



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

SANY DELANY GOMES MARQUES

SÍNTESE DE LIGNANAS POR ACOPLAMENTO OXIDATIVO DE
FENILPROPANOIDES

JOÃO PESSOA - PB

2014



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

SÍNTESE DE LIGNANAS POR ACOPLAMENTO OXIDATIVO DE
FENILPROPANOIDES

Sany Delany Gomes Marques

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba como requisito para obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de Farmacoquímica.

Orientador: Eduardo de Jesus Oliveira

Segundo orientador: Luís Cezar Rodrigues

João Pessoa – PB

2014

MARQUES, Sany Delany Gomes

Síntese de lignanas por Acoplamento Oxidativo de Fenilpropanoides

Sany Delany Gomes Marques – João Pessoa – 2014 – 122 páginas

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências da Saúde

Lignans synthesis by Oxidative Coupling of Phenylpropanoids

Oxidative Coupling, Biocatalysis, Lignans, Licarin A, Dihydrocarinatidin, Conocarpan, Yangambin, Dehydrodieugenol, Syringaresinol

Sany Delany Gomes Marques
SÍNTESE DE LIGNANAS POR ACOPLAMENTO OXIDATIVO DE
FENILPROPANOIDES

Dissertação submetida à aprovação em 30/05/2014

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Eduardo de Jesus Oliveira

Universidade Federal da Paraíba - UFPB
(Orientador)

Prof. Dr. Luís Cezar Rodrigues

Universidade Federal da Paraíba - UFPB
(Segundo orientador)

Prof. Dr. Mário Luíz Araújo Almeida Vasconcellos

Universidade Federal da Paraíba - UFPB
(Examinador Externo)

Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza

Universidade Federal da Paraíba - UFPB
(Examinador Interno)

João Pessoa - PB

2014

Dedico

*A meu marido David, por todo amor, carinho,
compreensão e incentivo em momentos de angústias e
dificuldades.*

*Aos meus pais Mário Marques e Clenilza Marques e a
minha irmã Sandy pelo apoio irrestrito em todos os
momentos de minha vida, que em ocasiões de dificuldade
sempre intercederam a Deus pelo meu sucesso e felicidade.
Dedico-lhes essa nova conquista com gratidão e amor.*

“Porém, como dizem as Escrituras Sagradas:

O que ninguém nunca viu nem ouviu, e o que jamais
alguém pensou que podia acontecer, foi isso o que
Deus preparou para aqueles que o amam.”

I Coríntios 2.9

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a quem devo tudo o que sou.

Deixo também expressos meus sinceros agradecimentos às seguintes pessoas, instituições e programas institucionais, sem as quais o presente trabalho não teria sido possível:

A meu marido David Brian Costa Nunes de Lima, aos meus pais, Mário Marques da Silva e Clenilza Gomes Marques e, a minha irmã, Sandy Kathyllen Gomes Marques pelo apoio, compreensão, ajuda e por todo carinho e amor oferecido ao longo deste percurso;

A meu orientador Prof. Dr. Luís Cezar Rodrigues, pelo incentivo e apoio, pela paciência ao ensino, pelas valiosas discussões e sugestões no decorrer do trabalho, pelas orientações nas inúmeras dúvidas e pela disponibilidade em todos os momentos precisos;

A Prof^a. Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza, pelas orientações no período de iniciação científica, por me incentivar a realizar a Pós-Graduação em Farmacoquímica e por ter me apresentado ao meu atual orientador.

Aos colegas de bancada pela colaboração nos estudos, nas dúvidas e nos momentos de dificuldades do decorrer de cada experimento;

Aos meus colegas de turma Flávio e Evandro pelo apoio em todos os momentos e pela disponibilidade em ajudar quando necessário;

À coordenação de pós-graduação em produtos naturais e sintéticos e bioativos, pela receptividade, acolhida e apoio técnico e administrativo;

A todos os meus professores do curso de pós-graduação, que muito contribuíram para minha formação acadêmica.

A todos os técnicos participantes do programa, pela atenção concedida e ajuda para a realização dos experimentos.

Ao NUCAL e seus funcionários pelos espectros de RMN.

À UFPB e CNPq, pelo auxílio financeiro e suporte técnico.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Por meio do acoplamento oxidativo de fenilpropanóides, foi possível desenvolver um método de síntese enantiosseletivo de algumas lignanas naturais encontradas em diversas plantas e que possuem importantes atividades biológicas. Através deste método obteve-se a síntese inédita da dihidrocarinatidina, composto ao qual se atribui importantes atividades farmacológicas. Destarte, em patente (PI 1101946-8) submetida por nosso grupo de pesquisa, descrevemos processo de preparo de algumas lignanas naturais, utilizando para isso, peroxidase contida na água de coco (*Cocos nucifera*) que atua como biocatalizador, e água oxigenada como agente oxidante nos acoplamentos oxidativos de ácidos *p*-(OH)-fenilpropanoides. Deste modo, foram obtidas formas diméricas do isoeugenol (Licarina A) e a produção do heterodímero dihidrocarinatidina por meio do acoplamento oxidativo cruzado entre eugenol e isoeugenol. Através desta técnica, foi também realizada a síntese do seringaresinol, pela dimerização do álcool sinapílico, que uma vez metilado nos forneceu iangambina. Além disso, foram realizadas por este método, tentativas de síntese do conocarpan. Vale ressaltar, que todas estas substâncias apresentam grande importância farmacológica. Utilizando uma mistura aquosa de ferrocianeto de potássio e hidróxido de amônia, promovemos o acoplamento oxidativo do eugenol, que nos forneceu o dehidrodieugenol, sua metilação com iodeto de metila e carbonato de potássio forneceu majoritariamente, a forma monometil éter e minoritariamente, o derivado dimetiléter. Os produtos das reações foram caracterizados pelos espectros de ^{13}C -RMN e ^1H -RMN, que depois foram confrontados com dados espectrais dos homólogos naturais encontrados na literatura. Foram desenvolvidos ensaios de atividade antileishmania para a licarina A, dehidrodieugenol e seus derivados mono e dimetil éteres. Por meio destes ensaios verificaram-se atividades antileishmania contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania major* (licarina A) e formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (dehidrodieugenol), apresentando resultados mais eficientes que a droga de referência. O dehidrodieugenol monometilado mostrou destacada atividade antiparasitária contra *Leishmania amazonensis*.

Palavras-chave: Acoplamento oxidativo, Biocatálise, Lignanas, Licarina A, Dihidrocarinatidina, Conocarpan, Iangambina, Dehidrodieugenol, Seringaresinol.

ABSTRACT

By means of oxidative coupling of phenylpropanoids, it was possible to develop a synthesis enantioselective method some natural lignans found in various plants that possess important biological activities. Through this method we obtained the novel synthesis of dihydrocarinatidina composed to be assigned valuable pharmacological activities. Thus, in patent (PI 1101946-8) submitted by our research group, describe the preparation of some natural process lignans, using this, peroxidase contained in coconut water (*Cocos nucifera*) that acts as a biocatalyst, and hydrogen peroxide as an agent oxidant in the oxidative coupling of acid *p*-(OH)-phenylpropanoids. Thus, dimeric forms of isoeugenol (Licarina A) and dihydrocarinatidina heterodimer production by oxidative cross-coupling between eugenol and isoeugenol were obtained. This technique was also carried out the synthesis of syringaresinol by dimerization sinapílico alcohol, once methylated provided in yangambin. Moreover, were made by this method, attempts to synthesize the conocarpan. It is noteworthy that all these substances have great pharmacological importance. Using an aqueous mixture of potassium ferrocyanide and ammonium hydroxide, promote oxidative coupling of eugenol, which provided the dehidrodieugenol, its methylation with methyl iodide and potassium carbonate provided mainly in the form monomethyl ether and minority, the dimethyl derivative. The products of the reactions were characterized by ¹³C-NMR and ¹H-NMR spectra, which were then faced with spectral data of natural counterparts in the literature. Tests for leishmania activity licarina A, dehidrodieugenol and its mono and dimethyl ether derivatives were developed. Through these trials there were activities against Leishmania promastigotes and amastigotes of *Leishmania major* (licarina A) and promastigotes of *Leishmania amazonensis* (dehidrodieugenol), with more efficient results than the reference drug. The highlighted dehidrodieugenol monometilado showed antiparasitic activity against *Leishmania amazonensis*.

Keywords: Oxidative Coupling, Biocatalysis, Lignans, Licarin A, Dihydrocarinatidin, Conocarpan, Yangambin, Dehidrodieugenol, Syringaresinol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rota biossintética dos fenilpropanoides.....	25
Figura 2 - Secoisolariciresinol e matairesinol e sua conversão no organismo humano	26
Figura 3 - Preparação da Licarina A e do (+)-Siringaresinol	27
Figura 4 - Proposta de mecanismo para formação dos radicais p-(OH)-fenilpropenóides	29
Figura 5 - Gráfico da estabilidade relativa dos radicais do álcool coniférico	30
Figura 6 - Proposta de mecanismo para dimerizações do álcool coniférico.....	32
Figura 7 - Produtos do acoplamento aleatório dos radicais fenoxilas por HRP comercial	33
Figura 8 - Síntese da Dihidrocarinatidina	34
Figura 9 - Produtos obtidos do isoeugenol pelo tratamento com <i>P. putida</i>	35
Figura 10 - Magnolol (10) e os seus derivados mono (11) e dimetil (12) éter ..	39
Figura 11 - Dehidrodieugenol (13) e os seus derivados mono e dimetil éter (14 e 15)	40
Figura 12 - Extração da fase orgânica pela cânula	55
Figura 13 - Estereoisômeros da Licarina.....	61
Figura 14 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da (-)-Licarina A (CDCl_3 , 50,3 MHz) .	65
Figura 15 - Espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina A (CDCl_3 , 200 MHz).....	65
Figura 16 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina na região de 6,95 a 6,75 ppm (CDCl_3 , 200 MHz)	66
Figura 17 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina na região de 6,4 a 6,0 ppm (CDCl_3 , 200 MHz)	66
Figura 18 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina A na região de 2,0 a 1,80 ppm (CDCl_3 , 200 MHz)	66
Figura 19 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina (CDCl_3 , 50 Mhz)	70
Figura 20 - Expansão do espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina na região de 147 a 129 ppm (CDCl_3 , 50 Mhz).....	70
Figura 21 - Expansão do espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina na região de 116 a 106 ppm (CDCl_3 , 50 Mhz).....	71
Figura 22 - Espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina (CDCl_3 , 200 Mhz)	71

Figura 23 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 7,0 a 6,3 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	72
Figura 24 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 5,20 a 4,75 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	72
Figura 25 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 3,45 a 3,00 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	73
Figura 26 - Par de elétrons não ligante do fósforo ataca a retaguarda do bromoetano	74
Figura 27 - Formação do lídeo de fósforo	74
Figura 28 - Mecanismo de transformação do p-hidroxibenzaldeído.....	74
Figura 29 - Preparação do 4-alilfenol	75
Figura 30 - Acomplamento oxidativo do 4-alilfenol pela peroxidase.....	76
Figura 31 - Placa corrida em 7:3 Hex:AcOEt (UV 254 e 366nm)	78
Figura 32 - Placa corrida em 3:7 Hex:AcOEt (UV 254 e 366 nm)	78
Figura 33 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Álcool Sinapílico (CDCl_3 , 50 Mhz)	81
Figura 34 - Espectro de ^1H -RMN do Álcool Sinapílico (CDCl_3 , 200 Mhz).....	81
Figura 35 - Expansão do espectro de ^1H -RMN do Álcool Sinapílico na região de 6,34 a 6,14 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	82
Figura 36 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Seringaresinol (CDCl_3 , 50 Mhz) ..	83
Figura 37 - Espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol (CDCl_3 , 200 Mhz)	84
Figura 38 - Expansão do espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol na região de 4,8 a 4,1 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	84
Figura 39 - Expansão do espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol na região de 3,45 a 2,95 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).....	85
Figura 40 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da langambina (CDCl_3 , 50 Mhz)	86
Figura 41 - Espectro de ^1H -RMN da langambina (CDCl_3 , 200 Mhz)	87
Figura 42 - Expansão do espectro de ^1H -RMN da langambina na região de 4,8 a 4,1 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz)	87
Figura 43 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol (CDCl_3 , 50 MHz)	90
Figura 44 - Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol (CDCl_3 , 200 MHz)	90
Figura 45 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol monometil éter (CDCl_3 , 50 MHz).....	93

Figura 46 - Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol monometil éter (CDCl_3 , 200 MHz)	93
Figura 47 - Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol dimetil éter (CDCl_3 , 50 MHz)	95
Figura 48 - Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol dimetil éter (CDCl_3 , 200 MHz)	95
Figura 49 - Inibição de crescimento de formas promastigotas na presença de diferentes concentrações de (-)-Licarina A, meglumina e anfotericina B	98
Figura 50 - Citotoxicidade (-)-Licarin A em macrófagos peritoniais de ratos. Índice de sobrevivência de macrófagos infectados com leishmania.....	99
Figura 51 - Efeito da (-)-Licarin A em $\text{TNF-}\alpha$ (a), IL-6 (b), IL-10 (c) e NO (d) .	100
Figura 52 - Inibição do crescimento de formas promastigotas <i>L. amazonensis</i> na presença do dehidrodieugenol e de seus derivados mono e éter dimetílico	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C da (-)-Licarina A	63
Tabela 2 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C da Dihidrocarinatidina	68
Tabela 3 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do álcool sinapílico	80
Tabela 4 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Seringaresinol	82
Tabela 5 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do langambina	85
Tabela 6 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol	89
Tabela 7 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol monometil éter	91
Tabela 8 - Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol dimetil éter	94
Tabela 9 - Sensibilidade das formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> para dehidrodieugenol e seus derivados mono e éter dimetílico, antimoniato de meglumina e anfotericina B	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APT	<i>Attached Proton Test</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
H-DIBAL	Hidreto de diisobutilaluminio
HRP	Enzima Horseradish Peroxidase
IC_{50}	Concentração de Inibição a 50%
IL	Interleucina
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
<i>m</i>	Múltiplo
MMT	Teste de Citotoxicidade em Macrófagos
NADP	Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NUCAL	Núcleo de Caracterização e Análises
<i>q</i>	Quarteto
R_f	Fator de Retenção
$\text{RMN } ^{13}\text{C}$	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
$\text{RMN } ^1\text{H}$	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
SB^v	Antimoniato de Meglumina
<i>sl</i>	Simpleto largo
UV	Ultravioleta na faixa do visível
$\text{TNF-}\alpha$	Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	22
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
3.1 Considerações sobre Lignanais	24
3.1.1 Definição	24
3.1.2 Biogênese	24
3.1.3 Atividades biológicas	25
3.2. Identificação da Proposta Utilizando Biocatalizadores	27
3.3 Considerações sobre a (-)-Licarina A	34
3.4 Considerações sobre a Dihidrocarinatidina	36
3.5 Considerações sobre o Conocarpan	36
3.6 Considerações sobre a langambina	37
3.7 Considerações sobre o Dehidrodieugenol Monometil e Dimetileter	39
4. PARTE EXPERIMENTAL	43
4.1 Reagentes e Solventes	43
4.2 Métodos de Análise	43
4.2.1 Métodos cromatográficos	43
4.2.2 Métodos espectrométricos	44
4.2.3 Ponto de Fusão	44
4.3 Preparação da síntese da (-)-Licarina A	44
4.4 Preparação da síntese da Dihidrocarinatidina	46
4.5 Preparação da síntese do Conocarpan	47
4.5.1 Síntese do Sal de fosfônio	47
4.5.2 Síntese do Isochavicol via reação de Wittig	48
4.5.3 Síntese do Isochavicol via desproteção do Anetol	49
4.5.4 Síntese do Conocarpan	50
4.6 Preparação da Síntese da langambina	51
4.6.1 Síntese do Metil-éster do ácido p-hidróxi-ferúlico	51
4.6.2 Síntese do Álcool sinapílico	53

4.6.3 Síntese do Seringaresinol	54
4.6.4 Síntese da langambina	55
4.7 Preparação da síntese do Dehidrodieugenol monometil e dimetil éter	56
4.7.1 Síntese do Dehidrodieugenol	56
4.7.2 Síntese do monometil éter do dehidrodieugenol	57
4.7.3 Síntese do dimetil éter do dehidrodieugenol	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1 Síntese da (-)-Licarina A	61
5.1.1 Dados espectrais	62
5.2 Síntese da Dihidrocarinatidina	67
5.2.1 Dados espectrais	68
5.3 Síntese do Conocarpan	73
5.3.1 Síntese do Isochavicol via reação de Wittig	73
5.3.2 Síntese do Isochavicol via desproteção do Anetol	75
5.4 Síntese da langambina	76
5.4.1 Síntese do Metil-éster do ácido p-hidróxi-ferúlico	76
5.4.2 Síntese do Álcool sinapílico	77
5.4.3 Síntese do Seringaresinol	78
5.4.4 Síntese da langambina	79
5.4.5 Dados espectrais	80
5.5 Síntese do Dehidrodieugenol monometil e dimetil éter	88
5.5.1 Dados espectrais	89
6. ENSAIOS BIOLÓGICOS	97
6.1 Ensaios Biológicos com a (-)-Licarina A	97
6.2 Ensaios biológicos com o Dehidrodieugenol	101
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
8. REFERÊNCIAS	107

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas possuem um importante papel para a descoberta de novas drogas. Estes produtos naturais evoluíram ao longo do tempo para interagir com diversos alvos biológicos e representam um dos mais importantes agentes farmacêuticos no tratamento de doenças (Barreiro, 1991).

A síntese de fármacos é um importante capítulo da química orgânica, uma vez que permite a construção de moléculas, em seus diversos níveis de complexidade.

A metodologia utilizada na síntese precisa ser capaz de viabilizar o acesso, com maior rendimento químico possível e na escala adequada de menor custo (Barreiro, 1991).

A contribuição da Química Orgânica Sintética à Química de Produtos Naturais deu-se inicialmente no âmbito da determinação estrutural, em uma época em que os recursos para tal limitavam-se, em grande parte, a estudos de degradação e de correlação estrutural. Cada produto natural que tinha sua preparação alcançada ou sua estrutura elucidada através de métodos sintéticos contribuía com novos conhecimentos sobre mecanismos das reações orgânicas, análise conformacional, estereoquímica, entre outros, servindo de estímulo a novos desafios que se caracterizavam pela busca por uma arquitetura molecular cada vez mais complexa (Pilli, 2013).

Atualmente os fármacos de origem sintética representam significativa parcela do mercado farmacêutico, estimado, em 2000, em 390 bilhões de dólares. Dentro deste aspecto, o interesse em reações catalisadas por enzimas também tem crescido, tanto no meio acadêmico como no industrial. (Roberts *et al.*, 1995).

A biocatálise pode ser definida como modificações específicas da estrutura molecular de uma substância catalisada por meios biológicos, como células íntegras ou imobilizadas, enzimas ou seus extratos e micro-organismos (Wohlgemuth, 2010).

A utilização desses princípios em química verde permite a realização de diversas reações com seletividade, especificidade e eficiência elevadas (da Silva *et al.*, 2005). Essas características são importantes, pois tornam as reações ambientalmente seguras com uma maior economia de energia, geralmente

culminando na diminuição dos custos operacionais para obtenção do produto (Tufvesson *et al.*, 2010).

A utilização de enzimas em síntese orgânica tem muitas vantagens em relação a muitas reações da química orgânica convencional (da Silva *et al.*, 2005):

- as reações catalisadas por enzimas são realizadas em condições brandas com temperatura a cerca de 37 °C, pressão de 1 atm e pH $\cong$ 7,0. Essas transformações apresentam uma excelente relação energia/eficiência quando comparadas com processos químicos;
- as enzimas apresentam alta quimiosseletividade, regioseletividade e estereosseletividade, o que possibilita a geração de produtos opticamente ativos;
- elas podem promover reações que dificilmente podem ser simuladas pelas técnicas da síntese orgânica convencional;
- são catalisadores naturais que trazem benefícios comerciais e/ou ecológicos e utilizam, normalmente, água como meio reacional.

O alto grau de especificidade de uma enzima deve-se a região do sítio ativo da enzima, a qual é complementar em tamanho, forma e natureza química à molécula do substrato. A quimiosseletividade refere-se à seleção de um determinado grupo funcional presente no substrato. Se houver outros grupos no substrato, estes permanecerão inalterados frente à catálise enzimática (Dias *et al.*, 2012).

A enantiosseletividade, por sua vez, refere-se ao reconhecimento do centro quiral presente na molécula, identificando, conseqüentemente, os pares de enantiômeros, assim como o reconhecimento de grupos ou faces pró quirais (Silva *et al.*, 2005; Conti *et al.*, 2001).

Durante décadas o termo quiralidade foi um fator negligenciado pela comunidade científica. No entanto, é importante destacar que um par de enantiômeros pode apresentar ações diversificadas sobre os organismos vivos, levando a diferentes ações biológicas. Este fato deve-se as diferentes propriedades físicas dos diastereoisômeros formados a partir da interação entre os enantiômeros de um substrato e os receptores biológicos, que são moléculas quirais (Pinheiro *et al.*, 1998).

A dificuldade na obtenção de um único enantiômero através de métodos convencionais, muitas vezes, torna a rota sintética inviável.

As metodologias estereosseletivas e os métodos de separação de enantiômeros são ferramentas úteis que permitem a síntese e o isolamento de fármacos puros (Pinheiro *et al.*, 1998).

Desta forma, a biocatálise é um dos processos mais promissores para a síntese de compostos de alto valor agregado, onde as enzimas e células são os biocatalisadores mais frequentemente utilizados (Dias *et al.*, 2012).

Os produtos naturais são uma fonte potencial de novos fármacos, os quais podem, no futuro, substituir muitos medicamentos atuais que apresentam baixa eficácia e efeitos colaterais.

Dentre a síntese de produtos naturais, a síntese de lignanas vem atraindo o interesse da química orgânica, entre outros motivos devido a diversidade estrutural, frequentemente envolvendo moléculas com vários estereocentros, o que exige reações sintéticas enantiosseletivas/diastereosseletivas.

As lignanas e neolignanas compreendem uma classe de produtos naturais com grande diversidade de estruturas químicas e atividades farmacológicas, sendo formadas através da dimerização pelo acoplamento oxidativo de duas unidades fenilpropanoides (eugenol, álcool coniferílico, isoeugenol, etc.), resultando em produtos de grande importância, estas reações e produtos tem despertado crescente interesse devido a grande diversidade de atividades biológicas que esta classe de compostos vem apresentando (Souza *et al.*, 2012).

Desta forma, propõe-se, por meio desse trabalho, a síntese de lignóides ainda não sintetizados e outros compostos similares atualmente sintetizados de forma pouco econômica e não enantiosseletiva.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Tem-se como objetivo principal a preparação de compostos lignóides, podendo, para isso, utilizar o processo biocatalisado. Nesta proposta o biocatalisador é a peroxidase presente na água de coco, que além de atuar como fonte enzimática representa o solvente e o meio reacional.

2.2 Específicos

- 1) Desenvolver rotas sintéticas para a obtenção das lignanas de interesse;
- 2) Isolamento, purificação e caracterização estrutural dessas lignanas;
- 3) Avaliar métodos para a obtenção de um maior grau de pureza nas reações;
- 4) Identificar a estrutura química das lignanas;
- 5) Contribuir para ensaios biológicos buscando conhecer as possíveis bioatividades das substâncias produzidas;
- 6) Viabilizar ensaios biológicos “*in vivo*”.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre Lignanas

3.1.1 Definição

As lignanas são micromoléculas cujo esqueleto é formado pelo grupo fenilpropânico $(C_6C_3)_n$. A designação lignana foi introduzida por Haworth e aplicada a produtos vegetais baseados em esqueletos carbônicos com duas unidades n -propilbenzênicas $(C_6C_3)_2$ que são ligadas pelos carbonos- β de suas cadeias laterais (C_3) (Gottlieb e Yoshida, 1984).

Sua ocorrência na natureza se limita a plantas vasculares que possuem o tecido enriquecido por ligninas, macromoléculas dotadas de um esqueleto em $(C_6C_3)_n$, com n abrangendo usualmente muitas unidades, de 2 até aproximadamente 5000 (Gottlieb e Yoshida, 1984).

3.1.2 Biogênese

O caminho biossintético dos arilpropanóides, precursores primários dos lignóides, desenvolve-se a partir da fenilalanina ou da tirosina, pela via redutora, que envolve a formação de ácidos cinâmicos, aldeídos cinâmicos e álcoois cinâmicos (Birch, 1963). Se o álcool for convertido a pirofosfato, o éter resultante será altamente susceptível ao ataque nucleofílico, fato conhecido em muitas reduções biológicas. A ação enzimática de NADP conduziria aos alil e propenil fenóis (Figura 1). Portanto, quatro monômeros estão envolvidos no acoplamento oxidativo do processo biogenético dos lignóides: ácido cinâmico, propenilfenóis e alifenóis (Barbosa Filho, 2004).

A biogênese dos lignóides, principalmente das lignanas e neolignanas, que formam a grande maioria das substâncias conhecidas, pode ser explicada pelo acoplamento oxidativo entre unidades monoméricas radicalares. Dependendo do acoplamento desses radicais nas diferentes posições possíveis, origina-se o lignóide de determinado tipo estrutural (Barbosa Filho, 2004).

As configurações estruturais dos lignóides desempenham um papel importante na química e bioquímica desta classe de compostos. Com algumas exceções, estes possuem dois, três, cinco e até mais centros assimétricos (Gottlieb e Yoshida, 1984). Os grupos arila dos precursores são comumente substituídos por grupos hidroxila, metoxila e metilenodioxi (Barbosa Filho, 2004).

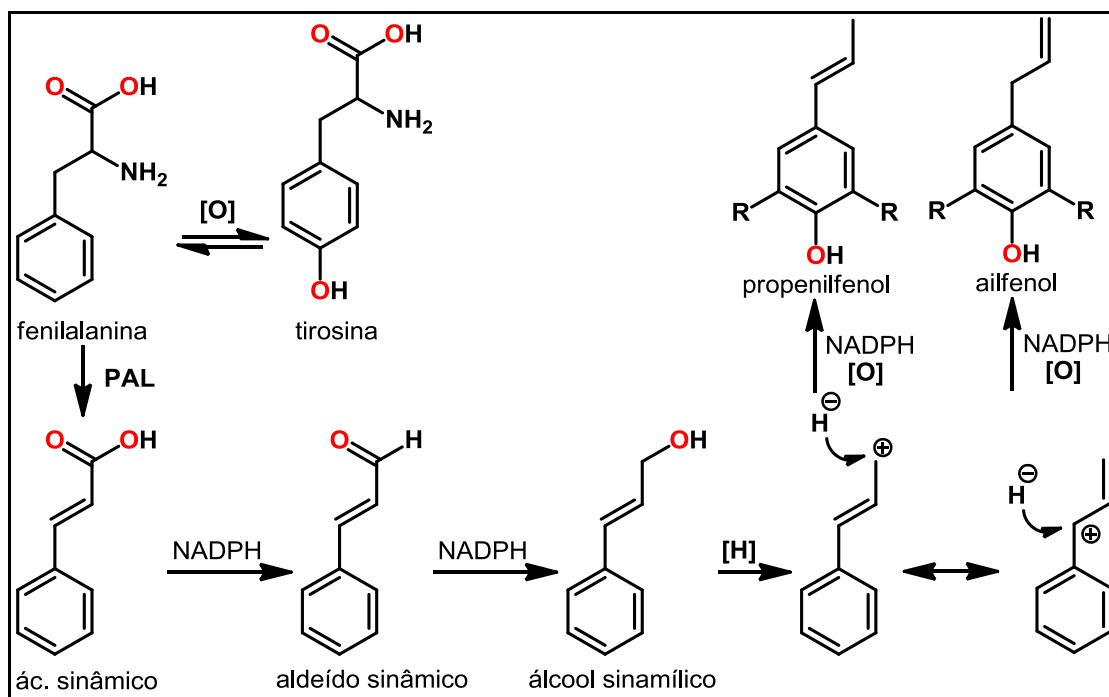


Figura 1. Rota biossintética dos fenilpropanoides (Dewick, 2009).

3.1.3 Atividades biológicas

Tradicionalmente têm-se como os mais importantes grupos de metabolismo secundário vegetal os alcalóides, os terpenóides e talvez ainda os flavonoides. No entanto, atualmente sabe-se que os lignóides estão amplamente distribuídos no reino vegetal, e que ocupa também um lugar de destaque, pois são de utilidade não só para as plantas que as produzem, servindo como marcadores do processo evolutivo, como também para o homem que as extrai ou sintetiza (Gottlieb e Yoshida, 1984).

Os lignóides e oligômeros de arilpropanoides possuem atividade aleloquímica, principalmente nas plantas possuidoras de propriedades farmacológicas. As lignanas são acumuladas em madeiras como resposta a ferimentos mecânicos, a invasão de fungos ou bactérias (Souza *et al.*, 2012)

No organismo humano as lignanas também apresentam funções importantes, como, por exemplo, o secoisolariciresinol e matairesinol (Figura 2), que estão presentes em várias plantas, incluindo *Forsythia intermedia*, feijão e centeio. Durante a digestão, as bactérias intestinais convertem o secoisolariciresinol (1) e o matairesinol (2) em enterodiol (3) e enterolactona (4), respectivamente (Croteau *et al.*, 2009).

Estas lignanas sofrem circulação entero-hepática, sendo conjugadas no fígado e excretadas na bile, desconjugadas no intestino por enzimas bacterianas, absorvidas através da mucosa intestinal, retornando ao fígado pela circulação. Acredita-se que o secoisolariciresinol (1) e matairesinol (2) são responsáveis por reduzir a taxa de incidência de câncer de próstata e de mama, através de uma alimentação rica em grãos e vegetais que contém altas concentrações de 1 e 2 (Croteau *et al.*, 2009).

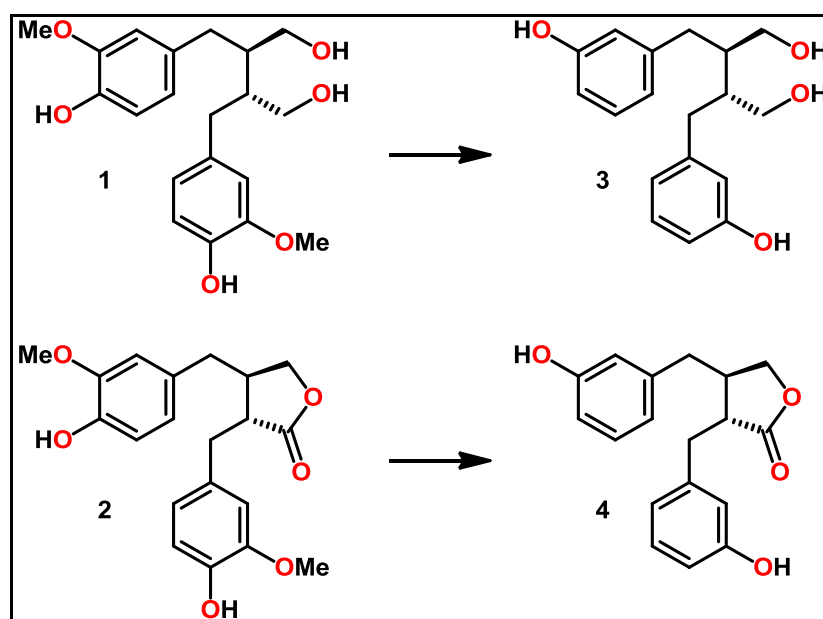


Figura 2. Secoisolariciresinol e matairesinol e sua conversão no organismo humano (Croteau *et al.*, 2009).

Além desta, sabe-se que as lignanas e neolignanas apresentam uma grande quantidade de atividades biológicas, tais como propriedade antitumoral (Bastos *et al.*, 1996; MacRae e Towers, 1984), leishmanicida (Barata *et al.*, 2000), antimaláricos (Zhang *et al.*, 2001) e anti-inflamatório (Souza *et al.*, 2004).

Como resultado da variedade das suas estruturas químicas e atividades biológicas, as lignanas e neolignanas têm atraído à atenção de muitos pesquisadores ao longo dos anos.

3.2. Identificação da Proposta Utilizando Biocatalizadores

Na patente PI 1101946-8 que trata do “Processo oxidativo biocatalisado utilizando água de coco de *Cocos nucífera* como meio reacional e fonte de peroxidase”, são descritas algumas reações simples. Estas demonstram que quando quantidades equimoleculares de peróxido de hidrogênio (na forma de água oxigenada (10V) e um *p*-(OH)-fenilpropenoide são adicionados à água de coco, observa-se após alguns minutos a formação de acoplamentos oxidativos estereosseletivos das unidades fenilpropenóides.

