

Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas

Débora Munhoz Rodrigues

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Débora Munhoz Rodrigues

Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e baccarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas

Ribeirão Preto
2022

Débora Munhoz Rodrigues

Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/ USP para obtenção do título de **Doutor** em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Co-orientadora: Profa. Dra. Vanessa Leiria Campo

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 08/04/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2022

Rodrigues, D. M.	Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas		Doutorado FCRPUSP 2022
---------------------	---	--	------------------------------

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Rodrigues, Débora Munhoz

Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas.
Ribeirão Preto, 2022.

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. Propolis verde | 2. Derivados prenilados |
| 3. Efeitos antitumorais | 4. Semissíntese de produtos naturais |

FOLHA DE APROVAÇÃO

Débora Munhoz Rodrigues

Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Aos Meus Amados Pais

Ailton Rodrigues e Rosa Munhoz, que me apoiam incondicionalmente na minha escolha profissional, que é fazer pesquisa. Pais exemplos de simplicidade e felicidade, que sempre me incentivam pela busca do conhecimento e da evolução como pessoa. Quero agradecer as palavras e os conselhos sábios de ambos, que me ensinam diariamente a olhar o lado lindo e belo da vida e de ser humano.

Ao Meu Irmão

Renan Munhoz, grande conselheiro que amplia a minha visão para as possibilidades, sempre sensato, lucido e prático. Obrigada meu irmão por me completar e, apesar da distância, sempre se fazer presente.

Agradecimentos Especiais

Ao Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Por me orientar como aluna de doutorado e compartilhar conhecimentos para que eu pudesse aprender tanto profissionalmente, na química de produtos naturais, quanto pessoalmente, na filosofia de vida e experiência de mundo. Agradecer imensamente pela paciência, pelo apoio e confiança nessa trajetória desafiadora.

À Profa. Dr.a Vanessa Leiria Campo

Pela coorientação e participação ativa nos experimentos de síntese orgânica, tornando o desenvolvimento desse projeto possível. Obrigada pelas conversas, experiências e conhecimentos compartilhados, além é claro, do apoio e confiança durante esses anos.

Agradecimentos

- ❖ Aos técnicos de Laboratório de Farmacognosia, Mario Ogasawara e Maria Angelica Chellegatti que sempre ajudam os pós-graduandos em nosso dia-a-dia de laboratório com muito carinho e dedicação;
- ❖ Aos amigos de laboratório pela convivência, colaborações e aprendizado diário, obrigada amigos: Fernando, Gabriel, Aline, Jennyfer, Victor, Adriany, Valdeline, João, Luciana, Yasmine e Beatriz;
- ❖ À amiga Gisele Bulhões Portapilla pela colaboração e ensinamentos nos ensaios antimutagênicos realizados no laboratório de Parasitologia do Prof. Dr. Sergio de Albuquerque.
- ❖ Ao amigo Guilherme Martins Silva pelas análises *in silico* realizadas em colaboração com o laboratório de Química Medicinal do Prof. Dr. Carlos Henrique Tomich De Paula Da Silva.
- ❖ À colaboradora Andressa Duarte pela colaboração nos ensaios de clonogenicidade realizados na FMRP no departamento de Patologia e Medicina Forense.
- ❖ Ao técnico Vinicius Palaretti do departamento de química da FFCLRP-USP pelas análises de RMN;
- ❖ Ao técnico Jose Carlos Tomaz e Luiz Fernando Da Silva do departamento de química da FCFRP-USP pelas análises de espectrometria de massas;
- ❖ A Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto e à Universidade de São Paulo pela infraestrutura usufruída;
- ❖ Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, aos funcionários e professores da unidade pela colaboração;
- ❖ À FAPESP, pelo apoio financeiro ao projeto temático #2017/04138-8;
- ❖ Aos funcionários e ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, por toda infraestrutura na realização do curso de Doutorado;
- ❖ O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Nunca considere o estudo como um dever, mas como uma oportunidade para penetrar no maravilhoso mundo do saber”

Albert Einstein

RESUMO

Rodrigues, D. M. **Obtenção de derivados semissintéticos de artepelin C e bacarina oriundos da própolis verde e avaliação de suas atividades biológicas.** 2022. 130f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Baccharis dracunculifolia, planta nativa brasileira conhecida popularmente como “alecrim do campo”, é a principal fonte botânica para a produção de própolis verde, a qual possui composição química complexa, rica em derivados prenilados do ácido-*p*-cumárico, como a drupanina, o artepillin C e a bacarina. Importantes atividades biológicas têm sido atribuídas a estes derivados, despertando, portanto, tanto o interesse nacional quanto internacional. Assim, com objetivo de aumentar as possibilidades no desenvolvimento de novos fármacos de origem natural, propôs-se a obtenção de derivados semissintéticos da drupanina, artepelin C e da bacarina, visando potencializar as atividades biológicas relatadas para estes compostos, com destaque para as seguintes atividades: antiproliferativa, inibidora da enzima AKR1C3, antimicrobiana e antiparasitária. Os compostos fenólicos prenilados da própolis verde foram obtidos a partir de extratos hidroalcoólicos, utilizando-se cromatografia em coluna aberta (CLV) e cromatografia de contracorrente de alta velocidade (HSCCC). Posteriormente, foram obtidos derivados semissintéticos multivalentes da drupanina, artepelin C e bacarina, assim como derivados amídicos, via acoplamento com cinco aminoácidos diferentes. Foram obtidos ao todo vinte e oito estruturas químicas derivadas dos produtos naturais, as quais foram purificadas e elucidadas por análises de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , bem como de Espectrometria de Massas (ESI-MS). Os testes antitumorais indicaram que os compostos derivados de aminoácidos (**4**, **14**, **16**, **17**, **18**, **24** e **26**) foram considerados os derivados mais promissores com atividade antiproliferativa contra a linhagem tumoral de mama hormônio dependente MCF-7. O derivado da drupanina **18** forneceu a melhor concentração inibitória em linhagens de carcinoma ($\text{IC}_{50} = 9,6 \pm 3,2 \mu\text{M}$) e índice de seletividade de 5,5 nos ensaios com MCF-7, indicando baixa toxicidade e alta seletividade. Além disso, as simulações de *docking* revelaram que o composto **18** apresentou interações de *docking* coerentes, bem como fortes interações dentro do sítio ativo da AKR1C3.

Palavras-chave: Própolis verde, Derivados prenilados, Efeitos antitumorais e Semissíntese de produtos naturais.

ABSTRACT

Rodrigues, D. M. **Development and biological evaluation of artepillin C and baccharin semisynthetic derivatives from Brazilian green propolis.** 2022. 130f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Baccharis dracunculifolia, a Brazilian native plant popularly known as “alecrim do campo”, is the primary botanical source in green propolis production, which has a complex chemical composition rich in prenylated *p*-coumaric acid derivatives, such as drupanin, artepillin C, and baccharin. Twenty-eight chemical structures derived from natural products were obtained, purified and elucidated by Nuclear Magnetic Resonance analyses (^1H e ^{13}C NMR) as well as Mass Spectrometry (ESI-MS). Important biological activities have been attributed to these derivatives, arousing national and international interest. It was obtained semisynthetic derivatives of drupanin, artepillin C, and baccharin, aiming to potentiate the biological activities reported for these compounds, mainly antiproliferative, AKR1C3 enzyme inhibitor, antimicrobial and antiparasitic. Prenylated phenolic compounds of green propolis were obtained from propolis hydroalcoholic extract using open-column chromatography and high-speed countercurrent chromatography (HSCCC), as well as high-performance preparative liquid chromatography (HPLC-DAD). Subsequently, multivalent semisynthetic derivatives of artepillin C, baccharin, and amide derivatives were synthesized via coupling with five different amino acids. The antiproliferative assays showed that the amino acid derivatives (**4**, **14**, **16**, **17**, **18**, **24**, and **26**) were the most promising compounds against the hormone-dependent breast tumor cell lines, MCF-7. The drupanin derivative **18** was the most active compound with the best half-maximal inhibitory concentration ($\text{IC}_{50} = 9.6 \pm 3.2 \mu\text{M}$) and selectivity index (5.5) against MCF-7 cells, indicating low toxicity and high selectivity. Furthermore, docking simulations revealed that compound **18** showed coherent docking interactions and strong interactions within the active site of AKR1C3.

Keywords: Green propolis, Prenylated derivatives, Antitumor activities, Semisynthesis from natural products.

SUMÁRIO

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
1.0. Introdução.....	1
1.1. Produtos Naturais e Derivados	1
1.2. Cânceres de próstata e de mama	2
1.3. Própolis verde	3
1.3.1. Atividade antimicrobiana e antiparasitária	6
1.3.2. Atividade antitumoral	7
1.4. Estratégias de Semissíntese	8
1.4.1. Formação de Dímeros Triazólicos	8
1.4.2. Acoplamento com Aminoácidos	11
2.0 Considerações Finais.....	14
3.0 Referências.....	16

1.0. Introdução

1.1. Produtos Naturais e Derivados

Os produtos naturais e seus metabolitos secundários possuem uma forte tradição na química medicinal e na descoberta de novas drogas, uma vez que são considerados fontes valiosas tanto pela singularidade das moléculas, conferindo geometrias únicas, quanto pelos diversos mecanismos de ação que exercem (RODRIGUES et al., 2016).

A diversidade química dos metabolitos secundários produzido pelos micro-organismos, animais e plantas é surpreendente, com o benefício de centenas de milhões de anos de evolução, sob estresses bióticos e abióticos, otimizados para fins biológicos específicos. Sendo assim, a exploração destes produtos naturais com farmacóforos biologicamente ativos são ponto de partida validados biologicamente para o desenvolvimento de novos medicamentos (LI; LOU, 2018; WRIGHT, 2019).

