



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA NÍVEL MESTRADO

BRUNO HANRRY MELO DE OLIVEIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO ($\pm$)4-O-DEMETILKADSURENINA M, E
SEUS ANÁLOGOS

JOÃO PESSOA
2019

BRUNO HANRRY MELO DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO (±)4-O-DEMETILKADSURENINA M, E
SEUS ANÁLOGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia aplicada à saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues

JOÃO PESSOA

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

O48s Oliveira, Bruno Hanrry Melo de.
Síntese e avaliação biológica do
<i>(±)4-O-DEMETILKADSURENINA M</i>, e seus análogos /
Bruno Hanrry Melo de Oliveira. - João Pessoa, 2019.
68 f.

Orientação: Luis Cezar Rodrigues.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBiotec.

1. Produtos Naturais. 2. Neolignanas. 3. Síntese de
bioativos. I. Rodrigues, Luis Cezar. II. Título.

UFPB/BC CDU 547.9(043)

BRUNO HANRRY MELO DE OLIVEIRA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DO (±)4-O-DEMETILKADSURENINA M, E
SEUS ANÁLOGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia aplicada à saúde.

Aprovada em: 27/11/2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues (Orientador)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dr. Kristerson Reinaldo de Luna Freire

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

AGRADECIMENTOS

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

Ao meu orientador, o professor Dr. Luis Cezar Rodrigues, pelo empenho, paciência e apoio dedicado à elaboração deste trabalho, assim como pelas suas correções e incentivos.

Desejo igualmente agradecer a todos os meus colegas do laboratório de síntese orgânica, especialmente ao Flávio V. P. Borges, Luiz André A. Silva, Fernando F. Leite, Thales M. Dourado assim como todos os demais, cujo o apoio e a amizade estiveram sempre presentes em todos os momentos.

Agradeço também aos funcionários da Universidade Federal da Paraíba, que foram sempre prestativos.

Por último, quero agradecer a minha família e amigos pelo apoio incondicional que me foi dado, especialmente aos meus pais e minha esposa Nathalia, que me acompanharam durante essa incrível e importante jornada da minha vida.

RESUMO

Uma classe importante de moléculas naturais biologicamente ativas são os lignóides, moléculas formadas exclusivamente pelo acoplamento de grupos fenilpropânicos (C6-C3)_n, onde 'n' é restrito a poucas unidades, 1,2,3 etc. Como exemplos de lignóides temos as lignanas, neolignanas, alolignanas, oligolignóides e heterolignóides. Esse trabalho traz uma abordagem às neolignanas que juntamente com as lignanas representam 90% dos lignóides descritos na literatura. As neolignanas possuem uma diversidade estrutural enorme, a própria natureza nos oferece uma variedade muito grande desses compostos, ademais, olhando de um ponto de vista químico, várias neolignanas já foram utilizadas como produto inicial para a síntese de derivados de produtos naturais com diversos objetivos, tais como, otimizar a atividade do produto e estudar a relação estrutura-atividade. Essas moléculas também possuem inúmeras atividades farmacológicas descritas na literatura, como atividades antitumoral, antibacteriana, antimicobacteriana, tripanossomicida, esquistossomicida, leishmanicida, etc. Existem várias maneiras para sintetizar esses tipos de compostos em laboratório, como por exemplo, os acoplamentos oxidativos obtidos através de FeCl₃, Ag₂O, peróxidos, entre outros. Dessa forma o objetivo deste trabalho foi sintetizar substâncias da classe neolignanas para a realização da avaliação biológica das mesmas em células tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica aguda), HCT-116 (carcinoma colorretal humano), MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano), K562 (leucemia mielóide crônica) e a linhagem não tumoral L929 (fibroblasto murino), e também nas linhagens bacterianas *Escherichia Coli* UFPEDA224, *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

Palavras-chave: Síntese de bioativos; Neolignanas; atividade antitumoral; atividade antimicrobiana

ABSTRACT

An important class of biologically active natural molecules are lignoids, molecules formed exclusively by the coupling of phenylpropanic groups (C₆-C₃)_n, where 'n' is restricted to a few units, 1,2,3 etc. Examples of lignoids include lignans, neolignans, allolignans, oligolignoids and heterolignoids. This paper presents an approach to neolignans that together with lignans represent 90% of the lignoids described in the literature. Neolignans have a huge structural diversity, nature itself offers us a very wide variety of these compounds, besides, from a chemical point of view, and several neolignans have already been used as starting material for the synthesis of derivatives of natural products with various purposes, such as optimizing product activity and studying the structure-activity relationship. These molecules also have numerous pharmacological activities described in the literature, such as antitumor, antibacterial, antimycobacterial, trypanosomicide, schistosomicide, leishmanicide, etc. activities. There are several ways to synthesize these types of compounds in the laboratory, such as oxidative couplings obtained through FeCl₃, Ag₂O, peroxides, among others. Thus, the objective of this study was to synthesize neolignan substances for the biological evaluation of them in human tumor cells HL-60 (acute promyelocytic leukemia), HCT-116 (human colorectal carcinoma), MCF-7 (human mammary adenocarcinoma), K562 (chronic myeloid leukemia) and non-tumor lineage L929 (murine fibroblast), as well as bacterial strains *Escherichia Coli* UFPEDA224, *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 and *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

Keywords: Bioactive synthesis; Neolignans; antitumor activity; antimicrobial activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas benzofurânicas.....	11
Figura 2. Estrutura Acuminatin, Kdsurenin M, Licarinediol A, Eupomatenóide 7	12
Figura 3. Representação do grupo fenilpropânico (C6-C3).....	13
Figura 4. Esqueletos clássicos de lignanas	14
Figura 5. Esqueletos clássicos de neolignanas	15
Figura 6. Proposição Biosintética	16
Figura 7. Adição do isoeugenol e peróxido de hidrogênio à água de coco	23
Figura 8. Extração, redução e purificação	23
Figura 9. Lavagem do precipitado	24
Figura 10. Pesagem e reação com o CAN	25
Figura 11. Espectro de ^1H da ($\pm$)Licarina A	32
Figura 12. Espectro de ^{13}C da ($\pm$)Licarina A	33
Figura 13. Espectro de ^1H do ($\pm$)-4-O-DemethylKadsurenina M	35
Figura 14. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)-4-O-DemethylKadsurenina M.....	36
Figura 15. Espectro de ^1H da ($\pm$)-Acuminatin	38
Figura 16. Espectro de ^{13}C da ($\pm$)-Acuminatin	39
Figura 17. Espectro de ^1H do ($\pm$)-Kadsurenina M	41
Figura 18. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)-Kadsurenina M.....	42
Figura 19. Espectro de ^1H do ($\pm$)Licarinediol A	44
Figura 20. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)Licarinediol A.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Metodologia utilizada no acoplamento oxidativo do isoeugenol	22
Tabela 2. Efeito das substâncias: (±)4-O-DEMETILKADSURENINA M (2); (±)ACUMINATIN (3); (±)KADSURENINA M (4) e (±) LICARINEDIOL A (5) na viabilidade das células tumorais MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 h de tratamento	47
Tabela 3. Efeito da substância (±) LICARINEDIOL A (5), na viabilidade das células não tumorais PBMC e L929, após 72 h de tratamento	47
Tabela 4. Concentração inibitória mínima dos compostos: (±) LICARINA A; (±)4-O-DEMETILKADSURENINA M; (±)ACUMINATIN; (±)LICARINEDIOL A e (±)KADSURENINA M, após 48h de teste	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Comparação do espectro de RMN ¹³ C da (±)Licarina A com a literatura	34
Quadro 2. Comparação do espectro de RMN ¹³ C da (±)-4-O-DemethylKadsurenina M, com a literatura.....	37
Quadro 3. Comparação do espectro de RMN ¹³ C do (±)-Acuminatin, com a literatura.....	40
Quadro 4. Comparação do espectro de RMN ¹³ C do (±)-Kadsurenina M, com a literatura.....	43
Quadro 5. Comparação do espectro de RMN ¹³ C do (±)Licarinediol A, com a literatura.....	46

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Efeito da substância ($\pm$)4-O-DEMETILKADSURENINA M na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento	47
Gráfico 2. Efeito da substância ($\pm$)ACUMINATIN na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento	48
Gráfico 3. Efeito da substância ($\pm$)KADSURENINA M na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento	49
Gráfico 4. Efeito da substância ($\pm$) LICARINEDIOL A na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento	20
Gráfico 5. Efeito da substância ($\pm$)LICARINEDIOL A na viabilidade das células L929 e PBMC, após 72 horas de tratamento.....	51
Gráfico 6. Efeito da substância ($\pm$)LICARINA A, após 48 horas de teste	52
Gráfico 7. Efeito da substância ($\pm$)4-O-DEMETILKADSURENINA M, após 48 horas de teste	53
Gráfico 8. Efeito da substância ($\pm$)ACUMINATINA, após 48 horas de teste	54
Gráfico 9. Efeito da substância ($\pm$)LICARINEDIOL A, após 48 horas de teste.....	55
Gráfico 10. Efeito da substância ($\pm$)KADSURENINA M, após 48 horas de teste	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Lignanas e Neolignanas.....	14
1.2 Síntese por acoplamento oxidativo	17
1.3 Câncer	18
1.4 Infecções bacterianas	19
2. JUSTIFICATIVA.....	20
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Síntese	22
4.2 Atividades antitumorais	30
4.3 Atividades antibacteriana	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Síntese	34
5.2 Antitumoral	49
5.3 Antibacteriano	53
6. CONCLUSÃO	59
REFERENCIAS.....	60
ANEXOS	65

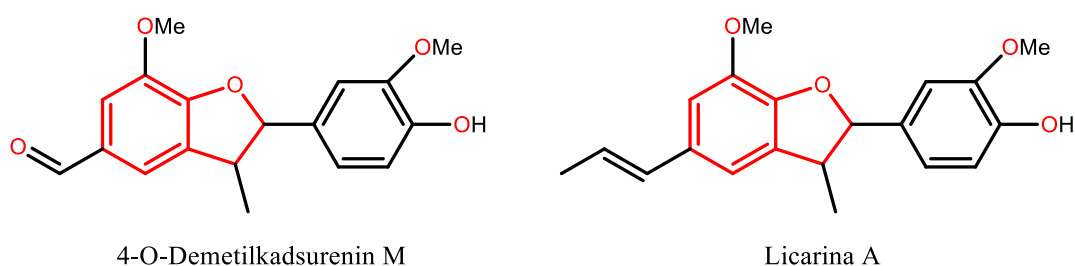
1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são uma fonte importante de compostos inovadores utilizados para as mais diversas finalidades, no campo da saúde destaca-se o grande número de medicamentos comercializados que são produzidos inspirados em produtos naturais ou de seus derivados (NEWMAN; CRAGG, 2007).

No entanto, a extração de compostos de origem natural diretamente dos organismos vivos, não é a única maneira de se obter estes compostos. A química orgânica sintética e a síntese total de produtos naturais, possibilitam a produção destes compostos sem necessariamente utilizar vias predatórias extrativistas, reduzindo a possibilidade de esgotamento de determinado recurso natural, logo estas sínteses são ferramentas de extrema importância no desenvolvimento de medicamentos, assim como no desenvolvimento de drogas biologicamente ativas (BARAN, 2018; GILTRAP, 2018).

O 4-O-DemetilKadsurenina M e a Licarina A (Figura 1) são moléculas naturais, neolignan, que possui em seu esqueleto uma estrutura benzofurânica, e que apresenta diversas atividades biológicas, das quais cita-se, atividades antitumoral, antibacteriana, antimicobacteriana, tripanossomicida, esquistossomicida, leishmanicida, etc, além de estar envolvida na indução de apoptose pela ativação de caspases 3 (OLIVEIRA, 2015; LEÓN-DÍAZ; et al, 2010; PARK; et al, 2004).

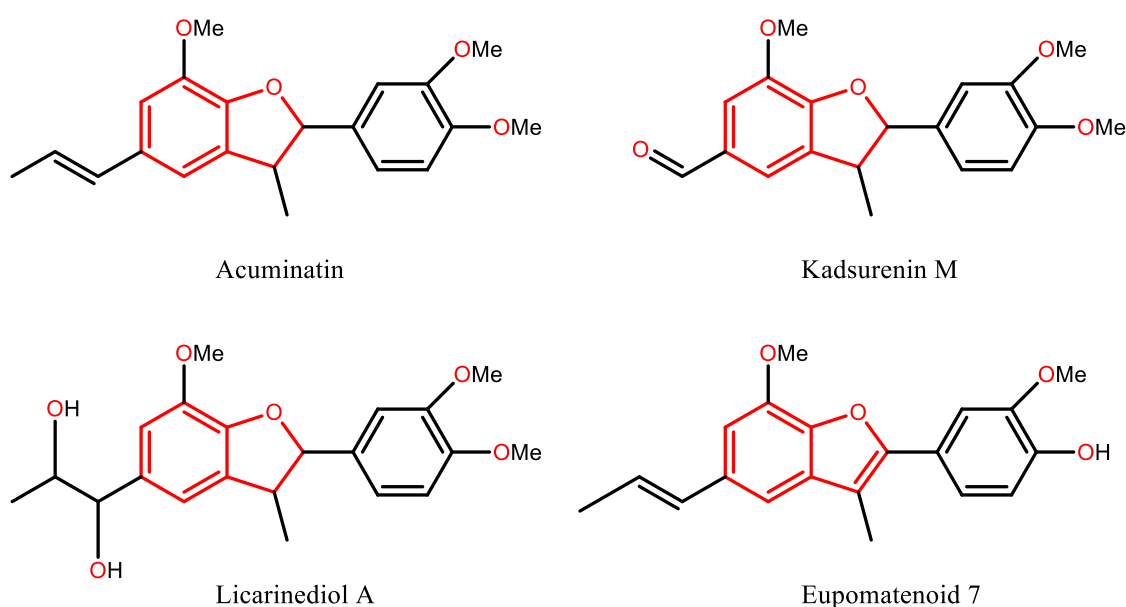
Figura 1. Estruturas benzofurânicas.



Fonte: autor (2019).

Na literatura é possível encontrar diversas moléculas com o mesmo grupo benzofurânico, e as mesmas possuem diversas atividades biológicas relacionadas. Como exemplos dessas moléculas (figura 2), cita-se o Acuminatin, Kdsurenin M, Licarinediol A, Eupomatenóide 7, entre outros (BANERJEE, 2005; LADEIRA MACED, 2017; SUN, 2019).

Figura 2. Estrutura do Acuminatin, Kdsurenin M, Licarinediol A, Eupomatenóide 7



Fonte: autor (2019).

Recentemente moléculas naturais e seus derivados sintéticos, são comumente utilizados em testes pré-clínicos e clínicos, em diversas áreas da saúde, nesse trabalho destaca-se a utilização dessas moléculas como agentes antitumorais e antibacterianos, em virtude da grande problemática atual com relação ao câncer, que só no Brasil estima-se a ocorrência de 600 mil novos casos de câncer por ano e também no tocante a resistência bacteriana às drogas existentes (AGARWAL, 2019; INC, 2017).

Estudos recentes mostram que diversas bactérias patogênicas que são resistentes a múltiplos fármacos, são sensíveis a uma variedade de óleos

essenciais em concentrações consideradas baixas, o que torna promissor o estudo de moléculas naturais e seus análogos sintéticos como agentes antibacterianos (WILLING, 2018).

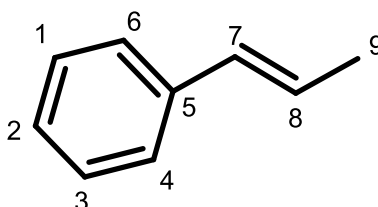
Baseado na importância dessas moléculas, especialmente os compostos com núcleo benzofurânico, e a dificuldade de obtenção dos mesmos por vias naturais, surge a seguinte problemática: Como sintetizar compostos com esse núcleo e seus derivados de maneira mais simples e menos onerosa, seja financeiramente ou com relação aos recursos utilizados, para permitir a possível descoberta de compostos com grande potencial farmacológico?

Para atender a esta problemática faz-se necessário identificar e desenvolver novas rotas sintéticas para estes compostos e seus derivados, assim como realizar testes biológicos com estas estruturas buscando alcançar atividades biológicas iguais, semelhantes ou potencialmente superior às dos compostos naturais (BRITO; et al, 2018; LEMOS, 2012;).

1.1 Lignanas e Neolignanas

Lignanas e neolignanas representam 90% dos lignóides descritos na literatura. Os lignóides são micromoléculas formadas exclusivamente pelo acoplamento de grupos fenilpropânicos (C_6-C_3)_n (figura 3), sendo n restrito a poucas unidades 1,2,3 etc. (SIMÕES, 2010).

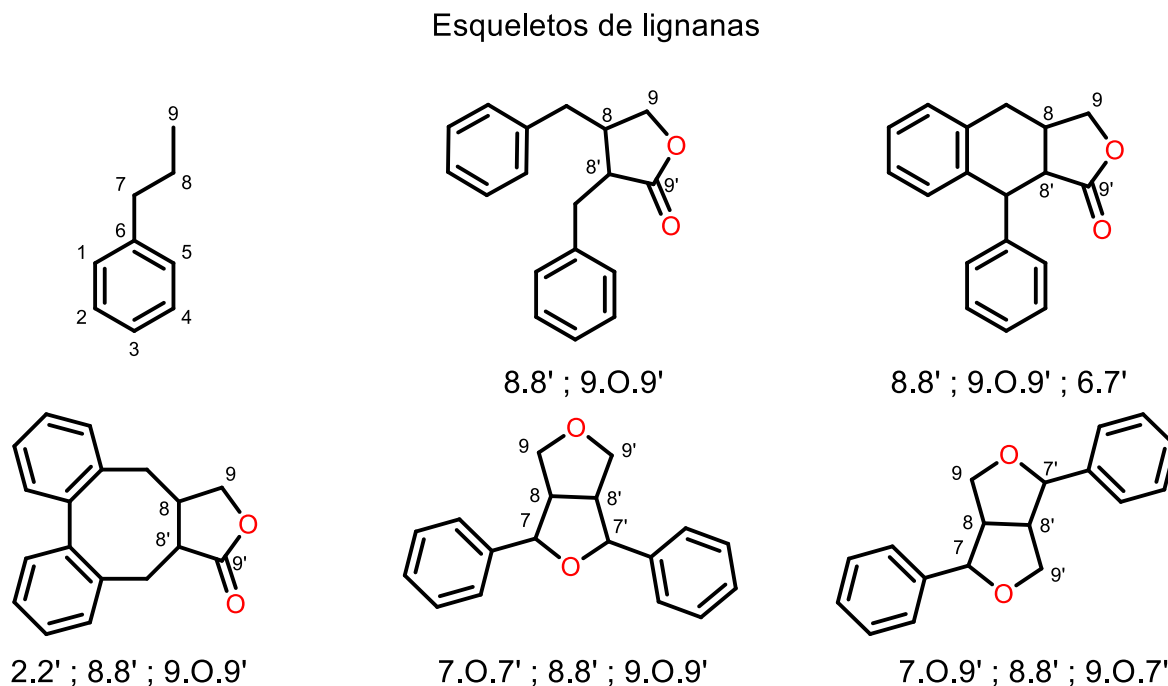
Figura 3. Representação do grupo fenilpropânico (C_6-C_3).



