UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**“Síntese e avaliação das atividades tripanocida e
antimicrobiana de derivados de lignanas ariltetralínicas”**

Vanessa de Andrade Royo

Ribeirão Preto

2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**“Síntese e avaliação das atividades tripanocida e
antimicrobiana de derivados de lignanas ariltetralínicas”**

Autora: Vanessa de Andrade Royo

**Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área
de concentração: Produtos naturais e sintéticos,
para obtenção do título de Doutora em Ciências
Farmacêuticas.**

Orientador: Prof. Dr. Jairo Kennup Bastos

**Ribeirão Preto
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo
de Ribeirão Preto/USP.

Royo, Vanessa de Andrade

Síntese e avaliação das atividades tripanocida e antimicrobiana de derivados de lignanas ariltetralínicas. Ribeirão Preto, 2008. 158 p.: il; 29,7 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Produtos naturais e Sintéticos.

Orientador: Bastos, Jairo Kenupp

1. Síntese	2. Lignana	3. Derivados	4.
Tripanocida			
5. Antimicrobiana	6. Ariltetralínica.		

Autora: Vanessa de Andrade Royo

Título: SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES TRIPANOCIDA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DE LIGANAS ARILTETRALÍNICAS

Trabalho apresentado e aprovado pela Comissão Julgadora em

____ / ____ /2008

Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Orientador

Prof(a). Dr.(a)

Prof(a). Dr.(a)

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Apoio Financeiro:

FAPESP

Este trabalho foi realizado sob orientação do
Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Laboratório de Farmacognosia e Princípios Ativos Naturais
Departamento de Ciências Farmacêuticas – FCFRP

Há homens que lutam por um dia e são bons; há outros que lutam por um ano e são melhores; há aqueles que lutam por muitos anos e são muito bons; porém há homens que lutam por toda a vida: esses são imprescindíveis.

Bertold Brecht

À Deus pela existência.

**Aos meus pais: Francisco e Zélia e ao meu irmão Rafa, pelo amor, apoio e
confiança.**

Ao Flávio, pelo amor, carinho e dedicação.

Aos meus tios, tias: segundos pais e aos meus primos: meus irmãos.

Aos meus amigos e amigas pela paciência, carinho e compreensão.

À nova vida que surge para nos alegrar.

Agradecimentos

Ao Professor Dr. Jairo Kenupp Bastos, pela orientação e confiança.

Ao Professor Dr. Márcio Luis Andrade e Silva, pela amizade e oportunidades nestes anos de convivência e aos professores do Labquim da Unifran, pela ajuda, amizade e carinho.

Aos amigos do Laboratório de Farmacognosia: Só o tempo é capaz de demonstrar os verdadeiros amigos, me lembrarei de cada um de vocês.

Aos amigos do Labquim: Com vocês com certeza aprendi coisas novas e compartilhei alguns anos da minha vida.

Ao Flávio (Jesus), a cada dia que passa você está mais presente na minha vida, ajudando e me apoiando no meu desenvolvimento. Várias palavras te classificariam, mas a melhor delas é: “companheiro”.

À Kenia (UFSCAR), pela dedicação e ajuda na separação dos compostos no CLAE, obrigada pela atenção, simpatia e amizade. Ao Ygor (UFSCAR), pela disponibilidade e ajuda com as análises de α_D .

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Martins e a Tatiana (UNIFRAN), pela ajuda na realização dos ensaios de MIC.

Aos funcionários da SPG, muito obrigada pela disposição em ajudar sempre. Vocês são um grande apoio.

À Virginia pelos espectros de RMN, por ser tão prestativa e pela simpatia.

À FAPESP pelo apoio financeiro e pela bolsa concedida, sem a qual este trabalho não teria sido realizado.

SUMÁRIO

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUÇÃO	2
I.1. Lignóides.....	2
I.2. Lignanas.....	3
I.3. Síntese de lignanas.....	11
I.4. Doenças parasitárias.....	16
I.4.1. <i>Trypanosoma cruzi</i>	20
I.4.1.1. Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	21
I.4.1.1.1. Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	22
I.4.2. <i>Triatoma infestans</i>	23
I.5. Doença de Chagas.....	30
I.6. Classificação de microrganismos bucais.....	32
I.7. Microrganismos bucais.....	
II. OBJETIVOS.....	38
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
III.1. Equipamentos utilizados.....	40
III.2. Reagentes.....	41
III.2.1. Tratamento de reagentes.....	41
III.2.1.1. Secagem do THF.....	41
III.2.1.2. Secagem da diisopropilamina.....	41
III.2.1.3. Secagem do tolueno.....	42

III.3. Síntese dos derivados.....	42
III.3.1. Preparação do ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butenólico (3).....	42
III.3.2. Preparação do ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butanólico (4).....	44
III.3.3. Preparação da 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-4,5-diidro-2(3H)-furanona (5).....	45 46 48
III.3.4. Síntese da 7-hidroxi-hinoquinina (6).....	50
III.3.4.1 Separação dos diastereoisômeros (6a e 6b).....	50
III.3.5. Síntese da lignana ariltetralínica poligamaina (7).....	51
III.3.5.1 Mistura racêmica de 7.....	
III.3.5.2 Diastereoisômeros separados.....	
III.3.6. Tentativas de redução da poligamaina (7) a lactol.....	53
III.3.6.1. Síntese dos compostos 9.....	53
III.3.6.1.1 Separação dos enantiômeros do composto 9.....	55
III.3.6.2. Redução da poligamaina com solução de DIBAL-H em THF ou tolueno a -78° C.....	55 56
III.3.6.3. Redução da poligamaina com solução de DIBAL-H em THF ou tolueno a -10 °C.....	
III.3.6.4. Redução da lignana ariltetralínica poligamaina com LiAlH ₄ em solução de THF.....	56 57
III.3.7. Obtenção do savinin (10).....	59
III.3.8. Tentativa de redução do savinin (11).....	59
III.3.9 Tentativa de acetilação da poligamaina.....	
III.3.10. Ensaio biológico.....	60
	60

III.3.10.1. Atividade tripanocida <i>in vitro</i>	60
III.3.10.1.1. Preparação das formas tripomastigotas	61
III.3.10.1.2. Preparação das soluções.....	61
III.3.10.1.3. Análise Estatística.....	
III.3.10.2. Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em microplaca.....	62
III.3.10.2.1. Preparo das amostras.....	62
III.3.10.2.2. Microrganismos utilizados.....	62
III.3.10.2.3. Preparo do inóculo.....	63
III.3.10.2.4. Avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias.....	
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
IV.1. Estudo químico.....	65
IV.2. Ensaios biológicos.....	93
V. CONCLUSÕES.....	99
VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
VII. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS.....	121
VIII. TRABALHOS NA ÍNTEGRA PUBLICADOS EM PERIÓDICOS.....	129
IX. ESPECTROS.....	133

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

BHC- Benzeno-hexaclorado.

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência.

CCD- Cromatografia em camada delgada.

CDCl₃- Clorofórmio deuterado.

CF₃CO₂- Ácido trifluoracético.

CIM- Concentração inibitória mínima.

CPR - Cromatografia preparativa circular.

d - Dubleto.

dd - Duplo dubleto.

DEPT- Distortionless enhancement by polarization transfer.

DIBAL-H- Diisobutylaluminium hydride.

DMAP – Dimetilaminopiridina.

DMSO- Dimetilsulfóxido.

FM- Fase móvel.

ICC- Insuficiência cardíaca congestiva.

IC₅₀- Inhibitory concentration of 50% microorganism.

J - Constante de acoplamento.

LDA- Lithium diisopropylamine.

m - Multiplete.

NOE- Nuclear overhauser effect.

p.f.- Ponto de fusão.

RMN - Ressonância magnética nuclear.

s - Singleto.

sl- Singleto largo.

t- Tripleto.

THF- Tetraidrofurano.

UFC- Unidade formadora de colônia.

UV- Ultra violeta.

[α_D]- rotação específica.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. (a) <i>Podophyllum emodi</i> ; (b) <i>Podophyllum peltatum</i>	3
Figura 2. Podofilotoxina e seus precursores biogénéticos.....	4
Figura 3. Esqueleto químico de lignanas.....	5
Figura 4. <i>Zanthoxylum naranjillo</i> e a estrutura química do (-)-metilpluviatolido..	6
Figura 5. Sementes de <i>Piper cubeba</i> e a estrutura química do (-)-cubebina.....	6
Figura 6. Estruturas químicas de lignanas.....	7
Figura 7. Estrutura química da poligamaina.....	8
Figura 8. Lignanas isoladas de <i>Aglaia cordata</i> Hiern.....	9
Figura 9. Lignana 7-O-(3-metil-2-butenil) isodaurinol.....	9
Figura 10. Lignana 7-O-(3-metil-2-butenil) isodaurinol.....	10
Figura 11. <i>Justicia procumbens</i> L. (Acanthaceae).....	11
Figura 12. Passos para a síntese de derivados arilnaftalênicos.....	11
Figura 13. Síntese assimétrica de lignanas.....	12
Figura 14. Reações para obtenção de (+)-dimetilisolaricilresinol.....	13
Figura 15. Rota sintética adotada por Landais <i>et.al.</i> (1991).....	14
Figura 16. Reação de redução dom DIBAL-H segundo Verdaguer, <i>et.al.</i> (1997).....	14
Figura 17. Redução de lactona em lactol e triol, descrito por Quideau <i>et. al.</i> (2002).....	15
Figura 18. Redução de lactona a lactol descrito por Quideau <i>et. al.</i> (2002).....	16
Figura 19. Redução de lactona a lactol seguido por metilação de	

Wittig.....	16
Figura 20. <i>Cinchona</i> sp e estrutura química da quinina.....	17
Figura 21. <i>Catharanthus roseus</i> e a estrutura química da vincristina.....	18
Figura 22. <i>Digitalis</i> sp e a estrutura química da digoxina.....	18
Figura 23. <i>Atropa belladonna</i> e a estrutura química da atropina.....	18
Figura 24. <i>Papaver somniferum</i> e a estrutura da morfina.....	19
Figura 25. <i>Penicillium caudatum</i> e a estrutura química da penicilina G.....	19
Figura 26. Formas epimastigota (a); tripomastigota (b) e amastigota (c).....	20
Figura 27. Ciclo de vida do <i>Trypanossoma cruzi</i> (CDC, 2007).....	21
Figura 28. <i>Triatoma infestans</i>	22
Figura 29. Diferença da porção final do abdômen que na fêmea apresenta ovopositor (a) e o macho (b).....	23
Figura 30. Sinais de porta de entrada da doença de Chagas.....	27
Figura 31. Estrutura química das drogas usadas no tratamento e controle da “doença de Chagas”.....	30
Figura 32. Classificação taxonômica das bactérias utilizadas.....	30
Figura 33. Gengiva saudável e periodontite.....	33
Figura 34. Rota sintética.....	38
Figura 35. Composto (3).....	42
Figura 36. Composto (4).....	44
Figura 37. Composto (5).....	45
Figura 38. Composto (6).....	46
Figura 39. Diastereoisômeros 6a e 6b	48

Figura 40. Composto (7).....	50
Figura 41. Obtenção da poligamaina.....	51
Figura 42. Tentativa de redução da lactona.....	53
Figura 43. Composto (9).....	53
Figura 44. Composto (10).....	57
Figura 45. Tentativa de redução do savinin.....	59
Figura 46. Tentativa de acetilação da poligamaina.....	59
Figura 47. Rota sintética de lignano-lactonas.....	65
Figura 48. Provável mecanismo de reação para obtenção do ácido 3.....	66
Figura 49. Provável mecanismo para a obtenção do ácido 4.....	68
Figura 50. Provável mecanismo para a obtenção da lactona 5.....	70
Figura 51. Provável mecanismo para a obtenção da 7-hidróxi-hinoquinina (6)...	72
Figura 52. Separação do <i>cis</i> e <i>trans</i> 7-hidroxi-hinoquinina (6).....	73
Figura 53. Provável mecanismo para a obtenção da poligamaina (7).....	77
Figura 54. Estereoquímica dos diastereoisômeros da poligamaina (7).....	82
Figura 55. Redução da carbonila da lactona a lactol.....	82
Figura 56. Redução da lactona.....	83
Figura 57. Provável mecanismo de obtenção do composto 9.....	84
Figura 58. CLAE dos diastereoisômeros de 6a, 6b, 7 e 9.....	87
Figura 59. CLAE do composto 9 e dos estereoisômeros (a) e (b).....	88
Figura 60. CLAE das tentativas de separação dos enantiômeros.....	89
Figura 61. Tentativa de nova rota para obtenção do composto 8.....	90
Figura 62. Possível mecanismo de obtenção do savinin (10).....	91

Figura 63. Correlação entre estrutura química X atividade tripanocida.....	95
Figura 64. Lignanas com atividade tripanocida.....	95

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 3 em CDCl_3	67
Tabela 2. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 4 em CDCl_3	69
Tabela 3. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 5 em CDCl_3	71
Tabela 4. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 6a em CDCl_3	75
Tabela 5. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 6b em CDCl_3	76
Tabela 6. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 7 em CDCl_3	79
Tabela 7. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 7a em CDCl_3	80

Tabela 8. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 7b em CDCl_3	81
Tabela 9. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 9 em CDCl_3	86
Tabela 10. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto 10 em CDCl_3	92
Tabela 11. Determinação da porcentagem de lise e valores de IC_{50} contra as formas tripomastigota da cepa Y do <i>Trypanosoma cruzi</i>	94
Tabela 12. Valores de concentração inibitória mínima.....	96

RESUMO

Partindo-se de piperonal e succinato de metila, obteve-se o ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butenóico (**3**), com rendimento de 60% e partindo-se deste, por redução catalítica obteve-se o ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butanóico (**4**), com rendimento de 80%. A partir do (**4**), reagindo-se com $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$ e H^+ , obteve-se a 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-4,5-di-hidro-2(3H)-furanona (**5**), com rendimento de 70 %. Pela adição de piperonal, sintetizou-se a 7-hidroxi-hinoquinina (**6**), com rendimento de 89% da mistura dos diastereoisômeros (**6a e 6b**), os quais foram separados por cristalização. A reação de ambos os compostos (6a e 6b) com CF_3CO forneceu o derivado ariltetralínico (**7**), com 98% de rendimento. A poligamaina (**7**) foi reduzida com DIBAL-H em THF, fornecendo o composto (**9**). O derivado (**9**), constituído de uma mistura enantiomérica foi separado em CLAE quiral. Os derivados foram analisados por RMN ^1H , BB e DEPT. Com relação aos ensaios biológicos, os compostos **6**, **7** e **9** foram avaliados patógenos bucais para determinação dos valores de CIM. Os melhores resultados obtidos para o composto (+) **9** foram contra *S. mutans* (250 μM), *S. salivarius* (250 μM), *S. sobrinus* (280 μM) e *S. mitis* (280 μM). O isômero (-) **9** foi ativo contra *S. sanguinis* (280 μM) enquanto (**9**) mostrou melhor atividade contra *L. casei* (370 μM) e *E. faecalis* (710 μM). No ensaio tripanocida, pode-se observar que o melhor resultado foi obtido para a mistura de enantiômeros (**9**), a qual apresentou $\text{IC}_{50} = 1,4 \mu\text{M}$ e lise de $61,9\% \pm 0,9$ na concentração de 32 μM . Por outro lado, ambos os enantiômeros isolados foram menos ativos apresentando IC_{50} de 351,8 μM e 135 μM para (-) **9** e (+) **9**, respectivamente e lise de $47,3\% \pm 5,9$ na concentração de 128 μM , para o enantiômero (+).

ABSTRACT

The (3',4'-methylenedioxiphenyl)-3-methoxycarbonyl-3-butenic acid (**3**) was obtained in 60 % yield by reacting piperonal and methyl succinate. Acid **3** was submitted to catalytic reduction furnishing the 4-(3',4'-methylenedioxiphenyl)-3-methoxycarbonyl-3-butanic acid (**4**), yielding 80 %. Then, compound **4** was reacted with $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$ and H^+ , furnishing 4-(3',4'-methylenedioxiphenyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanone (**5**), yielding 70 %. Piperonal was added to compound **5** to produce 7-hydroxyrhinoquinin (**6**), yielding 89% of a mixture of diastereoisomers (**6a** and **6b**), which was separated by crystallization. The reaction of both compounds **6a** and **6b** with CF_3CO furnished an aryltetralin lignan derivative poligamain (**7**), yielding 98 %. Poligamain was reduced by using DIBAL-H in THF, to furnish compound **9**. Compound **9**, constituted of an enantiomeric mixture was separated by chiral HPLC. All the obtained compounds were analyzed by ^1H NMR, BB and DEPT techniques. Regarding the biological assays, the compounds **6**, **7** and **9** were assayed against oral pathogens by determining its MIC values. The best results obtained for the (+) **9** isomer was against *S. mutans* (250 μM), *S. salivarius* (250 μM), *S. sobrinus* (280 μM) and *S. mitis* (280 μM). For the (-) **9** isomer it was active against *S. sanguinis* (280 μM) while (**9**) displayed higher activity against *L. casei* (370 μM) and *E. faecalis* (710 μM). Regarding the in vitro trypanocidal assay, on one hand the best result was observed for the mixture of enantiomers (**9**), which displayed $\text{IC}_{50} = 1.4 \mu\text{M}$ and lysis of $61.9\% \pm 0.9$ at 32 μM . On the other hand, both isolated enantiomers were less active by displaying IC_{50} of 351.8 μM and 135 μM for (-) **9** and (+) **9**, respectively and lysis of $47.3\% \pm 5.9$ at 128 μM , for (+) enantiomer.

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

I.1. Lignóides

Lignóides, arilpropanóides oligoméricos, possuem atividade aleloquímica nas plantas nas quais ocorrem, tendo também ações farmacológicas no homem, fato que já levou a aplicações terapêuticas importantes. Os grupos mais numerosos são constituídos pelas lignanas. Apenas em época recente os lignóides têm ocupado lugar de destaque, pois são de utilidade não só para as plantas que as produzem, como para o homem que as extrai ou sintetiza. Com respeito às plantas terrestres, fitoquímica comparada evidencia que lignóides podem servir como marcadores do processo evolutivo, tornando-se razoável supor que desempenham um papel em adaptação ecológica. Não surpreende assim as descobertas bem documentadas, que lignanas são acumuladas em madeira como resposta a ferimentos mecânicos ou à invasão fúngica ou bacteriana (GOTTLIEB, 1988).

Uma droga derivada de um arbusto do Himalaia, *Podophyllum emodi* (**Figura 1 a**), foi utilizada em casos de doenças malignas na Índia por mais de dois mil anos, enquanto preparados da raiz da mandrágora, *Podophyllum peltatum* (**Figura 1 b**), serviram no tratamento popular de verrugas venéreas na América do Norte, por mais de 40 anos. Investigando estes usos, Hartwell obteve três lignanas ativas, podofilotoxina, α -peltatina e β -peltatina (GOTTLIEB, 1988).

Figura 1. (a) *Podophyllum emodi*; (b) *Podophyllum peltatum*.

I.2. Lignanas

Lignanas, do latim lignum = madeira, lenho, são dímeros formados através do acoplamento oxidativo de álcoois cinâmílicos entre si ou destes com ácido cinâmico. Esse termo criado por Haworth em 1936, se prestava muito bem para as poucas substâncias descritas até aquela época. Estruturalmente, os resíduos n-propilbenzênicos apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado, e por esta razão tem polaridade intermediária. São sólidos incolores cujo ponto de fusão varia de 60 °C a 300 °C (FILHO, 2004; WHITING, 1985). O esqueleto carbônico define três classes de lignanas, as quais são: dibenzilbutanos, feniltetanos (HARTWELL & SCHERECKER, 1958) e dibenzociclooctanos. Lignanas são muito oxidadas e carregadas em funcionalidades tais como anéis lactônicos de cinco membros e tetraidrofurânicos, bem como substituintes hidroxí, metoxi e metilenodioxí nos anéis aromáticos. A biossíntese de lignanas

procede por dimerização oxidativa radicalar de derivados 1-fenil-1-propeno (TAYLOR & BATTERSBY, 1967). Os diferentes tipos de estruturas dos lignóides devem-se as diferentes possíveis posições onde ocorre o acoplamento. Este seguido da adição de um ou dois íons hidretos, adição de íon hidreto mais hidroxila inter ou intramolécula seguida de ciclização e aromatização, conduzem a vários tipos de neolignanas e lignanas. Um exemplo de lignana ariltetralínica é a podofilotoxina, neste caso sintetizada pelos precursores: cinamila e cinamoila (**Figura 2**) [FILHO, 2004; CHANG, 2005].