Deste modo, é possível obter, de forma estereosseletiva e com bom rendimento, os lignóides Licarina A e Siringaresinol (Figura 3).

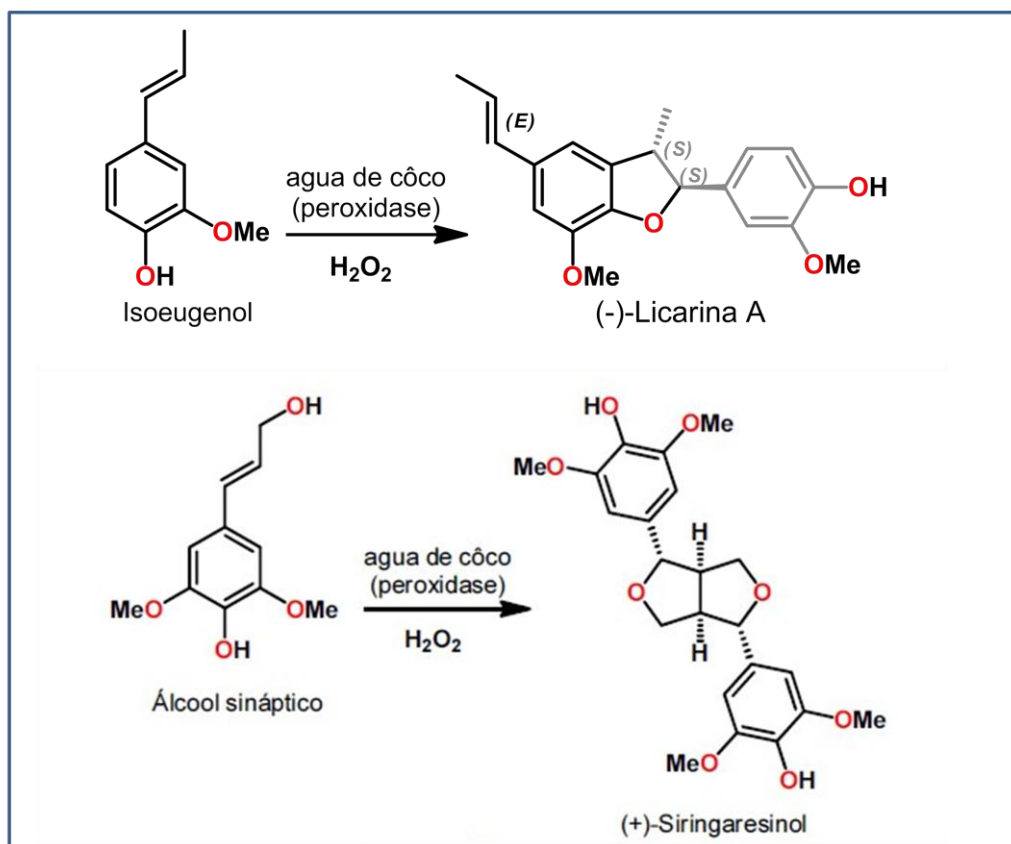


Figura 3. Preparação da Licarina A e do (+)-Siringaresinol.

Esta reação ocorre pela ação catalítica da peroxidase presente na água de coco, não sendo necessária nenhuma condição especial, apenas agitação magnética e temperatura ambiente.

Segundo Henriksen *et al* a peroxidase possui um núcleo ferroporfirínico, nele o Fe^{3+} é oxidado a Fe^{4+} pelo peróxido de hidrogênio, a forma Fe^{3+} é restituída quando recebe um elétron do *p*-(OH)-fenilpropenoide (Figura 4). Em cada ciclo catalítico, um *p*-(OH)-fenilpropenoide (composto I) é utilizado, no ciclo seguinte, o processo se repete com o mesmo composto ou com uma molécula de *p*-(OH)-fenilpropenoide diferente, o composto II. Os radicais formados nestes ciclos possuem várias estruturas de ressonância, sendo algumas mais estáveis que outras.

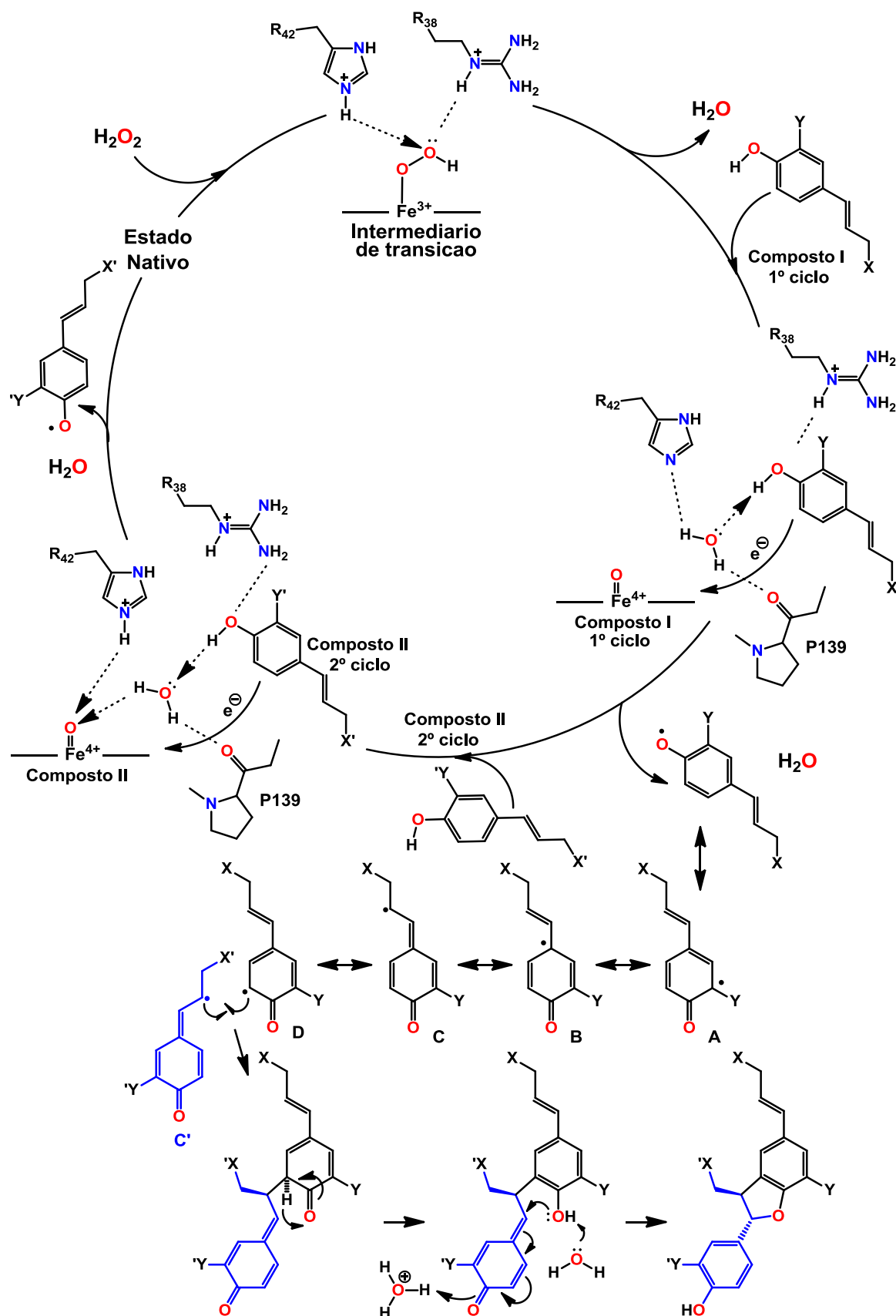


Figura 4. Proposta de mecanismo para formação dos radicais *p*-(OH)-fenilpropenoides (Adaptado de Heriksen *et al.*, 1999).

Uma estratégia que nos auxilia na previsão dos acoplamentos é fornecida pelos cálculos de estabilidade relativa dos radicais, utilizando o método *ab initio* (HF/3-21G) através do programa Gaussian, onde se obteve os valores mostrados no gráfico da figura 5.

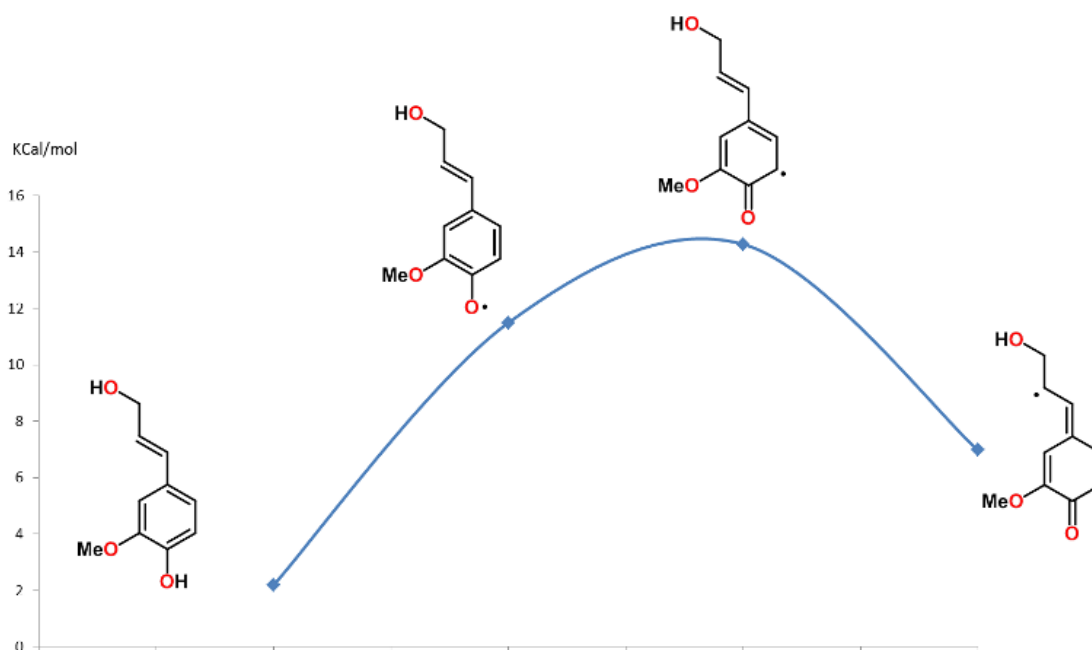
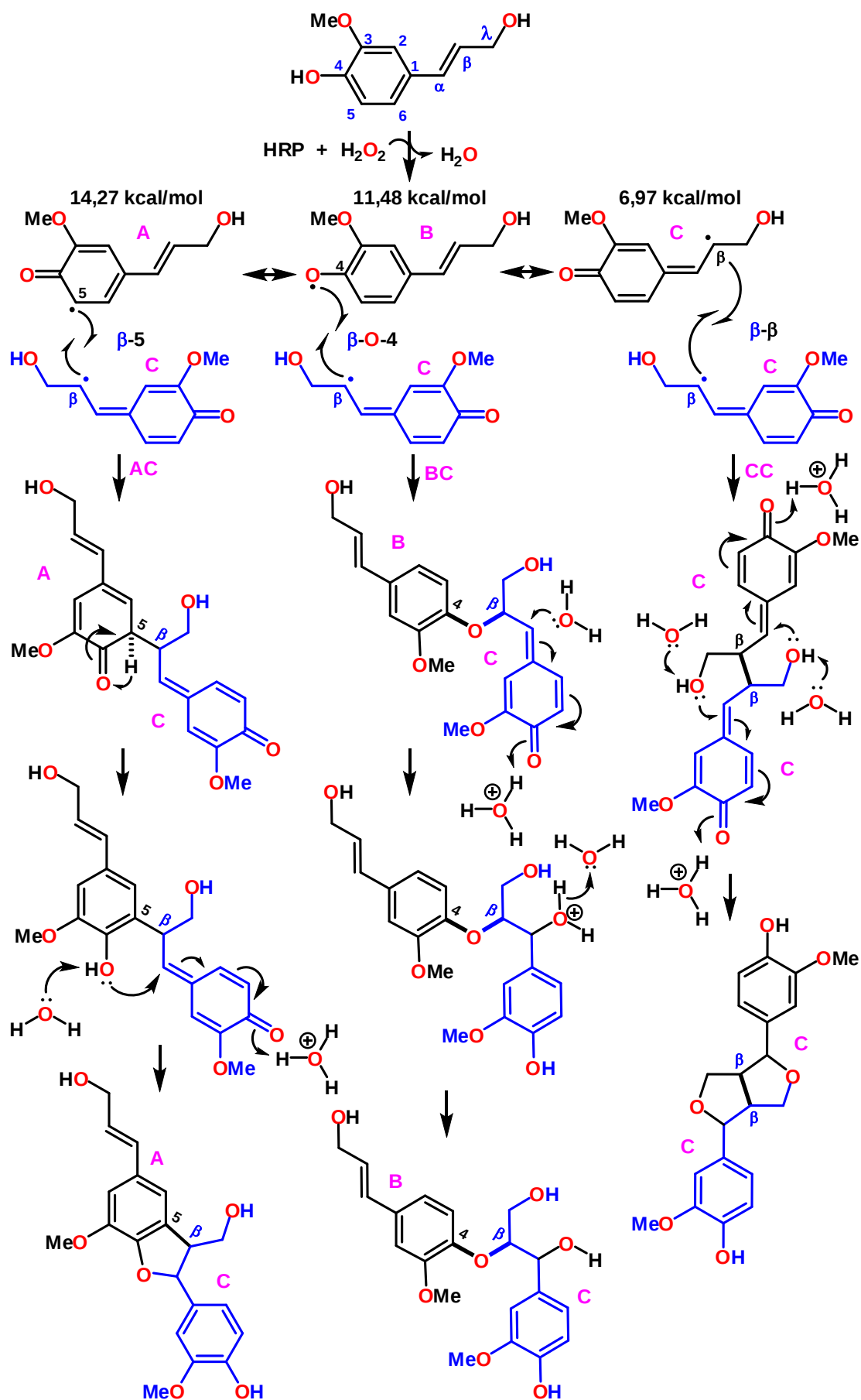


Figura 5. Gráfico da estabilidade relativa dos radicais do álcool coniférico (Gráfico desenvolvido pelo Profº Dr. Luís Cezar Rodrigues).

Quanto mais estável é um radical, maior sua contribuição para o híbrido de ressonância, desta forma, os radicais mais estáveis são mais representativos no meio reacional, quando dois radicais se encontram com orientação favorável forma-se o composto dimérico correspondente.

Em conformidade com os cálculos de estabilidade, o radical mais estável, mostrado em azul na figura 6, é o que mais participa das reações. Se enumerar da esquerda para a direita os três principais radicais (**A**, **B** e **C**), as possíveis dimerizações seriam: **AA**, **AB**, **AC**, **BB**, **BC** e **CC** (Figura 6).



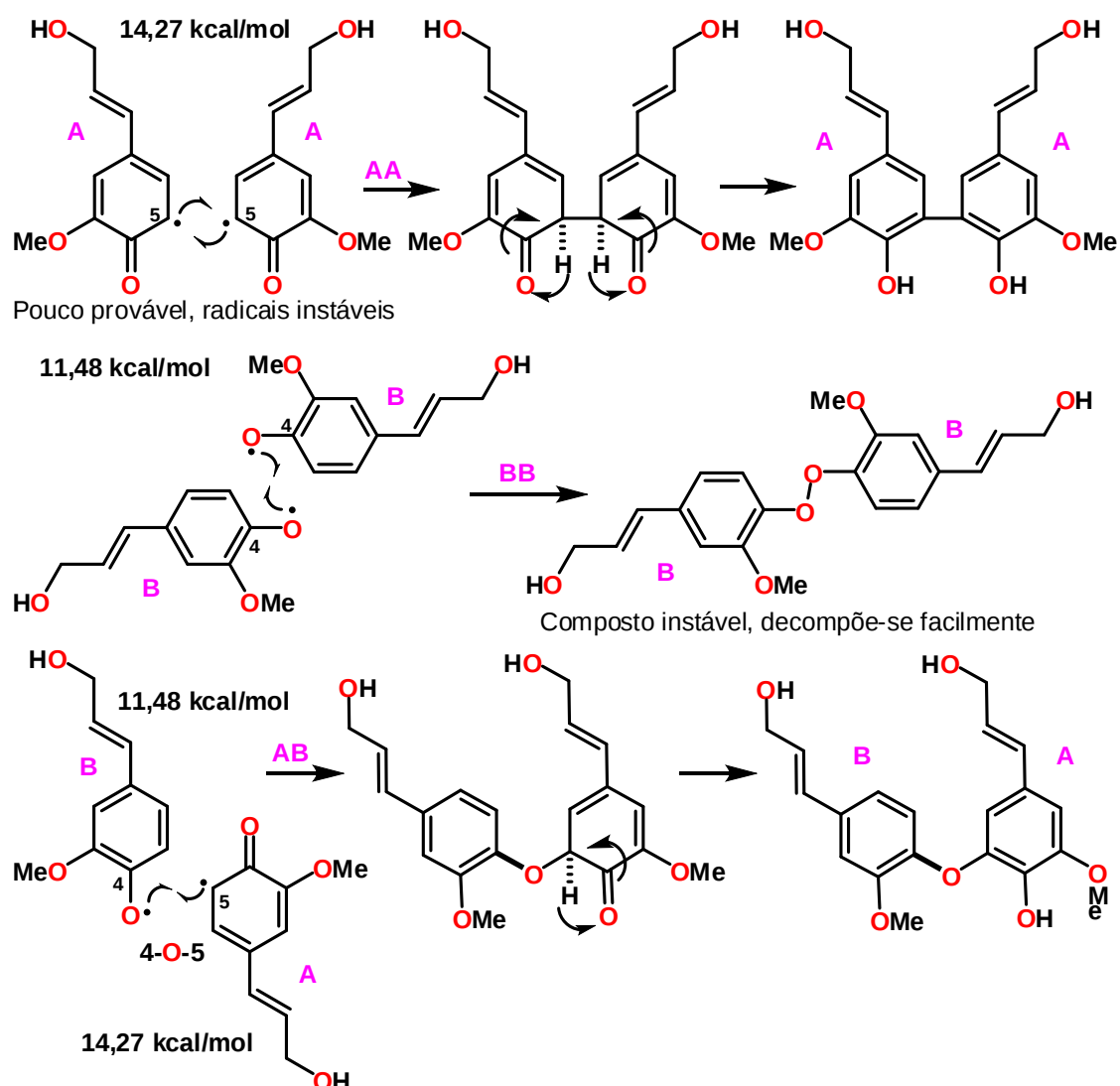


Figura 6. Proposta de mecanismo para dimerizações do álcool coniférico (Proposta desenvolvida pelo Profº Dr. Luís Cezar Rodrigues).

Das dimerizações do coniferol, o dímero **BB** é um peróxido pouco estável que se decompõe facilmente, restituindo os radicais de partida. O dímero **AA** é formado pelos dois radicais mais energéticos (14.27 kcal/mol), consequentemente, raramente se formam. Desta forma, o dímero **AB** é o mais viável nas reações em que o coniferol é utilizado como substrato.

A regio e estereosseletividade das reações de acoplamento bimolecular de radicais fenoxilas, de especial importância na biossíntese de ligninas e lignanas, são claramente controladas de alguma forma *in vivo*.

No acoplamento por oxidases *in vitro*, com uma peroxidase comercial, Horseradish Peroxidase – (HRP), por exemplo, se produz sempre uma mistura diastereoisomérica (Figura 7). Em outras palavras, as lacases e peroxidases são incapazes de controlar a regioestereosseletividade das reações por si mesmas, portanto, algum outro agente deve existir para orientar a estereoquímica *in vivo*.

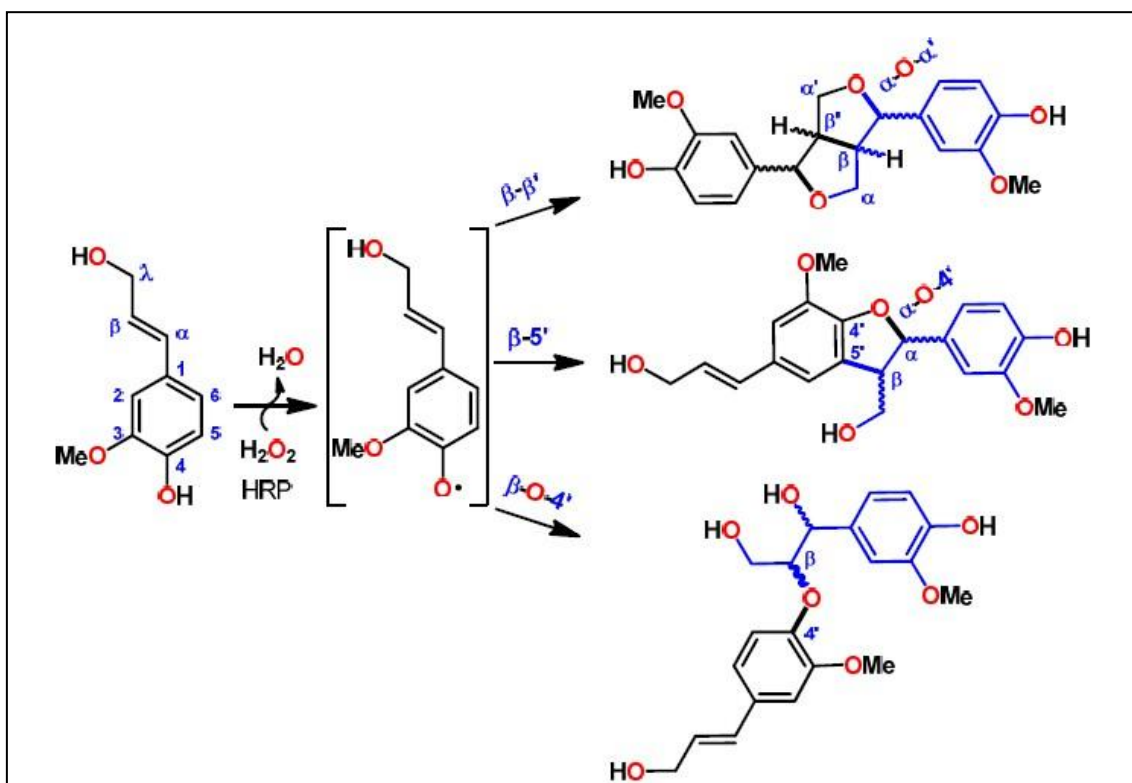


Figura 7. Produtos do acoplamento aleatório dos radicais fenoxilas por HRP comercial (Adaptado de Davin *et al.*, 1997).

Já foi demonstrado em reações estereosseletiva *in vivo*, tais como na *Forsythia suspensa* (Davin *et al.*, 1997), a existência de proteínas auxiliares que se encarregam de direcionar os radicais fenoxilas, viabilizando sua união de forma enantiosseletiva, estas sintetases são perdidas quando ocorre a purificação da peroxidase comercial, o que explica a perda da enantiosseletividade das reações *in vitro*.

Destarte, com as condições de acoplamento já controladas, tem-se agora especial interesse na produção de heterodímeros, ou seja, o acoplamento oxidativo entre diferentes alcoóis fenilpropenoicos, como por exemplo, entre o isoeugenol e o eugenol (Figura 8).

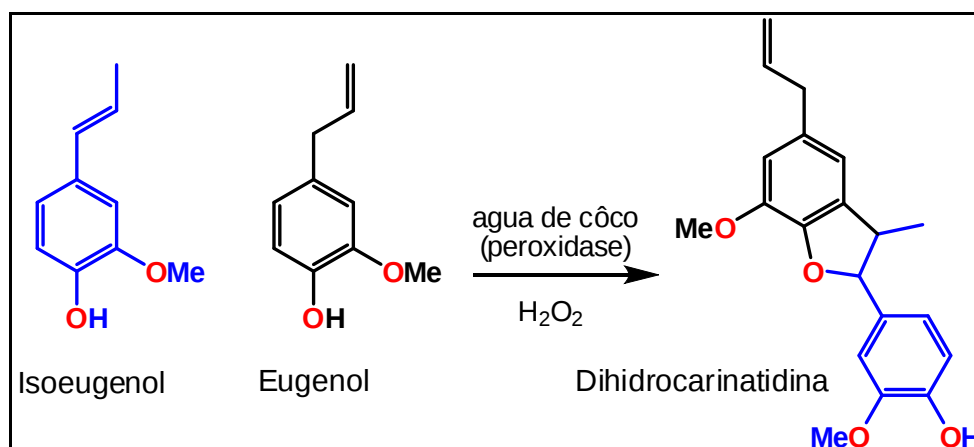


Figura 8. Síntese da Dihidrocarinatidina.

Além de lignanas ainda não sintetizadas, têm-se o interesse de se sintetizar outros compostos que são atualmente produzidos de forma pouco econômica, não enantiosseletiva e através de muitos passos sintéticos, que podem ser obtidos através da técnica aqui aplicada de forma muito mais rápida e econômica.

Deste modo, fica exposto o potencial deste método, onde a peroxidase é utilizada em seu estado natural, acompanhada de todos os cofatores e coadjuvantes, dispensando o processo de extração e purificação, para ao final obter um produto de melhor qualidade.

3.3. Considerações sobre a (-)-Licarina A

Os estereoisômeros da licarina A são compostos de ocorrência natural, que podem ser preparadas por acoplamento oxidativo do isoeugenol, um fenilpropenóide presente em óleos essenciais de plantas como a *Cananga odorata*.

Existem diversos estudos relacionados ao isolamento e obtenção das licarinas A, como sua extração das folhas e caule de *Milium fragans* (Sawasdee et al., 2013), em extratos de *Aristolochia taliscana* (Abe et al., 2002; León-Díaz et al., 2010), nas folhas e caule da *Miristica fragans* (Lee et al., 2009), na casca do caule de *Machilus Thunbergii* (Park et al., 2004), na parte aérea da *Saururus chinensis* (Min & Trang., 2012), e até mesmo no fruto de *Magnolia ovata* (Barros et al., 2012).

Há diversos registros de ensaios biológicos com as licarinas A, dentre as bioatividades relatadas na literatura, pode-se citar: atividade anti-herpética (Sawasdee et al., 2013), anti-leucêmica (Park et al., 2004), antioxidante (Arellanes et

al., 2011), anti-leishmaniose (Neris *et al.*, 2013), antibacteriana (Arellanes *et al.*, 2011), atividade contra formas epimastigotas de *tripanossoma cruzi* (Abe *et al.*, 2002; Cabral *et al.*, 2010), atividade anabólica no metabolismo ósseo (Lee *et al.*, 2009) e proteção de células neuronais em cultura primária contra estresse oxidativo (Ma *et al.*, 2005).

Além disso, isômero da licarina A apresenta atividade anti-tuberculose, sendo potencialmente ativa no tratamento de casos de resistência múltipla às drogas de uso comum, combatendo *Micobacterium tuberculosis* entre outras cepas de micobactérias (León-Díaz *et al.*, 2010; León-Díaz *et al.*, 2013).

Com relação à síntese, observa-se ausência de enantiosseletividade na produção da (-)-Licarina A, uma vez que os métodos relatados na literatura não apresentam enantioespecificidade.

No entanto, um relato de síntese enantiosseletiva da (-)-Licarina A foi alcançado por meio da biotransformação com bactérias *Pseudomonas putida*. Este processo inclui o crescimento das células bacterianas, por meio de incubação durante cinco dias, onde, após esse tempo, ocorre a transformação do isoeugenol (5) em vanilina (6), eugenol (7), álcool coniférico (8) e (-)-Licarina A (9 - Figura 9) (Vasudevan & Bhat, 2011).

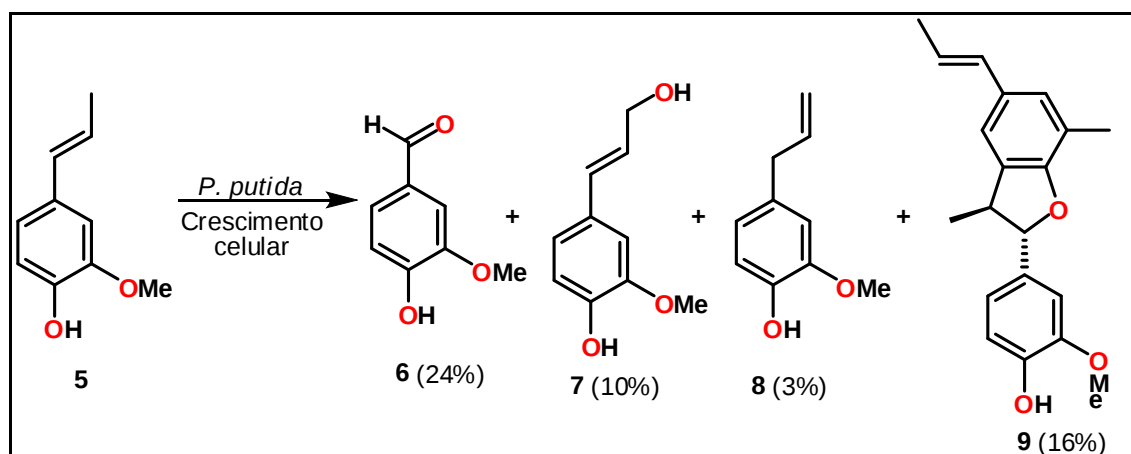


Figura 9. Produtos obtidos do isoeugenol pelo tratamento com *P. putida*.

No entanto, apesar da enantiosseletividade do método citado, o rendimento ainda pode ser considerado baixo, além do tempo necessário e dispêndios na purificação do produto.

Desta forma, o método de biocatálise propõe apresentar uma forma eficaz para a síntese enantiosseletiva da (-)-Licarina A, em apenas um passo reacional, com rendimento aceitável e com uso de reagentes acessíveis.

3.4 Considerações sobre a Dihidrocarinatidina

A dihidrocarinatidina é um composto de ocorrência natural ainda não sintetizado, podendo ser formado pelo acoplamento oxidativo do isoeugenol com o eugenol em excesso.

Relatos da extração e purificação da dihidrocarinatidina foram registrados, por meio da investigação fitoquímica das raízes da *Krameria tomentosa* (Madeiro *et al*, 2012), dos frutos da *Virola pavonis* (Moraes *et al*, 2009), da casca da *Virola carinata* (Kawanishi *et al*, 1983) e do fruto da *Myristica fragrans* (Li & Yang, 2007).

Estruturas similares a dihidrocarinatidina já apresentam atividade leishmanicida contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis* (Moraes *et al*, 2009).

No entanto, relatos na literatura de atividades biológicas referentes à dihidrocarinatina são completamente ausente, o que contrasta com a importância e diversidade de atividades relatadas pelos pesquisadores para seus homólogos, como por exemplo, a Licarina que apresenta propriedades farmacológicas importantes.

Uma explicação para este fato talvez esteja na sua baixa incidência natural, comparada aos demais compostos homólogos, e à ausência de qualquer proposta sintética.

Deste modo, utilizando a biossíntese por meio da ação da enzima peroxidase presente na água de coco, apresenta-se uma proposta sintética para a formação de um heterodímero de síntese inédita, por meio do acoplamento oxidativo entre diferentes alcoóis fenilpropenoicos, de forma enantiosseletiva.

3.5 Considerações sobre o Conocarpan

O conocarpan é uma neolignana que foi isolada pela primeira vez a partir de madeira comumente usada para a construção naval (Clive *et al*, 2008). O objetivo da

investigação foi identificar substâncias na madeira que conferisse resistência a uma variedade de organismos marinhos.

Outras fontes vegetais que contém o conocarpan, mais tarde, foram também encontradas, em folhas de *Piper regnellii* e *Piper fulvescens* (Sartorelli *et al*, 2001; Freixa *et al*, 2001).

Este composto possui muitas atividades biológicas, algumas delas potencialmente importantes, tais como toxicidade para mosquitos e larvas (Bernard *et al*, 1995; Chauret *et al*, 1996), atividade contra a Doença de Chagas (Luize *et al*, 2006), atividade antibactericida (Pessini *et al*, 2003), antifúngica (Campos *et al*, 2005) e atividade fotoprotetora (Carini *et al*, 2002).

Destarte, o estudo desta substância, de um ponto de vista sintético, faz-se necessário. Tendo em vista que este composto já foi sintetizado e até mesmo comercializado, tem-se por objetivo realizar a síntese de forma mais simples, utilizando menos passos reacionais, visando um maior rendimento e menor custo para sua produção.

Para tanto, foi utilizada a ação catalítica da peroxidase presente na água de coco, como forma enantiosseletiva de realizar a síntese do conocarpan.

3.6 Considerações sobre a langambina

A langambina é um composto de grande interesse farmacológico, uma vez que já existem diversos estudos relacionados às suas atividades farmacológicas. No entanto, sua síntese envolve várias etapas reacionais, o que compromete o rendimento; reagentes caros, importados e tóxicos; reações não enantiosseletivas, o que leva a vários subprodutos e difícil purificação.

