

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 15/02/2019.

**MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA**

**Estudo fitoquímico de *Aristolochia cordigera* e  
síntese de lignanas com potencial antimalárico**

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de Doutor em  
Química.

Orientadora: Prof. Dra. Lucia Maria Xavier Lopes

Araraquara

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

P436e Pereira, Marcos Donizete Peliçon  
Estudo fitoquímico de *Aristolochia cordigera* e síntese de  
lignanas com potencial antimalárico / Marcos Donizete  
Peliçon Pereira. – Araraquara : [s.n.], 2017  
299 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Química  
Orientador: Lucia Maria Xavier Lopes

1. Aristoloquiacea. 2. Lignanas. 3. Síntese orgânica.  
4. Antimaláricos. 5. Alcaloides indólicos. I. Título.

## MARCOS DONIZETE PELIÇON PEREIRA

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de Doutor em  
Química.

Araraquara, 15 de fevereiro de 2017.

### BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Lucia Maria Xavier Lopes (Orientadora)  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



Dr. Nivaldo Boralle  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



Prof. Dr. Luis Octávio Regasini  
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP, São José do Rio Preto - SP



Profª Drª Hosana Maria Deboni  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP – Ribeirão Preto - SP



Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP – Ribeirão Preto - SP

## DADOS CURRICULARES

### IDENTIFICAÇÃO

Nome: Marcos Donizete Peliçon Pereira

Nome em citações bibliográficas: Pereira, M. D. P.; PEREIRA, MARCOS D.P.; PEREIRA, MARCOS D. P.; M. D. P. Pereira

Nacionalidade: Brasileiro

Naturalidade: Assis Chateaubriand – PR

Estado Civil – Solteiro

Filiação: Pai – Valdenil Messias Pereira

Mãe – Maria Peliçon Pereira

Endereço: Avenida Inglaterra II, 296, Jardim Europa, Assis Chateaubriand- Paraná, C.E.P. 85935-000

Endereço Profissional: Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química de Araraquara, C.P. 355, C.E.P. 14800-970.

### FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

**Graduação:** Licenciatura em Química

**Data de conclusão:** 08/12/2007

**Intituição:** Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

**Mestrado:** Química

**Data de conclusão:** 17/08/2012

**Area de concentração:** Química Orgânica

**Instituição:** Instituto de Química de Araraquara – UNESP

### PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

#### Artigos completos publicados em periódicos

Pereira, M. D. P.; Ferreira M. R.; Messiano, G. B.; Lopes, L. M. X.; Krettli, A. U. Aryltetralols from *Holostylis reniformis* and syntheses of lignan analogous. **Phytochemistry Letters**, v. 13, p. 200-205, 2015.

Martins, G. F.; Pereira, M. D. P.; Lopes, L. M. X.; Silva, T. da; Rosa, P. T. V. E.; Barbosa, F. P.; Messiano, G. B.; Krettli, A. U. Intraspecific variability of *Holostylis reniformis*: concentration of lignans, as determined by maceration and supercritical fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>), as a function of plant provenance and plant parts. **Quimica Nova**, v. 37, n. 2, p. 281-287, 2014.

Pereira, M. D. P.; Silva, T. da; Lopes, L. M. X.; Krettli, A. U.; Madureira, L.; Zukerman-Schpector, J. 4,5-Seco-guaiane and a nine-membered sesquiterpene lactone from *Holostylis reniformis*. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14046-14057, 2012.

### **Trabalhos publicados em anais de eventos científicos**

LOPES, L. M. X.; Pereira, M. D. P. Sesquiterpenes from *Holostylis reniformis*. In: 50th Anniversary Meeting, PSNA 2011, 2011, Kohala Coast, Hawai'i. In: 50th Anniversary of the Phytochemical Society of North America (PSNA), 2011.

### **Apresentação de trabalhos**

PEREIRA, M. D. P.; LOPES, L. M. X. Chemical constituents of *Aristolochia Cordigera*. In: 5th BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS - BCNP" AND "XXXI ANNUAL MEETING ON MICROMOLECULAR EVOLUTION, SYSTEMATICS AND ECOLOGY – RESEM, 2015, Atibaia.

PEREIRA, M. D. P.; LOPES, L. M. X. Synthesis of aryltetralone lignans. In: 16TH TETRAHEDRON SYMPOSIUM, 2015, Berlin.

PEREIRA, M. D. P.; LOPES, L. M. X.; FERREIRA, M. R. Método de separação quirálca de lignanas e derivados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASIELIRA DE QUÍMICA, 2013, Águas de Lindóia.

PEREIRA, M. D. P.; LOPES, L. M. X. Intraespecific chemical variability of *Aristolochia Cordigera* in two Brazil Biomes. In: 4th BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS AND THE XXX MEETING ON MICROMOLECULAR, EVOLUTION, SISTEMATIC AND ECOLOGY (RESEM), 2013, Natal.

PEREIRA, M. D. P.; LOPES, L. M. X. New lignans from *Holostylis reniformis*. In: 3rd BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS, XXIX RESEM, 2011, Ouro Preto.

## **Participação em eventos científicos**

1st UNESP NMR Symposium Recent Advances in NMR Spectroscopy: A Powerful Tool for Fundamental and Applied Research. 2014.

São Paulo advanced school on bioorganic chemistry. 2013.

I Congresso Nacional de Engenharia de Pesca, Engenharia Química e Química. 2007.

X Semana Acadêmica de Química. 2007.

I Workshop de Educação em Química. 2006.

Encontro Paranaense de Estudantes de Química. 2005.

Fórum de Discussão da Avaliação Institucional. 2005.

XIII SBQSul- Encontro de Química da Região Sul. 2005.

VII Semana de Química - Os caminhos da Química: Ensino, Extensão e Pesquisa. 2004.

## **AGRADECIMENTOS**

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Lucia Maria Xavier Lopes pela orientação, ensinamento, profissionalismo, dedicação e confiança em mim depositada.

À minha esposa Verônica, por ter paciência em vários momentos difíceis, pelo apoio, amor e carinho desprendido sempre que precisei e por ser muito especial para mim.

Aos meus pais Valdenil e Maria, pelo incentivo, apoio e amor incondicional sentido muitas vezes em demoradas conversas por telefone.

Aos meus irmãos Eliana e Sidnei, e familiares, os quais sempre me incentivaram, ajudaram e foram muito amorosos mesmo em pequenos gestos.

Ao Dr. Nivaldo Boralle e Lucineia, pela realização dos experimentos de RMN e pela amizade.

Ao João Bronzel e a Juliana Rodrigues pelos experimentos de massas e dicroísmo realizados, além da amizade e conversas agradáveis em momentos descontraídos.

Aos Professores Dra. Antoniana U. Krettli, Dra. Sílvia Reni Bortolin Uliana, Dr. Glaucius Oliva, Dr. Rafael V. C. Guido, bem como a Msc. Jenicer Kazumi Umada Yokoyama Yasunaka e a Dra. Anna Caroline C. Aguiar, pelo auxílio e colaboração na realização dos ensaios biológicos.

Ao Professor Dr. Tito da Silva pela coleta dos materiais vegetais.

Aos alunos de iniciação científica, Matheus e Vitória na colaboração com o trabalho, e a todos meus amigos em especial ao (Alexander, Nicolas, Juliano Passareti, Gislaine, Amauri, Carla, João e Juliana) pelo companheirismo.

Ao instituto de Química, e a Universidade Estadual Paulista UNESP - Araraquara.

E por fim mais não menos importante, às agências de fomento FAPESP pela bolsa concedida (processo nº 2012/25405-0), CNPq e CAPES, e CNPq-PRONEX pelos auxílios financeiros.



“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre”. (Paulo Freire)

## RESUMO

Este trabalho descreve um estudo comparativo da variabilidade química intraespecífica de espécies de *Aristolochia cordigera*, coletadas em duas regiões diferentes do Brasil, Bioma Cerrado (semiárido) e Bioma Amazônia (litoral). A utilização de CG-EM e métodos estatísticos levaram a identificação de 56 compostos. Altas concentrações de palmitona e germacreno-D nos extratos hexânicos de folhas das plantas destes respectivos biomas, caracterizam a procedência da planta. Os estudos fitoquímicos dos extratos levaram ao isolamento e identificação de 19 compostos conhecidos, incluindo lignanas, neolignanas, ácidos aristolóquicos, indol- $\beta$ -carbolina e alcaloides indólicos. Além disso, dois novos alcaloides indólicos, 3,4-dihidro-hirtiosulawesina e 6-O-( $\beta$ -glucopiranosil)hirtiosulawesina foram isolados e *cis*-eupomatenóide-7, uma nova neolignana, foi obtida em mistura com o seu isômero conhecido eupomatenóide-7. Suas estruturas foram determinadas por métodos espectroscópicos, principalmente por RMN 1D e 2D e HRESIMS, sendo que a ocorrência de alcaloides indólicos está sendo descrita pela primeira vez na família Aristolochiaceae. Também foram avaliadas a susceptibilidade *in vitro* de formas amastigotas intracelulares e formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* dos alcaloides e do eupomatenóide-7. Esta neolignana apresentou baixa atividade contra formas promastigotas (IC<sub>50</sub> de 46  $\mu$ M) e toxicidade contra formas amastigotas em concentrações de 50 e 100  $\mu$ M, enquanto que os alcaloides não apresentaram atividade inibitória nas mesmas condições experimentais. Vários dos alcaloides isolados também foram avaliados *in vitro* contra *Plasmodium falciparum*. O alcaloide 6-O-( $\beta$ -glucopiranosil)hirtiosulawesina exibiu atividade, com um valor de IC<sub>50</sub> de 5  $\mu$ M e um índice de selectividade (IS) superior a 50. A lignana 8-*epi*-aristoligona e 35 análogos desta, com diferentes substituintes nos anéis A e C foram obtidos por síntese. A lignana também foi transformada em ariltetralóis e ariltetralenos. A atividade antiplasmodial destes derivados foi avaliada. Os derivados mais ativos foram 4'-bromo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona e 3',4'-dimetoxi-4,5-dimetil-2,7'-ciclolignan-7-ona, com IC<sub>50</sub> = 1,3  $\pm$  0,8  $\mu$ M e IC<sub>50</sub> = 2,6  $\pm$  0,8  $\mu$ M, respectivamente. Assim, a avaliação da atividade inibitória *in vitro* contra *L. amazonensis* e *P. falciparum* sugere que os compostos isolados de *A. cordigera* assim como os derivados sintéticos obtidos podem ser investigados como novos "scaffolds" moleculares para o desenvolvimento de fármacos antiparasitários.

Palavras-chave: *Aristolochia cordigera*. Aristolochiaceae. Lignoides. Alcaloides indólicos. Síntese de lignanas. Antiplasmodial. Antileishmanial.

## ABSTRACT

This work describes a comparative study on the intraspecific chemical variability of *Aristolochia cordigera* species, collected in two different regions of Brazil, Biome Cerrado (semi-arid) and Biome Amazônia (coastal). The use of GC-MS and statistical methods led to identification of 56 compounds. Higher concentrations of palmitone and germacrene-D in the hexane extracts of the leaves of plants from these respective biomes characterized the plant provenance. Moreover, phytochemical studies on the extracts led to the isolation and identification of 19 known compounds, including lignans, neolignans, aristolochic acids, indole- $\beta$ -carboline and indole alkaloids. In addition, two new indole alkaloids, 3,4-dihydro-hyrtiosulawesine and 6-O-( $\beta$ -glucopyranosyl)hyrtiosulawesine were isolated and cis-eupomatenoid-7, a new neolignan, was obtained in a mixture with its known isomer eupomatenoid-7. Their structures were determined by spectroscopic methods, mainly by 1D- and 2D-NMR and HRESIMS. The occurrence of indole alkaloids is being described for the first time in the Aristolochiaceae family. Moreover, the in vitro susceptibility of intracellular amastigotes and promastigotes forms of *Leishmania amazonensis* to the alkaloids and eupomatenoid-7 was evaluated. This neolignan exhibited low activity against promastigotes (IC<sub>50</sub> = 46  $\mu$ M) and toxicity against amastigotes at concentrations of 50 and 100  $\mu$ M, while the alkaloids did not show inhibitory activity at the same experimental conditions. Several of the isolated alkaloids were also evaluated in vitro against *Plasmodium falciparum*. The alkaloid 6-O-( $\beta$ -glucopyranosyl)hyrtiosulawesine exhibited activity, with IC<sub>50</sub> value of 5  $\mu$ M and selectivity index (SI) higher than 50. The lignan 8'-epi-aristoligone and its 36 analogues, with different substituents on the A and C rings, were obtained by synthesis. The lignan was also transformed into aryltetralols and aryltetralenes. The antiplasmodial activity of these derivatives was evaluated. The most active derivatives were 4'-bromo-4,5-dimethoxy-2,7'-cyclo lignan-7-one and 3',4'-dimethoxy-4,5-dimethyl-2,7'-cyclo lignan-7-one, with IC<sub>50</sub> = 1.3  $\pm$  0.8  $\mu$ M and IC<sub>50</sub> = 2.6  $\pm$  0.8  $\mu$ M, respectively. Thus, the in vitro inhibitory activity evaluation against *L. amazonensis* and *P. falciparum* suggests that the isolated compounds from *A. cordigera* as well as the synthetic derivatives obtained may be investigated as novel molecular scaffolds for antiparasitic drug development.

Keywords: *Aristolochia cordigera*. Aristolochiaceae. Lignoids. Indole alkaloids. Lignans synthesis. Antiplasmodial. Antileishmanial.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Distribuição das espécies em percentagem dos gêneros pertencentes à família Aristolochiaceae .....	28
<b>Figura 2-</b> Estruturas de lignanas e neolignanas bioativas identificadas em espécies de <i>Aristolochia</i> .....	31
<b>Figura 3-</b> Estruturas representativas de alcaloides e outras substâncias bioativas identificadas em espécies de <i>Aristolochia</i> .....	32
<b>Figura 4-</b> Esqueletos carbônicos de lignanas e neolignanas .....	34
<b>Figura 5-</b> Detalhes da folha e flor de <i>A. cordigera</i> Willd.....	35
<b>Figura 6-</b> Estruturas das lignanas e neolignanas identificadas nos extratos hexânicos (EHR), acetônico (EAR), etanólico (EER) e etanólico de soxhlet (EESR) de raízes de <i>A. cordigera</i>	49
<b>Figura 7-</b> Estruturas dos alcaloides identificados dos extratos, acetônico (EAR), etanólico (EER) e etanólico de soxhlet (EESR) de raízes de <i>A. cordigera</i> .....	50
<b>Figura 8-</b> Cromatogramas dos extratos apolares de <i>A. cordigera</i> coletas em São Luiz ( <b>EHR-SL</b> ), e Imperatriz ( <b>EHR-IM</b> ), Maranhão. ....	51
<b>Figura 9-</b> Cromatogramas dos extratos apolares de <i>A. cordigera</i> coletas em São Luiz ( <b>EHC-SL</b> ), e Imperatriz ( <b>EHC-IM</b> ), Maranhão. ....	52
<b>Figura 10-</b> Cromatogramas dos extratos apolares de <i>A. cordigera</i> coletas em São Luiz ( <b>EHF-SL</b> ), e Imperatriz ( <b>EHF-IM</b> ), Maranhão.....	53
<b>Figura 11-</b> Análise de componentes principais (PCA) dos constituintes químicos dos extratos* de <i>A. cordigera</i> . (caules, folhas e raízes, coletados em dois biomas brasileiros**). ....	58
<b>Figura 12-</b> Gráficos de <i>loadings</i> dos componentes principais (PC1, PC2, e PC3) obtidos por CG-EM de soluções de extratos hexânicos de <i>A. cordigera</i> (caules, folhas e raízes, coletados em dois biomas brasileiros*). ....	58
<b>Figura 13-</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T) dos extratos hexânicos de raiz de <i>A. cordigera</i> : <b>A)</b> EHR-SL, São Luiz - MA, Brasil; <b>B)</b> EHR-IM, Imperatriz - MA, Brasil. ....	60
<b>Figura 14-</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T). ....	61
<b>Figura 15-</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T).....	62
<b>Figura 16-</b> Mapa de contornos (expansão) de HSQC da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T).....	63
<b>Figura 17-</b> Mapa de contornos (expansão) de HMBC da substância <b>1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T) .....	63
<b>Figura 18-</b> Interações espaciais observadas nos experimentos de NOESY-1D ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) .....	64
<b>Figura 19-</b> Expansão do espectro de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>1a</b> + <b>1</b> em mistura 3:1 (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T) .....	65
<b>Figura 20-</b> Expansão dos espectros de RMN de <sup>1</sup> H de: <b>(A)</b> mistura das substâncias <b>1+1a</b> e de <b>(B)</b> substância <b>1</b> . ....	66