Figura 2. Podofilotoxina e seus precursores biogénéticos.

Lignanas compreendem uma variedade de sub-classes estruturalmente bem distintas (CHANG, 2005) [**Figura 3**].

Verifica-se que as lignanas que originam do acoplamento oxidativo apoiada na biossíntese dos álcoois cinamílicos são de vasta distribuição no reino vegetal e foram detectadas em 75 famílias. Este elevado número leva à suposição de que as propriedades biológicas destas sejam essenciais no desenvolvimento do próprio vegetal e ao controle deste sobre a vida circunjacente (FILHO, 2004). Sendo assim, é de grande interesse como modelo para síntese de fármacos.

Figura 3. Esqueletos químicos de lignanas.

Lignanas têm sido largamente investigadas e isoladas como alguns metabólitos de plantas. Entretanto, as enterolactonas dibenzilbutanos e enterodiol foram isolados da urina de diferentes mamíferos (STITCH *et al.*, 1980) e mais tarde sugeriu-se ser secretado pela flora normal de bactérias intestinais (SETCHELL *et al.*, 1981).

As lignanas dibenzociclooctadienas são também conhecidas por apresentarem potente atividade antioxidante e conseqüentemente, podem demonstrar atividades antitumorais (CHEN *et al.*, 2002).

A lignana denominada metilpluviatolido (GONZÁLES *et al.*, 1990) apresenta atividade antitumoral. Esta classe química possui também algumas substâncias que apresentam atividade antiviral (BEDOWS & HATFIELD, 1982), bem como atividade analgésica (BORSATO *et al.*, 2000).

Quanto à atividade tripanocida, nosso grupo tem avaliado lignanas e encontrado resultados muito promissores, como o (-)-metilpluviatolido isolado de folhas de *Zanthoxylum naranjillo* (**Figura 4**) (BASTOS *et al.*, 1999) e

lignanas dibenzilbutirolactônicas obtidas por semi-síntese da (-)-cubebina, isolada de sementes de *Piper cubeba* (**Figura 5**) (SOUZA *et al.*, 2005). Pelos resultados obtidos para atividade tripanocida e por serem encontradas em pequenas quantidades nas plantas, há o interesse pela síntese.

Além da atividade tripanocida, apresentam atividades analgésica e antiinflamatória (COIMBRA *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2005); leishmanicida (ROYO *et al.*, 2003) além de antimicrobiana e antimutagênica (MEDOLA *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2007).

Figura 4. *Zanthoxylum naranjillo* e a estrutura química do (-)-metilpluviatolido.

Figura 5. Sementes de *Piper cubeba* e a estrutura química do (-)-cubebina.

A lignana podofilotoxina, tem sido utilizada em diferentes terapias. Possui efeito antitumoral comprovado cientificamente e pronunciada atividade citotóxica. O maior efeito citotóxico é a inibição celular na metáfase detendo a duplicação dos cromossomos, resultando na retenção da divisão celular no estado mitótico do ciclo celular. Porém, devido ao fato destes efeitos atingirem, tanto as células normais como as células cancerígenas, o seu uso tem sido limitado [KOULMAN *et al.*, 2001; DAVID *et al.*, 2001; CANEL *et al.*, 2000; KRANZ & PETERSEN, 2003].

As lignanas ariltetralínicas têm estruturas químicas semelhantes a podofilotoxina (**Figura 6**), em algumas ocasiões sendo precursores desta (KOULMAN *et al.*, 2001).

Figura 6. Estruturas químicas de lignanas.

Na investigação fitoquímica das partes aéreas de *Haplophyllum ptilostylum* Spach, quatro novas lignanas foram encontradas no extrato, sendo

a primeira lignana ariltetralínica com estrutura e configuração absoluta mostrada na **Figura 7**, com fórmula molecular $C_{20}H_{16}O_6$. O composto com a estrutura descrita é o enantiômero que foi isolado de *Heliopsis buphthalmoides* (ULUBELEN *et al.*, 1995).

Figura 7. Estrutura química da poligamaina.

Durante a investigação fitoquímica das espécies *Aglaia*, foram isoladas quatro novas lignanas de *Aglaia cordata* Hiern que prova ser o primeiro representante de uma nova classe de ariltetralínica cíclica dentro das lignanas. (**Figura 8**) [WANG *et al.*, 2002].

Figura 8. Lignanas isoladas de *Aglaia cordata* Hiern.

Foi isolada uma nova lignana ariltetralínica prenilada a 7-O-(3-metil-2-butenil) isodaurinol, de *Haplophyllum myrtifolium* (**Figura 9**) [SAGLAM *et al.*, 2003].

Figura 9. Lignana 7-O-(3-metil-2-butenil) isodaurinol.

A obtenção de outros derivados ariltetralínicos pode resultar em substâncias promissoras para atividades biológicas.

A atenção farmacêutica por lignanas em geral e a podofilotoxina em particular é devido à pronunciada atividade citotóxica de inúmeros destes compostos. A investigação de ação biológica de lignanas é relativamente recente, sendo o maior interesse dirigido às ações antitumorais, nos quais os derivados da podofilotoxina (alguns já comercializados) são os mais importantes (PINHEIRO *et al.*, 2004).

A lignana ariltetralínica nirtetralina, isolada de uma espécie de *Phyllanthus* (**Figura 10**), possui atividade antiviral contra o vírus da hepatite B (HUANG *et al.*, 2003). Duas lignanas ariltetralínicas analisadas, filantina e hipofilantina, também apresentaram resposta citotóxica para células resistentes a multidrogas (KUO *et al.*, 2003).

Figura 10. *Phyllanthus virgatus* Forst. e a estrutura química da nirtetralina.

A *Justicia procumbens* L. (Acanthaceae) (**Figura 11**) é utilizada na China como remédio no tratamento de febre, dor e câncer (WENG *et al.*, 2004). As lignanas isoladas de *Justicia procumbens*, são citotóxicas para algumas linhas de células de câncer e são potentes inibidores de inflamação e agregação plaquetária (WENG *et al.*, 2004).

Figura 11. *Justicia procumbens* L. (Acanthaceae).

Porém, a velocidade crescente do aparecimento de novas doenças, cada vez mais adaptadas aos ambientes mundiais existentes, ameaça a humanidade e suas colheitas. Assim, a sobrevivência talvez venha a significar o desenvolvimento de novos antídotos em ritmo comparável (GOTTLIEB, 2001).

I. 3. Síntese de lignanas

Vários derivados arilnaftalênicos podem ser sintetizados em poucos passos (**Figura 12**) [SATO *et al.*, 2004].

Figura 12. Passos para a síntese de derivados arilnaftalênicos.

Kise *et al.* (2000), propuseram a síntese assimétrica de lignanas utilizando homoacoplamento oxidativo de ácido 3-arylpropanóico quiral. Assim, ácidos 3,4-dibenzilsuccínico opticamente ativos, são precursores usuais de lignanas dibenzilbutirolactônicas (**Figura 13**).

Figura 13. Síntese assimétrica de lignanas.

Em 1986 Brown & Daugan, descreveram a síntese de (R)-(+)- β -veratril- γ -butirolactona a partir da condensação da (R)-(+)- β -veratrillactona (**a**) com veratraldeído na presença de hexametildesilasida a qual após reação com $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ forneceu a (-)- α -dimetilenterodendrina (**b**). A reação de (**b**) com LiAlH_4 forneceu o (+)-dimetilisolaricilresinol (**c**) (**Figura 14**).

Figura 14. Reações para obtenção de (+)-dimetilisolaricilresinol.

Vários procedimentos para a obtenção de β -benzil- γ -butirolactonas são descritos na literatura e dentre eles pode-se destacar o descrito por Posner *et al.* (1984), que sintetizaram lignano lactonas quirais pela adição conjugada a uma α -sulfinil- γ -butenolida enantiomericamente pura e o de Landais *et al.* (1991) que prepararam precursores de lignano lactonas por acoplamento oxidativo (**Figura 15**).

Figura 15. Rota sintética adotada por Landais *et al.*(1991).

Durante décadas recentes, o desenvolvimento de processos catalíticos na síntese orgânica tem se transformado em uma área de pesquisa de grande importância. Diversos hidretos de alumínio modificados foram relatados para realizar a redução parcial de lactonas e ésteres e DIBAL-H é atualmente o reagente de escolha (**Figura 16**) (VERDAGUER *et al.* 1997).

Figura 16. Reação de redução com DIBAL-H segundo Verdaguer *et al.* (1997).

Uma das maneiras mais comuns de transformar lactona no éter cíclico correspondente é realizado em dois passos, que envolve a redução inicial com DIBAL-H (que reduz a lactona a lactol), seguido pelo tratamento com $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (KRAUS, 1981). Ambas reações ocorrem em temperaturas baixas (-78°C) sob uma atmosfera inerte e este método foi aplicado, em muitas sínteses. (ELBAUM, 1995).

Quideau *et al*, 2002, reduziram com DIBAL em THF a lactona (**d**) em uma mistura de lactol (**e**) e no triol (**f**) (**Figura 17**). A redução que usa LiAlH_4 resulta somente no lactol (**e**) (**Figura 18**) e as tentativas de reduzi-lo em (**f**) com o DIBALH ou o LiAlH_4 , não deram nenhum resultado.

Figura 17. Redução de lactona em lactol e triol, descrito por Quideau *et al.* (2002).

Figura 18. Redução de lactona a lactol descrito por Quideau *et al.* (2002).

Após uma redução de **(g)** ao lactol correspondente (DIBAL-H, CH_2Cl_2 , $^\circ\text{C}$ -78), seguido por metilação de Wittig ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2$, THF, 0°C) (**Figura 19**), o fragmento **(h)** foi isolado no rendimento de 55% (FERRIÉ *et al*, 2006).

Figura 19. Redução de lactona a lactol seguido por metilação de Wittig.

Apesar destes e de muitos outros métodos reportados terem mostrado rotas atrativas para síntese desses intermediários, muitos problemas ainda existem como baixo rendimento global, pureza enantiomérica insatisfatória, e principalmente auxiliares quirais extremamente caros o que inviabiliza a síntese em quantidades maiores.

I.4. Doenças parasitárias

As doenças parasitárias têm atormentado o homem e seus animais domésticos desde os tempos mais remotos (SILVA, 2002). Hoje no mundo

muitas nações têm controlado essas doenças dentro de suas fronteiras, porém os mesmos parasitas continuam causando mortes entre os países menos desenvolvidos. Frequentemente um ciclo vicioso é estabelecido: uma economia deficiente impede que se produza educação e medidas sanitárias eficientes e isto torna um povo continuamente susceptível às infecções parasitárias (SILVA, 2002). A morbidade e a mortalidade resultante das doenças causadas por protozoários representam ainda hoje um formidável desafio à pesquisa científica e aos programas de saúde pública e animal (SILVA, 2002).

Com a revolução industrial, o grande desenvolvimento da síntese química de moléculas e o surgimento de indústrias farmacêuticas, tiveram início o tratamento farmacológico sistemático de várias doenças (RATES, 2000). Inúmeros compostos naturais isolados de plantas como: quinina e quinidina de *Cinchona* sp (**Figura 20**), a vincristina e vinblastina de *Catharanthus roseus* (**Figura 21**), a digoxina de *Digitalis* sp (**Figura 22**), a atropina de *Atropa belladonna* (**Figura 23**), a morfina de *Papaver somniferum* (**Figura 24**) e a penicilina isolada do fungo *Penicillium caudatum* (**Figura 25**), tiveram e continuam tendo um grande impacto na sobrevida e no tratamento de várias enfermidades humanas (RATES, 2000).

Figura 20. *Cinchona* sp e estrutura química da quinina.

Figura 21. *Catharanthus roseus* e a estrutura química da vincristina.

Figura 22. *Digitalis* sp e a estrutura química da digoxina.

Figura 23. *Atropa belladonna* e a estrutura química da atropina.

Figura 24. *Papaver somniferum* e a estrutura da morfina.

Figura 25. *Penicillium caudatum* e a estrutura química da penicilina G.

Para a grande maioria das enfermidades parasitárias, o arsenal quimioterápico disponível é limitado. Embora tenham sido implementados consideráveis investimentos na pesquisa e desenvolvimento de vacinas na última década, não existe nenhuma vacina eficaz para uso em humanos contra protozoários parasitas (KOGA, 2003). Desta forma, o uso de quimioterápicos é uma das únicas alternativas viáveis para o tratamento dos indivíduos infectados sendo os produtos naturais uma importante fonte alternativa de novos fármacos antiparasitários (KOGA, 2003).

I.4.1. *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi, pertence ao Reino – Protista; Subreino – Protozoa; Filo – Sarcomastigophora; Subfilo – Mastigophora; Classe – Zoomastigophore; Ordem – Kinetoplastida; Subordem – Trypanosomatina; Família – Trypanosomatidae; Gêneros – *Trypanosoma*; Espécie – *Trypanosoma cruzi* (LEVINE, 1980). Quanto à morfologia, possui formas: amastigota – arredondada ou oval, com flagelo que não se exterioriza; Promastigota – alongada com cinetoplasto anterior ao núcleo; o flagelo torna-se livre através da porção anterior da célula; Epimastigota – alongada com cinetoplasto justanuclear e anterior ao núcleo; possui pequena membrana ondulante lateralmente; Tripomastigota – alongada com cinetoplasto posterior ao núcleo; o flagelo forma uma extensa membrana ondulante e torna-se livre na porção anterior da célula (**Figura 26**) [BRENER *et al.*, 2000].

Figura 26. Formas epimastigota (a); tripomastigota (b) e amastigota (c).

I.4.1.1. Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* (Figura 27)

Figura 27. Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* (CDC, 2007).

I.4.2. *Triatoma infestans*

Triatoma infestans capturado em 711 municípios de 13 Estados foi considerado o principal vetor da doença de Chagas no Brasil, pela sua total domiciliação e altos índices de infecção por *Trypanosoma cruzi* (COURA *et al.*, 2000). Pertence ao Reino - Animalia; Subreino – Metazoa; Filo - Arthropoda; Classe - Insecta; Ordem - Hemiptera; Subordem - Heteroptera; Superfamília - Cimicomorpha; Família - Reduviidae; Subfamília - Triatominae; Gênero - *Triatoma*; Espécie – *Triatoma infestans*. Apresentam o corpo segmentado em cabeça, tórax e abdômen e as asas com a parte proximal rígida e a parte distal membranosa, por isso são considerados hemípteros. A probóscida não ultrapassa o primeiro par de patas. As diferenças nos gêneros estudados se baseiam no local da inserção da antena no clipeo e o formato da cabeça. *Triatoma* – cabeça alongada e antenas implantadas num ponto médio entre os olhos e o clipeo (**Figura 28**); A diferença entre macho e fêmea se dá pela observação da porção final do abdômen que na fêmea apresenta ovopositor claramente visível e no macho não, se apresentando regular (**Figura 29**).

Figura 28. *Triatoma infestans*.

Figura 29. Diferença da porção final do abdômen que na fêmea apresenta ovopositor (a) e o macho (b).

I.5. Doença de Chagas

A doença de Chagas é endêmica na América Latina, afetando de 15 milhões de pessoas, com 28 milhões expostas ao risco de infecção e 41.200 novos casos por ano (WHO, 2007), nas Américas causando aproximadamente 400.000 mortes anualmente (OMS, 1993) e 200.000 novos casos (WHO, 2003). No Brasil, é a terceira mais importante causa de mortes entre as doenças infecciosas e parasitárias, 13,6% e o número de óbitos registrados era muito relevante (6.000/ano) [DIAS, 2000].

Acima de seis milhões de pessoas foram infectadas somente no Brasil e próximo de 30% desenvolveram lesões especialmente no músculo cardíaco,

que caracteriza a fase crônica, incurável da doença (SCHOFIELD & MAUDLIN, 2001).

Em 1907 o Dr. Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, foi designado pelo então Diretor, Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz, para controlar a malária entre os trabalhadores na construção do prolongamento da Estrada de Ferro Central do Brasil, no Norte do Estado de Minas Gerais (COURA, 1997).

Em pouco tempo ali haveria de comprovar-se a virulência do protozoário, ao serem observados tripanosomas no sangue de um mico, infectado após ser picado por barbeiros (CARNEIRO, 1963).

Carlos Chagas encontra formas circulantes de *T. cruzi* no sangue da menina Berenice, que se tornou mundialmente famosa, e como conclui singelamente em seu retrospecto histórico de 1922: "estava assim verificada a existência de uma nova tripanosomíase humana" (BRENER, 1989).

O cultivo de *T. cruzi* em cultura de tecido - realizado, pela primeira vez, no Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por Herta Meyer e Oliveira (1948), e estudos posteriores de Meyer *et al.* (1954, 1958) com microscopia eletrônica de *T. cruzi* - exerceram enorme influência, possibilitando a evolução dos conhecimentos sobre a biologia do parasito.

Na Universidade de São Paulo, técnicas de diagnóstico laboratorial da doença de Chagas foram desenvolvidas (FREITAS, 1947; FREITAS & ALMEIDA, 1949). Também foram descritos os primeiros casos de doença de Chagas por transfusão de sangue (FREITAS *et al.*, 1952) e comprovada a ação da violeta de genciana como profilático (NUSSENZWEIG *et al.*, 1953).

O Dr. Emmanuel Dias foi um dos principais colaboradores e seguidores de Carlos Chagas. São importantíssimos seus estudos sobre o ciclo evolutivo

de *T. cruzi* e os aspectos clínicos da fase aguda e da cardiopatia crônica da doença de Chagas. Dentre tudo, entretanto, dedicou seus melhores esforços a luta contra o barbeiro, sendo o primeiro a testar o inseticida BHC na profilaxia da doença em 1947 (MS, 1989).

Em São Paulo, na Faculdade de Medicina e nos Institutos de Pesquisa Médica, também novo impacto é dado aos estudos sobre doença de Chagas, que já se torna então reconhecida em toda sua extensão e gravidade. A criação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto é uma etapa na história da doença de Chagas; sem dúvida, importantíssimos estudos foram empreendidos por Fritz Koeberle e seus assistentes (CHAGAS FILHO, 1968).

Descoberta por Carlos Chagas em 1909, pouco se sabia, quarenta anos depois, sobre as manifestações crônicas peculiares da doença, como megaesôfago, megacólon, cardiomegalia, aneurisma ventricular cardíaco, acalásia, etc., nem do mecanismo que as causava (KOEBERLE, 1963).

Muitos medicamentos foram experimentados contra *T. cruzi*, o quinoleínico "Bayer 7.602", com discreta atividade parasiticida, seguindo-se um arsenical composto de enxofre, denominado "Spirotrypan". Com o trabalho de Zigman Brener, indicando a necessidade de que o tratamento fosse prolongado (até 60 dias) e o surgimento de fármacos mais ativos, os nitrofuranos, dentre estes, o mais efetivo foi o nifurtimox (Lampit ®). Mais adiante surgiu outro fármaco, um derivado imidazólico denominado benzonidazol (Rochagan ®) [DIAS, 2006].

Os mecanismos de transmissão da doença de Chagas ao homem podem ser considerados, em ordem de frequência: primários, destacando-se a transmissão vetorial, por transfusão de sangue e hemoderivados, por via oral.

