracts from stems, leaves, and flowers of *Eucalyptus sideroxylon* and *Eucalyptus torquata*,” *Cancer Biology and Therapy*, vol. 7, no. 3, pp. 399–403, 2008.

Anpo M., K. Shirayama, and T. Tsutsui, “Cytotoxic effect of eugenol on the expression of molecular markers related to the osteogenic differentiation of human dental pulp cells,” *Odontology*, vol. 99, no. 2, pp. 188–192, 2011.

Atsumi T., I. Iwakura, S. Fujisawa, and T. Ueha, "Reactive oxygen species generation and photo-cytotoxicity of eugenol in solutions of various pH," *Biomaterials*, vol. 22, no. 12, pp. 1459–1466, 2001.

Atsumi T., S. Fujisawa, K. Satoh et al., "Cytotoxicity and radical intensity of eugenol, isoeugenol or related dimers," *Anticancer Research*, vol. 20, no. 4, pp. 2519–2524, 2000.

Atsumi T., S. Fujisawa, and K. Tonosaki, "A comparative study of the antioxidant/prooxidant activities of eugenol and isoeugenol with various concentrations and oxidation conditions," *Toxicology in Vitro*, vol. 19, no. 8, pp. 1025–1033, 2005.

Awuti G., G. Tuerxun, A. Tuerxun, and J. Tuerxun, "Cytotoxicity of two different pulp capping materials on human dental pulp cells in vitro," *Journal of Oral Science Research*, vol. 28, no. 5, pp. 485–487, 2012.

Babich H., A. Stern, and E. Borenfreund, "Eugenol cytotoxicity evaluated with continuous cell lines," *Toxicology in Vitro*, vol. 7, no. 2, pp. 105–109, 1993.

BALTAS, P. M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review. *Curr. Med. Chem.* 2011, v. 18: pp. 1672-1703.

Bemani B., F. Ghanati, L. Y. Boroujeni, and F. Khatami, "Antioxidant activity, total phenolics and taxol contents response of hazel (*Corylus avellana* L.) cells to benzoic acid and cinnamic acid," *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, vol. 40, no. 1, pp. 69–73, 2012.

Berrino F.; De Angelis R.; Sant M.; Rosso S.; Lasota M.B.; Coebergh J.W.; *et al.* Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study *Lancet Oncology* 2007, 8:773-783.

BLOOM, D.E., CAFIERO, E.T., JANÉ-LLOPIS, E., ABRAHAMS-GESSEL, S., BLOOM, L.R., FATHIMA, S., FEIGL, A.B., GAZIANO, T., MOWAFI, M., PANDYA, A., PRETTNER, K., ROSENBERG, L., SELIGMAN, B., STEIN, A.Z., & WEINSTEIN, C. The Global Economic Burden of Noncommunicable Diseases. Geneva: World Economic Forum. 2011.

BRANDÃO, H.P.; BORGES-ANDRADE, J.E.; FREITAS, I.A.; VIEIRA, F.T. Desenvolvimento e estrutura interna de uma escala de competências gerenciais. *Revista Psicologia: Teoria e Pesquisa*, Brasília, v.26, n.1, p.43-54, jan./mar. 2010.

Bray, F; Torre, L.A.; Siegel, R.L.; Ferlay, J.; Lortet-Tieulent, J.; Jemal, A.

BOIK, J. Natural compounds in cancer therapy. Oregon Medical Press, Minnesota, USA, p. 25, 2001.

Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42: 1208-1236

Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127:S179–S188

Bulow M. Olsson R. Ekberg O. Videoradiographic analysis of how carbonated thin liquids and thickened liquids affect the physiology of swallowing in subjects with aspiration on thin liquids. *Acta Rheologica*. 2003;44:366–372.

Burkey J. L., J.-M. Sauer, C. A. McQueen, and I. G. Sipes, “Cytotoxicity and genotoxicity of methyleugenol and related congeners—a mechanism of activation for methyleugenol,” *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 453, no. 1, pp. 25–33, 2000.

CA Cancer J Clin. 2015 Mar;65(2):87-108. doi: 10.3322/caac.21262. Epub 2015 Feb 4.

Cao H, Xu E, Liu H, Wan L and Lai M: Epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer metastasis: A system review. *Pathol Res Pract*. 211:557–569. 2015.

Carrasco A. H., C. L. Espinoza, V. Cardile et al., “Eugenol and its synthetic analogues inhibit cell growth of human cancer cells (Part I),” *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 19, no. 3, pp. 543–548, 2008.

Carolina R. Lopes, Caroline Da R. M. D’Oca, Rodrigo da C. Duarte, Márcia H. S. Kurz, Ednei G. Primel, Rosilene M. Clementin, Joaquín A. M. Villarreyes e Marcelo G. M. D’Oca. Síntese de novas amidas graxas a partir da aminólise de ésteres metílicos. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 6, 1335-1341, 2010

Chai W et. al., “Induced-differentiation effects of cinnamic acid on human osteogenic sarcoma cells cultured primarily in vitro,” *Zhonghua Zhongliu Fangzhi Zazhi*, vol. 16, no. 9, pp. 668–672, 2009.