<b>Figura 21-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>2</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	68
<b>Figura 22-</b> Estrutura da substância <b>2</b> .....	68
<b>Figura 23-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>3</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	69
<b>Figura 24-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C}\rightarrow^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$ ) da substância <b>3</b> . ....	70
<b>Figura 25-</b> Estrutura da substância <b>3</b> .....	70
<b>Figura 26-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>4</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	71
<b>Figura 27-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>5</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	71
<b>Figura 28-</b> Estruturas das substâncias <b>4</b> e <b>5</b> .....	72
<b>Figura 29-</b> Configuração relativa da substância <b>6</b> .....	73
<b>Figura 30-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura de <b>5</b> e <b>6</b> na proporção de 1:1 ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T) ..... .....	73
<b>Figura 31-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>7</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	75
<b>Figura 32-</b> Configuração relativa da substância <b>7</b> .....	76
<b>Figura 33-</b> Espectros de massas com ionização por elétrons (IE-EM) de: <b>(A) 8</b> ; <b>(B) 9</b> ; e <b>(C) 10</b> .....	77
<b>Figura 34-</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ de <b>8</b> (14,1 T, J em Hz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	78
<b>Figura 35-</b> Espectro de absorção na região do UV da substância <b>8</b> .....	78
<b>Figura 36-</b> Propostas de fragmentação para lignanas tetraidrofurânicas contendo substituintes piperonílicos e/ou veratrílicos em suas estruturas por IE-EM.....	79
<b>Figura 37-</b> Deslocamentos químicos dos hidrogênios do anel tetraidrofurânico de 7,7'-epoxilignanas em diferentes configurações.....	80
<b>Figura 38-</b> Configuração relativa da substância <b>8</b> .....	80
<b>Figura 39-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>8</b> e <b>9</b> em mistura nas proporções de 2:1 ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T) ..... .....	81
<b>Figura 40-</b> <b>A)</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ em mistura de <b>9</b> e <b>8</b> , <b>B-C)</b> Espectro de TOCSY 1D da mistura de <b>9</b> e <b>8</b> , irradiados em 0,61 e 4,41 ppm, respectivamente ( $\text{CDCl}_3$ , 14,1 T).....	82
<b>Figura 41-</b> Configuração relativa da substância <b>9</b> .....	82
<b>Figura 42-</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ de <b>10</b> (7,1 T, J em Hz, $\text{CDCl}_3$ ).....	83
<b>Figura 43-</b> Configuração relativa da substância <b>10</b> .....	84
<b>Figura 44-</b> Estrutura base de ácidos aristolóquicos 3,4-metilenodioxílicos.....	85
<b>Figura 45-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>11</b> [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 14,1 T].....	85
<b>Figura 46-</b> Ampliação do mapa de contornos HSQC de <b>11</b> [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 14,1 T].....	86
<b>Figura 47-</b> Ampliação do mapa de contornos HMBC de <b>11</b> [ $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 14,1 T].....	86
<b>Figura 48-</b> Estrutura da substância <b>11</b> .....	87

<b>Figura 49-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>12</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	88
<b>Figura 50-</b> Estrutura da substância <b>12</b> .....	89
<b>Figura 51-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>13</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	90
<b>Figura 52-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância de <b>13 + 14</b> (2:1) $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	90
<b>Figura 53-</b> Estruturas da substância <b>13</b> e <b>14</b> .....	91
<b>Figura 54-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>15</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	92
<b>Figura 55-</b> Estruturas da substância <b>15</b> .....	93
<b>Figura 56-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <i>trans</i> - <b>16</b> + <i>cis</i> - <b>16</b> (1:1) $[14,1 \text{ T}, (\text{CD}_3)_2\text{SO}]$ .....	94
<b>Figura 57-</b> Estruturas da substância <b>16</b> .....	95
<b>Figura 58-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>17</b> (14,1 T, $\text{CD}_3\text{OD}$ ).....	95
<b>Figura 59-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>17</b> (14,1 T, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	96
<b>Figura 60-</b> Mapa de contornos (expansão) de HSQC da substância <b>17</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}, 14,1 \text{ T}$ ) ....	96
<b>Figura 61-</b> Mapa de contornos (expansão) de HMBC da substância <b>17</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}, 14,1 \text{ T}$ ) ....	97
<b>Figura 62-</b> Principais correlações observadas nos experimentos de HMBC ( $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ) para <b>17</b> .....	97
<b>Figura 63-</b> Estrutura da substância <b>17</b> .....	98
<b>Figura 64-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>18</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}, 14,1 \text{ T}$ ).....	99
<b>Figura 65-</b> Mapa de contornos HSQC da substância <b>18</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}, 14,1 \text{ T}$ ) .....	99
<b>Figura 66-</b> Mapa de contornos HMBC da substância <b>18</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}, 14,1 \text{ T}$ ) .....	100
<b>Figura 67-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ) para a substância <b>18</b> .....	101
<b>Figura 68-</b> Espectro de massas da substância <b>10</b> (IES-(+)-EM) .....	102
<b>Figura 69-</b> Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>19</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ ....	102
<b>Figura 70-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância <b>19</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	103
<b>Figura 71-</b> Mapa de contornos (expansão) de HSQC da substância <b>19</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	104
<b>Figura 72-</b> Mapa de contornos (expansão) de HMBC da substância <b>19</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	105
<b>Figura 73-</b> Mapa de contornos (expansão) de COSY da substância <b>19</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	105
<b>Figura 74-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$ ) para a substância <b>19</b> .....	106
<b>Figura 75-</b> Estrutura da substância <b>19</b> .....	106
<b>Figura 76-</b> Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância <b>20</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ ....	108

<b>Figura 77-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>20</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	108
<b>Figura 78-</b> Espectro de massas da substância <b>20</b> (IES-(+)-EM) .....	109
<b>Figura 79-</b> Espectro de absorção na região do IV do composto <b>20</b> .....	109
<b>Figura 80-</b> Mapa de contornos HSQC da substância <b>20</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	110
<b>Figura 81-</b> Mapa de contornos HMBC da substância <b>20</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	111
<b>Figura 82-</b> Mapa de contornos $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY da substância <b>20</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	111
<b>Figura 83-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C}\rightarrow^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$ ) para <b>20</b> .....	112
<b>Figura 84-</b> Estrutura da substância <b>20</b> .....	113
<b>Figura 85-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>21</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	114
<b>Figura 86-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>21</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	114
<b>Figura 87-</b> Espectro de massas da substância <b>21</b> (IES-(+)-EM) .....	115
<b>Figura 88-</b> Espectro de absorção na região do IV do composto <b>21</b> .....	115
<b>Figura 89-</b> Mapa de contornos HSQC da substância <b>21</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	116
<b>Figura 90-</b> Mapa de contornos HMBC da substância <b>21</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ .....	117
<b>Figura 91-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C}\rightarrow^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$ ) para <b>11</b> .....	117
<b>Figura 92-</b> Espectro de TOCSY 1D da substância <b>21</b> $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 14,1 \text{ T}]$ : Irradiação seletivas em $\delta$ 3,20 (A), 3,51 (B), and 4,92 (C) .....	118
<b>Figura 93-</b> Percentual dos medicamentos de moléculas pequenas aprovados pelo FDA entre 1981-2014; n= 1211.....	130
<b>Figura 94-</b> Estruturas de compostos com fragmentos moleculares idênticos aos de lignanas com atividades biológicas comprovadas.....	132
<b>Figura 95-</b> Estruturas de lignanas e valores de $\text{IC}_{50}$ obtidos em ensaios contra <i>P. falciparum</i> .....	133
<b>Figura 96-</b> Configurações relativas dos diastereoisômeros de <b>S1(a+b)</b> .....	139
<b>Figura 97- A)</b> Cromatograma; <b>B-C)</b> espectro de absorção na região do UV obtidos por análise de CLAE-DAD-UV em fase reversa do intermediário <b>S1(a+b)</b> - Vazão: 1,0 mL/min; coluna: Varian® C18; fase móvel: $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (85:15, v/v); detecção no UV: 254 nm.....	140
<b>Figura 98-</b> Estruturas dos epímeros <b>S2a-c</b> em suas possíveis configurações relativas .....	141
<b>Figura 99-</b> Principais deslocamentos químicos característicos dos produtos reacionais <b>S1</b> e <b>S2</b> .....	142
<b>Figura 100-</b> Cargas parciais necessárias no sistema aromático para a substituição <i>orto/para</i> .....	143
<b>Figura 101-</b> Configurações relativas dos epímeros de lignanas ariltetralônicas ( $\pm$ )- <b>S13a-d</b> .....	151

<b>Figura 102- A)</b> Cromatograma obtido pela análise por CLAE-DAD-UV dos produtos de ( $\pm$ )- <b>S13</b> utilizando: coluna Varian® C18; vazão: 2,1 mL/min; fase móvel: CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (65:35, v/v); UV: 270 nm. <b>B)</b> Espectro de UV de ( $\pm$ )- <b>S13b</b> .....	152
<b>Figura 103-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S13</b> (IES-(+)-EM).....	152
<b>Figura 104-</b> Principais interações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para <b>S13a-S13d</b> .....	153
<b>Figura 105-</b> Principais diferenças entre os deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H (destacados em preto) e <sup>13</sup> C (destacados em vermelho) dos intermediários ácidos <b>S3</b> e os epímeros de lignanas ariltetralônicas ( $\pm$ )- <b>S13</b> .....	154
<b>Figura 106-</b> Configurações relativas de ( $\pm$ )- <b>S13a</b> a ( $\pm$ )- <b>S13d</b> .....	154
<b>Figura 107- (A)</b> - Cromatograma obtido pela análise por CLAE-DAD-UV dos isômeros de ( $\pm$ )- <b>S14a-d</b> e ( $\pm$ )- <b>S15a-b</b> utilizando, coluna: Varian® C18; vazão: 2,5 mL/min; fase móvel: CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (67:33, v/v); UV: 270 nm. <b>(B)</b> – Espectro de UV de ( $\pm$ )- <b>S15b</b> .....	157
<b>Figura 108-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S14</b> (IES-(+)-EM).....	158
<b>Figura 109-</b> Principais interações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S14a-S14d</b> .....	159
<b>Figura 110-</b> Principais interações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S15a-b</b> .....	159
<b>Figura 111- A</b> - Cromatograma obtido pela análise por CLAE-DAD-UV dos isômeros de ( $\pm$ )- <b>S16a-d</b> e ( $\pm$ )- <b>S17a-b</b> utilizando, coluna: Varian® C18; vazão: 2,1 mL/min; fase móvel: CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (74:26, v/v); UV: 270 nm. <b>B</b> – Espectro de UV de ( $\pm$ )- <b>S16b</b> .....	160
<b>Figura 112-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S17</b> (IES-(+)-EM).....	161
<b>Figura 113-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S16a-d</b> .....	162
<b>Figura 114-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S17a-b</b> .....	162
<b>Figura 115-</b> Configurações relativas dos compostos ( $\pm$ )- <b>S18a</b> e ( $\pm$ )- <b>S18b</b> .....	163
<b>Figura 116- A)</b> Cromatogramas obtidos pela análise por CLAE-DAD-UV dos isômeros de ( $\pm$ )- <b>S19</b> , ( $\pm$ )- <b>S20</b> e ( $\pm$ )- <b>S21</b> , utilizando: coluna Varian® C18; vazão: 2,5 mL/min; fase móvel CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (65:35, v/v); UV: 270 nm. <b>B)</b> Espectro de UV de ( $\pm$ )- <b>S20a</b> .....	164
<b>Figura 117-</b> Espectro de massas: <b>(A)</b> substância ( $\pm$ )- <b>S19</b> e <b>(B)</b> ( $\pm$ )- <b>S20</b> (IES-(+)-EM).....	165
<b>Figura 118-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) e NOESY-1D ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S19a</b> e ( $\pm$ )- <b>S19b</b> .....	166
<b>Figura 119-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( <sup>13</sup> C→ <sup>1</sup> H) e COSY ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) e NOESY-1D ( <sup>1</sup> H↔ <sup>1</sup> H) para ( $\pm$ )- <b>S20a</b> e ( $\pm$ )- <b>S20b</b> .....	166
<b>Figura 120-</b> Espectro de massas: <b>(A)</b> substância ( $\pm$ )- <b>S21a</b> (IES-(+)-EM).....	167



<b>Figura 121-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C}\rightarrow^1\text{H}$ ) e COSY ( $^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$ ) e NOESY-1D ( $^1\text{H}\leftrightarrow^1\text{H}$ ) para ( $\pm$ )- <b>S21a</b> .....	168
<b>Figura 122-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S22</b> (IES-(+)-EM).....	169
<b>Figura 123-</b> Configuração relativa dos análogos ( $\pm$ )- <b>S22a-c</b> e ( $\pm$ )- <b>S23b</b> .....	169
<b>Figura 124-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S24</b> (IES-(+)-EM).....	170
<b>Figura 125-</b> Configuração relativa dos análogos ( $\pm$ )- <b>S24a-c</b> .....	171
<b>Figura 126-</b> Deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ dos grupos arila dos análogos ( $\pm$ )- <b>S13b</b> , ( $\pm$ )- <b>S14b</b> , ( $\pm$ )- <b>S22b</b> e ( $\pm$ )- <b>S24b</b> .....	171
<b>Figura 127-</b> Espectro de massas da substância ( $\pm$ )- <b>S26</b> (IES-(+)-EM).....	172
<b>Figura 128-</b> Principais correlações observadas nos experimentos HMBC ( $^{13}\text{C}\rightarrow^1\text{H}$ ) de ( $\pm$ )- <b>S25a-d</b> e ( $\pm$ )- <b>S26a-b</b> .....	173
<b>Figura 129-</b> Cromatogramas obtidos por análises de CLAE-polarímetro em coluna quiral da mistura enantiomérica ( $\pm$ )- <b>S18a</b> . ( <b>A-B</b> ) Vazão: 0,5 mL/min; coluna: Chiralpak IC; fase móvel: n-hexano/AcOEt (85:15, v/v), detecção no UV: 254 nm ( <b>A</b> ), detecção no polarímetro:578 nm ( <b>B</b> ). .....	174
<b>Figura 130-</b> Estrutura química das lignanas ariltetralônicas submetidas a experimentos de HRESIEM e IES-EM/EM em modo positivo .....	177
<b>Figura 131-</b> Mapa global dos casos confirmados de transmissão da malária para cada 1.000 habitantes.....	199
<b>Figura 132-</b> Substâncias de <i>A. cordigera</i> avaliadas em protozoários .....	205
<b>Figura 133-</b> Estruturas e valores de $\text{IC}_{50}$ obtidos pelo teste contra parasitos de <i>P. falciparum</i> (3D7), cloroquina sensível, das lignanas sintetizadas .....	210

## LISTA DE FLUXOGRAMAS

<b>Esquema 1-</b> Fluxograma de obtenção dos extratos das diferentes partes das plantas .....	40
<b>Esquema 2-</b> Fracionamento do extrato hexânico de raízes .....	44
<b>Esquema 3-</b> Fracionamento do extrato acetônico de raízes .....	45
<b>Esquema 4-</b> Fracionamento do extrato etanólico soxhlet de raízes.....	46
<b>Esquema 5-</b> Fracionamento do extrato etanólico de raízes .....	47
<b>Esquema 6-</b> Estruturas e propostas de caminhos de fragmentação de <b>19-21</b> no modo de íons positivos, <b>(A)</b> formação de $[M+H]^+$ ; <b>(B)</b> proposta de mecanismos de fragmentação de $[M+H]^+$ .....	121
<b>Esquema 7-</b> Biogênese dos alcaloides <b>17, 19-21</b> .....	123
<b>Esquema 8-</b> Rota sintética par obtenção de análogos de lignanas ariltetralônicas .....	138
<b>Esquema 9-</b> Obtenção da $\alpha,\beta$ -dimetil- $\gamma$ -(3,4-dimetoxifenil) butirolactona ( <b>S2</b> ) a partir de reagentes comerciais .....	139
<b>Esquema 10-</b> Obtenção dos intermediários ácidos <b>S3 a S12</b> a partir do bloco construtor <b>S2</b> .....	142
<b>Esquema 11-</b> Proposta de formação dos isômeros <b>S8 e S9</b> .....	144
<b>Esquema 12-</b> Esquema para obtenção dos análogos <b>S10a-1</b> .....	145
<b>Esquema 13-</b> Esquema para obtenção dos análogos ( $\pm$ )- <b>S13a-d</b> .....	149
<b>Esquema 14-</b> Proposta do mecanismo de reação de: a) - formação de ( $\pm$ )- <b>S16a-d</b> , orbitais do anel 1,2-dimetoxifenil orientados com a carbonila; b) formação de ( $\pm$ )- <b>S17a-b</b> , orbitais do anel 1,2-dimetilfenil orientados com a carbonila.....	150
<b>Esquema 15-</b> Proposta de fragmentação para a formação dos íons produtos $[M+H^+-Ar]$ a partir das lignanas protonadas <b>S13-17, S19-S22 e S24-S26</b> .....	179
<b>Esquema 16-</b> Proposta da via de fragmentação para a formação dos íons produtos $[M+H^+-ArC_5H_9]$ a partir das lignanas protonadas <b>S13-17, S19-S22 e S24-S26</b> .....	181
<b>Esquema 17-</b> Proposta da via de fragmentação das lignanas protonadas <b>S13-17, S19-S22 e S24-S26</b> .....	182