Dentre as atividades farmacológicas já publicadas, estão atividades antiplaquetária (Faria Neto *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 1996, Tibirica *et al.*, 1996), antialérgica (Serra *et al.*, 1997), antileishmanicida (Monte-Neto *et al.*, 2007; Monte-Neto *et al.*, 2011) e atividades no sistema nervoso central (Sousa *et al.*, 2005).

A primeira síntese total da langambina é relatada por Sugimoto *et al.* (1995), em um método envolvendo a β -cisão de radicais alcóxi gerados por fotólise como passo principal.

Outra rota sintética linear simplificada para síntese de lignanas furofurânicas foi relatada por Mori *et al.* (2006a), na qual se obtém a iangambina e caruiglignana A em formas opticamente puras. Além disso, a síntese dos sauriols A e B foi realizada pelos mesmos autores, seguindo-se a mesma rota sintética anterior (Mori *et al.*, 2006b; Pan *et al.*, 2009). Outros estudos realizados por Jung *et al.* (2006) e Kim *et al.* (2006) também relatam a síntese total estereosseletiva das lignanas eudesmina, iangambina e sesamina, através de condensação aldólica dianiônica, um método útil em originar o esqueleto básico das lignanas furofurânicas.

Uma proposta de síntese foi apresentada pelo Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho no projeto “Estudos visando à síntese da iangambina e de homólogos e análogos potencialmente ativos” (PRONEX 97), utilizando-se a dilactona como intermediário principal para a formação dos esqueletos furofurânicos básicos, entretanto, não houve êxito na continuação do projeto.

Outra proposta de síntese foi sugerida na dissertação de Sandro de Sousa (Leal, 2012), no entanto, o mesmo não obteve a iangambina como produto final, devido a uma série de problemas relatados em sua pesquisa, tais como:

1. O acoplamento oxidativo do fenilpropanóide para a formação do esqueleto básico das lignanas, promovido pelo agente oxidante, que é uma etapa crucial para a conclusão da proposta sintética, não ocorreu adequadamente, sendo necessário otimizar as condições reacionais e reagentes utilizados;

2. Para que ocorra a formação da iangambina, exclusivamente, faz-se necessário o emprego de reagentes quirais, que promovam o acoplamento oxidativo de modo estereosseletivo, conforme demonstrado por Jung *et al.* (2006).

3. Há uma certa exigência e cuidado especial nos rendimentos de cada reação para que se obtenha o produto final com quantidade suficiente, visto que em cada etapa de reação a quantidade do produto que se forma é cada vez menor.

Apesar disso, a rota que foi desenvolvida é uma nova abordagem sintética para formação das lignanas furofurânicas, dispensando aparelhagens complexas e utilizando reagentes de fácil obtenção.

Destarte, o estudo de síntese da iangambina, tem como finalidade concluir o trabalho iniciado e as perspectivas propostas por Sandro (Leal, 2012) utilizando a peroxidase natural da água de coco como agente oxidante para se obter a

dimerização do álcool sinapílico em um maior grau de pureza e, por meio de metilação do Seringaresinol, o produto de maior interesse, a langambina.

3.7 Considerações sobre o Dehidrodieugenol Monometil e Dimetileter

O dehidrodieugenol é uma neolignana natural que tem sido pouco pesquisada, o que contrasta com a sua importância e a diversidade de atividades relatadas pelos pesquisadores para o seus homólogos derivados de eugenol monomérico bifenílico *orto*-hidroxilado (Jaganathan e Supriyanto, 2012). Sobre estes existe um grande número de compostos que ocorrem naturalmente, tais como magnolol e o dehidrodieugenol que possui propriedades farmacológicas importantes (L. Wang *et al.*, 2014; Mascia *et al.*, 2012)

O Magnolol é encontrado principalmente em algumas plantas do gênero *Magnolia*, especialmente nas cascas da *Magnolia officinalis* (Xu *et al.*, 2011), *M. obovata* (Cho *et al.*, 2008; Youn *et al.*, 2008) e *M. henryi* (Kijjoa *et al.*, 1989), bem como nas folhas de *M. coco* (Yu *et al.*, 1998) e nas flores de *M. virginiana* (Chandra e Nair, 1998).

Vários estudos têm mostrado que este composto apresenta atividade antineoplásica (Lin *et al.*, 2001), antimicrobiana (Ho *et al.*, 2001), anti inflamatória (Lin *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2012), atividades antiproliferativas (Jada *et al.*, 2012) e também como agente indutor de apoptose (Ikeda *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2011).

Enquanto o número de publicações que tratam da preparação, ocorrência e uso do magnolol (Figura 10) é superior a mil, seus derivados naturais mono e dimetil éteres (11 e 12, Figura 10) somam apenas duas dezenas (Zhang e Tang, 2012)

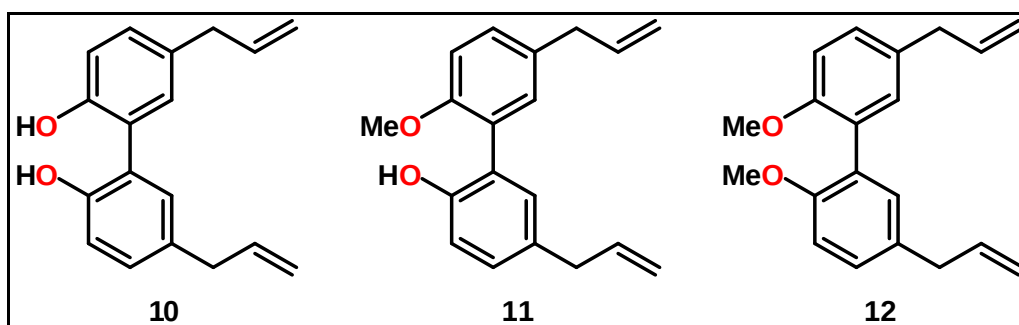


Figura 10. Magnolol (10) e os seus derivados mono (11) e dimetil (12) éter.

O dehidrodieugenol (Figura 11), é um composto de ocorrência natural, bifenólico que apresenta estrutura semelhante a Magnolol. É, também, um componente bem conhecido do óleo essencial obtido a partir de flores, folhas e caule da árvore *Syzygium aromaticum cravo* ou *S. caryophyllata* (Mioso *et al.*, no prelo; Wenqiang *et al.*, 2007).

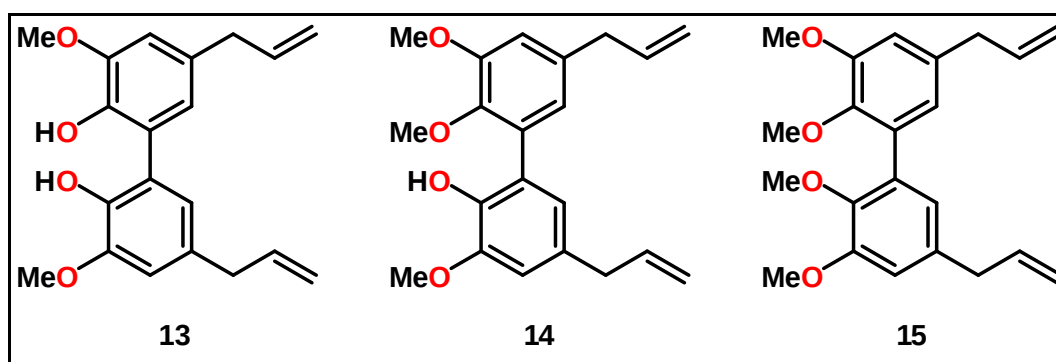


Figura 11. Dehidrodieugenol (13) e os seus derivados mono e dimetil éter (14 e 15).

O dehidrodieugenol pode ser preparado por acoplamento oxidativo de eugenol (Fujisawa *et al.*, 2004; Hernández-Vázquez, 2011), sendo um composto de partida valioso para várias drogas (Delogu *et al.*, 2004).

Testes de bioatividade de dehidrodieugenol inclui baixa inibição da tirosina quinase por dehidrodieugenol extraído de madeira *Artocarpus altilis* (Nguyen *et al.*, 2012), indução de citotoxicidade e de apoptose, e inibição da COX-2 (Okada *et al.*, 2005); tratamento de câncer e outras neoplasias (Miyazawa e Hisama, 2003; Pisano *et al.*, 2007); atividade antibacteriana (Ogata *et al.*, 2005) e atividades anti-inflamatórias (Murakami *et al.*, 2003).

Destarte, como um resultado destas aplicações a saúde humana, uma gama de esforços tem sido empenhada para a obtenção do dehidrodieugenol, através da biotransformação em cultura de células vegetais (Hernández - Vaquez *et al.*, 2011), por meio de reações de radicais (Bortolomeazzi *et al.*, 2010), síntese convencional (Marques *et al.*, 1998), e biotransformação enzimática utilizando peroxidase (Krawczyk *et al.*, 1991).

Quimicamente, dehidrodieugenol pode ser parcialmente ou totalmente metilado para proporcionar outros compostos como o éter dehidrodieugenol monometílico e éter dimetílico. Embora a síntese do dehidrodieugenol tenha sido

realizada anteriormente por Fujisawa *et al.* (2004), até agora não há registros sobre a síntese de seu monometiléter .

A metilação exaustiva de dehidrodieugenol fornece sua forma éter dimetílico (Delogu *et al.*, 2004), um metabólito secundário encontrado em *Nectandra polita*, uma *Amazon Lauraceae* comum da região dos Andes (Suarez *et al.*, 1983). A este composto são atribuídos atividades biológicas como analgésico e depressor de efeitos do sistema nervoso central (Costa *et al.*, 1994), atividades anti-proliferativas e apoptóticas em células de melanoma maligno humano (Pisano *et al.*, 2007), bem como mutagênicos e leishmanicidas (Miyazawa e Misama , 2003).

A forma dehidrodieugenol monometil éter é um neolignana natural encontrada em algumas espécies de *Virola* (Kawanishi e Hashimoto, 1981), *Magnólia* e *Lauraceae* (Diaz *et al.*, 1980; Baek *et al.*, 1992; Suarez *et al.*, 1983).

Até recentemente, poucas publicações disponíveis foram encontradas sobre a forma monometil éter do dehidrodieugenol, a exceção de um estudo sobre a atividade inibitória da tirosina quinase (Nguyen *et al.*, 2012) , não houve muitos ensaios de bioatividade descritos quando comparado com o grande número de trabalhos publicados de seu homólogo fenólico. Uma explicação para este fato poderia ser a baixa incidência natural e à ausência de qualquer proposta sintética.

Devido à importância destas estruturas na descoberta de novas drogas na química medicinal, a síntese do dehidrodieugenol e de seus derivados continua a atrair o interesse dos químicos sintéticos (Bortolomeazzi *et al.*, 2010). No entanto, a maioria dos métodos clássicos para a síntese de compostos bifenóis e seus correspondentes precisam de reagentes dispendiosos, altas temperaturas e tempo de reação prolongado (Sridharan *et al.*, 2011; Zhi *et al.*, 2000). Para superar tais limitações, propõe-se um procedimento simples, que envolve o acoplamento oxidativo de eugenol, de forma ecológica e com um tempo de reação relativamente curto.

PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e Solventes

Foram utilizados como reagentes Isoeugenol, Eugenol, Bromoetano, Anetol, Brometo de Boro, Ácido 3,4,5 Trimetóxi-cinâmico, Hidreto de diisobutilaluminio (H-DIBAL) e Ferrocianeto de Potássio do fornecedor Aldrich®; Trifenilfosfina, Ácido Sulfúrico, Cloreto de Alumínio, Carbonato de Potássio, Hidróxido de Amônio e Ácido Clorídrico da Vetec®; Iodeto de metila da Merck® e água oxigenada 10V ou 3% m/m de farmácia.

Como solvente foram utilizados Tolueno e Diclorometano da Aldrich®; Metanol, Dioxano e Acetona da Tedia®; Dimetilformamida (DMF) da Fluka® e água de coco verde (*Cocos nucífera*), utilizada também como fonte do biocatalizador (peroxidase). Os demais solventes utilizados durante o experimento foram obtidos de diversos fornecedores (Sigma-Aldrich®, Merck®, Vetec®).

4.2 Métodos de Análise

4.2.1 Métodos cromatográficos

As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando sílica em gel ART 7734 da Merck® (0,063-0,200 mm e 70-230 mesh) com eluição à média pressão, em colunas de vidro cujas dimensões variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada.

As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas utilizando cromatoplasmas de alumínio com sílica gel 60 µm da Fluka®.

As revelações das substâncias nas CCDA foram executadas pela exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta (UV 254 e 366nm). Também foi utilizado como revelador o iodo molecular e soluções de cério-molibdênio. O grau de pureza preliminar das substâncias foi evidenciado por CCDA, determinando-o quando observada uma única mancha após revelação.

Para a concentração das soluções orgânicas foram utilizados rotaevaporadores do tipo Buchler e Büchi.

4.2.2 Métodos espectrométricos

4.2.2.1 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C) foram obtidos em um dos dois espectrofotômetros VARIAN-NMR-SYSTEM do laboratório multiusuário de caracterização e análise (NUCAL/UFPB), que operam a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C).

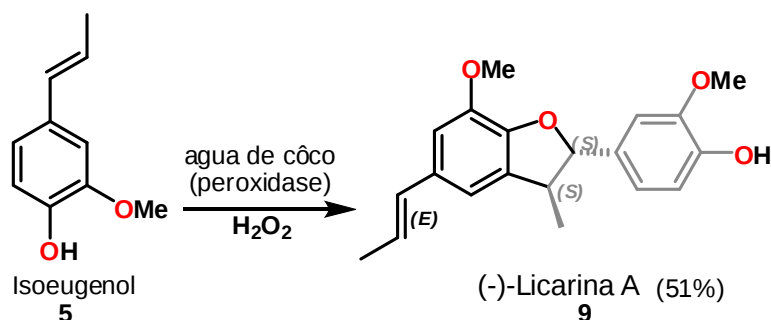
As amostras analisadas foram preparadas por dissolução em clorofórmio deuterado (CDCl_3) da marca *Cambridge Isotope Laboratories*. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm).

As multiplicidades no espectro de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (singlete), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *t* (triplete), *m* (multiplete).

4.2.3 Ponto de Fusão

O ponto de fusão das substâncias foi obtido através de aparelho digital da Microquímica Equipamentos Ltda, modelo MQAPF-302, com temperaturas variando de 0-350 $^\circ\text{C}$. Os valores obtidos foram comparados aos da literatura.

4.3 Preparação da síntese da (-)-Licarina A



REACTIVO	PM (g/mol)	M(g)	V	Nº de mMols	Eq
Isoeugenol	164.20	5.0		30.45	1.0
H ₂ O ₂	34.01	0.6	21 mL	18.52	0.6
Água de coco			10 L		
Licarina A	326.15	2.5			

Inicialmente a água de coco, recém-extraída, foi filtrada através de funil com algodão para um reator de vidro contendo uma barra magnética. Adaptou-se uma placa agitadora e manteve-se o meio reacional em agitação magnética, na sequência adicionou-se uma solução de isoeugenol (5.0 g, 30.45 mmol, 1 equivalente) em 20 mL de metanol.

Deixou-se em agitação magnética durante quinze minutos, em seguida adicionou-se lentamente, ao longo de quatro horas, 21 mL de água oxigenada 3 % m/m (0,6g, 0.6 equivalente) e deixou-se reagir por 30 minutos adicionais, mantendo-se em agitação magnética. A reação foi monitorada por CCDA da fase acetato de pequenas alíquotas extraídas periodicamente do meio reacional e decantadas em funil de separação (acetato de etila/meio reacional).

Adicionou-se 500 mL de diclorometano e deixou-se em agitação por uma hora, desligou-se o agitador magnético e deixou decantar a fase diclorometano que foi recolhido através de cânula, repetiu-se o procedimento por três vezes para garantir a total extração do produto em interesse.

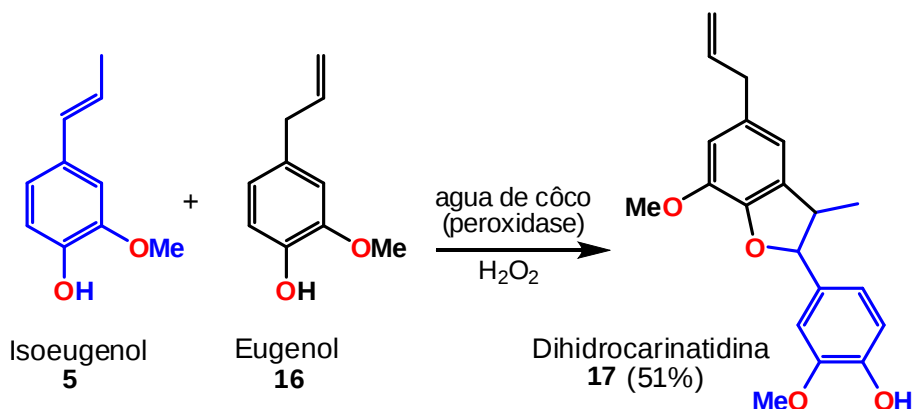
As fases diclorometano foram transferidas para um funil de separação contendo 500 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio, após agitação a fase diclorometano foi separada e seca em sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador a pressão reduzida, resultando um resíduo viscoso que foi submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica, usando como eluente uma mistura 80/20 de hexano/acetato de etila.

Massa obtida: 2,5 g

Rendimento: 51% (cristais brancos)

Ponto de fusão: 108°C

4.4 Preparação da síntese da Dihidrocarinatidina



REACTIVO	PM (g/mol)	m (mg)	V (mL)	nº de mMols	Eq
Isoeugenol	164.20	203		1.24	1
Eugenol	164.20	215		1.31	1.05
H ₂ O ₂ 3%	34.01	45	1.5	1.31	1.05
Água de coco			1270		
Dihidrocarinatidina	326.39	403			

Em um grande frasco de vidro filtrou-se a água de quatro cocos verdes recém abertos (1270 mL). Adicionou-se uma barra magnética e adaptou-se uma placa agitadora, mantendo-se em agitação.

Em seguida, adicionou-se a solução o eugenol via pipeta pasteur (203 mg). Não se observou alteração na coloração da mistura reacional.

A posterior, sob agitação magnética, adicionou-se 1,5mL de água oxigenada 10V via pipeta graduada. Também não ocorreu alteração na coloração da mistura.

Posteriormente, foi adicionada a mistura, ainda sob agitação magnética, o isoeugenol (215 mg), paulatinamente por meio de seringa automática (2mL/h) durante aproximadamente 3h30min. Durante a adição do isoeugenol ocorreu, lentamente, uma mudança na coloração para marrom-alaranjado.

Manteve-se a reação em agitação magnética e temperatura ambiente por aproximadamente 3 horas. A reação foi monitorada por CCDA aplicando o reagente e o produto para verificar seus fatores de retenção e observação do seu término.

Colocou-se a solução com o produto num funil de decantação, onde foi realizada a separação da fase orgânica utilizando acetato. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio (MgSO₄) anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador.

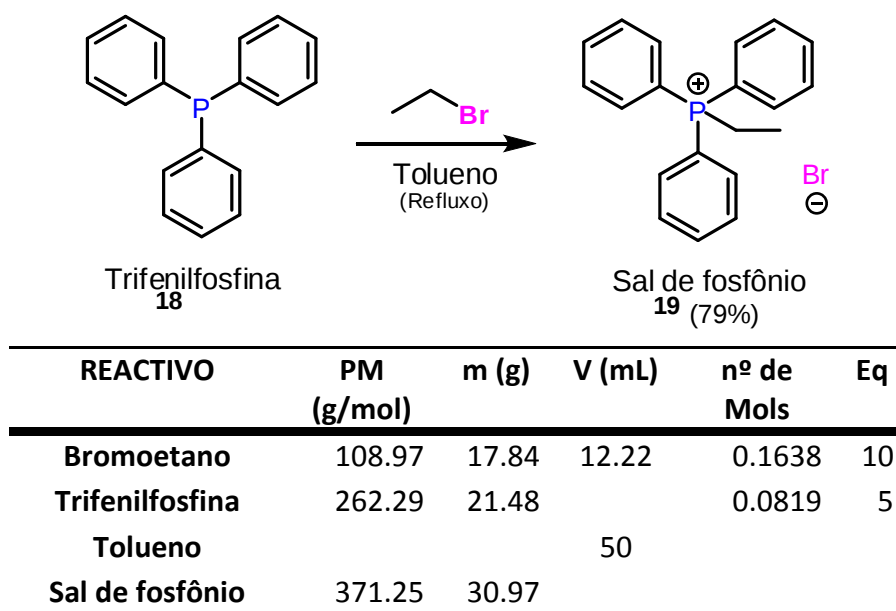
A purificação do produto foi feita por cromatografia em coluna (CC) em sílica em gel, sob eluição com a fase móvel Hex:AcOEt aumentando a concentração de AcOEt de 5% em 5%, observando a total eluição do produto por CCDA em Hex:AcOEt (8:2).

Massa obtida: 206 mg .

Rendimento: 51% (sólido amorfo na cor creme)

4.5 Preparação da síntese do Conocarpan

4.5.1 Síntese do Sal de fosfônio



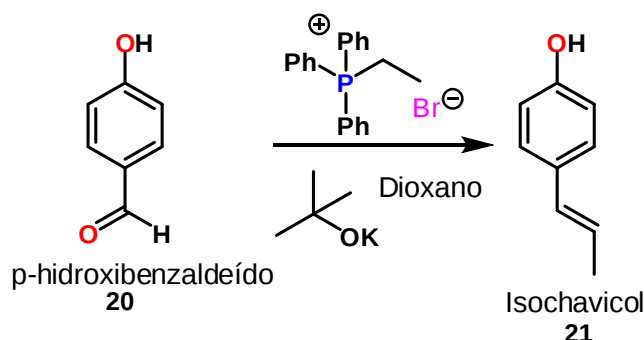
Inicialmente foi colocado em um balão volumétrico 50mL de Tolueno, 8,92g de Bromoetano e 21,48g de trifenilfosfina e deixou-se em refluxo por cerca de 16 horas.

Posteriormente os cristais formados foram identificados por ponto de fusão (PF). Desta forma, com um ponto de fusão aproximadamente igual a 207°C, foi identificado o sal de fosfônio. Pesou-se o sal obtido, registrando cerca de 24g de sal preparado.

Rendimento: 79% (cristais brancos)

Ponto de Fusão: 207°C.

4.5.2 Síntese do Isochavicol via reação de Wittig



REACTIVO	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	nº de Mols	Eq
<i>p</i> -hidroxibenzaldeído	122.12	1		0.0082	1
Sal de fosfônio	371.25	15		0.041	5
t-BuOK	112.21	4.6		0.041	5
Dioxano			95		
Isochavicol	134.18	1.1			

Previamente, o *p*-hidroxibenzaldeído foi purificado por cristalização, sendo recristalizado três vezes, filtrado a frio e seco por cerca de uma semana no dessecador.

Foi colocado em um balão volumétrico 15 g de Sal de Fosfônio, retirou-se o O₂ colocando o balão à vácuo, e encheu-se uma bexiga com N₂, para a formação da atmosfera inerte no balão.

Com o auxílio de uma seringa, foram colocados 60mL de dioxano para solubilizar o sal, que ao entrar em contato com o solvente se apresentou em um aspecto leitoso. Em seguida deixou-se o balão em agitação magnética.

Em um segundo balão, colocou-se 4,6g de *terc* -butóxido de potássio (BuOK), também em atmosfera inerte. Solubilizou-se a base com a adição, por meio de seringa, de 25mL de dioxano e alguns minutos de aquecimento.

Seguidamente, transferiu-se a solução básica para o balão que continha a solução de sal de fosfônio, por meio de uma seringa para a manutenção da atmosfera inerte do balão, e deixou-se em agitação por 2h.

Em um terceiro balão, colocou-se 1g de *p*-hidroxibenzaldeído, em atmosfera inerte, e acrescentou-se a este 10mL de dioxano para solubilizar.

Em seguida, adicionou-se, com o auxílio de uma seringa, a solução de *p*-hidroxibenzaldeído a reação em andamento. Deixou-se reagir por cerca de uma hora.

Após uma hora foi feita um placa cromatográfica (CCDA) para a observação de um possível produto e foi verificado a formação de um produto e a ausência do *p*-hidroxibenzaldeído, o que indicou o término da reação.

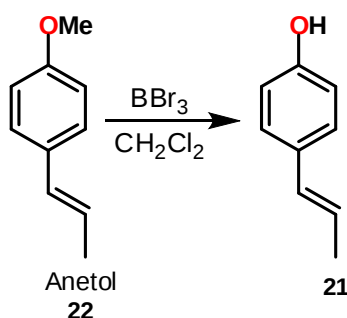
Em seguida, o balão foi para o rotaevaporador para concentração. Posteriormente, foi colocado no balão água, ácido clorídrico e acetato de etila para a separação da fase orgânica em um funil de decantação.

O ácido foi colocado para competir com o isochavicol, evitando que o mesmo perdesse seu próton para o meio básico.

Após a extração da fase orgânica, esta foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO_4), foi filtrada e, em seguida, concentrada no rotaevaporador.

Para a purificação do produto fez-se uma coluna cromatográfica, eluída sob média pressão, utilizando sílica em gel como adsorvente. Eluiu-se no sistema de solventes Hex:AcOEt, em grau crescente de polaridade. As frações obtidas em 30% de acetato foram analisadas por CCDA, as que possuíam o mesmo R_f foram reunidas.

4.5.3 Síntese do Isochavicol via desproteção do Anetol



REACTIVO	PM (g/MOL)	M(g)	V (mL)	Nº DE mMOLs	EQ
Anetol	148.20	2.0		30.45	1.7
BBr_3	250.52	5.1		17.6	1.0
CH_2Cl_2			100		
Isochavicol	134.18	1.8			

Foi colocado em um balão volumétrico 2g de anetol, em seguida foi adicionado 100mL de CH₂Cl₂, onde foi observada uma solução levemente amarelada.

Em seguida, foram adicionados, a solução de anetol 2mL de BBr₃, como o reagente é muito reativo o procedimento de aplicação foi realizado numa capela, sendo feita a adição com o auxílio de uma seringa.

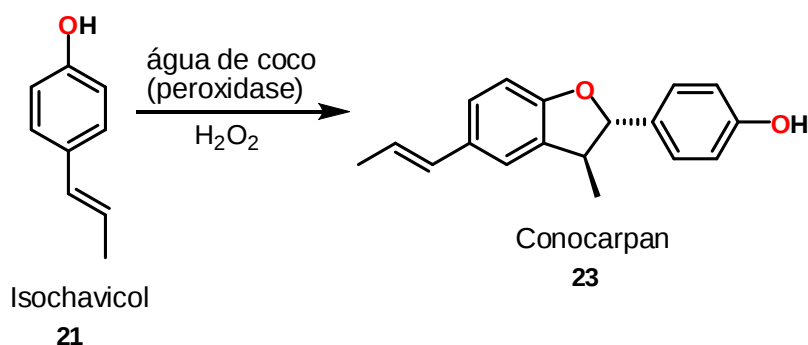
A utilização do BBr₃ partiu de referências que afirmavam a atuação desprotetora deste reagente (Tzeng e Liu, 2004).

Após a adição do BBr₃ a solução mudou sua coloração para laranja-avermelhado. A reação foi colocada sob agitação e após 30 minutos a solução mudou sua coloração para roxo escuro, havendo liberação de gás.

Foi realizado o monitoramento da reação por CCDA, e foi verificada por UV, após 30 minutos de reação, a formação de vários produtos com polaridades muito semelhantes.

Não foi possível a purificação do mesmo, desta forma não foi feito cálculo de rendimento.

4.5.4 Síntese do Conocarpan



REACTIVO	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	nº de Mols	Eq
Isochavicol	134.18	0.62		0.00462	1
H ₂ O ₂ 3%	34.01	0.15	5.0	0.00462	1
Água de coco			2000		
Conocarpan	266.33	1.23		0.00462	1

Em um grande frasco de vidro colocou-se água filtrada de seis cocos verdes recém abertos (2000mL). Adicionou-se em seguida 0,62g de isochavicol, colocou-se uma barra magnética e adaptou-se uma placa agitadora, mantendo-a em agitação. Durante este processo não se observou alteração na coloração da mistura reacional.

Posteriormente, foi adicionada a mistura, ainda sob agitação magnética, a água oxigenada (5mL), paulatinamente por meio de seringa automática (2mL/h) durante aproximadamente 2h30min. Durante a adição da água oxigenada ocorreu, lentamente, uma mudança na coloração a reação para um marrom-alaranjado.

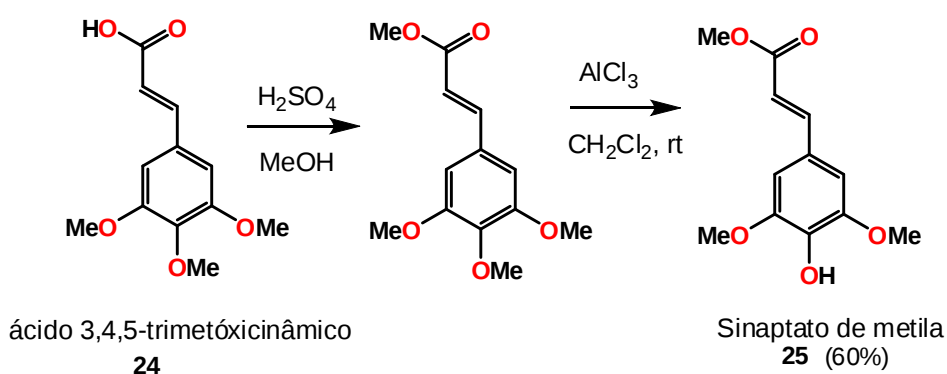
Manteve-se, em agitação magnética e em temperatura ambiente, a reação por mais uma hora e meia. Fez-se o acompanhamento da reação realizando CCDA, onde foi observado o R_f do reagente e do produto para a confirmação do término da reação.

Após o término da reação, a solução foi colocada em um funil de separação, para a extração do produto utilizando água e acetato de etila. O produto extraído na fase orgânica foi seco com $MgSO_4$ anidro, e concentrado no rotaevaporador. Posteriormente, foi realizada cromatografia em coluna para sua purificação.

A coluna cromatográfica foi eluída sob média pressão, utilizando sílica em gel como adsorvente e o sistema de solventes Hex:AcOEt, em grau crescente de polaridade.

4.6 Preparação da Síntese da langambina

4.6.1 Síntese do Metil-éster do ácido *p*-hidróxi-ferúlico



Reactivo	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	Nº de mMols	Eq
A	238.24	2.0		8.4	1.0
Ác. Sulfúrico	98.07	0.82		8.4	1.0
Metanol			62		
AlCl₃	133.34	2.0		15	
CH₂Cl₂			40		
B	238.24	2.0			

Inicialmente foi diluído o ácido trimetoxicinâmico em metanol seco. Formou-se uma solução incolor. Em seguida, foi adicionado cuidadosamente, pelas paredes internas do balão, o ácido sulfúrico. A solução manteve seu aspecto límpido, com um tom suavemente amarelado.

Adaptou-se o condensador de refluxo, em manta de aquecimento, e manteve-se a solução em ebulição durante 6 horas, realizando o monitoramento da reação por CCDA, onde foi observado o completo consumo do ácido de partida e a formação de um produto menos polar numa solução de coloração amarronzada.

Eliminou-se o metanol em rotaevaporador acrescentando dioxano para melhor arrastar o metanol sem secar totalmente o produto no balão.

Seguidamente, adicionou-se o diclorometano e o cloreto de alumínio diretamente à boca do balão em pequenas porções, onde foi observado um desprendimento de gás.

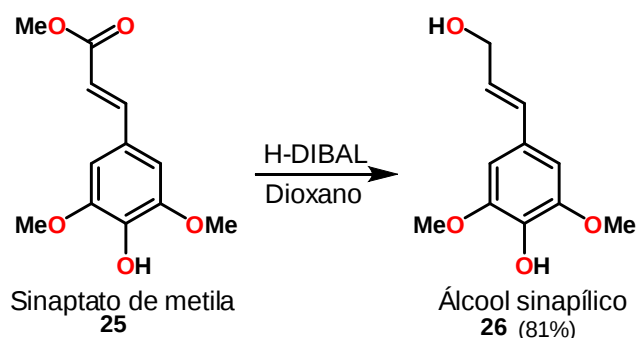
Deixou-se a reação sobre agitação por 14 horas. Após a observação dos fatores de retenção de reagentes e produtos em placa de CCDA, utilizada para monitoramento da reação, foi realizada a extração do produto com éter e água com gelo. A fase orgânica foi seca em sulfato de sódio anidro e concentrada em rotaevaporador.