Inclusive pelo leite materno, ou por via placentária e no canal do parto pelo contato das mucosas do feto com o sangue da mãe infectado com *Trypanosoma cruzi*; e secundário, menos freqüentes ou acidentais, como acidentes de laboratórios, manejo de animais infectados, transplante de órgãos, por via sexual ou induzida criminosamente pela inoculação ou contaminação propositada de alimentos com o parasito (COURA *et al.*, 2000).

A contaminação pelo parasito irá depender de vários e diferentes fatores epidemiológicos já mencionados. O período de incubação é de 8 a 10 dias na transmissão vetorial, podendo ser muito maior (até 100 dias) na transmissão transfusional (BRENER, 1997). Na transfusão vetorial, os tripomastigotas metacíclicos das fezes do triatomíneo irão permanecer proximamente à porta de entrada, ali realizando um ciclo inicial de poucos dias (envolvendo principalmente o sistema macrofágico-mononuclear), findo o qual invadirão a corrente sanguínea e caracterizarão a fase aguda (DIAS, 2000).

Fase aguda: inclui congênita e por outras formas de transmissão, dura semanas, o diagnóstico principal é a detecção do parasito no sangue por exames diretos, existe uma alta taxa de cura (70 a 100%) no tratamento específico. As manifestações podem ser inaparentes ou levar a quadro de: febre, mal-estar e fraqueza, dor de cabeça, aumento do baço, do fígado e de gânglios linfáticos. Os sintomas dessa fase são mais comuns na infância. Em raros casos pode levar à morte por infecção da musculatura cardíaca (miocárdio) ou do cérebro. Sinais de porta de entrada (nos casos de transmissão por picada de barbeiro) são muito importantes no diagnóstico da fase aguda: inchaço das pálpebras (Sinal de Romaña) se o protozoário entra pela mucosa ocular, ou nódulo pouco doloroso e avermelhado no local da

picada ou da penetração do parasito (**Figura 30**) [STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000].

Figura 30. Sinais de porta de entrada da doença de Chagas.

Fase crônica: Ocorre após a fase aguda, dura décadas ou anos e o diagnóstico principal é a detecção de anticorpos da classe IgG. O tratamento específico é indicado em crianças e casos de fase crônica recente. Para os outros casos, dados experimentais mostram perspectivas mínimas de cura com as drogas atuais (STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000).

Fase crônica indeterminada: ausência de sintomas, eletrocardiograma normal e exames sorológicos positivos. Pode evoluir para a forma cardíaca, digestiva ou mista. Recomenda-se revisão médica anual, com eletrocardiograma (STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000).

Fase subaguda: ocorre quando o quadro cardíaco é muito intenso na fase aguda. A incidência é muito rara, certamente muito abaixo de 1% dos

casos. O quadro anatomopatológico é o de uma mioardite intensa e extensa, com muitos parasitos. Nestes casos indica-se o tratamento específico, acoplado com medidas suportivas quanto a ICC e, como medida heróica, com a corticoesteroidoterapia (DIAS, 2000).

Fase crônica determinada cardíaca: arritmias, palpitações, morte súbita, insuficiência cardíaca (provoca inchaço em membros inferiores e cansaço, e pode levar a parada cardíaca). Altera o eletrocardiograma, com destaque para o bloqueio de ramo direito e o hemibloqueio anterior esquerdo, além de extrasístolia ventricular. Recomenda-se revisão periódica por cardiologista e aposentadoria nos casos de arritmias graves e insuficiência cardíaca (STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000).

Fase crônica determinada digestiva (megaesôfago): falta de coordenação motora e dilatação de esôfago que dificultam deglutição, tornando necessário ingerir líquidos durante a alimentação. São freqüentes desnutrição e pneumonia. Indicada cirurgia e dilatação da abertura entre o esôfago e o estômago (STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000).

Fase crônica determinada digestiva (megacólon): dilatação do cólon (principalmente dos segmentos finais, o sigmóide e o reto), levando a constipação crônica (acumulação de matéria fecal). Cirurgia indicada nos graus mais elevados de constipação. Pode ocorrer obstrução intestinal por fezes muito endurecidas (fecaloma) e volvo (torção ou dobra do intestino), este sendo emergência cirúrgica (STEINDEL *et al.*, 2005; DIAS, 2000).

Para caracterizar o perfil clínico e demográfico dos portadores da forma digestiva da doença de Chagas atualmente atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, foram revistos 377 prontuários de

pacientes com resultado positivo para reação sorológica para a doença de Chagas atendidos entre janeiro de 2002 a março de 2003. A idade mediana dos pacientes era de 67 anos e 210 (56%) eram mulheres (KAMIJI, 2005).

Atualmente, dentre todas as substâncias estudadas, o tratamento da doença de Chagas tem sido concentrado em apenas duas substâncias, benzonidazol e nifurtimox (BRENER, 1984; CROFT, 1999). E, mesmo assim, a quimioterapia para essa doença é insatisfatória (ANDRADE *et al.*, 1996).

O nifurtimox é um medicamento que apresenta um efeito supressivo da parasitemia na fase aguda da infecção, enquanto que na fase crônica, não apresenta cura parasitológica (CROFT, 1999). Embora possa apresentar algum benefício ao paciente, os efeitos colaterais promovidos por este composto, podem comprometer o tratamento, já que apresentam propriedades mutagênicas e carcinogênicas em animais experimentais (ENGEL *et al.*, 1998; STOPPANI, 1999).

O benzonidazol apresenta, como o nifurtimox, uma rápida supressão da parasitemia em indivíduos infectados durante a fase aguda da doença de Chagas. A maioria dos pacientes tratados demonstrou positividade algum tempo após o início do tratamento (ANDRADE *et al.*, 1996; CROFT, 1999; STOPPANI, 1999) e os efeitos colaterais são tóxicos aos usuários (ENGEL *et al.*, 1998; STOPPANI, 1999). A única substância ativa no controle da doença de Chagas transfusional sendo utilizada como profilático é a violeta de Genciana (WHO, 1997)[**Figura 31**].

Todas as substâncias recomendadas para o tratamento das tripanosomíases e leishmanioses possuem limitações, incluindo a eficácia, toxicidade, tratamento prolongado, resistência e problemas de suscetibilidades,

ou combinações entre estas limitações (BRENER, 1984; CROFT, 1999).

Em trabalho publicado pelo nosso grupo, foi observado que várias lignanas dibenzilbutirolactônicas apresentaram atividade tripanocida significativa (BASTOS *et al*, 1999) o que torna promissora a avaliação tripanocida de lignanas.

Figura 31. Estrutura química das drogas usadas no tratamento e controle da “doença de Chagas”.

1.6. Classificação de microrganismos bucais (Figura 32) [ATCC, 2006]

Figura 32. Classificação taxonômica das bactérias utilizadas.

1.7 Microrganismos bucais.

Os microrganismos bucais foram os primeiros a serem observados por Leeuwenhoek (1683), mas o interesse pela microbiologia bucal ocorreu por volta de 1890, com os estudos de Miller. Williams (1897) observou um filme denso de microrganismos em lesão inicial de cárie de esmalte. Black (1898) criou o termo “placa” sem um conceito exato. A partir do final do século passado, até por volta de 1950, quando surgiram os animais assépticos, quase nada foi feito em relação ao estudo da placa (JORGE, 1998).

O termo cárie deriva do latim *carious*, que significa destruição ou putrefação. Os primeiros achados de cárie foram fósseis de peixes, há cerca de 280 milhões de anos; dinossauros herbívoros, 70 milhões de anos; fósseis de répteis, macacos e pré-homonídeos, 54 milhões de anos; em mamíferos há 25 milhões de anos. A cárie parece ter sido evidente no *Homo sapiens* há mais de 1 milhão de anos. Hipócrates (460-377 a.c) deu importância a presença de alimentos na boca, sugerindo que fatores locais e gerais interferiam na presença de cárie. Aristóteles (384-322 a.c) descreveu que figos macios e doces aderiam aos dentes, apodreciam e causavam cáries. Guy de Cabuliac (1300-1368), considerado o grande cirurgião da idade média, acreditava que a cárie dentária era uma verminose. Antonyvan Leeuwenhoek (1683), o pai da moderna microscopia, escreveu cartas para a Real Sociedade de Londres, descrevendo pequenos microrganismos “extraídos de um dente comprometido”, afirmando que os mesmos causavam desconforto e dor de dente. Em 1843, Erdl escreveu parasitas filamentosos na superfície membranosa dos dentes, porém apenas no final do século XIX, Miller (1853-1907), deu cunho científico às investigações, afirmando que a cárie era

causada por ácidos produzidos pelos microrganismos da boca (JORGE, 1998).

A cárie e a doença periodontal (**Figura 33**) são patologias que acometem a maior parte da população brasileira com altos níveis de prevalência e incidência (DUTRA, 2000). Em 1746 já se relatava que pouca ou nenhuma limpeza dos dentes é a causa mais comum para todas as doenças que os destroem. Conhecida antigamente como piorréia, a doença periodontal é uma doença infecto-contagiosa que causa alteração patológica dos tecidos periodontais (gengiva, ligamento periodontal, cemento e osso alveolar). Esta alteração patológica é causada principalmente pela ação da placa bacteriana ou biofilme. Já o cálculo dental ou tártaro nada mais é do que a placa bacteriana endurecida. A maior dificuldade enfrentada pelos pacientes portadores de doença periodontal consiste no controle do acúmulo de placa e tártaro sobre as estruturas dentais (LORENTZ *et al.*, 2005).

Figura 33. Gengiva saudável e periodontite.

Correlações entre biofilme dentário, etiologia da cárie dentária e gengivite já foram descritas em diversos estudos clínicos e laboratoriais. A formação de depósitos orgânicos na superfície dos dentes (biofilme) é maior em decorrência de higiene bucal inadequada. Diversos pesquisadores relataram formas de prevenir a formação do biofilme dentário, assim como promover sua desestruturação quando formado (LIM *et al.*, 1996).

A presença de leveduras do gênero *Candida* e de bactérias do gênero *Staphylococcus* na cavidade bucal humana adquire importância, pois podem atuar como microbiota suplementar e em determinadas situações ocasionar doença bucal ou sistêmica (COSTA & FUNARI, 1997). A cavidade bucal, por abrigar uma microbiota múltipla, propicia facilmente a instalação de doenças infecciosas. Sua grande variedade de microrganismos pode originar o aparecimento de variadas lesões em outros locais do organismo, ou ainda em casos especiais, provocar doenças sistêmicas (COSTA & FUNARI, 1997). Os possíveis agentes etiológicos de doenças sistêmicas, que, por seu potencial contaminante, podem levar a infecções cruzadas pelo trânsito de microrganismos entre paciente-profissional-paciente e/ou paciente-instrumental-paciente (COSTA & FUNARI, 1997).

Na cavidade bucal existe uma grande quantidade de espécies bacterianas formando pelo menos quatro ecossistemas distintos, dentro da ecologia normal dos tecidos. Dentre os microrganismos mais conhecidos estão os chamados estreptococos, que são, na realidade, alguns “subgrupos”, tais como os estreptococos viridans: *Streptococcus oralis* (*S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius* e *S. pneumoniae*), grupo do *Streptococcus mutans* (*S. mutans*, *S. rattus*, *S. cricetus*,

S. sobrinus, *S. ferus*, *S. macacae* e *S. downei*) e ainda o *Streptococcus salivarius* (KONEMAN *et al.*, 2001). Esses estreptococos são observados em 30 a 40% dos casos de endocardite bacteriana subaguda, produzindo bacteremias persistentes (KONEMAN *et al.*, 2001). Sendo a boca o maior habitat destas espécies, elas se adaptaram para colonizar superfícies tais como o epitélio bucal (*S. salivarius*), tecidos duros dentais ou biofilme dental (*S. sanguis*, *S. mutans* e *S. sobrinus*), o dorso da língua (*S. salivarius* e *S. mitis*) e a área do sulco gengival (*S. intermedius*, *S. mitis* e *S. oralis*) (SLOTS & TAUBMAN, 1992).

De 3 a 8 horas após a limpeza adequada dos dentes, cerca de 61% a 78% da microbiota que se estabelece na película adquirida é constituída por espécies de estreptococos (NYVAD & KILIAN, 1990), especificamente *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. gordonii*. *S. sanguis*, *S. mitis* e *S. oralis*, os quais compreendem 95% dos estreptococos dessa fase inicial (NYVAD & KILIAN, 1987). *S. mutans* tanto pode estar ausente como presente em baixos números (LINDHE, 1989). Durante muitos anos, acreditou-se que o estreptococos do grupo *mutans* constituíam grande parte de microbiota inicial, pela capacidade de produzir, a partir da sacarose, polissacarídeos extracelulares com propriedades de adesão. Os polissacarídeos produzidos por estes organismos atuam como um cimento, mantendo as células aderidas entre si, formando o ecossistema da placa dental. Como nesta etapa a placa não é muito permeável à saliva, os ácidos formados pelo metabolismo desses microrganismos não podem ser diluídos ou neutralizados, ocorrendo a desmineralização do esmalte, produzindo a lesão que inicia a cárie (JENKINSON, 1994).

O tratamento inicial da periodontite não resolve o problema de mau

hálito, revela estudo divulgado pela revista especializada *Journal of Periodontology* (QUIRYNEN *et al.*, 2005). De acordo com pesquisadores europeus, a quantidade de micróbios e compostos à base de enxofre não diminui na saliva quando se inicia um tratamento para periodontite. O uso de enxaguatórios bucais, no entanto, mostrou-se capaz de reduzir tanto as bactérias quanto as substâncias por elas produzidas, responsáveis pelo odor desagradável característico da halitose (QUIRYNEN *et al.*, 2005).

II. OBJETIVO

II. OBJETIVOS

Sintetizar a lignana ariltetralínica poligamaina 7 (**Figura 34**) na forma de racemato e partindo desta, obter por modificações estruturais, lignanas ariltetralínicas inéditas.

Avaliar as atividades tripanocida e antimicrobiana frente a patógenos bucais, das lignanas obtidas em mistura racêmica e dos enantiômeros isolados, após separação por CLAE quiral.

Figura 34. Rota sintética.

III.MATERIAL E MÉTODOS

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1. Equipamentos Utilizados

Ressonância Magnética Nuclear de ^1H usando o equipamento Bruker DPX 400 de 400 MHz para a obtenção do espectro de hidrogênio e de 100 MHz para obtenção de espectro ^{13}C . Os dados foram obtidos no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

Equipamento de cromatografia líquida Shimadzu, modelo SCL-10Avp com detector de arranjo de diodos Shimadzu (UV-DAD) modelo SPD-M10Avp e sistema controlador computadorizado com software Class VP, versão 5.02, coluna analítica C-18 (Shimadzu, 5 μm , 4,6 X 250 mm), vazão 1,0 mL/min; 40% acetonitrila: 60% água.

Na separação dos enantiômeros foram utilizadas as seguintes condições: para coluna analítica (M) 4,6 x 150 mm vazão de 1,0 mL/min; 90% hexano: 10% isopropanol – equipamento Shimadzu; bomba LC-10AD; detector SPD 10A; autoinjeter SIL-10AF; CBM-10A, software class LC10; para coluna semi-preparativa (M) 7,0 x 200 mm vazão 3,0 mL/min; 90% hexano: 10% isopropanol – equipamento – Shimadzu; bomba LC-8A; detector SPD-6AV, injetor manual Reodyne com looping de 200 μL ; CBM-10A; software class LC10. As colunas quirais são de tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de amilose em APS-nucleosil. Os dados foram obtidos no Laboratório de Síntese Orgânica, Departamento de Química da UFSCAR – São Carlos.

Polarímetro Perkin – Elmer 241 para obtenção de α_D . Os dados foram obtidos no Laboratório de Síntese e Bioorgânica, Departamento de Química da Faculdade de Química da UFSCAR – São Carlos.

III.2. Reagentes

Metanol (Merck, Co), paládio (Merck, Co), carvão ativo (Merck, Co), etanol (Merck, Co), n-butil lítio (Acros), diisopropilamida (Merck, Co), ácido trifluoroacético (Merck, Co), clorofórmio (Merck, Co), sílica gel 60 (Merck, Co), sódio metálico (Merck, Co), succinato de dimetila (Merck, Co), piperonal (Merck, Co), ácido clorídrico (Merck, Co), diclorometano (Merck, Co), bicarbonato de sódio (Merck, Co), sulfato de magnésio anidro (Acros), celite (Acros), fenolftaleína, cloreto de cálcio (Acros), hidróxido de potássio (Acros), tetrahidrofurano (Merck, Co), Boro hidreto de sódio (Merck, Co), hidreto de cálcio (Acros), hexano (Merck, Co), cloreto de amônia (Merck, Co), acetato de etila (Merck, Co), hidróxido de sódio (Acro), benzofenona (Acros), tolueno (Merck, Co).

III.2.1. Tratamento de reagentes

III.2.1.1. Secagem do THF

Refluxou-se THF com NaOH por doze horas e, em seguida destilou-se. Ao destilado adicionou-se Na⁰ e deixou-se sob atmosfera de nitrogênio por 30 minutos. Em seguida, transferiu-se o THF para um sistema de secagem adicionando-se Na⁰ e benzofenona. O solvente é refluxado até a formação de coloração azul escura o que indica que está seco.

III.2.1.2. Secagem da diisopropilamina

Em balão de 250 mL adicionaram-se 100 mL de diisopropilamina em KOH, deixou-se por uma hora e, em seguida, destilou-se. No balão que foi

coletada a diisopropilamina destilada, adicionou-se CaH_2 e após uma hora, deixou-se refluxar por quatro horas.

III.2.1.3. Secagem do tolueno

Em balão de 500 mL adicionaram-se 300 mL de tolueno em Na^0 e refluxou-se por uma hora antes do uso.

III.3. Síntese dos derivados

III.3.1. Preparação do ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butenóico (3) [LANDAIS *et al.*, 1991]:

Figura 35. Composto (3).

Em um balão de 25 mL com três bocas, provido de condensador de refluxo, agitação magnética e sob atmosfera de nitrogênio, preparou-se uma solução de metóxido de sódio (13,7 mmol) em metanol anidro (15 mL). Adicionou-se, cuidadosamente, 0,3203 g de sódio metálico no solvente até a completa dissolução. Após aquecimento sob refluxo, adicionou-se a mistura de succinato de dimetila (2) (2,0163 g; 13,7 mmol) e piperonal (1) (2,0015 g; 13,3 mmol) dissolvido em 5 mL de metanol anidro. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada. Após quatro horas de aquecimento sob refluxo, a mistura reacional foi resfriada e acidificada com uma solução de HCl (6 M). O metanol foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi extraído

com diclorometano. Extraíu-se a fase orgânica com uma solução aquosa de bicarbonato de sódio a 10% e acidificou-se a fase aquosa com ácido clorídrico concentrado até pH 1. Neste momento ocorreu a decantação de um óleo amarelo que foi extraído com diclorometano. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro e filtrada. A evaporação do solvente forneceu o composto **3** como um sólido amarelo que foi purificado por meio de várias recristalizações em metanol. **Rendimento:** 2,1121 g (8,07 mmol; 60%). **p.f.:** 150,5-151°C.

¹H-RMN δ (CDCl₃): 3,61 (s, H2); 3,85 (s, H6); 6,05 (s, H7); 6,85 (d, H5', $J_{5',6'}=8,1$ Hz); 6,89 (d, H2', $J_{2'-6'}=2,78$ Hz); 6,93 (dd, H6', $J_{6'-2'}=2,78$ e Hz e $J_{6',5'}=8,1$ Hz), 7,82 (s, H4).

BB: 33,64 (C2); 52,44 (C6); 101,48 (C3), 108,66 (C7); 109,11 (C5'); 123,63 (C2'); 124,06 (C1'); 128,57 (C6'); 142,43 (C4); 148,02 (C3'); 148,49 (C4'); 168,1 (C5); 177,03 (C1).

DEPT: 33,64 (C2); 52,43 (C6); 101,47 (C7); 108,66 (C5'); 109,11 (C2'); 124,06 (C6'); 142,43 (C4).

III.3.2. Preparação do ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butanóico (4):

Figura 36. Composto (4).