Chainy G. B. N., S. K. Manna, M. M. Chaturvedi, and B. B. Aggarwal, “Anethole blocks both early and late cellular responses transduced by tumor necrosis factor: effect on NF- κ B, AP-1, JNK, MAPKK and apoptosis,” *Oncogene*, vol. 19, no. 25, pp. 2943–2950, 2000.

CHAMBERS, A. F.; GROOM, A. C.; MACDONALD, I. C. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nature reviews. Cancer*, v. 2, n. 8, p. 563–72, 2002.

CHEESEMAN, I. M.; DESAI, A. Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface. *Nature reviews. Molecular cell biology*, v. 9, n. 1, p. 33–46, 2008.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic Chemistry*, 2^o ed. Oxford University Press, 2012.

COCHRAN, J. C.; GATIAL, J. E.; KAPOOR, T. M.; GILBERT, S. P. Monastrol inhibition of the mitotic kinesin Eg5. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 280, n. 13, p. 12658–12667, 2005.

COCK-RADA, A.; WEITZMAN, J. B. The methylation landscape of tumour metastasis. *Biology of the cell / under the auspices of the European Cell Biology Organization*, v. 105, n. 2, p. 73–90, 2013.

Chang S.-T., P.-F. Chen, and S.-C. Chang, “Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 77, no. 1, pp. 123–127, 2001.

Chang H. C., H. H. Cheng, C. J. Huang et al., “Safrole-induced Ca²⁺ mobilization and cytotoxicity in human PC3 prostate cancer cells,” *Journal of Receptors and Signal Transduction*, vol. 26, no. 3, pp. 199–212, 2006.

Chew E.-H., A. A. Nagle, Y. Zhang et al., “Cinnamaldehydes inhibit thioredoxin reductase and induce Nrf2: potential candidates for cancer therapy and chemoprevention,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 48, no. 1, pp. 98–111, 2010.

Chiang S.-Y., P.-Y. Lee, M.-T. Lai et al., "Safrole-2',3'-oxide induces cytotoxic and genotoxic effects in HepG2 cells and in mice," *Mutation Research—Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 726, no. 2, pp. 234–241, 2011.

Choo E. J., Y.-H. Rhee, S.-J. Jeong et al., "Anethole exerts antimetastatic activity via inhibition of matrix metalloproteinase 2/9 and AKT/mitogen-activated kinase/nuclear factor kappa B signaling pathways," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 34, no. 1, pp. 41–46, 2011.

Chuang SC, La Vecchia C, Boffetta P. Liver cancer: Descriptive epidemiology and risk factors other than HBV and HCV infection. *Cancer Letters* 2009; 286, 9-14.

Chuan-Hai Zhang, Ge-Liang Xu, Wei-Dong Jia, Yong-Sheng Ge, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wei-Hua Ren. Prognostic significance of osteopontin in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Int. J. Cancer*: 2012;130, 2685–2692

Chuang L.-Y., J.-Y. Guh, L. K. Chao et al., "Anti-proliferative effects of cinnamaldehyde on human hepatoma cell lines," *Food Chemistry*, vol. 133, no. 4, pp. 1603–1610, 2012.

CRUCIANI, G.; CRIVORI, P.; CARRUPT P. A.; TESTA, B. Molecular fields in quantitative structure-permeation relationships: the VolSurf approach. *J. Mol. Struct-Theochem*, 2000, v. 503(1- 2): pp.17-30.

Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, et al. Colorectal cancer. *The Lancet*. 2010;375(9719):1030–1047.

Da Silveira E Sá R. D. C., L. N. Andrade, R. D. R. B. De Oliveira, and D. P. De Sousa, "A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils," *Molecules*, vol. 19, no. 2, pp. 1459–1480, 2014.

de Sousa D. P., "Analgesic-like activity of essential oils constituents," *Molecules*, vol. 16, no. 3, pp. 2233–2252, 2011.

Dornish J. M., E. O. Pettersen, and R. Oftebro, "Synergistic cell inactivation of human NHIK 3025 cells by cinnamaldehyde in combination with cis-diamminedichloroplatinum(II)," *Cancer Research*, vol. 48, no. 4, pp. 938–942, 1988.

Du A., B. Zhao, D. Yin, S. Zhang, and J. Miao, "Safrole oxide induces apoptosis by activating caspase-3, -8, and -9 in A549 human lung cancer cells," *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol. 16, no. 1, pp. 81–83, 2006.

Ekmekcioglu C., J. Feyertag, and W. Marktl, “Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells,” *Cancer Letters*, vol. 128, no. 2, pp. 137–144, 1998.

Emory University, Cancerquest, cancerquest.org, 2008 Consultado em: <http://www.cancerquest.com> (Junho 2017).

Eroğlu C, Seçme M, Bağcı G, Dodurga Y. Assessment of the anticancer mechanism of ferulic acid via cell cycle and apoptotic pathways in human prostate cancer cell lines. *Tumour Biol.* 2015;36(12):9437-46.

Fahrioglu U, Dodurga Y, Elmas L, Seçme M. Ferulic acid decreases cell viability and colony formation while inhibiting migration of MIA PaCa-2 human pancreatic cancer cells in vitro. *Gene.* 2016 15;576(1 Pt 3):476-82.

Fan M.-J., S.-Y. Lin, C.-C. Yu et al., “Safrrole-modulated immune response is mediated through enhancing the CD11b surface marker and stimulating the phagocytosis by macrophages in BALB/c mice,” *Human & Experimental Toxicology*, vol. 31, no. 9, pp. 898–904, 2012.

