

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAMPUS DE ARARAQUARA

VITÓRIA MARQUES PICOLINI

SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE LIGANDAS ARILTETRALÔNICAS

ARARAQUARA

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAMPUS DE ARARAQUARA

VITÓRIA MARQUES PICOLINI

SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE LIGANDAS ARILTETRALÔNICAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Farmácia-Bioquímica da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas de
Araraquara da Universidade Estadual
Paulista para a obtenção do Grau de
Farmacêutico-Bioquímico

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Maria Xavier Lopes

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isabele Rodrigues Nascimento

ARARAQUARA

2016

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luiz Carlos Picolini e Cláudia de Cássia Marques Picolini por sempre estarem comigo, me ajudando e me apoiando independente das minhas escolhas;

À Prof.^a Dr.^a Lúcia Maria Xavier Lopes pela disposição em sempre me auxiliar durante o estágio no laboratório de Química Orgânica.

À Prof.^a Dr.^a Isabele Rodrigues Nascimento pela confiança por ser minha tutora durante o intercâmbio pela Irlanda;

Ao Marcos Donizete pela supervisão nos trabalhos experimentais;

Aos colegas de trabalho Marcos Donizete, Luciano Pinto, Juliana Holzbach, Ana Carolina Martins e Alfredo Danilo de Souza pela assistência, paciência, colaboração e, sobretudo, pelos ensinamentos;

Aos meus amigos feitos durante todos esses anos de faculdade;

Aos funcionários do Instituto de Química da UNESP Araraquara;

Às agências de fomento CAPES, CNPq, FAPESP, pelos auxílios financeiros.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.2 Epidemiologia Malária	11
1.3 Classificação de Plasmodium spp. e Anopheles spp.	12
1.4 Ciclo do Plasmodium spp.	13
1.5 Sintomas	15
1.6 Diagnóstico	16
1.7 Tratamento	17
1.8 Resistência Medicamentosa a antimaláricos.....	17
1.9 Lignanas	18
1.10 Lignanas Ariltetralônicas como potencial antimalárico.....	19
1.11 Viabilidade Sintética das Lignanas Ariltetralônicas	20
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.2 Métodos cromatográficos	22
3.2.2 Cromatografia em Coluna (CC)	22
3.2.3 Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC)	22
3.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	22
3.2.5 Solventes e Reagentes de Síntese Empregados	23
3.3 Espectrômetros.....	23
4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	24
4.2 Síntese de Análogos de Lignanas Ariltetralônicas	24
4.3 Procedimentos Gerais	27
4.3.2 Etapa 1: Produção de 3'-hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3)	27
4.3.3 Etapa 2: Produção de 2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)	27

4.4	Procedimento para obtenção de 4-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona	28
4.4.2	Etapa 3: Produção de ácido 4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (7).....	28
4.4.3	Etapa 4: Produção de 4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 4-fluoro-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (9 +10)	28
4.5	Procedimento para obtenção de acetona do 1,3-benzodioxol	29
4.5.2	Etapa 3: Produção de ácido 4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (8).....	29
4.5.3	Etapa 4: Produção de 3',4'-metilenodioxo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 3,4-metilenodioxo-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (11 +12)	30
4.6	Separação Cromatográfica.....	30
4.6.2	3-Hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3)	30
4.6.3	2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
5.2	Caracterização estrutural dos produtos obtidos por síntese	32
5.2.2	3'-Hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3).....	32
5.2.3	2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)	35
5.2.4	Ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-butírico (7).....	37
5.2.5	Ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-butírico (8).....	39
5.2.6	4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 4-fluoro-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (9+10)	40
5.2.7	4,5-Dimetoxi-3',4'-metilenodioxo-2,7'-ciclolignan-7-ona (11+12)	41
6.	CONCLUSÕES	42
7.	REFERÊNCIAS.....	44

RESUMO

A Malária infecta mais de 200 milhões de pessoas, sendo no Brasil o número estimado de aproximadamente 144 mil pessoas. Apesar dos esforços, é visto que a resistência do *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovalie* e *Plasmodium vivax* frente aos antimaláricos crescem e a possibilidade de utilização de diferentes classes de fármacos para o tratamento da malária se torna escasso. Contudo, existe a viabilidade da obtenção de novos fármacos a partir de pesquisas baseadas em plantas medicinais. Estudos prévios *in vivo* e *in vitro* relacionados a extratos de *Holostylis reniformis* foram feitos para avaliar o poder de inibição das lignanas ariltetralônicas, onde foi constatado a sua atividade antiplasmodial e a baixa toxicidade às células hepáticas destas lignanas. A partir de tais fatos, surge uma nova possibilidade de fármacos antimaláricos provenientes de lignanas ariltetralônicas em larga escala por via sintética. A rota sintética descrita neste trabalho baseou-se em uma metodologia adaptada em quatro etapas, onde destacam-se a inserção de fluorobenzeno e 1,3-benzodioxol em 2,3-dimetil-4-veratril-4-butirolactona para a obtenção das misturas diastereoisômeras de 4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona e 3',4'-metilenodioxo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 3,4-metilenodioxo-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona, respectivamente. Ambos os produtos demonstraram rendimentos satisfatórios para produção em pequena e larga escala sintética.

PALAVRAS-CHAVE: malária, lignanas ariltetralônicas, lignanas fluoradas

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 - Prevalência mundial da malária no ano de 2013	12
Fig. 2 - Ciclo de vida <i>Plasmodium spp.</i>	14
Fig. 3 - Esqueleto carbônico básico para formar lignana	19
Fig. 4 - Estrutura da Lignana Ariltetralônica, destacando-se os seus anéis constituintes	20
Fig. 5 - Estruturas das substâncias produzidas em cada rota sintética	32
Fig. 6 - Configurações relativas dos diastereoisômeros de 3	33
Fig. 7 - Espectro de RMN de ^1H de 3 (CDCl_3 , 14,1 T).....	34
Fig. 8 - Espectro de RMN de ^{13}C de 3 (CDCl_3 , 14,1 T)	34
Fig. 9 - Espectro de RMN de ^1H de 4 (CDCl_3 , 14,1 T).....	36
Fig. 10 - Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (CDCl_3 , 14,1 T)	36
Fig. 11 - Espectro de RMN de ^1H de 7 (CDCl_3 , 14,1 T).....	38
Fig. 12 - Espectro de RMN de ^{13}C de 7 (CDCl_3 , 14,1 T)	38
Fig. 13 - Espectro de RMN de ^1H de 8 (CDCl_3 , 14,1 T)	39
Fig. 14 - Espectro de RMN de ^1H de 9 (CDCl_3 , 14,1 T).....	40
Fig. 15 - Espectro de RMN de ^{13}C de 9 (CDCl_3 , 14,1 T)	41
Fig. 16 - Espectro de RMN de ^1H de 11+12 (CDCl_3 , 14,1 T)	42