Para a purificação do produto formado foi feita uma coluna cromatográfica sob eluição com a fase móvel em 50% de CH₂Cl₂ e 50% de Hexano.

Massa obtida: 1,2 g

Rendimento: 60% (cristais amorfos, branco amarelados)

4.6.2 Síntese do Álcool sinapílico



Reactivo	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	Nº de mMols	Eq
B	238.24	1.2		5.0	1.0
H-DIBAL	142.22		11	20.1	4
Dioxano			5		
álcool sinapílico	210.23	1.1			

Primeiramente, o éster (**25**) foi diluído em dioxano num balão de fundo redondo. O balão foi colocado em um banho de gelo num recipiente adaptado sobre o agitador magnético, e sob agitação foi se adicionando, cuidadosamente, uma solução de H-DIBAL diluída em tolueno.

Observou-se que a solução de H-DIBAL diluída em tolueno inicialmente apresentou uma coloração amarelo claro meio turva, e mudou para uma tonalidade um pouco mais forte, conforme a adição do DIBAL ocorria. Também foi observado um aumento na temperatura da reação.

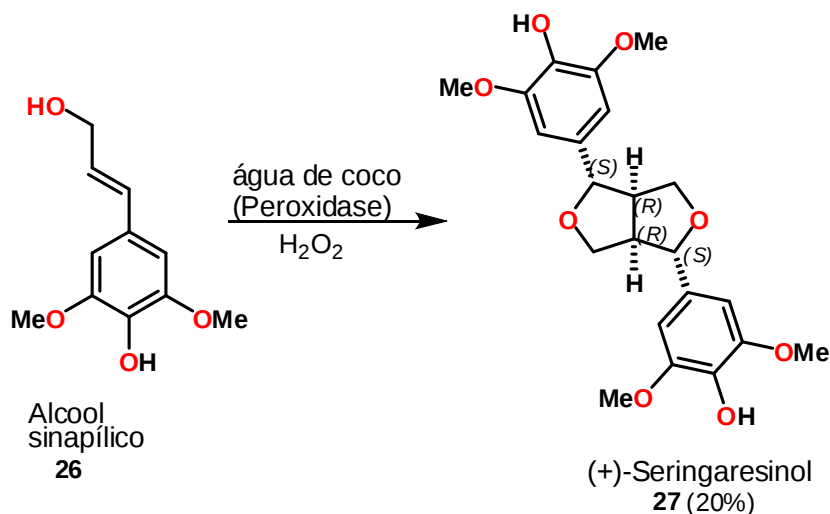
Deixou-se em agitação por 1 hora e 20 minutos, fez-se um leve aquecimento do balão com a reação, e o acompanhamento da reação por CCDA, onde foi observada a formação do produto pela diferença de R_f .

Foi realizada a extração da fase orgânica utilizando água com 5mL de HCl(1M) e acetato de etila. O processo de extração foi realizado 3 vezes para evitar perdas. A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador.

Massa obtida: 0,89g

Rendimento: 81% (óleo amarelado)

4.6.3 Síntese do Seringaresinol



Reactivo	PM (g/mol)	m (g)	V	Nº de mMols	Eq
Alcool sinapílico	210.23	0.80		4.2	1.0
H_2O_2 3%	34.01	0.14	4.8mL	4.2	1.0
Água de coco			6 L		
Seringaresinol	418.44	0.79			

Em um recipiente grande filtrou-se a água de 13 cocos verdes recém-abertos (6L). Adicionou-se uma barra magnética e adaptou-se uma placa agitadora, mantendo-se a agitação.

Em seguida, adicionou-se uma solução de álcool sinapílico via pipeta pasteur (0.80g em 8mL de metanol). Até este momento não foi observada nenhuma alteração na coloração da mistura reacional, notou-se, apenas, que a solução alcoólica ficou esbranquiçada ao entrar em contato com a água de coco, talvez devido a pouca solubilidade do álcool neste meio.

Posteriormente, sob agitação magnética, adicionou-se a água oxigenada 10V, gota-a-gota durante 20 minutos, sendo observado uma gradual alteração na coloração, onde a mistura apresentou tons amarelados.

Manteve-se em agitação magnética e temperatura ambiente por 15 horas. Ao final a reação apresentou uma coloração marrom-avermelhado.

Para a extração do produto foi colocado diclorometano no recipiente e uma cânula na rolha da base para retirar a fase orgânica que ficou depositada no fundo (Figura 12).



Figura 12. Extração da fase orgânica pela cânula.

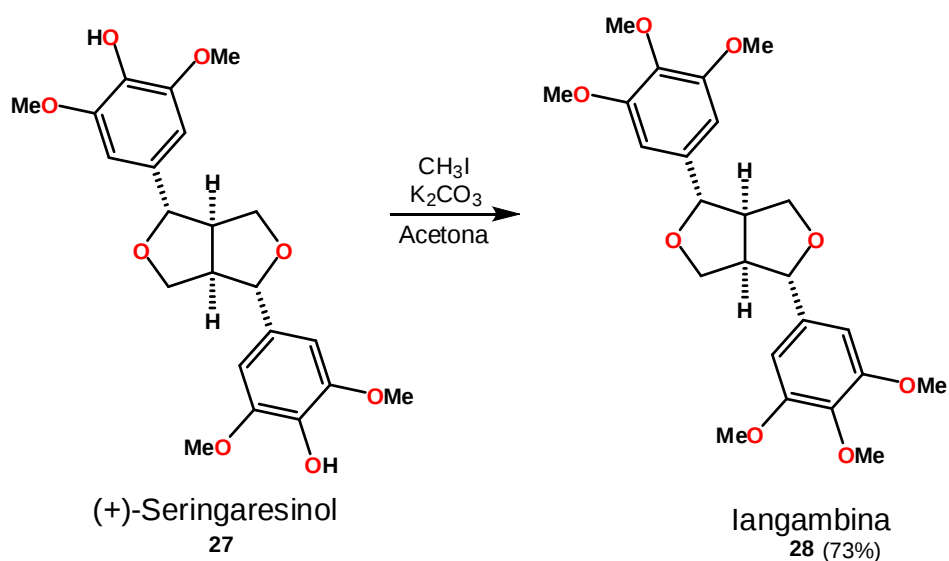
Em seguida, foi realizada uma segunda extração com água salgada, para uma melhor separação da fase orgânica, em uma ampola de separação de 3L.

A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada para um balão volumétrico onde foi concentrado em rota evaporador. Para a verificação do produto formado foi feita uma placa de CCDA. Logo após foi realizada uma coluna cromatográfica para a purificação do produto sob eluição com a fase móvel em 7:3 Hex:AcOEt.

Massa obtida: 0,16g

Rendimento: 20%

4.6.4 Síntese da langambina



Reactivo	PM (g/mol)	m (g)	V	Nº de mMols	Eq
Seringaresinol	418.44	0.10		0.24	1.00
K ₂ CO ₃	137.91	0.06		0.48	2.00
CH ₃ I	141.93	0.07		0.48	2.00
Acetona			20mL		
langambina	446.19	0.11			

Inicialmente o seringaresinol foi dissolvido em 15mL de acetona e carbonato de potássio anidro. Em seguida, a solução foi submetida à agitação em temperatura ambiente. Logo após, uma solução de iodeto de metila diluída em 5 mL de acetona foi adicionada gota a gota a mistura, sendo mantida a agitação magnética, na temperatura ambiente, durante 5h.

Posteriormente, foi realizada a extração do produto utilizando água com 5mL de HCl(1M) e acetato de etila. O processo de extração foi realizado 3 vezes para evitar perdas. A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador.

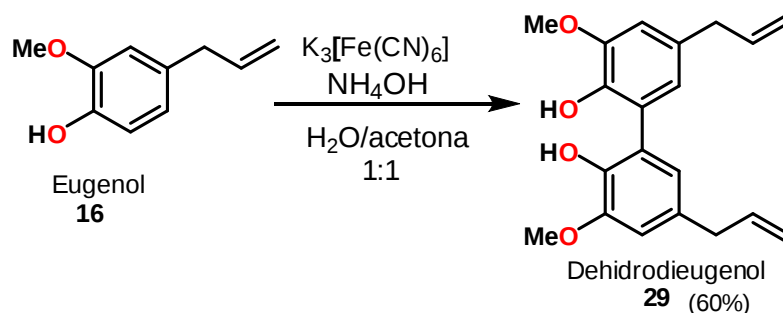
O produto foi purificado por coluna cromatográfica contendo sílica em gel, sob eluição com a fase móvel em 8:2 Hex:AcOEt.

Massa obtida: 0,08g

Rendimento: 73%

4.7 Preparação da síntese do Dehidrodieugenol monometil e dimetil éter

4.7.1 Síntese do Dehidrodieugenol



REACTIVO	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	nº de mMols	Eq
Eugenol	164.20	16.4		100	1.00
K ₃ [Fe(CN) ₆]	328.84	32.9		100	1.00
Acetona			160		
NH ₄ OH	35.04		250		
Dehidrodieugenol	326.15	16.3			

Em um erlenmeyer contendo 32,9g de ferrocianeto de potássio, adicionou-se água destilada fervente até a quantidade mínima necessária para a completa dissolução do soluto. Formou-se 145mL de uma solução saturada, que foi mantida sobre placa aquecida. Esta dissolução foi transferida lentamente para um balão contendo uma solução de 16,4g de eugenol em 160mL de acetona, 80mL de água destilada e 250mL de hidróxido de amônia 25%. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética durante 5 horas.

Posteriormente, o NH₄OH foi neutralizado com HCl concentrado (220mL) observando-se a formação de um precipitado, que foi separado através de placa filtrante e lavado três vezes com água destilada.

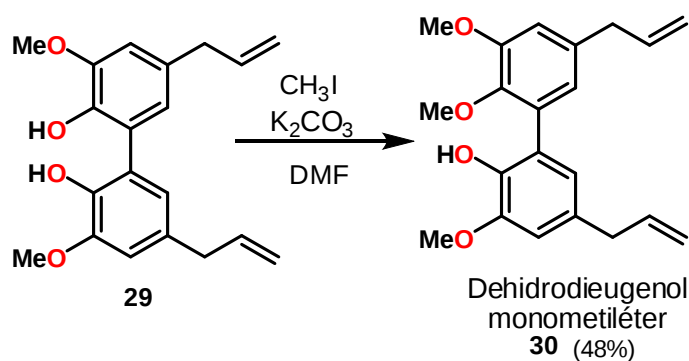
Em seguida, foi feita a recristalização em etanol absoluto o que resultou em escamas cristalinas incolores.

Massa obtida: 9,8g

Rendimento: 60%

Ponto de fusão: 105°C

4.7.2 Síntese do monometil éter do dehidrodieugenol



REACTIVO	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	nº de mMols	Eq
Dehidrodieugenol	326.15	3.26		10	1.00
K ₂ CO ₃	137.91	2.76		20	2.00
CH ₃ I	141.93	2.84		20	2.00
DMF			40		
Dehidrodieugenol monometiléter	340.17	3.4			

Inicialmente foi misturado o dehidrodieugenol com 30mL de dimetilformamida (DMF) e carbonato de potássio anidro. Em seguida, a mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 15 minutos. Logo após, uma solução de iodeto de metila em DMF (10mL), foi adicionada gota a gota a mistura, sendo mantida a agitação magnética, na temperatura ambiente, durante 4h.

Posteriormente, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação contendo 100mL de uma solução aquosa de HCl 5%, sendo extraída três vezes com acetato de etila, para facilitar a separação foi acrescentado um pouco de sal.

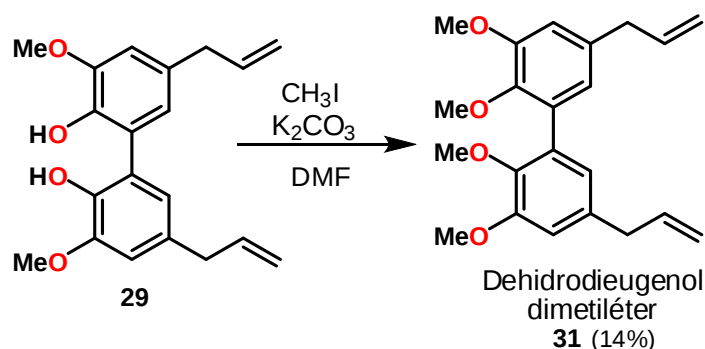
A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro, filtrada para um balão e concentrada em rotaevaporador à pressão reduzida.

O produto foi purificado por cromatografia em coluna contendo sílica em gel, utilizando como eluente a fase móvel Hex:AcOEt, aumentando a concentração de 10% em 10%, conforme o monitoramento de cada amostra coletada por meio de placas de CCDA. A total eluição do produto em interesse ocorreu em Hex:AcOEt (8:2).

Massa obtida: 1,65g

Rendimento: 48% (líquido viscoso)

4.7.3 Síntese do dimetil éter do dehidrodieugenol



REACTIVO	PM (g/mol)	m (g)	V (mL)	nº de mMols	Eq
Dehidrodieugenol	326.15	3.26		10	1.00
K ₂ CO ₃	137.91	2.76		20	2.00
CH ₃ I	141.93	7.10		50	5.00
DMF			100		
Dehidrodieugenol dimetiléter	354.18	3.5			

Após a purificação do dehidrodieugenol monometil, as demais frações foram reunidas e metiladas novamente com iodeto de metila numa proporção de 5:1. A reação foi deixada em agitação magnética, sob temperatura ambiente, por 24 horas.

Foi feita uma placa em CCDA em Hex:AcOEt (8:2) para a verificação do produto desejado e foi observado a formação de manchas menos polares que o dímero do eugenol.

A purificação do produto foi feita por CC, contendo sílica em gel. A total eluição do mesmo foi observada em 30% de acetato, na fase móvel Hex:AcOEt.

Este foi concentrado e pesado para cálculo de rendimento.

Massa obtida: 0,5 g

Rendimento: 14% (sólido branco)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese da (-)-Licarina A

A obtenção seletiva da (-)-Licarina A quando da utilização da água de coco verde, não seria possível sem a presença de algum ingrediente que reconhece e orienta a enantiosseletividade da reação. A candidata mais provável para esta orientação seria uma proteína auxiliar, uma sintetase presente no meio natural, ausente na peroxidase purificada comercialmente.

O par de enantiômeros *SR* e *RS* da licarina A não são observados, provavelmente sua formação é prejudicada pelo impedimento estereo *cis* entre os substituintes fenil e metil do núcleo benzofurânico, essa ausência é prontamente confirmada porque o par de enantiômeros *SS* e *RR* são facilmente diferenciados de seus diastereoisômeros *SR* e *RS* por simples observação dos espectros de RMN. Já o par de isômeros *SS/RR* são imagens espectrais um do outro e só podem ser diferenciados pelo seu poder rotatório, o mesmo se aplica ao par *SR/RS* (Figura 13).

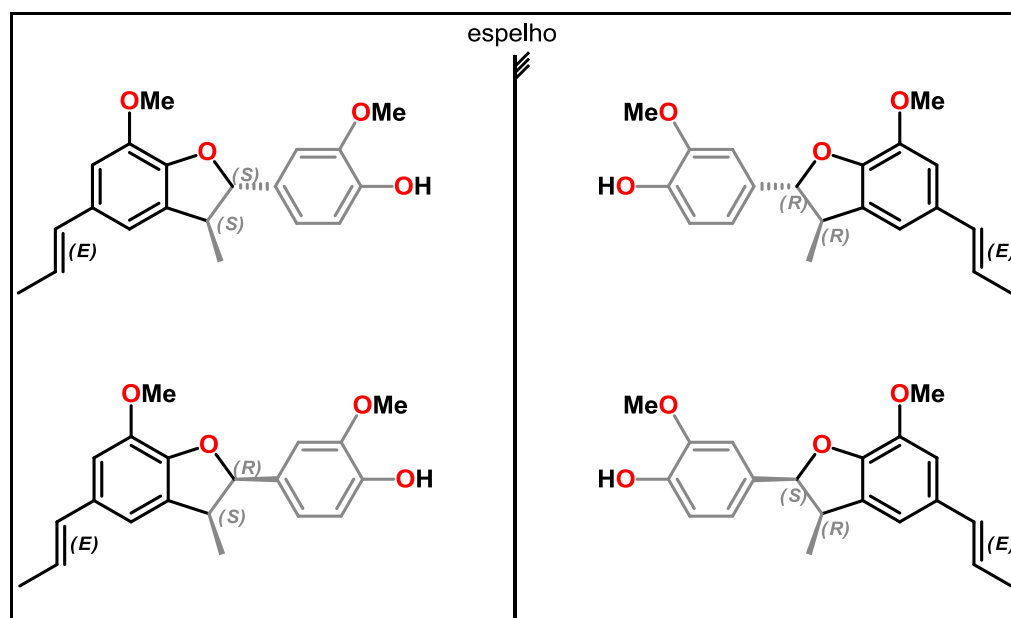


Figura 13. Estereoisômeros da Licarina.

A comprovação de que a reação realizada foi estereosseletiva, só é viável pela constatação, via poder rotatório, de que a licarina produzida é a (-)-Licarina A.

Observa-se que o ponto de atuação da enzima é a hidroxila da posição *para*, sua ausência, substituição ou proteção torna o composto inativo ao mecanismo enzimático. Os diversos radicais formados ficam então disponíveis para dimerizar, onde várias combinações são possíveis, cada uma com a produção do dímero correspondente (Heriksen *et al.* 1999).

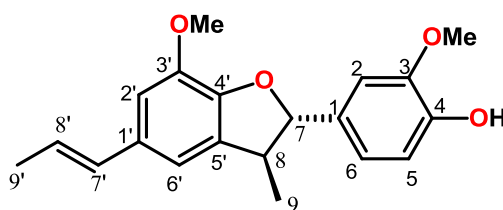
Desta forma, é preparado, em um único passo, sem necessidade de resolução de mistura racêmica, uma das formas da licarina, a (-)-Licarina A.

5.1.1 Dados espectrais

Poder rotatório:

$$\alpha_D^{25} = -20^\circ (\text{CHCl}_3; c = 1,0)$$

Tabela 1. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C da (-)-Licarina A



C	δ_c	δ_H
1	132,16	-
2	108,88	6,96 (2H, s)
3	146,52	-
4	144,11	-
5	114,04	6,75 (2H, d, $J=3,8\text{Hz}$)
6	119,93	6,75 (2H, d, $J=3,8\text{ Hz}$)
7	93,76	5,08 (1H, d, $J=9,5\text{Hz}$)
8	45,59	3,43 (1H, dq, $J=9,5\text{Hz}; 6,8\text{Hz}$)
9	17,52	1,36 (3H, d, $J=6,8\text{Hz}$)
1'	132,04	-
2'	109,17	6,88(2H, s)
3'	145,74	-
4'	146,52	-
5'	133,23	-
6'	113,30	6,88 (1H, s)
7'	130,89	6,39 (1H, d, $J=15,7\text{Hz}$)
8'	123,46	6,09 (1H, dq, $J= 6,4\text{Hz}; 15,7\text{Hz}$)
9'	18,35	1,85 (3H, d, $J=6,4\text{Hz}$)
OMe-3/3'	55,89	3,86 (3H, s)

O espectro de RMN de ^1H , (Tabela 1; Figura 15) da Licarina A apresentou sinais referentes a hidrogênio de duas metilas, sendo uma ligada a um carbono sp^3 (δ 1,36, *d*, $J=6,8\text{Hz}$) e a outra, mais desprotegida, ligada a um carbono sp^2 (δ 1,85, *d*, $J=6,4\text{ Hz}$).

Também foram observados sinais característicos de um anel hidrofurânico (δ 3,43, *dq*, $J=9,5$ e $6,8\text{ Hz}$; δ 5,09, *d*, $J=9,5\text{ Hz}$).

Na região dos hidrogênios metoxílicos, observou-se sinais referentes a duas metoxilas ligadas a carbono sp^2 (δ 3,86, *s*).

Na região dos hidrogênios ligados a carbonos sp^2 , foram observados sinais de hidrogênios olefínicos α e β , de um grupo propenila ligado ao anel aromático (δ 6,39, d , $J=15,7$ Hz; δ 6,09, dq , $J=6,4$ e $15,7$ Hz).

O espectro de RMN de ^{13}C (Tabela 1; Figura 14), mostrou a presença de 20 carbonos, sendo 2 metílicos (C-9/9'), 1 metínico (C-8), 2 metoxílicos (OMe-3/3'), 1 oxibenzílico (C-7), e 14 que apresentam deslocamentos químicos típicos de carbonos sp^2 , sendo que 12 carbonos correspondem a 2 anéis aromáticos e 2 carbonos (C-7'/8') ao grupo propenila.

A comparação entre o espectro obtido e os encontrados na literatura (Pereira *et al.*, 2011) confirmam a formação da (-)-Licarina A.

	J. of Chromatography A, Vol. 1218, No. 39, 7051-7054, 2011	(-)-Licarina A – Experimento LCSD#1
C átomo	^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz)	^{13}C RMN ($CDCl_3$, 50 MHz)
1	132,16	132,13
2	108,88	108,88
3	146,52	146,48
4	144,11	144,08
5	114,04	114,00
6	119,93	119,93
7	93,76	93,80
8	45,59	45,60
9	17,52	17,50
1'	132,04	132,00
2'	109,17	109,10
3'	145,74	145,70
4'	146,52	146,48
5'	133,23	133,20
6'	113,30	113,23
7'	130,89	130,87
8'	123,46	123,44
9'	18,35	18,39
MeO- 3/3'	55,89	55,89

Figura 14. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da (-)-Licarina A (CDCl_3 , 50,3 MHz).

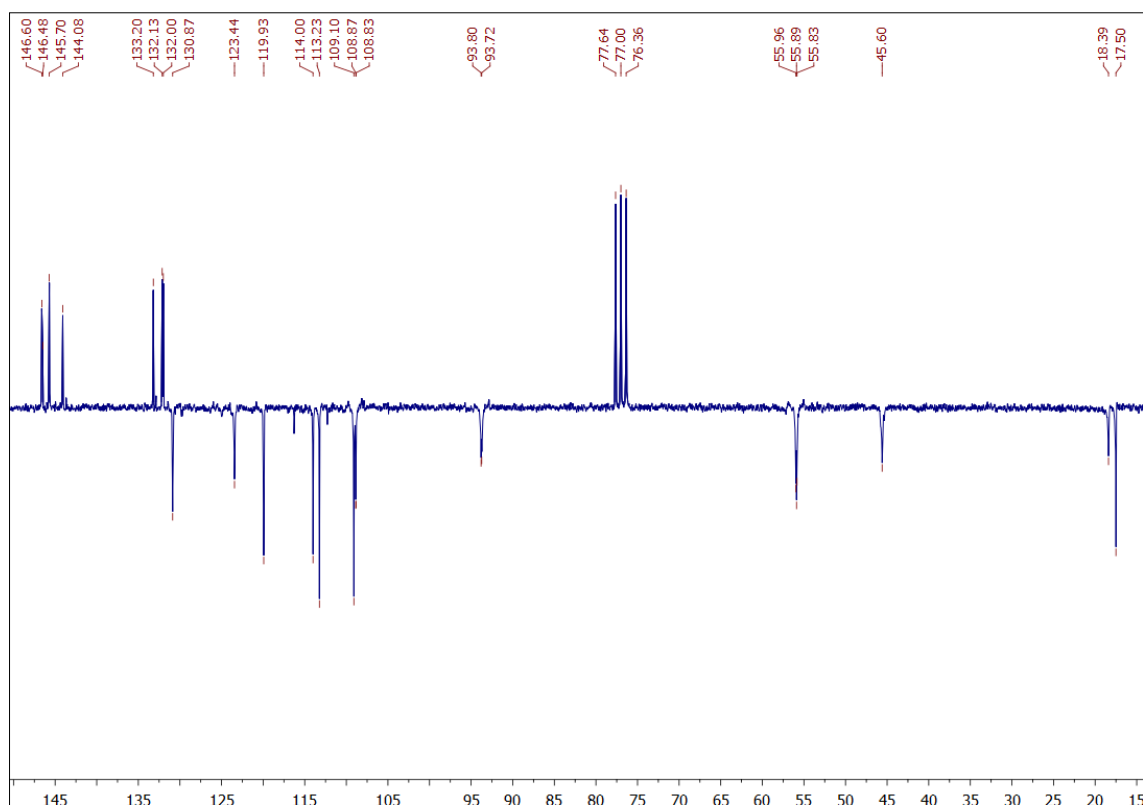


Figura 15. Espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina A (CDCl_3 , 200 MHz).

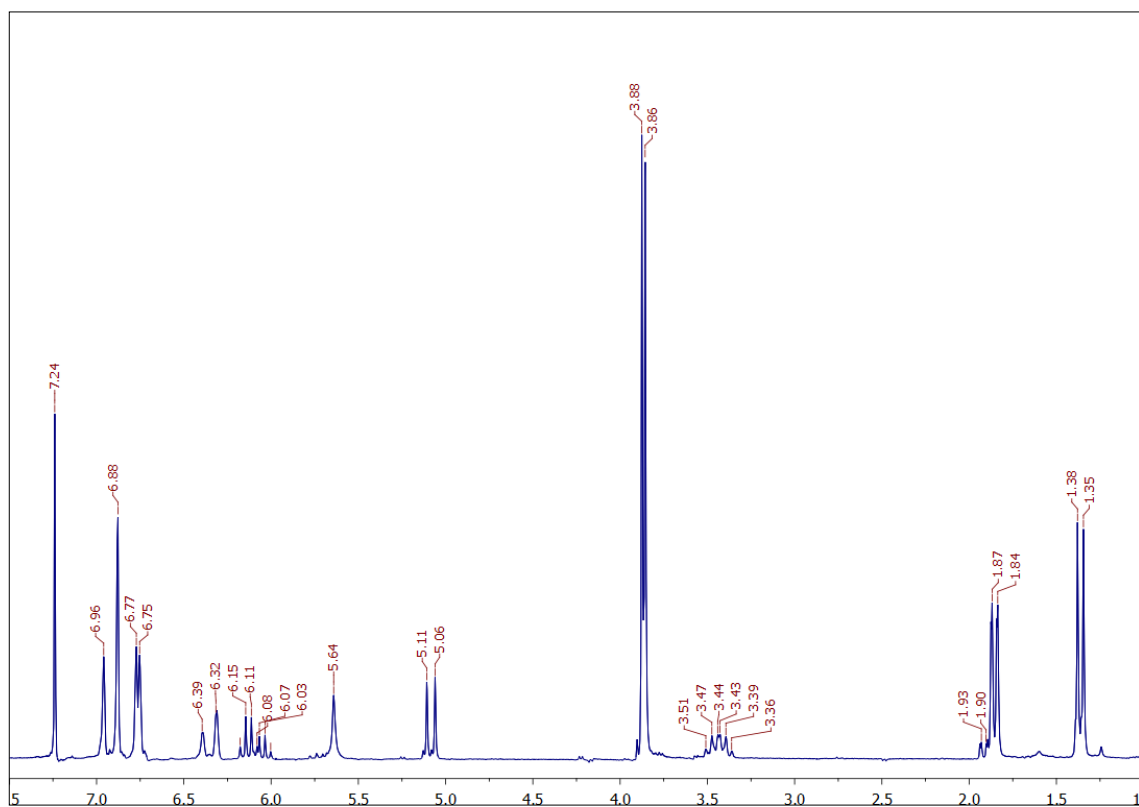


Figura 16. Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina na região de 6,95 a 6,75 ppm (CDCl_3 , 200 MHz).

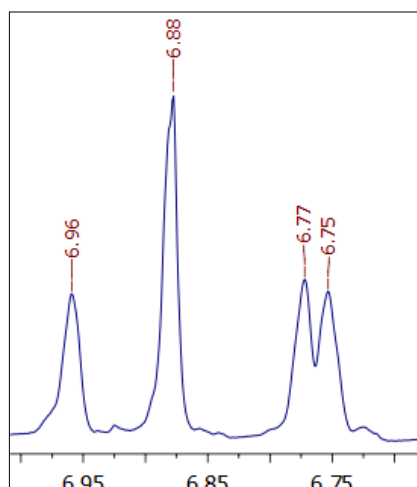


Figura 17. Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina na região de 6,4 a 6,0 ppm (CDCl_3 , 200 MHz).

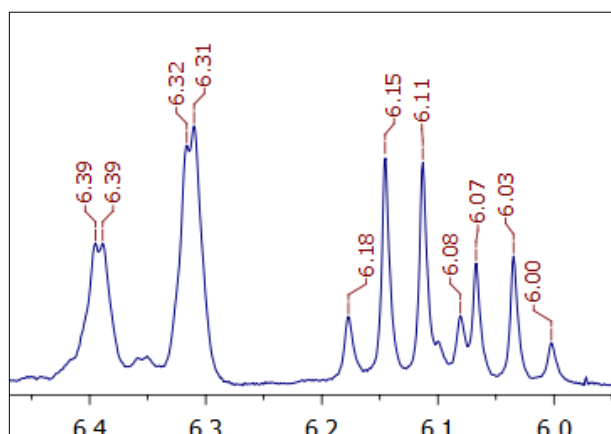
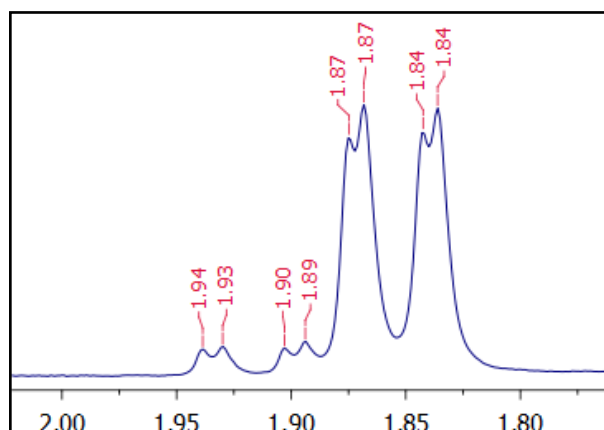


Figura 18. Expansão do espectro de ^1H -RMN da (-)-Licarina A na região de 2,0 a 1,80 ppm (CDCl_3 , 200 MHz).



5.2 Síntese da Dihidrocarinatidina

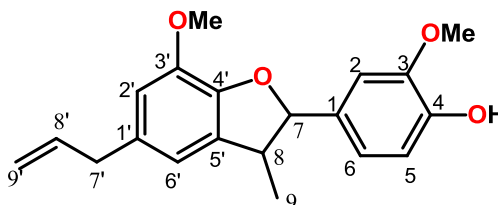
Após a reação de síntese da Dihidrocarinatidina, foi observada a formação de uma mistura da Licarina com a Dihidrocarinatidina. No entanto, não foi possível a total purificação do produto desejado por cromatografia em coluna, devido a semelhança de polaridades entre as duas substâncias.

Posteriormente, foi realizada a mesma reação e o mesmo procedimento experimental aumentando a quantidade de eugenol, onde na reação anterior a proporção equivalente era de 1:1, aproximadamente, de eugenol:isoeugenol, na segunda reação passou a ser de 5:1 eugenol:isoeugenol.

Nesta segunda tentativa, foi observada novamente uma mistura de Licarina com a Dihidrocarinatidina, comprovando a dificuldade de separação desses dois compostos utilizando a cromatografia em coluna. No entanto, foi verificado que a quantidade de dihidrocarinatidina formada, na segunda tentativa, foi maior do que de Licarina, quando comparada a reação anterior.

5.2.1 Dados espectrais

Tabela 2. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C da Dihidrocarinatidina



C	δ_{C}	δ_{H}
1	131,97	-
2	108,89	6,88 (2H, s)
3	146,60	-
4	145,65	-
5	114,00	6,77 (2H, d, $J=3,7\text{Hz}$)
6	119,88	6,77 (2H, d, $J=3,7\text{Hz}$)
7	93,67	5,06 (1H, d, $J=9,8\text{Hz}$)
8	45,66	3,50 – 3,45 (1H, m)
9	17,48	1,36 (3H, d, $J=6,8\text{Hz}$)
1'	133,18	-
2'	111,74	6,88 (2H, s)
3'	144,05	-
4'	108,89	-
5'	133,18	-
6'	115,53	6,97 (1H, sl)
7'	40,12	3,37 (d, $J=6,7\text{Hz}$)
8'	137,83	5,07 (ddt, $J=6,7;10,1$ e $17,1\text{Hz}$)
9'	115,53	5,17 – 5,06 (3H, m)
OMe-3/3'	55,84	3,85 (1H, s)

O espectro de RMN de ^1H , (Tabela 2; Figura 22) da Dihidrocarinatidina, assim como o da Licarina A, apresentou sinais referentes a hidrogênio de duas metilas, sendo uma metila ligada a um carbono sp^3 (δ 1,36, d , $J=6,8\text{Hz}$) e a outra, bem mais desprotegida, ligada a um carbono sp^2 (δ 5,17-5,06, m).