Nos últimos 20 anos, cerca de um terço dos medicamentos aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration) são baseados em produtos naturais ou derivados destes, especialmente como agentes antineoplásicos e antimicrobianos. Alguns exemplos de fármacos descobertos a partir de produtos naturais eficazes no tratamento de doenças e que estão disponíveis em hospitais e clínicas são, os anticânceres como Taxol (*Taxus brevifolia*) e Vinblastina (*Catharanthus roseus*), e os antimaláricos como o quinino (*Cinchona* spp.) e Artemisinina (*Artemisia annua*) (THOMFORD et al., 2018).

Destes medicamentos aprovados pelo FDA a grande maioria é derivada de produtos naturais, com *core* estrutural semelhante, sendo apenas uma pequena parte propriamente de produtos naturais ou misturas botânicas. Os derivados dos produtos naturais são produzidos frequentemente por semissíntese, sendo o produto natural produzido por micro-organismos ou extraído de plantas, o qual posteriormente será quimicamente modificado para melhorar as propriedades terapêuticas (EHRENWORTH; PERALTA-YAHYA, 2017).

Com este objetivo, diversos processos químicos baseiam-se na otimização desses derivados para aumentar a eficácia, diminuir a toxicidade e melhorar as propriedades farmacocinéticas do produto natural original. Recentes estratégias biológicas e químicas têm oferecido oportunidades únicas na construção de diversas

bibliotecas de derivado de produtos naturais para descoberta de novos medicamentos. Assim, há uma necessidade significativa de obter maior diversificação estrutural seja isolando os recursos naturais ou gerando-os em manipulações químicas ou genéticas (DECORTE, 2016; LI; LOU, 2018).

1.2. Cânceres de próstata e de mama

O câncer é uma doença crônica caracterizada pelo desenvolvimento de células anormais que se espalham e destroem os tecidos normais do corpo. É uma doença de alto risco e é a segunda principal causa de morte em todo o mundo. Segundo as estatísticas dos Estados Unidos, em 2018, os novos casos de câncer foram de cerca de 1,73 milhão, com mais de 609.000 mortes (MBESE; KHWAZA; ADERIBIGBE, 2019).

Uma análise dos dados clínicos de 45 países mostrou que nos homens, o câncer de próstata tem a segunda maior incidência, e que nas mulheres, o câncer de mama ocupa o primeiro lugar em mortalidade e incidência, compreendendo 13,5% e 24,2% de todos os cânceres, respectivamente (ZIMTA et al., 2019).

No mundo todo, estima-se que o câncer de mama representa 1 em cada 4 casos de cânceres entre as mulheres, e que seja a principal causa de morte em mais de 100 países. Já o câncer de próstata, apesar de ser classificado como o segundo câncer mais frequente, possui menor índice de mortalidade quando comparado ao câncer de mama, sendo a quinta causa principal de morte por câncer em homens, Figura 1 (BRAY et al., 2018).

Neste contexto, estudos recentes indicam promissoras terapias anticâncer com compostos naturais. Os produtos naturais isolados de plantas medicinais têm sido utilizados como tratamento de diversas doenças ao longo dos anos, e se destacam pela singularidade tanto das moléculas quanto dos mecanismos de ação, tornando-os importantes na descoberta de novos e potenciais agentes terapêuticos (DUTTA et al., 2019).

Além disso, crescentes ameaças de cânceres resistentes a medicamentos indicam que há uma necessidade urgente de melhoria ou desenvolvimento de agentes anticânceres mais eficazes (MBESE; KHWAZA; ADERIBIGBE, 2019). Assim, a busca por compostos químicos oriundo de produtos naturais ou derivados destes, constitui-se como uma fonte significativa para a descoberta de novos fármacos, uma vez que

forneem moléculas singulares na terapêutica contra diversas doenças humanas (HE et al., 2019).

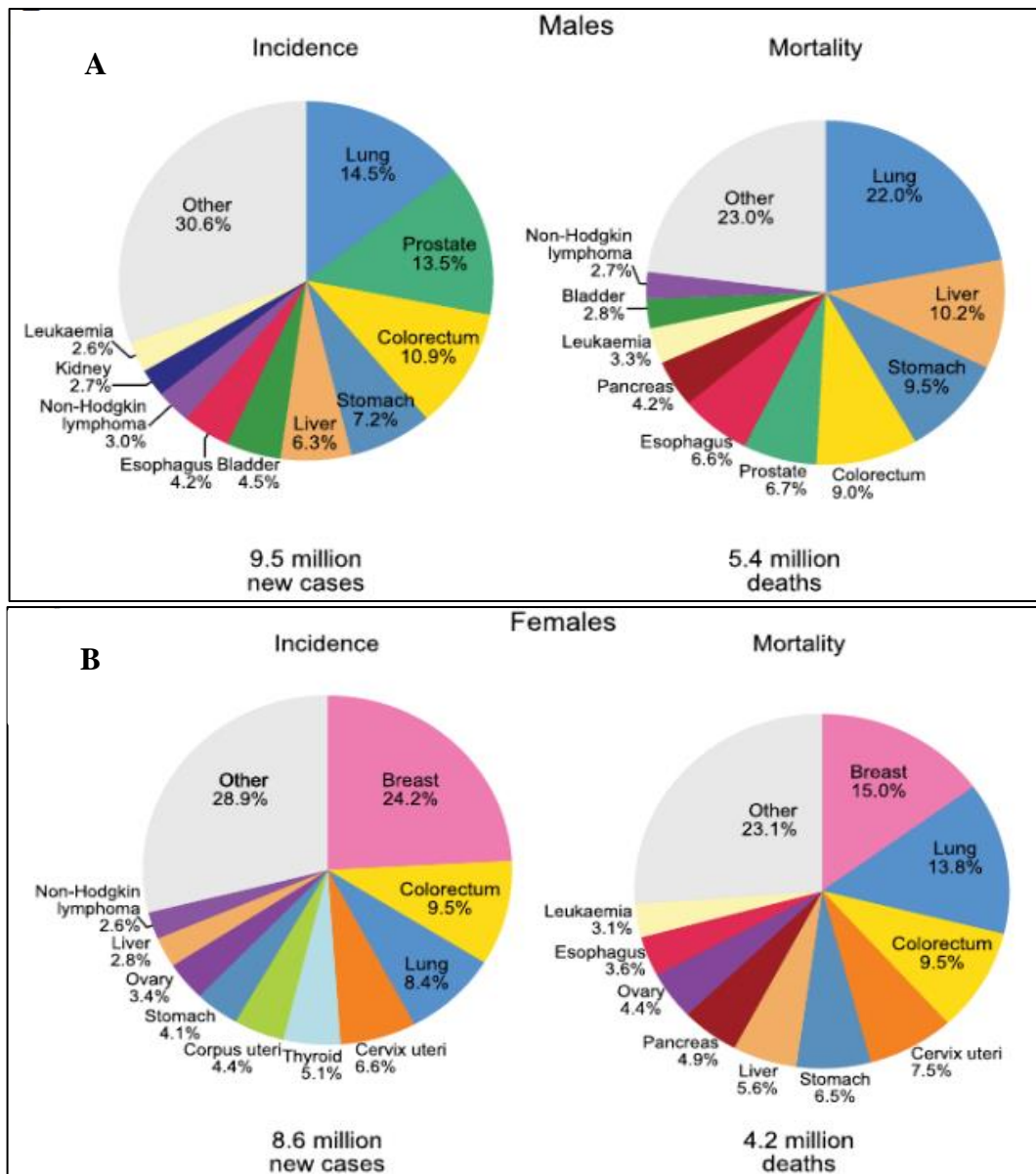


Figura 1. Gráfico de pizza com a distribuição da incidência e da mortalidade dos 10 tipos de cânceres mais comuns no mundo todo em 2018, A) homens e B) mulheres. Fonte: Bray, et.al., 2018.

1.3. Própolis verde

A própolis é um produto natural produzido pelas abelhas a partir de material vegetal de diversas plantas. Esse material vegetal composto por fragmentos vegetativos (brotos e folhas jovens) e exsudatos de plantas é transportado à colmeia e transformado,

a partir de ações enzimáticas das abelhas, no material resinoso denominado própolis (do grego "pro"- em favor de e "polis"- cidade), (SALATINO et al., 2005).

Na colmeia a própolis possui várias funções, desde o preenchimento de frestas, para manutenção da temperatura, até a mumificação de insetos e de outros invasores, para proteção da colmeia contra micro-organismos (BROWN, 1989; SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2010). A própolis é composta majoritariamente de resina, compreendendo 50% de todo material, assim como, de 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de compostos orgânicos (SEPÚLVEDA et al., 2019).

É possível encontrar em território brasileiro diversos tipos de própolis, as quais variam principalmente de tonalidades marrom escuro, esverdeado e marrom avermelhado. Essa diversidade nas tonalidades de própolis brasileiras se deve ao processo de produção da própolis, que depende principalmente da fonte botânica, ou seja, da flora de cada região (PARK et al., 2004; SEPÚLVEDA et al., 2019).

A própolis brasileira denominada de “própolis verde” é produzida pela abelha nativa brasileira (*Apis Mellifera*) majoritariamente a partir da resina esverdeada da espécie botânica *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como alecrim-do-campo, arbusto amplamente distribuído no cerrado brasileiro, especialmente nos estados de São Paulo e Minas Gerais, Figura 2, (RODRIGUES et al., 2019).