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Rota para obtenção de lignanas ariltetralônicas. Reagentes e condições: (i) Zn, atmosfera de N₂, 4 horas, (ii) CH₃COOH, H₂SO₄, N₂ (iii) AlCl₃, N₂, 3 horas e (iv) PCl₅, SnCl₄, C₆H₆, N₂.....25

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1</i> – Denominação dos Reagentes e Produtos utilizados na rota sintética para obtenção de lignanas ariltetralônicas.....	26
--	----

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CC	Cromatografia em Coluna
CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
d	Dubleto
J	Constante de acoplamento
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
WHO	World Health Organization
δ_{C}	Deslocamento Químico de Carbono
δ_{H}	Deslocamento Químico de Hidrogênio

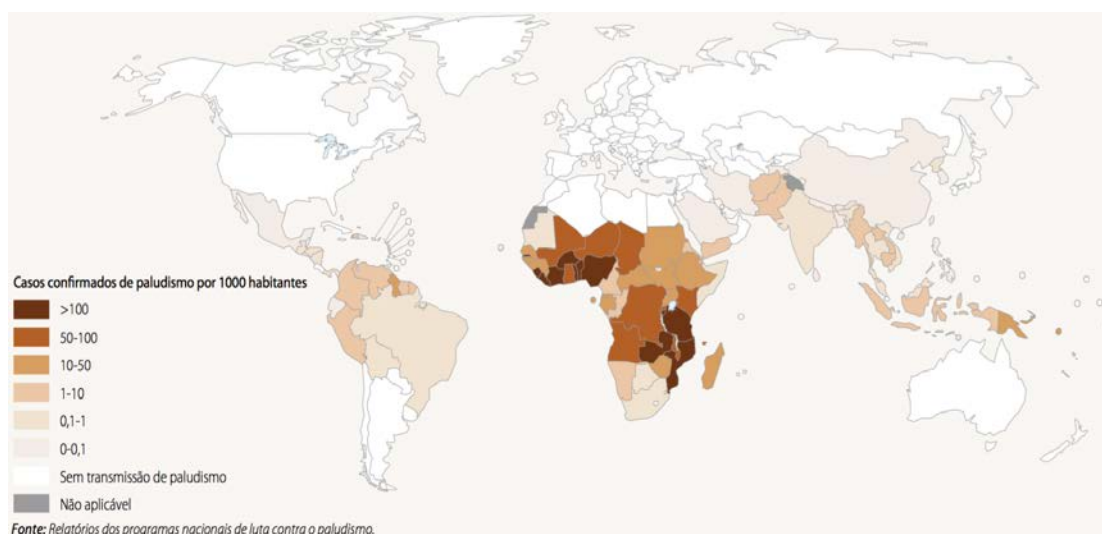
1. INTRODUÇÃO

1.2 Epidemiologia Malária

A malária é considerada a mais importante doença parasitária em humanos (White et al, 2014). Segundo WHO 2015, o número de pessoas afetadas pela doença é de 214 milhões. Sendo que destas, 88% são originárias da África Subsaariana, seguido de 10% do Sudeste Asiático e, finalmente, 2% na região mediterrânea. Além disso, WHO 2015 relatou que o número de mortes causada por malária foi de 438.000 pessoas, sendo a África Subsaariana, a mais afetada com o total de 90% dos casos. Acrescentando-se os dados da mortalidade, o gasto anual estimado para o combate à malária é de 12 bilhões de dólares somente na África, devido à alta prevalência da doença (Suh et al., 2004).

No caso do Brasil, WHO 2015 relatou que a doença atinge basicamente o norte do país, sendo as espécies *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax* majoritariamente encontradas com a prevalência de 16% e 84%, respectivamente. Ademais, os novos casos confirmados por malária em 2013 foram de 143.415, enquanto os casos de morte foram de 36 pessoas. A partir de tais dados pode-se assumir que a malária atinge prevalentemente regiões pobres, onde a falta de acesso ao diagnóstico e ao tratamento adequados podem contribuir com a alta taxa de mortalidade (Suh et al., 2004).

Figura 1: Prevalência mundial da malária no ano de 2013 (OMS,2014)



1.3 Classificação de *Plasmodium spp.* e *Anopheles spp.*

Quanto aos agentes etiológicos, sabe-se que a malária é causada por cinco diferentes tipos de espécies: *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malarie* e *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium vivax* e *P. falciparum*. Sendo as duas últimas espécies encontradas ao redor do mundo, por isso sua maior prevalência no acometimento por malária (Walker et al., 2014). Acredita-se que *P. falciparum* seja o principal causador de mortes, uma vez que, durante a infecção as células vermelhas são sequestradas na microcirculação, causando a hipóxia dos tecidos; também há a invasão aos eritrócitos por todos seus estágios e, finalmente, a ativação do sistema imune com alta liberação de citocinas para conter o agente etiológico (Walker et al., 2014). Em virtude de tais complicações geradas pelo *P. falciparum*, os maiores grupos de risco são crianças, mulheres grávidas e pessoas não-imunizadas (Suh et al., 2004).

O vetor da doença, é o mosquito fêmea *Anopheles spp.*, que possui hábito noturno e, através da picada, inocula o *Plasmodium spp.* no hospedeiro.

Geralmente, a epidemia de malária está relacionada ao desenvolvimento do mosquito, o que explica a alta incidência nas regiões da África Subsaariana, Sudeste Asiático e Mediterrâneo que apresentam clima quente e chuvoso, com alta umidade (Suh et al., 2004). Além disso fatores como variações climáticas, desastres naturais e guerras podem também aumentar a prevalência do mosquito em tais regiões (Suh et al., 2004).