FÃO, F.; ZAN, R. A.; BRONDANI, F. M. M.; Ramos, L. J.; MENEGUETTI; D. U. O. Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (Müll. Arg), no estado de Rondônia, Amazônia ocidental. *Revista de Saúde e Biologia*, v. 7, p. 91-98, 2012.

Farag S. E. A. and Abo-Zeid M. A. A., “Mutagenicity and degradation of natural carcinogenic compound-safrrole in spices under different processing methods,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 17, pp. 149–158, 1996.

Farraye FA, Odze RD, Eaden J, Itzkowitz SH, McCabe RP, Dassopoulos T, Lewis JD, Ullman TA, James T, McLeod R, et al. AGA medical position statement on the diagnosis and management of colorectal neoplasia in inflammatory bowel disease. ***Gastroenterology.*** 2010;**138**: 738–745.

Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer.* 2010;46:765-81.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010;127:2893-917.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION-FDA. Novel new drugs 2014 summary. Center for Drug Evaluation and Research, 2015.

FRÉROT, E.; COSTE, J.; PANTALONI, A.; DUFOUR, M.-N.; JOUIN, P. PyBOP® and PyBroP: Two reagents for the difficult coupling of the α,α -dialkyl amino acid, *Aib. Tetrahedron* 1991, pp. 259.

FRIEDL, P.; ALEXANDER, S. Review Cancer Invasion and the Microenvironment: Plasticity and Reciprocity. *Cell*, v. 147, n. 5, p. 992–1009, 2011.

FRIEDL, P.; WOLF, K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature reviews. Cancer*, v. 3, n. 5, p. 362–74, 2003.

Fujisawa S., T. Atsumi, Y. Kadoma, and H. Sakagami, “Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity,” *Toxicology*, vol. 177, no. 1, pp. 39–54, 2002.

Fujisawa S., T. Atsumi, K. Satoh et al., “Radical generation, radical-scavenging activity, and cytotoxicity of eugenol-related compounds,” *In Vitro and Molecular Toxicology*, vol. 13, no. 4, pp. 269–279, 2000.

Fujisawa S., T. Atsumi, M. Ishihara, and Y. Kadoma, “Cytotoxicity, ROS-generation activity and radical-scavenging activity of curcumin and related compounds,” *Anticancer Research*, vol. 24, no. 2, pp. 563–569, 2004.

GANG, D. R.; WANG, J.; DUDAREVA, N.; NAM, K. H.; SIMON, J. E.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiol.*, v. 125, n. 2, p. 539-555, 2001.

Gerosa R., M. Borin, G. Menegazzi, M. Puttini, and G. Cavalleri, “In vitro evaluation of the cytotoxicity of pure eugenol,” *Journal of Endodontics*, vol. 22, no. 10, pp. 532–534, 1996.

Ghosh R., N. Nadiminty, J. E. Fitzpatrick, W. L. Alworth, T. J. Slaga, and A. P. Kumar, “Eugenol causes melanoma growth suppression through inhibition of E2F1 transcriptional activity,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, no. 7, pp. 5812–5819, 2005.

Ghosh R., M. Ganapathy, W. L. Alworth, D. C. Chan, and A. P. Kumar, “Combination of 2-methoxyestradiol (2-ME2) and eugenol for apoptosis induction

synergistically in androgen independent prostate cancer cells,” *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 113, no. 1-2, pp. 25–35, 2009.

GLOMB, M. A.; PFAHLER, C. Amides Are Novel Protein Modifications Formed by Physiological Sugars *J. Biol. Chem.* 2001, v. 276: pp. 41638–41647.

Gravina H. D., N. F. Tafuri, A. Silva Júnior et al., “In vitro assessment of the antiviral potential of trans-cinnamic acid, quercetin and morin against equid herpesvirus 1,” *Research in Veterinary Science*, vol. 91, no. 3, pp. e158–e162, 2011.

Greca M. D., P. Monaco, L. Previtera, G. Aliotta, G. Pinto, and A. Pollio, “Allelochemical activity of phenylpropanes from *Acorus gramineus*,” *Phytochemistry*, vol. 28, no. 9, pp. 2319–2321, 1989.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell*, v. 100, n. 3, p. 57–70, 2000.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

Hanahan D. and R. A. Weinberg, “The hallmarks of cancer,” *Cell*, vol. 100, no. 1, pp. 57–70, 2000. Hemaiswarya S. and Doble M., “Combination of phenylpropanoids with 5-fluorouracil as anti-cancer agents against human cervical cancer (HeLa) cell line,” *Phytomedicine*, vol. 20, no. 2, pp. 151–158, 2013.

Hatch G. G., T. M. Anderson, R. A. Lubet et al., “Chemical enhancement of SA7 virus transformation of hamster embryo cells: evaluation by interlaboratory testing of diverse chemicals,” *Environmental Mutagenesis*, vol. 8, no. 4, pp. 515–531, 1986.

Hemaiswarya S. and Doble M., “Combination of phenylpropanoids with 5-fluorouracil as anti-cancer agents against human cervical cancer (HeLa) cell line,” *Phytomedicine*, vol. 20, no. 2, pp. 151–158, 2013.