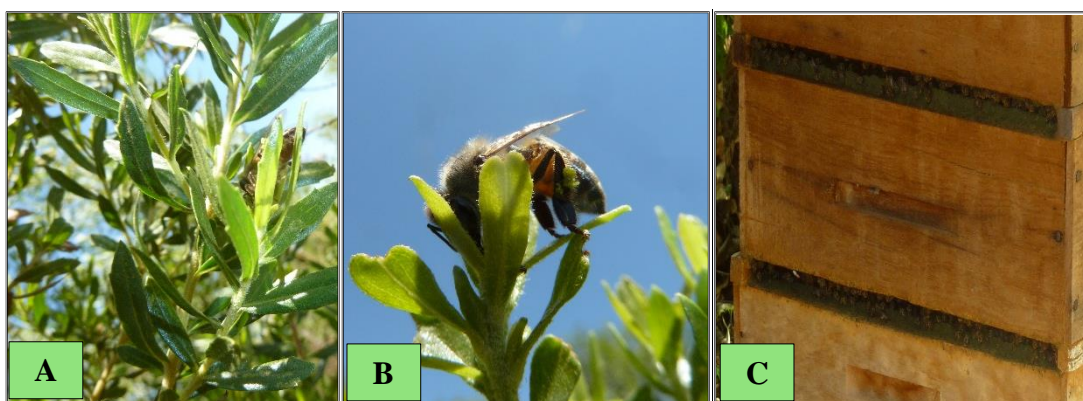


Figura 2. Foto, **A:** Alecrim do Campo (*Baccharis dracunculifolia*), **B:** *Apis Mellifera* na coleta de resina, **C:** Faixas de Própolis verde na colmeia.

A própolis verde tem atraído o interesse internacional, principalmente o interesse do mercado asiático e europeu, por ser rica em derivados prenilados do ácido cinâmico, tais como, o artepelin C (ácido 3,5-diprenil-4- hidroxicinâmico), drupanina (ácido 3-prenil-

4- hidroxicinâmico e a bacarina (ácido 3-prenil-4-diidrocinaoiloxi-cinâmico), Figura 3, (SAWAYA; BARBOSA DA SILVA CUNHA; MARCUCCI, 2011).

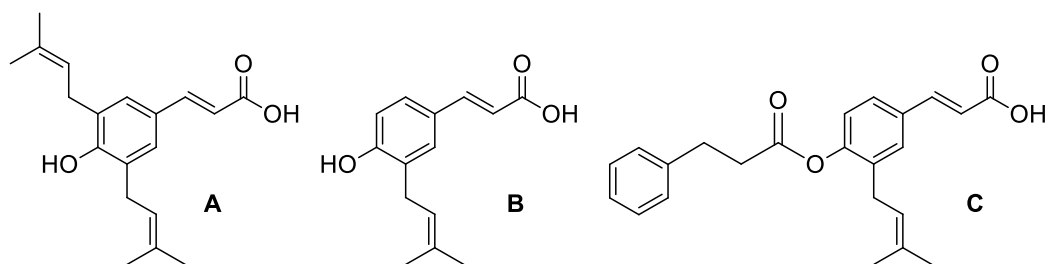


Figura 3. Substâncias aromáticas preniladas presentes na própolis verde. A) artepelin C, B) drupanina, C) bacarina.

Estes compostos aromáticos, contendo resíduos de isoprenos, são resultantes da junção de duas importantes rotas biossintéticas no metabolismo secundário de plantas, tais como a rota do chiquimato e do mevalonato. Os ácidos cinâmicos, por exemplo, são os precursores de um vasto número de compostos aromáticos, classificados como fenilpropanoides, originados a partir da perda da molécula de amônia do aminoácido fenilalanina, da rota biossintética do ácido chiquímico. Já a formação dos resíduos de isoprenos, unidades compostas de cinco átomos de carbono, consistem da via do mevalonato, formado pela condensação de uma unidade de acetoacetyl-CoA com uma molécula de acetyl-CoA, Figura 4, (DE; BALTAS; BEDOS-BELVAL, 2011; YAZAKI; SASAKI; TSURUMARU, 2009).

A presença majoritária de compostos prenilados na própolis verde quando comparada a própolis europeia, predominantemente composta por flavonoides, conferem à esta própolis brasileira características químicas peculiares, e que vêm demonstrando ao longo das pesquisas inúmeras atividades biológicas, sendo algumas delas, atividade antioxidante (COSTA et al., 2019), anti-inflamatória (DE FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2018), antibacteriana (PEREIRA et al., 2016), imunomodulatória (BACHIEGA et al., 2013), antiparasitária (GRESSLER et al., 2012) e antimutagênica (ROBERTO et al., 2016).

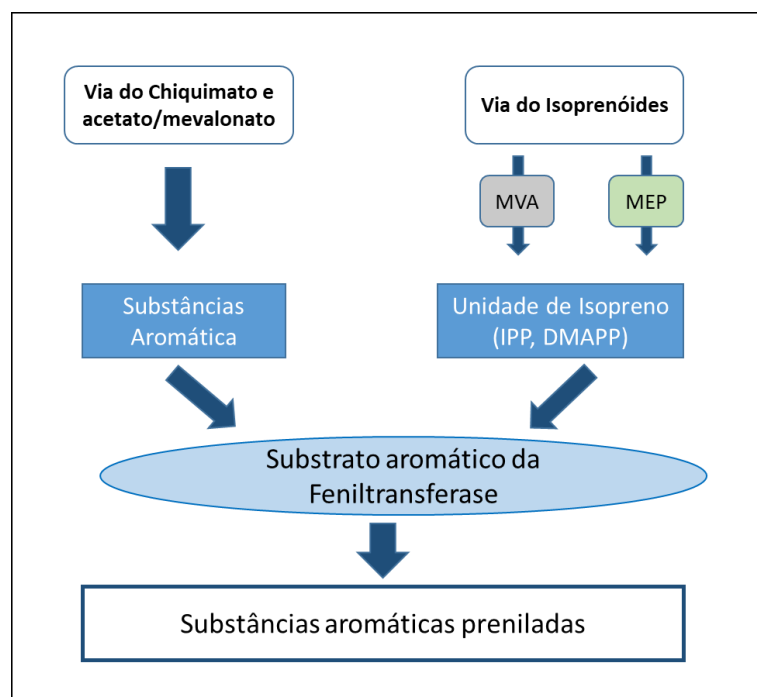


Figura 4. Rota biossintética da formação dos compostos aromáticos prenilados que consiste do acoplamento da via do chiquimato com a do isoprenóide. A via do isoprenóide consiste em duas vias, a via mevalonato (MVA) e a via metil eritritol fosfato (MEP). IPP: isopentenil pirofosfato; DMAPP: dimetilalil pirofosfato. Fonte: Yazaki, et. al., 2009.

1.3.1. Atividade antimicrobiana e antiparasitária

A própolis apresenta amplo espectro de ação frente as bactérias. Estudos relatam que as ações sinérgicas dos inúmeros componentes da própolis são responsáveis pelos efeitos bactericidas e bacteriostáticos observados. Os componentes da própolis, especialmente os derivados cinâmicos, podem agir de diversas maneiras para a morte bacteriana, tanto alterando a permeabilidade da membrana celular quanto a divisão e o funcionamento enzimático da bactéria (POBIEGA; GNIEWOSZ; KRAŚNIEWSKA, 2017).

A alta atividade antibacteriana expressa pela própolis verde pode ser atribuída à sua diferente composição química e à sua alta concentração de flavonoides e ácidos aromáticos (MACHADO et al., 2016). No entanto, estudos demonstram atividade bacteriana especialmente contra as bactérias gram-positivas, tais como, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* (SEIBERT et al., 2019). Em geral, as bactérias gram-positivas são mais suscetíveis aos extratos de própolis do que as bactérias gram-negativas. Há hipóteses de que os ácidos

fenólicos não consigam penetrar a membrana externa das bactérias gram-negativas, não atingindo, assim, o alvo desejado (TIVERON et al., 2016).

A ação do extrato de própolis verde, rico nos compostos bioativos derivados do ácido cinâmico, também demonstrou ação frente as formas epimastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi*, sendo as formas amastigotas intracelulares, mais suscetíveis ao extrato do que as epimastigotas (SALOMÃO et al., 2011). Relatos de atividades antiparasitárias também foram observadas frente as formas promastigotas *in vitro* de *Leishmania braziliensis* (PONTIN et al., 2008) e frente ao parasita *Trypanosoma evansi* (GRESSLER et al., 2012).

1.3.2. Atividade antitumoral

Diversos ensaios antitumorais, tanto *in vitro* como *in vivo*, com o extrato da própolis verde e com suas substâncias majoritárias já foram descritos na literatura (DE OLIVEIRA et al., 2014; SEPÚLVEDA et al., 2020). Os potenciais anticânceres da própolis são inúmeros e estes podem ser resumidos nos seguintes mecanismos possíveis: 1) supressão de células do câncer por meio do seu efeito imunomodulador. 2) diminuição da população de células-tronco cancerosas; 3) bloqueio específico na via de sinalização de oncogenes; 4) ação no efeito antiangiogênico; 5) modulação do microambiente tumoral e 6) como um tratamento adjunto ou complementar nas terapias anticâncer convencionais (CHAN; CHEUNG; SZE, 2013).

Um dos primeiros estudos acerca dos efeitos antiproliferativos dos compostos aromáticos prenilados da própolis verde, frente a células humanas tumorais de pulmão, sangue, mama e próstata, sugeriram que a ação citotóxica desses compostos prenilados frente às células tumorais não estariam ligados somente a expressão da proteína p53 na indução da apoptose, ao contrário da maioria dos medicamentos anticâncer que induzem efeitos genotóxicos e a expressão da p53 em células tumorais e que levam a morte celular apoptótica (MISHIMA et al., 2005).