1.4 Ciclo do *Plasmodium spp.*

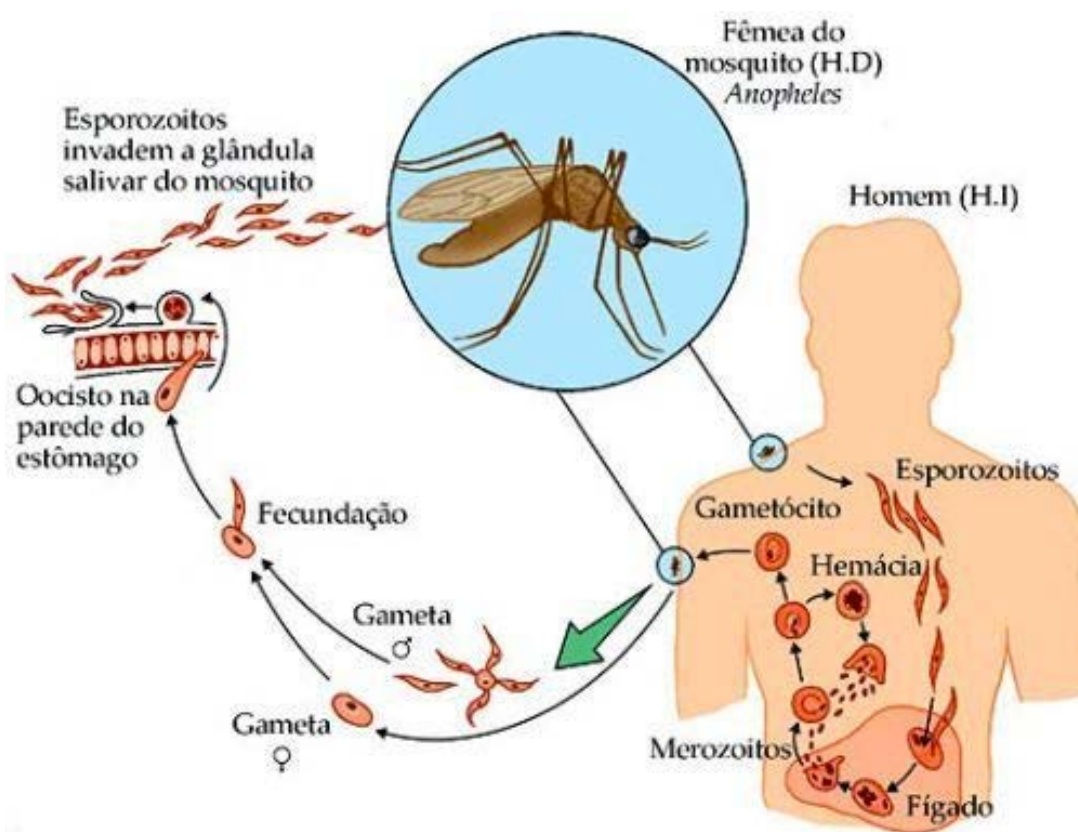
O ciclo da malária começa com a inoculação do esporozoítio *Plasmodium spp.* pelo mosquito *Anopheles*, sendo que esse irá percorrer toda corrente sanguínea até alcançar o fígado. Quando o fígado é alcançado, cada esporozoítio inoculado se multiplicará por mitose nos hepatócitos, podendo ser formados entre 10.000 a 30.0000 merozoítos em um período de 5 a 8 dias (White et al, 2014). A partir deste estágio, há diferenciações no ciclo entre *P. falciparum*, *P. ovale* e *P. vivax*. Para o *P. falciparum*, após a multiplicação no fígado por aproximadamente uma semana, haverá a liberação dos merozoítos para a corrente sanguínea, a fim de que ocorra a invasão nos eritrócitos para contínua multiplicação. Já para as espécies *P. ovale* e *P. vivax*, quando os esporozoítos alcançam o fígado, pode ocorrer o estágio de latência, isto é, esporozoítos se mantêm na forma de hipnozoítos pelo período de 2 semanas até um ano, dado o momento em que ocorra a sua ativação para a invasão aos eritrócitos (White et al, 2014). .

Quando os merozoítos alcançam a corrente sanguínea para invadirem os eritrócitos, haverá alta taxa de multiplicação assexuada a ponto que os eritrócitos explodam e, então, liberem mais merozoítos para invadirem mais eritrócitos (White et al, 2014). Sabe-se que os picos onde ocorrem a maior liberação de

merozoítos pela explosão dos eritrócitos são de aproximadamente 48 horas para as espécies *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale*, sendo esses picos responsáveis pelo quadro febril. Enquanto o ciclo de reprodução assexuada ocorre nos eritrócitos, os merozoítos podem, também, formar gametócitos, com a finalidade de serem transmitidos ao mosquito *Anopheles* spp., por meio da ingestão do sangue da pessoa infectada (White et al, 2014).

No estômago do mosquito, haverá a reprodução sexuada para serem formados os esporozoítos, que depois migrarão para a saliva, a fim de que ocorra a inoculação ao próximo hospedeiro humano (White et al, 2014).

Figura 2: Ciclo de vida de *Plasmodium* spp. (SlideShare, 2002)



1.5 Sintomas

Os sintomas usualmente aparecem aproximadamente 6 dias após a picada para o *P. falciparum*, porém para as espécies *P. vivax* e *P. ovalis*, os sintomas podem se apresentar tardiamente, pois eles podem estar na forma de hipnozoítos nos hepatócitos, isto é, em estado de latência (Walker et al., 2014).

Para diferenciar a gravidade dos sintomas, deve-se avaliar o paciente, isto é, caso ele esteja imune por contato prévio com a malária, a doença pode se apresentar de maneira assintomática. Entretanto, caso o paciente não esteja imune a doença, as consequências podem ser graves (Suh et al., 2004).

Ambos os casos, os sintomas que comumente mais preocupam são relacionados a infecção pelo *P. falciparum*. Normalmente, as complicações envolvem sistema nervoso central, pulmonar, renal e hematopoiético, sendo eles prostração, alterações de consciência, dificuldade respiratória ou edema pulmonar, colapso circulatório, sangramento anormal, icterícia, hemoglobinúria e anemia severa (Suh et al., 2004). Adicionalmente, hipoglicemia pode ocorrer devido ao consumo de glicose pelo parasita, infecção bacteriana por complicação da própria doença e os picos febris nos intervalos de 48 horas, sendo o típico sintoma da doença (Suh et al., 2004).