Também foram observados sinais característicos de um anel hidrofurânico (δ 3,50-3,45, m ; δ 5,06, d , $J=9,8\text{ Hz}$).

Na região dos hidrogênios metoxílicos, observou-se sinais referentes a duas metoxilas ligadas a carbono sp^2 (δ 3,85, s).

O espectro de RMN de ^{13}C (Tabela 2; Figura 19), mostrou a presença de picos de carbono característicos da Licarina em δ 130,9 (C-7'), δ 123,4 (C-8') e δ 18,39 (C-9'); assim como picos peculiares da Dihidrocarinatidina δ 40,12 (C-7'), δ 137,83 (C-8') e δ 115,53 (C-9').

Além desses deslocamentos característicos, observa-se algumas diferenças entre os picos do carbono 4' dessas substâncias, onde verifica-se que C-4' da Dihidrocarinatidina apresenta uma grande diferença no deslocamento químico comparado ao C-4' da Licarina, isto se deve ao fato da dupla terminal na estrutura da Dihidrocarinatidina não participar da ressonância do anel aromático no núcleo bezofurânico, evento ocorrido na estrutura química da Licarina A.

A comparação entre o espectro obtido e o dados da literatura (Moraes *et al.*, 2009) confirmam a formação da dihidrocarinatidina.

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 20, No. 6, 1110-1118, 2009		Experimento LCSD#2
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1	132,2	131,97
2	108,9	108,89
3	146,7	146,60
4	145,7	145,65
5	114,0	114,00
6	119,9	119,88
7	93,7	93,67
8	45,8	45,66
9	17,4	17,48
1'	133,5	133,18
2'	111,8	111,74
3'	144,0	144,05
4'	108,9	108,89
5'	133,2	133,18
6'	115,6	115,53
7'	40,2	40,12
8'	137,9	137,83
9'	115,6	115,53
MeO- 3/3'	55,9	55,84

Figura 19. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina (CDCl_3 , 50 Mhz).

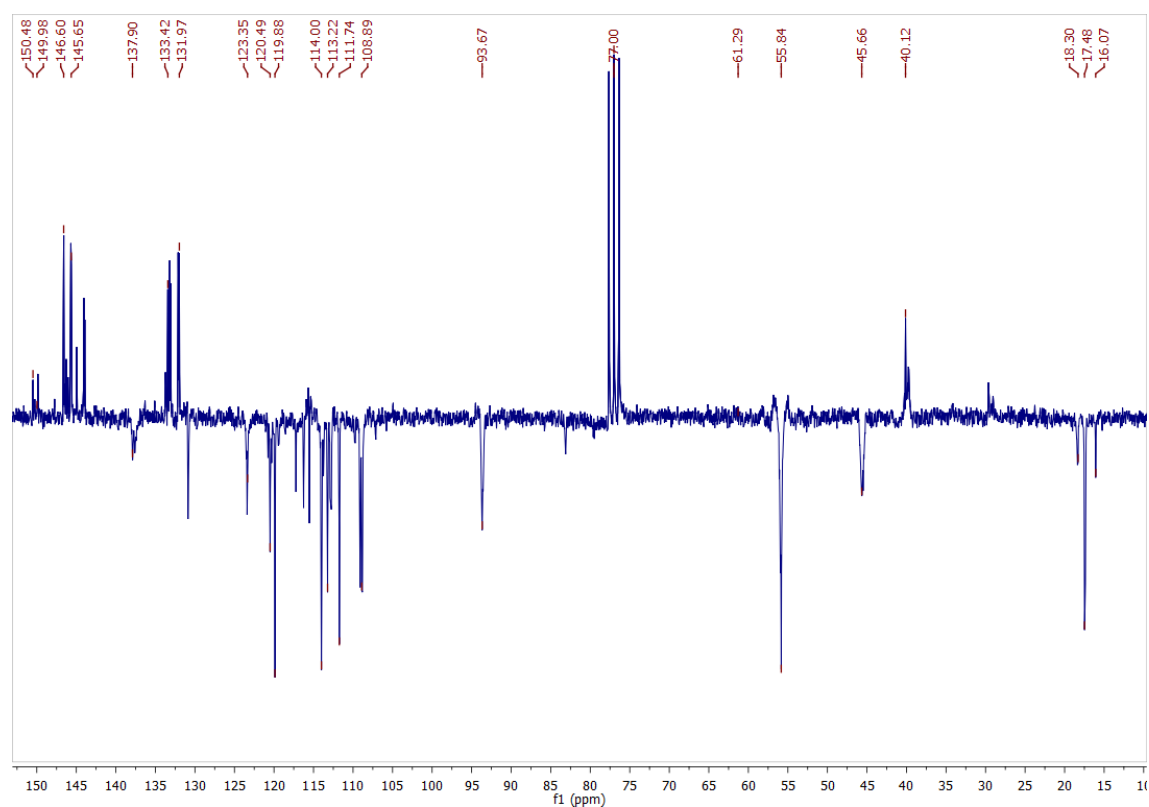


Figura 20. Expansão do espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina na região de 147 a 129 ppm (CDCl_3 , 50 Mhz).

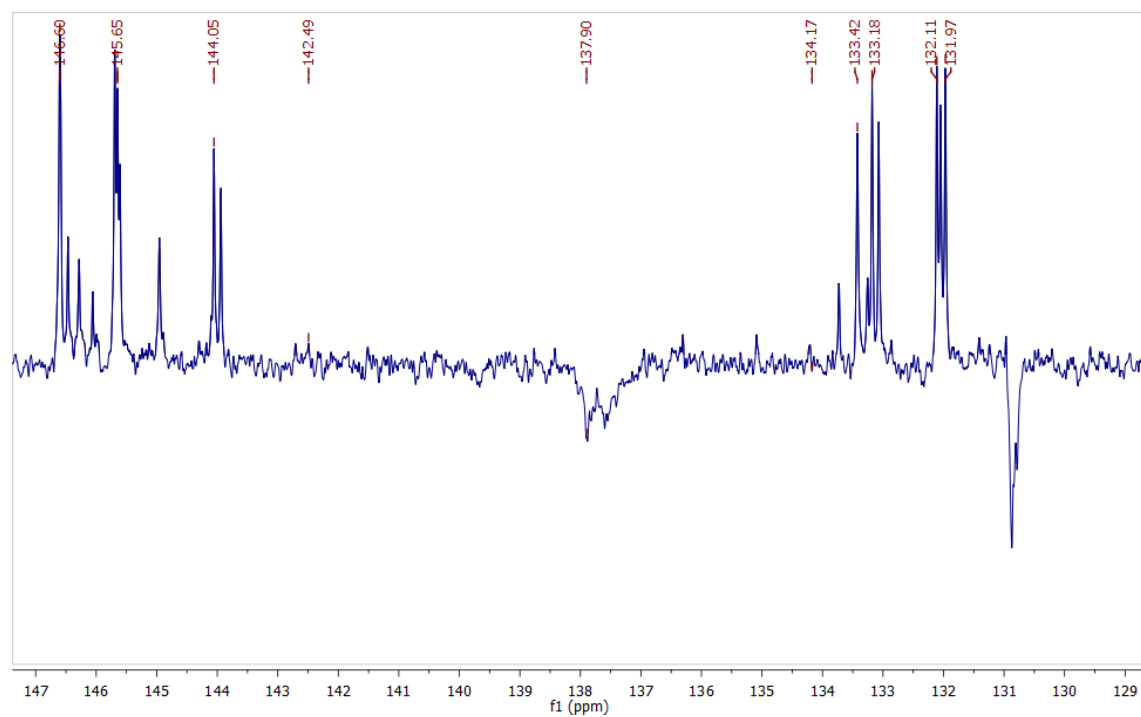


Figura 21. Expansão do espectro de ^{13}C -RMN (APT) da Dihidrocarinatidina na região de 116 a 106 ppm (CDCl_3 , 50 Mhz).

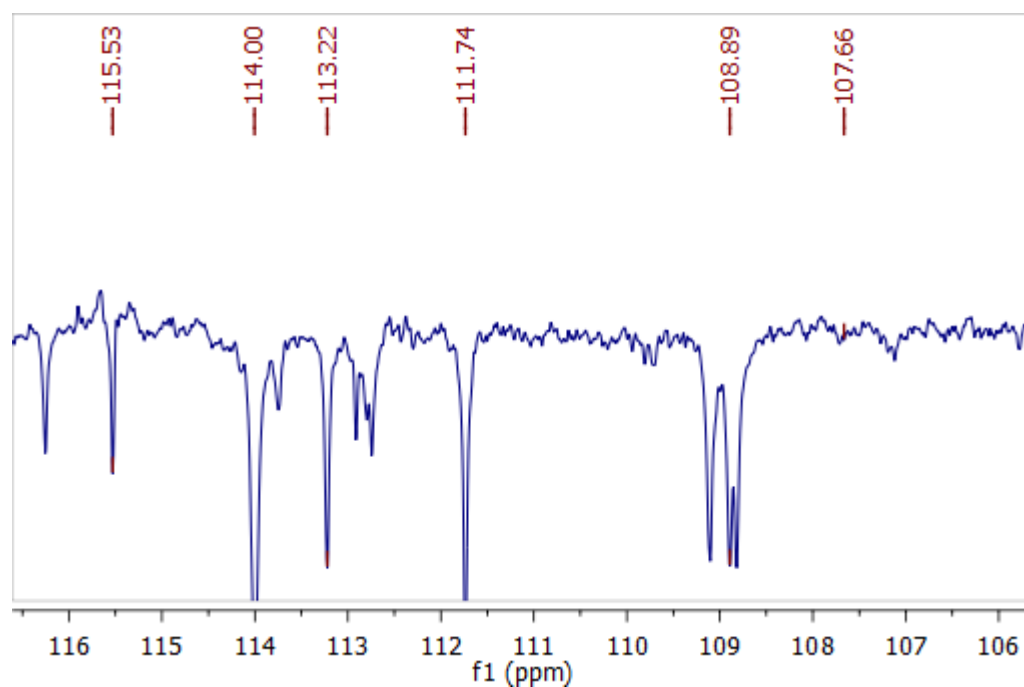


Figura 22. Espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina (CDCl_3 , 200 Mhz).

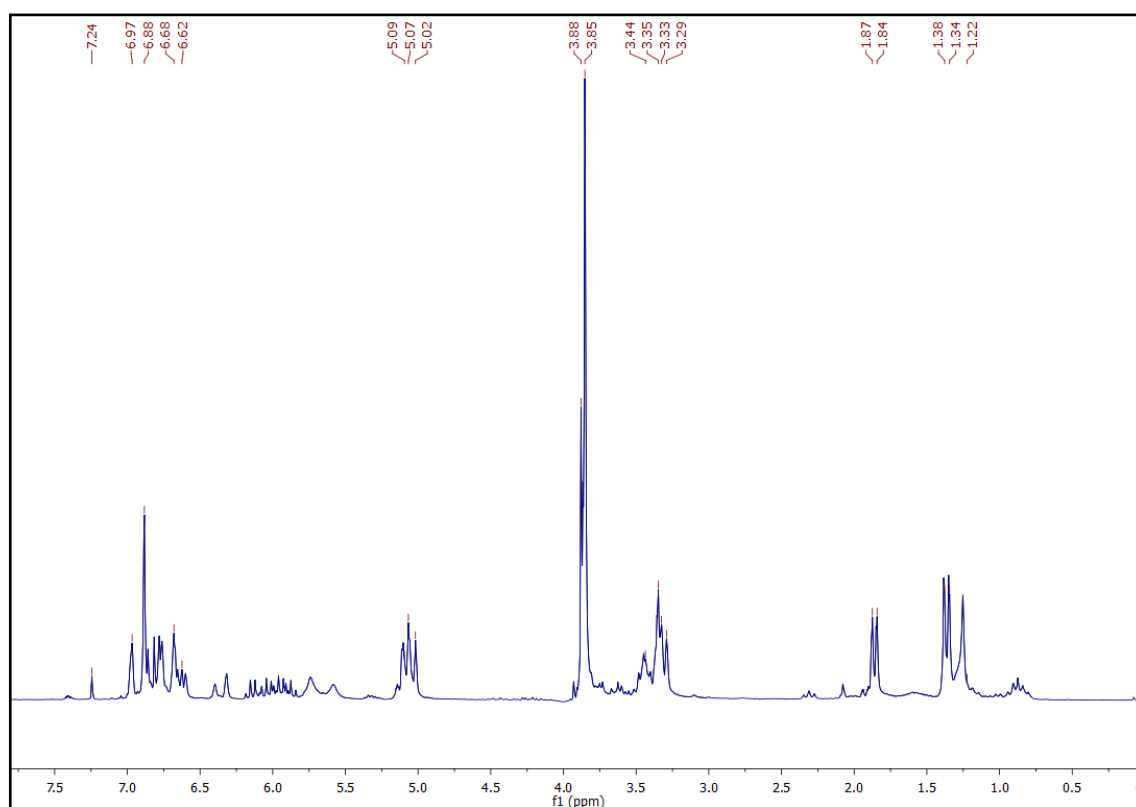


Figura 23. Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 7,0 a 6,3 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).

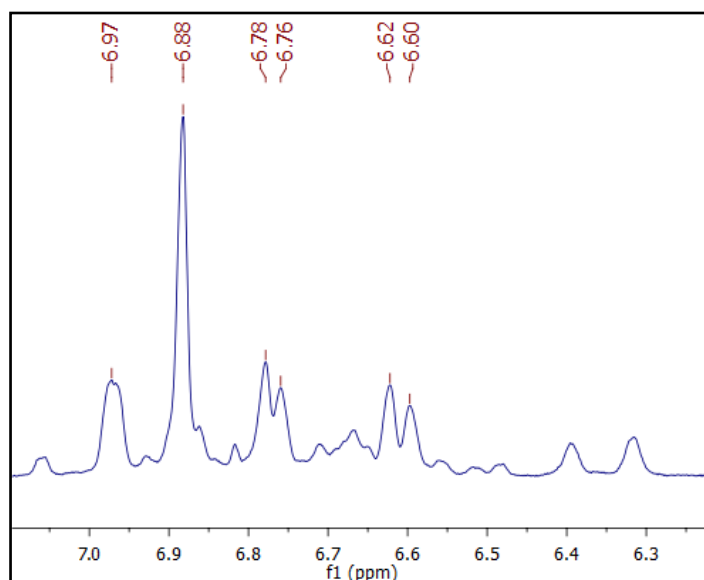


Figura 24. Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 5,20 a 4,75 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).

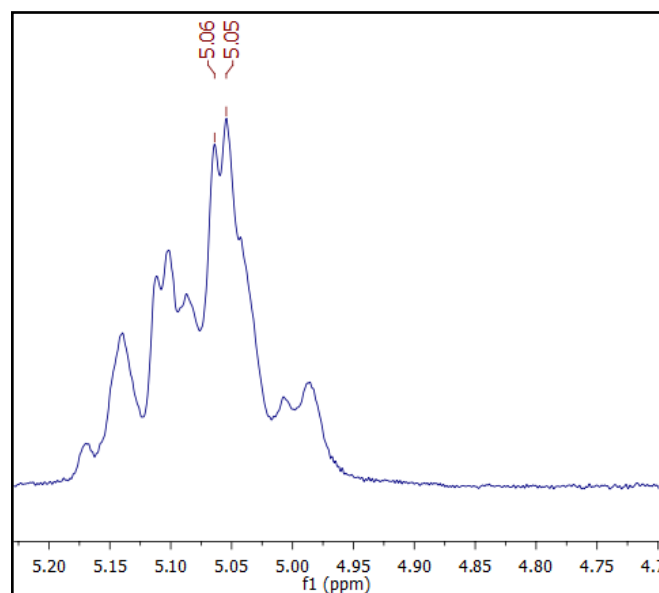
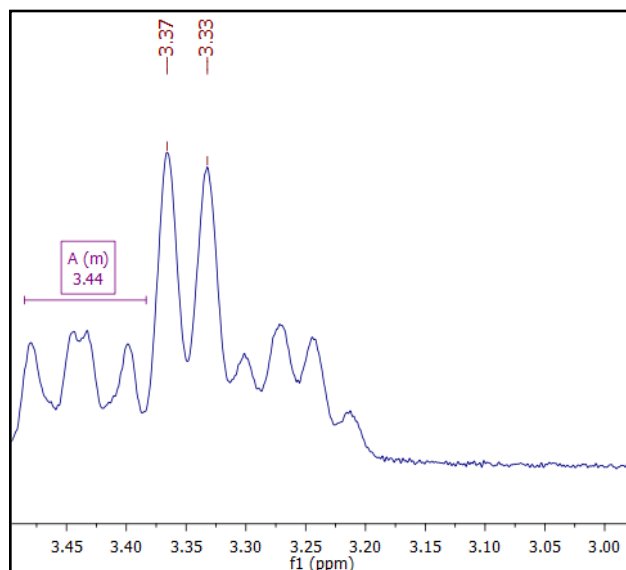


Figura 25. Expansão do espectro de ^1H -RMN da Dihidrocarinatidina na região de 3,45 a 3,00 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).



5.3 Síntese do Conocarpan

5.3.1 Síntese do Isochavicol via reação de Wittig

Georg Wittig em 1979 recebeu o prêmio Nobel de Química por seu trabalho em compostos orgânicos contendo fósforo. A reação de Wittig tem como objetivo transformar um aldeído ou uma cetona em um alceno (Silveira, 2010).

Como a reação de Wittig é completamente regioseletiva e é um dos melhores métodos para preparação de alcenos, esta foi uma escolha pensada para a síntese do Isochavicol.

Nesta reação o reagente transformador do aldeído em um alceno é um composto químico chamado de ílide de fósforo, fosforano ou ainda íleto de fósforo.

Os ílides de fósforo são preparados através de duas reações. A primeira é uma reação $\text{S}_\text{N}2$ entre um haleto de primário com o nucleófilo trifenilfosfina. A segunda reação envolve um processo ácido-base, onde uma base de Lewis captura um hidrogênio ionizável (Silveira, 2010).

Nas reações realizadas foram utilizados o bromoetano como haleto primário e o *terc*-butóxido de potássio como uma base de Lewis.

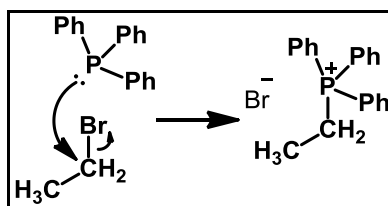


Figura 26. Par de elétrons não ligante do fósforo ataca a retaguarda do bromoetano.

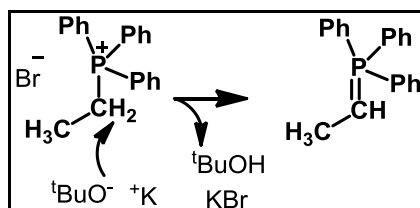


Figura 27. Formação do Ílide de fósforo.

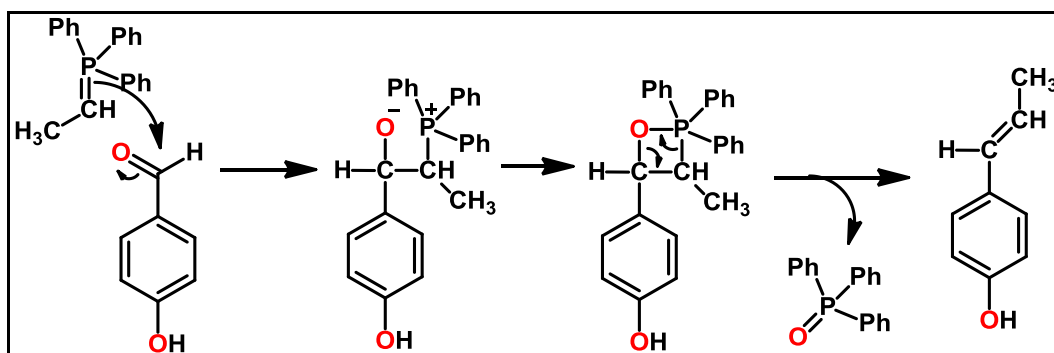


Figura 28. Mecanismo de transformação do *p*-hidroxibenzaldeído.

Logo após a purificação do isochavicol, após a reação de Wittig, foi realizada a síntese do conocarpan, mesmo antes de se confirmar o espectro do isochavicol, a fim de se evitar a formação de subprodutos devido a sua instabilidade.

No entanto, houve a formação de muitos derivados do conocarpan com polaridades semelhantes, e, portanto, de difícil purificação.

Foi verificado, posteriormente com o uso do espectro de H^1 e C^{13} do isochavicol, que o mesmo já estaria impuro com a formação de outros subprodutos, o que, provavelmente, justifica a formação de impurezas na síntese do conocarpan.

5.3.2 Síntese do Isochavicol via desproteção do Anetol

O anetol (trans-1-metoxi-4-(1-propenil)-benzeno) ou trans-anetol é uma substância flavonóide, oxidante aromático natural, presente numa variedade de extratos de plantas medicinais (Polzin *et al.*, 2007). O anetol é o principal constituinte de muitos óleos essenciais derivados de plantas medicinais, como *C. zehntneri*, *Pimpinella anisum* L., *Illicium verum* (anis-estrela), *Foeniculum vulgare* (fennel) (Poon e Freeman, 2006; Cosge, Kiralan e Gürbüz, 2008) e *Artemísia dracunculus* (tarragon) (Duke, 1992).

A utilização do anetol para a formação do isochavicol partiu do interesse de se realizar uma reação rápida, com menos passos reacionais, a fim de se dificultar a formação de subprodutos do isochavicol. Esta síntese foi feita por meio da desproteção da metila do anetol utilizando o brometo de boro.

Na síntese do Magnolol, por meio de acoplamento oxidativo, Tzeng e Liu (2004) utilizou brometo de boro para a formação do 4-alilfenol (Figura 29), o precursor que irá dimerizar para formar quatro neolignanas diferentes incluindo o magnolol (Figura 30).

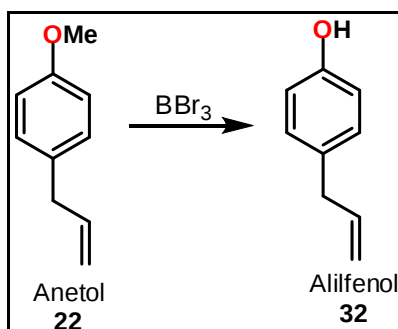


Figura 29. Preparação do 4-alilfenol.

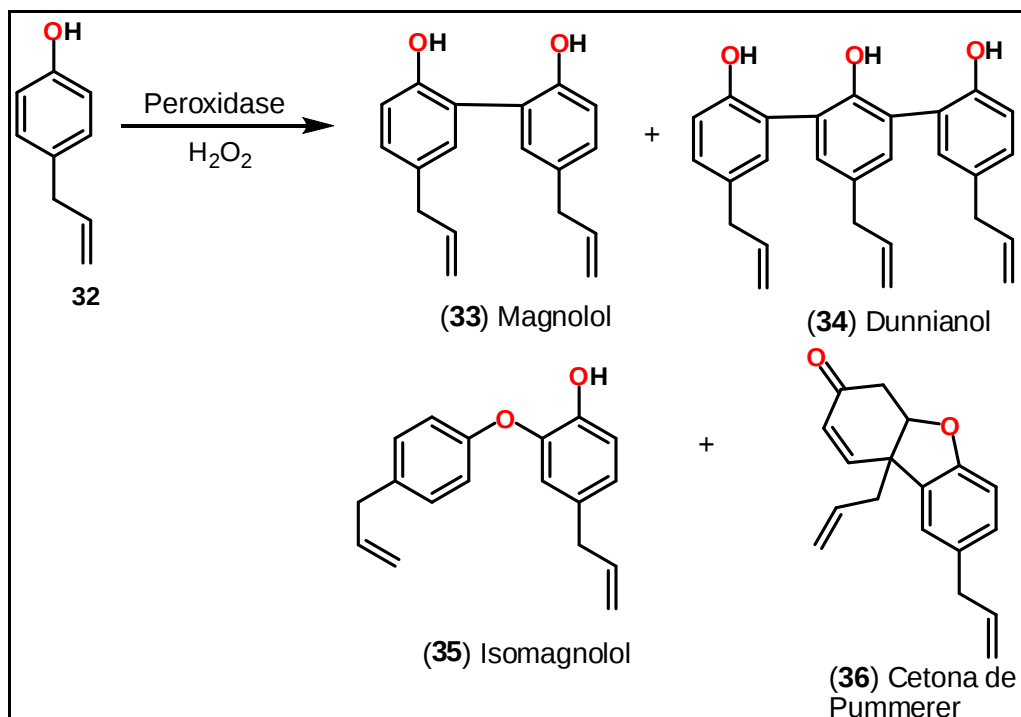


Figura 30. Acomplamento oxidativo do 4-alilfenol pela peroxidase.

Por meio deste mecanismo, houve a pretensão de se desenvolver a síntese do conocarpan.

No entanto, apesar do novo método utilizado ter sido mais rápido, ainda assim houve a formação de muitas impurezas na síntese do isochavicol, o que dificultou os passos reacionais seguintes para a produção da substância de interesse, o conocarpan.

5.4 Síntese da langambina

5.4.1 Síntese do Metil-éster do ácido *p*-hidróxi-ferúlico

Como primeira etapa da síntese da langambina, tem-se a metilação na carboxila do ácido 3,4,5-trimetóxicinâmico para a formação do éster correspondente. Para tanto, utilizou-se o metanol (MeOH) como doador grupo da metoxila, que foi adicionado em excesso para que se certificasse a formação do produto desejado, após o término da reação.

A metilação, por meio da reação de alquilação, na carboxila do ácido para a formação do éster derivado, tem como função prevenir a formação da hidroxila na

posição *para* do anel aromático na próxima etapa da síntese. Desta forma, ocorre a alteração da reatividade da molécula para a preparação da substância de interesse.

A reação ocorre em meio ácido, via substituição nucleofílica S_N2 . O ácido sulfúrico também atua na desproteção da posição *para* de compostos aromáticos, contribuindo, desta forma, para a próxima etapa da reação.

Terminado a primeira etapa, o metanol foi eliminado no rotaevaporador, sendo arrastado juntamente com o dioxano que foi acrescido a reação para facilitar a saída do metanol.

Na segunda etapa o diclorometano e em seguida o cloreto de alumínio foram adicionados em excesso estequiométrico. Durante este processo, foi observado um desprendimento abundante de gás, que pode ser explicado pela reação exotérmica de solubilização do $AlCl_3$, assim como pela formação de HCl gasoso.

Nesta reação foi realizada a desproteção seletiva da posição *para* do éster do ácido 3,4,5-trimetoxi-cinâmico, utilizando, para isso, o cloreto de alumínio e o diclorometano. Segundo Negi *et al.* (2005), este é um método simples e eficiente para a desproteção regioseletiva em acil-benzenos *p*-metoxilados, sendo este um método frequentemente usado em moléculas complexas, pois a desproteção em *para* é facilitada pela natureza retiradora de elétrons da carbonila complexada com o ácido de Lewis ($AlCl_3$), promovendo a deslocalização de elétrons no sistema conjugado e favorecendo a reatividade *para*- dirigida.

Entretanto, esta reação não ocorreria com grupos carboxila livres, o que justifica a metilação prévia desenvolvida na primeira reação. Desta forma, houve desmetilação seletiva no grupo 5-metoxi, enquanto os demais grupamentos metoxilas permaneceram inalterados.

5.4.2 Síntese do Álcool sinapílico

Após a purificação do éster, foi realizada a terceira etapa da síntese, onde foi feita a preparação do álcool sinapílico, precursor das lignanas. Para tanto foi utilizado o hidreto diisobutilalumínio (DIBAL-H) em dioxano. O DIBAL-H é um reagente muito útil para a conversão de ésteres em aldeídos e alcoóis (Winterfeldt, 1975). Segundo Quideau e Ralph (1992), este procedimento de redução com

DIBAL-H é um método simples e eficiente na conversão de ésteres cinâmicos em alcoóis coniferílico, sinapílico e *p*-cumárico.

Partindo destes conhecimentos, foi utilizado DIBAL-H em excesso (4 eq), sendo adicionado gota a gota no sob baixa temperatura, devido à sua alta reatividade. Após uma hora e vinte de reação, foi possível a observação de um único produto (P) por meio da verificação da placa de CCDA (Figura 31), podendo ser este o álcool sinapílico.

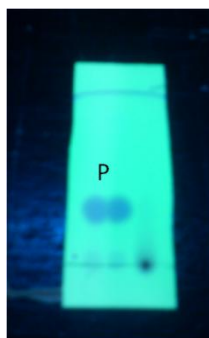


Figura 31. Placa corrida em 7:3 Hex:AcOEt (UV 254 e 366nm)

5.4.3 Síntese do Seringaresinol

Após a formação do álcool sinapílico, a próxima etapa para a formação do seringaresinol irá ocorrer por meio de acoplamento oxidativo biocatalizado pela enzima peroxidase da água de coco. Como descrito no capítulo 2 - Identificação da proposta, o acoplamento irá ocorrer de forma estereoseletiva, levando a formação de um dímero estereoespecífico do álcool sinapílico.

Inicialmente a reação apresentou tons amarelados e ao final, apresentou uma coloração marrom-avermelhado, sendo verificada a formação do seringaresinol e de outros produtos intermediários por CCDA (Figura 32).

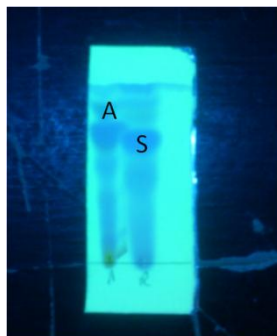


Figura 32. Placa corrida em 3:7 Hex:AcOEt (UV 254 e 366nm).

Na figura 32 observa-se que o álcool sinapílico (A) não se apresenta como uma substância pura, como da placa da figura 31, este fato pode ser explicado pela instabilidade do álcool que deve ser acondicionado em geladeira, conforme recomendado pela *Sigma-Aldrich*.

5.4.4 Síntese da langambina

Uma vez obtido o seringaresinol, foi realizada a metilação para a formação da langambina. Para isso, foi utilizado o iodeto de metila, reagente tradicionalmente usado para a metilação de fenóis e ácidos carboxílicos.

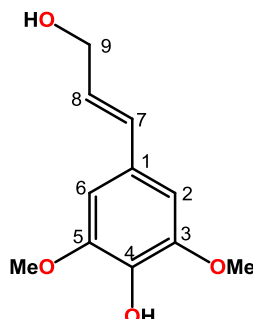
A utilização do Iodeto de metila provém de seu efeito estérico disponível ao ataque por nucleófilos, além disso, o iodo é um bom grupo lábil.

Na síntese da langambina o K_2CO_3 , utilizado como base, remove o próton ácido para formar o ânion fenóxido, o qual serve como um nucleófilo na substituição Sn^2 .

A utilização de dois equivalentes do iodeto de metila resultou, após 5h de reação, na metilação total do seringaresinol, levando, desta forma, a formação da langambina com um rendimento de 73%.

5.4.5 Dados espectrais

Tabela 3. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do álcool sinapílico



C	δ_{C}	δ_{H}
1	134,64	-
2	103,20	6,59 (2H, s)
3	147,04	-
4	131,44	-
5	147,04	-
6	103,20	6,59 (2H, s)
7	128,15	6,52 (1H, d, J=15,8Hz)
8	126,50	6,25 (1H, dt, J=15,8;5,6Hz)
9	63,72	4,29 (2H, d, J=5,6Hz)
OMe-3/5	56,18	3,83 (6H, s)

Comparando o espectro obtido com os dados da literatura é possível confirmar a formação do álcool sinapílico (Feng *et al.*, 2006).

Chin. J. Chem., Vol. 24, 215-218, 2006		Experimento LCSD#3
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1	134,5	134,64
2	103,1	103,20
3	146,9	147,04
4	131,0	131,44
5	146,9	147,04
6	103,1	103,20
7	128,0	128,15
8	126,4	126,50
9	63,4	63,72
MeO-3/5	56,0	56,18

Figura 33. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Álcool Sinápico (CDCl_3 , 50 Mhz).