Sugestões de mecanismos alternativos à expressão da p53 levou a descoberta posterior de que estes compostos prenilados da própolis verde estariam também ligados à inibição da enzima AKR1C3, uma aldo-ceto redutase diretamente envolvida na biossíntese de testosterona e estrógeno e que se encontra superexpressa em tumores de próstata e mama hormônio dependentes (ENDO et al., 2012).

Estudos com o silenciamento do gene da AKR1C3 resultaram em uma inibição da progressão tumoral em células de câncer de mama e próstata, indicando que esta enzima participa do desenvolvimento tumoral, sendo considerada um importante alvo terapêutico no tratamento de cânceres de mama e próstata (ENDO et al., 2014). No entanto, apesar de inúmeros compostos terem surgido, a elevada similaridade da AKR1C3 com outras isoformas da AKR1C leva à dificuldade no desenvolvimento de inibidores seletivos à AKR1C3 (PIPPIONE et al., 2017).

Inibidores sintéticos da enzima AKR1C3 reportados recentemente na literatura têm demonstrado efeitos inibitórios não seletivos, inibindo também outras isoformas presentes no corpo humano, tais como, AKR1C1, AKR1C2 e AKR1C4, as quais desempenham papéis distintos no metabolismo dos hormônios esteroidais e ácidos biliares, o que pode causar sérios efeitos adversos (ZANG et al., 2015).

Ao contrário do descrito acima, os produtos naturais prenilados da própolis verde têm demonstrado alta seletividade inibitória para AKR1C3 em relação às demais isoformas, sendo estes também mais potentes, o que representa uma vantagem promissora para o desenvolvimento de novos inibidores citotóxicos frente às células tumorais, em especial o câncer de mama e de próstata (ENDO et al., 2014).

Neste contexto, propõe-se aumentar a variabilidade estrutural dos compostos ativos prenilados da própolis verde, visando atividades biológicas mais pronunciadas em comparação aos seus precursores naturais. Para tal, duas estratégias de síntese foram propostas, sendo a primeira, formação de dímeros triazólicos, e a segunda o acoplamento com diferentes aminoácidos. Estratégias que visam o desenvolvimento de inibidores mais potentes contra o câncer de mama e próstata, e o aumento das atividades biológicas antiparasitárias e antimicrobianas descritas.

1.4. Estratégias de Semissíntese

1.4.1. Formação de Dímeros Triazólicos

Enquanto os monômeros são encontrados em todas as fontes naturais, suas contrapartes diméricas formadas pelo acoplamento via ligações éster, éter, C-C, C-N e N-N são mais difíceis de serem encontradas (SAEED et al., 2018).

Alguns exemplos particulares de produtos naturais diméricos com propriedades promissoras são relatados na natureza. Um estudo de 2016 relatou pela primeira vez um isolado diéster do ácido hidróxi- β -truxínico (dímero do ácido cinâmico) a partir de planta

Eucommia ulmoides, que inibe o crescimento de células tronco tumorais (HUNKE et al., 2018). Outro exemplo é a classe de compostos fúngicos sorbicilinoídes (SIB; GULDER, 2017), como o tricodimerol e sorbicilina, que induzem a apoptose em linhagens de HL-60 (leucemia humana) (YAO et al., 2015), o bisorbicilinol com ação antialérgica e as sorbicilactonas A e B com atividades antivirais e neuroprotetoras (SUGAYA et al., 2019).

Estudos com compostos diméricos relatam que estes não apenas mantêm a atividade mostrada por seu monômero, como também podem aumentá-la, uma vez que possivelmente interagem com dois locais de ligação diferentes em um receptor ou em dois monômeros separados em uma proteína dimérica (PERTINO et al., 2013).

A síntese de derivados dímeros do ácido cinâmico, substância precursora dos composto prenilados da própolis verde, demonstraram efeitos antineoplásicos pronunciados contra o câncer de mama (linhagem MCF7 e MDA-MB-231) quando comparado aos seus respectivos monômeros (HUNKE et al., 2018). Além desse estudo, outros derivados triméricos e tetraméricos do ácido cinâmico e cafeico, também demonstraram, em comparação ao monômero, atividade antitumoral elevada frente a células de câncer de mama MCF-7 (DE; BALTAS; BEDOS-BELVAL, 2011).

Neste contexto, a estratégia da química moderna denominada de “click chemistry” se destaca na criação de blocos de construção unidos através de links de heteroátomos, com notável modularidade e diversidade. Este conceito de “click chemistry”, introduzido por Sharpless e colaboradores, foi atribuído às reações que seguiam os critérios, como: simples execução, altos rendimentos, seletividade e fácil remoção de subprodutos. (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001; MOSES; MOORHOUSE, 2007).

Uma reação que atende aos critérios de “click chemistry” é a reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada pelo Cu (I). Reações que necessitam a previa construção de dois blocos, o azido e o alcino terminal, gerando seletivamente o produto 1,2,3-triazólico. Os grupos azido e alcino além de serem inertes e estáveis na maioria das condições biológicas e orgânicas também têm a vantagem de serem facilmente introduzidos em moléculas orgânicas (BOCK; HIEMSTRA; VAN MAARSEVEEN, 2006).

Interessante notar que o uso de sais de Cu(I) como catalisadores para reações de cicloadição 1,3-dipolar gera apenas o isômero 1,4-triazólico, ao contrário da clássica reação pericíclica descrita durante um período de 40 anos, a qual origina 1,2,3 triazóis

como uma mistura de 1,4 e 1,5 regioisômeros substituídos (Figura 5), (ARAGÃO-LEONETI et al., 2010)

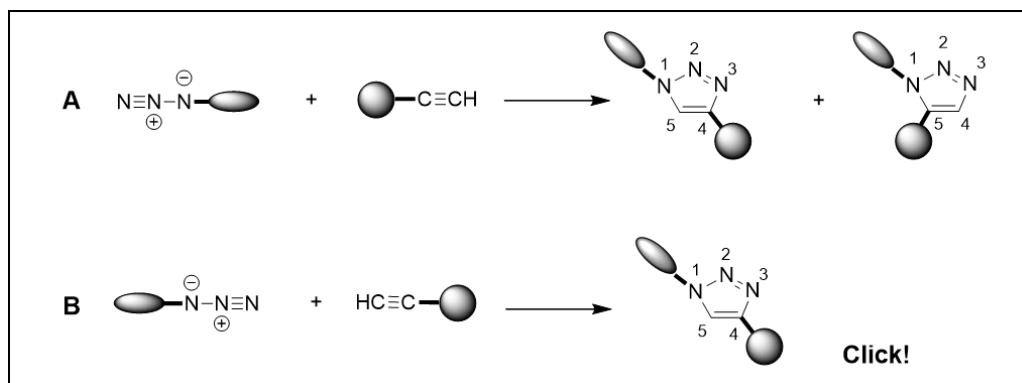


Figura 5: (A) Geração de regioisômeros 1,4- e 1,5-dissubstituídos usando reações de alta temperatura, (B) Representação da reação química de clique. Fonte: Aragão-Leoneti, et. al., 2010.

A inserção do heterocíclo de nitrogênio, como o anel 1,2,3-triazol, confere as moléculas propriedades físico-químicas desejáveis no desenvolvimento de fármacos. O anel 1,2,3-triazol desempenha papéis na bioatividade das moléculas, participando tanto como elemento farmacofórico básico, na formação de ligações de hidrogênio ou interações moleculares, assim como grupo de conexão, ligando moléculas conjugadas (JIANG et al., 2019).

Outra vantagem do anel triazol é o fato deste ser considerado um biosisotero não-clássico do grupo amida, uma vez que a unidade triazol mantém os grupos da posição 1,4-dissubstituídos (R^1 e R^2 , Figura 6) a uma distância de 5 Å o que mimetiza a distância de 3.9 Å da ligação amida (KENRY; LIU, 2019; TAUTZ et al., 2019). Isto confere às moléculas maior estabilidade, uma vez que ao contrário do grupo amida, o anel triazol não é clivado por hidrólise química ou enzimática, oxidado ou reduzido, sendo relativamente resistente à degradação metabólica e proteica (ARAGÃO-LEONETI et al., 2010; JIANG et al., 2019).

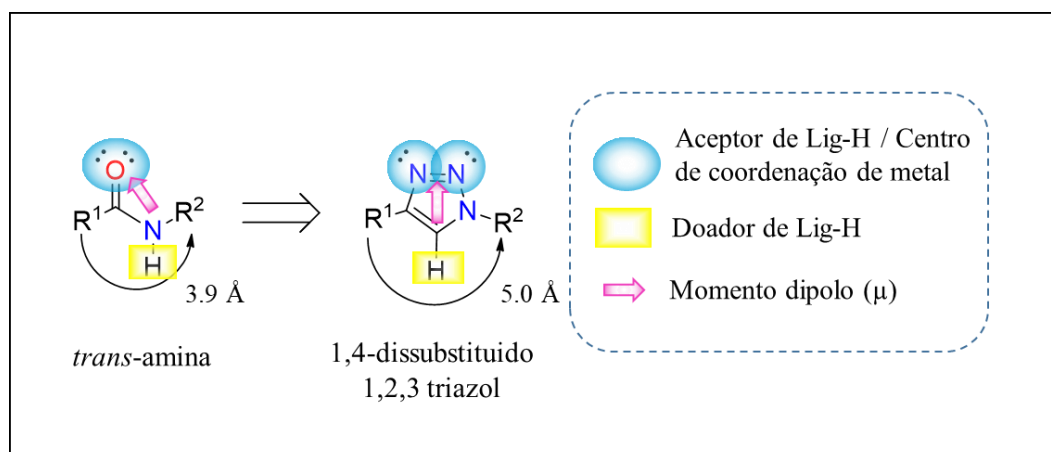


Figura 6. Relação isostérica entre *trans*-amida e 1,4-dissubstituído 1,2,3-triazol. Fonte: Tautz, et. al. 2019.