Para o conjunto de dois ou mais desses sintomas, dá-se o nome de malária severa. Por último, um dos sintomas mais sérios é a malária cerebral, que pode alterar os níveis de consciência, e é responsável pela taxa de 15 a 25 % de mortalidade dos pacientes (Suh et al., 2004).

1.6 Diagnóstico

Por se tratar de uma doença com sintomas gerais e por muitas vezes o sintoma típico febril é despercebido, o diagnóstico para a doença pode se dar de forma tardia, o que afeta diretamente na evolução e tratamento da malária (Suh et al., 2004; White et al, 2014). Sendo então de extrema importância os testes realizados nas pessoas infectadas.

O diagnóstico considerado padrão ouro para atestar a doença é a coloração de sangue periférico “gota espessa” corada com Giemsa. O teste permite identificar as espécies e, além disso, quantificar a porcentagem de eritrócitos infectados e *Plasmodium spp.* por microlitro (Suh et al., 2004). Assim, como o teste de referência, também podem-se utilizar outros métodos como auxílio ao diagnóstico da malária tais como:

a) Teste rápido de detecção de antígeno: consiste na detecção de proteínas dos parasitas *P. falciparum* e *P. vivax*,. Trata-se de um teste imunocromatográfico qualitativo, que não demanda habilidade técnica para atestar a doença. Contudo, não quantifica a quantidade de parasitas no sangue e, também, não é sensível ao baixo nível de parasitas no sangue (Suh et al., 2004).

b) Polymerase Chain Reaction (PCR): teste onde se identifica a sequência do ácido nucleico do *Plasmodium spp.* Dada tal especificidade, o PCR é considerado altamente sensível para o diagnóstico da doença. Todavia, este é um método limitado pelo preço e viabilidade nos laboratórios (Walker et al., 2014).

c) Sorologia: refere-se ao teste imunológico, onde busca-se o anticorpo contra o *Plasmodium spp.* no sangue da pessoa infectada (Walker et al., 2014).

1.7 Tratamento

O tratamento deve ser adequado de acordo com a espécie causadora da infecção, pois deve-se seguir uma determinada diretriz de acordo com a classificação da gravidade da malária (Walker et al., 2014). Partindo de tal pressuposto, há divisões quanto a infecção pelo agente etiológico: pacientes com malária *P. falciparum* com quadro de malária severa, infecção por demais espécies e infecção por mais de uma espécie de malária.

Para a malária causada pelo *P. falciparum* com quadro de malária severa, o tratamento deve ser dado por via parenteral com a utilização da combinação de artesunato e quinina (Walker et al., 2014). Já para a infecção por demais espécies, utiliza-se a cloroquina como padrão para a seguida utilização da primaquina, com o propósito de erradicar os hipnozoítos provenientes do *P. ovale* e *P. vivax* (Walker et al., 2014). Finalmente, para infecção por mais de uma espécie utilizam-se quinina e artesunato, sendo que um tratamento adicional deve ser inserido caso haja *P. vivax* e *P. ovalie* para a aniquilação dos hipnozoítos (Walker et al., 2014).

1.8 Resistência Medicamentosa a antimaláricos

Apesar de tais tratamentos se mostrarem efetivos contra a malária, segundo WHO (2014) há uma crescente resistência a diversos antimaláricos, principalmente para as espécies *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malarie*. Para demonstrar tal gravidade, WHO relatou que *P. falciparum* é resistente a

artemisinina em, pelo menos, 5 países: Camboja, Laos, Birmânia, Tailândia e Vietnã (WHO, 2014), sendo que a utilização de artemisinina era de primeira escolha para o tratamento de malária não severa por tal espécie. Ademais, segundo WHO (2014) o tratamento do *P. vivax* pela cloroquina demonstrou resistência em 24 países, sendo este o medicamento padrão para a aniquilação dos hipnozoítos.

A imediata consequência pela resistência medicamentosa é a eliminação incompleta ou tardia do parasita no hospedeiro tratado com tais medicamentos, podendo agravar ainda mais a doença. Além disso, a resistência por antimaláricos pode conferir resistência a outros tipos de drogas, cujo mecanismo de ação são similares ou são substâncias pertencentes a mesma classe química (WHO, 2014).

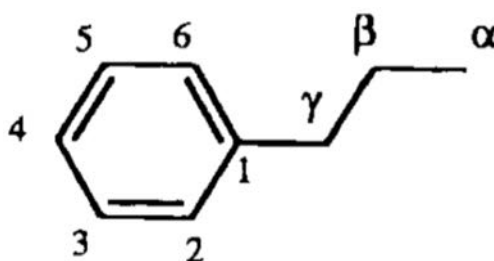
A partir de tais dados pode-se concluir que novos antimaláricos devem ser inseridos ao mercado, com o objetivo de se combater a resistência pelas diferentes espécies do *Plasmodium spp.* Para tal finalidade, a pesquisa por novos compostos em plantas brasileiras tradicionalmente utilizadas para tratar malária podem fornecer uma via de acesso para o desenvolvimento de fármaco, destacando-se a *Holostylis reniformis* Duch (Aristolochiaceae), que possui rica constituição em lignanas ariltetralônicas (Andrade-Neto et al., 2007).

1.9 Lignanas

De acordo com o IUPAC (2000), lignanas são classificadas a partir da ligação β - β' entre duas unidades de C_6C_3 e são originárias do acoplamento oxidativo entre unidades de alil e/ou fenilpropanoides (Moraes et al., 2002; Moss, 2000). As lignanas e seus derivados são utilizados no tratamento de diversas doenças, tais

como inibição da transcriptase reversa no vírus HIV, atividade imunossupressiva no organismo humano, podendo auxiliar no transplante de órgãos, atividade antineoplásica pela atuação no bloqueio da mitose, atividade antifúngica e, até mesmo, efeitos diretos e indiretos no sistema cardiovascular (Moraes et al., 2002; Teponno et al., 2016). Diante dos diferentes tratamentos pelas quais as lignanas podem ser assimiladas e, em adição, com o estudo prévio de 60 diferentes compostos lignóides provenientes da família Aristolochiaceae, que apresentam efeito contra *P. falciparum* em cultura e *P. berghei* em ratos. Novas pesquisas foram conduzidas, a fim de que houvesse a procura por novos compostos baseados em produtos naturais para o combate a resistência das diferentes espécies do *Plasmodium* (Andrade-Neto et al., 2007).