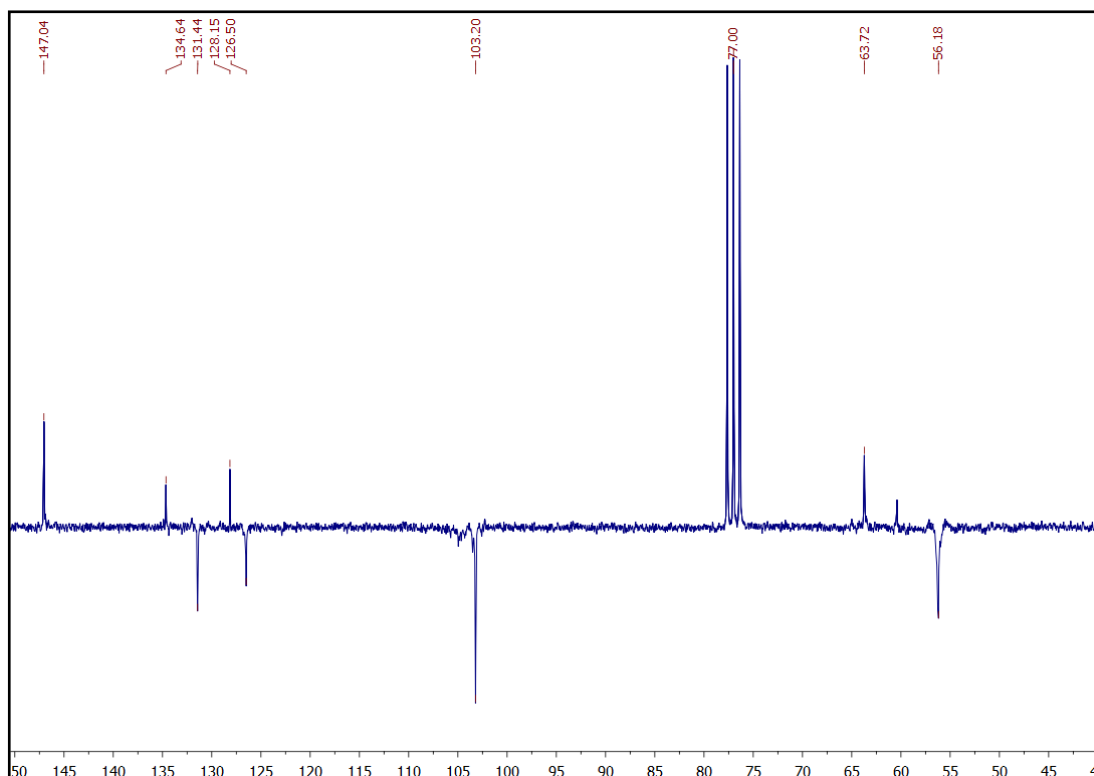


Figura 34. Espectro de ^1H -RMN do Álcool Sinápico (CDCl_3 , 200 Mhz).

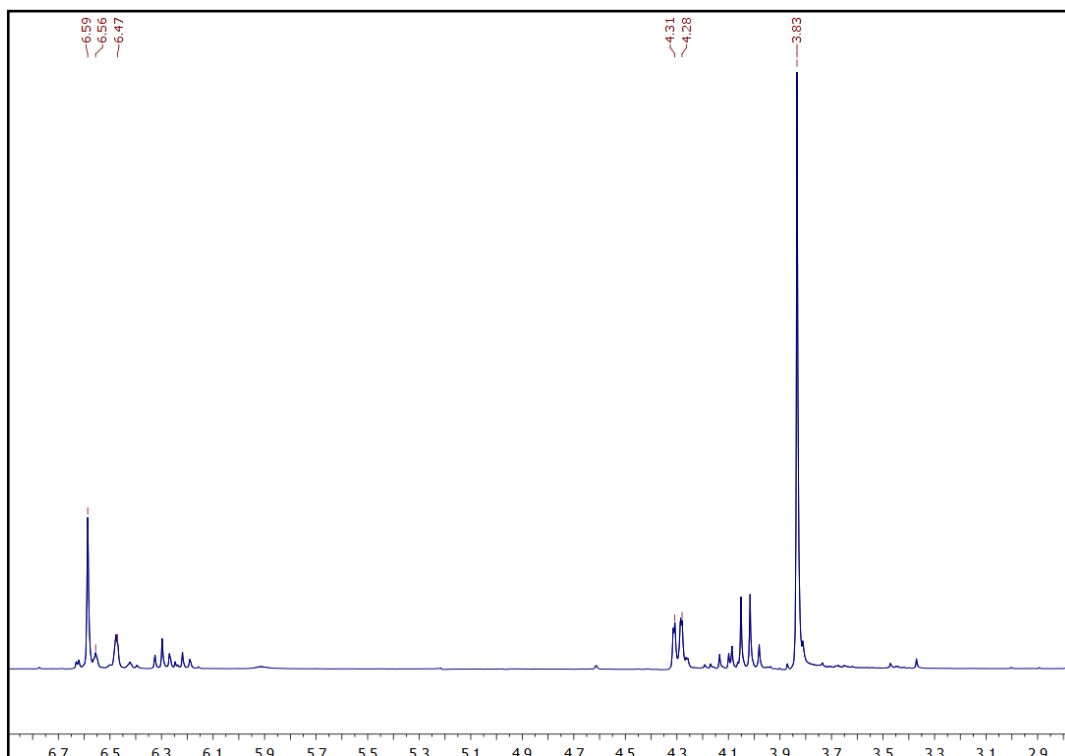


Figura 35. Expansão do espectro de ^1H -RMN do Álcool Sinapílico na região de 6,34 a 6,14 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).

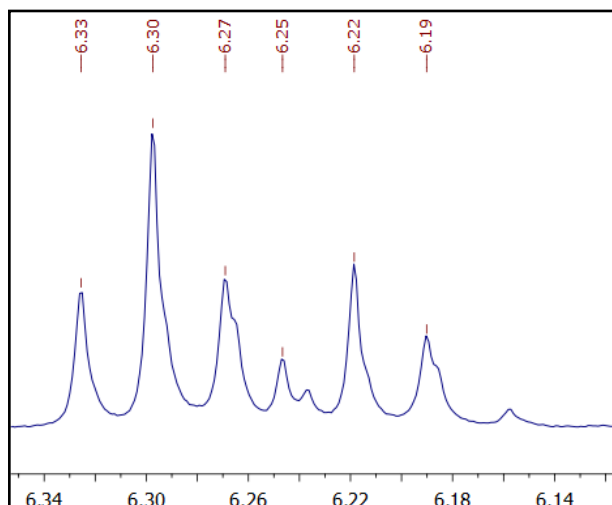
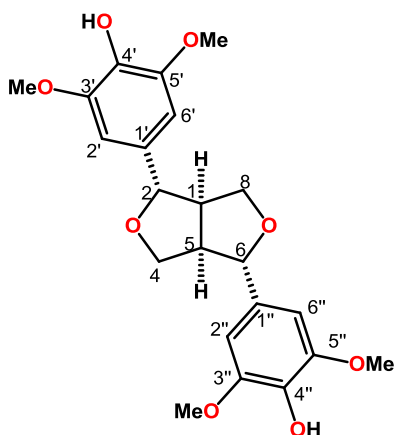


Tabela 4. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Seringaresinol



C	δ_{C}	δ_{H}
1	54,28	3,18-2,92 (2H, m)
2	86,09	4,70 (2H, d, J=4Hz)
4	71,75	4,26 (4H, dd, J=8,9;6,7Hz)
5	54,28	3,18- 2,92 (2H, m)
6	86,09	4,70 (2H, d, J=4Hz)
8	71,75	4,26 (4H, dd, J=8,9;6,7Hz)
1' e 1''	131,99	-
2' e 2''	102,55	6,56 (4H, s)
3' e 3''	147,08	-
4' e 4''	134,17	-
5' e 5''	147,08	-
6' e 6''	102,55	6,56 (4H,s)
OMe-3' e 3''/5' e 5''	56,29	3,87 (12H, s)

A comparação entre o espectro obtido e o dados da literatura (Deyama, 1983) confirmam a formação do Seringaresinol.

	Chem. Pharm. Bull, Vol. 31, No. 9, 2993-2997, 1983	Experimento LCSD#4
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1	53,8	54,28
2	85,3	86,09
4	71,1	71,75
5	53,8	54,28
6	85,3	86,09
8	71,1	71,75
1' e 1''	131,5	131,99
2' e 2''	103,9	102,55
3' e 3''	147,9	147,08
4' e 4''	135,0	134,17
5' e 5''	147,9	147,08
6' e 6''	103,9	102,55
OMe-	56,1	56,29
3'/3'' e 5'/5''		

Figura 36. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Seringaresinol (CDCl_3 , 50 Mhz).

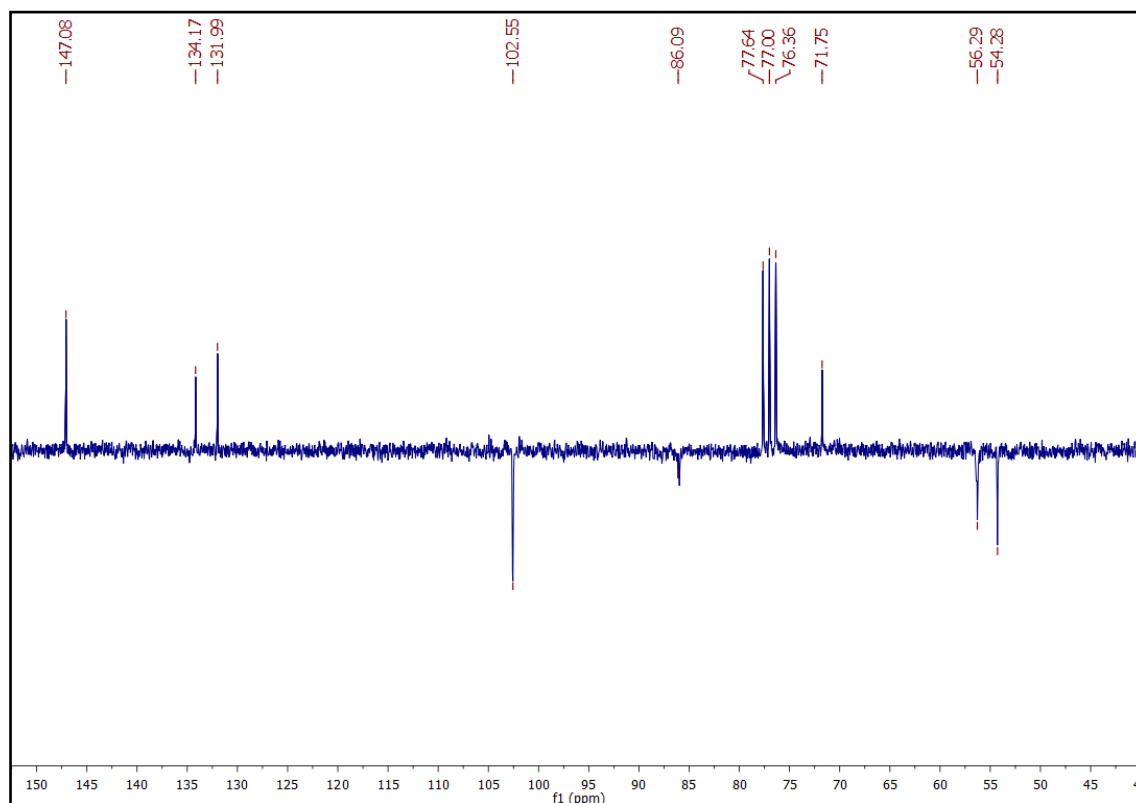


Figura 37. Espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol (CDCl_3 , 200 Mhz).

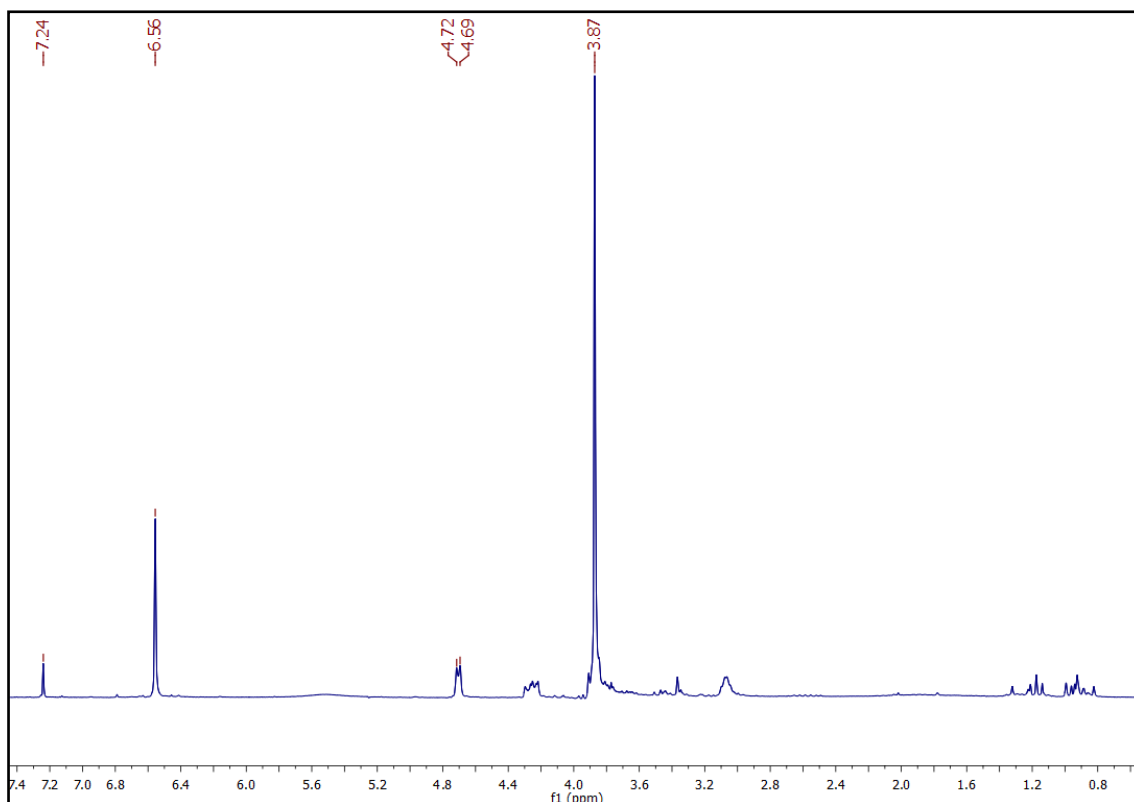


Figura 38. Expansão do espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol na região de 4,8 a 4,1 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).

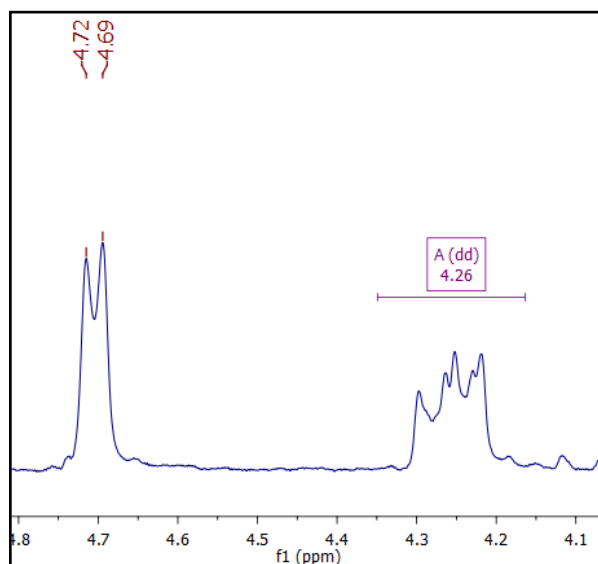


Figura 39. Expansão do espectro de ^1H -RMN do Seringaresinol na região de 3,45 a 2,95 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).

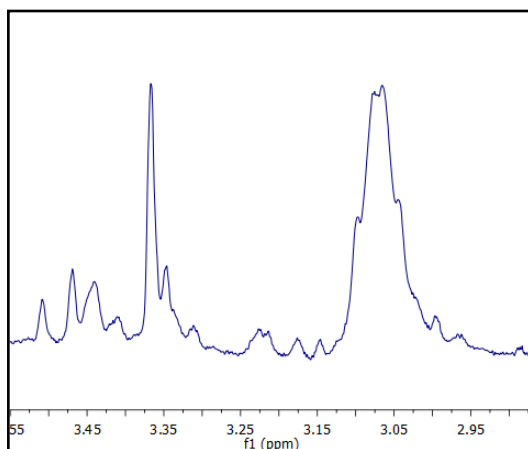
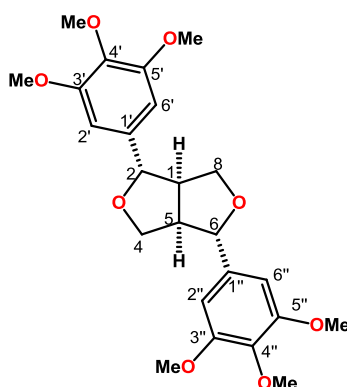


Tabela 5. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do langambina



C	δ_{C}	δ_{H}
1	54,30	4,26 (2H, m)
2	71,91	4,71 (2H, d, J=2,2Hz)
4	85,97	4,55 (4H, m)
5	54,30	4,26 (2H, m)
6	85,97	4,71 (2H, d, J=2,2Hz)
8	71,91	4,55 (4H, m)
1' e 1''	136,66	-
2' e 2''	102,73	6,54 (4H, s)
3' e 3''	153,36	-
4' e 4''	137,01	-
5' e 5''	153,36	-
6' e 6''	102,73	6,54 (4H, s)
OMe-3' e 3''/5' e 5''	56,17	3,34 (12H, s)
OMe-4' e 4''	60,99	

Comparando o espectro obtido com os dados da literatura (Mori, 2006a) é possível confirmar a formação da langambina.

	Synthesis, No. 3, 400-404, 2006	Experimento LCSD#5
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1	54,3	54,30
2	85,9	71,91
4	71,9	85,97
5	54,3	54,30
6	85,9	85,97
8	71,9	71,91
1' e 1''	136,7	136,66
2' e 2''	102,7	102,73
3' e 3''	153,4	153,36
4' e 4''	137,4	137,01
5' e 5''	153,4	153,36
6' e 6''	102,7	102,73
OMe-3'/3'' e 5'/5''	56,1	56,17
OMe- 4'/4''	60,8	60,99

Figura 40. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) da langambina (CDCl_3 , 50 Mhz).

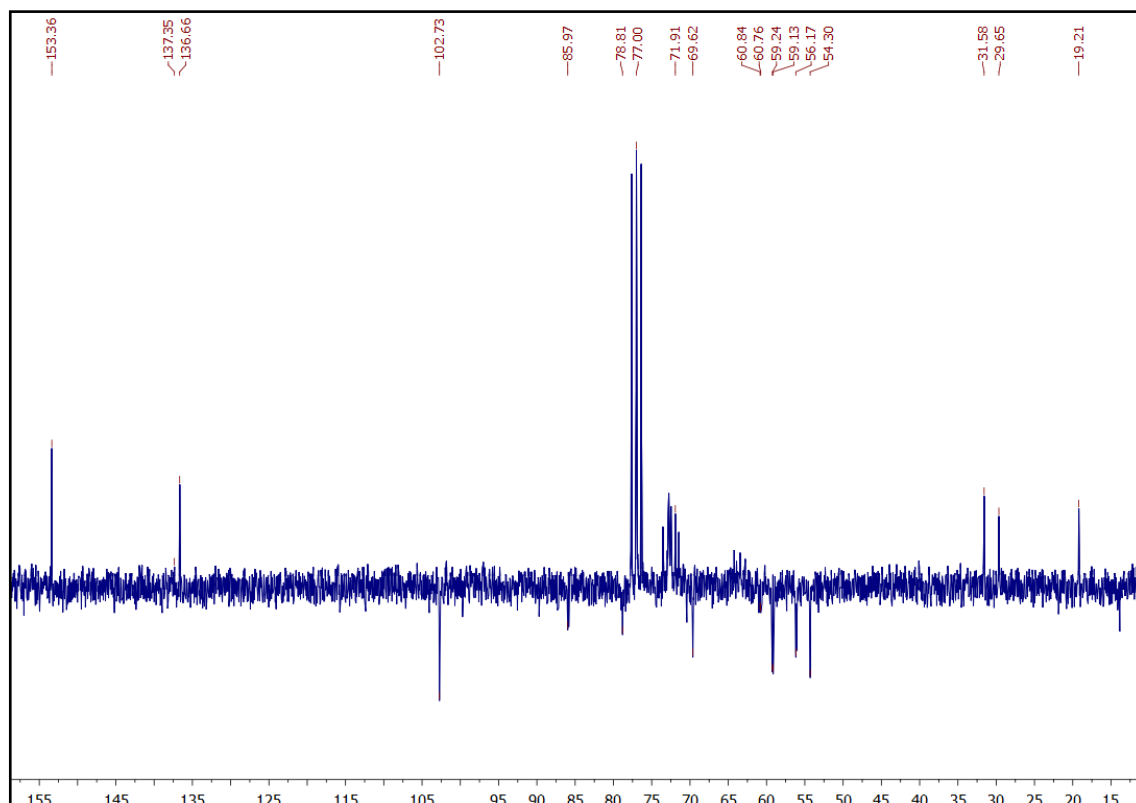


Figura 41. Espectro de ^1H -RMN da langambina (CDCl_3 , 200 Mhz).

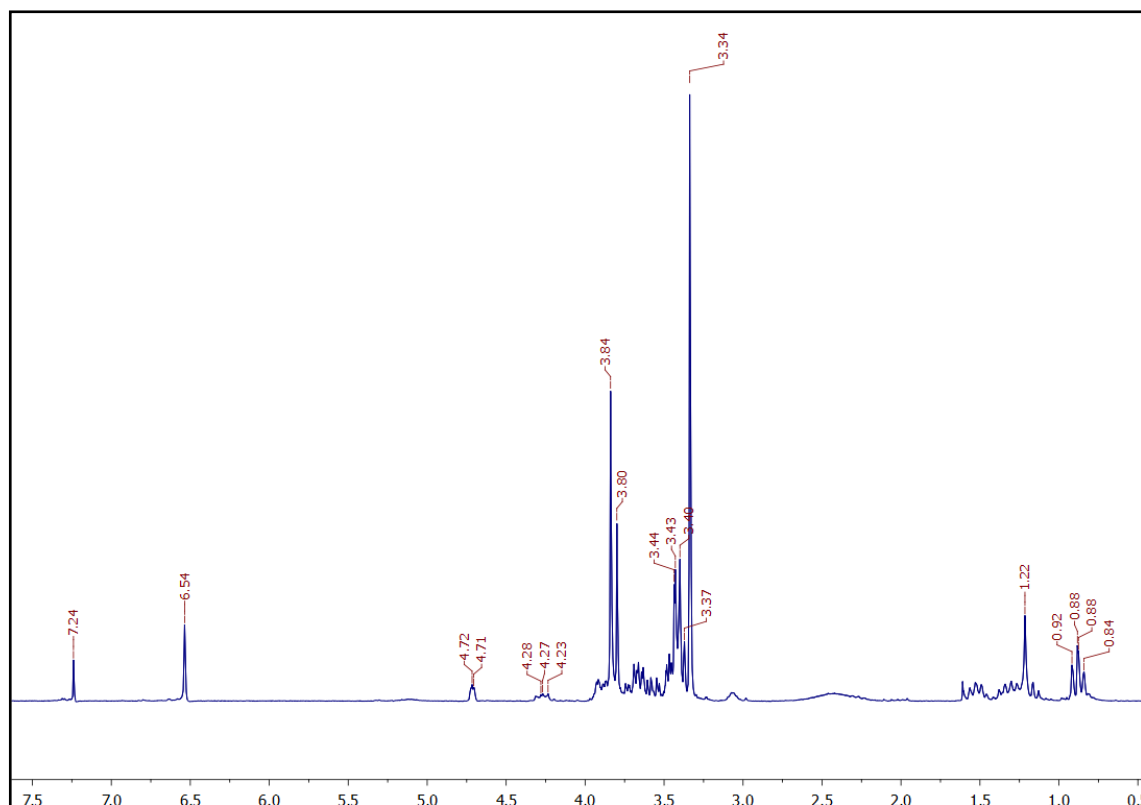
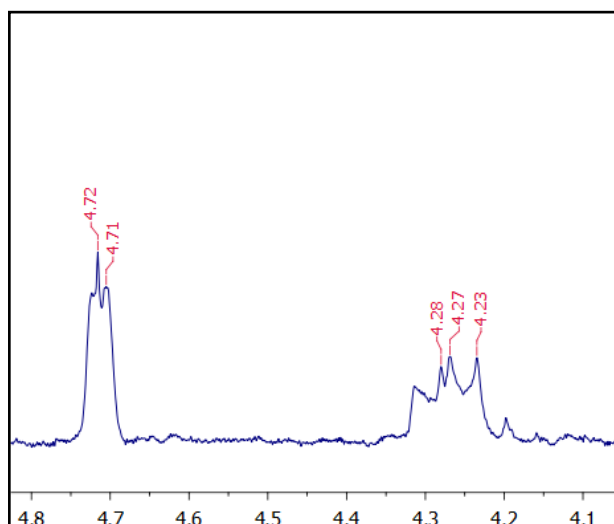


Figura 42. Expansão do espectro de ^1H -RMN da langambina na região de 4,8 a 4,1 ppm (CDCl_3 , 200 Mhz).



5.5 Síntese do Dehidrodieugenol monometil e dimetil éter

O dehidrodieugenol foi preparado de forma convencional utilizando o método de De Farias (1988), tendo o ferrocianeto de potássio como agente oxidante e uma mistura 1:1 de acetona e hidróxido de amônia 25% como solvente. Este procedimento comumente relatado na literatura oferece algumas variantes quanto à base utilizada, sendo mais comum o uso do hidróxido de potássio.

Também existem relatos em que se utiliza a peroxidase e o peróxido de hidrogênio (Bortolomeazzi *et al*, 2010), porém a enzima utilizada é custosa e os rendimento normalmente insatisfatórios, observando-se a formação de grande número de subprodutos que além de comprometer o rendimento, dificulta a posterior purificação.

Uma vez obtido o dímero do eugenol, foi realizada a etapa seguinte, onde ocorre a metilação. Para isso, foi utilizado um procedimento tradicional com iodeto de metila como agente metilante, o carbonato de potássio como base e o diclorometano como solvente.

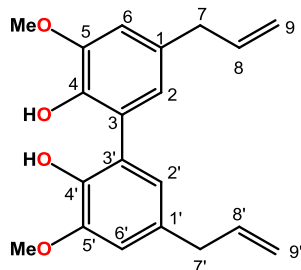
A utilização de dois equivalentes do iodeto de metila resultou, após 4h de reação, na metilação parcial do dehidrodieugenol, o que ofereceu a oportunidade de se obter o análogo monometil éter do dehidroeugenol sintético com um rendimento de 48%.

A metilação total só pode ser observada após 24 horas de reação com o iodeto de metila numa proporção maior que na reação anterior (5:1), onde foi possível a obtenção do análogo dimetil éter do dehidrodieugenol sintetizado (14% de rendimento).

Destarte, é visto que a primeira metilação ocorre de forma mais rápida, provavelmente facilitada pela ausência de impedimento estérico que passa a dificultar a entrada da segunda metila. Esta é uma possível explicação para a maior produção do composto monometilado.

5.5.1 Dados espectrais

Tabela 6. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol



C	δ_{C}	δ_{H}
1 e 1'	131,87	-
2 e 2'	123,04	6,74 (2H, s)
3 e 3'	124,35	-
4 e 4'	147,16	-
5 e 5'	140,82	-
6 e 6'	110,61	6,76 (2H, s)
7 e 7'	39,94	3,35 (4H, d, J=6,7Hz)
8 e 8'	136,66	5,97 (2H, ddt, J=16,7;10,0;6,7Hz)
9 e 9'	115,69	5,21-4,97 (4H, m)
OMe- 5/5'	56,07	3,90 (6H, s)

Comparando o espectro obtido com os dados da literatura (Dias, 1988) é possível confirmar a formação do Dehidrodieugenol.

Phytochemistry, Vol. 27, No. 9, 3008-3009, 1998		Experimento LCSD#6
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 20 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1 e 1'	131,82	131,87
2 e 2'	123,28	123,04
3 e 3'	124,75	124,35
4 e 4'	147,44	147,16
5 e 5'	141,23	140,82
6 e 6'	110,84	110,61
7 e 7'	40,02	39,94
8 e 8'	137,79	136,66
9 e 9'	115,59	115,69
OMe- 5/5'	56,02	56,07

Figura 43. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol (CDCl_3 , 50 MHz).

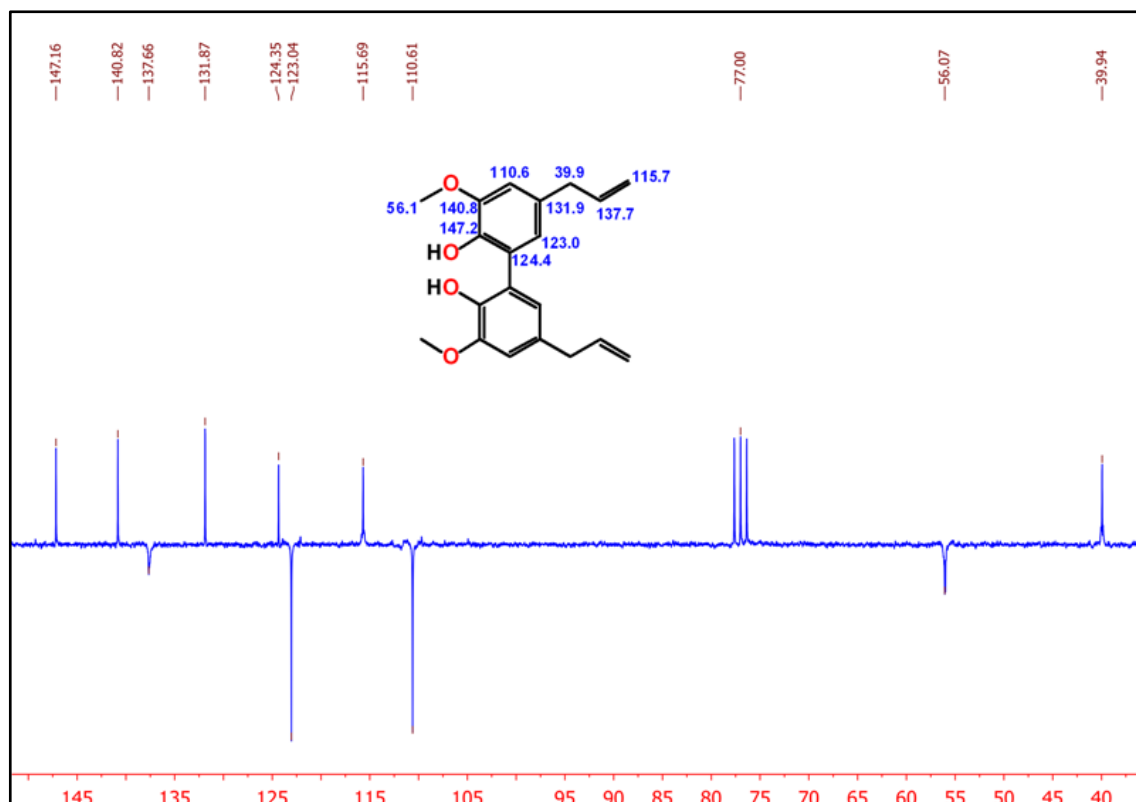


Figura 44. Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol (CDCl_3 , 200 MHz).