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Classificação taxonômica da espécie <i>Aristolochia cordigera</i> Willd .....	35
<b>Tabela 2-</b> Extratos obtidos de <i>A. cordigera</i> coletada em São Luiz (MA).....	40
<b>Tabela 3-</b> Extratos obtidos de <i>A. cordigera</i> coletada em Imperatriz (MA) .....	41
<b>Tabela 4-</b> Composição dos extratos apolares determinados por CG-EM.....	55
<b>Tabela 5-</b> Valores absolutos dos scores das três componentes principais (PCs) para o conjunto de dados de amostras de soluções hexânicas de extratos de caules e raízes de <i>A. cordigera</i> por CG-EM.....	59
<b>Tabela 6-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C das substâncias <b>1</b> e <b>1a</b> ( $\delta$ , <i>J</i> em Hz) <sup>a</sup> .....	67
<b>Tabela 7-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>2-6</b> (CDCl <sub>3</sub> , <i>J</i> em Hz, 14,1 T) .....	74
<b>Tabela 8-</b> Dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup> H dos compostos <b>7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 14,1 T) e de 8,8'- <i>epi</i> -holostilona (CDCl <sub>3</sub> , <i>J</i> em Hz, 11,7 T) .....	76
<b>Tabela 9-</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H de <b>8-10</b> (14,1 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ).....	84
<b>Tabela 10-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H de <b>11</b> e de <sup>1</sup> H de <b>12</b> [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	89
<b>Tabela 11-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H dos compostos <b>13</b> e <b>14</b> [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	91
<b>Tabela 12-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H dos compostos <b>15</b> e da magnoflorina [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	93
<b>Tabela 13-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H do composto <b>16</b> [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	94
<b>Tabela 14-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H das substâncias <b>17</b> e <b>18</b> [14,1 T, <i>J</i> em Hz, CD <sub>3</sub> OD].....	101
<b>Tabela 15-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H dos compostos <b>19</b> e hyrtiosulawesine [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	107
<b>Tabela 16-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H dos compostos <b>19</b> e <b>20</b> [14,1 T, <i>J</i> em Hz, (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO] .....	113
<b>Tabela 17-</b> Dados espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup> H da substância <b>21</b> ( $\delta$ , <i>J</i> em Hz).....	119
<b>Tabela 18-</b> Dados experimentais das reações de Friedel-Crafts para obtenção dos intermediários ácidos e das lignanas ariltetralônicas correspondentes.....	146
<b>Tabela 19-</b> Dados de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C de <b>S13a</b> a <b>S13d</b> (14,1 T, <i>J</i> em Hz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	156
<b>Tabela 20-</b> Íons ( <i>m/z</i> ) observados nas análises de IES-EM para os análogos de lignanas ariltetralônicas sintéticas .....	178

**Tabela 21-** Atividade in vitro de lignanas contra formas sanguíneas de *P. falciparum* (clone W2 cloroquina-resistente) medidas pela dose que inibe 50% do crescimento do parasita ( $IC_{50}$ ), testes de toxicidade para uma linhagem de rim de macaco ( $MDL_{50}$ ) e índice de seletividade (IS) .....206

**Tabela 22-** Concentração inibitória de 50% ( $IC_{50}$ ) dos parasitos de *P. falciparum* (3D7), dose letal para 50% ( $MDL_{50}$ ) das células (HepG2) pelo método de MTT e índice de seletividade (IS) dos compostos ativos e parcialmente ativos .....207

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
AAs	Ácidos aristolóquicos
AcOEt	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
d	Dubleto
d <sub>app</sub>	Dubleto aparente
dl	Dubleto largo
DC	Dicroísmo circular
DIC	Dissociação induzida por colisão
dd	Duplo dubleto
ddl	Duplo dubleto largo
dq	Duplo quadruplo
ddq	Duplo duplo quadruplo
e.e.	Excesso enantiomérico
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
CG-EM	Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas
HRESIMS	Espectro de massas de alta resolução
IE	Ionização por elétron
IES	Ionização por eletrospray

$J_{app}$	Constante de acoplamento aparente
IV	Infravermelho
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
UV	Ultravioleta
$V_m$	Volume Morto
$\delta$	Deslocamento químico
$\Delta\delta$	Varição de deslocamento químico
$\lambda_{max}$	Comprimento de onda de máxima absorção
$m/z$	Razão massa/carga
$[\alpha]_D^{25}$	Rotação óptica

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>ARISTOLOCHIA CORDIGERA</i> .....	27
1 INTRODUÇÃO .....	28
1.1 A FAMÍLIA ARISTOLOCHIACEAE .....	28
1.1.1 Metabolismo secundário de Aristolochiaceae .....	30
1.1.2 Lignanás e Neolignanás .....	32
1.1.2 A espécie <i>Aristolochia cordigera</i> Willd. ....	35
1.2 OBJETIVOS .....	36
1.3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	36
1.3.1 Materiais .....	36
1.3.1.1 Cromatografia em coluna (CC) .....	36
1.3.1.2 Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) e preparativa (CCDP) .....	37
1.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	37
1.3.2.1 Cromatógrafos e fases estacionárias (FE) .....	37
1.3.2.2 Cartuchos e membranas de filtração para extração em fase sólida .....	37
1.3.2.3 Solventes empregados .....	37
1.3.3 Espectrômetros .....	38
1.3.4 Estudo fitoquímico de <i>A. cordigera</i> .....	38
1.3.4.1 Coleta e identificação dos materiais vegetais .....	39
1.3.4.2 Preparo dos extratos de <i>A. cordigera</i> .....	39
1.3.4.3 Análises dos extratos de <i>A. cordigera</i> .....	41
1.3.4.4 Análises dos extratos por RMN de <sup>1</sup> H .....	41
1.3.4.5 Análises dos extratos por CG-EM .....	42
1.3.4.5.1 Preparo de amostra .....	42
1.3.4.5.2 Condições de análise .....	42
1.3.4.5.3 Análise estatística .....	42
1.3.4.5.3.1 Análise quantitativa (relativa) dos dados obtidos por CG-EM .....	42
1.3.4.5.3.2 Análise estatística CG-EM .....	42
1.3.4.6 Análises dos extratos e separações cromatográficas por CLAE .....	43
1.3.4.6.1 Preparo de amostra (extração em fase sólida) .....	43
1.3.4.7 Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos EHR-SL, EAR-SL, EER-IM e EESR-IM .....	43

1.3.4.7.1	Separação cromatográfica do EHR de <i>A. cordigera</i> Willd .....	43
1.3.4.7.2	Separação cromatográfica do EAR de <i>A. cordigera</i> Willd.....	44
1.3.4.7.3	Separação cromatográfica do EERS de <i>A. cordigera</i> Willd. ....	45
1.3.4.7.4	Separação cromatográfica do EER de <i>Aristolochia cordigera</i> Willd.....	46
1.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
1.4.1	Determinação da composição química dos extratos apolares de <i>A. cordigera</i> Willd. por CG-EM.....	50
1.4.2	Identificação dos compostos por CG-EM.....	54
1.4.3	Análises estatísticas.....	58
1.4.4	Identificação e determinação estrutural das substâncias isoladas.....	61
1.4.4.1	Neolignanas benzofurânicas .....	61
1.4.4.1.1	Eupomatenóide-7 (1) e cis-eupomatenóide-7 (1a) .....	61
1.4.4.1.2	Isômeros de neolignanas benzofurânicas: substâncias 2-6.....	67
1.4.4.1.3	Lignana ariltetralônica .....	75
1.4.4.1.3.1	8,8'- <i>epi</i> -Holostilona (7) .....	75
1.4.4.1.3.2	Lignanas furânicas 8 - 10 .....	76
1.4.4.1.4	Alcaloides e Alcaloides aporfínicos .....	84
1.4.4.1.4.1	Ácidos aristolóquicos (11-14) .....	84
1.4.4.1.4.2	Magnoflorina (15) .....	92
1.4.4.1.4.3	<i>N</i> -trans-feruloil-3'-O-metildopamina (16).....	93
1.4.4.1.4.4	Alcaloides indólicos (17-18).....	95
1.4.4.1.4.5	Alcaloides $\beta$ -carbolina (19-21).....	101
1.4.5	DADOS FÍSICOS DOS COMPOSTOS INÉDITOS ISOLADOS .....	124
1.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	126

## CAPÍTULO 2. SÍNTESE DE LIGNANAS ARILTETRALÔNICAS COM POTENCIAL

	ANTIMALÁRICO.....	128
2	INTRODUÇÃO .....	129
2.1	REAÇÕES PARA OBTENÇÃO DE LIGNANAS .....	134
2.2	OBJETIVOS:.....	135
2.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	135
2.3.1	Reagentes.....	135
2.3.2	Métodos cromatográficos .....	135



2.3.2.1	Cromatografia em coluna .....	135
2.3.2.2	Cromatografia líquida de alta eficiência.....	135
2.3.3	Espectrômetros .....	136
2.3.4	Estudo dos análogos de lignanas ariltetralônicas por Espectrometria de Massas: Ionização por eletrospray e dissociação induzida por colisão	136
2.3.5	Planejamento Sintético.....	136
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	139
2.4.1	Obtenção do intermediário $\alpha,\beta$ -dimetil- $\gamma$ -(3,4-dimetoxifenil) butirolactona [S2 (a+b)].....	139
2.4.2	Síntese de biblioteca de análogos de lignanas ariltetralônicas bioativas utilizando o bloco construtor S2 como precursor .....	142
2.4.2.1	Obtenção dos intermediários ácidos de lignanas ariltetralônicas.....	142
2.4.3	Obtenção dos análogos de lignanas ariltetralônicas via reações de acilação de Friedel-Crafts.....	149
2.4.4	Determinação estrutural dos análogos de lignanas ariltetralônicas .....	151
2.4.4.1	4,5-Dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (S13a-d).....	151
2.4.4.2	4'-Metil-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S14a-d] e 3'-metil-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S15a-b] .....	157
2.4.4.3	3',4'-Dimetil-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S16a-d] e 4,5-dimetil-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S17a-b].....	160
2.4.4.4	8'-epi- Aristoligona [(±)-S18a] e aristoligona [(±)-S18b] .....	163
2.4.4.5	2',3',4,4',5-Pentametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S19a-b], 3,3',4,4',5-pentametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S20a-b] e 2',3,3',4,4',5-hexametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S21a].....	163
2.4.5	Determinação estrutural dos análogos halogenados, 4'-fluor-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S22a-c], 4'-fluor-8-hidroxi-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S23b] e 4'- bromo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S24a-c].....	168
2.4.6	Determinação estrutural dos análogos, 3',4'-metilenodioxo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona ((±)-S25) e 4,5-metilenodioxo-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona ((±)-S26) .....	172
2.4.7	Separação enantiomérica.....	174

2.4.8	Intepretação dos íons produtos e proposta das vias de fragmentação para lignanas ariltetralônicas analisadas por EM/EM utilizando colisão induzida por dissociação (DIC).....	175
2.4.9	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	183
2.4.9.1	Procedimento geral A: 3-hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila S1 (a+b)].....	183
2.4.9.2	Procedimento geral B: $\alpha,\beta$ -dimetil- $\gamma$ -(3,4-dimetoxifenil) butirolactona [S2(a-c)].....	183
2.4.9.3	Procedimento geral C: obtenção dos análogos ácidos S3 a S12 .....	183
2.4.9.3.1	Ácido 2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(2',3',4'-trimetoxifenil)-butírico (S8) e Ácido 2,3-dimetil-4,4-bis-(2,3,4-trimetoxifenil)-butírico (S9).....	183
2.4.9.3.2	Ácido 4-(4'-fluorfenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S10) ...	184
2.4.9.3.3	Ácido 4-(3',4'-fenildioxol)-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S12).....	184
2.4.9.3.4	Ácido 4-(fenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S3).....	184
2.4.9.3.5	Ácido 2,3-dimetil-4-(4'-metilfenil)-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S5); Ácido 2,3-dimetil-4-(3'-metilfenil)-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S6). .....	185
2.4.9.3.6	Ácido 2,3-dimetil-4-(3',4'-dimetilfenil)-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S7).....	185
2.4.9.3.7	Ácido 4-(4'-bromofenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S11)	185
2.4.9.3.8	Ácido 2,3-dimetil-4,4-bis-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (S7) .....	185
2.4.9.3.9	Separação cromatográfica dos produtos sintéticos S3 a S12. ....	185
2.4.10	Procedimento geral D: obtenção dos análogos de lignanas ariltetralônicas ( $\pm$ )-S13 a ( $\pm$ )-S26.....	186
2.4.10.1	3,4-Dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S13a a ( $\pm$ )-S13d] .....	186
2.4.10.2	4'-Metil-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S14a-d] e 3'-metil-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S15a+b] .....	186
2.4.10.3	4,5-Dimetoxi-3',4'-dimetil-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S16a-d] e 3'4'-dimetoxi-4,5-dimetil-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S17a e S17b].....	188
2.4.10.4	8'-epi-Aristoligona [( $\pm$ )-S18a e aristoligona ( $\pm$ )-S18b] .....	190
2.4.10.5	2',3',4,4',5-Pentametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S19a-b], 3,3',4,4',5-pentametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S20a-b] e 2',3,3',4,4',5-hexametoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S21a] .....	190
2.4.10.6	4'-Fluor-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S22a-d] e 4'-Fluor-8-hidroxi-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [( $\pm$ )-S23b].....	192

2.4.10.7	4'-Bromo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S24a-c].....	193
2.4.10.8	4,5-Dimetoxi-3',4'-metilenodioxo-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S25a-d] e 3',4'-Dimetoxi-4,5-metilenodioxo-2,7'-ciclolignan-7-ona [(±)-S26a-b] ....	194
2.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	196

### CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIPROTOZOÁRIAS

(ANTIPLASMODIAL E/OU ANTILEISHMANIAL) DAS SUBSTÂNCIAS  
OBTIDAS POR VIAS SINTÉTICAS E ISOLADAS DE *A. CORDIGERA*  
WILLD. ....

3	INTRODUÇÃO .....	198
3.1	EPIDEMIOLOGIA DA MALÁRIA E DA LEISHMANIOSE .....	198
3.2	AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS .....	201
3.2.1	Objetivos gerais: .....	201
3.2.2	Objetivos específicos: .....	201
3.3	PARTE EXPERIMENTAL.....	201
3.3.1	Atividade antileishmanial (bioensaios realizados no ICB-USP) .....	202
3.3.2	Avaliação da atividade antiplasmodial pelo teste SYBR Green (bioensaios realizados no IF-USP) .....	202
3.3.3	Avaliação da atividade antiplasmodial pelo teste anti-HRP II e da citotoxicidade às células de rins de macaco (bioensaios realizados na FIOCRUZ-MG).....	203
3.3.4	Avaliação da citotoxicidade dos alcaloides empregando-se células HepG2.....	203
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	203
3.4.1	Avaliações das substâncias obtidas de <i>A. cordigera</i> .....	203
3.4.2	Atividade contra formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> (MTT).....	203
3.4.3	Atividade contra parasitos de <i>P. falciparum</i> (3D7), cloroquina sensível .....	204
3.4.4	Avaliações antiprotozoárias de lignanas obtidas por vias sintéticas ....	205
3.4.5	Relação estrutura-atividade (REA) .....	207
3.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	210

REFERÊNCIAS .....	211
-------------------	-----

## **CAPÍTULO 1**

### **Estudo fitoquímico de *Aristolochia cordigera***

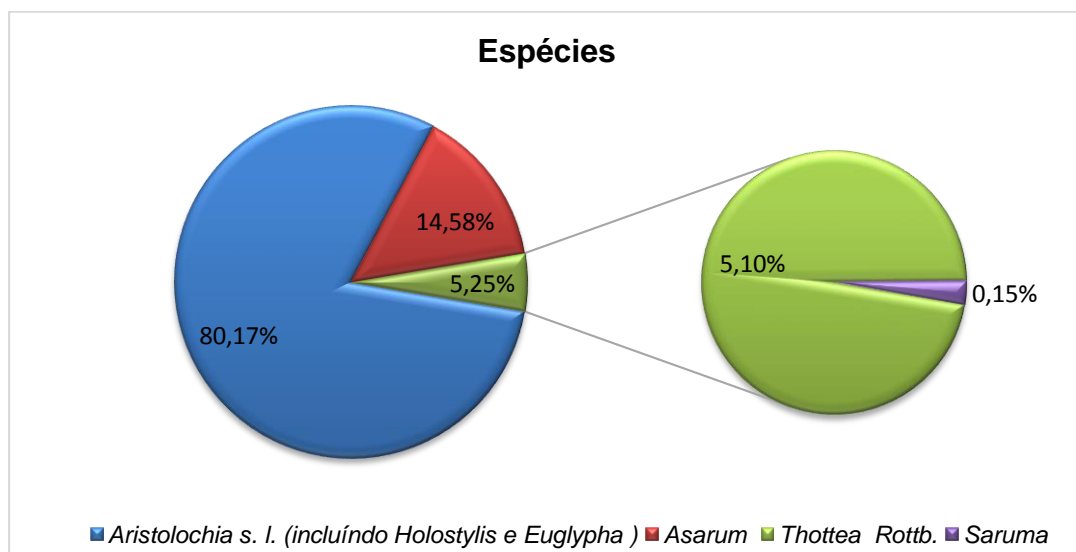
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 A família Aristolochiaceae

Aristolochiaceae, uma família de plantas pertencente à ordem das Piperales – Angiosperma – é composta por aproximadamente 700 espécies de plantas distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo<sup>1,2,3,4</sup>. Esta família é dividida em duas subfamílias, Asaroideae e Aristolochioideae, as quais são compostas de quatro a oito gêneros, dependendo da classificação taxonômica<sup>3,4,5</sup>. Na classificação mais aceita, a família Aristolochiaceae é dividida em seis gêneros: *Saruma*, *Asarum* – incluindo *Asaroideae* –, *Holostylis*, *Thottea* – incluindo *Aristolochioideae* –, *Euglypha* e *Aristolochia*<sup>6,7</sup>.