Fonte: autor (2019).

As lignanas por sua vez são formadas pelo acoplamento oxidativo de álcoois cinâmicos entre si ou pelo acoplamento oxidativo de álcoois cinâmicos com ácidos cinâmicos formando dímeros que apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado (figura 4) (SIMÕES, 2010).

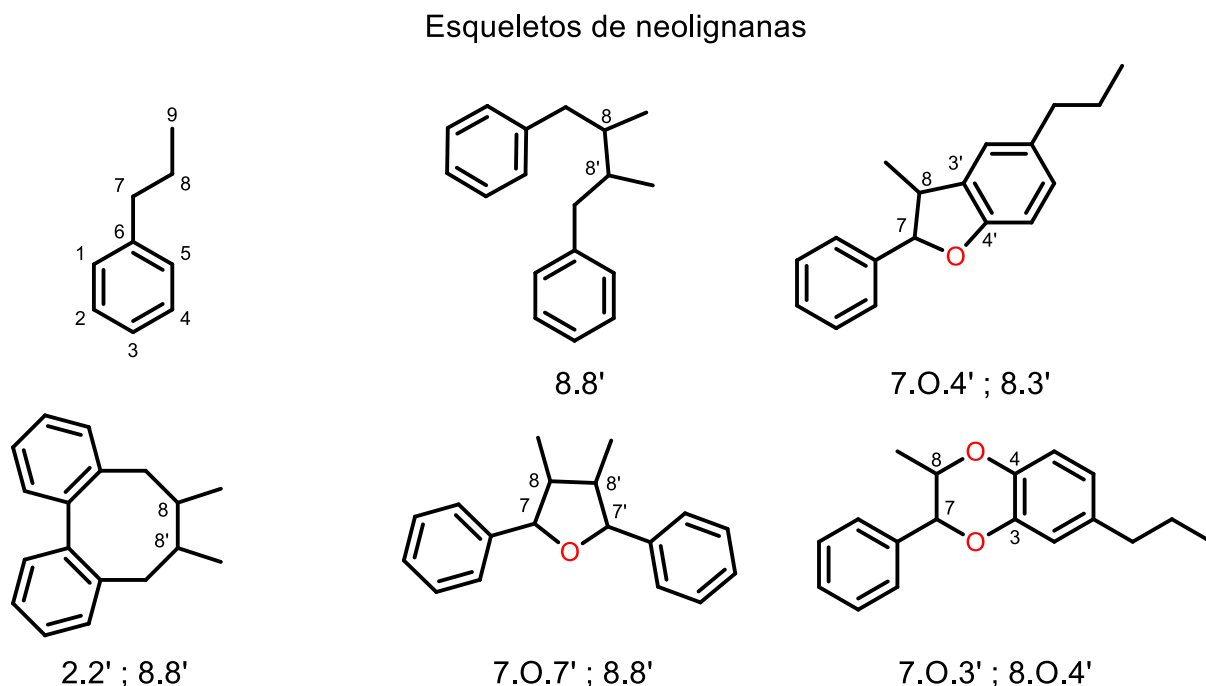
Figura 4. Esqueletos clássicos de lignanas.



Fonte: Simões, 2010;

Enquanto as neolignanas são formadas pelo acoplamento oxidativo de propenil fenóis, podendo o acoplamento acontecer cruzado ou entre si, formando dímeros que não apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado, como pode-se observar na figura 5 abaixo. Ainda com relação ao grupo dos lignóides temos as alolignanas, norlignanas, oligolignóides e heterolignóides (COSTA, 1998; SIMÕES, 2010).

Figura 5. Esqueletos clássicos de neolignanas.



Fonte: Simões, 2010;

A formação desses esqueletos estruturais das lignanas e neolignanas pode ser explicada pelo acoplamento oxidativo entre as unidades radicalares monoméricas, que podem apresentar várias estruturas de ressonância e dependendo da posição dos acoplamentos oxidativo entre os radicais formados, um determinado tipo estrutural de lignóides é originado (SIMÕES, 2010).

Apesar de serem formadas por duas unidades fenilpropanóides (C_6-C_3) as lignanas e neolignanas possuem uma diversidade estrutural enorme, a própria natureza nos oferece uma variedade muito grande desses compostos, e olhando de um ponto de vista químico, várias lignanas e neolignanas foram utilizadas como produtos iniciais na síntese de derivados destes produtos naturais com diversos objetivos, tais como, otimizar a atividade e estudar a relação estrutura-atividade (APERS; VLIETINCK; PIETERS, 2003).

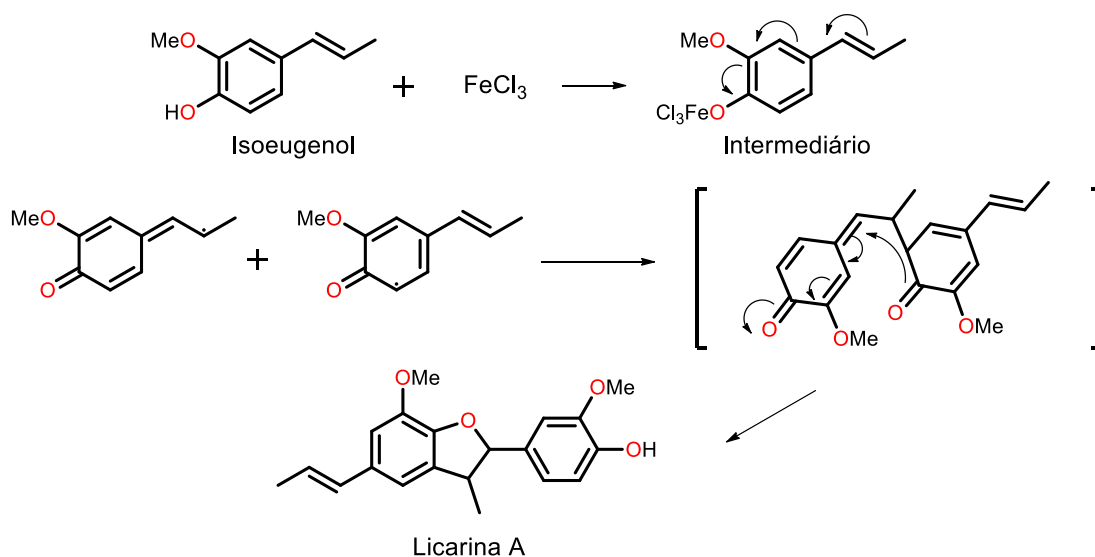
1.2 Síntese por acoplamento oxidativo

Em laboratório pode-se sintetizar essas substâncias benzofurânicas de diversas maneiras, uma delas, é através do acoplamento oxidativo, que pode ser realizado de formas variadas, como descrito a seguir. Pode-se utilizar enzimas peroxidases presentes em água de coco por exemplo, onde a oxidação do substrato é realizada por meio da redução do ferro que está presente na reação, seguida da reativação da enzima, onde o ferro será reoxidado e o peróxido de hidrogênio será decomposto na água, pode-se ainda utilizar Ag_2O , Nitrato de Amônio Cérico (NAC ou CAN do inglês) e também via Cloreto de ferro (III) (FeCl_3) (RODRIGUES, 2017; ZAO; JOHANNES, 2012; Jin, 2010; CHEN, 2013).

O FeCl_3 , no entanto, é largamente aplicado na química orgânica por ser um ácido de Lewis ideal, estável, barato, eficiente e bastante conveniente para diversas reações, principalmente para acoplamentos oxidativos, além disso, o FeCl_3 também é considerado um catalisador ecológico, uma vez que geralmente proporciona rendimentos excelentes e que ocorrem em apenas uma etapa (DIAZ et al, 2006).

Através do Cloreto de ferro (III), o acoplamento oxidativo acontece seguindo o mecanismo proposto por MARDHATILLAH; MUTAKIN e LEVITA, em 2016, como mostra a figura 6 a seguir.

Figura 6. Mecanismo proposto para o acoplamento oxidativo via FeCl_3 .



Fonte: Mardhatillah; Mutakin e Levita, 2016

1.3 Câncer

Estima-se que 12% de todos os óbitos no mundo são causados por câncer, e que mais de 7 milhões de pessoas morrem por ano, acometidos por esta doença, portanto o câncer é considerado um problema de saúde pública no mundo. Essa patologia é caracterizada de forma bem sucinta, pela divisão descontrolada de células, produzindo células anormais e desorganizadas (INSTITUTO NACIONAL DO CANCER, 2006).

Dentre os tipos de câncer pode-se citar a leucemia promielocítica aguda (LPA), que é um subtipo de leucemia mielóide que se caracteriza por uma coagulopatia frequente associada a hemorragias espontâneas e a infiltração de promielócitos displásicos na medula óssea e possui um alto risco de morte (CICCONI, 2018).

O câncer colorretal, que está entre os mais comuns do mundo e representa um alto número de mortes (DAVIS, 2018), o adenocarcinoma mamário, atualmente o tipo de câncer mais comumente diagnosticado, representando a principal causa de morte por câncer em mulheres (MATHIAS, 2019) e a leucemia mielóide crônica, um distúrbio mieloproliferativo caracterizado pelo crescimento desregulado e aumentado das células mielóides na medula óssea e também pelo acúmulo destas células no sangue (BOSI, 2019).

Na atualidade os tratamentos para essas doenças incluem imunoterapia, quimioterapia, radioterapia, quimioterapia, cirurgia, entre outros. Entretanto estes tratamentos possuem algumas desvantagens importantes, como por exemplo, a quimioterapia tradicional, que vem sendo associada a efeitos adversos sistêmicos graves, assim como a cirurgia de alguns tumores, que não evita uma alta taxa de recorrência (ZHANG, 2018).

Além dos fatores acima, pode-se citar o problema da resistência terapêutica, desenvolvida por diversos tipos de câncer aos tratamentos clínicos. Em muitos casos estes cânceres exibem resistência intrínseca à quimioterapia diminuindo a eficiência do tratamento e, portanto, existe uma necessidade de identificar novas terapias, incluindo o desenvolvimento de novas drogas que sejam eficazes e acessíveis (NIKOLAOU, 2018).

1.4 Infecções bacterianas

Recentemente a organização mundial de saúde (OMS) destacou as infecções bacterianas como uma das principais causas de morte em crianças e jovens em todo o mundo. O método mais utilizado para controlar infecções bacterianas em humanos, plantas e animais, nos últimos 60 anos, tem sido através do uso de antimicrobianos. (KHARDORI, 2018; VAN DUIJKEREN, 2018).

No entanto a resistência desses microrganismos a diversas drogas aumentou drasticamente nos últimos anos, e em todo o mundo estes patógenos já são reconhecidos como uma grande ameaça, principalmente cepas oportunistas como exposto a seguir (BASSETTI, 2018; MELLATA, 2018; CROXEN, 2010; OLIVEIRA, 2018; AZAN. 2019).

Bactérias, como a *Echerichia Coli*, são normalmente encontradas no trato gastrointestinal em humanos e animais, e geralmente são inofensivas, no entanto, algumas cepas são capazes de causar infecções, tanto no trato gastrointestinal como no trato urinário, sistema nervoso central e até mesmo na corrente sanguínea (MELLATA, 2018; CROXEN, 2010).

Além da *E. Coli* outra bactéria que também possui potencial para causar infecções graves é a *Staphylococcus aureus*, que normalmente está presente na pele e nas membranas nasais dos humanos. As infecções causadas por esse patógeno vêm crescendo a cada ano, e o surgimento de cepas multirresistentes desse microrganismo, dificulta cada vez mais o tratamento destas infecções (OLIVEIRA, 2018).

Pode-se ainda citar a *Pseudomonas aeruginosa*, um patógeno oportunista que também causa infecções e doenças, não só em humanos, como em plantas e animais. A resistência desse microrganismo aos medicamentos também é preocupante. (AZAN. 2019; BASSETTI, 2018).

Nesse sentido o crescente quadro de resistência bacteriana às drogas já existentes no mercado faz com que o desenvolvimento de novas substâncias, seja por vias naturais extrativistas ou mesmo por síntese em laboratório, seja essencial no tratamento dessas infecções (BASSETTI, 2018).

2. JUSTIFICATIVA

Os compostos alvos de nosso projeto apresentam em sua maioria possíveis atividades antitumoral, antimicrobiano, antiparasitário, entre outras. Como sabemos muitas destas enfermidades são negligenciadas pela indústria farmacêutica, principalmente quando se trata de doenças causadas por agentes tropicais, como zica, tuberculose, cólera, leishmaniose entre outras. Neste sentido, todo esforço na descoberta e desenvolvimento de novas moléculas bioativas com potencial ação terapêutica para estas enfermidades são altamente bem-vindas (BERMUDI, 2017; NUNES, 2016; OLIVEIRA, 2016).

Atualmente os métodos de síntese total de algumas destas neolignanas e análogos são descritos na literatura com rotas complexas, necessitando várias etapas reacionais para se chegar ao produto desejado conferindo um elevado custo de obtenção e reduzido rendimento, o que leva a se equiparar com as dificuldades já conhecidas da obtenção via extrativismo natural (TZENG; LIU, 2004).

Dessa forma a síntese de neolignanas e seus análogos por uma rota sintética inédita, econômica e eficiente, se justifica por todos os fatores já expostos e principalmente devido a diversidade de atividades biológicas presente nestas classes de compostos, que foram testadas em colaboração com outros laboratórios, permitindo não apenas a descoberta de compostos importantes farmacologicamente, como também permitindo um vasto conhecimento sobre estas moléculas que vão muito além das rotas sintéticas e metodologias propostas para as mesmas, além disto, estas informações além de enriquecer a comunidade e literatura científica tem potencial para fomentar novas pesquisas acerca do tema (HUDLICKY, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar cinco análogos das neolignanas, uma classe de produtos naturais que possuem um núcleo benzofurânico em sua estrutura, além de identificar e disponibilizar estes compostos para ensaios biológicos em colaboração com outros laboratórios.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetize e identificação estrutural dos compostos:
 - (±) Licarina a
 - (±) Kadsurenina m
 - (±) 4-o-demetilkadsurenina m
 - (±) Acuminatin
 - (±) Licarinediol a
- Disponibilizar estes compostos para ensaios biológicos antitumorais em linhagens de células tumorais e não tumorais.
- Realizar ensaios biológicos antimicrobiano em *Escherichia Coli* UFPEDA224, *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese

Todo o material utilizado neste trabalho foi adquirido comercialmente de empresas fornecedoras que são citadas com mais detalhes na parte experimental do trabalho. Os equipamentos e utensílios que são utilizados para a realização das sínteses, entre eles as placas de agitação magnética, a vidraria, o rotaevaporador, etc, são equipamentos da universidade federal da paraíba (UFPB) e também são detalhados na parte experimental do trabalho.

As sínteses foram elaboradas em balões de fundo redondo ou chato, em erlenmeyers ou kitasato e as reações que necessitaram de agitação foram feitas em placas com agitação magnéticas providas de barras magnéticas recobertas com teflon. Os solventes utilizados nas reações foram removidos sob pressão reduzida através de rotaevaporador. As reações foram acompanhadas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), realizada em folhas de alumínio coberta por sílica gel 60 F254 e reveladas pelo uso de lâmpada de luz UV em 254 e 366 nm . Além da lâmpada, reveladores químicos também foram utilizados, como o *p*-anisaldeído e o permanganato de potássio (KMnO₄).

Os compostos foram purificados com a realização de cromatografia de adsorção em coluna, e a fase estacionária utilizada nas colunas de purificação foi composta por sílica gel 60, ART 7734 da MERCK, sendo colocadas em colunas cilíndricas de vidro nas quais as dimensões irão variar de acordo com a quantidade do composto a ser purificado.

Os compostos depois de purificados foram solubilizados em 0,6mL de clorofórmio deuterado (CDCl₃) da MERCK, e levados ao LMCA (laboratório multiusuário de caracterização e análises) da UFPB para a realização de espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C, que são obtidos em espectrômetro Mercury-Varian operando em 200 MHz ou em espectrômetro Varian-NMR-System operando em 500 MHz.

Depois de obtidos os espectros de ressonância magnética nuclear os compostos são armazenados, em temperatura entre 6 e 14 °C, obtidos através de uma geladeira convencional.

Para obter a (±)-LICARINA A, foram testadas diversas metodologias, todas através do acoplamento oxidativo do Isoeugenol (tabela 1).

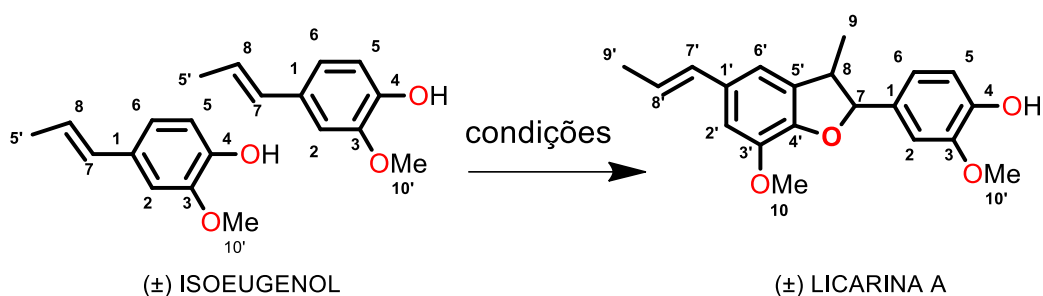


Tabela 1. Metodologia utilizada no acoplamento oxidativo do isoeugenol.

Proc.	Condições	Rendimento	referencias
1	Peroxidase, H ₂ O ₂ , H ₂ O, ta, 4 horas	40%	RODRIGUES, 2017
2	FeCl ₃ , etanol, ta, 10 minutes (cristalização)	36%	ZAO; JOHANNES, 2012
3	Ag ₂ O, acetona, ta, 24 horas	12%	JIN, 2010
4	CAN, solvente (acetonitrila ou THF ou H ₂ O/THF 1:1), 0 °C, 2horas	<10%	CHEN, 2013
5	K ₃ Fe(CN) ₆ , H ₂ O, MeOH, rt, 1 hour	-	WASSERMAN, 1985

Inicialmente obteve-se a (±)Licarina A, utilizando enzimas peroxidases presente na água de coco (*cocos nucifera*), seguindo a metodologia utilizada por Rodrigues, 2017. Foi adicionado 4 litros de água de coco em um kitasato grande com capacidade para 5 litros, depois foi adicionado 2 gramas de isoeugenol (12,1 mmols) à água de coco e deixou-se a reação em agitação magnética por 4 horas.