Figura 3: Esqueleto carbônico básico para formar Lignana. (Moss, 2000)

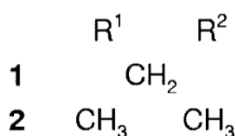
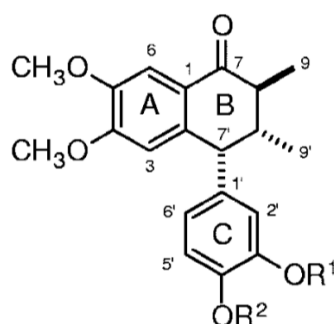


1.10 Lignanas Ariltetralônicas como potencial antimalárico

Em experimentos *in vivo* com extratos de *Holostylis reniformis* Duch, empregando-se cepas de *Plasmodium berghei*, verificou-se que os mesmos apresentavam significativa atividade antimalárica em ratos. Lignanas ariltetralônicas obtidas destes extratos apresentaram atividade antiplasmodial *in vitro* (cepas de *P. falciparum* resistente a cloroquina) e baixa citotoxicidade (para células hepáticas) (Andrade-Neto et al., 2007). Além disso, a partir das análises

pela estrutura-atividade, foi visto que a atividade antiplasmodial foi afetada pelas configurações dos estereocentros no anel B e por seus substituintes nos anéis A e C (Andrade-Neto et al., 2007).

Figura 4: Estrutura da Lignana Ariltetralônica, destacando-se os seus anéis constituintes (Andrade-Neto et al., 2007).



1.11 Viabilidade Sintética das Lignanas Ariltetralônicas

A utilização de lignanas ariltetralônicas para o tratamento poderia se tornar viável. Porém, sabe-se como a técnica de extração se torna dispendiosa para a obtenção de tais compostos. Sendo assim, uma alternativa para tal procedimento é a utilização da rota sintética proposta por Müller e Vadjá (1952) com alterações em algumas de suas etapas proposta por Pereira (2015), a fim de que houvesse a obtenção de diferentes produtos e, principalmente, que houvesse a substituição no anel C, a fim de que fosse melhorada a atividade antiplasmodial das lignanas ariltetralônicas. Uma das alterações é a utilização de reagentes fluoroados, que

possuem estruturas reconhecidamente importante no desenvolvimento de fármacos.

A utilização do fluorobenzeno no planejamento de fármacos se dá pelas propriedades advindas da forte eletronegatividade, baixa polarizabilidade e pequeno tamanho do fluor (Bégué e Bonnet-Delpon, 2006). A partir de tais características, a sua utilização no planejamento de fármaco pode conduzir as seguintes modificações em meios biológicos: *i*) mudança na ligação com receptores ou enzimas, pois o tamanho do átomo de fluor é similar ao hidrogênio ou o grupo hidroxila, conseqüentemente o substrato em questão se tonará um inibidor enzimático por não dar continuidade ao processo de quebra da molécula; *ii*) alteração no metabolismo do composto em questão, pois a ligação C-F não será facilmente metabolizada (Bégué e Bonnet-Delpon, 2006; 2007). Logo, o composto poderá ter uma tardia excreção e, portanto, aumento da meia-vida no meio biológico.

2. OBJETIVOS

Obtenção em escala sintética (~200 e 600 mg) dos análogos: 4'-fluoro-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona e 3',4'-metilenodioxo-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona, a partir da adaptação da metodologia descrita por Müller e Vadjá (1952) e adaptada por Pereira *et al.* (2015).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2 Métodos cromatográficos

3.2.2 Cromatografia em Coluna (CC)

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

3.2.3 Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC)

Para as cromatografias em camada delgada comparativa (CCDC) foi utilizada sílica G (2-25 μm , 60 Å, Sigma-Aldrich[®]) e para cromatografias em camada delgada preparativa (CCDP) sílica gel 60H (Merck[®]). 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).

3.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

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 C-18 ChromSep SS (Varian[®]), 4,6 $\times$ 250 mm, 5

μm), enquanto que no modo semipreparativo foi utilizado coluna C-18 ODS (Shimadzu[®], 20 × 250 mm, 10 μm).

3.2.5 Solventes e Reagentes de Síntese Empregados

O solvente deuterado (CDCl_3) utilizados nos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram da marca CIL[®]. O solvente não deuterado empregados nos processos cromatográficos e nas etapas de partição das frações, foram das marcas Merck[®] e Sigma-Aldrich[®] em grau cromatográfico. Os solventes e reagentes utilizados nas sínteses foram da marca Sigma-Aldrich[®] com grau de pureza superior a 95,0%. A água foi destilada e deionizada em aparelho da marca Milli-Q (resistividade mínima 18,2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ a 25 °C). A eliminação dos solventes das amostras foi feita à pressão reduzida, utilizando-se evaporador rotatório Büchi[®] (Water bath B-480) e em capela de exaustão.

3.3 Espectrômetros

Os espectros de RMN unidimensionais (^1H , ^{13}C) foram adquiridos em espectrômetros Bruker Advance III 600 (14,1 T) a 600 MHz (^1H) e 151 MHz (^{13}C), e Varian[®] INOVA 300 (7,0 T) a 300 MHz (^1H) e 75 MHz (^{13}C).

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.2 Síntese de Análogos de Lignanas Ariltetralônicas

A rota sintética aplicada consiste em quatro etapas representadas no Esquema 1 (Tabela 1). Trabalhou-se com dois reagentes diferentes: fluorobenzeno e 1,3-benzodioxol a partir da 3ª etapa. Sendo que para essa rota sintética houve a otimização em escala de ~200 mg, a fim de que fosse posteriormente aplicado em escala de ~600 mg, com rendimentos viáveis para separação quirállica e, posteriormente, para a realização de testes *in vivo* e *in vitro* com os isômeros a serem isolados.