1.4.2. Acoplamento com Aminoácidos

Os aminoácidos são moléculas orgânicas com variabilidade estrutural singular, apresentando tanto cadeias laterais polares, apolares quanto carregadas (Figura 7), as quais constituem fatores decisivos para interações intra e intermoleculares (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2004; WAHEED; OBAID; AL-HAMDANI, 2019).

As moléculas de aminoácidos além de serem importantes em diversos processos metabólicos no corpo humano, participando na formação de enzimas, hormônios e em processos genéticos (AKRAM et al., 2011), também constituem estruturas interessantes para a síntese orgânica, uma vez que são moléculas de baixo custo, fácil acesso, simples de trabalharem e que possibilitam aumentar a complexidade de moléculas em poucas etapas de reações (DE CASTRO et al., 2020).

Produtos naturais e substâncias sintetizadas que já apresentavam propriedades biológicas importantes podem ser acopladas a diversos aminoácidos, na tentativa de alterar a biodisponibilidade dos precursores, assim como, torna-los mais seletivos e específicos (VILIPIC et al., 2015). A síntese de derivados de aminoácidos é possibilitada por meio da associação com as porções doadores de elétrons (NH₂, COO e S₂) das estruturas dos aminoácidos (WAHEED; OBAID; AL-HAMDANI, 2019).

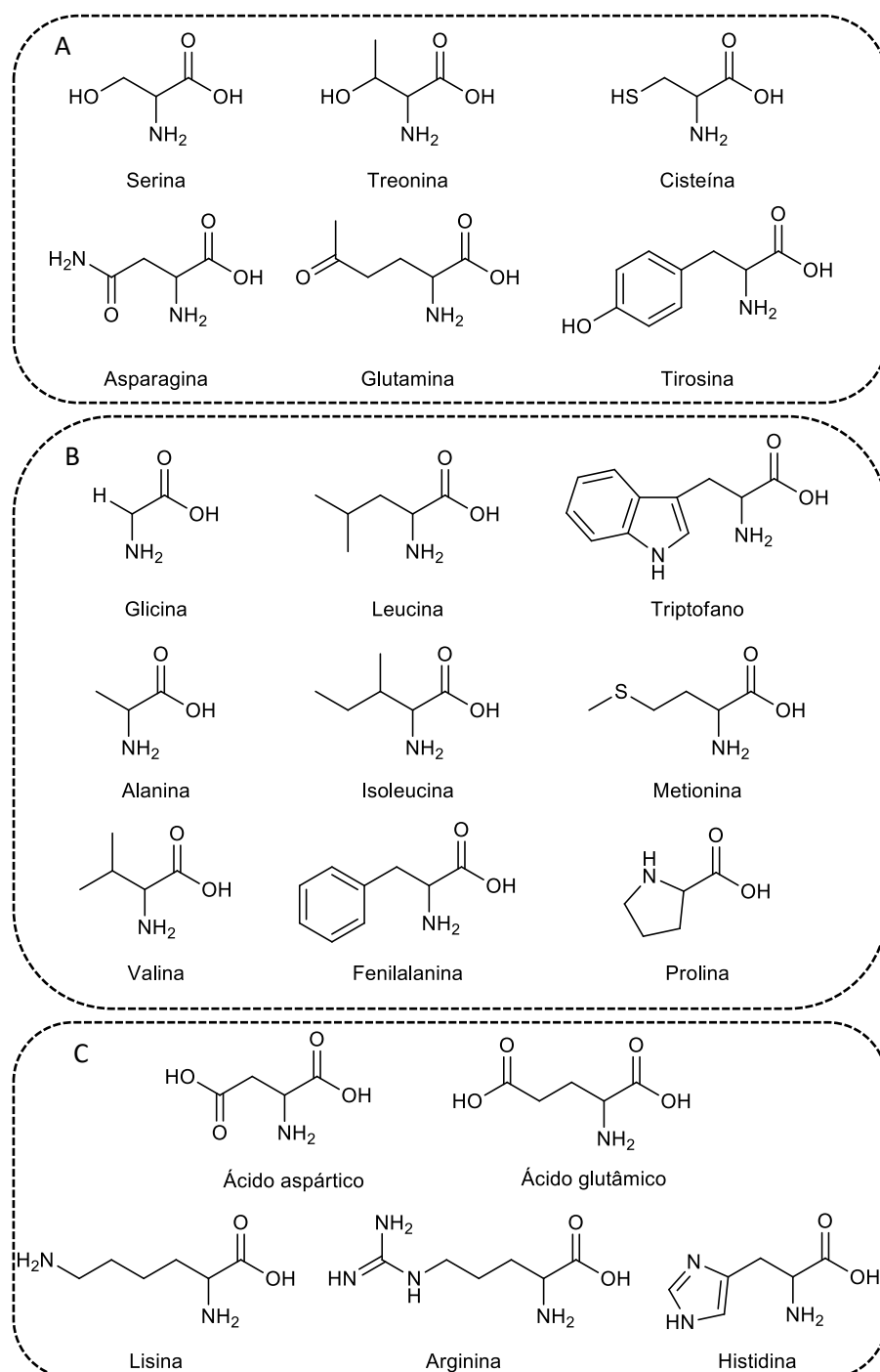


Figura 7. Estruturas química dos 20 aminoácidos. Fonte: Brasilescola

Promissoras atividades têm sido atribuídas aos derivados de aminoácidos, tais como, atividades antibacterianas, antifúngicas e antitumorais (WAHEED; OBAID; AL-HAMDANI, 2019). Como exemplo, estão os derivados de aminoácidos que demonstraram favoráveis atividade comparados aos compostos de origem, tais como, associação da quinoxalina com tirosina e metionina exibindo atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (SHINTRE et al., 2017), de

naftoquinona associadas à glicina e asparagina com atividades antitumorais contra câncer de mama (RIVERA-ÁVALOS et al., 2019) e associação de fulerenos com a arginina e lisina que demonstraram atividades antivirais contra influenza (KHALIKOV et al., 2016).

Interessante observar que na natureza há metabolitos secundários acoplados à aminoácidos. A hidroquinona, nakijiquinonas A, B, C e D, que possuem o resíduo de glicina, valina, serina e treonina, respectivamente, ligados ao anel quinona, foram isoladas de esponjas marinhas e possuem notáveis atividades antifúngica conta fungos *Candida albicans* e *Aspergillus niger* e citotóxicas contra células de leucemia linfoblástica aguda murina e células de carcinoma epidermóide humano (VILIPÍĆ et al., 2015).

Portanto, o acoplamento de produtos naturais à aminoácidos são alternativas para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de novos fármacos. Baseado nisso e no exposto, a segunda estratégia de síntese proposta neste trabalho foi a formação de derivados de cinco aminoácidos (serina, treonina, triptofano, fenilalanina, lisina) dos produtos naturais da própolis verde (artepelin C, bacarina e drupanina).

2.0 Considerações Finais

A partir do extrato bruto da própolis verde e das folhas da *B. dracunculifolia* foi possível o isolamento de quantidades satisfatórias das substâncias desejadas e majoritárias, artepelin C, drupanina e bacarina.

Dois métodos cromatográficos foram utilizados para o isolamento das substâncias naturais, a CLV e o HSCCC. Ambos demonstraram ser eficientes para o isolamento das três substâncias desejadas presentes no extrato bruto. No entanto, a técnica CLV foi considerada mais adequada para os objetivos semissintéticos deste projeto, uma vez que apesar de ser um método de separação mais lento, permite o fracionamento de quantidades superiores de extrato bruto e, portanto, a obtenção de quantidades superiores de produtos naturais quando comparada à HSCCC.

Uma vez isolados os produtos naturais, artepelin C, drupanina e bacarina, iniciaram-se as semissínteses dos dímeros triazólicos e dos derivados dos aminoácidos (serina, triptofano, treonina, fenilalanina e lisina). Os dímeros triazólicos foram obtidos com rendimentos entre 62% e 97% e as reações de acoplamento com os aminoácidos listados forneceram rendimento entre 40% e 97%.

No total, foram obtidos 28 derivados do artepelin C, drupanina e bacarina, sendo uma série de substâncias protegidas com os grupos benzil, acetil e Boc e outra série de substâncias desprotegidas. Todos os compostos sintetizados foram avaliados quanto à atividade antiproliferativa, frente às linhagens de tumores de mama e de próstata, bem como as atividades antimicrobiana e antiparasitária.

No geral, as melhores atividades biológicas obtidas foram frente à linhagem de tumor de mama hormônio dependente MCF-7. Sete derivados (**4**, **14**, **16**, **17**, **18**, **24** e **26**) exibiram bons valores de IC₅₀, os quais variaram de 9,6 a 46,5 µM, e valores de SI acima de dois, entre 2,4 à 5,5, indicando baixa toxicidade e alta seletividade frente as linhagens de câncer de mama.

Os resultados *in vitro* demonstraram que o derivado da drupanina **18** forneceu a melhor concentração inibitória de 50% em linhagens de carcinoma ($IC_{50} = 9,6 \pm 3,2 \mu M$) e índice de seletividade de 5,5 nos ensaios com MCF-7.

Além disso, as simulações de *docking* revelaram que o composto **18** apresentou interações de *docking* coerentes, bem como fortes interações dentro do sítio ativo da AKR1C3, o qual pode ser um dos mecanismos prováveis pelo efeito citotóxico observado *in vitro* frente a linhagem de tumores de mama MCF-7. Portanto, no geral, este estudo fornece uma base para o desenvolvimento de novos derivados de produtos naturais como agentes anticâncer.