Preparou-se na autoclave uma suspensão de paládio (5%) sobre carvão ativo (198,0 mg) em metanol anidro (5 mL). Em seguida, adicionou-se o ácido **3** (0,5012 g; 1,88 mmol) dissolvido em 10 mL de metanol anidro e agitou-se vigorosamente a mistura reacional à temperatura ambiente sob pressão de 20 atmosferas de hidrogênio por doze horas. A suspensão foi filtrada através de celite e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto **4** foi purificado por cristalização, dissolvendo-se o óleo obtido em metanol à quente e, após o resfriamento, precipitou um sólido branco, que foi filtrado e secado sob pressão reduzida. **Rendimento:** 0,4015 g (1,52 mmol; 80%). **p.f.:** 106-107 °C.

¹H-RMN δ (CDCl₃): 2,45 (*dd*, H4a; $J_{4a,4b} = 17,0$ Hz; $J_{4a,3} = 5,0$ Hz); 2,67 (*dd*, H4b; $J_{4b,4a} = 17,0$ Hz; $J_{4b,3} = 9,0$ Hz); 2,70 (*dd*, H2a; $J_{2a,2b} = 13,0$ Hz; $J_{2a,3} = 9,0$ Hz); 2,97 (*dd*, H2b; $J_{2b,2a} = 13,0$ Hz; $J_{2b,3} = 6,0$ Hz); 3,01-3,08 (*m*, H3); 3,68 (*s*, H6); 5,93 (*s*, H7); 6,59 (*dd*, H6'; $J_{6',5'} = 7,8$ Hz; $J_{6',2'} = 1,6$ Hz); 6,64 (*d*, H2'; $J_{2',6'} = 1,6$ Hz); 6,72 (*d*, H5'; $J_{5',6'} = 7,8$ Hz).

BB: 34,7 (C2); 37,3 (C4); 42,9 (C3); 52,0 (C6); 100,9 (C7); 108,3 (C5'); 109,3 (C2'); 122,1 (C6'); 131,7 (C1'); 146,4 (C3'); 147,8 (C4'); 174,5 (C5); 177,5 (C1).

DEPT: 34,7 (C2); 37,3 (C4); 42,9 (C3); 52,0 (C6); 100,9 (C7); 108,3 (C5'); 109,3 (C2'); 122,1 (C6').

III.3.3. Preparação da 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-4,5-diidro-2(3H)-furanona

(5):

Figura 37. Composto (5).

Em um balão de 100 mL com duas bocas, provido de agitação magnética e atmosfera de nitrogênio, foi adicionada uma solução do ácido **4** (1,560 g; $5,87 \cdot 10^{-3}$ mol) em etanol absoluto (73 mL). Adicionou-se uma gota de fenolftaleína e, em seguida, KOH sólido ($0,3343 \text{ g}$; $5,87 \cdot 10^{-3}$ mol). A reação foi mantida sob agitação e temperatura ambiente até a mudança do indicador para pH básico (coloração rosa).

Em um balão de 50 mL com CaCl_2 ($2,2066 \text{ g}$; $0,0147 \text{ mol}$) em etanol absoluto (11 mL), resfriado a -10°C foi adicionada uma solução de NaBH_4 ($0,8867 \text{ g}$; $0,0235 \text{ mol}$) em etanol absoluto (11 mL) e, após 30 minutos, adicionou-se o sal de potássio preparado anteriormente. O meio reacional foi mantido em agitação constante e temperatura ambiente por cinco horas e, em seguida, resfriou-se a 0°C e acidificou-se com HCl (6M) agitando-se por mais quinze minutos para promover a formação da lactona. Adicionou-se, então, água destilada até a solução tornar-se clara. O etanol foi removido sob pressão reduzida. A fase aquosa foi extraída com diclorometano, o extrato orgânico foi lavado com água e secado com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi

removido sob pressão reduzida e o óleo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, usando como eluente uma mistura de hexano: acetato de etila (4:1) fornecendo o composto **5** como um óleo incolor. **Rendimento:** 0,0578 g (0,263 mmol; 70%).

^1H -RMN δ (CDCl_3): 2,23 (*dd*, H6a; $J_{6a,6b} = 17,0$ Hz; $J_{6a,4} = 6,8$ Hz); 2,57 (*dd*, H6b; $J_{6b,6a} = 17,0$ Hz; $J_{6b,4} = 7,7$ Hz); 2,66-2,69 (*m*, H3a e H3b); 2,74-2,82 (*m*, H4); 3,98 (*dd*, H5a; $J_{5a,5b} = 8,8$ Hz; $J_{5a,4} = 6,4$ Hz); 4,31 (*dd*, H5b; $J_{5b,5a} = 8,8$ Hz; $J_{5b,4} = 7,2$ Hz); 5,92 (*s*, H7); 6,58 (*d*, H5'; $J_{5',1'} = 8,8$ Hz); 6,62 (*sl*, H2'); 6,72 (*dd*, H1'; $J_{1',5'} = 8,8$).

BB: 34,7 (C6), 37,9 (C4), 39,2 (C3), 73,4 (C5), 102,0 (C7), 109,4 (C5'), 109,5 (C2'), 122,8 (C1'), 133,2 (C6'), 147,7 (C3'), 149,2 (C4'), 178,4 (C2).

DEPT: 34,5 (C6), 37,6 (C4), 39,0 (C3), 73,0 (C5), 101,4 (C7), 108,8 (C5'), 109,3 (C2'), 122,0 (C1').

III.3.4. Síntese da 7-hidroxi-hinoquinina (6)

Figura 38. Composto (6).

Em um balão de 25 mL com duas bocas, munido de agitação magnética e entrada para nitrogênio, adicionaram-se 5 mL de THF anidro e 0,183 g (1,82 mmol) de diisopropilamina e resfriou-se o sistema a 0°C. Adicionou-se, gota a gota, 1,2 mL de uma solução de *n*-butil-lítio (1,5 M em *n*-hexano; 1,82 mmol) e manteve-se sob agitação a 0°C durante quinze minutos. Em seguida, resfriou-se a -78°C e adicionou-se 0,2001 g (0,91 mmol) do composto **5** dissolvido em 1 mL de THF anidro, mantendo-se a mistura reacional sob agitação nessa temperatura durante uma hora e, em seguida, adicionou-se 0,1365 g (0,91 mmol) de piperonal **1**. A reação foi acompanhada por CCD constatando-se a formação de um único produto. A reação foi mantida a -78° C por quatro horas. Em seguida, a meio reacional foi tratado com solução saturada de NH₄Cl, e a mistura extraída com acetato de etila, sendo que os extratos orgânicos foram combinados e secados com sulfato de magnésio anidro. Após a evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se um resíduo na forma de óleo amarelo, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando como eluente uma mistura de hexano: acetato de etila (4:6). **Rendimento da mistura de diastereoisômeros 6, proporção 2:1** (*trans:cis* em relação ao acoplamento entre H8 e H7) 0,2995 g (0,81 mmol; 89%).

III.3.4.1 Separação dos diastereoisômeros (6a e 6b)

Figura 39. Diastereoisômeros **6a** e **6b**.

Partiu-se de 1,5 g da 7-hidroxi-hinoquinina (**6**) solubilizando-a em hexano:acetato de etila (1:1). O diastereoisômero *cis* (em relação ao C7 e C8) é insolúvel nesta mistura de solvente e precipita como um sólido branco. A parte solúvel na mistura de solvente foi removida, concentrada e novamente solubilizada na mesma mistura anterior para precipitação do diastereoisômero *cis*. Esse procedimento foi repetido por várias vezes até não mais precipitar o diastereoisômero. As frações contendo o diastereoisômero sólido foram colocadas num mesmo balão e foram lavadas várias vezes com a mesma

mistura de solventes. O diastereoisômero *trans*, líquido viscoso, foi obtido após concentração do solvente em rotaevaporador. **Rendimento:** 0,4635 g; 30% (*cis*); 1,0365 g; 70% (*trans*). **p.f.:** 134 -135 °C.

¹H RMN δ (CDCl₃) 6a: 7,0-6,3 (*m*, H aromáticos); 5,9 (*m*, H10 e H11); 5,2 (*d*, H7, *J* = 3,0 Hz); 4,3 (*dd*, H9a, *J* = 8,1 Hz e *J* = 8,9 Hz), 3,9 (*dd*, H9b, *J* = 5,8 Hz e *J* = 8,8 Hz); 2,7 (*m*, H8'); 2,5 (*dd*, H8, *J* = 3,0 Hz e *J* = 6,3 Hz); 2,4 (*dd*, H7'a, *J* = 8,1 Hz e *J* = 13,9 Hz); 2,2 (*dd*, H7'b, *J* = 7,6 Hz e *J* = 13,9 Hz).

¹H RMN δ (CDCl₃) 6b: 7,0-6,3 (*m*, H aromáticos); 5,9 (*m*, H10 e H11); 4,7 (*d*, H7, *J* = 8,6 Hz); 4,1 (*dd*, H9a, *J* = 8,1 Hz e *J* = 9,4 Hz), 3,8 (*t*, H9b, *J* = 8,8 Hz); 2,5 (*m*, H8'); 2,4 (*dd*, H8, *J* = 8,6 Hz e *J* = 9,4 Hz); 2,1 (*dd*, H7'a, *J* = 8,8 Hz e *J* = 13,9 Hz); 2,0 (*dd*, H7'b, *J* = 5,3 Hz e *J* = 13,9 Hz).

BB: 178,5 (C9); 148,3 (C3'); 148,1 (C4'); 147,4 (C4), 146,6 (C3); 135,2 (C1'); 131,9 (C6); 121,9 (C1); 118,8 (C6'); 109,1 (C5); 108,5 (C2); 108,5 (C2'); 106,2 (C5') 101,6 (C10); 101,4 (C11); 73,1 (C9'); 72,3 (C7); 53,14 (C8); 39,81 (C7'); 36,8 (C8'), alguns valores de C aromático podem estar trocados.

DEPT: 131,9 (C6); 118,8 (C6'); 109,1 (C5); 108,5 (C2); 108,5 (C2'); 106,2 (C5') 101,6 (C10); 101,4 (C11); 73,1 (C9'); 72,3 (C7); 53,14 (C8); 39,81 (C7'); 36,8 (C8'), alguns valores de C aromáticos podem estar trocados.

III.3.5. Síntese da lignana ariltetralínica poligamaina (7).

Figura 40. Composto (7).

A uma solução resfriada a 0 °C de 7-hidroxi-hinoquinina (6) [0,40 g; 1,1 mmol] em 5 mL de diclorometano foi adicionado 1,1 mmol de $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$. Essa mistura foi agitada por duas horas à temperatura ambiente e atmosfera de nitrogênio. Em seguida, o solvente foi removido à pressão reduzida e o sólido obtido foi lavado várias vezes com uma mistura de hexano-acetato de etila 7:3 apresentando desta forma pureza adequada determinada pelos espectros de RMN. A reação foi repetida com os compostos **6a** e **6b** separadamente e, após análise dos espectros de RMN, pode-se verificar que os compostos resultantes são iguais, com a mesma configuração. **Rendimento:** 0,37 g, 1,0 mmol, 98%, para todos. **p.f.:** 238 -239 °C.

III.3.5.1 Mistura racêmica de 7

^1H RMN δ (CDCl_3): 6,78 (*d*, H5', $J=8,1$ Hz); 6,75 (*dd*, H6', $J=8,1$ Hz e $J=1,5$ Hz); 6,59 (*d*, H2, $J=2,0$ Hz); 6,59 (*d*, H2', $J=1,5$ Hz); 6,32 (*d*, H5, $J=1,0$ Hz); 5,93 (*d*, H11, $J=2,0$ Hz); 5,88 (*d*, H10, $J=2,0$ Hz); 4,51 (*dd*, H9a, $J=8,6$ Hz e $J=6,6$ Hz);

4,05 (*dq*, H7', $J=11,1$ Hz e $J=1,0$ Hz); 3,97 (*dd*, H9b, $J=10,6$ Hz e $J=8,6$ Hz); 2,95 (*dd*, H7a, $J=15,3$ Hz e $J=4,8$ Hz); 2,82 (*dddd*, H7b, $J=15,3$ Hz, $J=11,1$ Hz, $J=2,0$ Hz e $J=1,0$ Hz); 2,58 (*dddd*, H8, $J=13,1$ Hz, $J=10,6$ Hz, $J=6,6$ Hz, $J=4,8$ Hz e $J=1,1$ Hz); 2,48 (*dd*, H8', $J=13,1$ Hz e $J=11,1$ Hz).

BB: 174,5 (C9'); 146,9 (C3'); 145,8 (C4'); 145,6 (C4); 145,5 (C3); 135,9 (C1'); 131,7 (C6); 126,9 (C1); 122,1 (C6'); 110,4 (C5); 109,0 (C2); 107,5 (C2'); 107,2 (C5'); 100,2 (C10); 100,1 (C11); 70,0 (C9); 47,8 (C8'); 45,1 (C7'); 39,0 (C8); 32,1 (C7).

DEPT: 122,1 (C6'); 110,4 (C5); 109,0 (C2); 107,5 (C2'); 107,2 (C5'); 100,2 (C10); 100,1 (C11); 70,0 (C9); 47,8 (C8'); 45,1 (C7'); 39,0 (C8); 32,1 (C7).

III.3.5.2 Diastereoisômeros separados

Figura 41. Obtenção da poligamaina.

7a

^1H RMN δ (CDCl_3): 6,95-6,18 (*m*, H aromático); 5,93 (*sl*, H11); 5,88 (*sl*, H10); 4,49 (*t*, H9a, $J = 7,5$ Hz); 4,05 (*d*, H7', $J = 11,1$ Hz); 3,97 (*t*, H9b, $J = 9,3$ Hz); 2,95 (*dd*, H7a, $J = 4,9$ e $J = 15,5$ Hz); 2,82 (*m*, H7b); 2,55 (*m*, H8); 2,40 (*dd*, H8', $J = 11,1$ Hz e $J = 13,5$ Hz).

BB: 175,8 (C9'); 148,2 (C3'); 147,1 (C4'); 146,9 (C4); 146,8 (C3); 137,3 (C1'); 133,0 (C6); 128,2 (C1); 123,4 (C6'); 110,4 (C5); 109,5 (C2); 108,8 (C2'); 108,6 (C5'); 101,5 (C10); 101,4 (C11); 71,4 (C9); 49,2 (C8'); 46,5 (C7'); 40,4 (C8); 33,4 (C7).

DEPT: 123,4 (C6'); 110,4 (C5); 109,5 (C2); 108,8 (C2'); 108,6 (C5'); 101,5 (C10); 101,4 (C11); 71,4 (C9); 49,2 (C8'); 46,5 (C7'); 40,4 (C8); 33,4 (C7).

(7b):

^1H RMN δ (CDCl_3): 6,80-6,10 (*m*, H aromático); 5,80 (*sl*, H11); 5,75 (*sl*, H10); 4,38 (*dd*, H9a, $J = 6,6$ Hz e $J = 8,6$ Hz); 3,92 (*d*, H7', $J = 11,1$ Hz); 3,85 (*dd*, H9b, $J = 8,6$ Hz e $J = 10,6$ Hz); 2,86 (*dd*, H7a, $J = 5,1$ e $J = 15,4$ Hz); 2,76 (*m*, H7b); 2,45 (*m*, H8); 2,35 (*dd*, H8', $J = 11,1$ Hz e $J = 13,6$ Hz).

BB: 175,8 (C9'); 148,2 (C3'); 147,1 (C4'); 146,9 (C4); 146,8 (C3); 137,3 (C1'); 133,0 (C6); 128,2 (C1); 123,4 (C6'); 110,4 (C5); 109,5 (C2); 108,8 (C2'); 108,6 (C5'); 101,5 (C10); 101,4 (C11); 71,4 (C9); 49,2 (C8'); 46,5 (C7'); 40,4 (C8); 33,4 (C7).

DEPT: 123,4 (C6'); 110,4 (C5); 109,5 (C2); 108,8 (C2'); 108,6 (C5'); 101,5 (C10); 101,4 (C11); 71,4 (C9); 49,2 (C8'); 46,5 (C7'); 40,4 (C8); 33,4 (C7).

III.3.6. Tentativas de redução da poligamaina (7) a lactol.

Figura 42. Tentativa de redução da lactona.

III.3.6.1. Síntese dos compostos 9.

Figura 43. Composto (9).

Partindo-se de poligamaina (7) (0,11664 g; 0,331 mmol), adicionaram-se 3 mL de THF seco e 0,6 mL de solução DIBAL 1M em THF. A mistura foi agitada por uma hora à temperatura ambiente e atmosfera de nitrogênio e

acompanhada com cromatografia em camada delgada comparativa. Em seguida adicionou-se acetato de etila, água e algumas gotas de ácido acético. Fizeram-se partições com acetato de etila para obtenção da fase orgânica, que em seguida foi lavada com água e seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado em coluna de sílica com fase móvel hexano: acetato de etila 1:1. **Rendimento:** 0,1061 g, 0,316 mmol, 95%. **p.f.:** 118 - 119 °C.

¹H RMN δ (CDCl₃): 6,67 (*d*, H5', *J* = 7,83 Hz); 6,60 (*dd*, H6', *J* = 7,83 Hz e *J* = 1,52 Hz); 6,47 (*s*, H2'); 6,45 (*d*, H2, *J* = 1,52 Hz); 6,12 (*s*, H5); 5,85 (*s*, H11); 5,75 (*dd*, H10, *J* = 1,26 Hz e *J* = 2,78 Hz); 3,80 (*dd*, H9a, *J* = 3,03 Hz e *J* = 10,86 Hz); 3,70 (*d*, H9b, *J* = 10,61 Hz); 3,72 (*dl*, H9'a, *J* = 10,35 Hz); 3,65 (*dd*, H9', *J* = 6,57 Hz e *J* = 10,61 Hz); 3,45 (*dd*, H7', *J* = 5,05 Hz e *J* = 11,12 Hz); 2,65 (*dd*, H7b, *J* = 11,12 Hz e *J* = 15,66 Hz); 2,60 (*dd*, H7a, *J* = 4,8 Hz e *J* = 15,9 Hz); 2,0-1,95 (*m*, H8); 1,75-1,65 (*m*, H8').

BB: 148,4 (C3'); 146,6 (C4); 146,2 (C4'); 146,1 (C3); 139,5 (C1'); 133,2 (C6); 129,6 (C1); 123,2 (C6'); 110,0 (C5'); 109,5 (C2); 108,4 (C2'); 108,2 (C5); 101,0 (C10); 101,3 (C11); 66,8 (C9); 63,1 (C9'); 48,7 (C7'); 48,6 (C8'); 40,1 (C8); 34,0 (C7).

DEPT: 146,1 (C3); 133,2 (C6); 123,2 (C6'); 109,5 (C2); 108,4 (C2'); 101,0 (C10); 101,3 (C11); 66,8 (C9); 63,1 (C9'); 48,7 (C7'); 48,6 (C8'); 40,1 (C8); 34,0 (C7).

III.3.6.1.1 Separação dos enantiômeros do composto 9.

Na separação dos enantiômeros, foi utilizada coluna quiral AD, na seguinte condição: fase móvel :Hexano/Isopropanol (90:10); vazão: 1,0 mL/min, UV 220nm. Após a separação foram feitos o α_D e RMN dos picos.

Pico (**a**): enantiômero (-)

Pico (**b**): enantiômero (+)

III.3.6.2. Redução da poligamaina com solução de DIBAL-H em THF ou tolueno a -78°C (WINTERFELDT, 1975).

Partindo-se de poligamaina (**7**) (0,02 g; 0,568 mmol), adicionaram-se 3 mL de THF seco ou tolueno e 1,5 mL de solução DIBAL 1M em THF ou tolueno. A mistura foi agitada por uma hora à -78°C e atmosfera de nitrogênio e acompanhada com cromatografia em camada delgada comparativa. Observou-se a formação de um novo produto, mas restou grande parte de material de partida. Então, adicionou-se mais 1 mL da solução de DIBAL, mantendo-se as condições reacionais por mais uma hora. A seguir, adicionou-se água destilada e fizeram-se partições com clorofórmio para obtenção da fase orgânica, que em seguida foi lavada com água e seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado em coluna com fase móvel hexano: acetato de etila 7:3. Pode-se concluir tratar-se do mesmo produto **9** discutido no item anterior.