Classificações recentes propõem que Aristolochiaceae congregue apenas quatro gêneros (*Aristolochia*, *Asarum*, *Saruma* e *Thottea*), sendo o gênero *Aristolochia* – maior da família em número de espécies com aproximadamente 550 espécies<sup>8</sup>. (**Figura 1**) – dividido em três subgêneros monofilético: *Aristolochia*; *Isotrema* e *Pararistolochia*, no qual este último é endêmico da região que abrange o Sudeste da Ásia até a Austrália tropical, e África central<sup>1</sup>.

**Figura 1-** Distribuição das espécies em percentagem dos gêneros pertencentes à família Aristolochiaceae<sup>8,9,10</sup>



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Tratando especificamente de espécies de Aristolochiaceae brasileiras, podemos destacar que entre 1942 e 2015 houve um aumento significativo no número de novas espécies do gênero *Aristolochia* identificadas (67%), sendo catalogado um

total de 92 espécies na flora brasileira<sup>11</sup>. Destas algumas espécies, como *Aristolochia zebrina* sp. Nov. e *Aristolochia subglobosa* foram recentemente identificadas<sup>12,13</sup>.

O grande interesse nas espécies de plantas pertencentes à família Aristolochiaceae decorre desde a utilização de algumas espécies como plantas ornamentais até o amplo emprego na medicina tradicional e homeopática<sup>14,15</sup>. Popularmente conhecidas no Brasil pelas expressões “família da jarrinha, cipó mil-homens, papo-de-peru, patinho, caçaú, entre outras”<sup>6</sup>, as plantas da família Aristolochiaceae – segundo estudos etnofarmacológicos – são indicadas como anti-inflamatórias, antidiarreicas, depurativas, analgésicas, antifebris, antirreumáticas, expectorantes, estomáquicas, sedativas, cicatrizantes, antiofídicas, diuréticas, abortivas, bem como no tratamento de artrite reumatoide, doenças pulmonares e de diversos tipos de câncer<sup>15,16</sup>.

Diversas espécies de Aristolochiaceae, especialmente membros do gênero *Aristolochia*, são amplamente empregadas na medicina popular Chinesa como medicamentos e tônicos há centenas de anos<sup>14</sup>. Destas, algumas espécies são utilizadas em sua forma bruta para o tratamento de diversos problemas de saúde. Os frutos de *Aristolochia debilis* – uma das ervas mais utilizadas na medicina tradicional Chinesa – e de *Aristolochia contorta* são administrados para o tratamento de hemorroidas, tosse e asma<sup>17,18</sup>. As raízes secas de *A. debilis* são utilizadas para o tratamento de tonturas, dor de cabeça, dor abdominal, carbúnculos, furúnculos, picadas de cobra e de insetos<sup>17</sup>. Já *Aristolochia yunnanensis* é indicada para doenças gastrointestinais e tricomoníase<sup>14</sup>.

Entretanto, a comercialização de ervas medicinais contendo extratos das espécies dos gêneros *Aristolochia* e *Asarum* foi proibida em vários países, incluindo Alemanha, Reino Unido, Estados Unidos da América, Austrália e Canadá, devido as suas propriedades nefrotóxicas, carcinogênicas, mutagênicas e diversos outros males<sup>19,20,21</sup>. Como exemplo, óleo essencial da espécie *Asarum europaeum* contém em sua composição química o composto tóxico fenilpropano asarone como componente majoritário. Esta substância apresenta quadro de intoxicação com sintomas de vômitos, espirros, alucinações, danos nos rins, coma e paralisia respiratória. Além desta substância, estudos recentes têm demonstrado um elevado risco de nefrotoxicidade e carcinoma no trato urinário (UUC) atribuído à exposição a ácidos aristolóquicos (AAs), metabólitos encontrados principalmente em espécies de *Aristolochia*<sup>21,22</sup>. Contudo, segundo Michl *et al.* (2014), drogas e preparações médicas

de espécies deste gênero são amplamente utilizadas em muitos países legalmente<sup>21</sup>. Isto remete a grande importância na determinação química e biológica desta família, especialmente das espécies do gênero *Aristolochia*, as quais são amplamente utilizadas na medicina tradicional em todo o mundo.

### 1.1.1 Metabolismo secundário de Aristolochiaceae

A maioria das famílias de plantas distinguem-se pelas substâncias relacionadas ao metabolismo secundário, as quais podem exercer funções estratégicas de defesa que impedem a penetração de agentes fitopatogênicos, bem como a proteção contra herbívoros<sup>23</sup>. A constituição química da família Aristolochiaceae é bastante diversificada, ocorrendo com maior frequência nas espécies: *i*) terpenoides, com funções ecológicas importantes para o crescimento e desenvolvimento da planta, bem como em interações químicas específicas de proteção do ambiente abiótico e biótico; *ii*) lignoides, flavonoides e alcaloides, com funções de proteção contra herbívoros e microrganismos<sup>16,24,25</sup>.

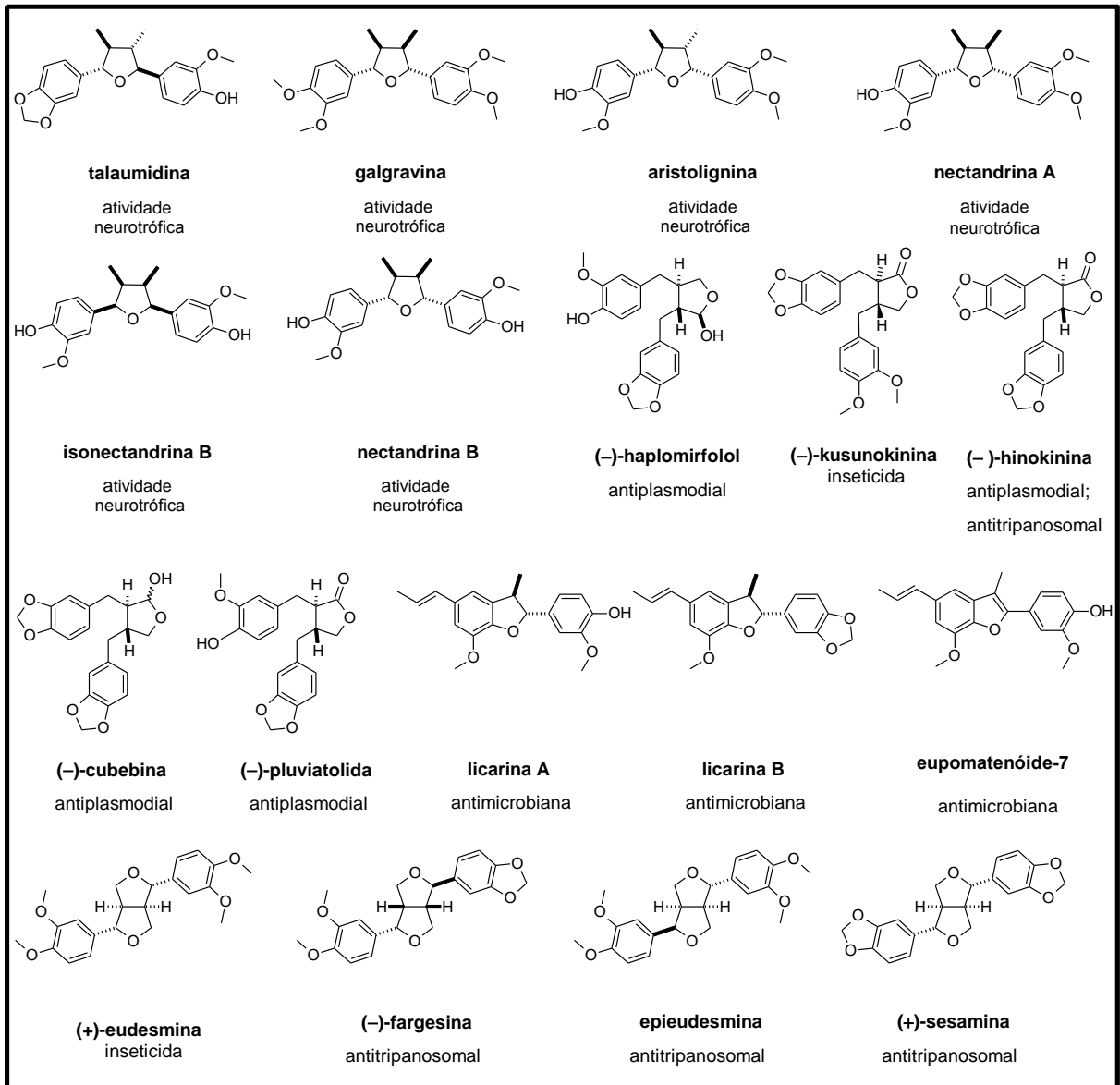
Tratando-se especificamente de espécies de Aristolochiaceae brasileiras, extensas investigações fitoquímicas realizadas nas últimas décadas indicam uma grande diversidade química de metabólitos, contendo desde classes de compostos comuns na família, como ácidos aristolóquicos, glicosídeos, alantoína, lignanas furofurânicas e butirólactônicas, às classes específicas de metabólitos: alcaloides dibenzoquinolizidínicos e tetra-hidroisoquinolínicos, alcaloides benzilberberínicos, diterpenos labdânicos, clerodânicos e caurânicos, bicubebinas, lignanas ariltetralônicas e neolignanas benzofurânicas<sup>16</sup>.

Além destes, a grande diversidade metabólica das espécies pertencentes à família Aristolochiaceae é evidenciada pela presença de esqueletos carbônicos inéditos, como ridiculoflavonilchalcona C, mandhurolida, tariacuripirona, aristofilleno, madolin-F, -G e -H<sup>26,27,28,29,30</sup>.

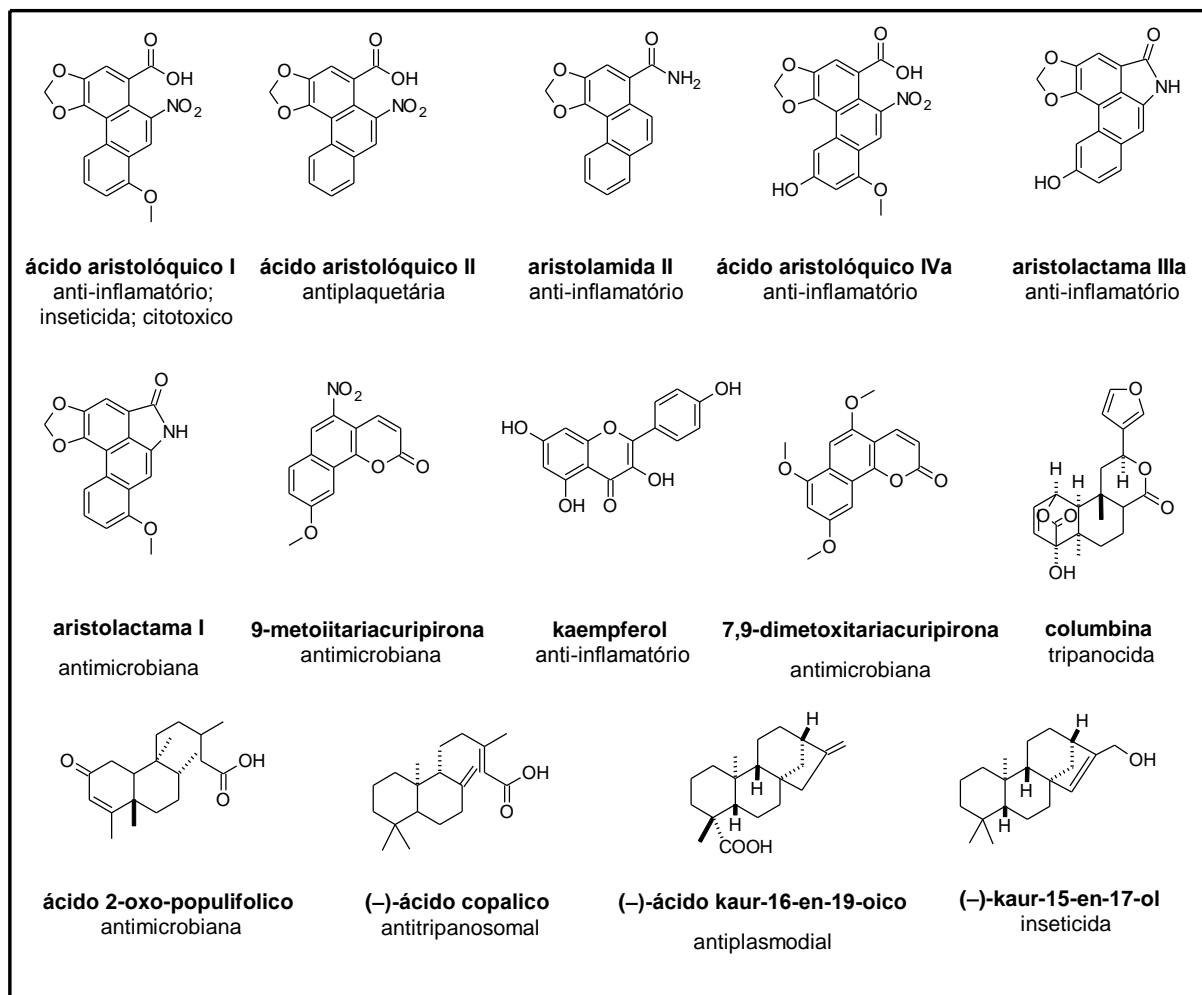
Entre os compostos isolados das espécies de *Aristolochia* com atividades biológicas comprovadas, estão aqueles pertencentes às classes dos lignoides (**Figura 2**) e alcaloides (**Figura 3**).



**Figura 2-** Estruturas de lignanas e neolignanas bioativas identificadas em espécies de *Aristolochia*<sup>20</sup>



**Figura 3-** Estruturas representativas de alcaloides e outras substâncias bioativas identificadas em espécies de *Aristolochia*



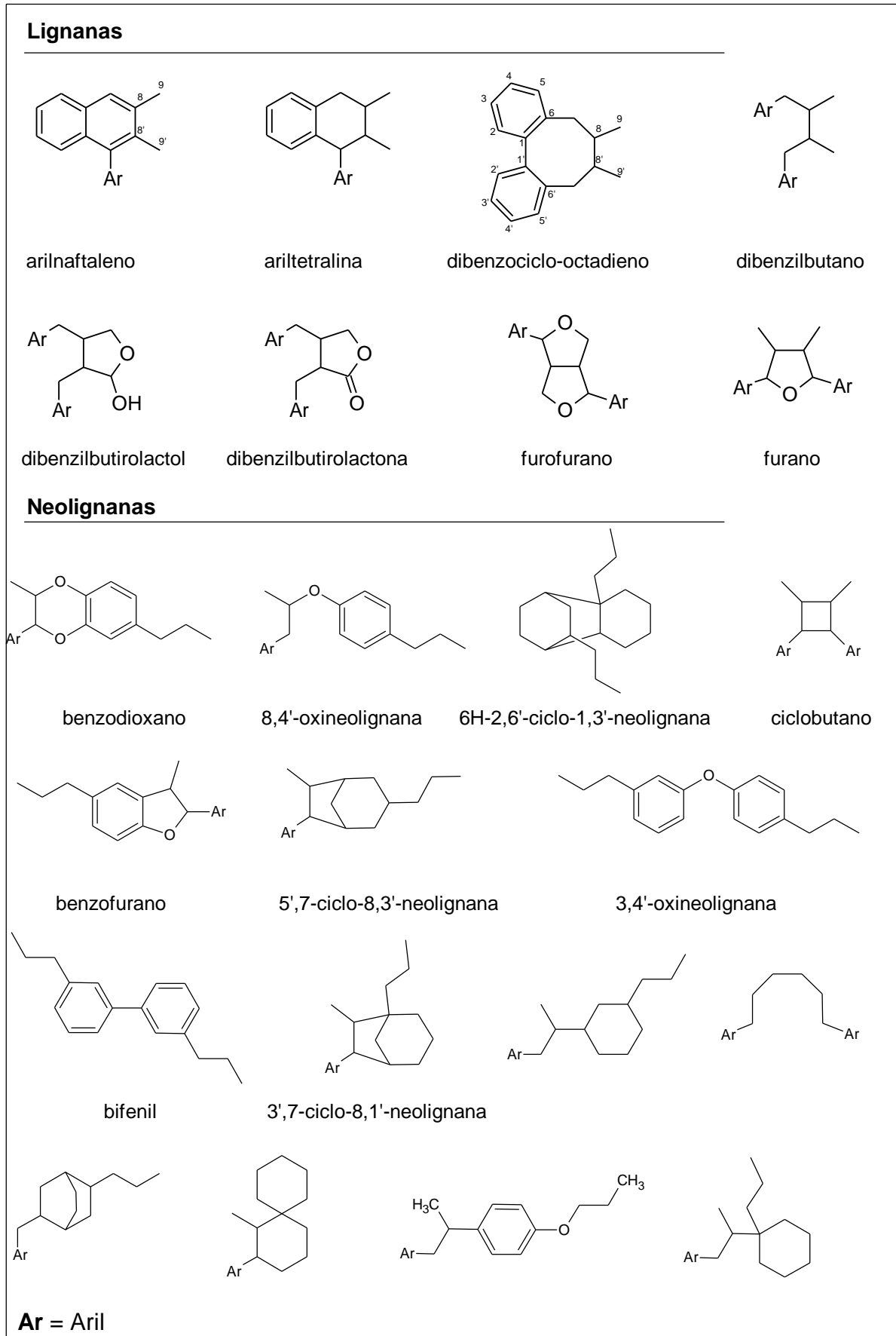
### 1.1.2 Lignanas e Neolignanas

Lignanas e neolignanas compreendem classes de metabólitos derivados do acoplamento oxidativo de duas unidades de fenilpropanoide ( $C_6-C_3$ ). Quando duas unidades  $C_6-C_3$  estão unidas pela ligação entre os carbonos C-8 e C-8' ou  $\beta-\beta'$ , o composto é denominado lignana, já os dímeros de  $C_6-C_3$  cuja união seja diferente de C-8 e C-8' são denominados neolignanas<sup>31</sup>. Baseados nas estruturas e esqueletos carbônicos, lignanas são classificadas em oito tipos, enquanto que as neolignanas apresentam quinze tipos (**Figura 4**)<sup>32</sup>.