Esquema 1. Rota sintética para obtenção de lignanas ariltetralônicas. Reagentes e condições: (i) Zn, atmosfera de N₂, 4 horas, (ii) CH₃COOH, H₂SO₄, N₂ (iii) AlCl₃, N₂, 3 horas e (iv) PCl₅, SnCl₄, C₆H₆, N₂.

Fonte: Rota Sintética baseada na metodologia descrita por Müller e Vadjá (1952) e adaptada por Pereira et al. (2015).

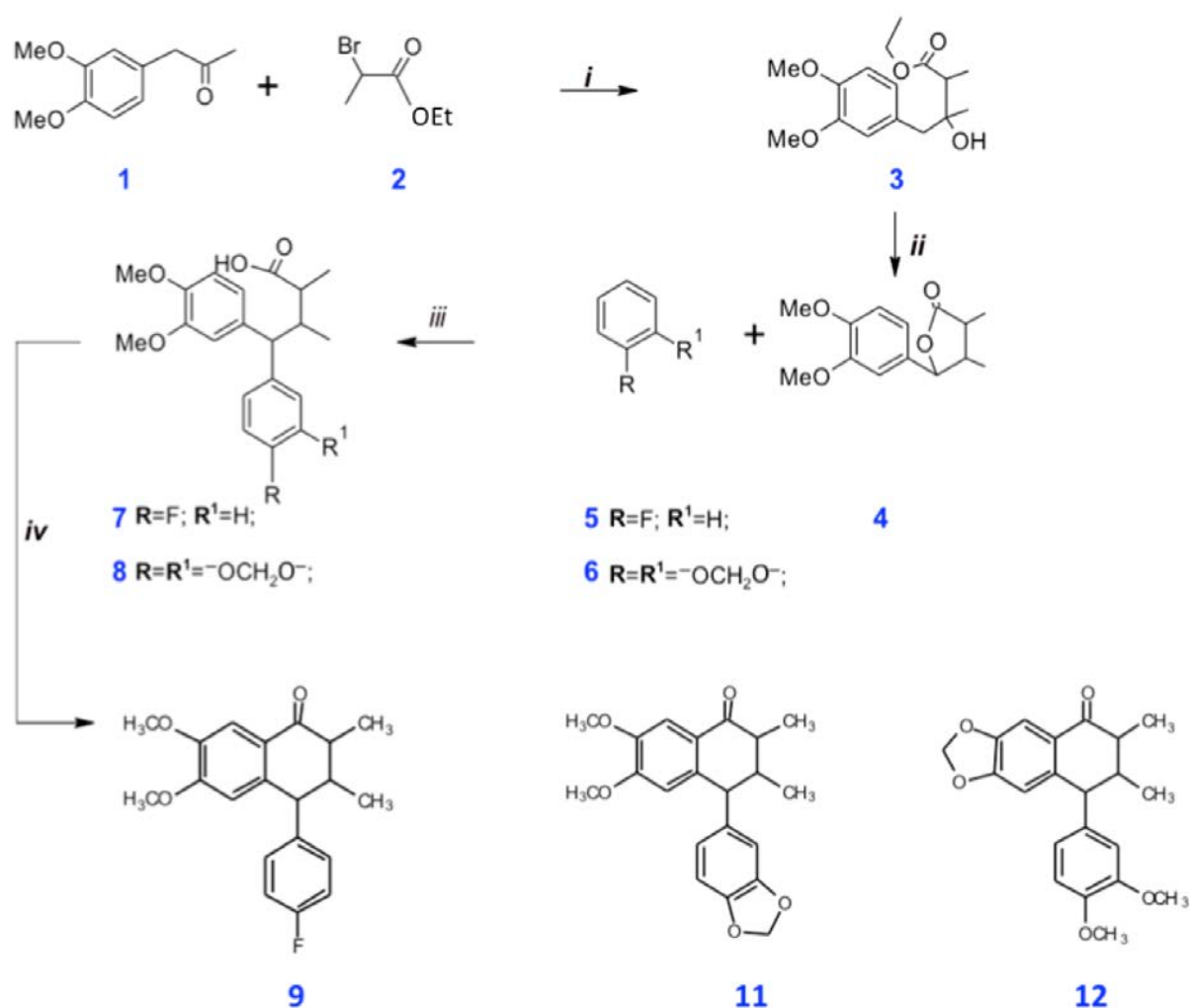


Tabela 1. Denominação dos Reagentes e Produtos utilizados na rota sintética para obtenção de lignanas ariltetralônicas.

Composto	Produto - Reagente
1	veratrilacetona
2	α -bromopropionato de etila
3	3'-hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila
4	2,3-dimetil-4-veratril-4-butirolactona
5	fluorobenzeno
6	1,3-benzodioxol
7	4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico
8	4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)- butírico
9	4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona
11+12	3',4'-metilenodioxi-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 3,4-metilenodioxi-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona

4.3 Procedimentos Gerais

4.3.2 Etapa 1: Produção de 3'-hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3)

Uma solução de 95,65 mmol (6,26 gramas) de Zn^0 granulado ativado (Chavan et al., 2004) em 51,67 mmol (9 mL) de veratrilacetona foi mantida sob atmosfera inerte, refluxo e agitação vigorosa. Posteriormente, houve gotejamento lento da solução de 101,65 mmol (13 mL) de α -bromopropionato de etila com 3,39 mmol (2 mL) de benzeno seco. Após isso, houve aquecimento até 80 °C por 4 horas e 40 minutos. Em seguida, adicionou-se algumas gotas de HCl 10% e realizou-se partição com H_2O Milli-Q (3 × 50 mL) e CHCl_3 (3 × 50 mL). A solução orgânica, onde se encontrava o produto, foi seca em capela de exaustão, apresentando aspecto oleoso e coloração amarela. Rendimento para tal etapa foi de 91%.

4.3.3 Etapa 2: Produção de 2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)

Em 42,06 mmol (12,47 gramas) de 3'-hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila, foi adicionado 349,70 mmol (20 mL) de ácido acético glacial. Após 10 minutos, o sistema foi colocado em banho de gelo e, em seguida, foi inserida atmosfera de N_2 . Após 1 hora sob agitação, houve a inserção de 56,28 mmol (3 mL) de H_2SO_4 , então deixou-se a reação *overnight*. Houve partição com H_2O Milli-Q (3 × 80 mL) e CHCl_3 (3 × 80 mL). A solução orgânica, onde se encontrava o produto, foi seca em capela de exaustão, apresentando aspecto oleoso e coloração castanha. Rendimento para tal etapa foi de aproximadamente 104%.