HIELSCHER, A. C.; GERECHT, S. Engineering Approaches for Investigating Tumor Angiogenesis : Exploiting the Role of the Extracellular Matrix. *Cancer Research*, n. 4, p. 1–8, 2012.

Hoskins J. A., “The occurrence, metabolism and toxicity of cinnamic acid and related compounds,” *Journal of Applied Toxicology*, vol. 4, no. 6, pp. 283–292, 1984.

Howes A. J., V. S. W. Chan, and J. Caldwell, "Structure-specificity of the genotoxicity of some naturally occurring alkenylbenzenes determined by the unscheduled DNA synthesis assay in rat hepatocytes," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 28, no. 8, pp. 537–542, 1990.

Huang J.-Q., X.-X. Luo, S.-W. Wang, and Y.-H. Xie, "Effect of cinnamaldehyde on activity of tumor and immunological function of S180 sarcoma in mice," *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, vol. 10, no. 11, pp. 107–110, 2006.

Hussain A., A. Priyani, L. Sadrieh, K. Brahmbhatt, M. Ahmed, and C. Sharma, "Concurrent sulforaphane and eugenol induces differential effects on human cervical cancer cells," *Integrative Cancer Therapies*, vol. 11, no. 2, pp. 154–165, 2012.

Hussain A., K. Brahmbhatt, A. Priyani, M. Ahmed, T. A. Rizvi, and C. Sharma, "Eugenol enhances the chemotherapeutic potential of gemcitabine and induces anticarcinogenic and anti-inflammatory activity in human cervical cancer cells," *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, vol. 26, no. 5, pp. 519–527, 2011.

INCAa - inca.gov.br, Junho 2017. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao>>. Acessado em 25 de junho de 2017.

INCAb – inca.gov.br, junho 2017. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/estimativa/2015/tbregioes_consolidado.asp>. Acessado em 12 de junho de 2017.

INOUYE, H.; UOBE, K.; HIRAI, M.; MASADA, Y.; HASHIMOTO, K. Studies on monoterpene glucosides and related natural products. XXXI. Gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry of iridoid and secoiridoid glucosides. *J. Chromatogr.*, v. 118, n. 2, p. 201-216, 1976.

ISIDOROV, V. A.; ZENKEVICH, I. G.; KRAJEWSKA, U.; DUBIS, E. N.; JAROSZYNSKA, J.; BAL, K. Gas chromatographic analysis of essential oils with preliminary partition of components. *Phytochem. Anal.*, v. 12, n. 2, p. 87-90, 2001.

Ito K., Nakazato T., Xian M. J. et al., "1'-acetoxychavicol acetate is a novel nuclear factor κ B inhibitor with significant activity against multiple myeloma in vitro and in vivo," *Cancer Research*, vol. 65, no. 10, pp. 4417–4424, 2005.

Jaafari A., M. Tilaoui, H. A. Mouse et al., “Comparative study of the antitumor effect of natural monoterpenes: relationship to cell cycle analysis,” *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, vol. 22, no. 3, pp. 534–540, 2012.

Jaganathan S. K. and Supriyanto E., “Antiproliferative and molecular mechanism of eugenol-induced apoptosis in cancer cells,” *Molecules*, vol. 17, no. 6, pp. 6290–6304, 2012.

Jaganathan S. K., D. Mondhe, Z. A. Wani, H. C. Pal, and M. Mandal, “Effect of honey and eugenol on ehrlich ascites and solid carcinoma,” *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol. 2010, Article ID 989163, 5 pages, 2010.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61:69-90.

Juan Manuel Alonso Fernández, “Farmacología y Cáncer: Quimioterapia y Enfermería.”, Consultado em : http://apuntesenfermeria2.iespana.es/.../Apuntes_farmacologia_cancer_quimioterapia.do c. (Junho 2017)

Jeng J. H., L. J. Hahn, F. J. Lu, Y. J. Wang, and M. Y. Kuo, “Eugenol triggers different pathobiological effects on human oral mucosal fibroblasts,” *Journal of Dental Research*, vol. 73, no. 5, pp. 1050–1055, 1994.

Joshua R. Dunetz, Javier Magano, and Gerald A. Weisenburger. Large-Scale Applications of Amide Coupling Reagents for the Synthesis of Pharmaceuticals Org. Process Res. Dev., 2016, 20:140–177

Ka H., H.-J. Park, H.-J. Jung et al., “Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells,” *Cancer Letters*, vol. 196, no. 2, pp. 143–152, 2003.

Kashiwagi Y., “A cytotoxic study of eugenol and its ortho dimer (bis-eugenol),” *Meikai Daigaku Shigaku Zasshi*, vol. 29, pp. 176–188, 2001.

Kathirvel P. and S. Ravi, “Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEp-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts,” *Natural Product Research*, vol. 26, no. 12, pp. 1112–1118, 2012.

Katzung G. B., “Farmacología básica y clínica”, 9a Ed., Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., 2005, ISBN 970-729-164-8.