Foi então adicionado lentamente 8,4 mL (358,1 mmols) de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) com ajuda de um injetor de seringas automática, em uma velocidade de 2,1 mL por hora. A reação começou com uma cor transparente de água de coco e foi lentamente ficando turva a medida que o peróxido de hidrogênio foi adicionado (figura 7).

Figura 7. Adição do isoeugenol e peróxido de hidrogenio à água de coco



Fonte: Autor (2018).

Após cinco horas de reação foi adicionado 250 mL de uma solução de salmora, a extração foi feita com clorofórmio (CHCl_3). O solvente depois foi reduzido a um óleo amarelo, através de um rotaevaporador com pressão reduzida, esse óleo foi então purificado utilizando cromatografia de adsorção em coluna, compactada com hexano, e o sistema móvel utilizado foi hexano/acetato de etila (7:3) (figura 8).

Figura 8. Extração, redução e purificação.



Fonte: Autor (2018).

Uma outra metodologia testada para a obtenção da ($\pm$)Licarina A, utiliza-se cloreto de ferro (FeCl_3), assim como descrito por ZAO e JOHANNES em 2012. Em um recipiente de vidro transparente e de fundo arredondado, foi adicionado 25 mL de etanol, 5 mL de água destilada (H_2O) e 2,5 g (15,22 mmols) de isoeugenol. A solução adquiriu uma cor amarelo claro.

Em um outro recipiente de vidro transparente, foi dissolvido, 5,8 g (21,45 mmols) de cloreto de ferro (III) hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) em 10 mL de água destilada (H_2O). A solução ficou alaranjada. A solução do cloreto de ferro (III) hexahidratado foi então misturada à solução inicial do etanol com água e isoeugenol, que então adquiriu uma coloração verde escuro.

A esta solução de cor verde escuro foi então adicionado aproximadamente 5 mg de licarina A, para atuar como sementes de cristalização, e então deixou-se descansar por 24 horas a 4 °C. Após 24 horas a temperatura de 4 °C, a solução mudou da cor verde escuro para laranja escuro e formou um precipitado de cor branca/alaranjado no fundo do recipiente. A solução foi então filtrada, e o precipitado foi lavado com uma solução de 100 mL de etanol e água (4:6) (figura 9).

Figura 9. Lavagem do precipitado.



Fonte: Autor (2018).

Adaptando a metodologia de JIN, 2010. Utiliza-se óxido de prata em acetona para obter o acoplamento oxidativo do isoeugenol, formando ($\pm$)-Licarina A, da seguinte maneira.

Em um balão foi adicionado 100 mL de acetona e 1 g (6,09 mmols) de isoeugenol, e deixou-se em agitação por 24 horas a temperatura ambiente. A reação foi extraída com clorofórmio e purificada por cromatografia de adsorção em coluna.

Outra metodologia adaptada de CHEN, 2013, utilizou-se o nitrato de amônio Cérico (NAC ou CAN do inglês - cérium ammonium nitrate) em diversos solventes, na tentativa de obtenção de um melhor rendimento.

Em três erlenmeyer de vidro foi adicionado 60 mL de solvente, o primeiro com acetonitrila, o segundo com tetrahidrofurano (THF) e o terceiro com uma solução de THF e H₂O (1:1), depois foi adicionado 1 g (1,82 mmols) de nitrato de amônio (CAN) em cada e 0,500 g (3,04 mmols) de isoeugenol e deixou-se em agitação por 2 horas a 0 °C (figura 10). A extração foi feita com clorofórmio e a purificação por cromatografia de adsorção em coluna.

Figura 10. Pesagem e reação com o CAN.



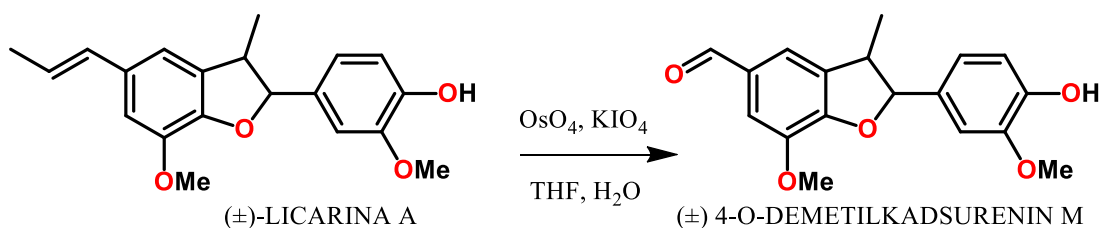
Fonte: Autor (2018).

E por último, para a obtenção da (±)Licarina A, foi utilizado $K_3Fe(CN)_6$, como descrito por WASSERMAN, 1985. Em um recipiente de vidro foi adicionado, 6 g (0,03 mmols) de $K_3Fe(CN)_6$, 0,100 g (0,6 mmols) de Isoeugenol, 30 mL de butanol e 30 mL de H_2O , e deixou-se em agitação por 8 horas.

(±)Licarina A, Sólido branco; rendimento 36%; ponto de fusão 108 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,99 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,37 (d, 1H, $J = 15,7$ Hz), 6,12 (dd, 1H, $J = 15,3, 6,7$ Hz), 5,72 (s, 1H), 5,11 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 3,90 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,57 – 3,33 (m, 1H), 1,88 (d, 3H, $J = 5,9$ Hz), 1,39 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 146,77, 146,64, 145,86, 144,21, 133,35, 132,27, 132,15, 131,01, 123,54, 120,01, 114,19, 113,40, 109,34, 109,02, 93,85, 77,48, 77,16, 76,84, 56,04, 56,01, 45,68, 18,44, 17,63.

Para a obtenção do (±) 4-O-DemetilKadsurenina M, utilizou-se uma oxidação de Lemieux-Johnson (PSOTKA, 2017).

Esquema 1. Síntese do (±)-4-O-DemetilKadsurenina M.

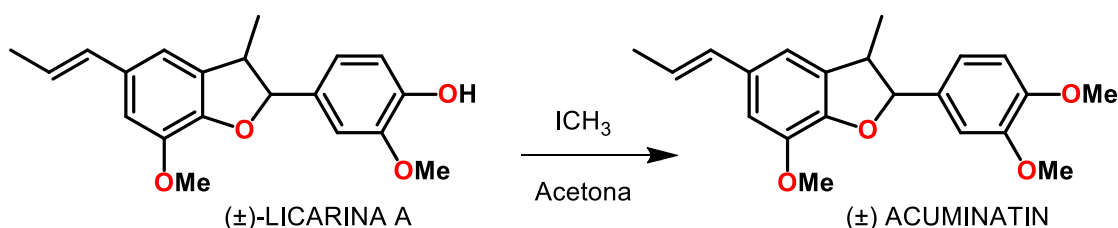


Em um balão foi adicionado 0,100 g (0,306 mmols) de (±)Licarina A, 20 mL de tetrahydrofurano (THF), 20 mL de H_2O , 0,400 g (1,73 mmols) de KIO_4 e 0,5 mL (0,09 mmols) de uma solução de OsO_4 a 5%, deixou-se em agitação por toda a noite e então foi adicionado 20 mL de uma solução saturada com tiosulfato de sódio. A extração da reação foi feita com clorofórmio e a purificação foi realizada através de cromatografia de adsorção em coluna, utilizando os solventes hexano e acetato de etila (7:3).

(±)-4-O-DemetilKadsurenina M, óleo amarelo claro; rendimento 96%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1H), 7,37 (t, 1H, $J = 3,4$ Hz), 7,35 (dt, 1H, $J = 4,7, 1,1$ Hz), 6,93 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz), 6,92 – 6,91 (m, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,25 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 3,95 (s, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,55 (tt, 1H, $J = 13,7, 6,8$ Hz), 1,47 – 1,42 (m, 1H), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 190,79, 153,36, 146,93, 146,30, 145,09, 133,79, 131,59, 131,18, 120,21, 120,16, 114,46, 111,91, 109,01, 95,15, 56,23, 56,15, 44,99, 17,91.

Para a obtenção do (±)-Acuminatin, foi feita uma metilação utilizando iodeto de metila da seguinte forma.

Esquema 2. Síntese do (±)-Acuminatin.

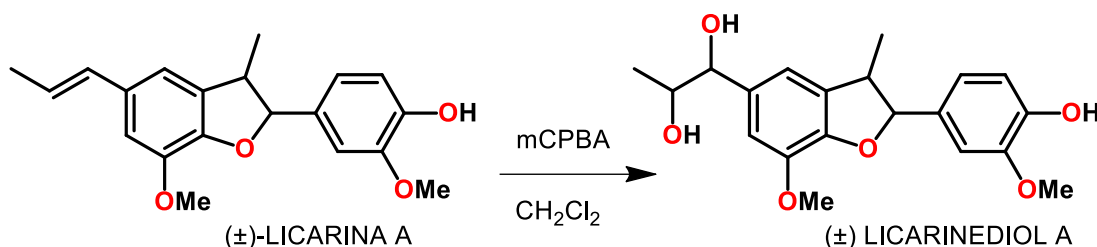


Em um recipiente de vidro foi adicionado 0,13 g (0,398 mmols) de (±)-Licarina A, 0,14 g (0,99 mmols) de K_2CO_3 , 10 mL de acetona e 0,13 g (0,87 mmols) de CH_3I . Deixou-se em agitação magnética por 12 horas em temperatura ambiente. A extração foi feita com diclorometano (CH_2Cl_2) e a purificação foi realizada em cromatografia de adsorção em coluna, utilizando os solventes hexano e acetato de etila (7:3).

(±)-Acuminatin, Óleo amarelo; rendimento 77%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,99 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,95 (m, 1H), 6,83 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,79 (s, 1H), 6,36 (dd, 1H, $J = 15,7, 1,7$ Hz), 6,10 (dd, 1H, $J = 15,7, 6,6$ Hz), 5,11 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 3,87 (d, 3H, $J = 8,8$ Hz), 3,50 – 3,39 (m, 1H), 1,86 (dd, 1H, $J = 6,6, 1,7$ Hz), 1,38 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 149,14, 149,12, 146,58, 144,15, 133,25, 132,66, 130,95, 123,43, 119,21, 113,32, 110,83, 109,50, 109,28, 93,65, 77,48, 77,16, 76,84, 55,92, 55,89, 55,88, 45,58, 18,36, 17,58.

Para a obtenção do (±)-Licarinediol A, foi utilizada uma metodologia descrita por Billington em 1994.

Esquema 3. Síntese do (±)-Licarinediol A.

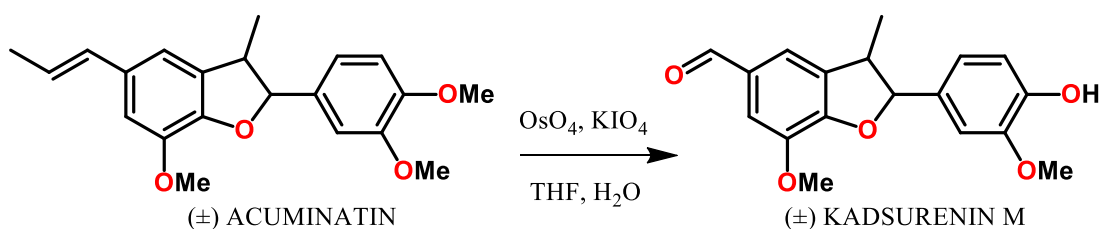


Em um recipiente de vidro foi adicionado 0,100 g (0,306 mmols) de (±)-Licarina A, 15 mL de diclorometano (CH_2Cl_2) e um excesso de ácido meta-cloropebenzóico (mCPBA) e deixou-se em agitação por 18 horas, em temperatura ambiente, depois foi adicionado 30 mL de uma solução de sulfito de sódio (30%). A extração foi feita com diclorometano e a purificação realizada em cromatografia de adsorção em coluna, utilizando os solventes hexano e acetato de etila (6:4).

(±)-Licarinediol A, óleo; rendimento 20%, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,97 – 6,95 (m, 1H), 6,88 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz), 6,84 – 6,79 (m, 1H), 5,66 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz), 5,11 (dd, 1H, $J = 9,7, 2,6$ Hz), 4,23 (dd, 1H, $J = 6,6, 2,9$ Hz), 3,90 (s, 1H), 3,88 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 3,87 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 3,49 – 3,44 (m, 1H), 1,37 (dd, 1H, $J = 7,2, 3,1$ Hz), 1,18 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 146,81, 145,99, 145,97, 144,28, 134,76, 133,67, 131,81, 120,11, 114,25, 114,23, 110,38, 109,02, 94,09, 82,09, 82,01, 70,50, 56,31, 56,13, 45,77, 19,12, 17,44.

Para a obtenção do (±)-Kadsurenina M, utilizou-se a mesma oxidação de Lemieux-Johnson descrita para a síntese do (±) 4-O-DimeilKadsurenina M, partindo do (±)-Acuminatin e não da (±)-Licarina A (PSOTKA, 2017).

Esquema 4. Síntese do (±) Kadsurenina M.



(±)-Kadsurenina M, óleo amarelo claro; rendimento 80%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,84 (s, 1H), 7,37 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz), 7,34 (t, 1H, $J = 1,3$ Hz), 6,96 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,94 (s, 1H), 6,85 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 5,26 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 3,94 (s, 4H), 3,88 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,59 – 3,54 (m, 1H), 1,44 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 190,83, 153,34, 149,78, 149,57, 145,07, 133,75, 131,70, 131,55, 120,22, 119,42, 111,85, 111,03, 109,51, 95,01, 56,20, 56,07, 56,06, 44,94, 17,89.

4.2 Atividades antitumorais

Para a avaliação da citotoxicidade foram utilizadas as linhagens de células tumorais humanas HL-60 (leucemia promielocítica aguda), HCT-116 (carcinoma colorretal humano), MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano), K562 (leucemia mielóide crônica) e a linhagem não tumoral L929 (fibroblasto murino), mantidas em meio de cultura RPMI-1640. O meio foi suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) e 1% de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C, em atmosfera úmida enriquecida com 5% de CO_2 .

A citotoxicidade foi também avaliada em células normais humanas, as PBMCs (células mononucleares do sangue periférico humano). As PBMCs foram isoladas a partir de amostras de sangue humano, cedidas por doadores voluntários. Para a obtenção destas células, uma alíquota de 20 mL de sangue contendo anticoagulante (EDTA ou ácido etilenodiamino tetra-acético) foi homogeneizada com 20 mL de PBS (tampão fosfato salino), em tubos estéreis. Posteriormente, a mistura obtida foi adicionada em tubos contendo o Histopaque-1077 (Sigma), uma solução estéril que separa o sangue por gradientes de densidade, permitindo a obtenção de células mononucleares.

As amostras foram submetidas a uma centrifugação de 400 x g, 20 °C, por 30 min. Após a centrifugação, é formado um anel contendo as células monocucleares, o qual foi retirado cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta pasteur estéril e transferido para um novo tubo, realizando-se duas centrifugações (400 x g, 20 °C, por 10 min) para lavagem das células com PBS. O sobrenadante foi desprezado e o precipitado foi homogeneizado com meio RPMI suplementado com 10% de soro

bovino fetal. A proliferação destas células foi estimulada com 1% de fitohemaglutinina (Invitrogen), por 24 horas antes do tratamento com a substância.

A citotoxicidade foi mensurada por meio do ensaio de redução do MTT, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MOSMANN, 1983).

As células foram adicionadas em placas de 96 poços, na concentração de 3×10^5 células/mL (HCT-116, MCF-7 e L929), 5×10^5 células/mL (HL-60 e K562) e 1×10^6 células/mL (PBMC). Em seguida, foram preparadas soluções estoque de 20 mM das substâncias, dissolvidas em DMSO (100%), da qual foram produzidas soluções de trabalho na concentração teste (50 μ M), diluídas em meio RPMI-1640, não ultrapassando a concentração final de 0,5% de DMSO. O DMSO (20%) foi utilizado como controle positivo. Após 72 h de incubação as placas foram centrifugadas (500 g, 5 min, 25 °C), foi removido 110 μ L do sobrenadante, sendo adicionado 10 μ L de MTT (5 mg/mL) (Sigma-aldrich). As placas foram incubadas por 3 h em estufa de 5% de CO₂, a 37 °C, para redução do sal e formação dos cristais de formazan. Após o período de incubação, foi adicionado 100 μ L de SDS (dodecil sulfato de sódio) (10% HCL 0,01 N), para a solubilização dos cristais de formazan. As placas foram cobertas com um papel alumínio e deixadas *overnight* em um agitador. A absorbância foi medida em um leitor de placa, no comprimento de onda de 570 nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata ou quadruplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPad Prism* 5.0. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico da amostra testada: amostra sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

Os dados foram analisados no programa *GraphPad Prism* 5.0, realizando o teste ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey.

4.3 Atividades antibacteriana

Os ensaios laboratoriais referentes a este estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Microbiologia Ambiental (LAMA) do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba: Junho/Setembro, 2019.

Os produtos (±)-Licarina A, (±)-Kadsurenina M, (±)-4-o-demetilkadsurenina M, (±)-Acuminatin e (±)-Licarinediol A, foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias. Os produtos foram pesados e devidamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) a 5%, completando-se o volume final com água destilada esterilizada de forma a se obter uma emulsão dos produtos na concentração inicial de 10^{-3} M (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

O meio de cultura utilizado nos ensaios para manutenção foram Brain Heart Infusion/BHI, (Difco Laboratories Ltd, USA, France) para manutenção das cepas de bactérias. E para os ensaios de atividade biológica, foi usado o meio nutriente líquido Brain Heart Infusion (BHI) (Difco Laboratories Ltd, USA, France). Todos os meios foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas:

- Bactérias: *Escherichia Coli* UFPEDA224, *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416. Os micro-organismos foram mantidos em BHI à temperatura de 4°C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24 - 48 horas em incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas de bactérias em meio BHI, foram suspensas em solução fisiológica a 0,9% estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de Mc Farland para obtenção de 10^8 UFC/mL (CLSI, 2015; HADACECK; GREEGER, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ANTUNES et al., 2006; FREIRE et al., 2014).

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland & Squires (1991), Eloff (1998), CLSI (2008) e CLSI (2015). A

determinação da CIM das amostras sobre cepas bacterianas foram realizadas através da técnica de microdiluição em meio líquido em placa para cultura de células (TPP/SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”. Inicialmente, foram distribuídos 180µL de caldo BHI duplamente concentrado nos poços das placas de microdiluição. Em seguida, 20 µL das substâncias foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 10^{-2} M até 10^{-9} M. Por fim, foi adicionado 20µL das suspensões das cepas bacterianas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie. Paralelamente, foram realizados os controles: micro-organismos (CBHI + bactérias) e meio de cultura (CBHI), para comprovação da viabilidade das cepas e esterilidade do meio e controle com DMSO 20% para inibição das bactérias. As placas preparadas foram assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 - 48 horas para os ensaios com bactérias e leveduras.