A grande diversidade de estruturas químicas apresentadas por estas classes de substâncias deve-se aos diferentes precursores monoméricos gerarem novos subgrupos de lignanas por ciclizações e/ou modificações nos esqueletos carbônicos. Segundo Messiano, lignanas dos tipos ariltetralônicas e furânicas são derivadas de propenilfenóis (isoeugenol e álcool coniferílico), havendo controle regioespecífico e

diastereoespecífico na formação da ligação C2–C7', na formação das lignanas (7'R) ariltetralônicas<sup>33</sup>. Os diferentes subtipos de lignanas que ocorrem em Aristolochiaceae (furofurânica, furânica, dibenzilbutânica, dibenzilbutirolactônica, ariltetralínica, arilnaftalênica, dibenzociclo-octadiênica e dibenzilbutirolactol) apresentam propriedades estereoquímicas diversificadas e são classificados com base em seus esqueletos carbônicos, conforme o oxigênio é incorporado ao esqueleto base e os padrões de ciclização<sup>34</sup>. Estas classes de metabólitos secundários ocorrem em plantas vasculares, com funções na interação planta-planta, planta-inseto, planta-fungo e na defesa contra patógenos e predadores<sup>32,35</sup>. Do ponto de vista biológico, lignanas e neolignanas constituem importantes classes de compostos com uma vasta gama de atividades biológicas, como antiprotozoária, antimalária, anticâncer, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, hepatoprotetor e atividades antagonistas do fator de ativação de plaquetas<sup>36,37,38,39,40</sup>.

As atividades biológicas apresentadas pelas espécies de Aristolochiaceae, combinada a diversidade química de metabólitos e de esqueletos carbônicos inéditos evidenciados em décadas de estudo, despertam um grande interesse pelo estudo fitoquímico das espécies desta família<sup>32,41</sup>.

Figura 4- Esqueletos carbônicos de lignanas e neolignanas<sup>32</sup>

### 1.1.3 A espécie *Aristolochia cordigera* Willd.

*Aristolochia cordigera* Willd é popularmente conhecida como “cipo de coração”, com distribuição na região norte e nordeste do Brasil. É uma espécie de trepadeira volumosa com caules revestidos de córtex rimuloso, pseudo-estípulas nulas, folhas com pecíolo de 2-2,5 cm, flores solitárias nas axilas das folhas e sementes cuneiformes (**Figura 5**)<sup>6</sup>.

**Figura 5-** Detalhes da folha e flor de *A. cordigera* Willd



Fonte: Autor

Essa espécie de planta apresenta como sinonímia *Howardia cordigera* Klotzsch, sendo sua classificação taxonômica apresentada na **Tabela 1**.

**Tabela 1-** Classificação taxonômica da espécie *Aristolochia cordigera* Willd

Classe	Magnoliopsida (Angiospermae)
Subclasse	Magnoliídea (Dicotiledoneae)
Ordem	Piperales
Superordem	Magnoliiflorae
Família	Aristolochiaceae
Gênero	<i>Aristolochia</i>
Espécie	<i>Aristolochia cordigera</i> Willd

Segundo um levantamento bibliográfico realizado nas bases de dados Reaxys, Dictionary of Natural Products, Web of Science e Scifinder – Chemical Abstracts

(10/12/2016) não há relato de estudo fitoquímico ou biológico sobre a espécie *A. cordigera*.

Na busca de novas entidades químicas medicamentosas promissoras ao tratamento de endemias, como por exemplo, a malária, bem como para o aprofundamento no conhecimento químico e biológico de uma espécie ainda não estudada desta importante família de planta, foi realizado o estudo fitoquímico e avaliação biológica dos constituintes químicos de *A. cordigera*. Entre os compostos de interesse, estão os metabólitos pertencentes às classes das lignanas e neolignanas - devido a estudos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa ter demonstrado potenciais atividades biológicas (inseticidas e antimaláricas) para compostos desta classe - e dos alcaloides - metabólitos secundários amplamente relatados na literatura pelas atividades biológicas relacionadas a diversas endemias<sup>41,42,43,44</sup>.

## 1.2 OBJETIVOS

Neste capítulo descreve-se o trabalho com os seguintes objetivos:

- Investigar a composição química das espécies de *Aristolochia cordigera* coletadas em dois biomas brasileiros (Amazônia e Cerrado), ampliando o conhecimento acerca da constituição e variabilidade químicas de espécies da família (Aristolochiaceae);
- Avaliar os constituintes químicos isolados em quantidades suficientes quanto a atividade antiprotozoária (*Plasmodium falciparum* e *Leishmania amazonensis*).

## 1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 1.3.1 Materiais

#### 1.3.1.1 Cromatografia em coluna (CC)

Para as separações cromatográficas em coluna (CC) foram utilizadas colunas de vidro de diâmetros variados preenchidas com sílica gel 60Å (230-400 mesh, Merck®) ou sílica gel de fase reversa C18 (40 µm, Merck®).

### 1.3.1.2 Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) e preparativa (CCDP)

Para as cromatografias em camada delgada comparativa (CCDC) e preparativa (CCDP) foram utilizadas sílica G (2-25 µm, 60 Å, Sigma-Aldrich®) e sílica gel 60Å (Merck®), respectivamente. As revelações das cromatoplasmas foram efetuadas mediante o uso de iodo sublimado e por irradiações na região de absorção no UV (254 e 365 nm).

## 1.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

### 1.3.2.1 Cromatógrafos e fases estacionárias (FE)

As análises cromatográficas de alta eficiência (CLAE) foram realizadas utilizando cromatógrafos: Shimadzu® com controlador SCL-10Avp, detector UV-vis SPD-10AVvp, bombas SPD-10AVp para modo analítico e SPD-10AVvp para modo semipreparativo, injetor manual com alça de amostragem de 20 µL (analítico) e 5,0 mL (semipreparativo); JASCO® com controlador LC-Net II/ADC, detector de arranjo de fotodiodos MD-2018 plus, bomba PU-2086 plus, injetor automático AS-2055 e detector de dicroísmo circular (CD-2095). No modo analítico foi empregado coluna C18 ChromSep SS (Varian®, 4,6 × 250 mm, 5 µm), enquanto que no modo semipreparativo foi utilizado coluna ZORBAX RX C18 ODS (Agilent®, 9,6 × 250 mm, 5 µm).

### 1.3.2.2 Cartuchos e membranas de filtração para extração em fase sólida

As amostras analisadas por CLAE foram previamente submetidas a extrações em fase sólida com cartuchos de fase reversa SampliQ C18 ODS (500 mg, 6,0 mL, Agilent®) e na sequência filtradas em microfiltro de PTFE (25 mm, 0,2 µm, Minisart® SRP25).

### 1.3.2.3 Solventes empregados

Os solventes deuterados [CDCl<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>OD e (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO] utilizados nos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram da marca CIL®. Os solventes não deuterados empregados nos processos cromatográficos e nas etapas de partição das frações, foram das marcas Merck® e Sigma-Aldrich® em grau cromatográfico. A água ultrapura utilizada, resistividade mínima 18,2 MΩ.cm a 25° C,

foi purificada em sistemas de osmose reversa e de purificação de água em aparelho da marca Milli-Q® (Millipore, USA). A eliminação dos solventes das amostras foi feita: à pressão reduzida utilizando-se evaporador rotatório Büchi® (Waterbath B-480) acoplado a um sistema de vacum Büchi® (B-169 Vacuum-System) e banho ultratermostático Quimis® (Q214M); à temperatura ambiente em capela de exaustão.

### 1.3.3 Espectrômetros

Os espectros de RMN unidimensional ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, e NOESY) e bidimensional ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, e HMBC) foram adquiridos a 22 °C em espectrômetros: *i*) Bruker Advance III 600 (14,1 T) a 600 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 151 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), com sonda criogênica de 5mm e detecção inversa e três canais ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ ); *ii*) Bruker Fourier 300 (7,0 T) a 300 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), com sonda de 5mm e detecção inversa para dois canais ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

As análises por espectrometria de massas de alta resolução foram realizadas no equipamento Bruker®, modelo maXis impact com configuração ESI-QqTOF-MS no modo positivo de ionização. Voltagem do capilar 3500 V, faixa de aquisição de  $m/z$  50-1500, pressão do gás nebulizador 0,5 Bar, vazão do gás de secagem 4,0 L/min na temperatura de 180°C. Para as análises em baixa resolução, utilizou-se um espectrômetro de Massas Ion Trap-LCQ-LC-MSn Fleet™, no modo positivo de ionização. As análises por CG-EM foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu® GCMS-QP2010 Plus equipado com amostrador automático AOC-20i Shimadzu e acoplado a um espectrômetro de massas.

As medidas de rotação óptica específica  $[\alpha]_D^{25}$  foram obtidas utilizando um polarímetro Perkin Elmer 341-LC, em 589 nm (lâmpada de sódio) a 25 °C e cela de quartzo com caminho óptico de 1,00 dm.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram adquiridos em um espectrofotômetro com transformada de Fourier - VERTEX 70 da marca BRUKER™, com detector DLaTGS, e faixa de leitura de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### 1.3.4 Estudo fitoquímico de *A. cordigera*

O estudo fitoquímico da espécie *A. cordigera* foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química de Araraquara-UNESP. Concomitantemente, as



avaliações biológicas *in vitro* (**Capítulo 3**), antiplasmodial e antileishmanial, das substâncias isoladas foram realizadas em colaboração com laboratórios especializados: i) as avaliações das atividades antiplasmodial foram desenvolvidas no laboratório do Centro de Pesquisa e Inovação em Biodiversidade e Fármacos – CIBFar do Instituto de Física de São Carlos – USP, pela Dr. Anna Caroline C. Aguiar e sob a supervisão dos professores Dr. Glaucius Oliva e Dr. Rafael V. C. Guido; ii) as avaliações das atividades antileishmanial das substâncias isoladas de *A. cordigera*, foram desenvolvidas no laboratório de Leishmanioses do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo, pela Msc. Jenicer Kazumi Umada Yokoyama Yasunaka e sob a coordenação da professora Dra. Sílvia Reni Bortolin Uliana.

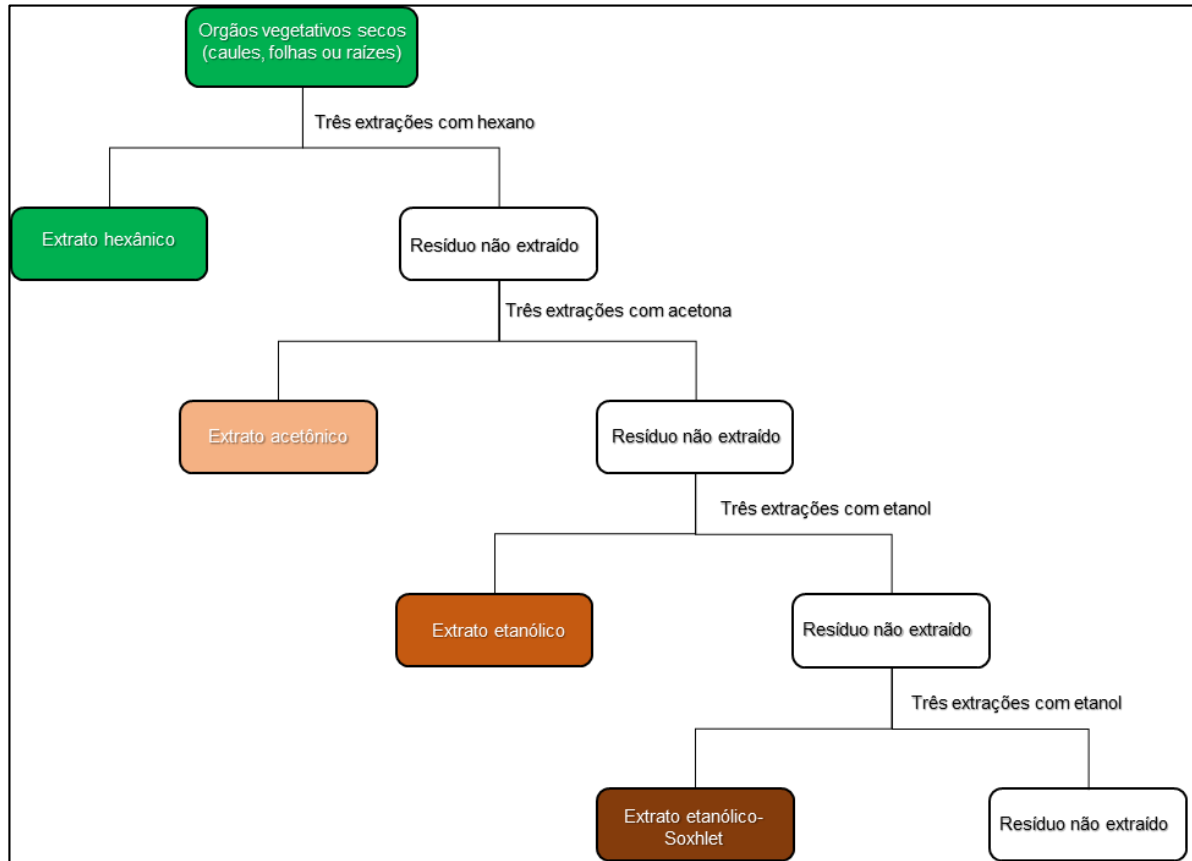
#### 1.3.4.1 Coleta e identificação dos materiais vegetais

Os indivíduos adultos da espécie *A. cordigera* foram coletados em dois biomas brasileiros: Amazônia (São Luiz, MA) e Cerrado (Imperatriz, MA) em 28/02/2013. A identificação do material botânico foi realizada pelo Dr. Lindolpho Cappellari Jr. sendo uma exsicata (ESA 110744) depositada no Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, SP, Brasil.

#### 1.3.4.2 Preparo dos extratos de *A. cordigera*

O material vegetal foi separado de acordo com os órgãos vegetativos da planta, caules, folhas e raízes. Estes foram secos em estufa climatizada (~ 45 °C) e individualmente moídos por processo mecânico utilizando moinho de facas. Os órgãos vegetais moídos (caules, folhas e raízes) das plantas coletadas em São Luiz (SL) e Imperatriz (IM) foram submetidos individualmente a sucessivas extrações por maceração em hexanos, acetona e etanol [cada solvente: 3 × (~ 300 mL, 4 dias, temperatura ambiente, agitação manual a cada 12 h por 2 min)] e na sequência, os resíduos resultantes foram submetidos a extração exaustiva com etanol pelo método de Soxhlet (**Esquema 1**).

Esquema 1- Fluxograma de obtenção dos extratos das diferentes partes das plantas



Os solventes foram eliminados sob pressão reduzida, seguido de evaporação em capela de exaustão, obtendo-se um total de 24 extratos (**Tabelas 2 e 3**).

Tabela 2- Extratos obtidos de *A. cordigera* coletada em São Luiz (MA)

Parte da planta	Material vegetal seco (g)	Extrato	Código-procedência	Massa (g)	(%) <sup>a</sup>		
Caule	64,68	Hexânico	EHC-SL	0,67	1,0		
		Acetônico	EAC-SL	0,82	1,3		
		Etanólico	EEC-SL	3,58	5,5		
		Etanólico/Soxhlet	EESC-SL	2,85	4,4		
		Raiz	32,19	Hexânico	EHR-SL	0,39	1,2
Raiz	32,19	Acetônico	EAR-SL	0,61	1,9		
		Etanólico	EER-SL	3,05	9,5		
		Etanólico/Soxhlet	EESR-SL	2,65	8,2		
		Folhas	44,19	Hexânico	EHF-SL	1,22	2,8
		Folhas	44,19	Acetônico	EAF-SL	1,25	2,8
Etanólico	EEF-SL			3,47	7,9		
Etanólico/Soxhlet	EESF-SL			2,95	6,7		

<sup>a</sup> Rendimento percentual dos extratos em relação a massa do Material vegetal seco.

**Tabela 3-** Extratos obtidos de *A. cordigera* coletada em Imperatriz (MA)

Parte da planta	Material vegetal seco (g)	Extrato	Código-procedência	Massa (g)	(%) <sup>a</sup>		
Caule	117,34	Hexânico	EHC-IM	1,20	1,0		
		Acetônico	EAC-IM	1,09	0,9		
		Etanólico	EEC-IM	5,98	5,1		
		Etanólico/Soxhlet	EESC-IM	5,50	4,7		
		Raiz	69,80	Hexânico	EHR-IM	1,87	2,7
Raiz	69,80	Acetônico	EAR-IM	1,32	1,9		
		Etanólico	EER-IM	6,03	8,6		
		Etanólico/Soxhlet	EESR-IM	5,86	8,4		
		Folhas	156,64	Hexânico	EHF-IM	3,96	2,5
		Folhas	156,64	Acetônico	EAF-IM	5,36	3,4
Etanólico	EEF-IM			12,05	7,7		
Etanólico/Soxhlet	EESF-IM			7,60	4,9		

<sup>a</sup> Rendimento percentual dos extratos em relação a massa do Material vegetal seco.