III.3.6.3. Redução da poligamaina com solução de DIBAL-H em THF ou tolueno a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (TAKACS *et al.*, 1986)

A uma solução resfriada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ de poligamaina (**7**) (0,02 g; 0,568 mmol), adicionaram-se 2 mL de THF ou tolueno e uma solução de DIBAL 1M em THF ou tolueno. Após meia hora aumentou-se a temperatura para $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. A mistura foi mantida sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio por duas horas e, então, repetiu-se o procedimento utilizado no item anterior. O produto obtido foi o mesmo discutido anteriormente.

III.3.6.4. Redução da lignana ariltetralínica poligamaina com solução de LiAlH_4 em THF (EDLIN *et al.*, 2006)

Partindo-se de poligamaina (**7**) (0,02 g; 0,568 mmol), adicionou-se 1 mL de THF seco e 1 mL de hidreto de lítio e alumínio 0,25 M em THF a 0°C . O meio reacional foi mantido sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio durante uma hora. A reação foi acompanhada por CCD e após 24 horas, adicionou-se solução de tartarato potássio sódio (1 mL) e fizeram-se extrações com acetato de etila. A fase orgânica foi secada com MgSO_4 e rotaevaporada. O produto obtido foi o mesmo obtido pelos procedimentos anteriores.

III.7. Obtenção do savinin (10) (MORITANI *et al.*, 1996)

Figura 44. Composto (10).

A um balão de 25 mL de três bocas, munido de agitação magnética e entrada para nitrogênio, adicionou-se a 7-hidroxi-hinoquinina (6) (0,40 g; 1,1 mmol) em 10 mL de THF anidro, anidrido acético (0,14 mL, 1,44 mmol), trietilamina (0,20 mL, 1,44 mmol) e DMAP (0,02 g; 0,11 mmol). A reação foi mantida a temperatura ambiente e acompanhada por CCD. Após cinco horas, adicionou-se água destilada a mistura reacional e fizeram-se extrações com acetato de etila para obtenção da fase orgânica, que foi seca com MgSO_4 , filtrada e rotaevaporada. O produto acetilado (0,41 g; 0,96 mmol; 90%), foi purificado em coluna de sílica gel, utilizando como fase móvel hexano: acetato de etila 1:1.

Em seguida, dissolveu-se o derivado acetilado (0,4 g; 0,97 mmol) em 5 mL de THF e adicionaram-se 0,047 g de NaH a 0 °C. A mistura foi mantida sob temperatura ambiente durante 12 horas. Após este tempo adicionou-se água destilada e solução de HCl 2 M até pH 1-2. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila e seca com MgSO_4 . O solvente foi rotaevaporado e o óleo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como

eluente a fase móvel hexano:acetato de etila (4:1) fornecendo o savinin (**10**) como um sólido branco. **Rendimento:** 0,24 g (0,68 mmol; 70%). **p.f.:** 155-156°C

¹H RMN δ (CDCl₃): 7,62 (*d*, H7, *J* = 2,0 Hz); 6,78 (*d*, H2, *J* = 1,8 Hz); 6,61 (*dd*, H6, *J* = 8,1 Hz e *J* = 1,8 Hz); 6,52 (*d*, H5', *J* = 7,9 Hz); 6,46 (*d*, H=5, *J* = 8,1 Hz); 6,41 (*d*, H2', *J* = 1,8 Hz); 6,22 (*dd*, H6', *J* = 7,9 Hz e *J* = 1,8 Hz); 5,28 (*d*, H10a, *J* = 1,5 Hz); 5,28 (*d*, H10b, *J* = 1,5 Hz); 5,23 (*d*, H11a, *J* = 1,3 Hz); 5,21 (*d*, H11b, *J* = 1,3 Hz); 3,76 (*dd*, H9'a, *J* = 9,0 Hz e *J* = 1,8 Hz); 3,55 (H9'b, *J* = 9,0 Hz; *J* = 7,6 Hz e *J* = 0,7 Hz); 3,05 (*m*, H8'); 2,60 (*ddd*, H7'a, *J* = 14,2 Hz; *J* = 4,5 Hz e *J* = 0,7 Hz); 2,08 (*dd*, H7'b, *J* = 14,2 Hz e *J* = 9,9 Hz).

BB: 171,6 (C9), 149,1 (C4); 148,6 (C3); 148,4 (C3'); 146,9 (C4'); 136,4 (C7); 132,2 (C1'); 129,1 (C1); 127,2 (C8), 126,2 (C6); 122,3 (C6'); 109,5 (C2'); 108,9 (C2); 108,8 (C5); 1008,6 (C5'), 101,0 (C10); 101,5 (C11); 68,9 (C9'); 39,8 (C8'); 37,4 (C7').

DEPT: 136,4 (C7); 126,2 (C6); 122,3 (C6'); 109,5 (C2'); 108,9 (C2); 108,8 (C5); 1008,6 (C5'), 101,0 (C10); 101,5 (C11); 68,9 (C9'); 39,8 (C8'); 37,4 (C7').

III.8. Tentativa de redução do savinin (11)

Figura 45. Tentativa de redução do savinin.

Em um balão de duas bocas sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio, adicionou-se savinin (**10**) (0,05 g; 0,14 mmol) em 2 mL de THF e, em seguida, a -78°C , adicionou-se 0,22 mL de solução de DIBAL 1M em THF. A reação foi mantida a -78°C durante duas horas e acompanhada por CCD. Após este tempo, adicionou-se água destilada e fizeram-se extrações com clorofórmio. A purificação por cromatografia em coluna de sílica gel forneceu vários produtos que não puderam ser analisadas por RMN de ^{13}C e ^1H .

III.9 Tentativa de acetilação da poligamaina (RYCHNOVSKY & DAHANUKAR, 1996).

Figura 46. Tentativa de acetilação da poligamaina.

Em balões de duas bocas, munidos de agitação magnética, entrada para nitrogênio e a -78°C , adicionou-se poligamaina (**7**) (35 mg; 0,1 mmol) em 1 mL de THF e 0,1 mL de solução de DIBAL-H (1 M em THF) e, em seguida adicionou-se piridina (0,024 mL; 0,3 mmol), DMAP (12,13 mg; 0,1 mmol) e anidrido acético (0,014 mL; 0,15 mmol). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada e, após duas horas, adicionou-se água destilada e fizeram-se partições com acetato de etila, secou-se com sulfato de magnésio anidro, filtrou-se e rotaevaporou-se. Todavia, a reação não ocorreu nestas condições.

III.10. Ensaios biológicos

III.10.1. Atividade tripanocida *in vitro*

Ensaio realizado no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas Ribeirão Preto-USP pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque.

III.10.1.1. Preparação das formas tripomastigotas

As formas tripomastigotas da cepa Y do *T. cruzi* foram utilizadas no ensaio tripanocida e cultivados em linhagem de célula LLCMK₂ (NORVAL, 1979). As células foram cultivadas em meio RPMI-1640 (GIBCO), suplementado com 2 mM L-glutamina, 10 mM NaHCO₃, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 5% de soro bovino fetal inativo. A cultura foi mantida a 37°C e em atmosfera de 5% de CO₂ e 95 % de umidade. Sangue contendo as formas tripomastigotas foi adicionado à cultura celular na proporção de 3:1 (parasita:célula) e, após 24 horas, o sobrenadante foi

removido e o meio substituído. Após sete dias na mesma condição de cultivo, o sobrenadante foi removido e centrifugado, fornecendo formas parasitárias tripomastigotas livres para o bioensaio. As formas tripomastigotas livres foram transferidas para microplacas de 96 poços, na proporção de $1,0 \times 10^6$ formas do parasita e cada composto testado foi adicionado aos poços. Após 24 horas de incubação, atividade foi avaliada pelo uso de técnica colorimétrica com adição de sal de tetrazolium [MTT: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide], como descrito por Muelas-Serrano *et al.* (2000). Foram utilizados os controles negativo (solvente mais meio) e positivo (violeta genciana - 250 µg/mL).

III.10.1.2. Preparação das soluções

Soluções estoque foram preparadas por diluição dos compostos em dimetilsulfóxido (DMSO), para obter a concentração final de 20 mM para cada composto. Alíquotas da solução estoque foram adicionadas para suspensão do parasita, visando obterem-se concentrações finais de 8, 32 e 128 µM de cada composto, respectivamente.

III.10.1.3. Análise Estatística

O teste One-Way ANOVA foi usado para a análise estatística e foi complementado por análise de Tukey. Para determinação do IC₅₀, a curva dose- resposta sigmoidal foi usada como método estatístico.

III.10.2. Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de microdiuição em microplaca.

Ensaio realizado no laboratório de Pesquisa Bioquímica da UNIFRAN sob supervisão da Profa. Dra. Níege Araçari Jacometti Cardoso Furtado.

III.10.2.1. Preparo das amostras.

Foram preparadas soluções das substâncias contendo 1 mg/250 µL em DMSO. Após completa solubilização das substâncias foram adicionados 1750 µL de caldo triptona soja.

III.10.2.2. Microrganismos utilizados.

Utilizaram-se as cepas padrão de *Enterococcus faecalis* (ATCC 4082), *Streptococcus salivarius* (ATCC 25975), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456), *Streptococcus mutans* (ATCC 25275), *Streptococcus sobrinus* (ATCC 33478), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), *Lactobacillus casei* (ATCC 11578).

III.10.2.3. Preparo do inóculo.

Com o auxílio de uma alça de platina esterilizada, culturas de 24 horas dos microrganismos indicadores, desenvolvidas no ágar triptona soja foram transferidas para tubos contendo 10 mL de solução salina esterilizada. Padronizaram-se estas suspensões comparando-as com o tubo 0,5 da escala de McFarland (0,1 mL de cloreto de bário a 1,0 % + 9,9 mL de ácido sulfúrico a 1,0 %) por meio da verificação das absorvâncias em 625 nm (NCCLS, 2003). Em seguida, foi feita diluição no caldo triptona soja de modo a fornecer o inóculo de 5×10^5 UFC/mL .

III.10.2.4. Avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias.

Em microplacas esterilizadas de 96 orifícios foram feitas as determinações das CIM. Foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas utilizando-se o método de microdiluição em microplaca (NCCLS, 2003).

Em um dos orifícios de cada placa foi feito o controle da cultura, a qual deve apresentar crescimento bacteriano devido à ausência do agente antimicrobiano. Em outro orifício foi feito o controle de esterilidade do caldo triptona soja e em outro o controle do sistema solvente utilizado na solubilização dos extratos e das substâncias isoladas. Clorexidina foi utilizada como controle positivo.

As microplacas foram seladas com parafilme e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foram adicionados em cada orifício 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02 % (PALOMINO *et al.*, 2002). A manutenção da cor azul nos orifícios é interpretada como ausência de crescimento microbiano (microrganismo sensível à substância avaliada).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Estudo químico

A nova rota sintética adotada já foi utilizada por vários autores (LANDAIS *et al.*, 1991) para a obtenção de inúmeras lignano-lactonas e se encontra descrita no **Figura 47**.

Figura 47. Rota sintética de lignano-lactonas.

A condensação de Stobbe (JOHNSON & DAUB, 1951), entre o piperonal (1) e o succinato de metila (2) forneceu o ácido insaturado 3 com rendimento de 60%.

Figura 48. Provável mecanismo de reação para obtenção do ácido **3**.

No espectro de RMN de ^1H (**espectro 1**) podem-se observar sinais com deslocamentos químicos em δ 6,93 (*dd*, H-6'; 8,1 e 1,9 Hz), δ 6,89 (*d*, H-2'; 1,9Hz) e δ 6,79 (*d*, H5'; 8,1 Hz) correspondem aos hidrogênios do anel aromático. Sinais em δ 7,82 um singlete referente ao H-4, em 6,05 aos hidrogênios do grupo metilenodioxílico (*s*, H-7), e em δ 3,83 aos hidrogênios da

metila (s, H6) e em δ 3,59 (s, H-2) correspondente a um metilêno (CH₂). A confirmação deu-se nos dados obtidos no espectro de RMN de ¹³C (**espectro 2**). Nele podem-se destacar os sinais em δ 176,4 referente ao ácido carboxílico, em δ 33,6; δ 96,1; δ 142,4 referentes aos carbonos C-2, C-3 e C-4, respectivamente. Os carbonos C-5 e C-6 do éster em δ 168,1 e δ 52,4. Os demais valores referem-se aos carbonos do anel aromático e o sinal do grupo metilenodioxílico apresenta deslocamento químico em δ 101,4. No **espectro 3** os dados do DEPT (**Tabela 1**).

Tabela 1. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H a 400 MHz e ¹³C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **3** em CDCl₃.

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	176,4			
C1'	123,6			
C2	33,6	33,6	3,59 (s)	
C2'	109,1	109,1	6,89 (d)	1,9
C3	96,1			
C3'	148,0			
C4	142,4	142,4	7,82 (s)	
C4'	148,5			
C5	168,1			
C5'	108,6	108,6	6,79 (d)	8,1
C6	52,4	51,4	3,83 (s)	
C6'	124,0	124,0	6,93 (dd)	8,1 e 1,9
C7	101,4	101,4	6,0 (s)	

O ácido **3** foi submetido a hidrogenação catalítica sob 20 atmosferas de H_2 fornecendo o ácido **4** em 80% de rendimento.

Figura 49. Provável mecanismo para a obtenção do ácido **4**.

No espectro de 1H -RMN (**espectro 4**) destacam-se os sinais em δ 2,70 e δ 2,97 referentes ao grupo metilênico (H2a e H2b), a presença de um multipeto referente ao H-3 em δ 3,04 e os sinais do grupo metilênico (H-4a e H-4b) em δ 2,45 (*dd*, 17,0 e 5,0 Hz) e δ 2,67 (*dd*, 17,0 e 9,0 Hz), respectivamente. Também no espectro de ^{13}C -RMN (**espectro 5**) destacam-se os sinais relacionados à ausência da ligação dupla presente no composto de partida **4** que são C3 em δ 42,9 e o C4 em δ 37,3 (**Tabela 2**).

Tabela 2. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **4** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	177,5			
C1'	131,7			
C2	34,7	34,7	H2a: 2,70(<i>dd</i>) H2b: 2,97(<i>dd</i>)	13,0 e 9,0 13,0 e 6,0
C2'	109,3	109,3	6,64(<i>d</i>)	1,6
C3	42,9	42,9	3,04(<i>m</i>)	
C3'	146,4			
C4	37,3	37,3	H4a: 2,45(<i>dd</i>) H4b: 2,67(<i>dd</i>)	17,0 e 5,0 17,0 e 9,0
C4'	147,8			
C5	174,5			
C5'	108,3	108,3	6,72(<i>d</i>)	7,8
C6	52,0	52,0	3,68(<i>s</i>)	
C6'	122,1	122,1	6,59(<i>dd</i>)	7,8 e 1,6
C7	100,9	100,9	5,93(<i>s</i>)	

O tratamento do ácido **4** com KOH etanólico produziu o sal de potássio, o qual em reação com CaBH_4 , gerado *in situ*, reduziu o grupamento éster a álcool que após tratamento com HCl 6M forneceu a lactona **5** racêmica em rendimento de 70%.

Figura 50. Provável mecanismo para a obtenção da lactona **5**.

Os sinais com deslocamentos químicos entre δ 2,66-2,69 correspondem ao multipeto de H-3a e H3b; entre δ 2,74-2,82 ao multipeto referente ao H4; em δ 3,98 (*dd*; 8,8 e 6,4 Hz) e δ 4,31 (*dd*; 8,8 e 7,2 Hz) ao grupo metilênico H-5a e H-5b e em δ 2,23 (*dd*; 17,0 e 6,8) e δ 2,57 (*dd*; 17,0 e 7,7) ao grupo metilêno H6a e H6b. Os demais sinais são referentes aos hidrogênios benzílicos e aos hidrogênios do grupo metilenodioxílico (**espectro 7**). No espectro de RMN de

^{13}C (**espectro 8**), podem-se destacar os sinais em δ 178,4 (carbonila da lactona); δ 39,2; δ 37,9; δ 73,4 e δ 34,7 referentes aos C-2, C-3, C-4, C-5 e , C-6, respectivamente. O C-7 que corresponde ao grupo metilenodioxílico em δ 102,0. Os demais valores referem-se aos carbonos do anel aromático. (**Tabela 3**).

Tabela 3. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **5** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1'	122,8	122,0	6,72 (<i>dd</i>)	8,8 e 3,8
C2	178,4		6,62 (<i>sl</i>)	
C2'	109,5	109,3		
C3	39,2	39,0	H3a e H3b 2,66-2,69 (<i>m</i>)	
C3'	147,7			
C4	37,9	37,6	2,74-2,82 (<i>m</i>)	
C4'	149,2			
C5	73,4	73,0	H5a 3,98 (<i>dd</i>) H5b 4,31 (<i>dd</i>)	8,8 e 6,4 8,8 e 7,2
C5'	109,4	108,8	6,58 (<i>d</i>)	8,8
C6	34,7	34,5	H6a 2,23 (<i>dd</i>) H6b 2,57 (<i>dd</i>)	17,0 e 6,8 17,0 e 7,7
C6'	133,2			
C7	102,0	101,4	5,92 (<i>s</i>)	

Desta forma, a lactona **5** em reação com dois equivalentes de LDA (BODE *et al.*, 1996; MORITANI *et al.*, 1996) e piperonal (**1**) forneceu os diastereoisômeros **6** em 89% de rendimento na proporção de 2:1 obtida pelas integrais do espectro de ^1H -RMN.

Figura 51. Provável mecanismo para a obtenção da 7-hidróxi-hinoquinina (6).

A reação de condensação da lactona **5** com piperonal (**1**) gera um composto preferencialmente com configuração *trans*, pelo impedimento estérico da configuração *cis*.

A 7-hidroxi-hinoquinina (**6**) foi separada nos seus diastereoisômeros *cis* e *trans* (acoplamento entre H8 e H7) por precipitação do diastereoisômero *cis* em hexano:acetato de etila 1:1. O diastereoisômero *cis* é um sólido branco fino, já o isômero *trans* é um líquido viscoso. A separação dos diastereoisômeros **6** (**6a** e **6b**) [Figura 52] nesta etapa facilitou a interpretação de espectros.

Figura 52. Separação do *cis* e *trans* 7-hidroxi-hinoquinina (**6**).

No espectro de RMN de ^1H do composto **6a** (**espectro 13**) podem-se observar os sinais dos hidrogênios aromáticos δ 7,0-6,3, os sinais em δ 2,4 (*dd*; 8,1 e 13,9 Hz) e δ 2,2 (*dd*; 7,6 e 13,9 Hz) que correspondem ao H7'a e H7'b, o sinal em δ 2,7, multipeto, referente aos H8'. Os hidrogênios H9' são

representados em δ 4,3 (*dd*; 8,1 e 8,9 Hz) e em δ 3,9 (*dd*; 5,8 e 8,8 Hz) e o H7 com deslocamento químico em δ 5,2 (*d*; 3,0Hz). Os sinais dos hidrogênios do grupo metilenodioxílico ocorrem em δ 5,84 (*dd*; 1,5 e 8,3 Hz) e δ 5,90 (*dd*; 1,5 e 6,3 Hz). Quanto aos valores para o composto **6b** (**espectro13**) pode-se verificar que são iguais ou muito próximos aos verificados para **6a**, com mudança apenas nos valores de acoplamento referentes a H8, δ 2,5 (*dd*; 3,0 e 6,3 Hz) para 6a e δ 2,4 (*dd*; 8,6 e 9,4 Hz), para 6b. Nos espectros de RMN de ^{13}C (**espectro 14** e **17**) podem-se destacar: o sinal em δ 178,5 referente a carbonila da lactona (C-9); na região de δ 73,1 referente ao C-9' e os sinais do C-8 e C-8' em δ 53,1 e δ 36,8, respectivamente. Os carbonos C-7 e C7' encontram-se com deslocamentos químicos de δ 72,3 e δ 39,8, respectivamente, e os sinais em δ 101,6 e δ 101,4 referem-se aos carbonos dos grupos metilenodioxílicos. Os demais valores apresentados na tabela são dos carbonos aromáticos (ZHAO *et al.*, 2006) [**Tabela 4 e 5**].