4.4 Procedimento para obtenção de 4-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona

4.4.2 Etapa 3: Produção de ácido 4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (7)

Foram utilizados 20,1 mmol (2,80 gramas) de AlCl_3 com 150 mmol (10 mL) de CH_2Cl_2 anidro e posteriormente foram gotejados lentamente 19,53 mmol (2,07 gramas) de 2,3-dimetil-4-veratril-4-butirolactona com 60 mmol (4 mL) CH_2Cl_2 anidro e, em seguida, a incorporação de 19,18 mmol (2 mL) de fluorobenzeno com 10 mmol (1 mL) de CH_2Cl_2 anidro, em sistema fechado, sob atmosfera de N_2 e banho de gelo por 1 hora. Após o tempo determinado para o banho de gelo, houve o aquecimento do sistema até a temperatura ambiente (30 °C) e deixou-se a mistura reagir por 48 horas. A seguir, gotejou-se HCl 10% para a conseguinte partição com H_2O Milli-Q (3 × 30 mL) e CHCl_3 (3 × 30 mL). Lavou-se exaustivamente a fase orgânica com 100 mL de NaOH, e com 100 mL de HCl 10% e por mais uma vez ocorreu lavagem com H_2O Milli-Q (3 × 50 mL). Reservou-se as fases aquosa e orgânica para secagem na capela com exaustão. Um produto com aspecto oleoso e marrom. Rendimento para tal etapa foi de 18%.

4.4.3 Etapa 4: Produção de 4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 4-fluoro-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (9)

Em 1,608 mmol (335 mg) de pentacloreto de fósforo foi gotejado lentamente uma solução de 1,608 mmol (1 g) de Ácido 4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico com 140 mmol (12 mL) de benzeno seco. Em seguida, foram esperados 50 minutos sob agitação, banho de gelo e atmosfera de N_2 . Dado o tempo, houve o aquecimento do sistema a temperatura de 40 °C por

uma hora e, depois, a reação foi resfriada até temperatura de 30 °C, para o gotejamento lento do tetracloreto de estanho 1,608 mmol (0,30 mL) com lavagem de 561 mmol (5 mL) de benzeno seco. Houve o gotejamento de HCl 10% para a consecutiva lavagem com H₂O Milli-Q (3 × 50 mL) e CHCl₃ (3 × 50 mL). Separou-se a fase orgânica e deixou-se secar na capela com exaustão. Produto com aspecto oleoso e coloração castanha. Rendimento para tal etapa foi de 87%.

4.5 Procedimento para obtenção de acetona do 1,3-benzodioxol

4.5.2 Etapa 3: Produção de ácido 4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico (8)

Foram utilizados 12 mmol (1,68 gramas) de AlCl₃ com 30 mmol (3 mL) de CH₂Cl₂ anidro e, posteriormente, foi gotejado uma solução de 2,07 mmol (0,52 gramas) de 2,3-dimetil-4-veratril-4-butirolactona com 150 mmol (10 mL) CH₂Cl₂ anidro e, em seguida, houve a adição de 4,35 mmol (0,5 mL) de 1,3-benzodioxol com 20 mmol (2 mL) de CH₂Cl₂ anidro, em sistema fechado, sob atmosfera de N₂ e banho de gelo por 1 hora. Após o tempo determinado para o banho de gelo, houve o aquecimento do sistema até a temperatura de 30 °C e deixou-se reagir por 3 horas. Houve o gotejamento de HCl 10% para a conseguinte partição com H₂O Milli-Q (3 × 70 mL) e CHCl₃ (3 × 70 mL) e lavagem exaustiva com 200 mL de NaOH da fase orgânica, para o seguido tratamento com 250 mL de HCl 10% e por mais uma vez ocorreu lavagem com H₂O Milli-Q (3 × 60 mL). Reservou-se a fase aquosa para secagem na capela com exaustão. O produto com aspecto oleoso e marrom foi obtido da fase orgânica. Rendimento para tal

etapa foi de 67%.

4.5.3 Etapa 4: Produção de 3',4'-metilenodioxi-4,5-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona + 3,4-metilenodioxi-3',4'-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (11 +12)

Em 1 mmol (226 mg) de pentacloreto de fósforo foi gotejado lentamente uma solução de 0,77 mmol (287 mg) de ácido 4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-4-(3,4-dimetoxifenil)-butírico com 110 mmol (10 mL) de benzeno seco. Em seguida foram esperados 30 minutos sob agitação, banho de gelo e atmosfera de N₂. Dado o tempo, houve o aquecimento do sistema a temperatura de 40 °C por uma hora e, depois, a reação foi resfriada até temperatura de 30 °C para o gotejamento lento do tetracloreto de estanho 1 mmol (0,2 mL) com 11 mmol (1 mL) de benzeno seco. Gotejou-se HCl 10% à mistura, e consecutiva lavagem com H₂O Milli-Q (3 × 50 mL) seguida de extração com CHCl₃ (3 × 50 mL). Separou-se a fase orgânica e deixou-se secar na capela com exaustão. Um produto com aspecto oleoso e coloração castanha. Rendimento para tal etapa foi de 70%.

4.6 Separação Cromatográfica

4.6.2 3'-Hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3)

Com o intuito de se obter intermediário para a etapa 2 com menor quantidade de subprodutos foi feito, então, uma coluna cromatográfica [C-18, ϕ =2,7 cm, h=13,3 cm, m=928,1 mg] com gradiente 2:8 de etanol/H₂O (v/v), a 5:5 de etanol/H₂O. Ao final do processo foram obtidas 5 frações com 30 mL cada. Sendo que o produto foi coletado na fração 5 na fase móvel 5:5 (H₂O/etanol) com massa de 403 mg, apresentando rendimento de 43%.