### 1.3.4.3 Análises dos extratos de *A. cordigera*

Os extratos obtidos (**Tabelas 2 e 3**) foram analisados por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H e CCDC em diferentes sistemas eluentes [hexanos/AcOEt (4:1 e 7:3) e CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH (9:1 e 4:1)], sendo os extratos apolares analisados também por CG-EM.

### 1.3.4.4 Análises dos extratos por RMN de <sup>1</sup>H

Alíquotas dos extratos hexânicos (30 mg/0,7 mL de CDCl<sub>3</sub>), etanólicos e etanólicos Soxhlet [30 mg/0,7 mL de (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO] de raízes, caules e folhas de *A. cordigera* foram filtradas e diretamente analisadas por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H. Os extratos acetônicos (**Tabelas 2 e 3**) foram inicialmente extraídos por partição líquido/líquido [hexanos/CHCl<sub>3</sub> (1:2, v/v) e CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1, v/v), 1:1 v/v], sendo as frações hidroalcoólica e orgânica secas e analisadas por RMN de <sup>1</sup>H (30 mg/0,7 mL de (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO e 30 mg/0,7 mL de CDCl<sub>3</sub>, respectivamente).

### 1.3.4.5 Análises dos extratos por CG-EM

#### 1.3.4.5.1 Preparo de amostra

Alíquotas de 1 mg dos extratos hexânicos foram dissolvidas em *n*-hexano nanograde grau CG (1 mL), filtradas em microfiltro de PTFE (25 mm, 0,2 µm, Minisart® SRP25), e as soluções analisadas por CG-EM.

#### 1.3.4.5.2 Condições de análise

As análises por CG-EM foram realizadas tendo como parâmetros, temperatura do injetor mantida a 220 °C e o modo de injeção utilizado split 1/10. A temperatura do forno foi programada iniciando-se em 60 °C (5 min) e elevada a uma taxa de 4 °C/min até 280 °C (10 min). Hélio (99,999%) foi utilizado como gás de arraste, a uma vazão de 0,8 mL/min. O volume de amostra injetado foi de 2 µL. Empregou-se para esta análise uma coluna capilar VF-1MS (30 m x 0,25mm x 0,25 µm). Condições do EM: temperatura da fonte de íons e interface de 200 °C, energia de ionização de 70 eV, faixa de aquisição de *m/z* 30-400 Daltons.

#### 1.3.4.5.3 Análise estatística

##### 1.3.4.5.3.1 Análise quantitativa (relativa) dos dados obtidos por CG-EM

Análise de componentes principais (PCA) foi utilizada como métodos estatísticos para sugerir a estrutura do conjunto e analisar as variáveis em relação às características estudadas.

##### 1.3.4.5.3.2 Análise estatística CG-EM

No total, 66 características (compostos químicos identificados por CG-EM) de 6 extratos de *A. Cordigera Willd.* foram analisadas por PCA utilizando o programa Pirouette® version 3.11<sup>45</sup>. As composições químicas foram determinadas a partir dos perfis cromatográficos de 6 extratos de plantas coletadas em dois biomas brasileiros, Amazônia (EHC-, EHR- e EHF-SL, São Luiz - MA) e Cerrado (EHC-, EHR- e EHF-IM, Imperatriz - MA). Para reduzir os efeitos de dispersão e comparar as amostras, os cromatogramas foram normalizados fixando a intensidade máxima para um valor 1<sup>46</sup>. Os gráficos definidos pelo PC1 (score 1), PC2 (score 2) e PC3 (score 3), foram obtidos pelos dados cromatográficos das 66 características utilizando Pirouette® versão

3.11<sup>45</sup>. Os resultados foram obtidos utilizando uma matriz de dados original X (66 por 6) com 66 variáveis, 6 amostras, 3 fatores ideais, 1<sup>a</sup> derivada, com a distância Euclidiana como medida de similaridade.

#### 1.3.4.6 Análises dos extratos e separações cromatográficas por CLAE

##### 1.3.4.6.1 Preparo de amostra (extração em fase sólida)

Para a remoção de interferentes na CLAE, as amostras foram submetidas a um *clean-up* por meio da técnica de extração em fase sólida (EFS) utilizando-se cartuchos de C<sub>18</sub>, previamente ativados com 5 mL de CH<sub>3</sub>OH e condicionados com 5 mL de CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (19:1 v/v). As amostras foram dissolvidas em 3,0 mL de uma solução CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (19:1 v/v) e aplicadas no cartucho de C<sub>18</sub>. Uma segunda porção de 3 mL de solvente foi utilizada para garantir a eluição completa do material de interesse. Na sequência, as amostras foram secas, solubilizadas nas condições de análise (CLAE) e filtradas em microfiltro de PTFE.

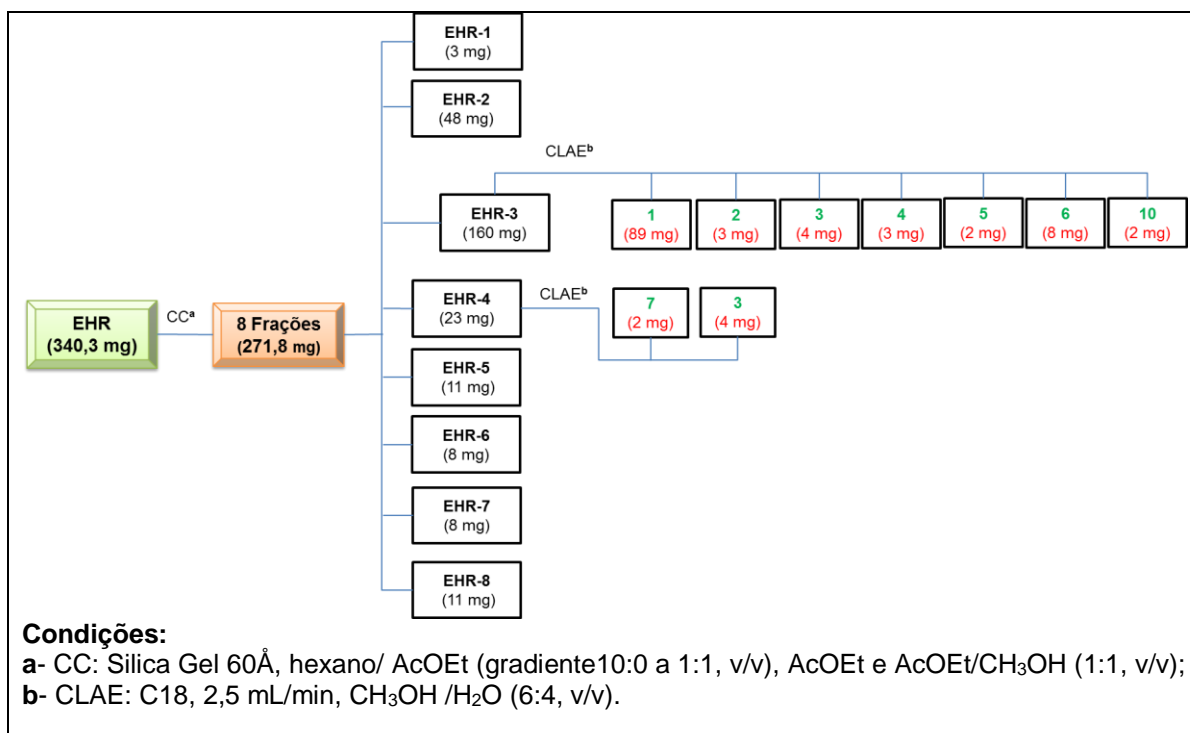
#### 1.3.4.7 Isolamento e purificação dos constituintes químicos dos extratos EHR-SL, EAR-SL, EER-IM e EESR-IM

##### 1.3.4.7.1 Separação cromatográfica do EHR de *A. cordigera* Willd

Parte do extrato hexânico de raízes de *A. cordigera* (**EHR-SL**; 340 mg) foi submetida a fracionamento por CC utilizando como FE sílica gel 60Å ( $\Phi=2,5$  cm,  $h=10$  cm,  $m=6$  g), e FM composta por sistemas de solventes em ordem crescente de polaridade: *i*) hexanos; *ii*) misturas binárias de hexanos-AcOEt (proporção de 9:1 até 1:1, sucessivamente); *iii*) AcOEt e *iv*) CH<sub>3</sub>OH. Ao final do processo cromatográfico foram obtidas 8 frações de 30 mL cada ( $\sim 3X V_m$ ), identificadas pelos códigos **EHR-1** (hexanos), **EHR-2** a **EHR-6** (hexanos/AcOEt nas proporções de 9:1 à 1:1, sucessivamente), **EHR-7** (AcOEt) e **EHR-8** (AcOEt/CH<sub>3</sub>OH, 1:1) (**Esquema 2**). As frações obtidas foram analisadas por CCDC (hexanos/AcOEt, nas proporções de 7:3 e 6:4), CLAE analítico em fase reversa C18 (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O, gradiente exploratório 1:9 a 10:0, v/v) e/ou RMN de <sup>1</sup>H.

Posteriormente, as frações **EHR-3** e **EHR-4**, foram fracionadas empregando CLAE no modo semipreparativo, em fase reversa (C18). A partir da fração **EHR-3** foram isoladas substâncias **1-6** e **10**, enquanto que da fração **EHR-4** foram isolados **3** e **7** (**Esquema 2**).

Esquema 2- Fracionamento do extrato hexânico de raízes

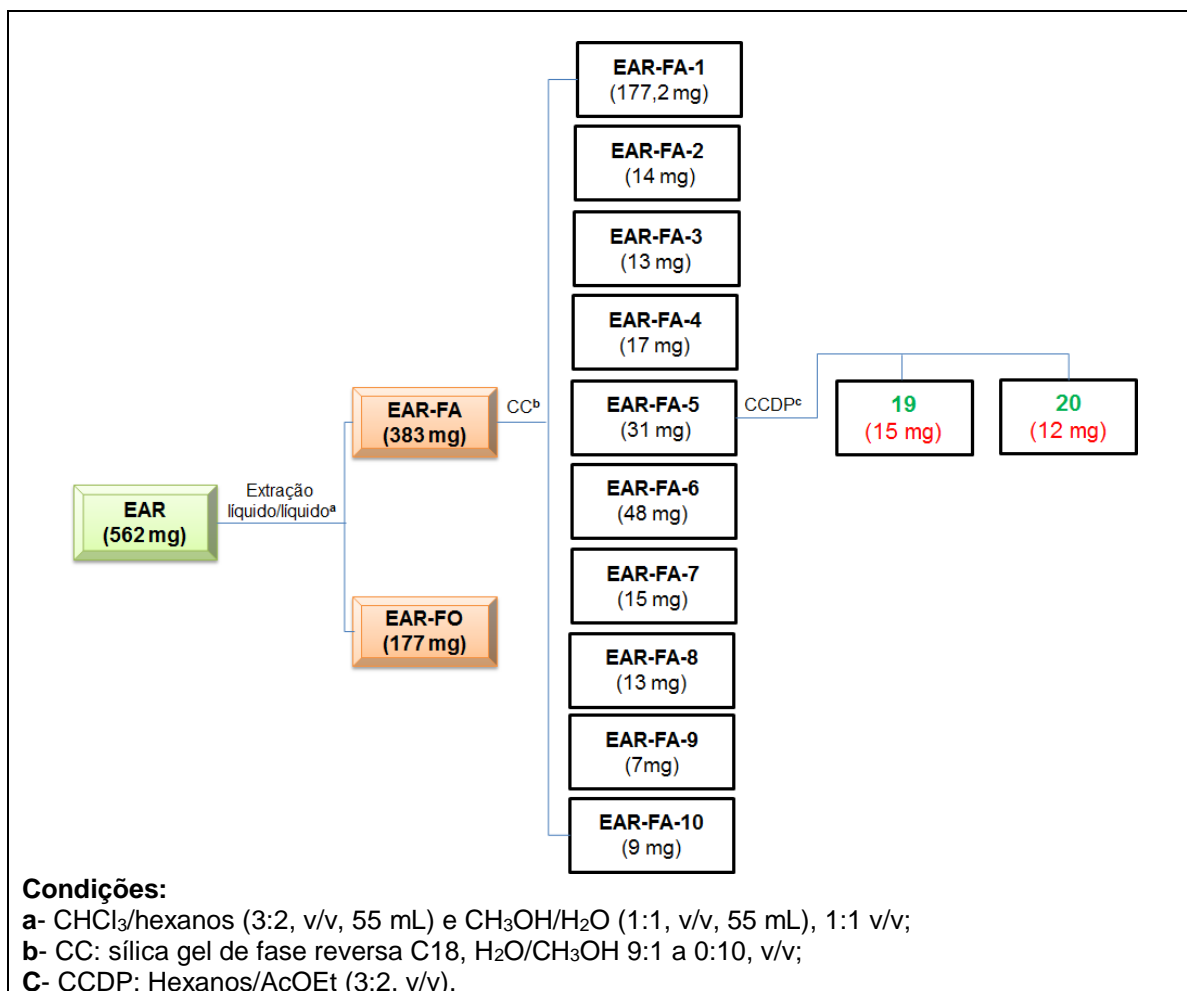


#### 1.3.4.7.2 Separação cromatográfica do EAR de *A. cordigera* Willd.

O extrato acetônico de raízes de *A. cordigera* (**EAR-SL**, 562 mg) foi solubilizado em 55,0 mL de CHCl<sub>3</sub>/hexanos (3:2, v/v), e posteriormente submetido a extração líquido-líquido com 55 mL (2X 27,5 mL) de uma solução hidrometanólica (CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O, 1:1, v/v). As fases foram separadas e após os solventes serem removidos a pressão reduzida, foram obtidos 177 mg da fase orgânica (**EAR-FO-SL**) e 383 mg da fase hidroalcoólica (**EAR-FA-SL**). Estas frações foram inicialmente analisadas por RMH de <sup>1</sup>H e CCDC, sendo na sequência a fase hidroalcoólica fracionada por CC em fase reversa [sílica gel de fase reversa C18 (40 μm), m=6 g, Φ=1,8 cm, h=10 cm] tendo como FM H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH no modo gradiente (9:1 a 0:10, v/v). Ao final do processo cromatográfico foram obtidas dez frações de 30,0 mL cada, identificadas pelos códigos **EAR-FA-1** à **EAR-FA-10**, sucessivamente (**Esquema 3**).

As frações obtidas foram inicialmente analisadas por CCDC e RMN de <sup>1</sup>H. Destas, a fração **EAR-FA-1**, que contém maior massa (177,2 mg), é constituída por açúcares e ciclitóis. A fração **EAR-FA-5** foi submetida a um novo fracionamento por CCDC em fase normal, sendo isoladas as substâncias **19** e **20** (**Esquema 3**).

Esquema 3- Fracionamento do extrato acetônico de raízes



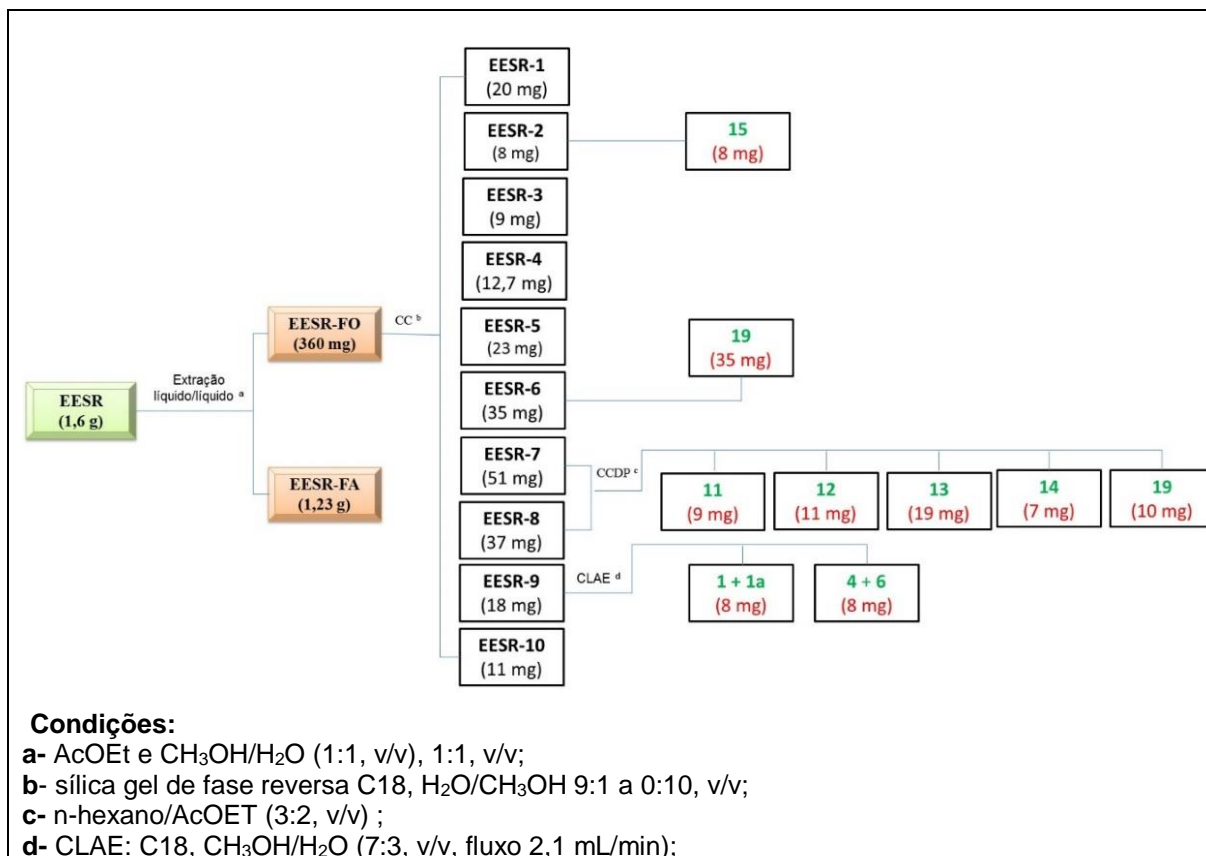
#### 1.3.4.7.3 Separação cromatográfica do EERS de *A. cordigera* Willd.