3.0 Referências

AKRAM, M.; ASIF, H. M.; UZAIR, M.; AKHTAR, Naveed; MADNI, Asadullah; ALI SHAH, S. M.; HASAN, Zahoor Ul; ULLAH, Asmat. Amino acids: A review article. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S. l.], v. 5, n. 17, p. 3997–4000, 2011.

ARAGÃO-LEONETI, Valquiria; CAMPO, Vanessa L.; GOMES, Adriane S.; FIELD, Robert A.; CARVALHO, Ivone. Application of copper(I)-catalysed azide/alkyne cycloaddition (CuAAC) “click chemistry” in carbohydrate drug and neoglycopolymer synthesis. **Tetrahedron**, [S. l.], v. 66, n. 49, p. 9475–9492, 2010. DOI: 10.1016/j.tet.2010.10.001.

ARSLAN, Mustafa; BICAK, Tugrul Cem; PULIDO, Bruno A.; NUNES, Suzana P.; YAGCI, Yusuf. Post modification of acetylene functional poly(oxindole biphenylene) by photoinduced CuAAC. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 100, n. November 2017, p. 298–307, 2018. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2018.02.009.

BACHIEGA, T. F.; DE SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory/anti-inflammatory effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves. **Natural Product Research**, [S. l.], v. 27, n. 18, p. 1646–1650, 2013. DOI: 10.1080/14786419.2012.742078.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Food chemistry. *In*: **Food Chemistry**. [s.l.: s.n.]. p. 8–91. DOI: 10.1007/978-3-540-69934-7.

BERTHOLD, Michael R. et al. KNIME: The Konstanz Information Miner. *In*: **Studies in Classification, Data Analysis, and Knowledge Organization**. [s.l.: s.n.]. p. 319–326. DOI: 10.1007/978-3-540-78246-9_38.

BOCK, Victoria D.; HIEMSTRA, Henk; VAN MAARSEVEEN, Jan H. Cu I-catalyzed alkyne-azide “click” cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. **European Journal of Organic Chemistry**, [S. l.], n. 1, p. 51–68, 2006. DOI: 10.1002/ejoc.200500483.

BRAY, Freddie; FERLAY, Jacques; SOERJOMATARAM, Isabelle; SIEGEL, Rebecca L.; TORRE, Lindsey A.; JEMAL, Ahmedin. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [S. l.], v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018. DOI: 10.3322/caac.21492.

BROWN, Ron. Hive products: Pollen, propolis and royal jelly. **Bee World**, [S. l.], v. 70, n. 3, p. 109–117, 1989. DOI: 10.1080/0005772X.1989.11099000.

BUCKNER, Frederick S.; VERLINDE, Christophe L. M. J.; LA FLAMME, Anne C.; VAN VOORHIS, Wesley C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing β -galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 2592–2597, 1996. DOI: 10.1128/aac.40.11.2592.

CAMPO, Vanessa L. et al. Click chemistry oligomerisation of azido-alkyne-functionalised galactose accesses triazole-linked linear oligomers and macrocycles that inhibit *Trypanosoma cruzi* macrophage invasion. **Tetrahedron**, [S. l.], v. 71, n. 39, p. 7344–7353, 2015. DOI: 10.1016/j.tet.2015.04.085.

CHAN, Godfrey Chi Fung; CHEUNG, Ka Wai; SZE, Daniel Man Yuen. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 262–273, 2013. DOI: 10.1007/s12016-012-8322-2.

CHATELAIN, Eric. Chagas disease drug discovery: Toward a new era. **Journal of Biomolecular Screening**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 22–35, 2015. DOI: 10.1177/1087057114550585.

COLE, Jason C.; MURRAY, Christopher W.; NISSINK, J. Willem M.; TAYLOR, Richard D.; TAYLOR, Robin. Comparing protein-ligand docking programs is difficult. **Proteins: Structure, Function and Genetics**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 325–332, 2005. DOI: 10.1002/prot.20497.

COSTA, Philippe et al. Role of the antioxidant properties in the gastroprotective and gastric healing activity promoted by Brazilian green propolis and the healing efficacy of Artepillin C. **Inflammopharmacology**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 1009–1025, 2019. DOI: 10.1007/s10787-019-00649-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00649-7>.

DA SILVA, Camila Fontes Neves et al. Anticancer and antitrypanosomal activities of trinuclear ruthenium compounds with orthometalated phenazine ligands. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 49, n. 45, p. 16440–16452, 2020. DOI: 10.1039/d0dt01035a.

DA SILVA, Mauro Nogueira. **Obtenção de extrato padronizado de *Copaifera langsdorfii* por spray drying**. Universidade de São Paulo, , 2011.

DE CASTRO, Pedro P.; SIQUEIRA, Raoni P.; CONFORTE, Luiza; FRANCO, Chris H. J.; BRESSAN, Gustavo C.; AMARANTE, Giovanni W. Cytotoxic activity of synthetic chiral amino acid derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 193–200, 2020. DOI: 10.21577/0103-5053.20190157.

DE FIGUEIREDO-RINHEL, Andréa Silva Garcia; DE ANDRADE, Micássio Fernandes; LANDI-LIBRANDI, Ana Paula; AZZOLINI, Ana Elisa Caleiro Seixas; KABEYA, Luciana Mariko; BASTOS, Jairo Kenupp; LUCISANO-VALIM, Yara Maria. Incorporation of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) leaf extract into phosphatidylcholine-cholesterol liposomes improves its anti-inflammatory effect in vivo. **Natural Product Research**, [S. l.], v. 6419, p. 1–5, 2018. DOI: 10.1080/14786419.2018.1448809. Disponível em: <http://doi.org/10.1080/14786419.2018.1448809>.

DE OLIVEIRA, Pollyanna Francielli; DE SOUZA LIMA, Ildercílio Mota; MUNARI, Carla Carolina; BASTOS, Jairo Kenupp; DA SILVA FILHO, Ademar Alves; TAVARES, Denise Crispim. Comparative evaluation of antiproliferative effects of brazilian green propolis, its main source *baccharis dracunculifolia*, and their major constituents artepillin C and baccharin. **Planta Medica**, [S. l.], v. 80, n. 6, p. 490–492, 2014. DOI: 10.1055/s-0034-1368298.

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 18, n. 11, p. 1672–1703, 2011. DOI: 10.2174/092986711795471347.

DE SOUSA, João P. B. . **Influência da sazonalidade no perfil químico dos óleos essenciais e das substâncias fixas de *Baccharis dracunculifolia* cultivada, utilizando-se cromatografia em fases gasosas e líquida**. Universidade de São Paulo, , 2007.

DECORTE, Bart L. Underexplored Opportunities for Natural Products in Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 59, n. 20, p. 9295–9304, 2016. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00473.

DESAI, Sulaksha; DESAI, Vidya; SHINGADE, Sunil. In-vitro Anti-cancer assay and apoptotic cell pathway of newly synthesized benzoxazole-N-heterocyclic hybrids as potent tyrosine kinase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 94, p. 103382, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103382. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103382>.

DUTTA, Sayanta; MAHALANOBISH, Sushweta; SAHA, Sukanya; GHOSH, Shatadal; SIL,

Parames C. Natural products: An upcoming therapeutic approach to cancer. **Food and Chemical Toxicology**, [S. l.], v. 128, n. April, p. 240–255, 2019. DOI: 10.1016/j.fct.2019.04.012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.04.012>.

EHRENWORTH, Amy M.; PERALTA-YAHYA, Pamela. Accelerating the semisynthesis of alkaloid-based drugs through metabolic engineering. **Nature Chemical Biology**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 249–258, 2017. DOI: 10.1038/nchembio.2308.

ENDO, Satoshi et al. Selective inhibition of human type-5 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) by baccharin, a component of Brazilian propolis. **Journal of Natural Products**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 716–721, 2012. a. DOI: 10.1021/np201002x.

ENDO, Satoshi et al. Selective Inhibition of Human Type-5 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (AKR1C3) by Baccharin, a Component of Brazilian Propolis. **Journal of Natural Products**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 716–721, 2012. b. DOI: <https://doi.org/10.1021/np201002x>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np201002x>.

ENDO, Satoshi et al. Synthesis of non-prenyl analogues of baccharin as selective and potent inhibitors for aldo-keto reductase 1C3. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 22, n. 19, p. 5220–5233, 2014. DOI: 10.1016/j.bmc.2014.08.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2014.08.007>.

FIELDS, Gregg B. Methods for Removing the Finoc Group. *In: Peptide Synthesis Protocols*. New Jersey: Humana Press, 1994. v. 35p. 17–28. DOI: 10.1385/0-89603-273-6:17. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1385/0-89603-273-6:17>.

GRESSLER, Lucas T. et al. Susceptibility of *Trypanosoma evansi* to propolis extract in vitro and in experimentally infected rats. **Research in Veterinary Science**, [S. l.], v. 93, n. 3, p. 1314–1317, 2012. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.02.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.02.007>.

HALGREN, Thomas A.; MURPHY, Robert B.; FRIESNER, Richard A.; BEARD, Hege S.; FRYE, Leah L.; POLLARD, W. Thomas; BANKS, Jay L. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 2. Enrichment Factors in Database Screening. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 47, n. 7, p. 1750–1759, 2004. DOI: 10.1021/jm030644s.

HE, Min et al. The NCI library of traditional Chinese medicinal plant extracts – Preliminary assessment of the NCI-60 activity and chemical profiling of selected species. **Fitoterapia**, [S. l.], v. 137, n. June, p. 104285, 2019. DOI: 10.1016/j.fitote.2019.104285. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104285>.