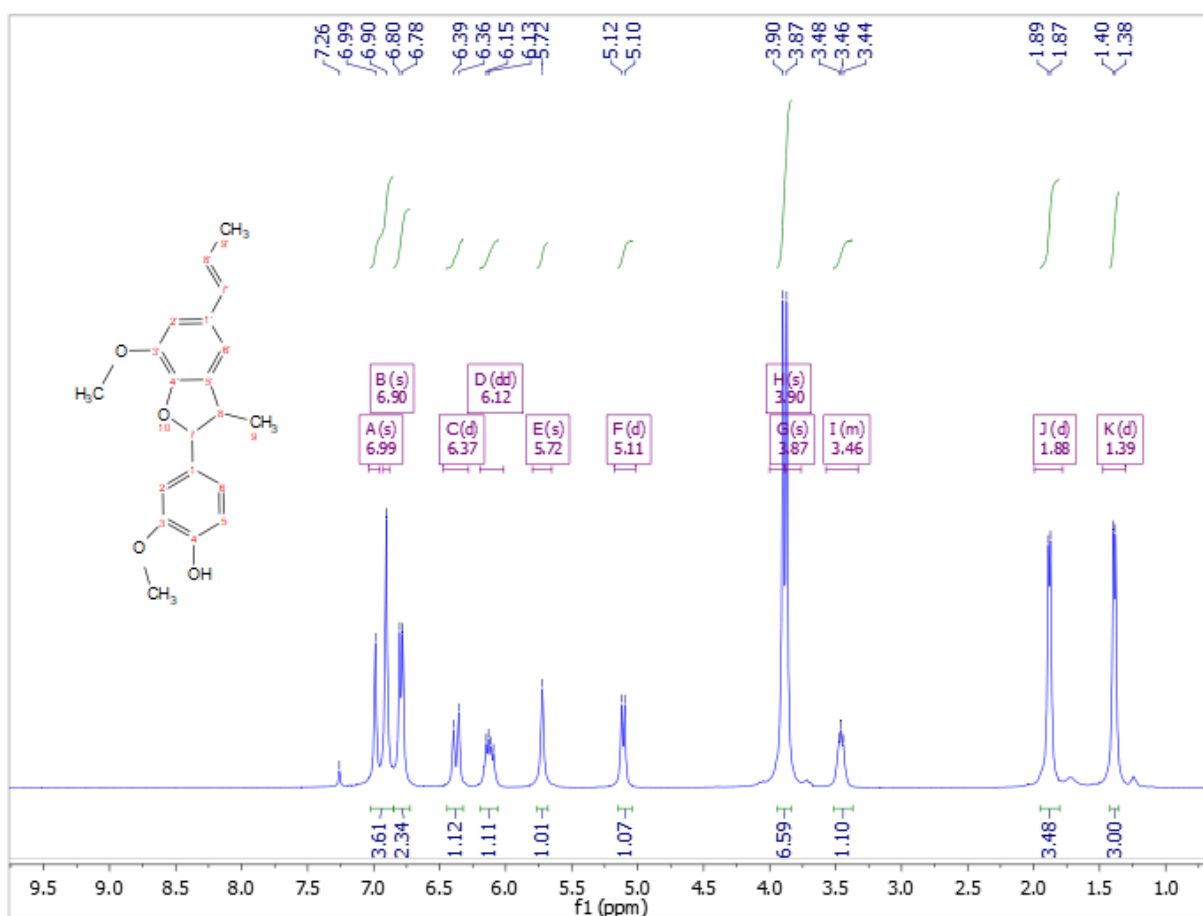
A concentração inibitória mínima (CIM) para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano verificado pela densidade ótica (O.D570) obtida por espectrofotômetro de microplacas (BioTek ELX800) nos quais os testes não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao controle positivo. A análise estatística dos resultados obtidos nos experimentos foi realizada utilizando ANOVA e a significância estatística determinada pelo método Holm-Sidak, com $\alpha = 5.000\%$ ($p < 0,0001$). (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese

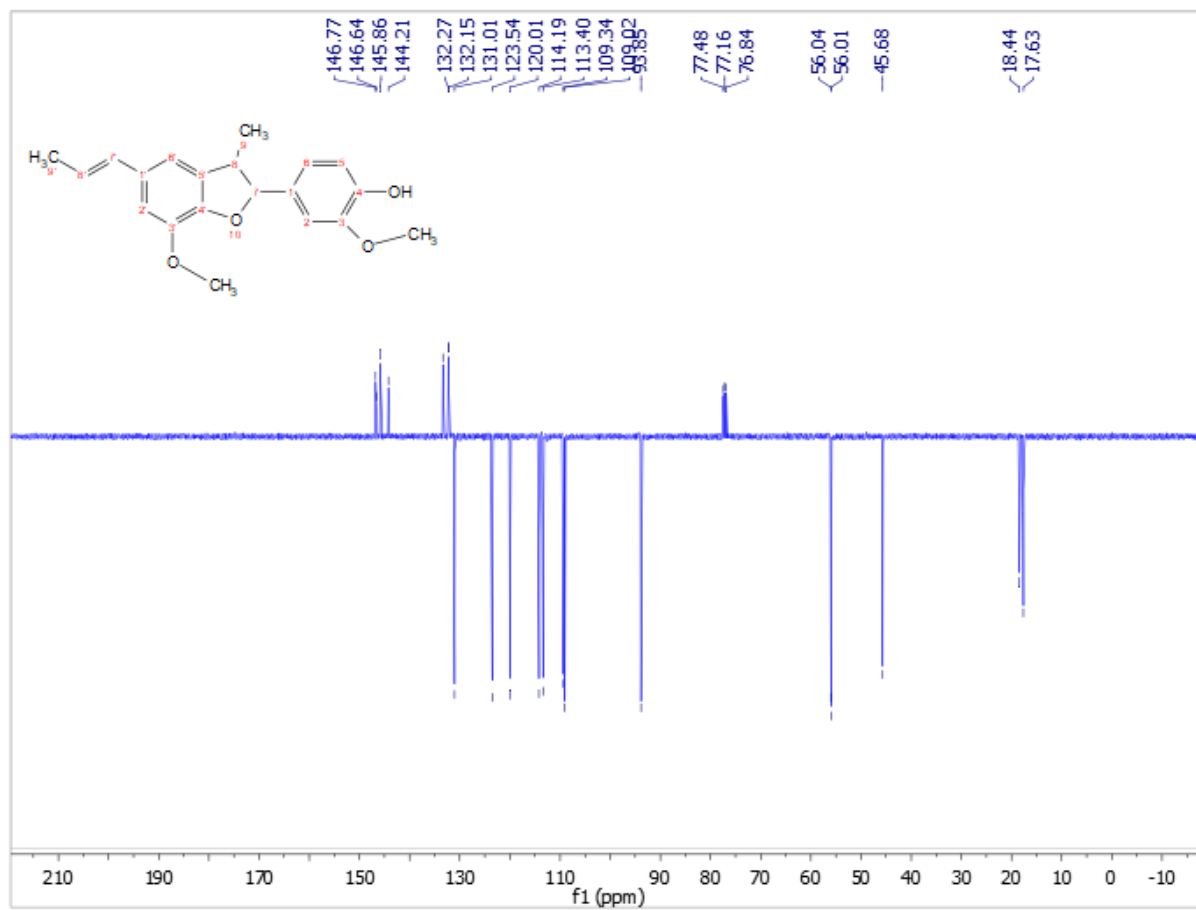
(±)Licarina A, Sólido branco; rendimento 36%; ponto de fusão 108 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,99 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,37 (d, 1H, $J = 15,7$ Hz), 6,12 (dd, 1H, $J = 15,3, 6,7$ Hz), 5,72 (s, 1H), 5,11 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 3,90 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,57 – 3,33 (m, 1H), 1,88 (d, 3H, $J = 5,9$ Hz), 1,39 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 146,77, 146,64, 145,86, 144,21, 133,35, 132,27, 132,15, 131,01, 123,54, 120,01, 114,19, 113,40, 109,34, 109,02, 93,85, 77,48, 77,16, 76,84, 56,04, 56,01, 45,68, 18,44, 17,63.

Figura 11. Espectro de ^1H da (±)-Licarina A.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 12. Espectro de ^{13}C da ($\pm$)-Licarina A.



Fonte: Autor, 2018.

Quadro 1. Comparação do espectro de RMN ^{13}C da ($\pm$)-Licarina A com a literatura.

($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (Autor)	($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (BARBOSA-FILHO; DA-CUNHA; SILVA, 1998)
132,27	132,35
146,77	146,84
145,86	145,94
132,15	132,23
144,21	144,28
146,64	146,73
133,35	133,43
109,02	109,10
114,19	114,24
120,01	120,06
93,85	93,89
45,68	45,74
109,34	109,48
113,40	113,44
131,01	131,10
123,54	123,57
17,63	17,71
18,44	18,48
56,01	56,10
56,04	56,10

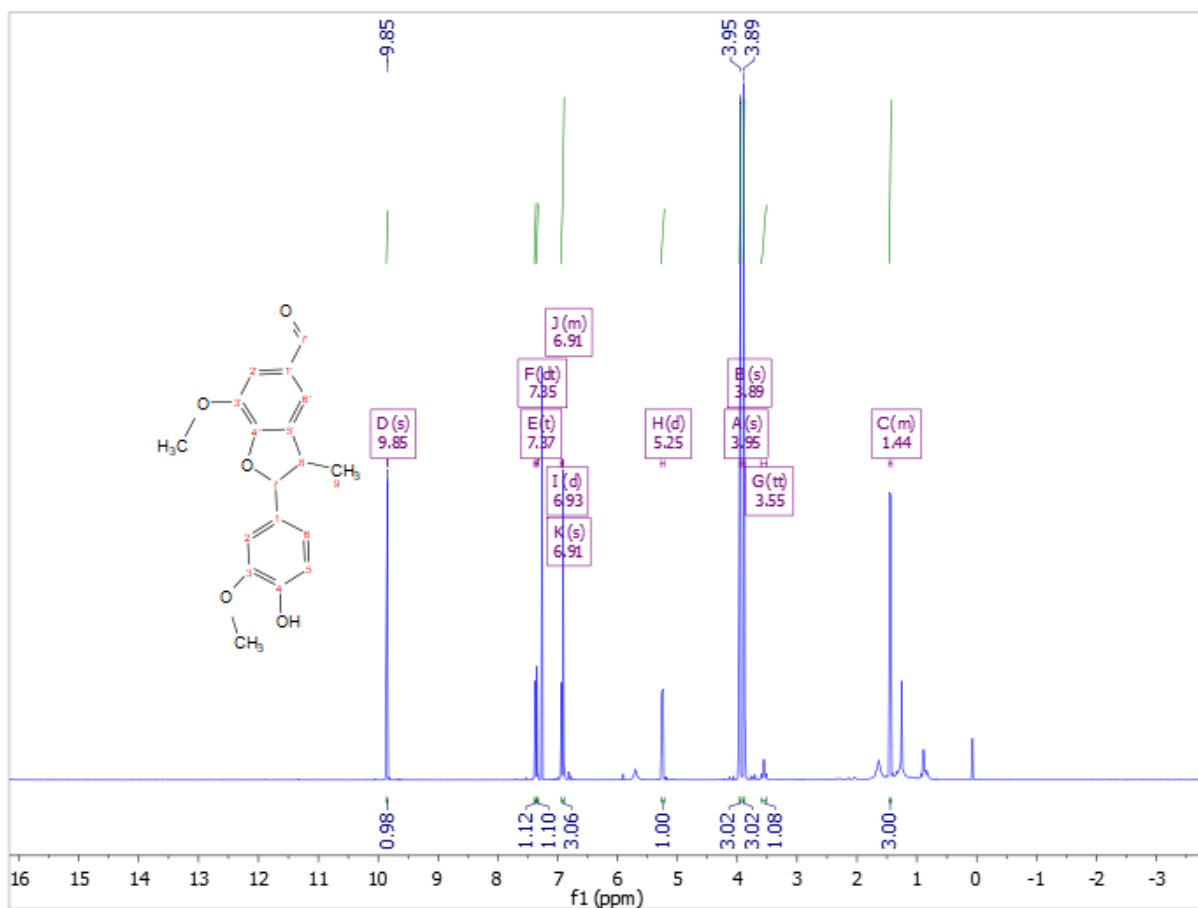
Fonte: Autor, 2018.

A Licarina A é um composto natural que já foi sintetizado anteriormente e para confirmação da síntese nesse trabalho foi realizado uma comparação dos dados presentes na literatura com os dados obtidos por este trabalho.

(±)-4-O-DemethylKadsurenina M, óleo amarelo claro; rendimento 96%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1H), 7,37 (t, 1H, $J = 3,4$ Hz), 7,35 (dt, 1H, $J = 4,7, 1,1$ Hz), 6,93 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz), 6,92 – 6,91 (m, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,25 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 3,95 (s, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,55 (tt, 1H, $J = 13,7, 6,8$ Hz), 1,47 – 1,42 (m, 1H), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 190,79, 153,36, 146,93, 146,30, 145,09, 133,79, 131,59, 131,18, 120,21, 120,16, 114,46, 111,91, 109,01, 95,15, 56,23, 56,15, 44,99, 17,91.

Pode-se observar no espectro de RMN ^1H abaixo a presença de um simpleto em 9.85 ppm, corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida.

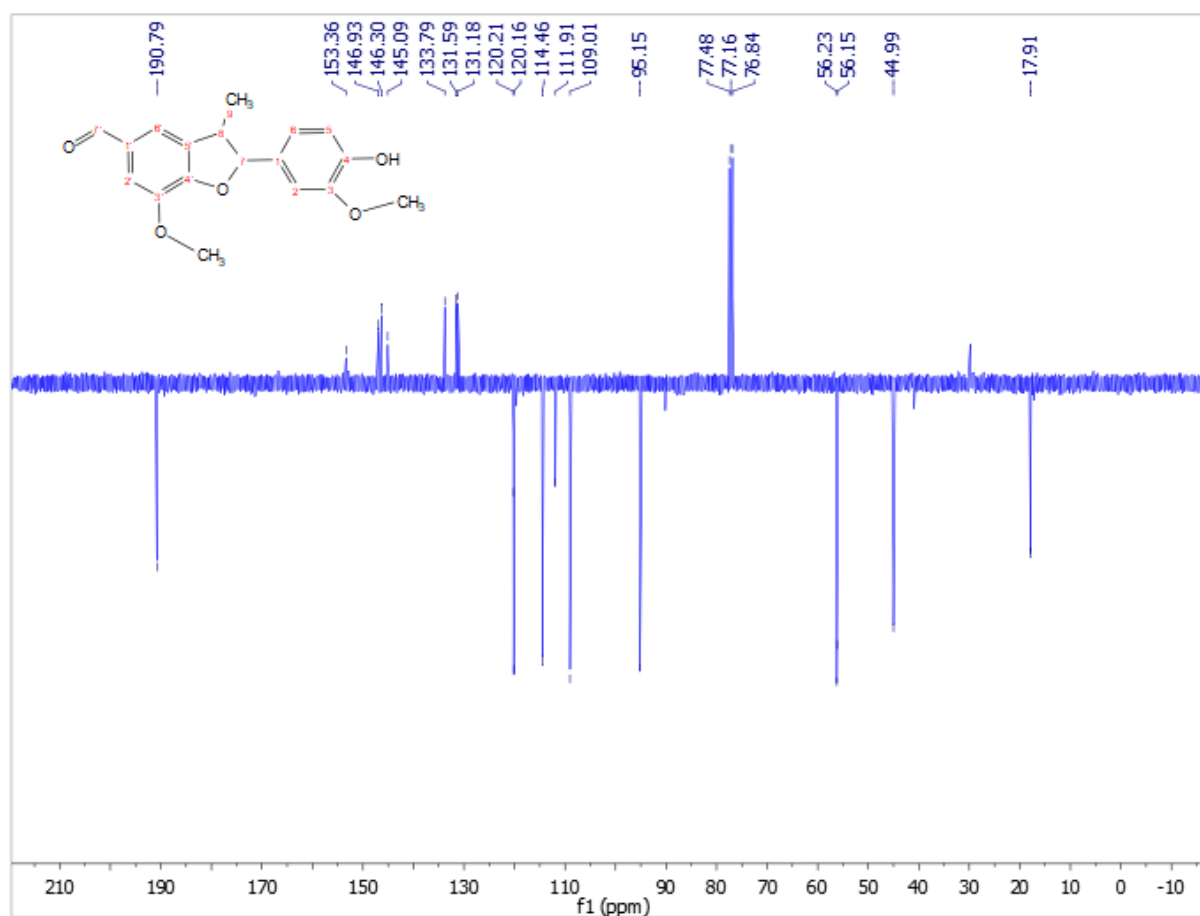
Figura 13. Espectro de ^1H do (±)-4-O-DemethylKadsurenina M



Fonte: Autor, 2018.

No espectro de RMN ^{13}C abaixo observa-se a presença de um carbono em 190.79, corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida, além disso a *(\pm)*-4-O-DemetilKadsurenina M é um composto natural e para confirmação da síntese também foi realizado uma comparação dos dados presentes na literatura com os dados obtidos por este trabalho.

Figura 14. Espectro de ^{13}C do *(\pm)*-4-O-DemetilKadsurenina M



Fonte: Autor, 2018.

Quadro 2. Comparação do espectro de RMN ^{13}C da ($\pm$)-4-O-DemethylKadsurenina M, com a literatura.