KASUGA, J.; MAKISHIMA, M.; HASHIMOTO, Y.; MIYACHI, H.; Design and synthesis of substituted phenylpropanoic acid derivatives as human peroxisome proliferator-activated receptor α/β dual agonists. *Bioorgan. Med. Chem.* 2006a, v.16: pp. 554–558;

KASUGA, J.; YAMASAKI, D. ARAYA, Y. NAKAGAWA, A.; MAKISHIMA, M. DOI, T.; HASHIMOTO, Y.; MIYACHI, H.; Design, synthesis, and evaluation of a novel series of α - substituted phenylpropanoic acid derivatives as human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α/β dual agonists for the treatment of metabolic syndrome. *Bioorg. Med. Chem.* 2006b, v.14: pp. 8405–8414.

Kaur G., M. Athar, and M. Sarwar Alam, “Eugenol precludes cutaneous chemical carcinogenesis in mouse by preventing oxidative stress and inflammation and by inducing apoptosis,” *Molecular Carcinogenesis*, vol. 49, no. 3, pp. 290–301, 2010.

Kew MC, Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. 2010 Aug;58(4):273-7. doi: 10.1016/j.patbio.2010.01.005. Epub 2010 Apr 7.

Kim S. G., A. Liem, B. C. Stewart, and J. A. Miller, “New studies on trans-anethole oxide and trans-asarone oxide,” *Carcinogenesis*, vol. 20, no. 7, pp. 1303–1307, 1999.

Koh W. S., S. Y. Yoon, B. M. Kwon, T. C. Jeong, K. S. Nam, and M. Y. Han, “Cinnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation,” *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 20, no. 11, pp. 643–660, 1998.

Kondo A., Ohigashi O., Murakami A., Suratwadee J., and Koshimizu K., “1'-Acetoxychavicol acetate as a potent inhibitor of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation from *Languas galanga*, a traditional Thai condiment,” *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 57, no. 8, pp. 1344–1345, 1993.

Lee K.-T., J. Choi, J.-H. Park, W.-T. Jung, H.-J. Jung, and H.-J. Park, “Composition of the essential oil of *Chrysanthemum sibiricum*, and cytotoxic properties,” *Natural Product Sciences*, vol. 8, no. 4, pp. 133–136, 2002.

Lee B. K., J. H. Kim, J. W. Jung et al., "Myristicin-induced neurotoxicity in human neuroblastoma SK-N-SH cells," *Toxicology Letters*, vol. 157, no. 1, pp. 49–56, 2005.

Lee H.-S., S.-Y. Kim, C.-H. Lee, and Y.-J. Ahn, "Cytotoxic and mutagenic effects of *Cinnamomum cassiabark*-derived materials," *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 14, no. 6, pp. 1176–1181, 2004.

LEIGH, W. J.; LATHIOOR, E. C.; ST. PIERRE, M. J. Photoinduced Hydrogen Abstraction from Phenols by Aromatic Ketones. A New Mechanism for Hydrogen Abstraction by Carbonyl n,π and π,π Triplets. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, v. 118(49): pp.12339-12348.

Liao J.-F., S.-Y. Huang, Y.-M. Jan, L.-L. Yu, and C.-F. Chen, "Central inhibitory effects of water extract of *Acori graminei* rhizoma in mice," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 61, no. 3, pp. 185–193, 1998.

Liu L., W. R. Hudgins, S. Shack, M. Q. Yin, and D. Samid, "Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention," *International Journal of Cancer*, vol. 62, no. 3, pp. 345–350, 1995.

Lloyd-Williams P, Jou G¹, González I, Albericio F, Giralt E. Total Synthesis of Dehydrodidemnin B. Use of Uronium and Phosphonium Salt Coupling Reagents in Peptide Synthesis in Solution. *J Org Chem.* 1997 Jan 24;62(2):354-366.

Maddaluno, J. F.; Gresh, N.; Giessner-Prettre, C.; *J. Org. Chem.* 1994, 59, 793; Jones, G. B.; Chapman, B. J.; *Synthesis* 1994, 475.

Mahapatra S. K., S. Bhattacharjee, S. P. Chakraborty, S. Majumdar, and S. Roy, "Alteration of immune functions and Th1/Th2 cytokine balance in nicotine-induced murine macrophages: immunomodulatory role of eugenol and N-acetylcysteine," *International Immunopharmacology*, vol. 11, no. 4, pp. 485–495, 2011.

MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food Chem Toxicol*, v. 65, p. 185-195, 2014.

Manjamalai A. and V. M. B. Grace, "The chemotherapeutic effect of essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour) on lung metastasis developed by B16F-10 cell line in C57BL/6 mice," *Cancer Investigation*, vol. 31, no. 1, pp. 74–82, 2013.

Maralhas A., A. Monteiro, C. Martins et al., “Genotoxicity and endoreduplication inducing activity of the food flavouring eugenol,” *Mutagenesis*, vol. 21, no. 3, pp. 199–204, 2006.

Maria Groh I. A., A. T. Cartus, S. Vallicotti et al., “Genotoxic potential of methyleugenol and selected methyleugenol metabolites in cultured Chinese hamster V79 cells,” *Food and Function*, vol. 3, no. 4, pp. 428–436, 2012.

MARIOTTO, A. B.; YABROFF, K. R.; SHAO, Y.; FEUER, E. J.; BROWN, M. L. Projections of the cost of cancer care in the United States: 2010-2020. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 103, n. 2, p. 117–28, 2011.