HEVENER, Kirk E.; ZHAO, Wei; BALL, David M.; BABAOGLU, Kerim; QI, Jianjun; WHITE, Stephen W.; LEE, Richard E. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1021/ci800293n.

HUNKE, Megan; MARTINEZ, Wuilian; KASHYAP, Akshay; BOKOSKIE, Treyvon; PATTABIRAMAN, Mahesh; CHANDRA, Surabhi. Antineoplastic actions of cinnamic acids and their dimers in breast cancer cells: A comparative study. **Anticancer Research**, [S. l.], v. 38, n. 8, p. 4469–4474, 2018. DOI: 10.21873/anticancer.12749.

JIANG, Xiangyi; HAO, Xia; JING, Lanlan; WU, Gaochan; KANG, Dongwei; LIU, Xinyong; ZHAN, Peng. Recent applications of click chemistry in drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 779–789, 2019. DOI: 10.1080/17460441.2019.1614910. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1614910>.

KENRY; LIU, Bin. Bio-orthogonal Click Chemistry for In Vivo Bioimaging. **Trends in Chemistry**, [S. l.], v. 1, n. 8, p. 763–778, 2019. DOI: 10.1016/j.trechm.2019.08.003.

KHALIKOV, Sh. Kh.; SHARIPOVA, D.; ZAFAROV, S. Z.; UMARKHON, M.; JALALIFAR, M. Synthesis of α -amino acid derivatives of fullerene C60 with antiviral properties. **International Journal of Modern Chemistry**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–18, 2016. Disponível em: <http://www.modernscientificpress.com/Journals/downloadFile.aspx?H86Z5Noa2iKDNvH/0wRKWscIO0K9z1h/I+3HBIje8iy3H+lvS4Rw6kamerW2woD4>.

KNIME AG. **KNIME Analytics Platform 4.3.1** Zurich, Switzerland, 2021.

KOLB, Hartmuth C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. Barry. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie - International Edition**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 2004–2021, 2001. DOI: 10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5.

LAVRADO, João et al. Incorporation of basic side chains into cryptolepine scaffold: Structure-antimalarial activity relationships and mechanistic studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 54, n. 3, p. 734–750, 2011. DOI: 10.1021/jm101383f.

LI, Gang; LOU, Hong Xiang. Strategies to diversify natural products for drug discovery. **Medicinal Research Reviews**, [S. l.], v. 38, n. 4, p. 1255–1294, 2018. DOI: 10.1002/med.21474.

LI, Yangfeng et al. Novel Pyrrolopyridone Bromodomain and Extra-Terminal Motif (BET) Inhibitors Effective in Endocrine-Resistant ER+ Breast Cancer with Acquired Resistance to Fulvestrant and Palbociclib. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 63, n. 13, p. 7186–7210, 2020. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00456.

LOVERING, Andrew L.; RIDE, Jon P.; BUNCE, Christopher M.; DESMOND, Julian C.; CUMMINGS, Stephen M.; WHITE, Scott A. Crystal Structures of Prostaglandin D2 11-Ketoreductase (AKR1C3) in Complex with the Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Flufenamic Acid and Indomethacin. **Cancer Research**, [S. l.], v. 64, n. 5, p. 1802–1810, 2004. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2847.

MACHADO, Christiane Schneider et al. Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2016, n. type 12, 2016. DOI: 10.1155/2016/6057650.

MACIAS, Alba T. et al. Adenosine-derived inhibitors of 78 kDa glucose regulated protein (Grp78) ATPase: Insights into isoform selectivity. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1021/jm101625x.

MADHAVI SASTRY, G.; ADZHIGIREY, Matvey; DAY, Tyler; ANNABHIMOJU, Ramakrishna; SHERMAN, Woody. Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 221–234, 2013. DOI: 10.1007/s10822-013-9644-8.

MARCHIORI, Marcelo Fiori; PIRES SOUTO, Dênio Emanuel; OLIVEIRA BORTOT, Leandro; FRANCISCO PEREIRA, João; KUBOTA, Lauro Tatsuo; CUMMINGS, Richard D.; DIAS-BARUFFI, Marcelo; CARVALHO, Ivone; CAMPO, Vanessa Leiria. Synthetic 1,2,3-triazole-linked glycoconjugates bind with high affinity to human galectin-3. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 23, n. 13, p. 3414–3425, 2015. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.04.044. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.044>.

MARTINS-TEIXEIRA, Maristela B.; CAMPO, Vanessa L.; BIONDO, Monica; SESTI-COSTA,

Renata; CARNEIRO, Zumira A.; SILVA, João S.; CARVALHO, Ivone. α -Selective glycosylation affords mucin-related GalNAc amino acids and diketopiperazines active on *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 21, n. 7, p. 1978–1987, 2013. DOI: 10.1016/j.bmc.2013.01.027. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.01.027>.

MBESE, Zintle; KHWAZA, Vuyolwethu; ADERIBIGBE, Blessing Atim. Curcumin and Its Derivatives as Potential Therapeutic Agents in Prostate, Colon and Breast Cancers. **Molecules**, [S. l.], v. 24, n. 23, p. 4386, 2019. DOI: 10.3390/molecules24234386.

MISHIMA, Satoshi; ONO, Yosuke; ARAKI, Yoko; AKAO, Yukihiro; NOZAWA, Yoshinori. Two related cinnamic acid derivatives from Brazilian honey bee propolis, baccharin and drupanin, induce growth inhibition in allografted sarcoma S-180 in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 1025–1030, 2005. DOI: 10.1248/bpb.28.1025.

MOSES, John E.; MOORHOUSE, Adam D. The growing applications of click chemistry. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 1249–1262, 2007. DOI: 10.1039/b613014n.

MOTTA, Erick Vicente da Silva. **Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE-UV-DAD para quantificação e análise sazonal de derivados galoilquínicos nas folhas de *Copaifera langsdorffii*** Universidade de São Paulo, , 2014.

NGUYEN, Dung Le; SEYER, René; HEITZ, Annie; CASTRO, Bertrand. Renin substrates. Part 1. Liquid-phase synthesis of the equine sequence with benzotriazoloxyltris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP). **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, [S. l.], p. 1025–1031, 1985. DOI: 10.1039/p19850001025.

NICHOLLS, Anthony. What do we know and when do we know it? **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [S. l.], v. 22, n. 3–4, p. 239–255, 2008. DOI: 10.1007/s10822-008-9170-2.

PARK, Yong K.; PAREDES-GUZMAN, Julio F.; AGUIAR, Claudio L.; ALENCAR, Severino M.; FUJIWARA, Fred Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, [S. l.], v. 52, n. 5, p. 1100–3, 2004. DOI: 10.1021/jf021060m. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf021060m>.

PEDERSEN, D. S.; ROSENBOHM, C. Dry column vacuum chromatography. **Synthesis**, [S. l.], n. 16, p. 2431–2434, 2001. DOI: 10.1055/s-2001-18722.

PEREIRA, Cristiane A.; COSTA, Anna Carolina B. Pereira; LIPORONI, Priscila Christiane S.; REGO, Marcos A.; JORGE, Antonio Olavo C. Antibacterial activity of *Baccharis dracunculifolia* in planktonic cultures and biofilms of *Streptococcus mutans*. **Journal of Infection and Public Health**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 324–330, 2016. DOI: 10.1016/j.jiph.2015.10.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2015.10.012>.

PERKINELMER INFORMATICS INC. **Chemdraw Professional 18.2.0.48**, 2021.

PERTINO, Mariano Walter; THEODULOZ, Cristina; BASTÍAS, Marco; SCHMEDA-HIRSCHMANN, Guillermo. Dimeric labdane diterpenes: Synthesis and antiproliferative effects. **Molecules**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 5936–5953, 2013. DOI: 10.3390/molecules18055936.

PIPPIONE, Agnese C. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Hydroxytriazole derivatives as potent and selective aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3) inhibitors discovered by bioisosteric scaffold hopping approach. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 139, p. 936–946, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.08.046. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.046>.

POBIEGA, Katarzyna; GNIEWOSZ, Małgorzata; KRAŚNIEWSKA, Karolina. Antimicrobial and antiviral properties of different types of propolis. **Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych**, [S. l.], n. 589, p. 69–79, 2017. DOI: 10.22630/zppnr.2017.589.22.

PONTIN, Karina; DA SILVA FILHO, Ademar A.; SANTOS, Fransérgio Francisco; SILVA, Márcio Luís Andrade E.; CUNHA, Wilson Roberto; NANAYAKKARA, N. P. Dhammik.; BASTOS, Jairo Kenupp; DE ALBUQUERQUE, Sérgio. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 103, n. 3, p. 487–492, 2008. DOI: 10.1007/s00436-008-0970-z.

RDKIT: OPEN-SOURCE CHEMINFORMATICS. <http://www.rdkit.org>, 2021.

REW, Yosup et al. Structure-Based Design of Novel Inhibitors of the MDM2–p53 Interaction. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 55, n. 11, p. 4936–4954, 2012. DOI: 10.1021/jm300354j.

RIVERA-ÁVALOS, Ernesto; DE LOERA, Denisse; ARAUJO-HUITRADO, Jorge Gustavo; ESCALANTE-GARCÍA, Ismailia Leilani; MUÑOZ-SÁNCHEZ, Miguel Antonio; HERNÁNDEZ, Hiram; LÓPEZ, Jesús Adrián; LÓPEZ, Lluvia. Synthesis of amino acid-naphthoquinones and in vitro studies on cervical and breast cell lines. **Molecules**, [S. l.], v. 24, n. 23, p. 1–14, 2019. DOI: 10.3390/molecules24234285.