Tabela 4. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **6a** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	121,9			
C1'	135,2			
C2	108,5	108,5		
C2'	108,5	108,5		
C3	146,6			
C3'	148,3			
C4	147,4			
C4'	148,1			
C5	109,1	109,1		
C5'	106,2	106,2		
C6	131,9	131,9		
C6'	118,8	118,8		
C7	72,3	72,3	5,2(<i>d</i>)	3,0
C7'	39,8	39,8	H7'a: 2,4(<i>dd</i>) H7'b: 2,2(<i>dd</i>)	8,1 e 13,9 7,6 e 13,9
C8	53,1	53,1	2,5(<i>dd</i>)	3,0 e 6,3
C8'	36,8	36,8	2,7(<i>m</i>)	
C9	178,5	178,5		
C9'	73,1	73,1	H9'a: 4,3 (<i>dd</i>) H9'b: 3,9(<i>dd</i>)	8,1 e 8,9 5,8 e 8,8
C10	101,6	101,4	5,9(<i>m</i>)	
C11	101,4	101,6	5,9(<i>m</i>)	
H aromáticos			7,0-6,3(<i>m</i>)	
-OH			2,9(<i>s</i>)	

* Alguns valores de C aromáticos podem estar trocados.

(6b)

Tabela 5. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **6b** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	121,9			
C1'	135,2			
C2	108,5	108,5		
C2'	108,5	108,5		
C3	146,6			
C3'	148,3			
C4	147,4			
C4'	148,1			
C5	109,1	109,1		
C5'	106,2	106,2		
C6	131,9	131,9		
C6'	118,8	118,8		
C7	72,3	72,3	5,2(<i>d</i>)	3,0
C7'	39,8	39,8	H7'a: 2,1(<i>dd</i>) H7'b: 2,0(<i>dd</i>)	8,8 e 13,9 5,3 e 13,9
C8	53,1	53,1	2,4(<i>dd</i>)	8,6 e 9,4
C8'	36,8	36,8	2,5(<i>m</i>)	
C9	178,5	178,5		
C9'	73,1	73,1	3,8(<i>t</i>)	8,8
C10	101,6	101,4	5,9(<i>m</i>)	
C11	101,4	101,6	5,9(<i>m</i>)	
H aromáticos			7,0-6,3(<i>m</i>)	
-OH			2,9(<i>s</i>)	

* Alguns valores de C aromático podem estar trocados.

Partindo-se das lignanas **6**, **6a** e **6b** sob reação com ácido trifluor acético ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$) [LANDAIS *et al.*, 1991], foi possível obter a lignano-lactona ariltetralínica poligamaina (**7**) com 98% de rendimento, cujo esqueleto básico é análogo ao da podofilotoxina muito conhecida pelas propriedades biológicas de seus derivados (PERAZA & PENA, 1992).

Figura 53. Provável mecanismo para a obtenção da poligamaina (**7**).

Analisando-se os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **7**, **7a** e **7b**, pode-se verificar que possuem deslocamentos químicos e acoplamentos iguais. Para a confirmação de estereoquímica, foi feito espectro de NOE dos compostos **7a** e **7b**, que confirmaram ser o mesmo composto. Portanto na reação de ciclização de **6a** e **6b**, indiferente de suas configurações, o composto obtido é o mesmo.

No espectro de RMN de ^1H (**espectro 19**) os deslocamentos químicos em δ 4,05 (*dq*; 11,1 e 1,0 Hz), δ 2,48 (*dd*; 11,1 e 13,1 Hz), δ 2,95 (*dd*; 4,8 e 15,3

Hz), δ 2,82 (*dddd*; 1,0; 2,0; 11,1 e 15,3 Hz), δ 2,58 (*dddd*; 13,1; 11,1; 10,6; 6,6 e 4,8 Hz), δ 4,51 (*dd*; 8,6 e 6,6 Hz) e δ 3,97 (*dd*, 10,6 e 8,6 Hz) correspondem aos hidrogênios H7', H8', H7a; H7b; H8; H9a e H9b. Também se podem observar os demais sinais referentes aos hidrogênios aromáticos, notificando a ausência do H6 devido a ciclização, o qual está presente no composto de partida 7-hidroxi-hinoquinina (**6**), bem como os do grupo metilenodioxílico em δ 5,93 (H11; *d*; 2,0 Hz) e δ 5,88 (H-11; *d*; 2,0 Hz). Observando-se os espectros dos compostos **7a** e **7b**, verifica-se pelos valores de deslocamento químico que o composto resultante é o mesmo em todos os casos. Quanto aos espectros obtidos pela técnica de RMN de ^{13}C (**espectros 23 e 30**) destacam-se os sinais referentes aos carbonos 7 e 7', δ 32,1 e 45,1, respectivamente. Os deslocamentos químicos referentes aos carbonos 8 e 8' possuem valores de δ 39,0 e δ 47,8, respectivamente. Já para o carbono 9 atribuiu-se o valor de δ 70,0 e para o carbono 9' o deslocamento químico de δ 174,5. Os outros sinais referentes aos carbonos aromáticos e do grupo metilenodioxílico não apresentaram variações significativas comparando-se com os valores dos espectros da 7-hidroxi-hinoquinina (**6**) (**Tabelas, 6, 7 e 8**).

Os valores obtidos são correspondentes aos dados descritos na literatura (SILVA *et al.*, 2004)

Tabela 6. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **7** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	126,9			
C1'	135,9			
C2	109,0	109,0	6,59(<i>d</i>)	2,0
C2'	107,5	107,5	6,59(<i>d</i>)	1,5
C3	145,5			
C3'	146,9			
C4	145,6			
C4'	145,8			
C5	110,4	110,4	6,32(<i>d</i>)	1,0
C5'	107,2	107,2	6,78(<i>d</i>)	8,1
C6	131,7			
C6'	122,1	122,1	6,75(<i>dd</i>)	8,1 e 1,5
C7	32,1	32,1	H7a: 2,95(<i>dd</i>) H7b: 2,82(<i>dddd</i>)	4,8 e 15,3 2,0; 1,0; 11,1 e 15,3
C7'	45,1	45,1	4,05(<i>dq</i>)	11,1 e 1,0
C8	39,0	39,0	2,58(<i>dddddd</i>)	13,1; 10,6; 11,1; 6,6 e 4,8
C8'	47,8	47,8	2,48(<i>dd</i>)	11,1 e 13,1
C9	70,0	70,0	H9a: 4,51 (<i>dd</i>) H9b: 3,97 (<i>dd</i>)	8,6 e 6,6 10,6 e 8,6
C9'	174,5			
C10	100,2	100,0	H10: 5,88(<i>d</i>)	2,0
C11	100,1	100,1	H11: 5,93(<i>d</i>)	2,0

* Alguns valores de C aromático podem estar trocados.

Tabela 7. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **7a** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	128,2			
C1'	137,3			
C2	109,5	109,5	6,95-6,18 (<i>m</i>)	
C2'	108,8	108,8	6,95-6,18 (<i>m</i>)	
C3	146,8			
C3'	148,2			
C4	146,9			
C4'	147,1			
C5	110,4	110,4	6,95-6,18 (<i>m</i>)	
C5'	108,6	108,6	6,95-6,18 (<i>m</i>)	
C6	133,0			
C6'	123,4	123,4	6,95-6,18 (<i>m</i>)	
C7	33,4	33,4	H7a: 2,95(<i>dd</i>) H7b: 2,82(<i>m</i>)	4,9 e 15,5
C7'	46,5	46,5	4,05(<i>d</i>)	11,1
C8	40,4	40,4	2,55(<i>m</i>)	
C8'	49,2	49,2	2,40(<i>dd</i>)	11,1 e 13,5
C9	71,4	71,4	H9a: 4,49 (<i>t</i>) H9b: 3,97 (<i>t</i>)	7,5 9,3
C9'	175,8			
C10	101,5	101,5	H10: 5,88(<i>s</i>)	
C11	101,4	101,4	H11: 5,93(<i>s</i>)	

* Alguns valores de C aromático podem estar trocados.

Tabela 8. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **7b** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	128,2			
C1'	137,3			
C2	109,5	109,5	6,80-6,10 (<i>m</i>)	
C2'	108,8	108,8	6,80-6,10 (<i>m</i>)	
C3	146,8			
C3'	148,2			
C4	146,9			
C4'	147,1			
C5	110,4	110,4	6,80-6,10 (<i>m</i>)	
C5'	108,6	108,6	6,80-6,10 (<i>m</i>)	
C6	133,0			
C6'	123,4	123,4	6,80-6,10 (<i>m</i>)	
C7	33,4	33,4	H7a: 2,86 (<i>dd</i>) H7b: 2,76 (<i>m</i>)	15,4 e 5,1
C7'	46,5	46,5	3,92 (<i>d</i>)	11,1
C8	40,4	40,4	2,45 (<i>m</i>)	
C8'	49,2	49,2	2,35 (<i>dd</i>)	11,1 e 13,6
C9	71,4	71,4	H9a: 4,38 (<i>dd</i>) H9b: 3,85 (<i>dd</i>)	6,6 e 8,6 8,6 e 10,6
C9'	175,8			
C10	101,5	101,5	H10: 5,75 (<i>s</i>)	
C11	101,4	101,4	H11: 5,80 (<i>s</i>)	

* Alguns valores de C aromático podem estar trocados.

Verificando-se os espectros (25 a 28) de NOE da poligamaina (7) com irradiações nas frequências dos hidrogênios H8, H7, H9a, H9b, H7' e H8' observa-se que o H8 tem efeito NOE com H9a, H7' e H7, estando assim no mesmo plano, H7' tem NOE com H8 e este é *trans* em relação ao H8' (**Figura 54**).

Figura 54. Estereoquímica dos diastereoisômeros da poligamaina (7).

A redução da carbonila da lactona a lactol, composto 8, não ocorreu como se pensava inicialmente, provavelmente devido ao impedimento estérico proveniente do anel aromático ligado no C7' (**Figura 55**).

Figura 55. Redução da carbonila da lactona a lactol.

Portanto, optou-se por realizar a redução da lactona antes da obtenção do esqueleto ariltetralínico, partindo-se de 6, segundo a **Figura 56**. Os produtos formados nesta etapa da redução não puderam ser identificados devido a quantidade de diastereoisômeros formados, ocorrendo o aparecimento de vários sinais no espectro de RMN. Mesmo na tentativa da redução dos

diastereoisômeros separados **6a** e **6b**, também não foi possível identificar os sinais no espectro de RMN.

Figura 56. Redução da lactona.

As tentativas de redução da poligamaina com DIBAL-H em THF (1 Eq); DIBAL-H em tolueno (1 Eq); CaBH_4 (1 Eq) ou com LiAlH_4 (1 Eq), todas testadas a -78°C , -10°C ou temperatura ambiente, para a redução da carbonila da lactona a lactol, composto **8**, não ocorreram. O que ocorre no caso de redução, é a formação do composto **9**, o que também ocorre se aumentar o número de equivalentes de DIBAL-H.

O composto **7** foi reduzido com DIBAL-H a temperatura ambiente em THF, fornecendo o composto **9**, uma lignana 9,9'-dihidroxiariltetralínica (**Figura 57**) em rendimento de 95%, cuja estereoquímica permanece a mesma do composto de partida, pois a reação de redução com DIBAL não afeta a estereoquímica do anel ariltetralínico do produto formado.

Figura 57. Provável mecanismo de obtenção do composto **9**.

No espectro de RMN de ^1H (**espectro 32**) o aparecimento dos sinais de deslocamentos químicos em δ 3,72 (*dl*; 10,35 Hz) e δ 3,65 (*dd*; 10,61 e 6,57 Hz), são referentes aos H9'a e H9'b, pela ocorrência da abertura do anel lactônico e redução da carbonila a álcool; e ainda em δ 4,49 (*dd*; 10,86 e 3,03

Hz) e δ 3,97 (*d*, 10,61 Hz), H9a e H9b. Também se podem observar os deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^{13}C (**espectro 33**), dos quais destacam-se os sinais referentes aos carbonos 9 e 9', δ 66,8 e 63,1, respectivamente. A principal mudança no valor da RMN de ^{13}C é do carbono referente ao carbono 9' (δ 175,8) no composto **7**, antes da redução, após a reação de redução o deslocamento aparece em δ 63,1 (**Tabela 9**).

Nos cromatogramas obtidos por CLAE, pode-se verificar que a poligamaina obtida da 7-hidroxi-hinoquinina (a) ou da (b), apresentou pico com tempo de retenção igual de 6,71 minutos. Após a redução de (**7**), o composto (**9**), apresenta um único pico, com tempo de retenção em 13 minutos (**Figura 58**).

Nos cromatogramas obtidos por CLAE quiral do composto (**9**), pode-se verificar no primeiro cromatograma mistura dos estereoisômeros, um com tempo de retenção próximo de 15 minutos e o outro próximo de 20 minutos. Após a separação pode-se observar que (**a**) continua com o tempo de retenção em 15 minutos e (**b**) em 20 minutos (**Figura 59**).

Tabela 9. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **9** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	129,6			
C1'	139,5			
C2	109,5	109,5	6,45(<i>d</i>)	1,5
C2'	108,4	108,4	6,47 (<i>sl</i>)	
C3	146,1			
C3'	148,4			
C4	146,6			
C4'	146,2			
C5	108,2	108,2	6,12(<i>sl</i>)	
C5'	110,0	110,0	6,67 (<i>d</i>)	7,8
C6	133,2			
C6'	123,2	123,2	6,60 (<i>dd</i>)	7,8 e 1,5
C7	34,0	34,0	H7a: 2,60 (<i>dd</i>) H7b: 2,65 (<i>dd</i>)	4,8 e 15,9 11,1 e 15,7
C7'	48,7	48,7	3,45 (<i>dd</i>)	5,0 e 11,1
C8	40,1	40,1	2,0-1,95 (<i>m</i>)	
C8'	48,6	48,6	1,75-1,65 (<i>m</i>)	
C9	66,8	66,8	H9a: 3,8 (<i>dd</i>) H9b: 3,7 (<i>d</i>)	10,86 e 3,03 10,61
C9'	63,1	63,1	H9'a: 3,72 (<i>dl</i>) H9'b: 3,65(<i>dd</i>)	10,35 10,61 e 6,57
C10	101,0	101,0	5,75(<i>dd</i>)	1,26 e 2,8
C11	101,3	101,3	5,85(<i>sl</i>)	
-OH			2,15(<i>s</i>)	

* Alguns valores de C aromático podem estar trocados.

Figura 58. CLAE dos diastereoisômeros de **6a**, **6b**, **7** e **9**.

Figura 59. CLAE do composto **9** e dos estereoisômeros **(a)** e **(b)**.

Após análise por α_D , verifica-se que o pico **(a)** é o enantiômero (-) **9** e o pico **(b)** o enantiômero (+) **9**. Foi feito RMN ^1H dos picos, que confirma as estruturas dos compostos. Outros dados obtidos foram o cálculo das áreas e o UV dos picos (**Figura 60**).

Compostos	Área	Área (%)	UV
(-) 9	8420369	50,014	<p>Comprimento de onda máximo= 206 nm e 236 nm.</p>
(+) 9	8415627	49,986	<p>Comprimento de onda máximo= 206 nm e 236 nm.</p>

Figura 60. Áreas e UV dos enantiômeros (-)9 e (+)9.

Numa outra tentativa de obtenção do composto **8** (**Figura 61**), a mistura dos compostos **6a** e **6b** foi acetilada gerando a mistura de acetatos correspondentes que após tratamento com NaH/THF forneceu a lignana dibenzilbutirolactônica savinin (**10**) em rendimento de 70%.

Figura 61. Tentativa de nova rota para obtenção do composto **8**.

Figura 62. Possível mecanismo de obtenção do savinin (**10**) [KLEMENC, 2002; XU *et al.*, 2005].

(10)

Tabela 10. Dados obtidos pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H a 400 MHz e ^{13}C a 100 MHz e DEPT 135 do composto **10** em CDCl_3 .

Atribuição	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT	$\delta^1\text{H}$	$J(\text{Hz})$
C1	129,1			
C1'	132,2			
C2	108,9	108,9	6,78 (<i>d</i>)	1,8
C2'	109,5	109,5	6,41 (<i>d</i>)	1,8
C3	148,6			
C3'	148,4			
C4	149,1			
C4'	146,9			
C5	108,8	108,8	6,46 (<i>d</i>)	8,1
C5'	108,6	108,6	6,52 (<i>d</i>)	7,9
C6	126,2	126,2	6,61 (<i>dd</i>)	8,1 e 1,8
C6'	122,3	122,3	6,22 (<i>dd</i>)	7,9 e 1,8
C7	136,4	136,4	7,62 (<i>d</i>)	2,0
C7'	37,4	37,4	H7'a: 2,6 (<i>ddd</i>) H7'b: 2,08 (<i>dd</i>)	14,2; 4,5 e 0,7 14,2 e 9,9
C8	127,2			
C8'	39,8	39,8	3,05 (<i>m</i>)	
C9	171,6			
C9'	68,9	68,9	H9'a: 3,76 (<i>dd</i>) H9'b: 3,55 (<i>ddd</i>)	9,0 e 1,8 9,0; 7,6 e 0,7
C10	101,0	101,0	H10a: 5,28 (<i>d</i>) H10b: 5,28 (<i>d</i>)	1,5 1,5
C11	101,5	101,5	H11a: 5,23 (<i>d</i>) H11b: 5,21 (<i>d</i>)	1,3 1,3

Esse composto foi então tratado com DIBAL 1M em THF, gerando uma mistura de compostos que após purificação por cromatografia de sílica gel, as várias frações obtidas foram submetidas a ^1H -RMN e em nenhuma delas pode-se observar a presença do H9 resultante de redução da carbonila.

IV.2. Ensaios biológicos

A avaliação da atividade tripanocida foi realizada por meio da verificação da porcentagem de lise das formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Nos resultados apresentados na **tabela 11**, tendo como base os resultados da 7-hidroxi-hinoquinina (**6**), como composto de partida para obtenção dos demais compostos, pode-se verificar que a separação dos diastereoisômeros **6a** e **6b**, melhora os resultados comparando-se com os obtidos para o composto **6**.

Pode-se verificar que após a ciclização dos compostos **6**, **6a** e **6b** para fornecer o composto **7** houve uma diminuição significativa da atividade tripanocida, provavelmente pelo efeito de uma grande rigidez na molécula que agora já não tem rotação livre nos carbonos 7 e 7'. No entanto, modificações estruturais da poligamaina (**7**), como a redução do anel furânico para diol (composto **9**), o resultado da atividade aumenta, provavelmente pela existência de dois grupos hidroxílicos. Observando os resultados da atividade tripanocida após a separação dos enantiômeros, verifica-se que os resultados são bem inferiores aos do composto antes da separação. Pode ser que ocorra uma interação destes em mistura, que potencialize esta atividade.

Tabela 11. Determinação da porcentagem de lise e valores de IC₅₀ contra as formas tripomastigota da cepa Y de *Trypanosoma cruzi*.