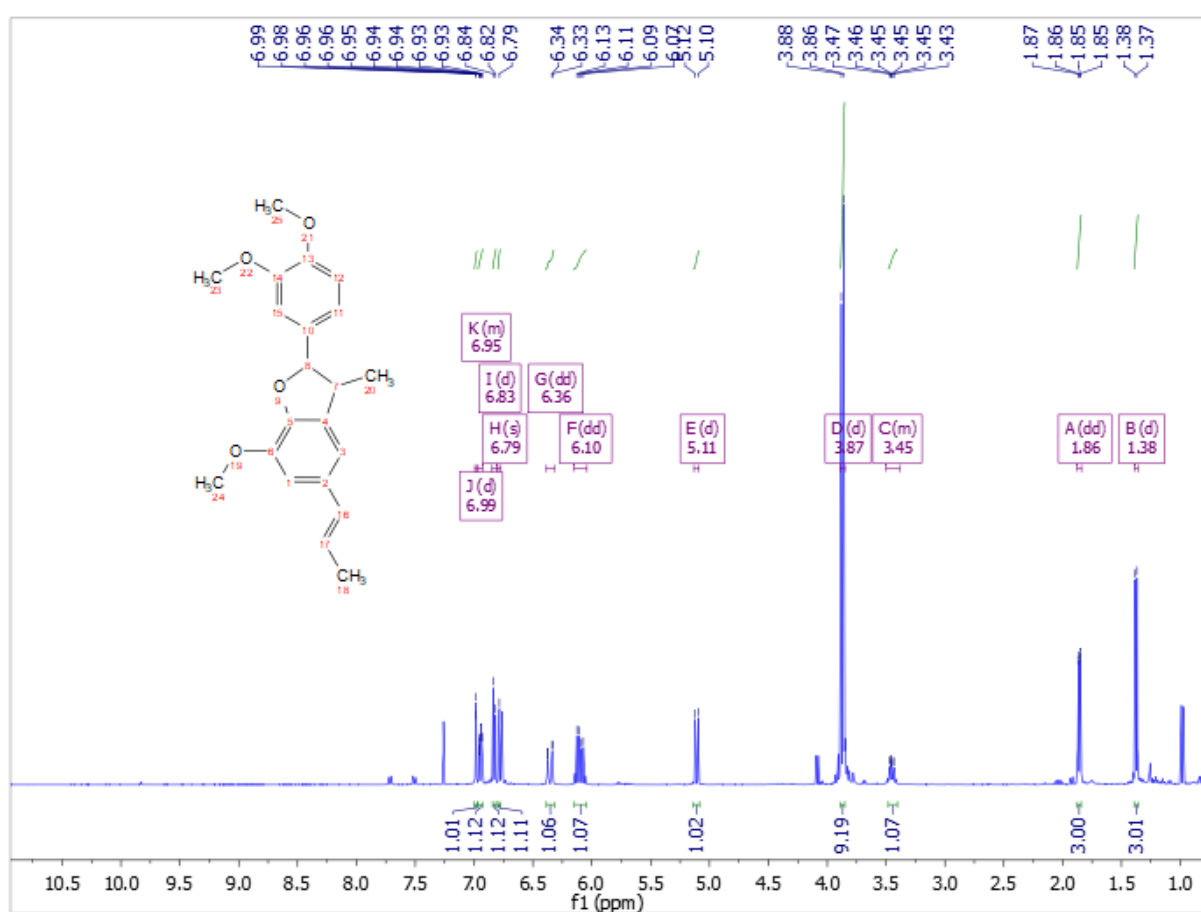
($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C Autor 2018.	($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (NASCIMENTO, Isabele R.; LOPES, Lucia MX)
131.5	131.4
146.3	146.2
145.0	144.9
131.1	131.0
146.9	146.8
153.3	153.2
133.7	133.6
109.0	108.9
114.4	114.3
120.1	119.9
95.1	94.9
44.99	44.8
111.9	111.8
120.2	120.0
190.7	190.6
17.9	17.7
56.2	56.1
56.1	56.0

Fonte: Autor, 2018.

(±)-Acuminatin, Óleo amarelo; rendimento 77%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,99 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,95 (m, 1H), 6,83 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,79 (s, 1H), 6,36 (dd, 1H, $J = 15,7, 1,7$ Hz), 6,10 (dd, 1H, $J = 15,7, 6,6$ Hz), 5,11 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 3,87 (d, 3H, $J = 8,8$ Hz), 3,50 – 3,39 (m, 1H), 1,86 (dd, 1H, $J = 6,6, 1,7$ Hz), 1,38 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 149,14, 149,12, 146,58, 144,15, 133,25, 132,66, 130,95, 123,43, 119,21, 113,32, 110,83, 109,50, 109,28, 93,65, 77,48, 77,16, 76,84, 55,92, 55,89, 55,88, 45,58, 18,36, 17,58.

Pode-se observar no espectro de RMN ^1H abaixo a presença de 9 hidrogênios na região de 3.87 ppm, corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida.

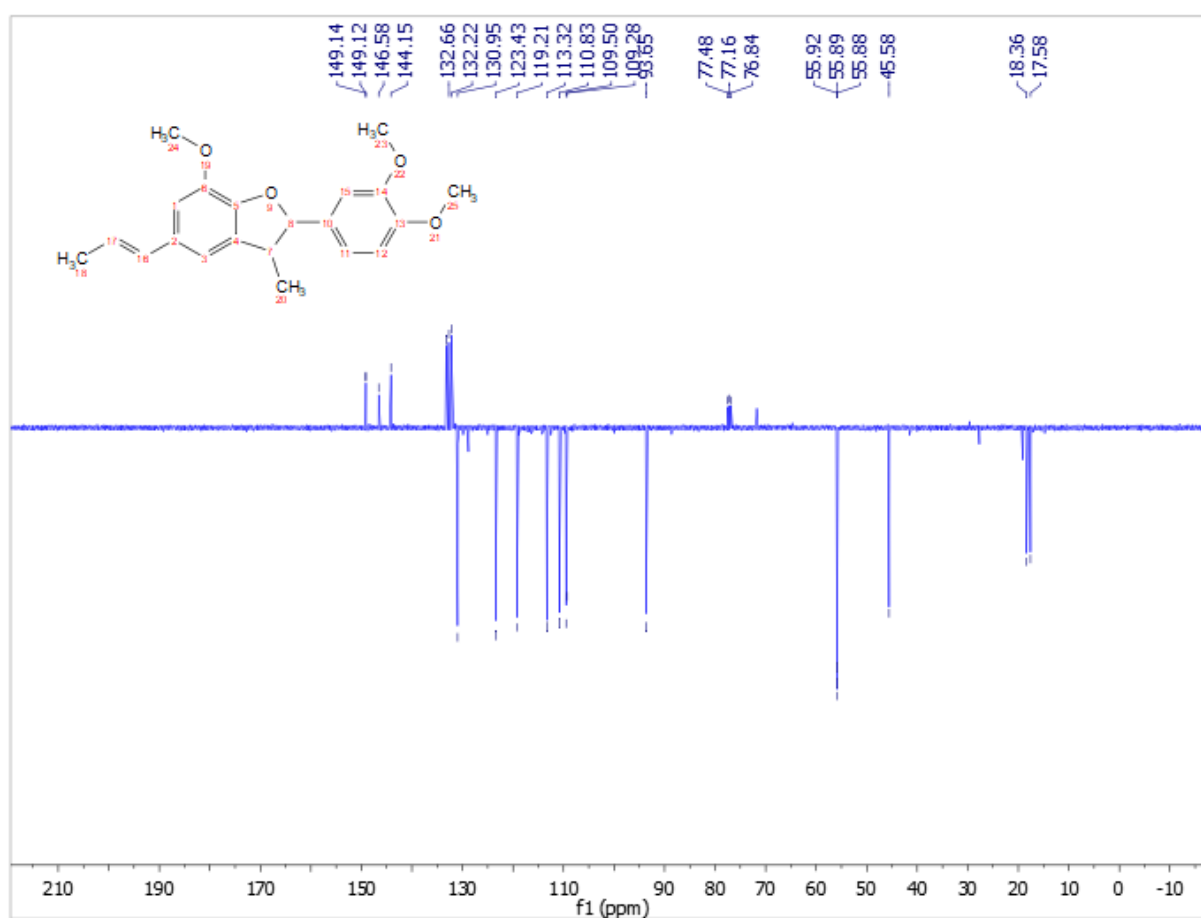
Figura 15. Espectro de ^1H da (±)-Acuminatin



Fonte: Autor, 2018.

No espectro de RMN ^{13}C abaixo observa-se a presença de 3 grupos metoxilas, corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida, além disso o ($\pm$)*Acuminatin* é um composto natural e para confirmação da síntese também foi realizado uma comparação dos dados presentes na literatura com os dados obtidos por este trabalho.

Figura 16. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)-Acuminatin



Fonte: Autor, 2018.

Quadro 3. Comparação do espectro de RMN ^{13}C do ($\pm$)-Acuminatin, com a literatura.

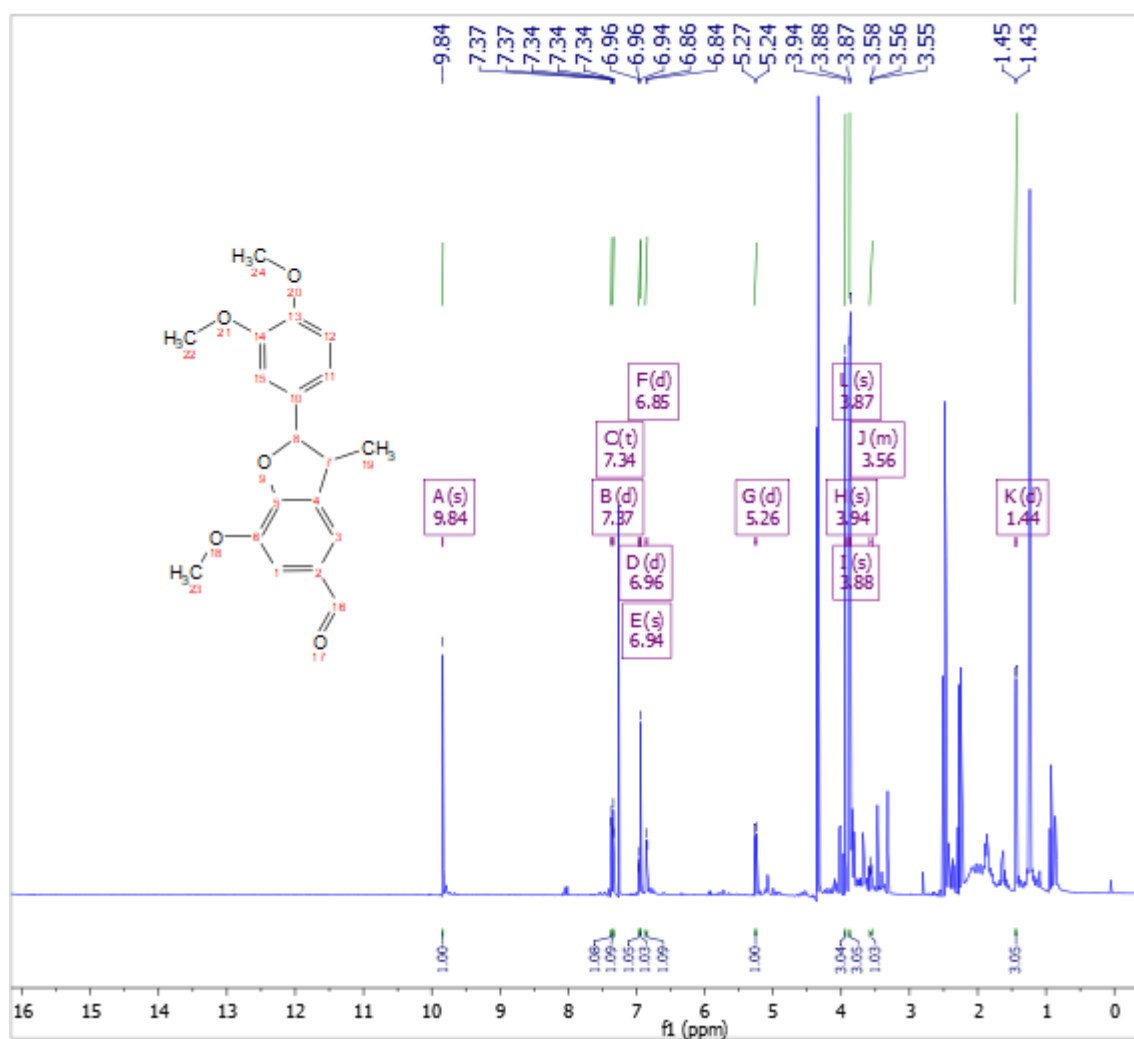
($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C Autor 2018.	($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (ROY; RANA; GUIN, 2002)
149.14	146.3
149.12	146.2
146.58	145.5
144.15	143.9
133.25	133.9
132.66	132.7
130.95	131.1
123.46	123.4
119.21	120.4
113.32	113.8
110.83	113.2
109.50	109.1
109.28	108.6
93.65	93.6
55.92	55.8
45.58	45.5
18.36	18.4
17.58	17.69

Fonte: Autor, 2018.

(±)-Kadsurenina M, óleo amarelo claro; rendimento 80%; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,84 (s, 1H), 7,37 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz), 7,34 (t, 1H, $J = 1,3$ Hz), 6,96 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 6,94 (s, 1H), 6,85 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 5,26 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 3,94 (s, 4H), 3,88 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,59 – 3,54 (m, 1H), 1,44 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 190,83, 153,34, 149,78, 149,57, 145,07, 133,75, 131,70, 131,55, 120,22, 119,42, 111,85, 111,03, 109,51, 95,01, 56,20, 56,07, 56,06, 44,94, 17,89.

Pode-se observar no espectro de RMN ^1H abaixo a presença de um simpleto em 9.84 ppm assim como a presença de 3 metoxilas na região de 3.8 ppm corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida.

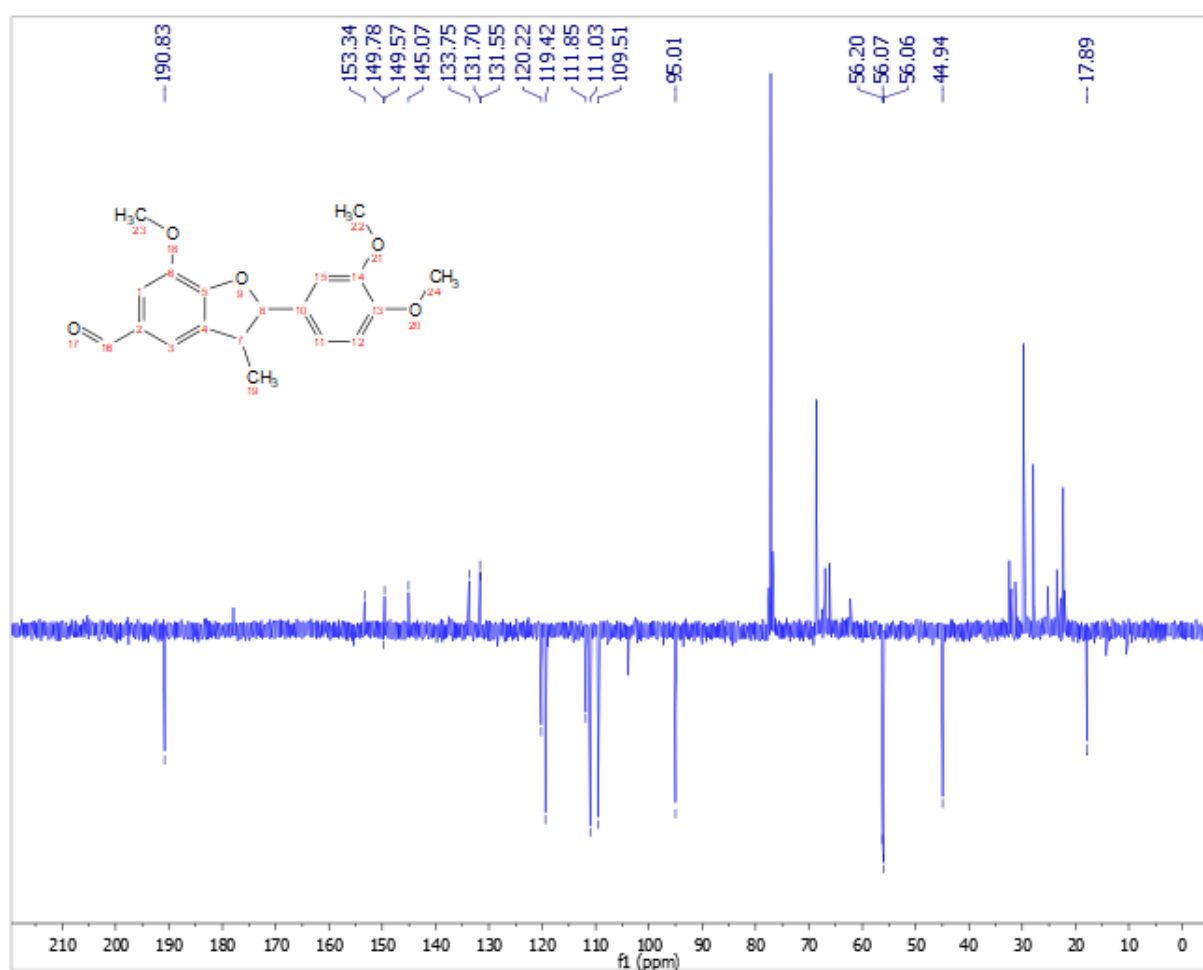
Figura 17. Espectro de ^1H do (±)-Kadsurenina M



Fonte: Autor, 2018.

No espectro de RMN ^{13}C abaixo observa-se a presença de um carbono em 190.83 ppm além da presença de 3 metoxilas, corroborando assim com a hipótese de que a síntese foi bem-sucedida, além disso a ($\pm$)*Kadsurenina M* é um composto natural e para confirmação da síntese também foi realizado uma comparação dos dados presentes na literatura com os dados obtidos por este trabalho.

Figura 18. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)-Kadsurenina M



Fonte: Autor, 2018.

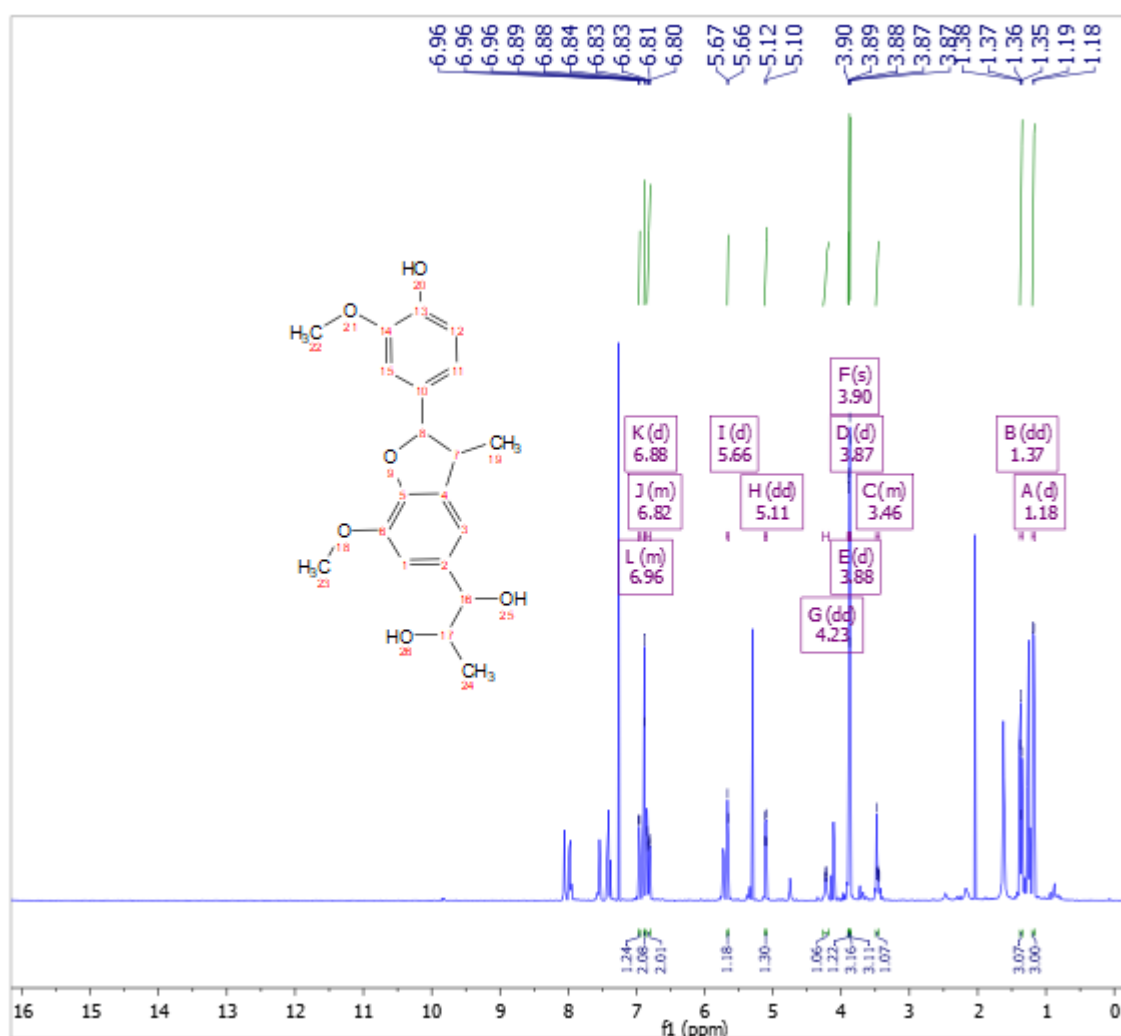
Quadro 4. Comparação do espectro de RMN ^{13}C do ($\pm$)-Kadsurenina M, com a literatura.