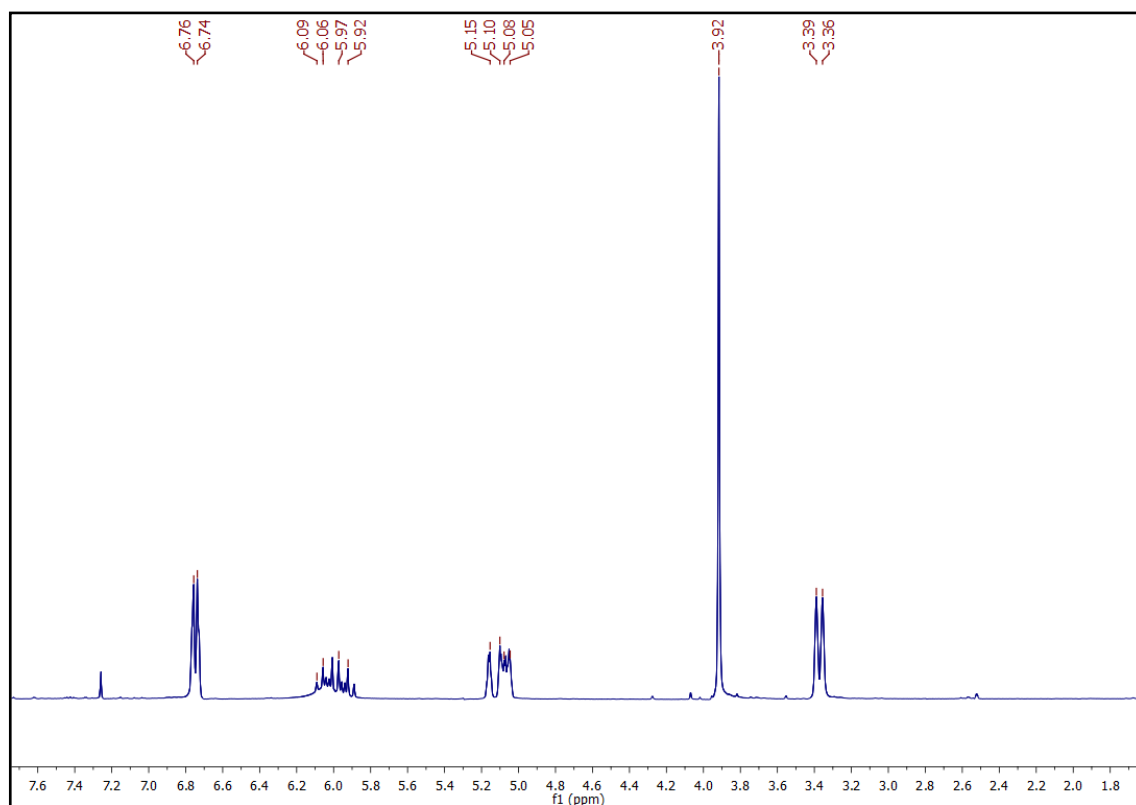
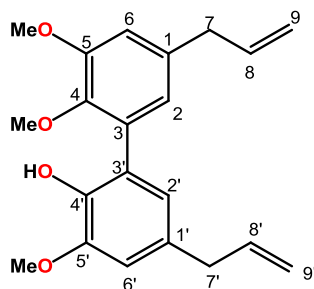


Tabela 7. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol monometil éter



C	δ_{C}	δ_{H}
1	131.5	-
2	152.5	6,75 (2H, s)
3	144.2	-
4	112.0	-
5	136.3	-
6	122.9	6,72 (2H, s)
7	40.1	3,34 (4H, d, J=6,8Hz)
8	137.7	5,96 (2H, ddt, J=17,0;10,0;6,8 Hz)
9	116.0	5,06 (4H, m)
1'	123.4	-
2'	147.9	6,75 (2H, s)
3'	141.4	-
4'	111.0	-
5'	132.0	-
6'	125.5	6,72 (2H, s)
7'	39.9	3,34 (4H, d, J=6,8Hz)
8'	137.2	5,96 (2H, ddt, J=17,0;10,0;6,8Hz)
9'	115.6	5,06 (4H, m)
OMe- 4	55.7	3,65 (3H, s)
OMe- 5	55.5	3,87 (3H, s)
OMe- 5'	60.8	3,88 (3H, s)

Realizando o comparativo do espectro obtido com os dados da literatura (Baek, 1992) é possível confirmar a formação do Dehidrodieugenol monometil éter.

	Planta Medica, Vol. 58, No. 6, 566-568, 1992	Experimento LCSD#7
C átomo	¹³C RMN (CDCl₃, 70 MHz)	¹³C RMN (CDCl₃, 50 MHz)
1	130.6	131.5
2	152.3	152.5
3	144.0	144.2
4	111.7	112.0
5	136.0	136.3
6	122.7	122.9
7	39.8	40.1
8	137.4	137.7
9	115.7	116.0
1'	123.1	123.4
2'	147.6	147.9
3'	141.2	141.4
4'	110.7	111.0
5'	131.8	132.0
6'	125.2	125.5
7'	39.6	39.9
8'	136.9	137.2
9'	115.3	115.6
OMe-4	55.7	55,7
OMe-5	55.5	55,5
OMe-5'	60.8	60,8

Figura 45. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol monometil éter (CDCl_3 , 50 MHz).

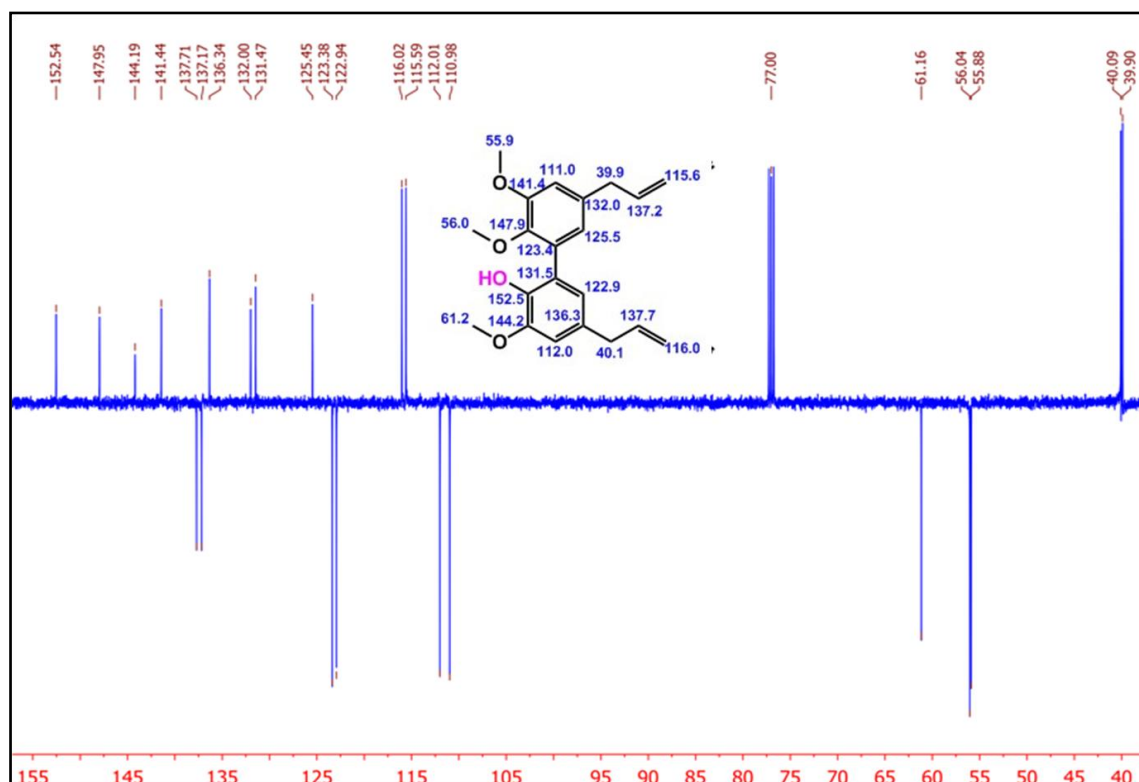


Figura 46. Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol monometil éter (CDCl_3 , 200 MHz).

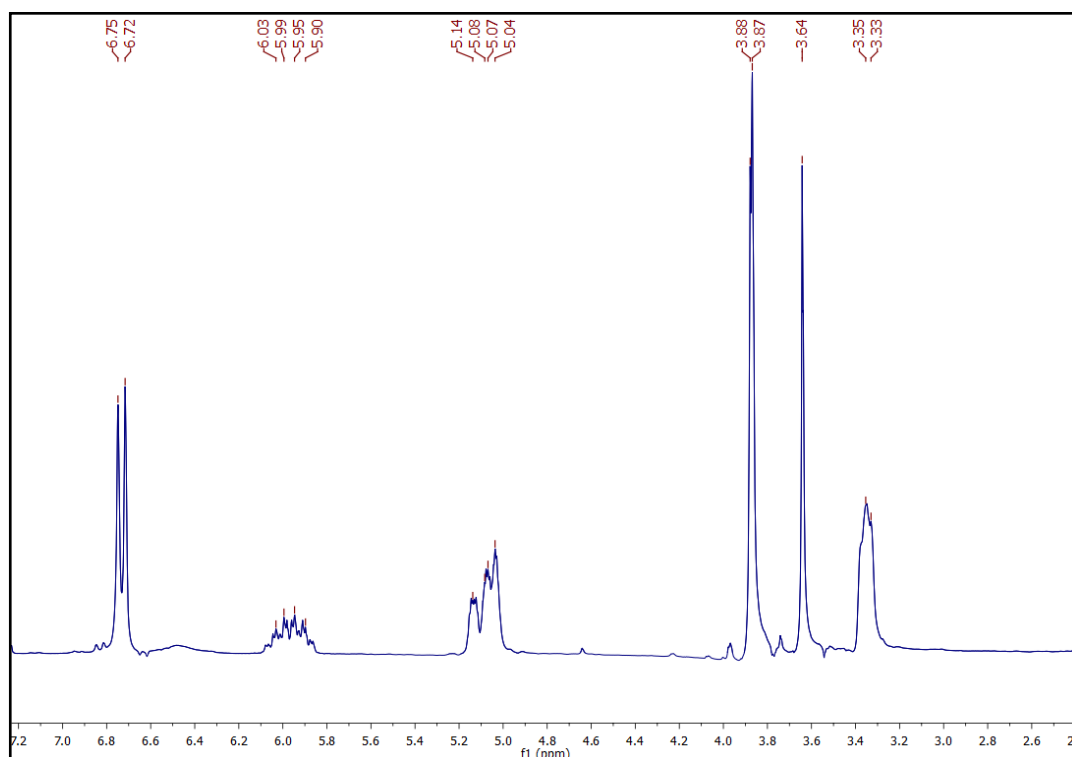
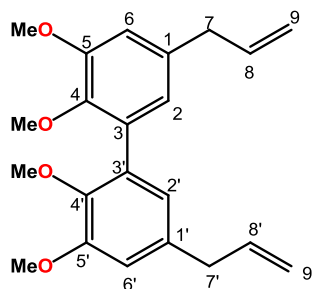


Tabela 8. Dados espectrais de ^1H e ^{13}C do Dehidrodieugenol dimetil éter



C	δ_{C}	δ_{H}
1 e 1'	135,00	-
2 e 2'	123,02	6,69 (2H, s)
3 e 3'	132,49	-
4 e 4'	152,39	-
5 e 5'	144,88	-
6 e 6'	111,75	6,69 (2H, s)
7 e 7'	39,94	3,30 (4H, d, J=6,7Hz)
8 e 8'	137,27	5,93 (2H, ddt, J=16,8;10,0;6,7Hz)
9 e 9'	115,79	5,01 (4H, m)
OMe- 4/4'	60,61	3,58 (6H, s)
OMe- 5/5'	55,67	3,83 (6H, s)

Realizando o comparativo do espectro obtido com os dados da literatura (Delogu, 2004) é possível confirmar a formação do Dehidrodieugenol dimetil éter.

Tetrahedron: Asymmetry, Vol. 15, Experimento LCSD#8 No. 2, 275-282, 2004		
C átomo	^{13}C RMN (CDCl_3 , 100.57 MHz)	^{13}C RMN (CDCl_3 , 50 MHz)
1 e 1'	135,32	135,00
2 e 2'	123,33	123,02
3 e 3'	132,85	132,49
4 e 4'	152,79	152,39
5 e 5'	145,27	144,88
6 e 6'	112,12	111,75
7 e 7'	40,27	39,94
8 e 8'	137,63	137,27
9 e 9'	116,10	115,79
OMe- 4/4'	60,88	60,61
OMe- 5/5'	56,03	55,67

Figura 47. Espectro de ^{13}C -RMN (APT) do Dehidrodieugenol dimetil éter (CDCl_3 , 50 MHz).

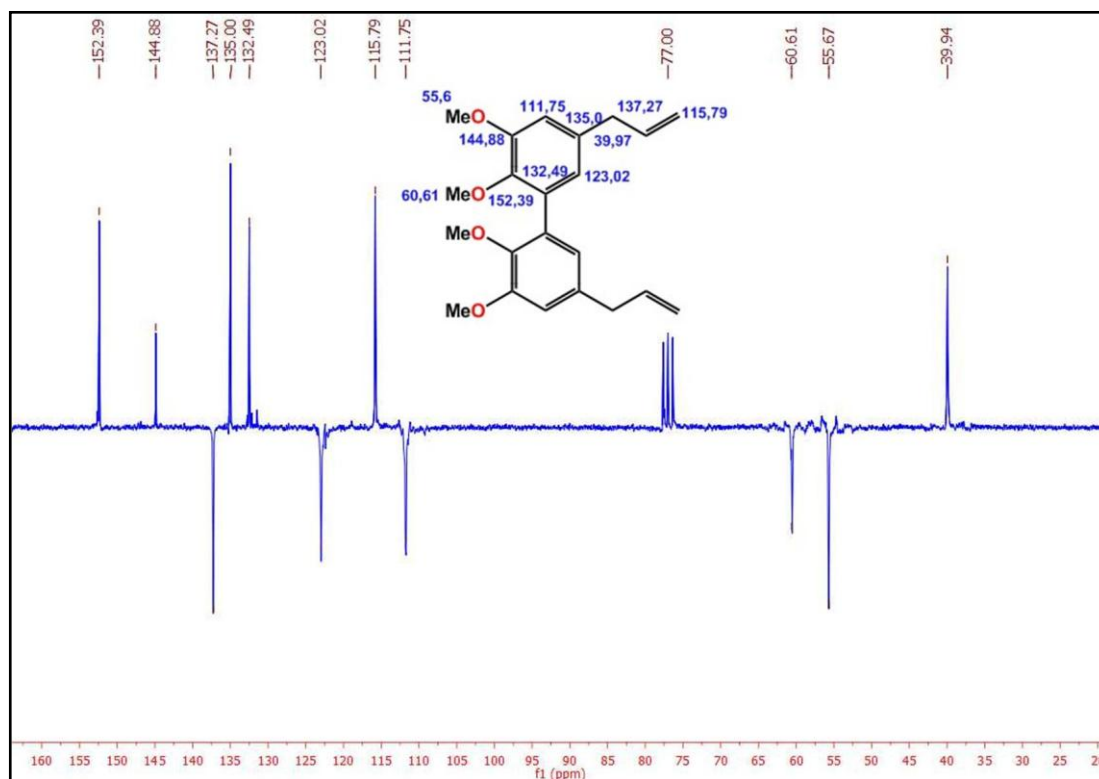
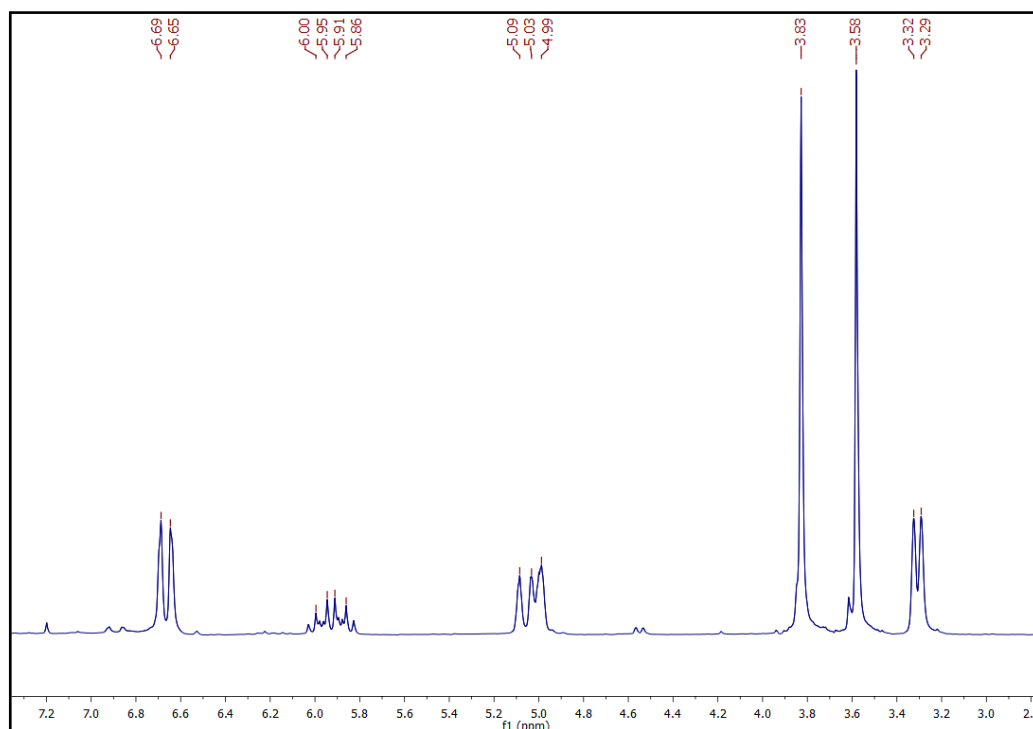


Figura 48. Espectro de ^1H -RMN do Dehidrodieugenol dimetil éter (CDCl_3 , 200 MHz).



ENSAIOS BIOLÓGICOS

6. ENSAIOS BIOLÓGICOS

6.1 Ensaios Biológicos com a (-)-Licarina A

Após a purificação, a (-)-Licarina A foi enviada para o laboratório da Profa Dra Márcia Rosa (UFPB) para a realização de ensaios biológicos, a fim de se descobrir novas atividades farmacológicas para esta substância. Foram verificadas atividades antileishmanicida, o que resultou em um trabalho publicado no artigo *Neolignan Licarin A presents effect against Leishmania (Leishmania) major associated with immunomodulation in vitro*, na revista *Experimental Parasitology* (Néris et al., 2013).

Por meio dos ensaios biológicos foi verificado que a (-)-Licarina A apresenta atividade antipromastigota associada com a fragmentação do DNA. As drogas normalmente utilizadas para o tratamento de leishmaniose, tais como o antimônio pentavalente e a anfotericina B, são medicamentos que apresentam alta toxicidade (Balana-Fouce et al., 1998 Croft et al., 2006), o que requer, em muitos casos a internação do paciente e o que torna este tratamento muito dispendioso. Desta forma, pesquisas que visem à obtenção de tratamentos alternativos para estas doenças são importantes.

Por meio deste estudo foi verificado que a (-)-Licarina A apresenta atividade *in vitro* contra a *Leishmania major* (*L. major*). Os resultados demonstraram que esta neolignana é mais ativa que a drogas de referência, antimoniato de meglumina (Sb^V). No entanto, foi observado que a anfotericina B foi mais eficaz do que a licarina contra formas promastigotas da *L. major* (Figura 50).

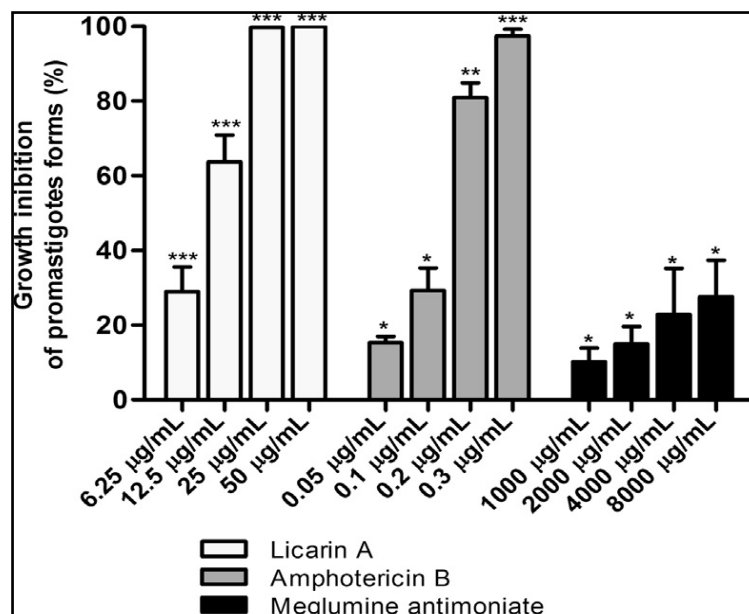


Figura 49. Inibição de crescimento de formas promastigotas na presença de diferentes concentrações de (-)-Licarina A, meglumina e anfotericina B.

Mas, apesar deste antifúngico ser usado como droga no tratamento contra a leishmaniose, anfotericina B tem sido referido como o altamente tóxico, com graves efeitos colaterais associados, tais como nefrotoxicidade (Balana - Fouce *et al.*, 1998).

A fragmentação de DNA é uma das características típicas de células apoptóticas que ocorre tanto nos metazoários (Stewart ,1994), bem como em organismos unicelulares (Das *et al.*, 2001; Ardestani *et al.*, 2012), em resposta a um estímulo indutor. A fim de investigar os mecanismos associados à atividade antipromastigote da (-)-Licarina A, foi analisado se esta neolignana poderia induzir a morte celular por apoptose.

Os resultados obtidos por meio deste estudo, demonstram a (-)-Licarina A induz a fragmentação do DNA genômico em escala semelhante ao observado após o tratamento com peróxido de hidrogênio (4 mM) utilizado como controle positivo.

Ensaio de citotoxicidade e seletividade também foram realizados com a licarina A, pois uma das limitações dos fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose é o problema da toxicidade elevada (Balana - Fouce *et al.*, 1998; Croft *et al.*, 2006). Por meio desses ensaios foi observado que a licarina foi aproximadamente 32 vezes mais tóxico para as células promastigotas da leishmania do que para os macrófagos de ratos utilizados no estudo (Figura 50).

Os resultados demonstraram um elevado índice de seletividade, além de evidenciar que a neolignana é mais eficaz no tratamento dos macrófagos infectados com leishmania do que o Sb^v (Figura 50), uma das drogas de referência para o tratamento da leishmaniose (Balana - Fouce *et al.*, 1998; Croft *et al.*, 2006) .

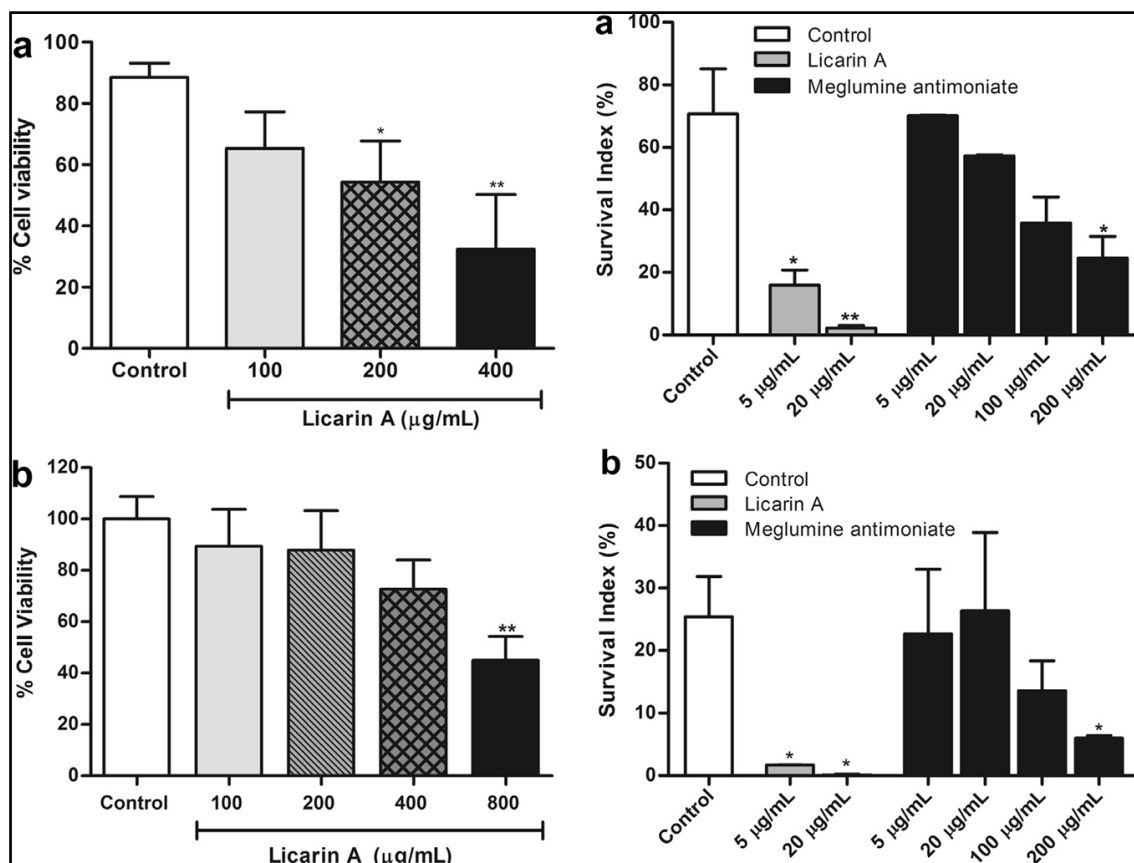


Figura 50. Citotoxicidade (-)-Licarin A em macrófagos peritoneais de ratos. Índice de sobrevivência de macrófagos infectados com leishmania.

Vale ressaltar que a viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de exclusão de azul de tripano (a) e pelo método de redução de MTT (b); e no índice de sobrevivência de macrófagos infectados, tratou-se as células com licarina A ou antimoniato de meglumina por 24h (a) e 72 h (b).

Após ensaios para avaliar uma possível atividade imunomoduladora da licarina A em macrófagos infectados, os níveis de TNF- α , IL-6, IL-10 e NO foram medidos no sobrenadante de macrófagos infectados (Figura 51). Observou-se que o tratamento com o neolignana não alteram a produção de TNF- α (Figura 51a). No entanto, a produção IL-6 (Figura 51b) e IL-10 (Figura 51c) foram reduzidas após

tratamento com 20 µg/mL de licarin A. Quanto aos níveis de NO não foram afetados após diferentes tratamentos com licarin A (Figura 51d).

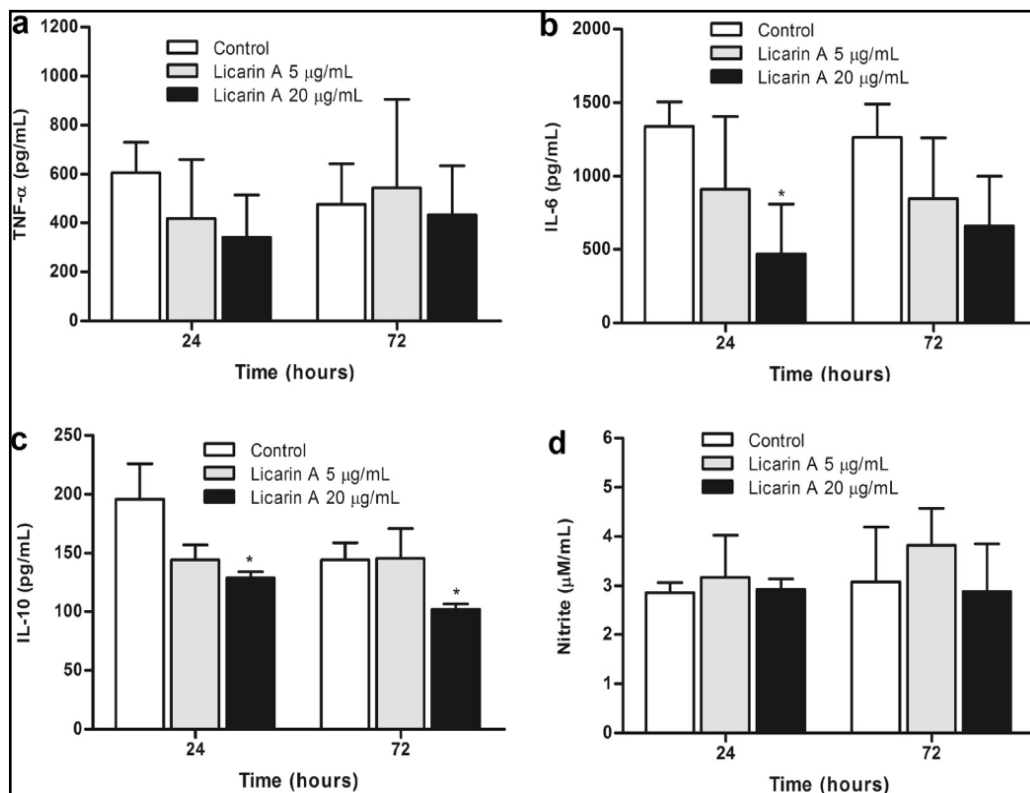


Figura 51. Efeito da (-)-Licarin A em TNF-α (a), IL-6 (b), IL-10 (c) e NO (d).

A contenção da infecção observada em macrófagos infectados com *L. major*, após o tratamento com (-)-Licarin A, pode ser associado a esta atividade imunomoduladora, já que diminuiu os níveis de IL-6 e IL-10. Pode, também, ser o fator que permite a ativação de macrófagos por TNF-α, embora níveis do TNF-α não serem alterados de forma significativa após o tratamento com esta neolignana. Além disso, a atividade observada foi anti-amastigota independente da produção de NO (Néris *et al.*, 2013).

Destarte, este estudo revela que a licarina A apresenta atividade anti-leishmanicida contra as principais formas promastigotas associadas a parasitas, por fragmentação de DNA, sugerindo um mecanismo de morte celular programada, e em formas amastigotas, por modulação de citocinas produzidas pelos macrófagos do hospedeiro.

Considerando a viabilidade juntamente com o elevado rendimento da licarina, a síntese deste composto é, assim, considerada promissora para o desenvolvimento de um novo agente leishmanicida.

6.2 Ensaios biológicos com o Dehidrodieugenol

Após a purificação e a comprovação da estrutura do dehidrodieugenol e seus derivados monometil e dimetil éter, os mesmos foram enviados para o laboratório da Profa Dra Márcia Rosa (UFPB) para a realização de ensaios biológicos *in vitro*, com a finalidade de encontrar novas atividades farmacológicas para estas substância.

Por meio desses ensaios foram verificadas atividades antileishmanicida do dehidrodieugenol e os seus derivados em espécies de *Leishmania amazonensis* (*L. amazonensis*).

As substâncias em estudo mostraram atividade antipromastigota pela inibição do crescimento do parasita em todas as concentrações testadas (Figura 52), resultando em valores de IC₅₀ de 42.2, 13.68 e 47.75 µg/mL, para o dehidrodieugenol, dehidrodieugenol monometil e dimetil éter respectivamente.

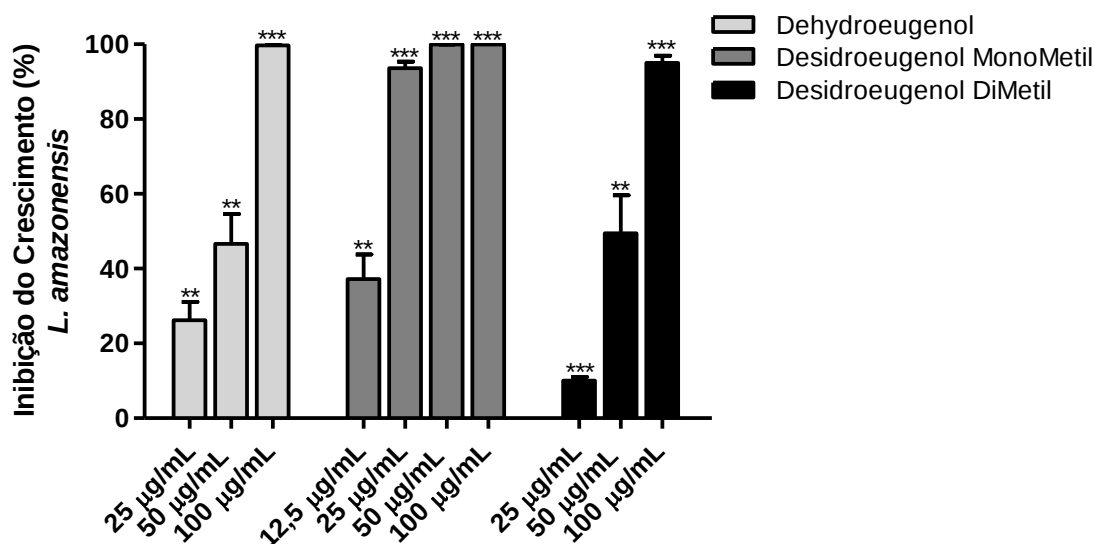


Figura 52. Inibição do crescimento de formas promastigotas *L. amazonensis* na presença do dehidrodieugenol e de seus derivados mono e éter dimetílico.

A metilação total do dehidrodieugenol não interfere em sua atividade leishmanicida, no entanto, a metilação mono desta molécula resultou num aumento significativo da sua atividade antiparasitária.

Esta atividade do dehidrodieugenol é pouco conhecida na literatura. Entretanto, há relatos de dehidrodieugenol isolado da natureza apresentando atividade antipromastigota contra *L. major*, com o valor de IC₅₀ de 13,6 µg/mL (Suzuki, 2009), *L. amazonensis* com IC₅₀ 148,0 µg/ml (Morais, 2009) e *L. braziliensis* com IC₅₀ 150,0 µg/ml (Morais, 2009). Os resultados obtidos neste estudo confirmam a atividade leishmanicida do dehidrodieugenol e revelam que os seus mono e dimetil éter de derivados também exibem esta atividade antiparasitária.