Marshall A. D. and Caldwell J., “Influence of modulators of epoxide metabolism on the cytotoxicity of trans-anethole in freshly isolated rat hepatocytes,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 30, no. 6, pp. 467–473, 1992.

Marya C. M., G. Satija, J. Avinash, R. Nagpal, R. Kapoor, and A. Ahmad, “In vitro inhibitory effect of clove essential oil and its two active principles on tooth decalcification by apple juice,” *International Journal of Dentistry*, vol. 2012, Article ID 759618, 6 pages, 2012.

Medina-Holguín A. L., F. Omar Holguín, S. Micheletto, S. Goehle, J. A. Simon, and M. A. O'Connell, “Chemotypic variation of essential oils in the medicinal plant, *Anemopsis californica*,” *Phytochemistry*, vol. 69, no. 4, pp. 919–927, 2008.

Montalbetti, C.A.G.N.; Falque, V.; *Tetrahedron*, 2005, 61, 10827-10852.

Moon E.-Y., M.-R. Lee, A.-G. Wang et al., “Delayed occurrence of H-ras12V-induced hepatocellular carcinoma with long-term treatment with cinnamaldehydes,” *European Journal of Pharmacology*, vol. 530, no. 3, pp. 270–275, 2006.

Moon K. H. and Pack M. Y., “Cytotoxicity of cinnamic aldehyde on leukemia L1210 cells,” *Drug and Chemical Toxicology*, vol. 6, no. 6, pp. 521–535, 1983.

National Toxicology Program, “Toxicology and carcinogenesis studies of isoeugenol (CAS No. 97-54-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies),” *National Toxicology Program Technical Report Series*, vol. 551, pp. 1–178, 2010.

Nakagawa Y., T. Suzuki, K. Nakajima, H. Ishii, and A. Ogata, "Biotransformation and cytotoxic effects of hydroxychavicol, an intermediate of safrole metabolism, in isolated rat hepatocytes," *Chemico-Biological Interactions*, vol. 180, no. 1, pp. 89–97, 2009.

Nakagawa Y. and T. Suzuki, "Cytotoxic and xenoestrogenic effects via biotransformation of trans-anethole on isolated rat hepatocytes and cultured MCF-7 human breast cancer cells," *Biochemical Pharmacology*, vol. 66, no. 1, pp. 63–73, 2003.

Ng L.-T. and Wu S.-J., "Antiproliferative activity of Cinnamomum cassia constituents and effects of pifithrin- α on their apoptotic signaling pathways in Hep G2 cells," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2011, Article ID 492148, 6 pages, 2011.

Ni W.-F., C.-H. Tsai, S.-F. Yang, and Y.-C. Chang, "Elevated expression of NF- κ B in oral submucous fibrosis—evidence for NF- κ B induction by safrole in human buccal mucosal fibroblasts," *Oral Oncology*, vol. 43, no. 6, pp. 557–562, 2007.

Nicolini A, Giardino R, Carpi A, Ferrari P, Anselmi L, Colosimo S, Conte M, Fini M, Giavaresi G, Berti P, et al: Metastatic breast cancer: An updating. *Biomed Pharmacother.* 60:548–556. 2006.

Niknahad H., A. Shuhendler, G. Galati et al., "Modulating carbonyl cytotoxicity in intact rat hepatocytes by inhibiting carbonyl metabolizing enzymes. II. Aromatic aldehydes," *Chemico-Biological Interactions*, vol. 143-144, pp. 119–128, 2003.

NOMURA, E.; KASHIWADA, A.; HOSODA, A.; NAKAMURA, K.; MORISHITA, H.; TSUNOD, T.; Taniguchi, H. Synthesis of Amide Compounds of Ferulic Acid, and Their Stimulatory Effects on Insulin Secretion In Vitro. *Bioorg. Med. Chem.* 2003, v. 11 (17) pp. 3807– 3813

NOMURA, E.; KASHIWADA, A.; HOSODA, A.; NAKAMURA, K.; MORISHITA, H.; TSUNOD, T.; Taniguchi, H. Synthesis of Amide Compounds of Ferulic Acid, and Their Stimulatory Effects on Insulin Secretion In Vitro. *Bioorg. Med. Chem.* 2003, v. 11 (17) pp. 3807– 3813

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European journal of biochemistry*, v.267, p.5421 - 5426, 2000.

Oehler B., A. Scholze, M. Schaefer, and K. Hill, "TRPA1 is functionally expressed in melanoma cells but is not critical for impaired proliferation caused by allyl isothiocyanate or cinnamaldehyde," *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, vol. 385, no. 6, pp. 555–563, 2012.

Ogiwara T., K. Satoh, Y. Kadoma et al., "Radical scavenging activity and cytotoxicity of ferulic acid," *Anticancer Research*, vol. 22, no. 5, pp. 2711–2717, 2002.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. & VYVYAN, J. R. Introdução à espectroscopia. Tradução da 4^oed. São Paulo-SP: Cengage Learning, 2010.

Pal D., S. Banerjee, S. Mukherjee, A. Roy, C. K. Panda, and S. Das, "Eugenol restricts DMBA croton oil induced skin carcinogenesis in mice: downregulation of c-Myc and H-ras, and activation of p53 dependent apoptotic pathway," *Journal of Dermatological Science*, vol. 59, pp. 31–39, 2010.