ROBERTO, Matheus Mantuanelli; MATSUMOTO, Sílvia Tamie; JAMAL, Cláudia Masrouah; MALASPINA, Osmar; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells. **Toxicology in Vitro**, [S. l.], v. 33, p. 9–15, 2016. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.02.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2016.02.005>.

RODRIGUES, Débora Munhoz; DE SOUZA, Marcelo Claro; ARRUDA, Caroline; PEREIRA, Rodrigo Augusto Santinelo; BASTOS, Jairo Kenupp. The Role of *Baccharis dracunculifolia* and its Chemical Profile on Green Propolis Production by *Apis mellifera*. **Journal of Chemical Ecology**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 150–162, 2019. DOI: 10.1007/s10886-019-01141-w.

RODRIGUES, Débora Munhoz; PORTAPILLA, Gisele Bulhões; SILVA, Guilherme Martins; DUARTE, Andressa; ROTTA, Cristiana Gonçalves; DA SILVA, Carlos Henrique Tomich de Paula; DE ALBUQUERQUE, Sérgio; BASTOS, Jairo Kenupp; CAMPO, Vanessa Leiria. Synthesis, antitumor activity and in silico analyses of amino acid derivatives of artemisinin, drupanin and baccharin from green propolis. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 47, n. July, 2021. DOI: 10.1016/j.bmc.2021.116372.

RODRIGUES, Tiago; REKER, Daniel; SCHNEIDER, Petra; SCHNEIDER, Gisbert. Counting on natural products for drug design. **Nature Chemistry**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 531–541, 2016. DOI: 10.1038/nchem.2479.

SAEED, Aasim et al. Synthesis of new triterpenic monomers and dimers as potential antiproliferative agents and their molecular docking studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 143, p. 948–957, 2018. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.10.079.

SALATINO, Antonio; TEIXEIRA, Érica Weinstein; NEGRI, Giuseppina; MESSAGE, Dejair. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 33–38, 2005. DOI: 10.1093/ecam/neh060.

SALOMÃO, Kelly; DE SOUZA, Eniuce M.; HENRIQUES-PONS, Andrea; BARBOSA, Helene S.; DE CASTRO, Solange L. Brazilian green propolis: Effects in vitro and in vivo on *Trypanosoma cruzi*. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2011, 2011. DOI:

10.1093/ecam/nep014.

SAWAYA, Alexandra C. H. F.; BARBOSA DA SILVA CUNHA, Ildenize; MARCUCCI, Maria C. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. **Chemistry Central Journal**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–10, 2011. DOI: 10.1186/1752-153X-5-27.

SCHRÖDINGER. **LigPrep - Suite 2015-2**, 2018.

SCHRÖDINGER. **Maestro Schrödinger Suite 2020-1**Schrödinger, , 2020.

SCHRÖDINGER LLC. **The Pymol Molecular Graphics System 1.3**, 2010. Disponível em: <http://www.pymol.org>.

SEIBERT, Janaína Brandão et al. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 287, n. October 2018, p. 61–67, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.02.078.

SEPÚLVEDA, César; NÚÑEZ, Olinda; TORRES, Alejandra; GUZMÁN, Luis; WEHINGER, Sergio. Antitumor Activity of Propolis: Recent Advances in Cellular Perspectives, Animal Models and Possible Applications. **Food Reviews International**, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 429–455, 2019. DOI: 10.1080/87559129.2019.1649692. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1649692>.

SEPÚLVEDA, César; NÚÑEZ, Olinda; TORRES, Alejandra; GUZMÁN, Luis; WEHINGER, Sergio. Antitumor Activity of Propolis: Recent Advances in Cellular Perspectives, Animal Models and Possible Applications. **Food Reviews International**, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 429–455, 2020. DOI: 10.1080/87559129.2019.1649692. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1649692>.

SHINTRE, Suhas A.; RAMJUGERNATH, Deresh; ISLAM, Md Shahidul; MOPURI, Ramgopal; MOCKTAR, Chunderika; KOORBANALLY, Neil A. Synthesis, in vitro antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of thiazolidine–quinoxaline derivatives with amino acid side chains. **Medicinal Chemistry Research**, [S. l.], v. 26, n. 9, p. 2141–2151, 2017. DOI: 10.1007/s00044-017-1922-x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00044-017-1922-x>.

SIB, Anna; GULDER, Tobias A. M. Stereoselective Total Synthesis of Bisorbicillinoid Natural Products by Enzymatic Oxidative Dearomatization/Dimerization. **Angewandte Chemie**, [S. l.], v. 129, n. 42, p. 13068–13071, 2017. DOI: 10.1002/ange.201705976.

SIMONE-FINSTROM, M.; SPIVAK, M. Review article Propolis and bee health : the natural history and significance of resin use by honey bees. **Apidologie**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 295–311, 2010. DOI: 10.1051/apido/2010016.

SUGAYA, Kouichi; TERAJIMA, Takehito; TAKAHASHI, Aika; ONOSE, Jun ichi; ABE, Naoki. Bisorbicillinol inhibits Lyn tyrosine kinase for allergic response on RBL-2H3 cells. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 832–835, 2019. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.01.019.

TAUTZ, Markus; TORRAS, Juan; GRIJALVO, Santiago; ERITJA, Ramón; SALDÍAS, César; ALEMÁN, Carlos; DÍAZ, David Díaz. Expanding the limits of amide-triazole isosteric substitution in bisamide-based physical gels. **RSC Advances**, [S. l.], v. 9, n. 36, p. 20841–20851, 2019. DOI: 10.1039/c9ra03316e.

THOMFORD, Nicholas Ekow; SENTHEBANE, Dimakatso Alice; ROWE, Arielle; MUNRO, Daniella; SEELE, Palesa; MAROYI, Alfred; DZOBO, Kevin. Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. **International Journal of Molecular**

Sciences, [S. l.], v. 19, n. 6, 2018. DOI: 10.3390/ijms19061578.

TIVERON, Ana Paula; ROSALEN, Pedro Luiz; FRANCHIN, Marcelo; LACERDA, Risia Cristina Coelho; BUENO-SILVA, Bruno; BENSO, Bruna; DENNY, Carina; IKEGAKI, Masaharu; DE ALENCAR, Severino Matias. Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1–18, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0165588. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0165588>.

TRIBALLEAU, Nicolas; ACHER, Francine; BRABET, Isabelle; PIN, Jean-Philippe; BERTRAND, Hugues-Olivier. Virtual Screening Workflow Development Guided by the “Receiver Operating Characteristic” Curve Approach. Application to High-Throughput Docking on Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 4. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 48, n. 7, p. 2534–2547, 2005. DOI: 10.1021/jm049092j.

VILIPIĆ, Jovana; NOVAKOVIĆ, Irena; STANOJKOVIĆ, Tatjana; MATIĆ, Ivana; ŠEGAN, Dejan; KLJAJIĆ, Zoran; SLADIĆ, Dušan. Synthesis and biological activity of amino acid derivatives of avarone and its model compound. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 23, n. 21, p. 6930–6942, 2015. DOI: 10.1016/j.bmc.2015.09.044.

WAHEED, Enass J.; OBAID, Shatha MH; AL-HAMDANI, Abbas Ali Salih. Biological Activities of Amino Acid Derivatives and their Complexes a Review. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, [S. l.], v. 10, n. October, p. 1624–1641, 2019.

WRIGHT, Gerard D. Unlocking the potential of natural products in drug discovery. **Microbial Biotechnology**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 55–57, 2019. DOI: 10.1111/1751-7915.13351.

YANG, Haijuan; RUDGE, Derek G.; KOOS, Joseph D.; VAIDIALINGAM, Bhamini; YANG, Hyo J.; PAVLETICH, Nikola P. MTOR kinase structure, mechanism and regulation. **Nature**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1038/nature12122.

YAO, Yao; LI, Juan; JIANG, Cheng Shuai; ZHAO, Xun Xia; MIAO, Zhen Hua; LIU, He Tao; ZHENG, Ping; YAO, Wan Xia; LI, Wei Qi. Trichodimerol and sorbicillin induced apoptosis of HL-60 cells is mediated by reactive oxygen species. **Pharmazie**, [S. l.], v. 70, n. 6, p. 394–398, 2015. DOI: 10.1691/ph.2015.4868.

YASHIRO, Kazuki; HANAYA, Kengo; SHOJI, Mitsuru; SUGAI, Takeshi. New synthesis of artemillin C, a prenylated phenol, utilizing lipase-catalyzed regioselective deacetylation as the key step. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, [S. l.], v. 79, n. 12, p. 1926–1930, 2015. DOI: 10.1080/09168451.2015.1058704. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/09168451.2015.1058704>.

YAZAKI, Kazufumi; SASAKI, Kanako; TSURUMARU, Yusuke. Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites. **Phytochemistry**, [S. l.], v. 70, n. 15–16, p. 1739–1745, 2009. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.08.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.08.023>.

ZANG, Tianzhu; VERMA, Kshitij; CHEN, Mo; JIN, Yi; TRIPPIER, Paul C.; PENNING, Trevor M. Screening baccharin analogs as selective inhibitors against type 5 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3). **Chemico-Biological Interactions**, [S. l.], v. 234, p. 339–348, 2015. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.12.015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2014.12.015>.

ZIMTA, Alina-andreea; SCHITCU, Vlad; GURZAU, Eugen; STAVARU, Crina; MANDA, Gina; SZEDLACSEK, Stefan; BERINDAN-NEAGOE, Ioana. Biological and molecular modifications induced by cadmium and arsenic during breast and prostate cancer development. **Environmental Research**, [S. l.], v. 178, n. August, p. 108700, 2019. DOI:

10.1016/j.envres.2019.108700. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108700>.