($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C Autor 2018.	($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (BARROS, Letícia FL et al)
95.01	94.6
44.9	44.8
133.7	133.6
120.2	120
131.5	131.5
111.	110.9
149.5	149.3
153.3	153.3
190.8	190.6
131.7	131.7
109.5	109.5
149.7	149.5
145.0	144.9
111.8	111.8
119.4	119.2
17.8	17.8
56.0	56.1
56.0	55.9
56.2	56.1

Fonte: Autor, 2018.

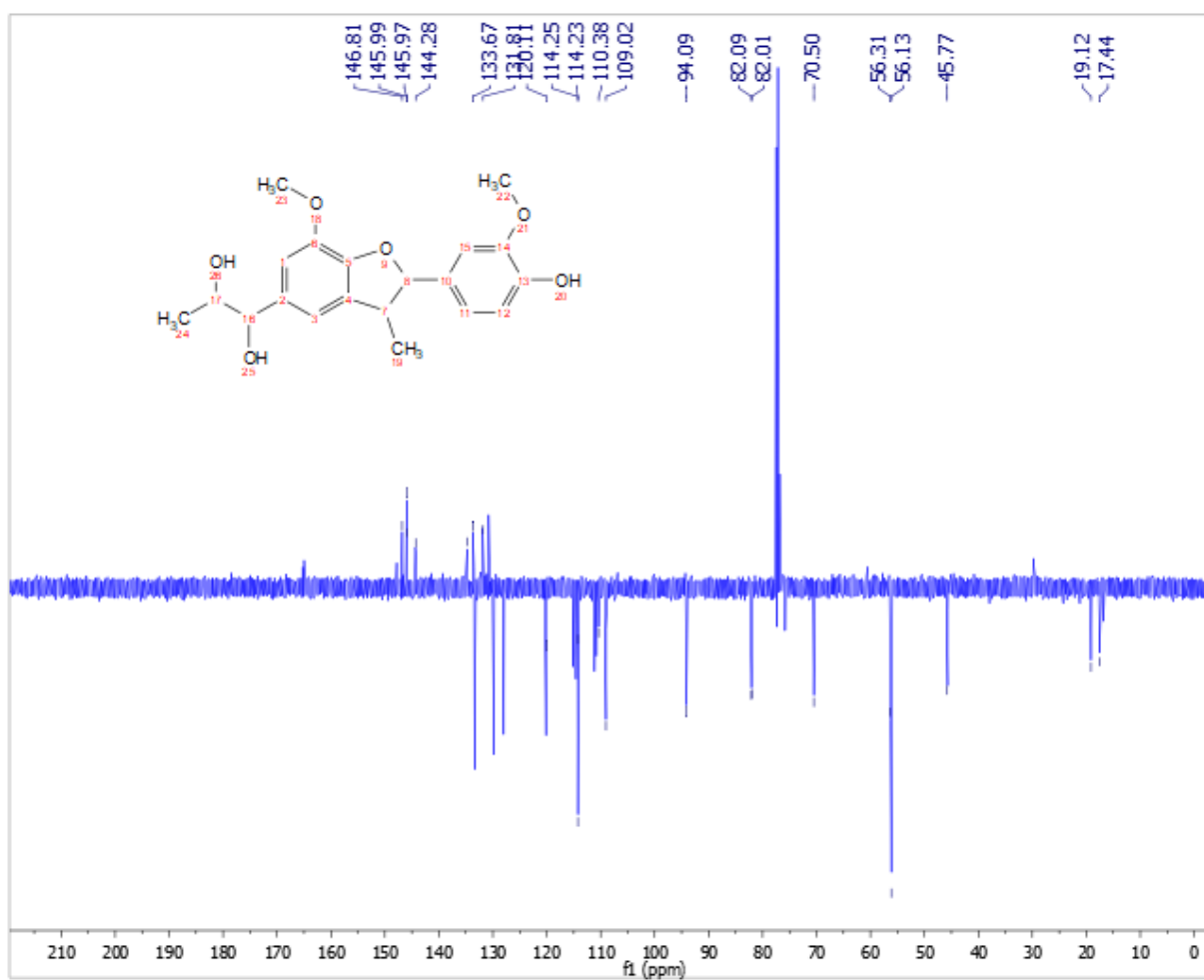
(±)-Licarinediol A, óleo; rendimento 20%, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6,97 – 6,95 (m, 1H), 6,88 (d, 1H, $J = 1,0$ Hz), 6,84 – 6,79 (m, 1H), 5,66 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz), 5,11 (dd, 1H, $J = 9,7, 2,6$ Hz), 4,23 (dd, 1H, $J = 6,6, 2,9$ Hz), 3,90 (s, 1H), 3,88 (d, 1H, $J = 3,8$ Hz), 3,87 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz), 3,49 – 3,44 (m, 1H), 1,37 (dd, 1H, $J = 7,2, 3,1$ Hz), 1,18 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz), ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 146,81, 145,99, 145,97, 144,28, 134,76, 133,67, 131,81, 120,11, 114,25, 114,23, 110,38, 109,02, 94,09, 82,09, 82,01, 70,50, 56,31, 56,13, 45,77, 19,12, 17,44.

Figura 19. Espectro de ^1H do (±)-Licarinediol A



Fonte: Autor, 2018.

Figura 20. Espectro de ^{13}C do ($\pm$)-Licarinediol A



Fonte: Autor, 2018.

Quadro 5. Comparação do espectro de RMN ^{13}C do ($\pm$)-Licarinediol A, com a literatura.

($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C Autor 2018.	($\delta\text{C ppm}$) ^{13}C (NASCIMENTO, Isabele R.; LOPES, Lucia MX)
94.0d	93.8d
45.7d	45.5d
134.7s	134.6s
114.2d	114.2d
133.6s	133.2s
110.3d	110.2d
144.2s	144.0s
146.8s	147.1s
82.0d	79.6d
82.0d	79.6d
70.5d	72.3d
19.1q	18.8q
131.8s	131.8s
109.0d	109.0d
145.9s	146.7s
145.9s	145.8s
114.2d	114.2d
1201.d	119.8d
17.4d	17.4d
56.3q	56.0q
56.1q	55.9q

Fonte: Autor, 2018.

5.2 Antitumoral

As amostras foram testadas na concentração de **50 µM**, apresentando citotoxicidade conforme as tabelas **2** e **3**, e também os gráficos de **1** a **5** abaixo.

Tabela 2: Efeito das substâncias: (±)4-o-demetilkadsurenina M (**2**); (±)acuminatin (**3**); (±)kadsurenina M (**4**) e (±) licarinediol A (**5**) na viabilidade das células tumorais MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 h de tratamento.

Porcentagem de inibição (células tumorais)				
Substâncias	MCF-7	HL-60	K562	HCT-166
2	0 ± 0,98%*	9,47 ± 0,59%*	-----	-----
3	52 ± 1,91%*	0 ± 2,98%	13,9 ± 2,38%*	52,8 ± 0,92%*
4	0 ± 0,81%*	0 ± 1,03%*	0 ± 0,93%*	0 ± 1,58%*
5	18,7 ± 1,14%*	96,9 ± 0,15%*	16,8 ± 0,77%*	0 ± 0,59%*

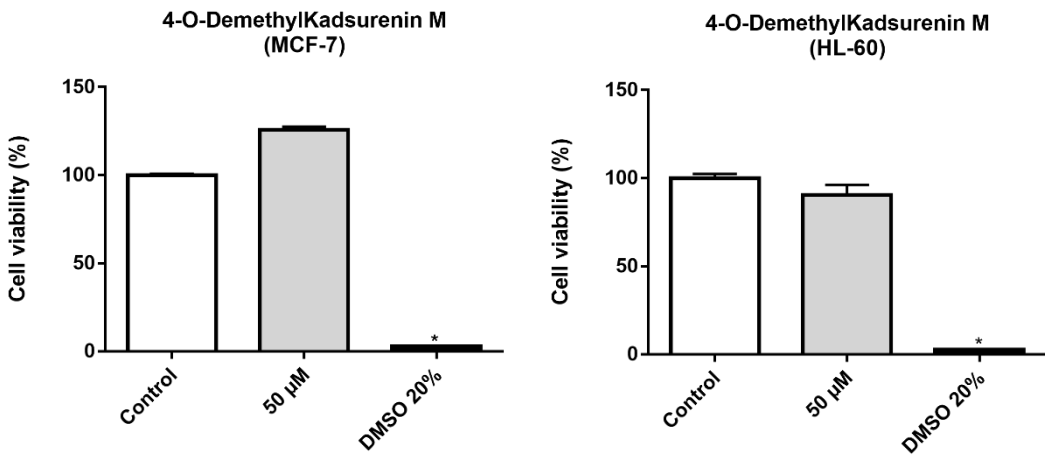
Os resultados são expressos como média ± erro padrão de um experimento independente em triplicata ou quadruplicata, testado na concentração de 50 µM. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * p<0,05 em relação ao controle não tratado.

Tabela 3: Efeito da substância (±) licarinediol A (**5**), na viabilidade das células não tumorais PBMC e L929, após 72 h de tratamento.

Substância	L929	PBMC
5	0 ± 0,82%	66,9 ± 0,12%*

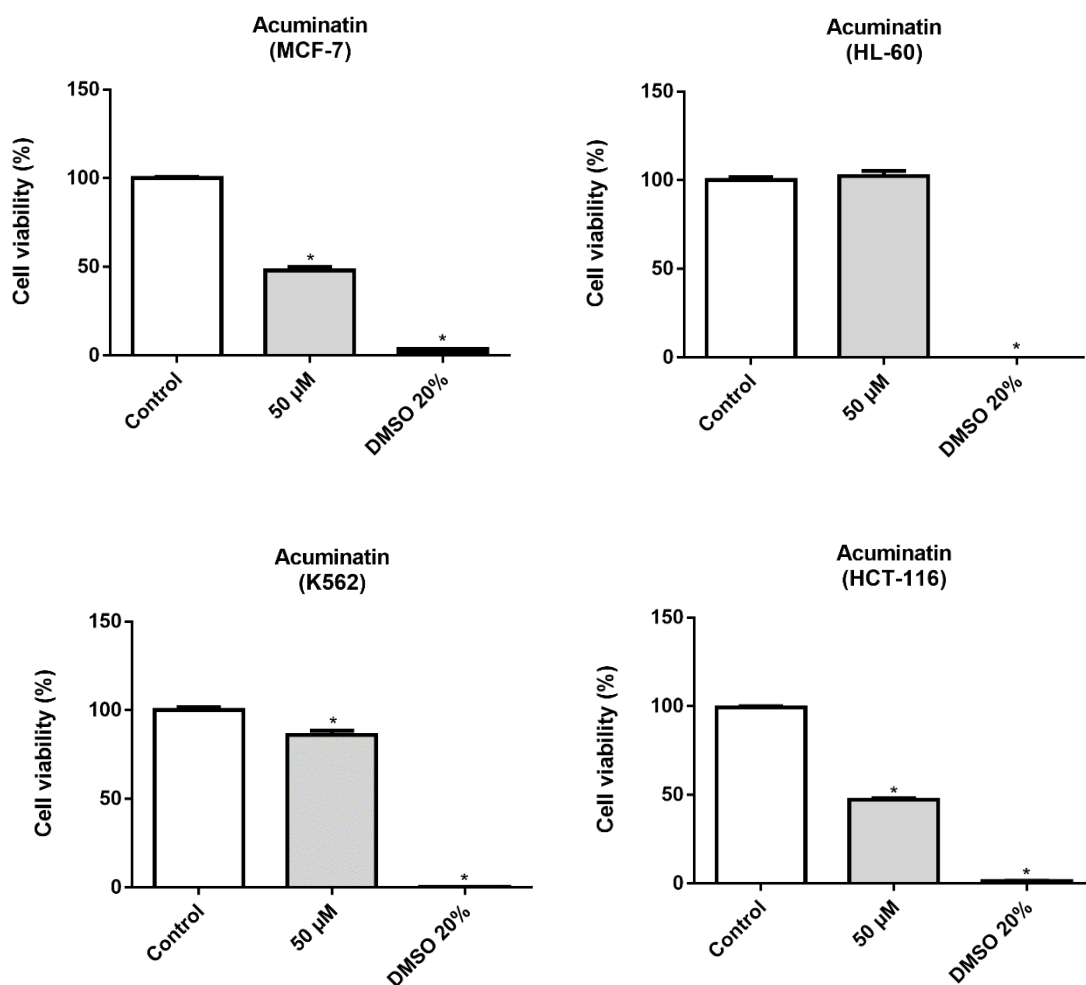
Os resultados são expressos como média ± erro padrão de um experimento independente em quadruplicata, testado na concentração de 50 µM. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * p<0,05 em relação ao controle não tratado.

Gráfico 1. Efeito da substância (±)4-o-demetilkadsurenina M na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento.



Fonte: Autor, 2019.

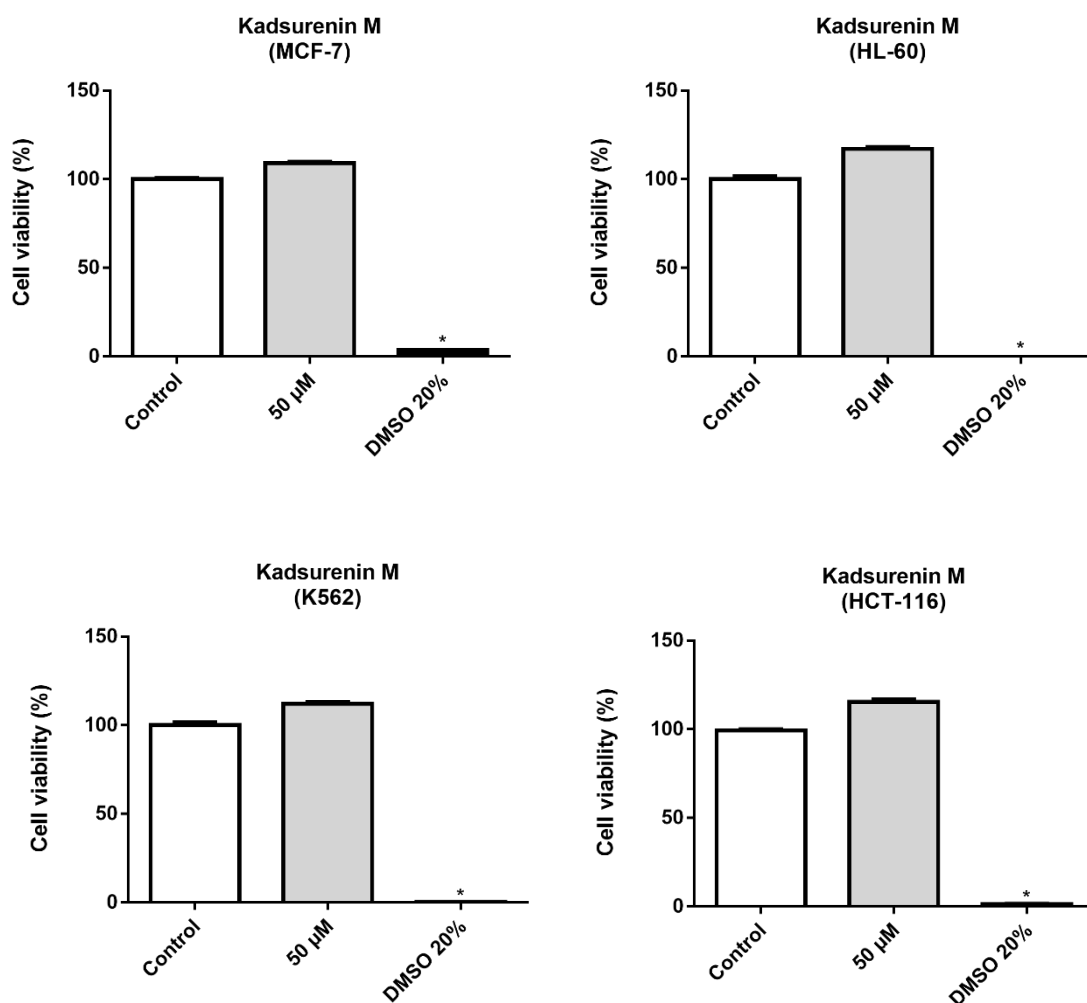
Gráfico 2. Efeito da substância (±)-acuminatin na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento.



Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão de um experimento independente em triplicata ou quadruplicata, testado na concentração de 50 μ M. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao controle não tratado.

Fonte: Autor, 2019.