Park B. S., Y. S. Song, S.-B. Yee et al., "Phospho-ser 15-p53 translocates into mitochondria and interacts with Bcl-2 and Bcl-xL in eugenol-induced apoptosis," *Apoptosis*, vol. 10, no. 1, pp. 193–200, 2005.

Park C. H., K. H. Kim, I. K. Lee et al., "Phenolic constituents of *Acorus gramineus*," *Archives of Pharmacal Research*, vol. 34, no. 8, pp. 1289–1296, 2011.

Perry L. M., *Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses*, The MIT Press, Cambridge, Mass, USA, 1980.

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*, v. 311, n. 5762, p. 808-811, 2006.

Pisano M., G. Pagnan, M. Loi et al., "Antiproliferative and pro-apoptotic activity of eugenol-related biphenyls on malignant melanoma cells," *Molecular Cancer*, vol. 6, article 8, 2007.

POLLINA, E. A.; LEGESSE-MILLER, A.; HALEY, E. M.; et al. Regulating the angiogenic balance in tissues. *Cell cycle*, v. 7, n. 13, p. 2056–70, 2008.

Richard, D., Mirela, A., Edmond, L., Felice, L., Ruiwu L., Kit L., Mark K., Highly Potent, Water Soluble Benzimidazole Antagonist for Activated $\alpha 4\beta 1$ Integrin. *J. Med. Chem.*, 50, 5863–5867, 2007

Rubens RD: 7. Management of advanced breast cancer. *Int J Clin Pract.* 55:676–679. 2001.

Satoh K., Y. Ida, H. Sakagami, T. Tanaka, and S. Fujisawa, “Effect of antioxidants on radical intensity and cytotoxic activity of eugenol,” *Anticancer Research*, vol. 18, no. 3 A, pp. 1549–1552, 1998.

Satooka H. and I. Kubo, “Effects of eugenol on murine B16-F10 melanoma cells,” in *Proceedings of the 238th ACS National Meeting*, pp. 16–20, Washington, DC, USA, 2009.

Sgarbossa A, Giacomazza D and di Carlo M: Ferulic Acid: A hope for Alzheimer's disease therapy from plants. *Nutrients.* 7:5764–5782. 2015.

Shaughnessy D. T., R. W. Setzer, and D. M. DeMarini, “The antimutagenic effect of vanillin and cinnamaldehyde on spontaneous mutation in *Salmonella* TA104 is due to a reduction in mutations at GC but not AT sites,” *Mutation Research—Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 480-481, pp. 55–69, 2001.

Silyanovska K., S. Stoichev, and C. Nachev, “Cytotoxic effect of essential oils and their individual components. II. Oxygen-containing compounds excluding alcohols,” *Parfuemerie und Kosmetik*, vol. 50, pp. 257–260, 1969

Shi ZH, Li NG, Shi QP, Tang H, Tang YP, Li W, Yin L, Yang JP, Duan JA. Design, synthesis and biological evaluation of ferulic Acid amides as selective matrix metalloproteinase inhibitors. *Med Chem.* 2013;9(7):947-54.

Siewert B, Pianowski E, Csuk R. Esters and amides of maslinic acid trigger apoptosis in human tumor cells and alter their mode of action with respect to the substitution pattern at C-28. *Eur J Med Chem.* 2013;70:259-72.

SRINIVASAN, M.; SUDHEER, A. R.; MENON, V. P. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr*, v. 40, p. 92-100, 2007.

Slameňová D., E. Horváthová, L. Wsólová, M. Šramková, and J. Navarová, “Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines,” *Mutation Research—Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 677, no. 1-2, pp. 46–52, 2009.

Soares V. C. G., C. Bonacorsi, A. L. B. Andrela et al., "Cytotoxicity of active ingredients extracted from plants of the Brazilian 'Cerrado'," *Natural Product Communications*, vol. 6, no. 7, pp. 983–984, 2011.

SOLOMONS, T.W. GRAHAM. Química Orgânica - Vol. 1 - 10ª Ed. 2012.

SONG, Y. H.; KIM, D. W.; CURTIS-LONG, M. J.; YUK, H. J.; WANG, Y.; ZHUANG, N.; LEE, K. H.; JEON, K. S.; PARK, K. H. Papain-Like Protease (PLpro) Inhibitory Effects of Cinnamic Amides from *Tribulus terrestris* Fruits. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2014, v. 37(6), pp. 1021–1028.

Stammati A., P. Bonsi, F. Zucco, R. Moezelaar, H.-L. Alakomi, and A. Von Wright, "Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 37, no. 8, pp. 813–823, 1999.

STEEG, P. S. Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells. *Nature reviews. Cancer*, v. 3, n. 1, p. 55–63, 2003.

Su Y.-C. and C.-L. Ho, "Composition, in-vitro anticancer, and antimicrobial activities of the leaf essential oil of *Machilus mushaensis* from Taiwan," *Natural Product Communications*, vol. 8, no. 2, pp. 273–275, 2013. Stoichev S., G.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J.M. Assays related to cancer drug discovery. In: Hostettmann K. Editor. *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*. London: Academic Press; 1990: 71–133.

Suzuki Y., K. Sugiyama, and H. Furuta, "Eugenol-mediated superoxide generation and cytotoxicity in guinea pig neutrophils," *Japanese Journal of Pharmacology*, vol. 39, no. 3, pp. 381–386, 1985.