Parte do **EERS-IM** (1,6 g) foi submetido à extração líquido-líquido, sendo a fase hidrometanólica ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1 v/v, 100 mL) extraída com 100 mL de  $\text{AcOEt}$  (2X 50,0 mL). Deste processo extrativo, obteve-se 360 mg da fase orgânica (**EERS-FO-IM**) e 1,23 g da fase hidrometanólica (**EERS-FA-IM**).

Na sequência a fase orgânica foi fracionada por CC [sílica gel de fase reversa C18 (40  $\mu\text{m}$ ),  $\Phi=1,8$  cm,  $h=10$  cm,  $m=6$  g] tendo como FM  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$  no modo gradiente (9:1 a 0:1, v/v). Ao final do processo cromatográfico foram obtidas dez frações de 30,0 mL cada, identificadas pelos códigos **EERS-FO-1** ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ , 9:1, v/v) à **EERS-FO-10** ( $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ , 0:10, v/v), sucessivamente (**Esquema 4**). Destas, a fração **EERS-FO-6** continha a substância **19** em elevada pureza e a fração **EERS-FO-2** a substância **15** (**Esquema 4**).

Após análise por CCDC e RMN de  $^1\text{H}$ , as frações **EESR-FO-7** e **EESR-FO-8** foram unidas e na sequência submetidas a um novo fracionamento por CCDP (hexanos/AcOEt, 3:2, v/v), sendo obtidos os ácidos aristolóquicos **11-14** e o alcaloide **19** com elevada pureza ( $\geq 90$ ). Além destas, a fração **EHR-9** foi fracionada empregando CLAE em fase reversa (C18) no modo semipreparativo, sendo obtidos os isômeros **1+1a**, e **4+6** em mistura (**Esquema 4**).

**Esquema 4**- Fracionamento do extrato etanólico soxhlet de raízes



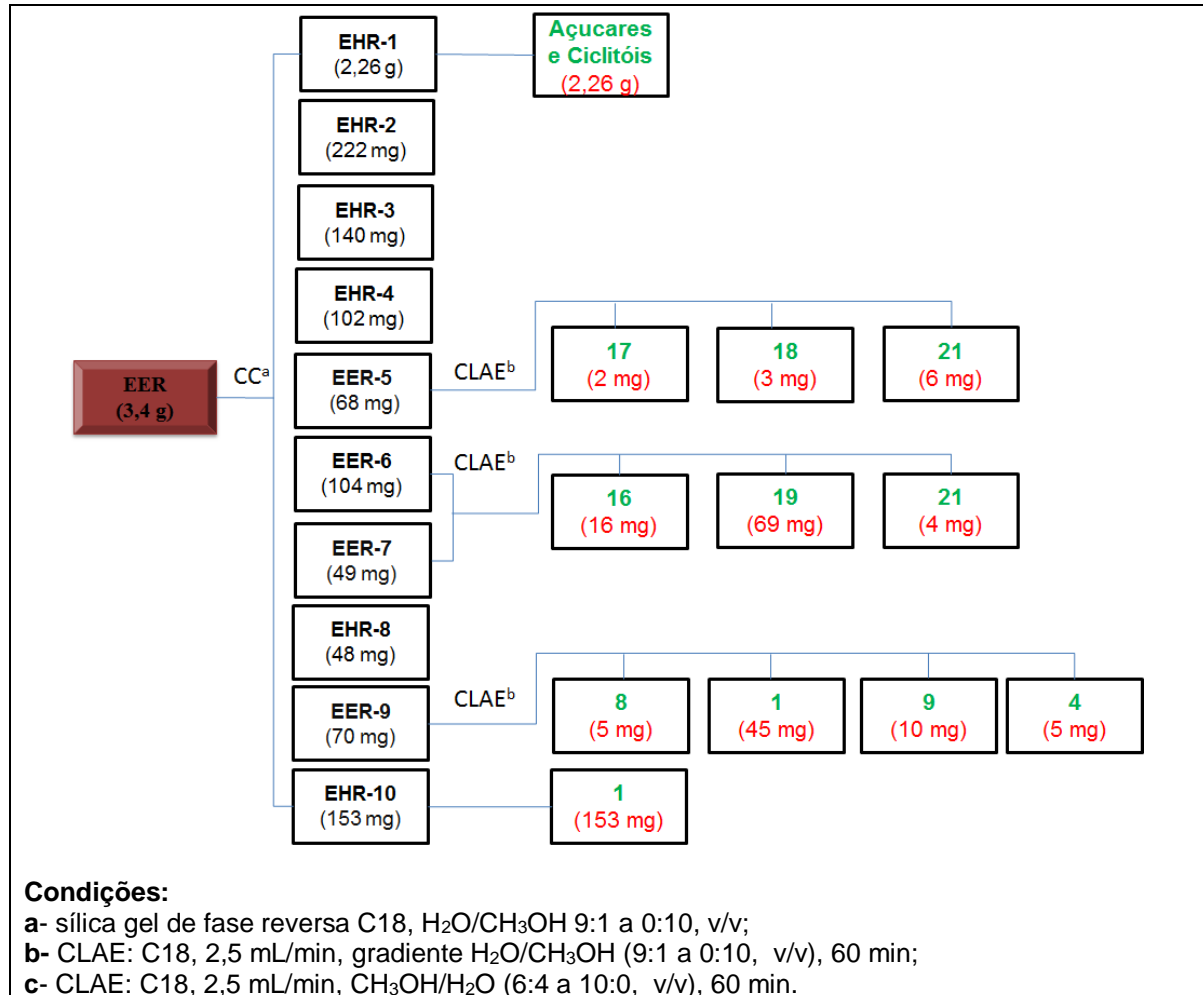
#### 1.3.4.7.1 Separação cromatográfica do EER de *Aristolochia cordigera* Willd

O extrato etanólico de raízes de *A. cordigera* (3,4 g) foi fracionado por CC [sílica gel de fase reversa C18 (40  $\mu\text{m}$ ),  $\Phi=1,8$  cm,  $h=10$  cm,  $m=60$  g] tendo como FM H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH no modo gradiente (9:1 a 0:1, v/v). Deste processo, foram obtidas dez frações de 150,0 mL ( $\sim 3X V_m$ ) cada, identificadas pelos códigos **EER-1** (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH, 9:1, v/v) à **EER-10** (H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH, 0:10, v/v), respectivamente (**Esquema 5**). As frações obtidas foram analisadas por CCDC e posteriormente aquelas de maior pureza foram analisadas por RMN de  $^1\text{H}$ . Com base nestes dados, as frações similares **EER-6** e **-7** foram unidas e na sequência submetida à separação cromatográfica por CLAE em



fase reversa (C18) no modo semipreparativo. Este processo cromatográfico resultou no isolamento das substâncias **16**, **19** e **21** (Figura 7, Esquema 5). O mesmo processo cromatográfico [(CLAE em fase reversa (C18)] foi empregado para as frações **EER-5** e **-9**. Destas frações, foram isoladas as substâncias **1**, **4**, **8**, **9**, **17**, **18** e **21**.

**Esquema 5-** Fracionamento do extrato etanólico de raízes



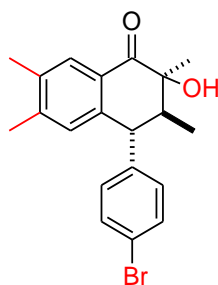
### 3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As avaliações biológicas das substâncias obtidas de *A. cordigera* contra formas amastigotas de *Leishmania amazonensis* apresentaram atividade para o composto **1**, porém o mesmo foi tóxico. A avaliação do alcaloide **21** contra parasitos de *P. falciparum* (3D7), cloroquina sensível, evidenciou atividade inibitória com valor de  $IC_{50}$  de  $5 \pm 2 \mu M$ .

Com base nos resultados das avaliações biológicas dos análogos de lignanas sintéticas, pode se concluir que: *i*) o anel aromático C é essencial para atividade, sendo que a presença de substituintes em *para* (C-4') neste anel potencializa a atividade desta classe de substâncias; *ii*) os derivados de lignanas ariltetralônicas com configurações relativas 8*R*,8'*S* são mais ativos do que os epímeros 8*S*,8'*R* e 8*S*,8'*S*; *iii*) a presença de um bromo na estrutura aumenta consideravelmente a atividade ( $IC_{50} = 1,3 \pm 0,8 \mu M$ ).

Adicionalmente, podemos concluir que dois análogos sintéticos apresentaram resultados biológicos considerados muito promissores com baixos valores de  $IC_{50}$ , **S17b** ( $IC_{50} = 2,6 \pm 0,78 \mu M$ ) e **S24b** ( $IC_{50} = 1,3 \pm 0,8 \mu M$ ), contra parasitos de *P. falciparum* (3D7), cloroquina sensível, pelo método de SYBR Green.

A partir dos resultados de atividades antiplasmodiais *in vitro* e de relação estrutura-atividade observadas para os análogos de lignanas ariltetralônicas testados, este trabalho sugere a estrutura **S28** como um possível protótipo a fármaco antiplasmodial.



**S28**

## REFERÊNCIAS

- 1 GONZÁLEZ, F. et al. Present *trans*-Pacific disjunct distribution of *Aristolochia* subgenus *Isotrema* (Aristolochiaceae) was shaped by dispersal, vicariance and extinction. **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 2, p. 380-391, 2014.
- 2 WANKE, S. et al. Evolution of Piperales—*matK* gene and *trnK* intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, n. 2, p. 477-497, 2007.
- 3 MULDER, C. Aristolochiaceae. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 123, n. 1/2, p. 47-55, 2003.
- 4 WATANABE, K.; KAJITA, T.; MURATA, J. Chloroplast DNA variation and geographical structure of the *Aristolochia kaempferi* group (Aristolochiaceae). **American Journal of Botany**, v. 93, p. 442-453, 2006.
- 5 KELLY, L. M.; GONZÁLEZ, F. Phylogenetic relationships in Aristolochiaceae. **Systematic Botany**, v. 28, n. 2, p. 236-249, 2003.
- 6 HOEHNE, F. C. **Flora brasílica**: Aristolochiaceae. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 1942. v. 15, pt. 2.
- 7 NEINHUIS, C. et al. Phylogeny of Aristolochiaceae based on parsimony, likelihood, and Bayesian analyses of *trnL-trnF* sequences. **Plant Systematics and Evolution**, v. 250, n. 1, p. 7-26, 2005.
- 8 GONZÁLEZ, F. Florística y sistemática filogenética innecesariamente disyuntas: el caso de *Aristolochia*, *Euglypha* y *Holostylis* (Aristolochiaceae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 36, n. 139, p. 193-202, 2012.
- 9 ROBI, A. J.; JOSE, P. A.; UDAYAN, P. S. *Thottea sasidharaniana* sp. nov. (Aristolochiaceae) from Peninsular India. **Nordic Journal of Botany**, v. 32, n. 1, p. 11-14, 2014.
- 10 SINN, B. T.; KELLY, L. M.; FREUDENSTEIN, J. V. Putative floral brood-site mimicry, loss of autonomous selfing, and reduced vegetative growth are significantly correlated with increased diversification in *Asarum* (Aristolochiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 89, p. 194-204, 2015.
- 11 BARROS, F.; ARAÚJO, A. A. M. de; FREITAS, J. Aristolochiaceae. In: LISTA de espécies da flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15749>>. Acesso em: 12 out. 2016.
- 12 FREITAS, J. et al. *Aristolochia zebrina* sp. nov. (Aristolochiaceae) from southeastern Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v. 34, n. 1, p. 54-59, 2016.

- 13 FREITAS, J.; LÍRIO, E. J. de; GONZÁLEZ, F. A new cauliflorous species of *Aristolochia* (Aristolochiaceae) from Espírito Santo, Brazil. **Phytotaxa**, v. 124, n. 1, p. 55-59, 2013.
- 14 WU, T. S. et al. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. **Natural Product Reports**, v. 21, n. 5, p. 594-624, 2004.
- 15 WIART, C. **Ethnopharmacology of medicinal plants: Asia and the Pacific**. Totowa: Humana, c2006. 228 p.
- 16 LOPES, L. et al. Phytochemistry of the Aristolochiaceae family. **Research Advances in Phytochemistry**, v. 2, p. 19-108, 2001.
- 17 WORLD HEALTH ORGANIZATION; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene**. Lyon: IARC Press, 2002. (IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, v. 82). Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>>. Acesso em: 28 nov. 2016.
- 18 VIOLON, C. Belgian (Chinese herb) nephropathy: why? **Journal de Pharmacie de Belgique**, v. 52, n. 1, p. 7-27, 1997.
- 19 MEINL, W. et al. Human sulphotransferases are involved in the activation of aristolochic acids and are expressed in renal target tissue. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 5, p. 1090-1097, 2006.
- 20 KUO, P.-C.; LI, Y.-C.; WU, T.-S. Chemical constituents and pharmacology of the *Aristolochia* (馬兜鈴 mǎdōu líng) species. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 2, n. 4, p. 249-266, 2012.
- 21 MICHL, J. et al. Naturally occurring aristolochic acid analogues and their toxicities. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 5, p. 676-693, 2014.
- 22 POON, W. T.; LAI, C. K.; CHAN, A. Y. W. Aristolochic acid nephropathy: the Hong Kong perspective. **Hong Kong Journal of Nephrology**, v. 9, n. 1, p. 7-14, 2007.
- 23 OPITZ, S. W.; MÜLLER, C. Plant chemistry and insect sequestration. **Chemoecology**, v. 19, n. 3, p. 117-154, 2009.
- 24 THOLL, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 148, p. 63-106, 2015.
- 25 KUBANEK, J. et al. Lignoid chemical defenses in the freshwater macrophyte *Saururus cernuus*. **Chemoecology**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2001.
- 26 MACHADO, M. B.; LOPES, L. M. X. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 18, p. 3095-3102, 2008.

- 27 RÜCKER, G. et al. Manshurolide, a sesquiterpene lactone from *Aristolochia manshuriensis*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 983-985, 1990.
- 28 ACHENBACH, H. et al. 9-methoxy- and 7,9-dimethoxytariacuripyron, natural nitro-compounds with a new basic skeleton from *Aristolochia brevipes*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 7, p. 918-922, 1992.
- 29 WU, T. S. et al. Four aristolochic acid esters of rearranged ent-eleman sesquiterpenes from *Aristolochia heterophylla*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 2, p. 348-351, 1999.
- 30 CHAN, Y. Y.; LEU, Y. L.; WU, T. S. Three sesquiterpenes from the roots and stems of *Aristolochia heterophylla* Hemsl with novel skeletons. **Tetrahedron Letters**, v. 39, n. 44, p. 8145-8148, 1998.
- 31 PAN, J. Y. et al. An update on lignans: natural products and synthesis. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 10, p. 1251-1292, 2009.
- 32 TEPONNO, R. B.; KUSARI, S.; SPITELLER, M. Recent advances in research on lignans and neolignans. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 9, p. 1044-1092, 2016.
- 33 MESSIANO, G. B. et al. Biosynthesis of antimalarial lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 5, p. 590-596, 2009.
- 34 SATAKE, H. et al. Essences in metabolic engineering of lignan biosynthesis. **Metabolites**, v. 5, n. 2, p. 270-290, 2015.
- 35 SCHROEDER, F. C. et al. Pinoresinol: a lignol of plant origin serving for defense in a caterpillar. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 42, p. 15497-15501, 2006.
- 36 LUIZE, P. S. et al. Ultrastructural alterations induced by the neolignan dihydrobenzofuranic eupomatenoid-5 on epimastigote and amastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**, v. 100, n. 1, p. 31-37, 2006.
- 37 CHO, S. J. et al. Antitumor agents. 164. Podophenazine, 2",3"-dichloropodophenazine, benzopodophenazine, and their 4 $\beta$ -p-nitroaniline derivatives as novel DNA topoisomerase II inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 1396-1402, 1996.
- 38 BOEHM, M. et al. An improved manufacturing process for the antimalaria drug coartem. Part I. **Organic Process Research and Development**, v. 11, n. 3, p. 336-340, 2007.
- 39 LEE, K. H.; XIAO, Z. Lignans in treatment of cancer and other diseases. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, n. 3, p. 341-362, 2003.
- 40 ZHANG, G. et al. Chemical constituents of *Aristolochia constricta*: antispasmodic effects of its constituents in guinea-pig ileum and isolation of a diterpeno-lignan hybrid. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 7, p. 1167-1172, 2008.