Substância	% de lise X concentração (μM) ± S.D.			IC ₅₀ (μM)
	8,0	32,0	128,0	
6	6,7 ± 3,2	33,0 ± 6,9	68,3 ± 5,2	63,3
6a	46,2 ± 8,8	56,9 ± 4,4	71,2 ± 7,1	5,5
6b	40,6 ± 4,4	50,6 ± 0,9	60,0 ± 7,1	3,3
7	4,95 ± 2,6	14,8 ± 3,0	25,8 ± 0,4	724,4
9	51,2 ± 5,3	61,9 ± 0,9	58,1 ± 2,6	1,4
(-)9	29,3 ± 5,5	35,1 ± 2,2	44,4 ± 2,9	351,8
(+)9	11,2 ± 1,7	33,7 ± 8,9	47,3 ± 5,9	135

* controle positivo- violeta genciana na concentração de 250 μg/mL

**controle negativo- 1% de DMSO

Cinco lignanas derivadas de (-)- cubebina (**13**) (**FIGURA 63**) foram avaliadas quanto à atividade tripanocida contra as formas amastigotas de *T. cruzi*. Dentre essas a (-)-hinoquinina (**14**) (**FIGURA 63**) foi que apresentou atividade melhor que o controle positivo (benzonidazol) na concentração de 0,5 μM, sendo os valores de concentração (μM) X % de lise iguais a 47,6 ± 9,5 e 38,4 ± 3,0, respectivamente (SOUZA *et al.*, 2005).

Vale ressaltar que Bastos *et al.* 1999 relataram atividade tripanocida altamente significativa de sete lignanas dibenzilbutirolactônicas, particularmente para metilpluviatolido (**15**) (**FIGURA 63**), a qual foi determinada em ensaios biológicos “*in vitro*”, sobre as formas tripomastigotas sanguíneas de duas cepas do *T. cruzi*. Foi observada lise parasitária de 100%, não sendo constatadas alterações morfológicas nos elementos figurados do sangue.

Correlação entre estrutura química X atividade tripanocida está demonstrada na **FIGURA 64**.

Figura 63. Lignanas com atividade tripanocida.

Figura 64. Correlação entre estrutura química X atividade tripanocida.

Quanto à atividade antimicrobiana, os compostos foram avaliados contra os seguintes patógenos bucais: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus mitis* (**Tabela 12**).

Tabela 12. Valores da concentração inibitória mínima.

Compostos Testados	Concentração Inibitória Mínima (µM)						
	<i>E.faecalis</i>	<i>S.salivarius</i>	<i>S.sanguinis</i>	<i>L.casei</i>	<i>S.mutans</i>	<i>S.sobrinus</i>	<i>S.mitis</i>
6a	-	540	680	680	510	810	540
6b	-	680	810	810	810	950	540
6a+6b	-	680	810	810	810	950	540
7	-	850	710	990	510	990	710
9	710	450	570	370	710	850	540
(-)9	-	570	280	570	570	570	570
(+) 9	850	250	570	1300	250	280	280

* Clorexidina: 1,9 µM (*E.faecalis*, *S.salivarius*, *S.sanguinis*, *S.mutans* e *S.mitis*); 1,3 µM (*L.casei*); 1,5 µM (*S.sobrinus*)

As menores CIM podem ser observadas para o composto **9**, frente aos patógenos bucais: *L. casei* e *E. faecalis*. Para *S. sanguinis* o melhor resultado foi do composto **(-) 9** e *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sobrinus* e *S. mitis* as menores CIM são do composto **(+) 9**.

Silva *et al.* (2007) estudaram a atividade antimicrobiana da (-)-hinoquinina (**14**), obtida por síntese parcial a partir da (-)-cubebina (**13**), extraída da *Piper cubeba*, frente a microrganismos da cavidade bucal. A avaliação da atividade antimicrobiana da (-)-hinoquinina foi testada sobre sete patógenos da cavidade bucal: o *E. faecalis*, *S.salivarius*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. sobrinus* e *C. albicans*, mostrando-se eficaz sobre todos os patógenos estudados com concentração inibitória mínima (CIM) que variaram de 90 µg/mL (250 µM) para *S. salivarius*, *S. sanguinis* e *S. mitis*, 100 µg/mL

(280 μ M) para *S. sobrinus* e *C.albicans* e 200 μ g/mL (560 μ M) para *E. faecalis* e *S. mutans*.

V. CONCLUSÕES

V. CONCLUSÕES

A rota sintética escolhida, bem como os métodos de purificação escolhidos, permitiram a obtenção de excelente rendimento dos intermediários obtidos até a síntese total da poligamaina.

7-Hidroxi-hinoquinina **6a** e **6b** foram separados por cristalização de um dos diastereoisômeros, o que facilitou a caracterização por RMN. Mas pode-se verificar que após ciclização para obtenção da lignana ariltetralínica, o resultado é a obtenção do composto **7** (poligamaina), que após NOE, teve sua estereoquímica relativa determinada.

Quanto à redução da lactona a lactol, os resultados não foram os esperados nas várias condições testadas, mas o composto **9** obtido apresentou resultados promissores nas atividades biológicas testadas. As menores CIM podem ser observadas para o composto **9**, frente aos patógenos bucais: *L. casei* e *E. faecalis*. Para *S. sanguinis* o melhor resultado foi do composto (-) **9** e *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sobrinus* e *S. mitis* as menores CIM são do composto (+) **9**.

No ensaio tripanocida, comparando-se os resultados de IC₅₀ da poligamaina, 7-hidroxi-hinoquinina e do composto com o diol (**9**) pode-se observar nos resultados que a presença de hidroxilas nos compostos parece potencializar a atividade. Quando os enantiômeros são separados, a atividade diminui significativamente, o que pode estar relacionado com interações entre estes para esta atividade.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. L. A.; ZICKER, F.; OLIVEIRA, R. M; SILVA, S. S.; LUQUETTI, A.; TRAVASSOS, L. R.; ALMEIDA, I. C.; ANDRADE, S. S.; ANDRADE, J. G & MARTELLI, C. M. T. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *The Lancet*, v.348, p.1407-1413, 1996.

ATCC, <http://www.atcc.org/common/catalog/bacteria/bacterialIndex.cfm>, acesso em 7 de agosto de 2006.

BASTOS, J. K.; ALBUQUERQUE, S. & SILVA, M. L. A. Evaluation of the Trypanocidal Activity of Lignans Isolated from the Leaves of *Zanthoxylum naranjillo*. *Planta Medica*, v.65, p.78-80, 1999.

BEDOWS, E. & HATFIELD, G. M. An investigation of the antiviral activity of *Podophyllum peltatum*. *Journal of Natural Products*, v.45, p.725-729, 1982.

BODE, J. W.; DOYLE, M. P.; PROTOPOPOVA, M. N. & ZHOU, Q-L. Intramolecular Regioselective Insertion into Unactivated Carbon-Hydrogen Bonds with Diazoacetates of Primary Alcohols Catalyzed by Chiral Dirhodium(II) Carboxamidates. Highly Enantioselective Total Synthesis of Natural Lignan Lactones. *Journal of Organic Chemistry*, v.61, p.9146-9155, 1996.

BORSATO, M. L. C.; GRAEL, C. F. F.; SOUZA, G. E. P. & LOPES, N. P.

Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*
Phytochemistry, v.55, p.809-813, 2000.

BRENER Z. Recent advances in the chemotherapy of Chagas' disease.

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. v.79 (supl), p.149-155, 1984.

BRENER, Z. A descoberta (Homenagem aos 80 anos da descoberta da

Doença de Chagas). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.84, Suplemento II, p.1-6, 1989.

BRENER, Z. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.114, p.103-110, 1997.

BRENER, Z.; ANDRADE, Z.A. & BARRAL-NETTO, M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2. ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Cap. 7, p. 88-126, 2000.

BROWN, E. & DAUGAN, A. (R)-(+)- β -Veratryl- γ -butyrolactone. A new key-intermediate for the asymmetric synthesis of various lignans
Tetrahedron Letters, v.27(32), p.3719-3722, 1986.

CANEL. C.; MORAES, R. M.; DAYAN, F. E. & FERREIRA, D. Molecules of Interest Podophyllotoxin. *Phytochemistry*, v.54, p. 115-120, 2000.

CARNEIRO, M. História da doença de Chagas. Curitiba: s.n., p.91, 1963.

CDC, Trypanosomiasis American, Life cycle, Disponível em:
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/TrypanosomiasisAmerican.htm>,
acesso em 05/06/2007.

CHAGAS FILHO, C. Histórico sobre a doença de Chagas. In: CANÇADO, J. Romeu (Org.). Doença de Chagas por um grupo de colaboradores especializados. Belo Horizonte: Imprensa Oficial do Estado de Minas Gerais, p.5-21, 1968.

CHEN, D.; ZHANG, S.; KOZUKA, M.; SUN, Q.; FENG, J.; WANG, Q.; MUKAIANAKA, T.; NOBUKUNI, Y.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; WANG, H.; NATSCHKE, S. & LEE, K. Interiotherins C and D, Two New Lignans from *Kadsura interior* and Antitumor-Promoting Effects of Related Neolignans on Epstein-Barr Virus Activation, *Journal of Natural Products*, v.65(9), p.1242-1245, 2002.

CHANG, J.; REINER, J. & XIE, J. Progress on the Chemistry of Dibenzocyclooctadiene Lignans. *Chemical Review*, v.105, p.4581-4609, 2005.

- COIMBRA, H.S.; ROYO, V. A.; SOUZA, V. A.; PEREIRA, A. C.; SOUZA, G. H. B.; SILVA, R.; DONATE, . M.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; CARVALHO, J. C. T. & BASTOS, J. Analgesic and anti-inflammatory activities of (-)-benzyl cubebin, a (-)-cubebin derivative, obtained by partial synthesis. *Bolletino Chimico Farmaceutico*, v.143, n.2, p.65-69, 2004.
- COSTA, C. R & FUNARI, S. Odontologia In: RODRIGUES, E. A. C. *et al.* Infecções hospitalares: prevenção e controle. 3. ed. São Paulo: Sarvier, cap.10, p.296-303, 1997.
- COURA, J. R. Síntese histórica e evolução dos conhecimentos sobre doença de Chagas. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz, p.469-486, 1997.
- COURA, J. R.; VINHAES, M. C. & DIAS, J. C. P. Situação epidemiológica atual da Doença de Chagas no Brasil. *Revista de Parasitologia Tropical*, v.29, supl. p.33-45, 2000.
- CROFT, S. L. Pharmacological approaches to antitrypanosomal chemotherapy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.94 p.215-220, 1999.

- DAVID, J. P.; DA SILVA, E. P.; DE MOURA, D. L.; GUEDES, M. L. DA S.; ASSUNÇÃO, R. DE J. & DAVID, J. M. Lignan e triterpenos do Extrato citotóxico de *Eriope Blanchetii* *Química Nova*, v.24, n.6, p-730-733, 2001.
- DIAS, J. C. P. História Natural da Doença de Chagas. *Revista de Patologia Tropical*, v.29, supl., p.47-66, 2000.
- DIAS, J. C. P O Tratamento específico da Doença de Chagas; Conferência Nacional de Saúde On-Line, <http://www.datasus.gov.br/cns/temas/tribuna/tratamento.htm>, acesso em 26 de abril, 2006.
- DUTRA, C. M. R. Educação em Saúde Bucal Individual e Grupal: práticas para a motivação do autocuidado de pacientes em manutenção periodontal. Dissertação (Mestrado em Odontologia - área de concentração Saúde Coletiva) Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. p.103, 2000.
- EDLIN, D. C.; FAULKNER, J.; HELLIWELL, M.; KNIGHT, C. K.; PARKER, J.; QUAYLE, P. & RAFTERY. Atom transfer radical cyclization reactions (ATRC): synthetic applications. *Tetrahedron*, v.62, n.13, p.3004-3015, 2006.

ELBAUM, D.; PORCO, J. A., Jr.; STOUT, T. J.; CLARDY, J. & SCHREIBER, S.
L. *Journal of American Chemistry Society*, v.117, p.211-225, 1995.

ENGEL, J. C.; DOYLE, P. S; HSIEH, I. & MCKERROW, J. H. Cysteine protease inhibitors cure an experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Journal of Experimental Medicine*, v.188, n.4, p.725-734, 1998.

FERRIE', L. ; REYMOND, S.; CAPDEVIELLE, P. & COSSY, J. Total Synthesis of (-)-Spongidepsin. *Organic Letters*, v.8, n.16, p. 3441-3443, 2006.

FILHO, J. M. B. Farmacognosia da planta ao medicamento. Lignanas, neolignanas e seus análogos. In: SIMÕES, C. M. O., *et.al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed., cap.22, p.557-573. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2004.

FREITAS, J. L. P. Contribuição para o estudo da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, p.160, 1947.

FREITAS, J. L. P & ALMEIDA, J. O. Nova técnica de fixação do complemento para moléstia de Chagas (reação quantitativa com antígeno gelificado de cultura de *Trypanosoma cruzi*). *Hospital*, v.35, p.787-800, 1949.

- FREITAS, J. L. P.; BIANCALANA, A.; AMATO, NETO V.; NUSSENZWEIG, V.,
SONNTAG, R. & BARRETO G. Primeiras verificações de transmissão
acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue.
Revista Paulista de Medicina, v. 40, p.36-40, 1952.
- GONZÁLES, A. G.; REYES, R. E.; MATO, C. & BRAUN, A. M. E. Three lignans
from *Blumea salicifolia*. *Phytochemistry*, v.29, p.1981-1993, 1990.
- GOETTLIEB, O. R. Lignóides de plantas amazônicas: investigações biológicas
e químicas. *Acta Amazônica*, v.18, n.1/2, p. 333-344, Suplemento,
1988.
- GOTTLIEB, O. R. & BORIN, M. R. de M. B. Quimiosistemática como
ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.*
Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed., cap. 5., p.77-90.
Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001.
- HARTWELL, J. L. & SCHERECKER, A. W. The chemistry of pedophyllum *Fort*
Chemistry Organic Naturst, v.15, p.83-116, 1958.
- HUANG, R. L; HUANG, Y. L.; OU, J. C.; CHEN, C. C.; HSU, F. L. & CHANG, C.
Screening of 25 Compounds Isolated from *Phyllanthus* Species for Anti-
Human Hepatitis B Virus In Vitro. *Phytotherapy Research*, v.17, p.449-
453, 2003.

JENKINSON, H. F. Adherence and accumulation of oral streptococci. *Trends in Microbiology*, n.2, p.209-212, 1994.

JOHNSON, W. S. & DAUB, G. H. *Organic Reactions*, v.6, p.1, 1951.

JORGE, A. O. C. Microbiologia bucal, 2^a ed. Santos Livraria Editora, 1998.

KAMIJI, M. M. & OLIVEIRA, R. B. O perfil dos portadores de doença de Chagas, com ênfase na forma digestiva, em hospital terciário de Ribeirão Preto, SP *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.38, n.4, p.305-309, 2005.

KISE, N.; UEDA, T.; KUMADA, K.; TERAU, Y. & UEDA, N. Oxidative homocoupling of chiral 3-arylpropanoic acid derivatives Application To asymmetric synthesis of lignans *Journal of Organic Chemistry*, v.65, n.2, p.464-468, 2000.

KLEMENC, S. 4-Dimethylaminopyridine as a catalyst in heroin synthesis, *Forensic Science International*, v.129, p.194-199, 2002.

KOEBERLE, F. Enteromegaly and cardiomegaly in Chagas disease. *Gut*. v.41, p.399-405, 1963.

- KOGA, A. H. Avaliação da atividade tripanocida de compostos obtidos de plantas Dissertação de mestrado em biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 65, 2003.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C. & WINN, W. C. Diagnóstico Microbiológico. 5. ed. Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica, p. 1465, 2001.
- KOULMAN, A.; BOS, R.; MEDARDE, M.; PRAS, N. & QUAX, W. J. A fast and simple GC-MS method for lignan profiling in *Anthriscus sylvestris* and biosynthetically related plant species. *Planta Medica*, v.67, p.858-862, 2001.
- KRANZ, K. & PETERSEN, M. β -Pelantin 6-O-methyltransferase from suspension cultures of *Linum nodiflorum*, *Phytochemistry*, v.64, p. 453-458, 2003.
- KRAUS, G. A.; FRAZIER, K. A.; ROTH, B. D.; TASCHNER, M. J. & NEUENSCHWANDER, K. Conversion of lactones into ethers. *Journal of Organic Chemistry*, v.46, p.2417-2419, 1981.
- KUO, C. H.; LEE, S. S.; CHANG, H. Y. & SUN, S. W. Analysis of lignans using micellar electrokinetic chromatography. *Electrophoresis*, v.24, p.1047-1053, 2003.

- LANDAIS, Y.; ROBIN, J. & LEBRUN, A. Ruthenium Dioxide in Fluoro Acid Medium: I. A New Agent in the Biaryl Oxidative Coupling. Application to the Synthesis of Non Phenolic Bisbenzocyclooctadiene Lignan Lactones. *Tetrahedron*, v.47, p.3787- 3804, 1991.
- LEVINE, N. D. A newly revised classification of the Protozoa. *Journal of Protozoology*, v.27, n.1, p. 37-58, 1980.
- LIM, L. P.; Davies, W. I. R.; Yuen, K. W. & Ma, M. H. Comparison of modes of hygiene instructions in improving gingival health. *Journal of Clinical Periodontology*, v.23, p.693-637, 1996.
- LINDHE, J. Placa dental e cálculo dental. In: Tratado de periodontia clínica. Tradução de Milton de Uzeda. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.58-87, 1989.
- LORENTZ, T. C. M.; COSTA, F. O.; MOREIRA, A. N.; SOUZA, C. M. & SOUZA, C. M. Monitoramento dos parâmetros clínicos periodontais de pacientes submetidos à terapia de suporte. Anais do 8º Encontro de Extensão da UFMG, Belo Horizonte, 2005.
- MEDOLA, J. F.; CINTRA, V. P.; SILVA, E. P. P.; ROYO, V. A.; SILVA, R.; SARAIVA, J.; SÉRGIO, A.; BASTOS, J. K.; SILVA, M. L. A. & TAVARES, D. C. (-)Hinokinin causes antigenotoxicity but not genotoxicity in peripheral bloods of Wistar rats, *Food and Chemical Toxicology*, v.45, p.638-642, 2007.

MEYER H & OLIVEIRA MX.,.Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in tissue cultures. A four years study. *Parasitology* , v.39, p.91-94, 1948.

MEYER H & PORTER KR., Study of *Trypanosoma cruzi* with the electron microscope. *Parasitology*, v.44, p.16-23, 1954.

MEYER H, MUSACHIO MO & MENDONÇA IA.,. Electron microscopic study of *Trypanosoma cruzi* in sections of infected tissue cultures and blood agar forms. *Parasitology*, v.48, p.1-8, 1958.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Doença de Chagas: Textos de apoio. Brasília: Ministério da Saúde. Sucam, p.52, 1989.

MORITANI, Y.; FUKUSHIMA, C.; MIYAGISHIMA, T.; OHMIZU, H. & IWASAKI, T. BULL. Simple Synthesis of trans- α,β -Dibenzyl- γ -butyrolactone Lignans by Diastereoselective Reduction of α -Benzylidene- β -benzyl- γ -butyrolactones Using NaBH_4 - NiCl_2 . Chemical Society of Japan, v.69, n.8, p.2281-2286, 1996.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NORVAL, M. Mechanism of persistence of rubella virus in LLC-MK2 cells. *Journal of Gentical Virology*, v.43, p.289-298, 1979.

NYVAD, B. & KILLIAN, M. Comparison of initial streptococcal microflora on dental enamel. *Caries Reserch*, n.24, p.267-272, 1990.

NYVAD, B. & KILIAN, M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand. Journal of Dental Research*, n.95, p.369-380, 1987.

NUSSENZWEIG, V.; SONNTAG, R.; BIANCALANA, A.; FREITAS, J. L. P.; AMATO NETO, V. & KLOETZEL, J. Ação de corantes tri-fenil-metânicos sobre o *Trypanosoma cruzi* "in vitro". Emprego da violeta de genciana na profilaxia da transmissão da moléstia de Chagas por transfusão de sangue. *Hospital*, v.44, p.731-744, 1953.

OMS Tropical Disease Research. Organização Mundial da Saúde, Genebra, 1993.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J. & PORTAELS, S. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v.46, p.2720-2722, 2002.