Tangke Arung E., E. Matsubara, I. Wijaya Kusuma, E. Sukaton, K. Shimizu, and R. Kondo, "Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells," *Fitoterapia*, vol. 82, no. 2, pp. 198–202, 2011.

UEDA, S.; OKADA, T.; NAGASAWA, H. Oxindole synthesis by palladium-catalysed aromatic C–H alkenylation. *Chem. Commun.* 2010, v. 46: pp. 2462–2464.

URBANIAK, A.; SZELA, M.; MOLSKI, M. Theoretical investigation of stereochemistry and solvent influence on antioxidant activity of ferulic acid. *Computational and Theoretical Chemistry*, v.1012, p.33–40, 2013.

Uwai K, Osanai Y, Imaizumi T, Kanno S, Takeshita M, Ishikawa M. Inhibitory effect of the alkyl side chain of caffeic acid analogues on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages. *Bioorg Med Chem*. 2008; 16(16):7795-803.

VALEUR, E & BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev*. 2009, v.38(2): pp.606-631.

Vanneman M and Dranoff G: Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nat Rev Cancer*. 12:237–251. 2012.

VLACHOS, N.; SKOPELITIS, Y.; PSAROUDAKI, M.; KONSTANTINIDOU, V.; CHATZILAZAROU, A.; TEGOU, E. Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Anal. Chim. Acta*, v. 573-574, p. 459-465, 2006.

Von Roon AC, Reese G, Teare J, Constantinides V, Darzi AW, Tekkis PP. The risk of cancer in patients with Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*. 2007;50:839–855.

Yang GW, Jiang JS, Lu WQ. Ferulic Acid Exerts Anti-Angiogenic and Anti-Tumor Activity by Targeting Fibroblast Growth Factor Receptor 1-Mediated Angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2015;16(10):24011-31.

Yardley DA: Visceral disease in patients with metastatic breast cancer: Efficacy and safety of treatment with ixabepilone and other chemotherapeutic agents. *Clin Breast Cancer*. 10:64–73. 2010.

Yu F.-S., A.-C. Huang, J.-S. Yang et al., "Safrole induces cell death in human tongue squamous cancer SCC-4 cells through mitochondria-dependent caspase activation cascade apoptotic signaling pathways," *Environmental Toxicology*, vol. 27, no. 7, pp. 433–444, 2012.

Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel Filho V 2001. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quím. Nova* 24: 147-152.

Wagner JDA 2002. A importância dos produtos de origem natural no atendimento à saúde. *Fórum de Debates – Fitomedicamentos e Produtos Naturais*. São Paulo, Brasil.

Wang T, Gong X, Jiang R, Li H, Du W, Kuang G. Ferulic acid inhibits proliferation and promotes apoptosis via blockage of PI3K/Akt pathway in osteosarcoma cell. *Am J Transl Res*. 2016 15;8(2):968-80.

WANG, B.; ZHENG, A. A photo-sensitive protecting group for amines based on coumarin chemistry. *Chem. Pharm. Bull.* 1997, v. 45(4), pp.715-718.

WANG, J.; LIAO, C.; HU, W.; SHEN, H. Synthesis of 2-(4-aminophenyl) benzothiazole derivatives and use thereof. US20120215154 A1. Taiwan. 23 ago. 2012.

WU, J.; WU, Y.; DAI, J.; XU, H. Benzoic Acid-Catalyzed Transamidation Reactions of Carboxamides, Phthalimide, Ureas and Thioamide with Amines. *Adv. Synth. Catal.* 2014, v. 356, (11-12): pp. 2429-2436.

Wu S.-J., L.-T. Ng, and C.-C. Lin, "Cinnamaldehyde-induced apoptosis in human PLC/PRF/5 cells through activation of the proapoptotic Bcl-2 family proteins and MAPK pathway," *Life Sciences*, vol. 77, no. 8, pp. 938–951, 2005.

Zhang P., E. Zhang, M. Xiao, C. Chen, and W. Xu, "Enhanced chemical and biological activities of a newly biosynthesized eugenol glycoconjugate, eugenol α -D-glucopyranoside," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 97, no. 3, pp. 1043–1050, 2013.

Zhang J.-H., L.-Q. Liu, Y.-L. He, W.-J. Kong, and S.-A. Huang, "Cytotoxic effect of trans-cinnamaldehyde on human leukemia K562 cells," *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 31, no. 7, pp. 861–866, 2010.

Zhang Y., Yang X. Y., Kunag Z. S., and C. Xiao, "Inhibitory effect of cinnamic acid germanium on growth of uterocervical carcinoma (U14) cells in mice," *Linchuang Yu Shiyan Binglixue Zazhi*, vol. 26, pp. 467–470, 2010.

Zhang L. P. and Z. Z. Ji, "Synthesis, antiinflammatory and anticancer activity of cinnamic acids, their derivatives and analogues," *Acta Pharmaceutica Sinica*, vol. 27, no. 11, pp. 817–823, 1992.

ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M. H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*, v. 109, p. 691-702, 2008.

Zolotovitch, C. Nachev, and K. Silyanovska, "Cytotoxic effect of phenols, phenol ethers, furan derivatives, and oxides isolated from essential oils," *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, vol. 20, pp. 1341–1344, 1967.