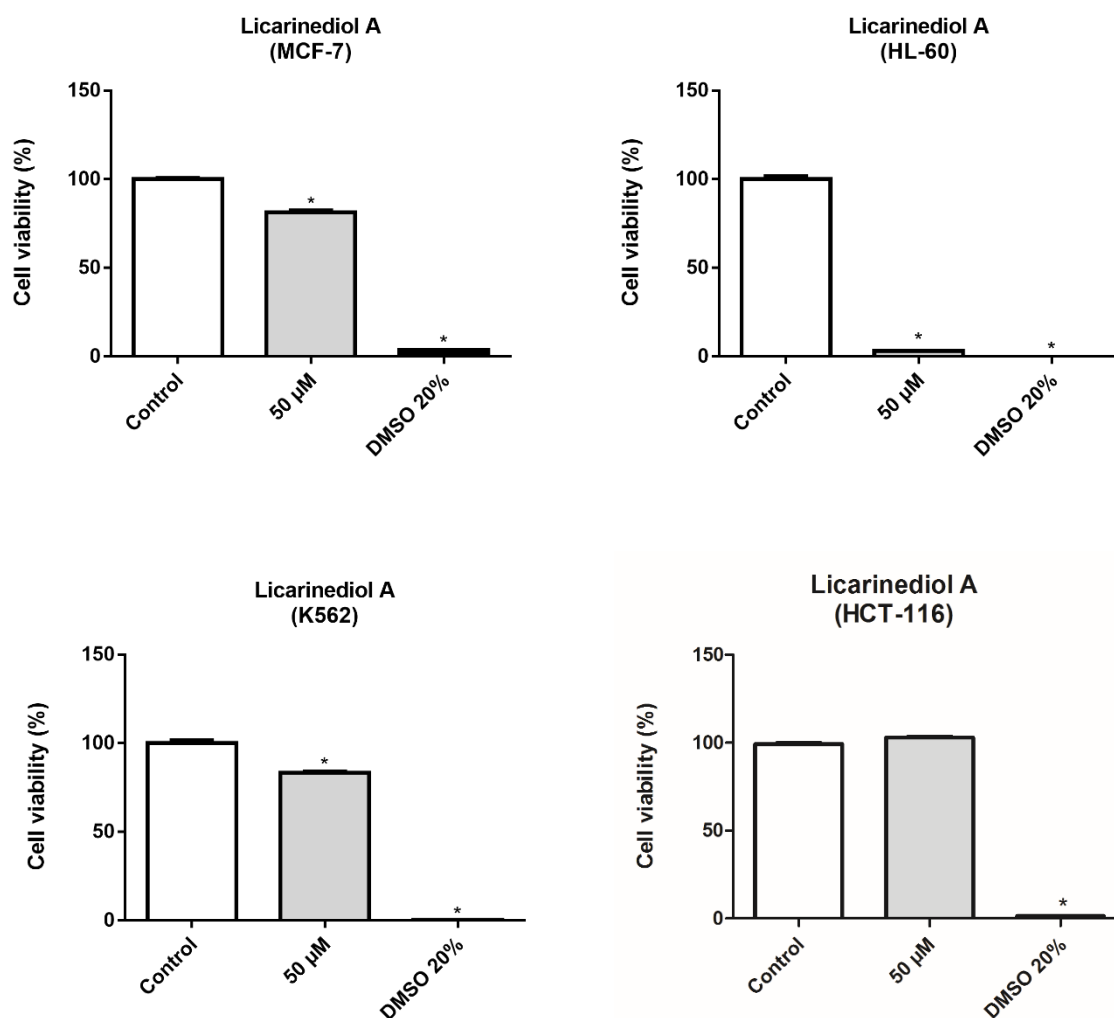
Gráfico 3. Efeito da substância (±)-kadsurenina M na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento.



Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão de um experimento independente em triplicata ou quadruplicata, testado na concentração de 50 μ M. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao controle não tratado.

Fonte: Autor, 2019.

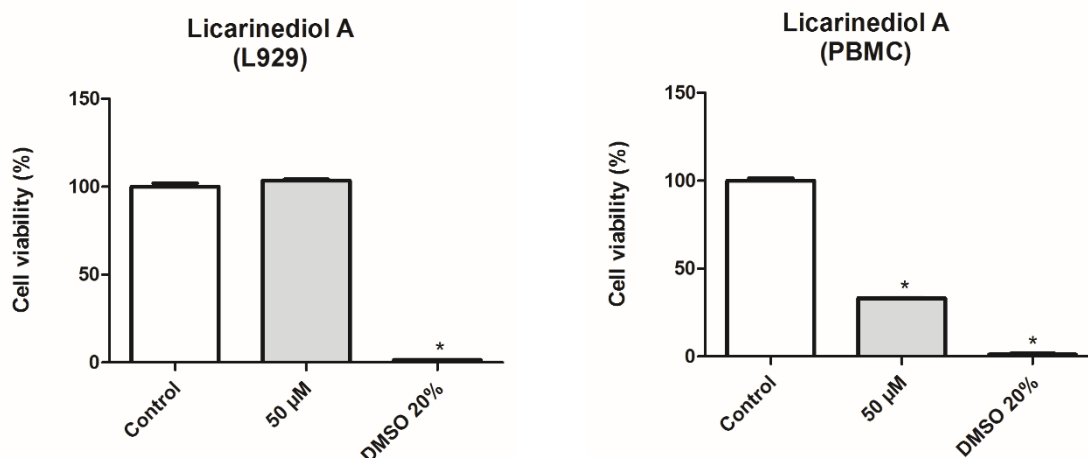
Gráfico 4. Efeito da substância (±)-licarinediol A na viabilidade das células MCF-7, HL-60, K562 e HCT-116, após 72 horas de tratamento.



Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão de um experimento independente em triplicata ou quadruplicata, testado na concentração de 50 µM. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao controle não tratado.

Fonte: Autor, 2019.

Gráfico 5. Efeito da substância (±)-licarinediol A na viabilidade das células L929 e PBMC, após 72 horas de tratamento.



Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão de um experimento independente em triplicata ou quadruplicata, testado na concentração de 50 μ M. Os dados foram analisados por ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ em relação ao controle não tratado.

Fonte: Autor, 2019.

5.3 Antibacteriano

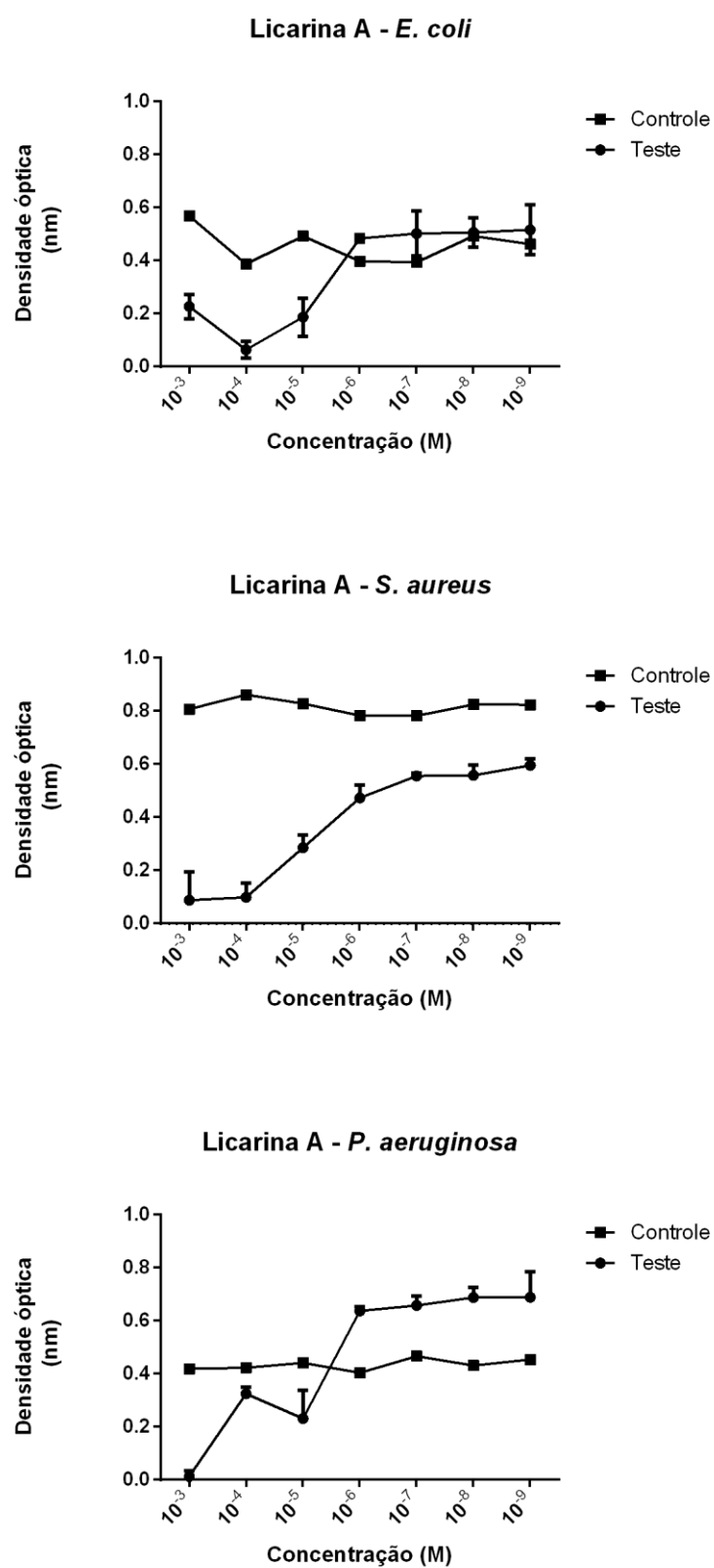
As amostras foram testadas apresentando a seguinte concentração inibitória mínima (CIM), conforme a tabela 4, e também os gráficos de 6 a 10 abaixo.

Tabela 4: Concentração inibitória mínima dos compostos: (±)-licarina A; (±)-4-o-demetilKadsurenina M; (±)-acuminatin; (±)-licarinediol A e (±)-kadsurenina M, após 48h de teste.

Fonte: Autor, 2019.

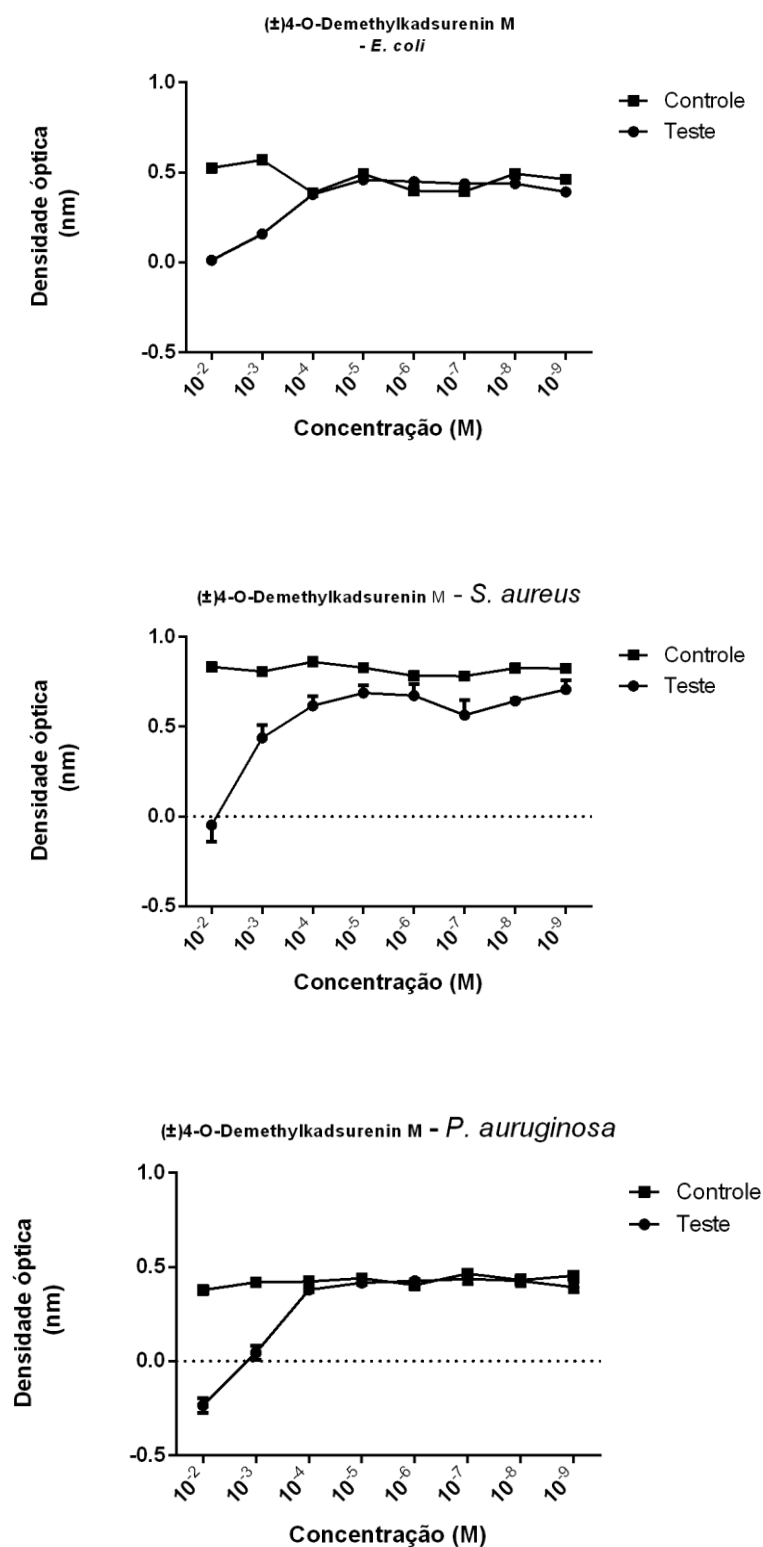
CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA – CIM (Molar)					
	(±) Licarina A	(±) 4-O-DemetilKadsurenina M	(±) Acuminatin	(±) Licarinediol	(±) Kadsurenina M
E. COLI	10^{-5}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-4}	10^{-2}
S. AUREUS	10^{-4}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	
P. AERUGINOSA	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	

Gráfico 6. Efeito da substância (±)-licarina A, após 48 horas de teste.



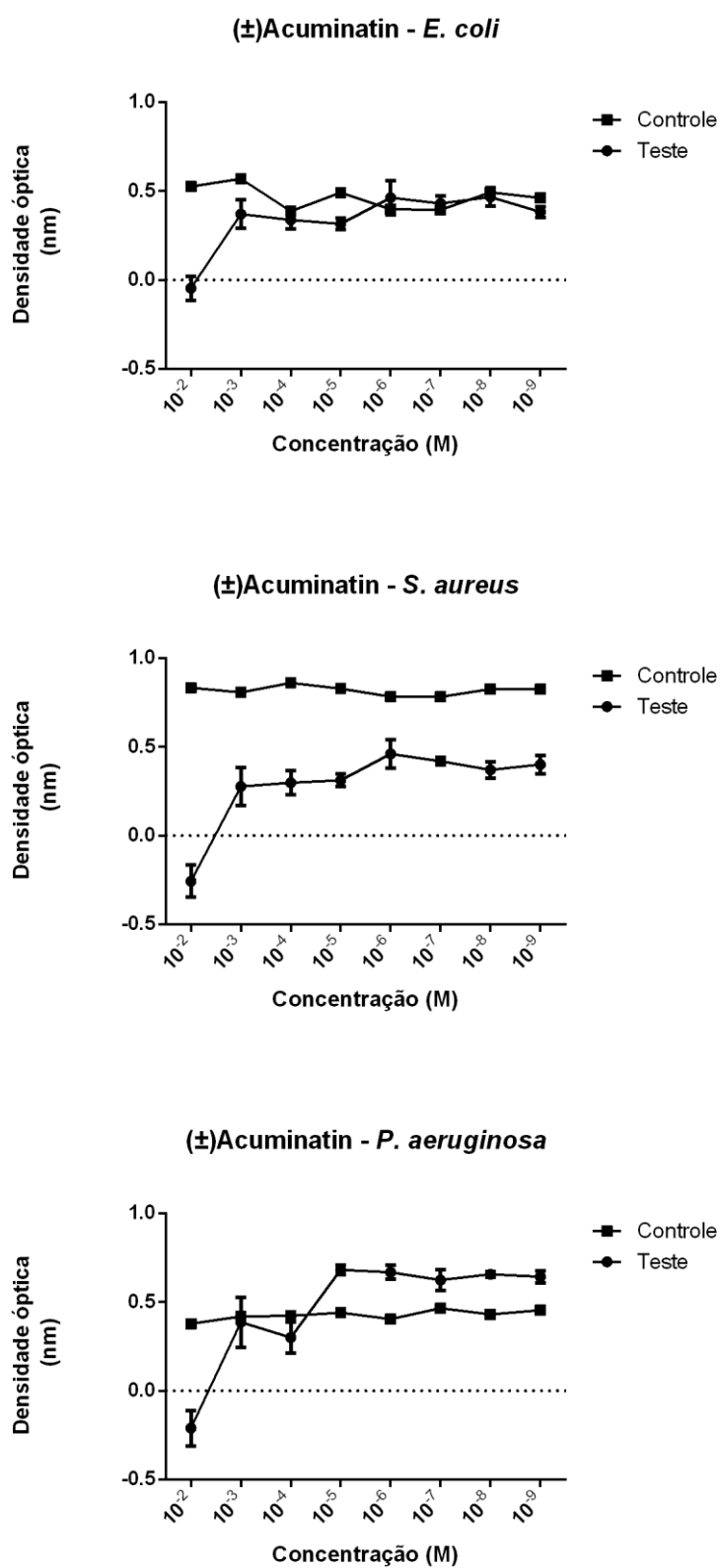
Fonte: Autor, 2019.

Gráfico 7. Efeito da substância (±)-4-o-demethylkadsurenina M, após 48 horas de teste.