PERAZA-SANCHEZ, S. R. & PENA-RODRIGUEZ, L. M. Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products*, v.55: p.1768-1771, 1992.

PINHEIRO, M. L. B.; ROCHA, A. F. I.; FERNANDES, M. A. DO N.; MONTE, F. J. Q.; VILLAR, J. D. F. & CRUZ, E. R. Lignanas de *Strychnos guianensis* (Aublet) Mart.1 *Química Nova*, v.27,n.2, 2004.

POSNER G. H.; KOGAN T. P.; HAINES S. R. & FRYE L L. (*S*)-(+)-2-(*P*-tolylsulfinyl)-2-buten-4-olide: an enantiomerically pure Michael acceptor for asymmetric synthesis of 3-substituted 4-butanolides. (—)-podorhizon *Tetrahedron Letters*, v.25, p.2627-2630, 1984.

QUIDEAU, S.; LEBON, M. & LAMIDEY, A. M. Enantiospecific Synthesis of the Antituberculosis Marine Sponge Metabolite (+)-Puupehenone. The Arenol Oxidative Activation Route. *Organic Letters*, v.4, n.22, p.3975-3978, 2002.

QUIRYNEN, M.; ZHAO, H.; SOERS, C.; DEKEYSER, C.; PAUWELS, M.; COUCKE, W. & VAN STEENBERGHE, D. The Impact of Periodontal Therapy and the Adjunctive Effect of Antiseptics on Breath Odor-Related Outcome Variables: A Double-Blind Randomized Study. *Journal of Periodontology*, v.76, n.5, p.705-712, 2005.

RATES, S. M. K. Review: Plants as source of drugs. *Toxicon*, v.39, p.603-613, 2000.

- RYCHNOVSKY, S. D. & DAHANUKAR, V. H. Carbo-carbon bond formation from small and médium ring lactol acetates via radical and oxonium íon intermediates. Synthesis of ($\pm$) laurenan. *Journal of Organic Chemistry*, v.61, p.7648-7649, 1996.
- ROYO, V. A.; FILHO, A. A. S.; SOUZA, V. A.; PEREIRA, A. C.; SILVA, R.; VINHOLIS, A. H. C.; DONATE, P. M.; SILVA, M. L. A.; ALBUQUERQUE, S. & BASTOS, J. K. Biological activity evaluation of dibenzilbutirolactones lignans derivatives against *Leishmania braziliensis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.13, n.2, p.18-21, 2003.
- SAGLAM, H.; GOZLER, T. & GOZLER, B. A new prenylated aryl-naphthalene lignan from *Haplophyllum myrtifolium*, *Fitoterapia*, v.74, p. 564-569, 2003.
- SATO, Y.; TAKAYUKI, T. & MORI, M. Aryl-naphthalene Lignans through Pd-Catalyzed [2+2+2] Cocyclization of Arynes and Diynes: Total Synthesis of Taiwanins C and E. *Angewandte Chemie International Edition*, v.43, p.2436-2440, 2004.
- SCHOFIELD, C. J. & MAUDLIN, I. *Journal for Parasitology*, v.31, p. 615-620, 2001.

- SETCHELL, K. D. R.; BARRIELLO, S. P.; GORDON, H.; LAWSON, A. M.; HARKNESS, R.; MORGAN, D. M.; KIRK, D. N.; ADLERCREUTZ, H. & AXELSON, M. Lignan formation in man-microbial involvement and possible roles in relation to cancer *Lancet*, ii(8236), p. 4-7, 1981.
- SILVA, M. L. A.; COIMBRA, H. S.; PEREIRA, A. C.; ALMEIDA, V. A.; LIMA, T. C.; COSTA, E. S.; VINHÓLIS, A. H. C.; ROYO, V. A.; SILVA, R.; FILHO, A. A. S.; CUNHA, W. R.; FURTADO, N. A. J. C.; MARTINS, C. H. G.; CARVALHO, T. C. & BASTOS, J. K. Evaluation of Piper cubeba Extracts, (-)-Cubebin and its semi-synthetic Derivatives against Oral Pathogens, *Phytotherapy Research*, v.21, p.420-422, 2007.
- SILVA, R.; HELENO, V. C. G.; ALBUQUERQUE, S.; BASTOS, J. K.; SILVA, M. L. A.; DONATE, P. M. & SILVA, G. V. J. Complete assignment of ¹H and ¹³C NMR data for three aryltetralin lignan lactones, *Magnetic Resonance in Chemistry*, v.42, p.985-989, 2004.
- SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L. & DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. Corumbá: Embrapa Pantanal, p. 141, 2002.

SILVA, R.; SOUZA, G. H. B.; FILHO, A. A. S.; SOUZA, V. A.; PEREIRA, A. C.; ROYO, V. A.; SILVA, M. L. A.; DONATE, P. M.; ARAUJO, A. L. S. M.; CARVALHO, J. C. T. & BASTOS, J. K. Synthesis and biological activity evaluation of lignan lactones derived from (-)-cubebin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.15, p.1033-1037, 2005.

SLOTS, J. & TAUBMAN, M. A. Contemporary oral microbiology and immunology. 1. ed. Saint Louis: Mosby – Year Book, Inc., p.771, 1992.

STEINDEL, M.; DIAS, J. C. P & ROMANHA, A. J. Doença de Chagas, mal que ainda preocupa. *Ciência Hoje*, v.37, n.217, p.32-38, 2005.

STOPPANI, A. O. M. The chemotherapy of Chagas disease. *Medicina* (B Aires) v.59, s.2, p.147-165, 1999.

SOUZA, G. B. H.; FILHO, A. A. S.; 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, (-)-O-dimethylethylamine cubebin and their preparation from (-)-cubebin. *Il Farmaco*, v.59, p.55-61, 2004.

SOUZA, V. A.; SILVA, R.; PEREIRA, A. C.; ROYO, V. A.; SARAIVA, J.; MONTANHEIRO, M.; SOUZA, G. B. H.; FILHO, A. A. S.; GRANDO, M. D.; DONATE, P. M.; BASTOS, J. K.; ALBUQUERQUE, S. & SILVA, M. L. A.; Trypanocidal activity of (-)-cubebin derivatives against free amastigote

forms of *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*, v.15, p.303-307, 2005.

STITCH, S. R.; TOUMBA, J. K.; GROEN, M. B.; FUNKE, C. W.; LEEMHUIS, J. & WOODS, G. F. Excretion, isolation and structure of a new phenolic constituent of female urine *Nature*, v.287, n.23, p.738-740, 1980.

TAKACS, J. M.; HELLE, M. A. & SEELY, F. L. An improved procedure for the two carbon homologation of esters to α,β -unsaturated esters, *Tetrahedron Letters*, v.27, n.11, p.1257-1260, 1986.

TAYLOR, W. I. & BATTERSBY, A. R.; *Oxidative Coupling of Phenols* Marcel Decker, Inc.; New York, 1967.

ULUBELEN, A.; GIL, R. R.; CORDELL, G. A.; MERIÇLI, A. H. & MERIÇLI F. Prenylated lignans from *Haplophyllum ptilostylum*. *Phytochemistry*, v.39, n.2, p. 417-422, 1995.

VERDAGUER, X.; HANSEN, M. C.; BERCK, S. C. & BUCHWALD, S. L. Titanocene-Catalyzed Reduction of Lactones to Lactols. *Journal of Organic Chemistry*, v.62, n.24, p.8522 -8528, 1997.

WANG, B. G.; EBEL, R.; WANG, C. Y.; WRAY, V. & PROKSCH, P. New methoxylated aryltetrahydronaphthalene lignans and a norlignan from *Aglaia cordata*. *Tetrahedron Letters*, v.43, p. 5783-5787, 2002.

- WENG, J. R.; KO, H. H.; YEH, T. L.; LIN, H. C. & LIN, C. N. Two New Arylnaphthalide Lignans and Anti-platelet Constituents from *Justicia procumbens*. *Archive of Pharmaceutical Medicine Chemistry*, v.337, p.207-212, 2004.
- WHITING, D. A. Lignans and neolignans. *Natural Product Reports*, v.2, p.191-211, 1985.
- WHO: World Health Organization – Chagas disease. Thirteenth Programme Report UNDP/TRD, Geneva, 1997.
- WHO: World Health Organization – Control of Chagas disease. Geneva, 2003.
- WHO: World Health Organization – La enfermedad de Chagas . Argentina 2007.
- WINTERFELDT, E. Applications of Diisobutylaluminium Hydride (DIBAH) and Triisobutylaluminium (TIBA) as Reducing Agents in Organic Synthesis, *Synthesis*, p.617, 1975,
- XU, S.; HELD, I.; KEMPF, B.; MAYR, H.; STEGLICH, W. & ZIPSE, H. The DMAP-Catalyzed Acetylation of Alcohols - A Mechanistic Study (DMAP = 4-(dimethylamino) -pyridine), *Chemistry of European*, v.11, p.4751-4757, 2005.

ZHAO, Y.; FENG, J. H.; DING, H. X.; XIONG, Y.; CHEG, C. H. K.; HAO, X. J.;
ZHANG, Y. M.; PAN, Y. J.; GUÉRITTE, F.; WU, X. M., BAI, H. &
STOCKIGT, J. Synthesis and Citotoxicity of Racemic
Isodeoxypodophyllotoxin Analogues with Isoprene-Derived Side Chains.,
Journal of Nature Products, v.69, n.8, p.1145-1152, 2006.

VII. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

VII. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS.

1) BIANCO, T. N. C ; COSTA, E. S. ; BERTANHA, M. S. ; LIMA, T. C. ; SILVA, Rosangela da ; SILVA FILHO, Ademar Alves da ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; BASTOS, Jairo Kenupp ; CUNHA, Wilson Roberto . Screening do possível mecanismo antiinflamatório de (-)-O (N-N-dimetilamino-etil)-cubebina, um derivado semisintético de (-)-cubebina. 30 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia, 2007.

2) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; SILVA, Rosangela da ; BASTOS, Jairo Kenupp ; FURTADO, N. A. J. C. . Potencial antimicrobiano de lignano lactonas frente a patógenos orais. 30 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia, 2007.

3) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; BIANCO, T. N. C ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; SILVA, Rosangela da ; BASTOS, Jairo Kenupp ; FURTADO, N. A. J. C. . Potencial antimicrobiano de lignano lactonas obtidas por síntese total, frente à patógenos orais. 16 Encontro Regional da SBQ, Franca, 2007.

4) SOUZA, Vanessa Almeida de ; BIANCO, T. N. C ; PEREIRA, Ana Carolina ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; FURTADO, N. A. J. C. ; BASTOS, Jairo Kenupp ; SILVA FILHO, Ademar A ; CUNHA, Wilson Roberto ; SILVA, Rosangela da ; SILVA, Márcio Luis Andrade e . Antibacterial activity of substituted methylene

dioxi lignans obtained from total synthesis. 1st Brazilian Conference on Natural Products, Aguas de São Pedro, 2007

5) BIANCO, T. N. C ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; SILVA FILHO, Ademar Alves da ; SILVA, Rosangela da ; CUNHA, Wilson Roberto ; PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; MARTINS, C. H. G. ; LUCARINI, R. ; MONTANARI, L. B. ; BASTOS, Jairo Kenupp . Antibacterial activity of crude hydroalcoholic extract and fractions from *Pfaffia Glomerata* (amaranthaceae) roots against oral pathogens. 1st Brazilian Conference on Natural Products, Aguas de São Pedro, 2007.

6) SILVA, Rosangela da ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; DONATE, Paulo Marcos ; ALBUQUERQUE, Sérgio ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp . Síntese da Taiwanina A. 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia, 2006.

7) BELATTI, C. C. ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SILVA, Rosangela da ; DONATE, Paulo Marcos ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; CUNHA, Wilson Roberto ; BASTOS, Jairo Kenupp ; ALBUQUERQUE, Sérgio ; SILVA, Márcio Luis Andrade e . Avaliação da atividade leishmanicida in vitro de (-)-cubebina e derivados semi-sintéticos. 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2006.

8) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; LIMA, T. C. ; COSTA, E. S. ; DONATE, Paulo Marcos ; BELATTI, C. C. ; MEDOLA, J. F. ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; BASTOS, Jairo Kenupp ; SILVA, Márcio Luis Andrade e . Mecanismo de ação analgésico-antiinflamatório de alguns derivados de (-)-cubebina. 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2006.

9) SILVA, Rosangela da ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; DONATE, Paulo Marcos ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; S FILHO, Ademar A ; PEREIRA, Ana Carolina ; CUNHA, Wilson ; BASTOS, Jairo Kenupp ; ALBUQUERQUE, Sérgio ; SILVA, Márcio Luis Andrade e . In vivo trypanocidal activity of (-)-hinokinin, a lignan derivative, against trypomastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. 29a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2006.

10) PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; SILVA, Rosangela da ; ALBUQUERQUE, Sérgio ; BELATTI, C. C. ; BASTOS, Jairo Kenupp . Correlação entre estruturas químicas e atividade tripanocida in vitro das formas tripomastigotas e amastigotas do *Trypanosoma cruzi* da (-)-hinoquinina, 7-hidroxi- hinoquinina e 7-oxo-hinoquinina. XIX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Salvador, 2006.

11) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; BASTOS, Jairo Kenupp ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; FURTADO, N. A. J. C. ; SILVA, Rosangela da . Potencial antimicrobiano de

lignano lactonas frente ao patógeno oral de *Streptococcus mutans*. XIX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Salvador, 2006.

12) ROCHA, L. A. ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; CAETANO, B. L. ; MOLINA, E. F. ; LIMA, T. C. ; MORAES, F. R. C. ; CIUFFI, Kátia Jorge ; NASSAR, E. J. ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp . Preparação de filmes finos de sílica contendo hinoquinina encapsulada a partir do processo sol-gel. 1 Encontro Regional de Materiais, Franca, 2006.

13) LIMA, T. C. ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SILVA, Rosangela da ; BASTOS, Jairo Kenupp ; CUNHA, Wilson ; SILVA, Márcio Luis Andrade e . Mecanismo de ação antiinflamatória da (-)-hinoquinina. V ENFARP, Ribeirão Preto, 2006. V ENFARP Encontro Farmaceutico de Ribeirão Preto, 2006.

14) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp ; DONATE, Paulo Marcos ; SILVA, Rosangela da ; ALBUQUERQUE, Sérgio . Síntese da lignana ariltetralínica poligamain. 28a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 2005.

15) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SILVA, Rosangela da ; DONATE, Paulo Marcos ; Saraiva, J. ; MONTANHEIRO, M. ; GRADO, M. D. ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; BELATTI, C. C. ; BASTOS, Jairo Kenupp ; ALBUQUERQUE,

Sérgio . Synthesis and trypanocidal activity of benzylbutyrolactone lignans. 11th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, Canela, 2005.

16) LIMA, Thais. C ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SILVA, Rosangela da ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; S FILHO, Ademar A ; CUNHA, Wilson Roberto ; BASTOS, Jairo Kenupp ; SILVA, Márcio Luís Andrade e . Study of action anti-inflammatory mechanism of the (-)-cubebin derivatives. 5th International Congress of Pharmaceutical Sciences, Ribeirão Preto, 2005. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2005.

17) ROCHA, Lucas A ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; CAETANO, B. L. ; MOLINA, E. F. ; LIMA, T. C. ; MORAES, F. R. C. ; CIUFFI, K. J. ; NASSAR, E. J. ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp . Preparation of hinokinin entrapped in a solid matrix by sol-gel process. 5th International Congress of Pharmaceutical Sciences, Ribeirão Preto, 2005. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2005.

18) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; SILVA, Rosangela da ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp ; ALBUQUERQUE, Sérgio . Atividade tripanocida de metilenodioxilignano-lactonas contra as formas amastigotas do *Trypanosoma cruzi*. XIX Encontro Regional da SBQ-MG, Ouro Preto, 2005.

19) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; MORAES, F. R. C. ; CESTARI, A. ; LIMA, T. C. ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; MARTINS, C. H. G. ; FURTADO, N. A.

J. C. . Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de ramos de *Pereskia aculeata* Mill. XIX Encontro Regional da SBQ- MG, Ouro Preto, 2005.

20) SOUZA, Vanessa Almeida de ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; PEREIRA, Ana Carolina ; BELATTI, C. C. ; COSTA, E. S. ; LIMA, T. C. ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp ; FURTADO, N. A. J. C. ; SILVA, Rosângela da . Avaliação da atividade de derivados semi-sintéticos da (-)-cubebina frente á patógenos orais. XIX Encontro Regional da SBQ-MG, Ouro Preto, 2005.

21) PEREIRA, Ana Carolina ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; COSTA, E. S. ; LIMA, T. C. ; SILVA, Márcio Luís Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp ; FURTADO, N. A. J. C. ; SILVA, Rosângela da ; CUNHA, Wilson . Atividade bacteriostática e fungicida da (-)-cubebina e (-)-hinoquinina frente á patógenos orais. XIX Encontro Regional da SBQ-MG, Ouro Preto, 2005.

22) **ROYO, Vanessa de Andrade** ; PEREIRA, Ana Carolina ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; SILVA, Márcio Luis Andrade e ; BASTOS, Jairo Kenupp ; DONATE, Paulo Marcos ; CUNHA, Wilson Roberto ; COIMBRA, Hércules dos S ; SILVA, Rosângela da ; CARVALHO, José Carlos Tavares ; SOUZA, Gustavo Henrique Bianco de . Analgesic and anti-inflammatory activities of (-)-o-benzyl derivative, obtained by partial synthesis. 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador, 2004.

23) TAVARES, Denise Crispin ; **ROYO, Vanessa de Andrade** ; BASTOS, Jairo Kenupp ; SOUZA, Vanessa Almeida de ; PEREIRA, Ana Carolina ; SILVA, Márcio Luis Andrade e. Análise de frequência de micronúcleos induzidos *in vivo* pela hinoquinina, um composto com atividade tripanocida. 50 Congresso Brasileiro de Genética, Florianópolis, 2004.

IX. ESPECTROS DAS SUBSTÂNCIAS

IX. ESPECTROS

Ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxycarbonil-3-butenóico

Espectro 1. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **3**.

Espectro 2. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **3**.

Espectro 3. Espectro de DEPT 135 do composto **3**.

Ácido 4-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metoxicarbonil-3-butanóico

Espectro 4. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **4**.

Espectro 5. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **4**.

Espectro 6. Espectro de DEPT 135 do composto **4**.

4-(3',4'-metilenodioxifenil)-4,5-diidro-2(3H)-furanona (5)

Espectro 7. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 5.

Espectro 8. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto 5.

Espectro 9. Espectro de DEPT 135 do composto 5.

7-hidroxi-hinoquinina

Espectro 10. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 6.

Espectro 11. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **6**.

Espectro 12. Espectro de DEPT 135 do composto **6**.

7-hidroxi-hinoquinina

Espectro 13. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **6a**

Espectro 14. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **6a**

Espectro 15. Espectro de DEPT 135 do composto **6a**

Espectro 17. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **6b**.

Espectro 18. Espectro de DEPT 135 do composto **6b**.

Poligamaina

Espectro 19. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 7.

Espectro 20. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **7**.

Espectro 21. Espectro de DEPT 135 do composto **7**.

Poligamaina

Espectro 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **7a**

Espectro 23. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **7a**

Espectro 24. Espectro de DEPT 135 do composto **7a**

NOE

H9a

Espectro 25

H7'

Espectro 26

H9b

Espectro 27

H8

Espectro 28

Poligamaina

Espectro 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **7b**.

Espectro 30. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **7b**.

Espectro 31. Espectro de DEPT 135 do composto **7b**.

Espectro 32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

Espectro 33. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

Espectro 34. Espectro de DEPT 135 do composto **9**.

(-) 9

Espectro 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto (-) 9.

(+) 9

Espectro 36. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto (+) 9.

Savinin

Espectro 37. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **10**.

Espectro 38. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **10**.

Espectro 39. Espectro de DEPT 135 do composto **10**.