Os valores de IC₅₀ apresentados pelo dehidrodieugenol e de seus derivados mono e éter dimetílico, demonstraram que estes compostos são mais ativos contra promastigotas de *L. amazonensis*, quando comparado com antimoniato de meglumina (Sb^V) (IC₅₀ > 4,0 µg/mL), no entanto, são menos eficazes do que a anfotericina B (IC₅₀ de 0,13 µg/mL) (Tabela 9).

Tabela 9. Sensibilidade das formas promastigotas de *L. amazonensis* para dehidrodieugenol e seus derivados mono e éter dimetílico, antimoniato de meglumina e anfotericina B.

Substâncias	<i>Leishmania amazonensis</i> µg/mL (IC ₅₀)
Dehidrodieugenol	42.20
Dehidrodieugenol monomethyl éter	13.68
Dehidrodieugenol dimetil éter	47.75
Antimoniato de meglumina	> 4.00
Anfotericina B	0.13

É relatado na literatura que Sb^V têm menor atividade contra formas promastigotas de *Leishmania* em comparação com formas amastigotas (Vermeersch, 2009). Além disso, é sabido que apesar da anfotericina B ser usada como uma segunda opção de droga para o tratamento da leishmaniose, este fármaco tem

elevada toxicidade capaz de induzir efeitos secundários graves como nefrotoxicidade (Suzuki, 2009; Moraes, 2009).

Deste modo, fica claro a importância de maiores estudos farmacológicos relacionados ao dehidrodieugenol e seus derivados, uma vez que os mesmos apresentam atividade antileishmanicida contra as principais formas promastigotas associadas a estes parasitas, de forma mais eficiente que as drogas de referências.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da proposta de rota sintética para o acoplamento oxidativo biocatalizado de *p*-(OH)-fenilpropanóides, segundo a patente PI 1101946-8 que trata do “Processo oxidativo biocatalisado utilizando água de coco de *Cocos nucifera* como meio reacional e fonte de peroxidase”, foi desenvolvida a síntese estereosseletiva da Licarina A, do Seringaresinol e da Dihidrocarinatina, sendo este último de síntese inédita.

Na síntese do Conocarpan foram desenvolvidas duas rotas sintéticas para a obtenção do Isochavicol, por meio da reação de Wittig e através da desproteção do Anetol. No entanto, devido à instabilidade desse álcool, não foi possível a obtenção, de forma majoritária, do produto em interesse.

Por meio da metilação do Seringaresinol, utilizando o iodeto de metila e carbonato de potássio, foi desenvolvida a síntese da langambina, substância de grande importância farmacológica.

A síntese do Dehidrodieugenol foi obtida pelo acoplamento oxidativo do eugenol, através de uma reação simples com o ferrocianeto de potássio e o hidróxido de amônia. Após a síntese do dímero do eugenol, foram realizadas metilações para a obtenção de seus derivados.

A síntese do Dehidrodieugenol monometil éter é inédita, sendo esta forma dimérica obtida em maior quantidade em relação ao Dehidrodieugenol dimetil éter. Além disso, o Dehidrodieugenol monometilado apresentou uma eficiência maior em sua atividade antileishmanicida em relação ao éter dimetílico, comprovando sua importância farmacológica.

Por meio de ensaios biológicos, foi verificada atividade antileishmanicida da Licarina contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania major*, e do Dehidrodieugenol e seus derivados metilados contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. A atividade das substâncias sintetizadas foi mais eficiente que as drogas utilizadas como referência.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ABE, F.; NAGAFUJI, S.; YAMAUCHI, T.; OKABE, H.; MAKI, J.; HIGO, H.; AKAHANE, H.; AGUILAR, A.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; REYES-CHILPA, R. Trypanocidal Constituents in Plants 1. Evaluation of Some Mexican Plants for Their Trypanocidal Activity and Active Constituents in Guaco, Roots of *Aristolochia taliscana*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, n. 9, p. 1188-1191, 2002.

ARDESTANI, S. K.; POORRAJAB, F.; RAZMI, S.; FOROUMADI, A.; AJDARY, S.; GHAREGOZIOU, B.; BEHROUZI-FARDMOGHADAM, M.; SHAFIEE, A. Cell death features induced in Leishmania major by 1,3,4-thiadiazole derivatives. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 116–122, 2012.

ARELLANES, M. A. J.; CORTES, N. R. R.; GARCIA, I. Antioxidant and antimicrobial activities of hexane extracts and pure compounds from *Aristolochia taliscana* rhizome. **Revista Mexicana de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 35-41, 2011.

BAEK, N. I.; KIM, H.; LEE, Y. H.; PARK, J. D.; KANG, K. S.; KIM, S. I. A new dehydrodieugenol from *Magnolia officinalis*. **Planta Medica**, v. 58, p. 566-568, 1992.

BALANA-FOUCE, R.; REGUERA, R.M.; CUBRÍA, J.C.; ORDÓÑEZ, D. The pharmacology of leishmaniasis. **General Pharmacology**, v. 30, p. 435–443, 1998.

BARATA, L. E.S.; SANTOS, L. S.; FERRI, P. H.; PHILLIPSON, J. D.; PAINE, A.; CROFT, S. L. Antileishmanial activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. **Phytochemistry**, v. 55, p. 589–595, 2000.

BARBOSA FILHO, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Lignoids from *Nectandra amazonum* and *N. glabrescens*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 7, p. 1991, 1989.

BARBOSA FILHO, J. M. LIGNANAS, NEOLIGNANAS E SEUS ANÁLOGOS. IN SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.;

PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed da UFRGS/ Ed da UFSC, 5ª Ed, p. 557-573, 2004

BARREIRO, ELIEZER J. A Importância da Síntese de Fármacos na Produção de Medicamentos. **Química Nova**, 14, 179-189, 1991.

BARROS, L. F. L.; EHRENFRIED, C. A.; RIVA, D.; BARISON, A.; DE MELLO-SILVA, R.; STEFANELLO, M. E. A. Essential oil and other constituents from *Magnolia ovata* fruit. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 1365-1367, 2012.

BASTOS, J. K.; BURANDT, C.L.; NANAYAKKARA, N. P. D.; BRYANT, L.; MCCHESENEY, J. D. Quantification of aryltetralin lignans in plant parts and among different populations of *Podophyllum peltatum* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal Natural Products**, v. 59, n. 4, p. 406–408, 1996.

BERNARD, C. B.; KRISHNAMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGENE, B. J. R.; SANCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMAN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of *Piperaceae* from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 801–814, 1995.

BIRCH, A. J. BIOSYNTHETIC PARTHWAYS. In: SWAIN, T. **Chemical plant taxonomy**. London: Academic, p. 143, 1963.

BORTOLOMEAZZI, R.; VERARDO, G.; LIESSI, A.; CALLEA, A. Formation of dehydrodiisoeugenol and dehydrodieugenol from the reaction of isoeugenol and eugenol with DPPH radical and their role in the radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 118, p. 256–265, 2010.

CABRAL, M. M. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, G. L. A.; CHAVES, M. C. O.; BRAGA, M. V.; DE SOUZA, W.; SOARES, R. O. A. Neolignans from plants in northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 319-324, 2010.

CAMPOS, M. P.; FILHO, V. C.; DA SILVA, R. Z.; YUNES, R. A.; ZACCHINO, S.; JUAREZ, S.; BELLA CRUZ, R. C.; BELLA CRUZ, A. Evaluation of antifungal activity of *Piper solmsianum* C. DC. var. *solmsianum* (Piperaceae). **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, p. 1527–1530, 2005.

CARINI, M.; ALDINI, G.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Antioxidant and photoprotective activity of a lipophilic extract containing neolignans from *Krameria triandra* roots. **Planta Medica**, n 68, p 193–197, 2002.

CHAURET, D. C.; BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; DURST, T. Insecticidal neolignans from *Piper decurrens*. **Journal Natural Products**, n 59, p 152–155, 1996.

CHO, S.Y.; LEE, J. H.; BAE, K. H.; KIM, Y. S.; JEONG, C. S. Anti-gastritic effects of magnolol and honokiol from the stem bark of *Magnolia obovata*. **Biomolecules Therapeutics**, v. 16, p. 270-276, 2008.

CLIVE, D. L. J.; STOFFMAN, E. J. L. Synthesis of (-)-conocarpan by two routes based on radical cyclization and establishment of its absolute configuration. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 6, p. 1831-1842, 2008.

CONTI, R.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S. Biocatálise: Avanços Recentes. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 672, 2001.

COSGE, B.; KIRALAN, M.; GÜRBÜZ, B. Characteristics of fatty acids and essential oil from sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce*) and bitter fennel fruits (*F. vulgare* Mill. var. *vulgare*) growing in Turkey. **Natural Product Research**, v. 22, n. 12, p. 1011-1016, 2008.

COSTA, J. A.; OLIVEIRA, R. A. G.; BARBOSA, J. M.; SOUZA BRITO, A. R. M. Synthesis and pharmacological activity of a eugenol derivative. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 75, p. 40-45, 1994.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 111–126, 2006.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. *In* **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**; BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R., eds.; American Society of Plant Physiologists: Califórnia, cap. 24, 2009.

DAS, M.; MUKHERJEE, S. B.; SHAHA, C. Hydrogen peroxide induces apoptosis like death in *Leishmania donovani* promastigotes. **Journal of Cell Science**, v. 114, p. 2461–2469, 2001.

DAVIN, L. B.; WANG, Huai-Bin.; CROWELL, A. L.; BEGDAR, D. L.; MARTIN, D. M. SARKANEN, S.; LEWIS, N. G. Stereoselective Bimolecular Phenoxy Radical Coupling by an Auxiliary (Dirigent) Protein Without an Active Center. **Science**, v. 275, p. 362, 1997.

DELMAS, M.; GASET, A. Reaction de Wittig em Milieu Heterogene Solide-Liquide: Transformation Directe des Aldehydes Phenoliques Naturels en Alcenes. **Tetrahadron Letters**, v. 24, n. 2, p. 193-196, 1983.

DELOGU, G.; FABBRI, D.; DETTORI, M. A.; FORNI, A.; CASALONE, G. Enantiopure 2,2'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy-5,5'-diallyl-6,6'-dibromo-1,1'-biphenyl: a conformationally stable C₂-dimer of a eugenol derivative. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 15, p. 275-282, 2004.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products**: A biosynthetic approach. 3 ed. Chichester: Jhon Wiley & Sons, 2009.

DEYAMA, T. The Constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv.l. Isolation of (+)-Medioresinol Di-O- β -D-glucopyranoside. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 9, p. 2993-2997, 1983.

DIAS, A. F. An Improved High Yield Synthesis of Dehydrodieugenol. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 3008-3009, 1988.

DIAS, F. R. F.; FERREIRA, V. F.; CUNHA, A. C. Uma Visão Geral dos Diferentes Tipos de Catálise em Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 853-854. 2012.

DIAZ, A. M. P.; GOTTLIEB, H. E.; GOTTLIEB, O. R. The chemistry of brazilian Lauraceae. Dehydrodieugenols from *Ocotea cymbarum*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 681-682, 1980.

DUKE, J. A. Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and Other Economic Plants. **CRC Press, Boca Raton, FL**, 1992.

FARIA-NETO, H. C.; TIBIRICA, E. V.; BARBOSA-FILHO, J. M.; THOMAS, G.; CORDEIRO, R. S. B. Yangambin, a new naturally-occurring platelet activating factor receptor antagonist: binding and *In vitro* studies. **Planta Medica**, v. 61, p. 101-105, 1995.

FARIAS, A. An improved high yield synthesis of dehydrodieugenol. **Phytochemistry**, v. 27, p. 3008–3009, 1988.

FENG, J. P.; WANG, X. L.; CAO, X. P. The First Total Synthesis of the (±)-Palstatin. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 24, p. 215-218, 2006.

FREIXA, B.; VILA, R.; FERRO, E. A.; ADZET, T.; CANIGUERAL, S. Antifungal principles from *Piper fulvescens*. **Planta Medica**, n 67, p 873–875, 2001.

FUJISAWA, S.; ISHIHARA, M.; YOKOE, I. Computer – Aided synthesis of dimerized eugenol. **Internet Electron Journal of Molecular Design**, v. 3, p. 241–246, 2004.

GOTTLIEB, O. R.; YOSHIDA, M. Lignóides com atenção especial a química das neolignananas. **Química Nova**, v. 7, n. 4, p. 250-269, 1984.

HENRIKSEN, A.; SMITH, A. T.; GAJHEDE, M. The Structures of the Horseradish Peroxidase C-Ferulic Acid Complex and the Ternary Complex with Cyanide Suggest how Peroxidases Oxidize Small Phenolic Substrates. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 35005, 1999.

HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, L.; OLIVERA-FLORES, M. T. J.; RUIZ-TERAN, F.; AYALA, I.; NAVARRO-OCANA, A. Screening of plant cell cultures for their capacity to dimerize eugenol and isoeugenol: Preparation of dehydrodieugenol. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 72, p. 102-106, 2011.

HO, K. Y.; TSAI, C. C.; CHEN, C. P.; HUANG, J. S.; LIN, C. C. Antimicrobial activity of honokiol and magnolol isolated from *Magnolia officinalis*. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 139-141, 2001.

IKEDA, K.; NAGASE, H. Magnolol has the ability to induce apoptosis in tumor cells. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, n. 25, p. 1546-1549, 2002.

JADA, S.; REDDY, D. M.; SINGH, P. P.; KUMAR, S.; MALIK, F.; SHARMA, A.; KHAN, I. A.; QAZI, G. N.; KUMAR, H. M. S. Design and synthesis of novel magnolol derivatives as potential antimicrobial and antiproliferative compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 35-41, 2012.

JAGANATHAN, S. K; SUPRIYANTO, E. Antiproliferative and molecular mechanism of eugenol-induced apoptosis in cancer cells. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6290-6304, 2012.

JUNG, J.-C.; KIM, J.-C.; MOON, H.-I.; PARK, O.-S. Stereoselective total synthesis of furofuran lignans through dianion aldol condensation. **Tetrahedron Letters**, v. 47, n. 36, p. 6433-6437, 2006.

KAWANISHI, K.; UHARA, Y.; HASHIMOTO, Y. The neolignans, carinatidin, dihydrocarinatidin, carinatidiol and dehydrodieugenol B from *Viola carinata*. **Phytochemistry**, v. 22, n 10, p. 2277–2280, 1983.

KIM, J.-C.; KIM, K.-H.; JUNG, J.-C.; PARK, O.-S. An efficient asymmetric synthesis of furofuran lignans: (+)-sesamin and (-)-sesamin. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 17, n. 1, p. 3-6, 2006.

KRAWCZYK, A.R.; LIPKOWSKA, E.; WRÓBEL, J.T. Horseradish peroxidase-mediated preparation of dimers from eugenol and isoeugenol. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v. 56, p. 1147-1150, 1991.

LEAL, S. S. **Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para Quantificação de Iangambina e seu Epímero em Extratos de Ocotea Duckei (Lauraceae)**. 2012. 180 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

LEE, S. U.; SHIM, K. S.; RYU, S. Y.; MIN, Y. K.; KIM, S. H. Machilin A isolated from *Myristica fragrans* stimulates osteoblast differentiation. **Planta Medica**, v. 75, p. 152-7, 2009.

LEÓN-DÍAZ, R.; MECKES, M.; SAID-FERNÁNDEZ, S.; MOLINA-SALINAS, G. M.; VARGAS-VILLARREAL, J.; TORRES, J.; LUNA-HERRERA, J.; JIMÉNEZ-ARELLANES, M. A. Antimycobacterial neolignans isolated from *Aristolochia taliscana*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 45-51, 2010.

LEÓN-DÍAZ, R.; MECKES, M.; VALDOVINOS-MARTÍNEZ, L.; CAMPOS, M. G.; HERNÁNDEZ-PANDO, R.; JIMÉNEZ-ARELLANES, M. A. Antitubercular Activity and the Subacute Toxicity of (-)-Licarin A in BALB/c Mice: A Neolignan Isolated from *Aristolochia taliscana*. **Archives of Medical Research**, v. 44, p. 99-104, 2013.

LIN, S. Y.; CHANG, Y. T.; LIU, J. D.; YU, C. H.; HO, Y. S.; LEE, Y. H.; LEE, W. S. Molecular mechanisms of apoptosis induced by magnolol in colon and liver cancer cells. **Molecular Carcinogenesis**, v. 32, p. 73-83, 2001.

LIN, Y. R.; CHEN, H. H.; KO, C. H.; CHAN, M. H. Effects of honokiol and magnolol on acute and inflammatory pain models in mice. **Life Sciences**, v. 81, p. 1071-1078, 2007.

LUIZE, P. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V. Activity of neolignans isolated from *Piper regnelli* (MIQ.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck against *Trypanosoma cruzi*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, n 29, p 2126–2130, 2006.

MA, C. J.; KIM, S. R.; KIM, J.; KIM, Y. C. Meso-dihydroguaiaretic acid and licarin A of *Machilus thunbergii* protect against glutamate-induced toxicity in primary cultures of a rat cortical cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, p. 752-9, 2005.

MACRAE, W. D.; TOWERS, G. H. N. Biological activities of lignans. **Phytochemistry**, v. 23, p. 1207–1220, 1984.

MADEIRO, S. A. L.; LUCENA, H. F. S.; SIQUEIRA, C. D.; DUARTE, M. C.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F. New neolignans from *Krameria tomentosa* A. St. –Hil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n.11, 2012.

MARQUES, F. A.; SIMONELLI, F.; OLIVEIRA, A.R.M.; GOHR, G.L.; LEAL, P.C. Oxidative coupling of 4-substituted 2-methoxy phenols using methyltributylammonium permanganate in dichloromethane. **Tetrahedron Letters**, v. 39, p. 943-946, 1998.

MASCIA, M.P.; FABBRI, D.; DETTORI, M.A.; LEDDA, G.; DELOGU, G.; BIGGIO, G. Hydroxylated biphenyl derivatives are positive modulators of human GABA(A) receptors. **European Journal of Pharmacology**, n. 693, 45–50, 2012.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. A importância da Síntese de Fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n 3, 2001.

MIN, B. S.; TRANG, T. T. T. Compounds from the aerial part of *Saururus chinensis* and their cytotoxic activity. **Natural Product Sciences**, v. 18, n. 4, p. 227-232, 2012.

MIOSO, R.; TOLEDO MARANTE, F.J.; BRAVO DE LAGUNA, I.H.; BESSONART, M. Química de productos naturales aplicada a la acuicultura: Una revisión interdisciplinar. **Química Nova**, v. 37, n. 3, 2014.

MIYAZAWA, M.; HISAMA, M. Antimutagenic activity of phenylpropanoids from clove (*Syzygium aromaticum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6413-6422, 2003.

MONTE-NETO, R. L. BARBOSA-FILHO, J. M.; SOUZA, L. M. A. ATHAYDE-FILHO, P. F.; DIAS, C. S.; SOARES, M. J.; QUEIROZ, M. R. Crude ethanolic extract, lignoid fraction and yangambin from *Ocotea duckei* (Lauraceae) show antileishmanial activity. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 62c, p. 348-352, 2007.

MONTE-NETO, R. L. BARBOSA-FILHO, J. M.; SOUZA, L. M. A. OLIVEIRA, M. R. FIGUEIREDO, R. C. B. Q. Morphological and physiological changes in *Leishmania* promastigotes induced by yangambin, a lignan obtained from *Ocotea duckei*. **Experimental Parasitology**, v. 127, p. 215-221, 2011.

MORAIS, S. K. R.; TEIXEIRA, A. F.; TORRES, Z. E. S.; NUNOMURA, S. M. V.; YAMASHIRO-KANASHIRO, E. H.; LINDOSO, J. A. L.; YOSHIDA, M. Biological activities of lignoids from Amazon Myristicaceae species: *Virola michelii*, *V. mollissima*, *V. pavonis* and *Iryanthera juruensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.20, n.6, 2009.

MORAIS, S. K. R.; TEIXEIRA, A. F.; TORRES, Z. E. S.; NUNOMURA, S. M.; YAMASHIRO-KANASHIRO, E. H.; LINDOSO, J. A. L.; YOSHIDA, M. Biological Activities of Lignoids from Amazon Myristicaceae Species: *Virolamichelii*, *V. mollissima*, *V. pavonis* and *Iryantherajuruensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1110-1118, 2009.

MORI, N.; WATANABE, H.; KITAHARA, T. Simple and efficient asymmetric synthesis of furofuran lignans yangambin and caruignan A. **Synthesis**, n. 3, p. 400-404, 2006a.

MORI, N.; WATANABE, H.; KITAHARA, T. Simple Synthesis of Enantiomerically Pure Sauriol A and B. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 70, n. 7, p. 1750-1753, 2006b.

MURAKAMI, Y.; SHOJI, M.; HANAZAWA, S.; TANAKA, S.; FUJISAWA, S. Preventive effect of bis-eugenol, a eugenol ortho dimer, on lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and inflammatory cytokine expression in macrophages. **Biochemical Pharmacology**, 66, p. 1061-1066, 2003.

NEGI, A. S.; CHATTOPADHYAY, S. K.; SRIVASTAVA, S.; BHATTACHARYA, A. K. A simple regioselective demethylation of p-aryl methyl ethers using aluminum chloride-dichloromethane system. **Synthetic Communications**, v. 35, n. 1, p. 15-21, 2005.

NERIS, P. L. N.; CALDAS, J. P. A.; RODRIGUES, Y. K. S.; AMORIM, F. M.; LEITE, J. A.; RODRIGUES-MASCARENHAS, S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; RODRIGUES, L. C.; OLIVEIRA, M. R. Neolignan Licarin A presents effect against Leishmania (Leishmania) major associated with immunomodulation in vitro. **Experimental Parasitology**, v. 135, n. 2, p. 307-313, 2013.

NGUYEN, M.H.K.; NGUYEN, H.X.; NGUYEN, M.T.T.; NGUYEN, N.T. Phenolic constituents from the heartwood of *Artocarpus altilis* and their tyrosinase inhibitory activity. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 185-186, 2012.

OGATA, M.; TUTUMIMOTO, K.; KUNIKANE, T.; OKA, K.; SEKI, M.; URANO, S.; HIRAMATSU, K.; ENDO, T. Antibacterial activity of dipropofol and related compounds. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, p. 1120-1122, 2005.

OKADA, N.; HIRATA, A.; MURAKAMI, Y.; SHOJI, M.; SAKAGAMI, H.; FUJISAWA, S. Induction of cytotoxicity and apoptosis and inhibition of cyclooxygenase-2 gene

expression by eugenol-related compounds. **Anticancer Research**, v. 25, p. 3263-3269, 2005.

PAN, J. Y.; CHEN, S. L.; YANG, M. H.; WU, J.; SINKKONEN, J.; ZOU, K. An update on lignans: Natural products and synthesis. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 10, p. 1251-1292, 2009.

PARK, B. Y.; MIN, B. S.; KWON, O. K.; OH, S. R.; AHN, K. S.; KIM, T. J.; KIM, D. Y.; BAE, K.; LEE, H. K. Increase of caspase-3 activity by lignans from *Machilus thunbergii* in HL-60 cells. . **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 8, p. 1305, 2004.

PEREIRA, A. C. P.; MAGALHÃES, L. G.; JANUÁRIO, A. H.; PAULETTI, P. M.; CUNHA, W. R.; BASTOS, J. K.; NANAYAKKARA, D. N. P.; SILVA, M. L. A. Enantiomeric resolution of (±)-licarin A by high-performance liquid-chromatography using a chiral stationary phase. **Journal of Chromatography A**, v.1218, n. 39, p. 7051–7054, 2011.

PESSINI, G. L.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. G. Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* (miq.) C. DC. Var. *pallenscens* (C. DC.) yunck. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 98, p. 1115–1120, 2003.

PISANO, M.; PAGNAN, G.; LOI, M.; MURA, M.E.; TILOCCA, M.G.; PALMIERI, G.; FABBRI, D.; DETTORI, M.A; DELOGU, G.; PONZONI, M. Antiproliferative and pro-apoptotic activity of eugenol-related biphenyls on malignant melanoma cells. **Molecular Cancer**, v. 6, p.1-12, 2007.

PILLI, R. A. **Síntese Orgânica e a Química de Produtos Naturais**. Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Disponível em:

<http://www.sbg.org.br/filiais/adm/Upload/subconteudo/pdf/Texto2.pdf>

Acessado em 04 de novembro de 2013.

PINHEIRO, S.; FERREIRA, V. F. Abordagens Em Síntese Assimétrica. **Química Nova**, v 21, n 3, p 312, 1998.

POLZIN, G. M.; STANFILL, S. B.; BROWN, C. R.; ASHLEY, D. L.; WATSON, C.H. Determination of eugenol, anethole, and coumarin in the mainstream cigarette smoke of Indonesian clove cigarettes. **Food and Chemical Toxicology**. v. 45, p.1948–1953, 2007.

POON, T. S. C.; FREEMAN, S. Cheilitis caused by contact allergy to anethole in spearmint flavoured toothpaste. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 47, p. 300–301, 2006.

QUIDEAU, S.; RALPH, J. Facile large-scale synthesis of coniferyl, sinapyl, and p-coumaryl alcohol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 7, p. 1108-1110, 1992

RIBEIRO, R.; CARVALHO, F. A. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CORDEIRO, R. S. B.; TIBIRICA, E. V. Protective effects of yangambin –a new natural platelet-activating facto (PAF) receptor antagonist on anaphylatic shock in rats. **Phytomedicine**, v. 3, p. 249-256, 1996.

ROBERTS, S. M.; TURNER, N. J.; WILLETTS, A. J.; TURNER, M. K.; **Introduction to Biocatalysis Using Enzymes and Micro-organisms**, Cambridge University Press, 1995.

SARTORELLI, P.; BENEVIDES, P. J. C.; ELLEN SOHN, R. M.; ROCHA, M. V. A. F.; MORENO, P. R. H.; KATO, M. J. Enantioseletive conversion of *p*-hydroxypropenylbenzene to (+)-conocarpan in *Piper regnellii*. **Plant Science**, n161, p. 1083–1088, 2001.

SAWASDEEA, K.; CHAOWASKUB, T.; LIPIPUNC, V.; DUFATD, T.; MICHELD, S.; LIKHITWITAYAWUIDA, K. New neolignans and a lignan from *Miliusa fragrans*, and

their anti-herpetic and cytotoxic activities. **Tetrahedron Letters**, v. 54, p. 4259–4263, 2013.

SERRA, M. F.; DIAZ, B. L. BARRETO, E. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CORDEIRO, R. S. B.; SILVA, P. M. Anti-allergic properties of the natural PAF antagonist yangambin. **Planta Medica**, v. 63, p. 207-212, 1997.

SILVA, F. M.; DE LACERDA, P. S. B.; JONES JÚNIOR, J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, v. 28, n. 1, 2005.

SILVEIRA, A. J. A. Química Orgânica Teórica. Belém: UFPA, 2010, 342 p.

SOUZA, G. H.B.; DA SILVA FILHO, A. A.; SOUZA, V. A.; PEREIRA, A. C.; ROYO, V. A.; SILVA, M. L. A.; SILVA, R.; DONATE, P. M.; CARVALHO, J. C. T.; BASTOS, J. K. Analgesic and anti-inflammatory activities evaluation of (-)-O-acetyl, (-)-O-methyl, (-)-Odimethyletilamine cubebin and their preparation from (-)-cubebin. **Il Farmaco**, v. 59, p. 55–61, 2004.

SOUZA, V. A.; NAKAMURA, C. V.; CORRÊA, A. G. Atividade Antichagásica de Lignanas e Neolignanas. **Revista Virtual de Química**, v 4, n 3, p 197-207, 2012.

SRIDHARAN, V.; SURYAVANSHI, P.A.; MENNDEZ, J.C. Advances in the chemistry of tetrahydroquinolines. **Chemical Reviews**, v. 111, p. 7157-7259, 2011.

STEWART, B. W. Mechanisms of apoptosis: integration of genetic, biochemical and cellular indicators. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 86, p. 1286–1296, 1994.

SUÁREZ, M.; BONILLA, J.; DE DIAZ, A.M.P.; Achenbach, H. Studies of colombian Lauraceae. Dehydrodieugenols from *Nectandra polita*. **Phytochemistry**, v.22, p. 609-610, 1983.

SUGINOME, H.; ISHIKAWA, M.; YORITA, K.; SHIMOYAMA, N.; SASAKI, T.; ORITO, K. Photoinduced Molecular Transformations. 157. A New Stereo- and Regioselective Synthesis of 2,6-Diaryl-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane Lignans Involving a β -Scission of Alkoxy Radicals as the Key Step. New Total Syntheses of ($\pm$)-Sesamin, ($\pm$)-Eudesmin, and ($\pm$)-Yangambin. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 10, p. 3052-3064, 1995

SUZUKI, A.; SHIROTA, O.; MORI K.; SEKITA S.; FUCHINO H.; TAKANO A.; KUROYANAGI, M. Leishmanicidal active constituents from Nepalese medicinal plant Tulsi (*Ocimum sanctum* L.). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 3, p. 245-251, 2009.

TIBIRIÇÁ, E. V.; MOSQUEIRA, K.; ABREU, M.; RIBEIRO, R.; CARVALHO, F. A. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. CORDEIRO, R. S. B. Antagonistic effect of yangambin on platelet-activating factor (PAF)-induced cardiovascular collapse. **Phytomedicine**, v. 2, p. 235-242, 1996.

TUFVESSON, PAR.; FU, WENJING.; JENSEN, J. S.; WOODLEY, J. M. Process considerations for the scale-up and implementation of biocatalysis. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 3; 2010.

TZENG, S. C.; LIU, Y.C. Peroxidase-catalysed synthesis of neolignan and its anti-inflammatory activity. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 32, p. 7-13, 2004.

VASUDEVAN, S.; BHAT, S. V. Biotransformation of isoeugenol catalyzed by growing cells of *Pseudomonas putida*. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 29, n. 4, p. 147-150, 2011.

VERMEERSCH, M.; DA LUZ, R. I.; TOTÉ, K.; TIMMERMANS, J.P.; COS, P.; MAES, L. *In vitro* susceptibilities of *Leishmania donovani* promastigote and amastigote stages to antileishmanial reference drugs: practical relevance of stage-specific differences. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n. 53, p. 3855–3859, 2009.

WANG, J. H.; SHIH, K. S.; LIOU, J. P.; WU, Y. W.; CHANG, A. S. Y.; WANG, K. L.; TSAI, C. L.; YANG, C. R. Anti-arthritic effects of magnolol in human interleukin 1 β -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in a rat arthritis model. **PLoS One**, v. 7, e31368, 2012.

WENQIANG, G.; SHUFEN, L.; RUIXIANG, Y.; SHAOKUN, T.; CAN, Q. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1558-1564, 2007.

WINTERFELDT, E. Applications of Diisobutylaluminum Hydride (Dibah) and Triisobutylaluminum (Tiba) as Reducing Agents in Organic Synthesis. **Synthesis-Stuttgart**, n. 10, p. 617-630, 1975.

WOHLGEMUTH, R. Biocatalysis — key to sustainable industrial chemistry. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, p. 713, 2010.

XU, H.; TANG, W.; DU, G.; KOKUDO, N. Targeting apoptosis pathways in cancer with magnolol and honokiol, bioactive constituents of the bark of *Magnolia officinalis*. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v.5, p.202-210, 2011.

YOUN, U.J.; CHEN, Q.C.; LEE, I.S.; KIM, H.J.; HUNG, T.M.; NA, M.K.; LEE, J.P.; MIN, B.-S.; BAE, K.H. Sesquiterpene-neolignans from the stem bark of *Magnolia obovata* and their cytotoxic activity. **Natural Products Science**, v. 14, p.51-55, 2008.

YU, H. J.; CHEN, C. C.; SHIEH, B. J. The constituents from the leaves of *Magnolia coco*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, p. 773-778, 1988.

ZHANG, H. J.; TAMEZ, P. A.; HOANG, V. D.; TAN, G. T.; HUNG, N. V.; XUANG, L. T.; HUONG, L. M.; CUONG, N. M.; THAO, D. T.; SOERJANO, D. D.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M. Antimalarial compounds from *Rhaphidophora decursiva*. **Journal Natural Products**, v. 66, p. 772–777, 2001.

ZHANG, Y.; TANG, F. Advance in latest studies on pharmacological effects of magnolol. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v 37, p. 3526-3530, 2012.

ZHI, L.; TEGLEY, C.M.; PIO, B.; WEST, S.J.; MARSCHKE, K.B.; MAIS, D.E.; JONES, T.K. Nonsteroidal progesterone receptor antagonists based on 6-thiophenehydroquinolines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, p. 415-418, 2000.