- 41 ANDRADE-NETO, V. F. de. et al. Antiplasmodial activity of aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2346-2350, 2007.
- 42 SILVA, T. da; LOPES, L. M. X. Aryltetralol and aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 9, p. 929-937, 2006.
- 43 MESSIANO, G. B. et al. Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmiana* against *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2655-2659, 2008.
- 44 VIEIRA, L. et al. Efeito de extratos de *Aristolochia lagesiana* (Aristolochiaceae) sobre a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 76, p. 245-250, 2009.
- 45 INFOMETRIX. **Pirouette®**. Version 3.11. Bothell, 2003.
- 46 BERTRAND, D.; SCOTTER, C. N. G. Application of multivariate analyses to NIR spectra of gelatinized starch. **Applied Spectroscopy**, v. 46, n. 9, p. 1420-1425, 1992.
- 47 MOSS, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1493-1523, 2000.
- 48 FRANCISCO, C. S. et al. Classification of *Aristolochia* species based on GC-MS and chemometric analyses of essential oils. **Phytochemistry**, v. 69, n. 1, p. 168-175, 2008.
- 49 MARTINS, G. F. et al. Intraspecific variability of *holostylis reniformis*: concentration of lignans, as determined by maceration and supercritical fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>), as a function of plant provenance and plant parts. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 281-287, 2014.
- 50 VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. DEC. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.
- 51 ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4th ed. Carol Stream: Allured, 2009.
- 52 BARBA, B.; DÍAZ, J. G.; HERZ, W. Anthraquinones and other constituents of two *Senna* species. **Phytochemistry**, v. 31, n. 12, p. 4374-4375, 1992.
- 53 LI, F.; YANG, X.-W. Metabolism of the lignan dehydrodiisoeugenol in rats. **Planta Medica**, v. 77, n. 15, p. 1712-1717, 2011.
- 54 NGUYEN, K. C.; WEIZMAN, H. Greening wittig reactions: solvent-free synthesis of ethyl trans-cinnamate and trans-3-(9-anthryl)-2-propenoic acid ethyl ester. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 1, p. 119-121, 2007.

- 55 HANAI, K. et al. A comparative vibrational and NMR study of *cis*-cinnamic acid polymorphs and *trans*-cinnamic acid. **Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 57, n. 3, p. 513-519, 2001.
- 56 WANG, E.-C.; WEIN, Y.-S.; KUO, Y.-H. A concise and efficient synthesis of salvinal from isoeugenol via a phenoxenium ion intermediate. **Tetrahedron Letters**, v. 47, n. 52, p. 9195-9197, 2006.
- 57 ICHIHARA, A. et al. General route to 2-alkyl-2-butenolactones via the retro-Diels-Alder reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 20, n. 39, p. 3731-3734, 1979.
- 58 TSAI, I. L. et al. Cytotoxic neolignans and butanolides from *Machilus obovatifolia*. **Planta Medica**, v. 67, n. 6, p. 559-561, 2001.
- 59 DAVID, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from bark and leaves of *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 2, p. 491-499, 1994.
- 60 BARBOSA-FILHO, J. M.; CUNHA, E. V. L. da; SILVA, M. S. da. Complete assignment of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of some lignoids from Lauraceae. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 36, n. 12, p. 929-935, 1998.
- 61 SILVA, T. da; LOPES, L. M. X. Aryltetralone lignans and 7,8-seco-lignans from *Holostylis reniformis*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 6, p. 751-759, 2004.
- 62 URZÚA, A.; FREYER, A. J.; SHAMMA, M. 2,5-diaryl-3,4-dimethyltetrahydrofuranoid lignans. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1509-1511, 1987.
- 63 PELTER, A.; STANTON, A. P.; BARBER, M. The mass spectra of oxygen heterocycles (III). An examination of simple lignans. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 191-197, 1966.
- 64 SEO, C. B. et al. Lignans from the roots of *Saururus chinensis*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 10, p. 1771-1774, 2008.
- 65 HERATH, H. M. T. B.; PRIYADARSHANI, A. M. A. Two lignans and an aryl alkanone from *Myristica dactyloides*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 5, p. 1439-1442, 1996.
- 66 BIFTU, T. et al. Syntheses of lignans from 2,3-diarolybutanes. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 10, p. 1147-1150, 1978.
- 67 KAOUD, T. S. et al. From in silico discovery to intracellular activity: targeting *JNK*-protein interactions with small molecules. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 3, n. 9, p. 721-725, 2012.
- 68 SUNG, S. H.; HUH, M. S.; KIM, Y. C. New tetrahydrofuran-type sesquignans of *Saururus chinensis* root. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 9, p. 1192-1194, 2001.

- 69 RAO, K. V.; ALVAREZ, F. M. Chemistry of *Saururus cernuus*. I. Saucernetin, a new neolignan. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 4, p. 393-397, 1982.
- 70 McALPINE, J. B.; RIGGS, N. V.; GORDON, P. G. Absolute stereochemistry of calopiptin. **Australian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 8, p. 2095-2106, 1968.
- 71 DESAI, D. C. et al. Isolation, structural elucidation and anti-inflammatory activity of astragalin, (-)hinokinin, aristolactam I and aristolochic acids (I & II) from *Aristolochia indica*. **Natural Product Research**, v. 28, n. 17, p. 1413-1417, 2014.
- 72 TERESA, J. de P.; URONES, J. G.; FERNANDEZ, A. An aristolochic acid derivative from *Aristolochia longa*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 12, p. 2745-2747, 1983.
- 73 YANN-LII, L.; YU-YI, C.; TIAN-SHUNG, W. Sodium aristolochate derivatives from leaves of *Aristolochia foveolata*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 4, p. 743-745, 1998.
- 74 CHIANG, C.-Y. et al. Sodium aristolochates from the flowers and fruits of *Aristolochia zollingeriana*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 45, n. 1, p. 93-97, 1998.
- 75 CHEN, J.-H. et al. Aporphine alkaloids from *Clematis parviloba* and their antifungal activity. **Archives of Pharmacal Research**, v. 32, n. 1, p. 3-5, 2009.
- 76 LEE, Y.-T. et al. Synthesis of phenolic amides and evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro and in vivo. **RSC Advances**, v. 5, n. 104, p. 85806-85815, 2015.
- 77 KOBAYASHI, J. I. et al. Hyrtiosins A and B, new indole alkaloids from the Okinawan marine sponge *Hyrtios erecta*. **Tetrahedron**, v. 46, n. 23, p. 7699-7702, 1990.
- 78 SALMOUN, M. et al. 5-Hydroxytryptamine-derived alkaloids from two marine sponges of the genus *Hyrtios*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 8, p. 1173-1176, 2002.
- 79 ABDJUL, D. B. et al. Two new indole derivatives from a marine sponge *Ircinia* sp. collected at Iriomote Island. **Journal of Natural Medicines**, v. 69, n. 3, p. 416-420, 2015.
- 80 SAULEAU, P. et al. Hyrtiazepine, an azepino-indole-type alkaloid from the Red Sea marine sponge *Hyrtios erectus*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 12, p. 1676-1679, 2006.
- 81 HUANG, Y. et al. The biosynthesis and genetic engineering of bioactive indole alkaloids in plants. **Journal of Plant Biology**, v. 59, n. 3, p. 203-214, 2016.
- 82 ZHU, J. et al. Biosynthesis and regulation of terpenoid indole alkaloids in *Catharanthus roseus*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 9, n. 17, p. 24-28, 2015.



- 83 GAO, Y. et al. Overexpression of the bacterial tryptophan oxidase *RebO* affects auxin biosynthesis and *Arabidopsis* development. **Science Bulletin**, v. 61, n. 11, p. 859-867, 2016.
- 84 SHAO, J. et al. Analysis and cloning of the synthetic pathway of the phytohormone indole-3-acetic acid in the plant-beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Microbial Cell Factories**, v. 14, n. 1, 2015. doi:10.1186/s12934-015-0323-4.
- 85 NUTARATAT, P. et al. Indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in the basidiomycetous yeast *Rhodospiridium paludigenum*. **Archives of Microbiology**, v. 198, n. 5, p. 429-437, 2016.
- 86 LIEW, L. P. P. et al. Synthesis of 1-indolyl substituted  $\beta$ -carboline natural products and discovery of antimalarial and cytotoxic activities. **Tetrahedron**, v. 70, n. 33, p. 4910-4920, 2014.
- 87 ENDO, T. et al. Hyrtinadine A, a bis-indole alkaloid from a marine sponge. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 423-424, 2007.
- 88 IRLINGER, B. et al. New tryptophan metabolites from cultures of the lipophilic yeast *Malassezia furfur*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 88, n. 6, p. 1472-1485, 2005.
- 89 ZHU, L. H. et al. Indole alkaloids from *Alocasia macrorrhiza*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 60, n. 5, p. 670-673, 2012.
- 90 STOCKWELL, B. R. Chemical genetics: ligand-based discovery of gene function. **Nature Reviews Genetics**, v. 1, n. 2, p. 116-125, 2000.
- 91 BLACKWELL, H. E.; ZHAO, Y. Chemical genetic approaches to plant biology. **Plant Physiology**, v. 133, n. 2, p. 448-455, 2003.
- 92 WEATHERS, P. J. et al. Artemisinin production in *Artemisia annua*: studies in planta and results of a novel delivery method for treating malaria and other neglected diseases. **Phytochemistry Reviews: Proceedings of the Phytochemical Society of Europe**, v. 10, n. 2, p. 173-183, 2011.
- 93 MORIMOTO, S. et al. Morphine metabolism in the opium poppy and its possible physiological function. Biochemical characterization of the morphine metabolite, bismorphine. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 41, p. 38179-38184, 2001.
- 94 NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.
- 95 LÓPEZ, S. N. et al. Chemically engineered extracts as an alternative source of bioactive natural product-like compounds. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 2, p. 441-444, 2007.
- 96 WETZEL, S. et al. Biology-oriented synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 46, p. 10800-10826, 2011.

- 97 WELSCH, M. E.; SNYDER, S. A.; STOCKWELL, B. R. Privileged scaffolds for library design and drug discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, n. 3, p. 347-361, 2010.
- 98 RIZZO, S.; WALDMANN, H. Development of a natural-product-derived chemical toolbox for modulation of protein function. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 9, p. 4621-4639, 2014.
- 99 McFEDRIES, A.; SCHWAID, A.; SAGHATELIAN, A. Methods for the elucidation of protein-small molecule interactions. **Chemistry & Biology**, v. 20, n. 5, p. 667-673, 2013.
- 100 CHO, S. J. et al. Antitumor agents. 163. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship study of 4'-O-demethylepipodophyllotoxin analogs using the modified CoMFA/q<sup>2</sup>-GRS approach. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 1383-1395, 1996.
- 101 HEIDEBRECHT, R. W. Jr. et al. Diversity-oriented synthesis yields a novel lead for the treatment of malaria. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 3, n. 2, p. 112-117, 2012.
- 102 MESSIANO, G. B. et al. Microbial transformations of aryltetralone and aryltetralin lignans by *Cunninghamella echinulata* and *Beauveria bassiana*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 11, p. 1933-1937, 2010.
- 103 KUO, Y. H.; LIN, S. T. Studies on chromium trioxide-based oxidative coupling reagents and synthesis of lignan-cagayanone. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 9, p. 1507-1512, 1993.
- 104 YVON, B. L. et al. Synthesis of magnoshinin and cyclogalgravin: modified stobbe condensation reaction. **Synthesis**, n. 10, p. 1556-1560, 2001.
- 105 CROSSLEY, N. S.; DJERASSI, C. 275. Naturally occurring oxygen heterocyclics. Part XI. Veraguensin. **Journal of the Chemical Society**, p. 1459-1462, 1962.
- 106 PENG, Y. et al. Collective synthesis of several 2,7'-cycloignans and their correlation by chemical transformations. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 43, p. 7574-7586, 2013.
- 107 RYE, C. E.; BARKER, D. Asymmetric synthesis of (+)-galbelgin, (-)-kadangustin J, (-)-cyclogalgravin and (-)-pycnanthuligenenes A and B, three structurally distinct lignan classes, using a common chiral precursor. **Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 16, p. 6636-6648, 2011.
- 108 BARBA, I.; CHINCHILLA, R.; GÓMEZ, C. Electrochemical methoxylation of allyl and propenyl derivatives of phenol and phenol ethers. **Journal of Organic Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 3270-3272, 1990.

- 109 IGUCHI, M. et al. Anodic oxidation of *E*- and *Z*-isoeugenol. **Chemistry Letters**, v. 7, n. 9, p. 1015-1018, 1978.
- 110 MÜLLER, A.; VAJDA, M. Dimeric propenyl phenol ethers. XV. The synthesis of 1-veratryl-2,3-dimethyl-6,7-dimethoxytetralin. **Journal of Organic Chemistry**, v. 17, n. 6, p. 800-806, 1952.
- 111 SILVA, T. da. **Lignanas ariltetralônicas de *Holostylis reniformis* Duch.:** isolamento, síntese, biossíntese e avaliação biológica. 2006. 261 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.
- 112 FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, M. Á. et al. Recent advances in the catalytic enantioselective Reformatsky reaction. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2013, n. 31, p. 7028-7034, 2013.
- 113 OCAMPO, R.; DOLBIER, W. R. Jr. The Reformatsky reaction in organic synthesis. Recent advances. **Tetrahedron**, v. 60, n. 42, p. 9325-9374, 2004.
- 114 ORSINI, F.; SELLO, G. Transition metals-mediated Reformatsky reactions. **Current Organic Synthesis**, v. 1, n. 2, p. 111-135, 2004.
- 115 OJIMA, I. **Fluorine in medicinal chemistry and chemical biology**. Chichester: Wiley/Blackwell, c2009. 624 p.
- 116 BÉGUÉ, J.-P.; BONNET-DELPON, D. Recent advances (1995–2005) in fluorinated pharmaceuticals based on natural products. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 127, n. 8, p. 992-1012, 2006.
- 117 BÉGUÉ, J. P.; BONNET-DELPON, D. Fluoroartemisinins: metabolically more stable antimalarial artemisinin derivatives. **ChemMedChem**, v. 2, n. 5, p. 608-624, 2007.
- 118 GALABOV, B. et al. Electrophilic aromatic substitution: new insights into an old class of reactions. **Accounts of Chemical Research**, v. 49, n. 6, p. 1191-1199, 2016.
- 119 SCHNATTER, W. F. K.; ROGERS, D. W.; ZAVITSAS, A. A. Electrophilic aromatic substitution: enthalpies of hydrogenation of the ring determine reactivities of  $C_6H_5X$ . The direction of the  $C_6H_5-X$  bond dipole determines orientation of the substitution. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 117, n. 49, p. 13079-13088, 2013.
- 120 PEREIRA, M. D. P. et al. Aryltetralols from *Holostylis reniformis* and syntheses of lignan analogous. **Phytochemistry Letters**, v. 13, p. 200-205, 2015.
- 121 PINTO, A. da C. et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of isopimarane diterpenes from *Velloziaceae*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 30, n. 1, p. 61-68, 2016.

- 122 BAIN, R. M. et al. On-Line synthesis and analysis by mass spectrometry. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 12, p. 2146-2151, 2015.
- 123 BOUSLIMANI, A. et al. Mass spectrometry of natural products: current, emerging and future technologies. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 6, p. 718-729, 2014.
- 124 EKLUND, P. C. et al. Identification of lignans by liquid chromatography-electrospray ionization ion-trap mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 43, n. 1, p. 97-107, 2008.
- 125 DEMARQUE, D. P. et al. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 3, p. 432-455, 2016.
- 126 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2014**. Geneva, 2014.
- 127 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2016**. Geneva, 2016.
- 128 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2015**. Geneva, 2015.
- 129 MERETA, S. T. et al. Physico-chemical and biological characterization of anopheline mosquito larval habitats (Diptera: Culicidae): implications for malaria control. **Parasites & Vectors**, v. 6, p. 320-320, 2013.
- 130 EPSTEIN, P. R. Climate change and emerging infectious diseases. **Microbes and Infection**, v. 3, n. 9, p. 747-754, 2001.
- 131 TANSER, F. C.; SHARP, B.; LE SUEUR, D. Potential effect of climate change on malaria transmission in Africa. **The Lancet**, v. 362, n. 9398, p. 1792-1798, 2003.
- 132 WHITE, N. J. The treatment of malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 335, n. 11, p. 800-806, 1996.
- 133 SINHA, S.; MEDHI, B.; SEHGAL, R. Challenges of drug-resistant malaria. **Parasite**, v. 21, p. 1-14, 2014.
- 134 PINHEIRO, L. C. S. et al. Anti-*Plasmodium falciparum* activity of quinoline-sulfonamide hybrids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 5979-5984, 2015.
- 135 ZAULI-NASCIMENTO, R. C. et al. In vitro sensitivity of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Brazilian isolates to meglumine antimoniate and amphotericin B. **Tropical Medicine & International Health**, v. 15, n. 1, p. 68-76, 2010.
- 136 MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. **Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561-1577, 2005.

137 CARVALHO, F. S. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* in dogs in Brazil: epidemiology, co-infection, and clinical aspects. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, p. 12062-12073, 2015.

138 GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

139 ORYAN, A. Plant-derived compounds in treatment of leishmaniasis. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1-19, 2015.

140 CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 11, p. 502-508, 2003.

141 TRAGER, W.; JENSEN, J. B. Human malaria parasites in continuous culture. **Science**, v. 193, n. 4254, p. 673-675, 1976.

142 DENIZOT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **Journal of Immunological Methods**, v. 89, n. 2, p. 271-277, 1986.