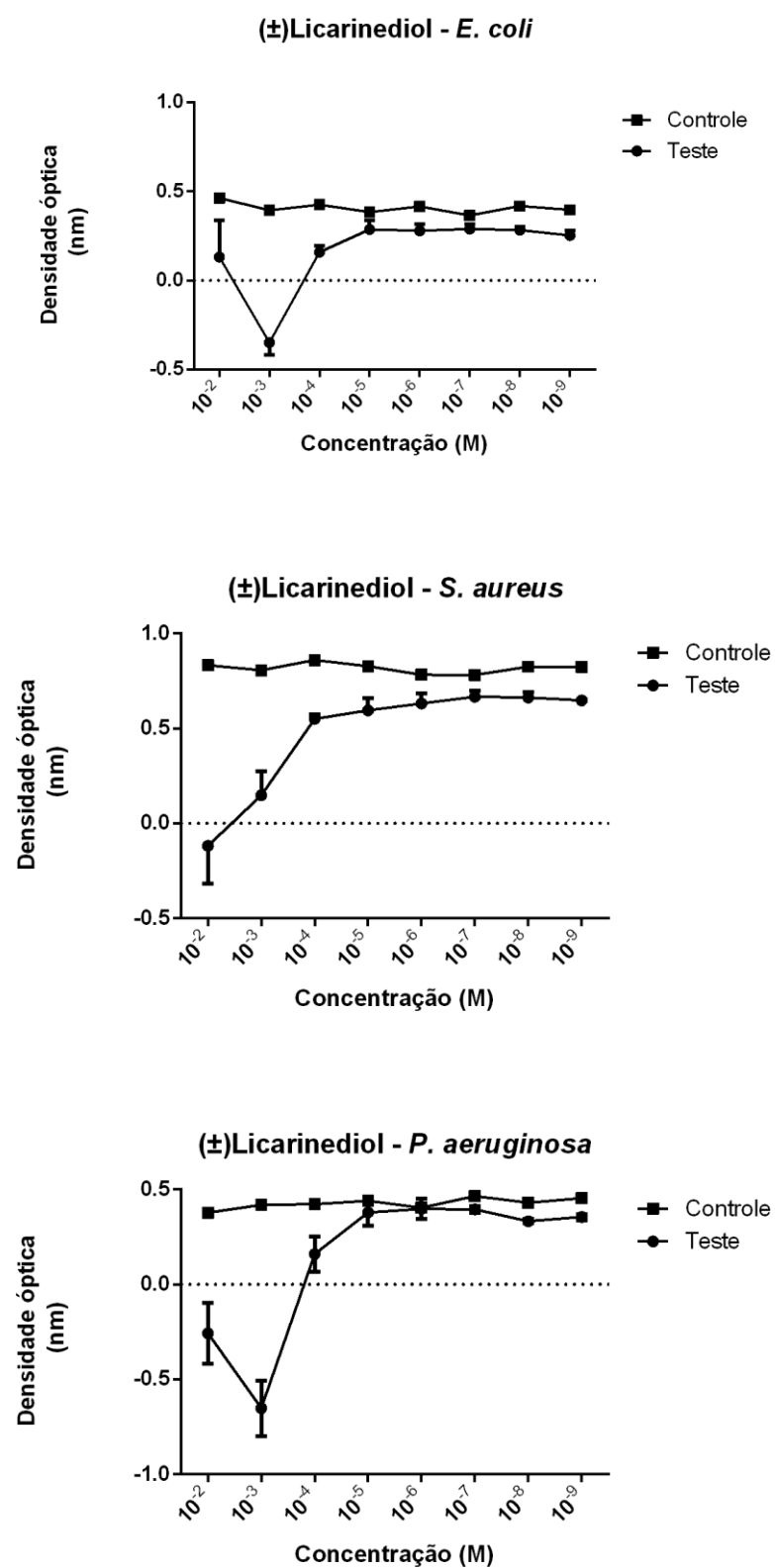
Fonte: Autor, 2019.

Gráfico 8. Efeito da substância (±)-acuminatin, após 48 horas de teste.



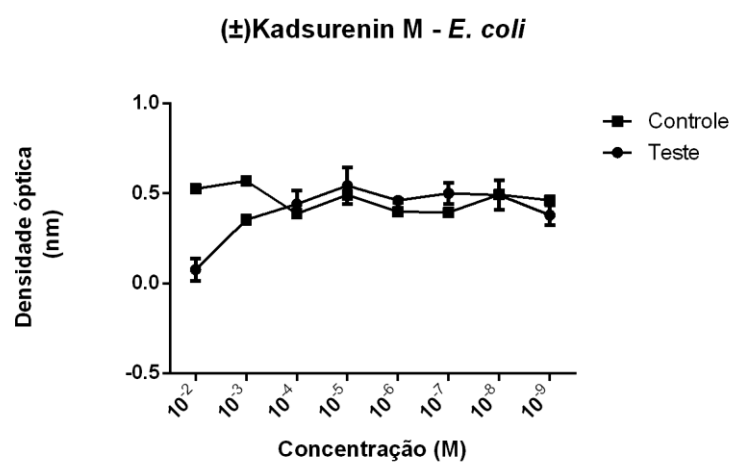
Fonte: Autor, 2019.

Gráfico 9. Efeito da substância (±)-licarinediol A, após 48 horas de teste.



Fonte: Autor, 2019.

Gráfico 10. Efeito da substância (±)-kadsurenina M, após 48 horas de teste.



Fonte: Autor, 2019.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que as sínteses das substâncias: (±)-licarina A; (±)-4-o-demetilkadsurenina M; (±)-acuminatin; (±)-licarinediol A e (±)kadsurenina M, foram bem sucedidas, como pode-se observar através dos dados espectrais de ressonância magnética nuclear (RMN) comparados com dados descritos na literatura.

A substância: (±)-acuminatin apresentou um percentual de inibição moderado nas linhagens de células tumorais MCF-7 e HCT-166, enquanto a substância: (±)-licarinediol A apresentou um percentual de inibição ótimo na linhagem de célula tumoral HL-60, no entanto, esta substância mostrou ser moderadamente tóxica em linhagens de células não tumorais PBMC.

Em bactérias (±)-licarina A, apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) nas concentrações de 10^{-5} M *Escherichia Coli* UFPEDA224, 10^{-4} M em *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e 10^{-3} M em *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

(±)-4-o-demetilkadsurenina M, apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) nas concentrações de 10^{-3} M *Escherichia Coli* UFPEDA224, 10^{-2} M em *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e 10^{-3} M em *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

(±)-Acuminatin, apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) nas concentrações de 10^{-2} M *Escherichia Coli* UFPEDA224, 10^{-2} M em *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e 10^{-2} M em *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

(±)-Licarinediol A, apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) nas concentrações de 10^{-4} M *Escherichia Coli* UFPEDA224, 10^{-3} M em *Staphylococcus aureus* UFPEDA02 e 10^{-3} M em *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA416.

(±)-Kadsurenina M, apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) nas concentrações de 10^{-2} M *Escherichia Coli* UFPEDA224.

REFERENCIAS

AGARWAL, Garima et al. Current status and contemporary approaches to the discovery of antitumor agents from higher plants. **Biotechnology advances**, 2019.

ANTUNES, R. M. P.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S. V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, T. M. S. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 517-524, 2006.

APERS, S.; VLIETINCK, A.; PIETERS, L. Lignans and neolignans as lead compounds. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, n. 3, p. 201-217, 2003.

AZAM, Mohd W.; KHAN, Asad U. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. **Drug discovery today**, v. 24, n. 1, p. 350-359, 2019.

BANERJEE, Biplab; ROY, Subhas Chandra. Concise enantioselective synthesis of furan lignans (-)-dihydrosesamin and (-)-acuminatin and furofuran lignans (-)-sesamin and (-)-methyl piperitol by radical cyclization of epoxides. **Synthesis**, v. 2005, n. 17, p. 2913-2919, 2005.

BASSETTI, Matteo et al. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Drugs in context**, v. 7, 2018.

BARAN, Phil S. Natural product total synthesis: as exciting as ever and here to stay. **J. Am. Chem. Soc.** V. 140, n. 14, p. 4751-4755, 2018.

BARBOSA-FILHO, José Maria; LEITÃO DA-CUNHA, Emídio V.; DA SILVA, Marcelo Sobral. Complete assignment of the ¹H and ¹³C NMR spectra of some lignoids from Lauraceae. **Magnetic resonance in chemistry**, v. 36, n. 12, p. 929-935, 1998.

BARROS, Letícia FL et al. Essential oil and other constituents from *Magnolia ovata* fruit. **Natural product communications**, v. 7, n. 10, p. 1934578X1200701030, 2012.

BERMUDI, Patricia Marques Moralejo; COSTA, Danielle Nunes Carneiro Castro; CHIARAVALLOTI NETO, Francisco. Avaliação da efetividade do controle da leishmaniose visceral, Araçatuba. **Resumos**, 2017.

BILLINGTON, D. C. et al. Total synthesis of novel conduritol related compounds capable of modulating insulin release. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 19, p. 2307-2312, 1994.

BOSI, Guilherme Rasia et al. What happens to intolerant, relapsed or refractory chronic myeloid leukemia patients without access to clinical trials?. **Hematology, transfusion and cell therapy**, 2019.

BRITO, Juliana R. et al. Isolation of cytotoxic neolignans from *Saururus cernuus* L.(Saururaceae) using ionic liquid in the microwave assisted extraction (MAE). **Química Nova**, v. 41, n. 7, p. 778-781, 2018.

CHEN, Po-Yuan et al. Cerium ammonium nitrate-mediated the oxidative dimerization of p-alkenylphenols: a new synthesis of substituted (±)-trans-dihydrobenzofurans. **Tetrahedron**, v. 69, n. 2, p. 653-657, 2013.

CICCONI, Laura et al. Molecular remission as a therapeutic objective in acute promyelocytic leukemia. **Leukemia**, v. 32, n. 8, p. 1671-1678, 2018.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evalution of new antimicrobials “*in vitro*” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M07-A10. Pennsylvania, United States of America: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2015.

COSTA, Maria Cristina Andreazza et al. Relações entre a estrutura química de neolignananas e a sua atividade anti-leishmaniose, envolvendo calculos de solvatação. 1998.

CROXEN, Matthew A.; FINLAY, B. Brett. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 26, 2010.

DAVIS, Melinda M. et al. A systematic review of clinic and community intervention to increase fecal testing for colorectal cancer in rural and low-income populations in the United States—How, what and when?. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 40, 2018.

DIAZ, David D. et al. Recent uses of Iron (III) chloride in organic synthesis. **Current Organic Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 457-476, 2006.

FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L.A.L. ; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16 n.2, 2014.

GILTRAP, Andrew. Total synthesis of teixobactin. In: **Total Synthesis of Natural Products with Antimicrobial Activity**. Springer, Singapore, 2018. p. 33-69.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

HUDLICKY, Tomas. Benefits of unconventional methods in the total synthesis of natural products. **ACS omega**, v. 3, n. 12, p. 17326-17340, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Estimativa 2018-Incidência de câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. A Situação do Câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer. 2006.

JIN, XiaoLing et al. Oxidative coupling of cinnamic acid derivatives and their radical-scavenging activities. **Chinese Science Bulletin**, v. 55, n. 25, p. 2885-2890, 2010.

KHARDORI, Nancy (Ed.). **Bench to Bedside: Diagnostic Microbiology for the Clinicians**. CRC Press, 2018.

LADEIRA MACEDO, Arthur et al. An overview of neolignans of the genus Piper L.: isolation methods and biological activities. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 17, n. 8, p. 693-720, 2017.

LEMOS, Caroline Ortega Terra et al. Supercritical extraction of neolignans from Piper regnelli var. pallescens. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 71, p. 64-70, 2012.

LEÓN-DÍAZ, Rosalba et al. Antimycobacterial neolignans isolated from Aristolochia taliscana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 45-51, 2010.

MATHIAS, Carolina et al. Long non-coding RNAs differential expression in breast cancer subtypes: What do we know?. **Clinical genetics**, v. 95, n. 5, p. 558-568, 2019.

MARDHATILLAH, Athina; MUTAKIN, Mutakin; LEVITA, Jutti. FeCl₃-catalyzed Synthesis of Dehydrodiisoeugenol. **International Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, 2016.

MELLATA, M.; JOHNSON, James R.; CURTISS III, R. Escherichia coli isolates from commercial chicken meat and eggs cause sepsis, meningitis and urinary tract infection in rodent models of human infections. **Zoonoses and public health**, v. 65, n. 1, p. 103-113, 2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NASCIMENTO, Isabele R.; LOPES, Lucia MX. 2, 3-Dihydrobenzofuran neolignans from Aristolochia pubescens. **Phytochemistry**, v. 52, n. 2, p. 345-350, 1999.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NIKOLAOU, Michail et al. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. **Clinical & experimental metastasis**, v. 35, n. 4, p. 309-318, 2018.

NUNES, João; PIMENTA, Denise. A epidemia de Zika e os limites da saúde global. **Lua Nova: Revista de Cultura e Política**, p. 21-46, 2016.

OLIVEIRA, Nathália de M. et al. A THEORETICAL AND EXPERIMENTAL STUDY OF THE SYNTHESIS AND REACTIVITY OF THE (±)-LICARIN A. **INVESTIGAÇÃO**, v. 14, n. 4, 2015.

OLIVEIRA, Roberta Gondim de. **Doenças, corpos e territórios negligenciados—práticas de saúde sobre a tuberculose em espaços e pessoas vulnerabilizadas**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.

OLIVEIRA, Diana; BORGES, Anabela; SIMÕES, Manuel. Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. **Toxins**, v. 10, n. 6, p. 252, 2018.

PARK, Bo-Young et al. Increase of caspase-3 activity by lignans from Machilus thunbergii in HL-60 cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 8, p. 1305-1307, 2004.

PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against Trichophyton rubrum involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 1–7, 2014.

PSOTKA, Miroslav; MARTINKOVÁ, Miroslava; GONDA, Jozef. A Lemieux–Johnson oxidation of shikimic acid derivatives: facile entry to small library of protected (2S, 3S, 4R)-2, 3, 4, 7-tetrahydroxy-6-oxoheptanals. **Chemical Papers**, v. 71, n. 4, p. 709-719, 2017.

RODRIGUES, Luís Cezar et al. Formation of bioactive benzofuran via oxidative coupling, using coconut water (Cocos nucifera L.) as biocatalyst. **Organic Communications**, 2017.

ROY, Subhas Chandra; RANA, Kalyan Kumar; GUIN, Chandrani. Short and stereoselective total synthesis of furano lignans (±)-dihydrosesamin,(±)-lariciresinol dimethyl ether,(±)-acuminatin methyl ether,(±)-sanshodiol methyl ether,(±)-lariciresinol,(±)-acuminatin, and (±)-lariciresinol monomethyl ether and furofuran lignans (±)-sesamin,(±)-eudesmin,(±)-piperitol methyl ether,(±)-pinoresinol,(±)-piperitol, and (±)-pinoresinol monomethyl ether by radical cyclization of epoxides using a transition-metal radical source. **The Journal of organic chemistry**, v. 67, n. 10, p. 3242-3248, 2002.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento, 6 (th) ed. **UFSC: Florianópolis**, 2010.

SUN, Shiwei et al. Neolignan glycosides from *Spiraea salicifolia* and their inhibitory activity on pro-inflammatory cytokine interleukin-6 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Natural product research**, v. 33, n. 22, p. 3215-3222, 2019.

TZENG, Shin-Cheng; LIU, Yeuk-Chuen. Peroxidase-catalyzed synthesis of neolignan and its anti-inflammatory activity. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 32, n. 1-2, p. 7-13, 2004.

VAN DUIJKEREN, Engeline et al. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 1, 2018.

WASSERMAN, H.H.; Brunner, R. K.; Buynak, J. D. Carter, C. G.; Oku, T.; Robison, R. P. J. **am. chem. soc.** 1985, 107, 519-521.

WILLING, Benjamin P. et al. Bacterial resistance to antibiotic alternatives: a wolf in sheep's clothing?. **Animal Frontiers**, v. 8, n. 2, p. 39-47, 2018.

ZHAO, Chen; LERCHER, Johannes A. Upgrading pyrolysis oil over Ni/HZSM-5 by cascade reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 24, p. 5935-5940, 2012.

ZHANG, Juan et al. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy. **Acta pharmaceutica sinica B**, v. 8, n. 2, p. 137-146, 2018.

ANEXOS

ANEXO A – Artigo publicado na revista Brazilian Journal of Development

Brazilian Journal of Development

19109

Synthesis and tumoral test of $(\pm)$ -4-O-DemethylKadsurenin M a natural compound and analogues

Síntese e avaliação antitumoral do $(\pm)$ -4-O-demethylKadsurenin M um composto natural e seus análogos

DOI:10.34117/bjdv5n10-144

Recebimento dos originais: 10/09/2019

Aceitação para publicação: 11/10/2019

Bruno Hanrry Melo de Oliveira

Biomédico especialista em Biologia molecular, mestrando em Biotecnologia pela
Universidade Federal da Paraíba – UFPB / Centro de Biotecnologia.

Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB,
58033-455

Email: hanrygb@hotmail.com

ANEXO B – Artigo publicado em colaboração na revista Brazilian Journal of Development

Brazilian Journal of Development

20779

Synthesis of 2',4,4'-trimethoxychalcon and in vitro cytotoxic study in human tumor cells

Síntese da 2',4,4'-trimetoxichalcona e estudo citotóxico in vitro em células tumorais humanas

DOI:10.34117/bjdv5n10-255

Recebimento dos originais: 20/09/2019

Aceitação para publicação: 18/10/2019

Tamyrys Fernandes Vilar Bento

Graduanda em Biotecnologia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB, 58033-455

E-mail: tamyrsvfb@gmail.com

Luiz André Araujo Silva

Programa de Pós-Graduação Em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos pela

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Lot. Cidade Universitária, PB, 58051-900

E-mail: luiz32@gmail.com

Flávio Valadares Pereira Borges

Programa de Pós-Graduação Em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade

Federal da Paraíba (UFPB)

Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB, 58033-455

E-mail: flavinhovb@gmail.com

Bruno Hanrry Melo de Oliveira

Biomédico especialista em Biologia Molecular, mestrando em Biotecnologia pela Universidade

Federal da Paraíba – UFPB

Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB, 58033-455

E-mail: hanrygb@hotmail.com

MOL2NET, 2016, 2(14), pages 1- x
<http://sciforum.net/conference/mol2net-02/wrsamc>



Tamyrys Fernandes Vilar Bento^{1*}, Luis Cezar Rodrigues¹, Luiz de Araújo Silva¹, José Maria Barbosa-Filho², Flávio Valadares Pereira Borges², Bruno Hanrry Melo de Oliveira², Maria Eduarda de Souza Maia¹, Gabrielly Diniz Duarte¹

² Post-Graduate Program in Natural Products and Bioactives, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 58051-900, PB, Brazil; flavinhovb@gmail.com (F.B), barbosa@ltf.ufpb.br (J.B), fernandoferreira15@hotmail.com (F.F).

* tamvrysfb@gmail.com; 55 83 9 86577229

Abstract: Lophirone C is a lignan with several pharmacological activities reported such as anticarcinogenicity and antioxidant activities. The bark of *Lophira* spp contains that lignan. Due to those important properties, the purpose of this work is the organic and enzymatic synthesis of Lophirone C. Starting from the methylation of resorcinol with methyl iodide using potassium carbonate as base, the product was acylated by a mixture of acetic anhydride and trifluoroacetic acid, so providing the acetophenone. Following step was the aldol condensation of this ketone with 4-methoxybenzaldehyde, using ethanol as solvent and potassium tert-butoxide as base. With the chalcone formed, the deprotection of the phenolic hydroxyls and subsequent oxidative coupling provides the final product with synthetic Lophirone C.

67

ANEXO D – Trabalho completo em colaboração apresentado no 51st Congresso brasileiro de farmacologia e terapêutica experimental



ANEXO E – Depósito de patente, processo número: BR 10 2019 024353 8



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2019 024353 8

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24098477000110

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58059-900

País: Brasil

Telefone: (83) 32167558

Fax:

Email: inova@reitoria.ufpb.br