4.6.3 2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)

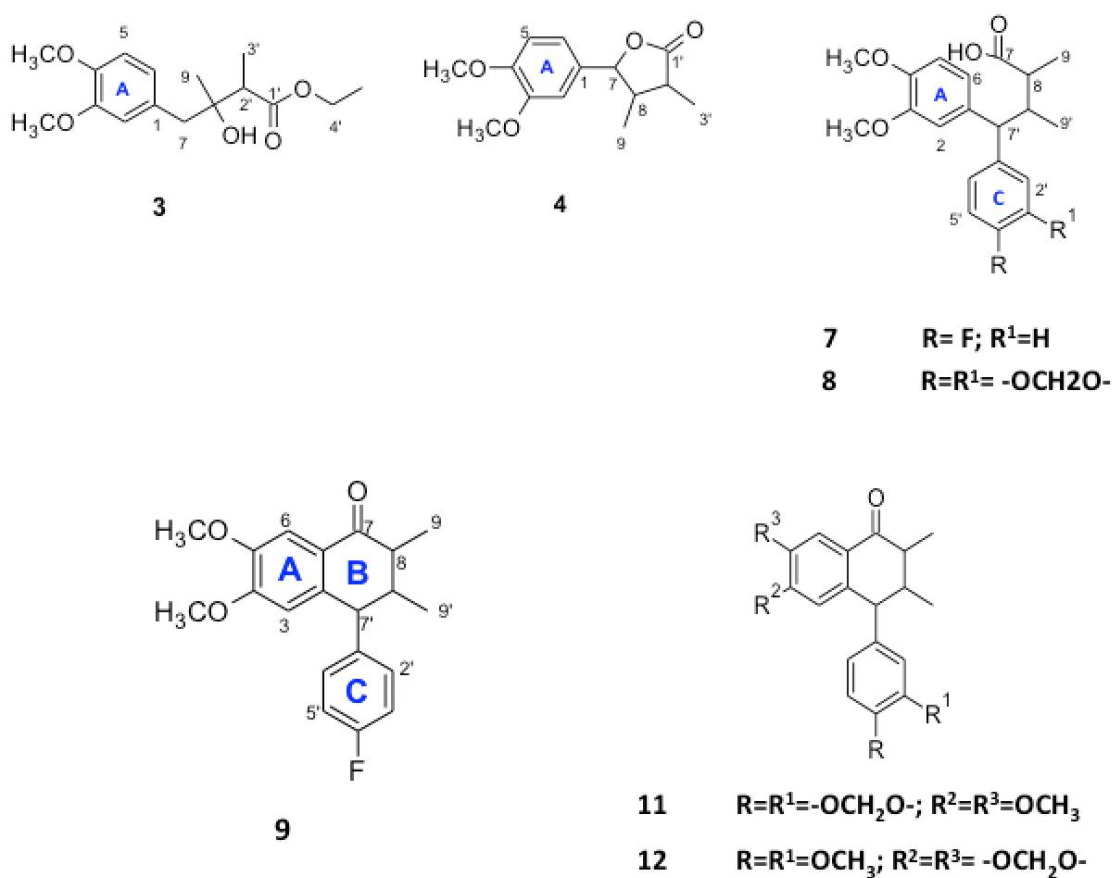
A fim de se obter o intermediário para a etapa 3 com maior grau de purificação foi feito uma CC [sílica gel, Φ = 2,5 cm, h= 17 cm, m= 10 g] com gradiente 8:2 de hexanos/acetato de etila (v/v), a 2:8 de hexanos/acetato de etila. Ao final do processo cromatográfico foram obtidas 15 frações de 50 mL cada. Sendo que o produto obtido foi coletado na fase 6:4 (hexanos/acetato de etila) na fração 6. Com massa de 6,6 gramas, apresentando rendimento de 66%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.2 Caracterização estrutural dos produtos obtidos por síntese

Figura 5: Estruturas das substâncias produzidas em cada rota sintética

Fonte: Rota Sintética baseada na metodologia descrita por Müller e Vadjá (1952) e adaptada por Pereira et al. (2015).



5.2.2 3'-Hidroxi-2,3-dimetil-4-veratril-butirato de etila (3)

A reação entre a veratrilacetona e α -bromopropanoato de etila produziu dois butiratos de etila diastereoisoméricos, ilustrado na figura 6, como previsto para uma reação de Reformansky entre uma cetona e uma mistura racêmica de brometo de alquila.

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de **3** (Figura 7 e 8) apresentam sinais para 16 átomos de carbono, incluindo sinais em δ_{C} 176,6 e 176,2 característicos de carbono acílico, e sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,64-6,80 correspondentes a dois anéis trissubstituídos. São observados ainda, dois quadrupletos sobrepostos em δ_{H} 4,11 e 4,09 (q , $J= 7,2$ Hz) atribuídos a hidrogênios hidroximetilênicos, dois quadrupletos em δ_{H} 2,46 e 2,48 (q , $J= 6,9$ Hz) atribuídos a hidrogênios metínicos, sinais de hidrogênios de quatro grupos metoxílicos (12H, δ_{H} 3,78-3,80), quatro grupos metílicos (12H, δ_{H} 1,14-1,25) sobrepostos, singletos duplicados atribuídos a hidrogênios de dois grupos metílicos ligados a carbono carbinólico em δ_{H} 1,07 (δ_{C} 25,3) e 1,04 (δ_{C} 23,2), além de quatro hidrogênios benzílicos em δ_{H} 2,52-2,81.

Figura 6: Configurações relativas dos diastereoisômeros de **3**.

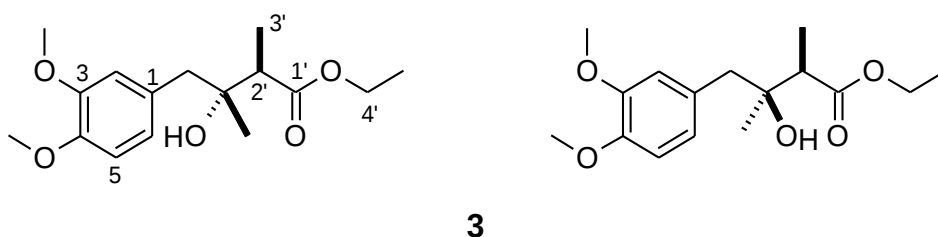


Figura 7: Espectro de RMN de ^1H de **3** (CDCl_3 , 14,1 T).

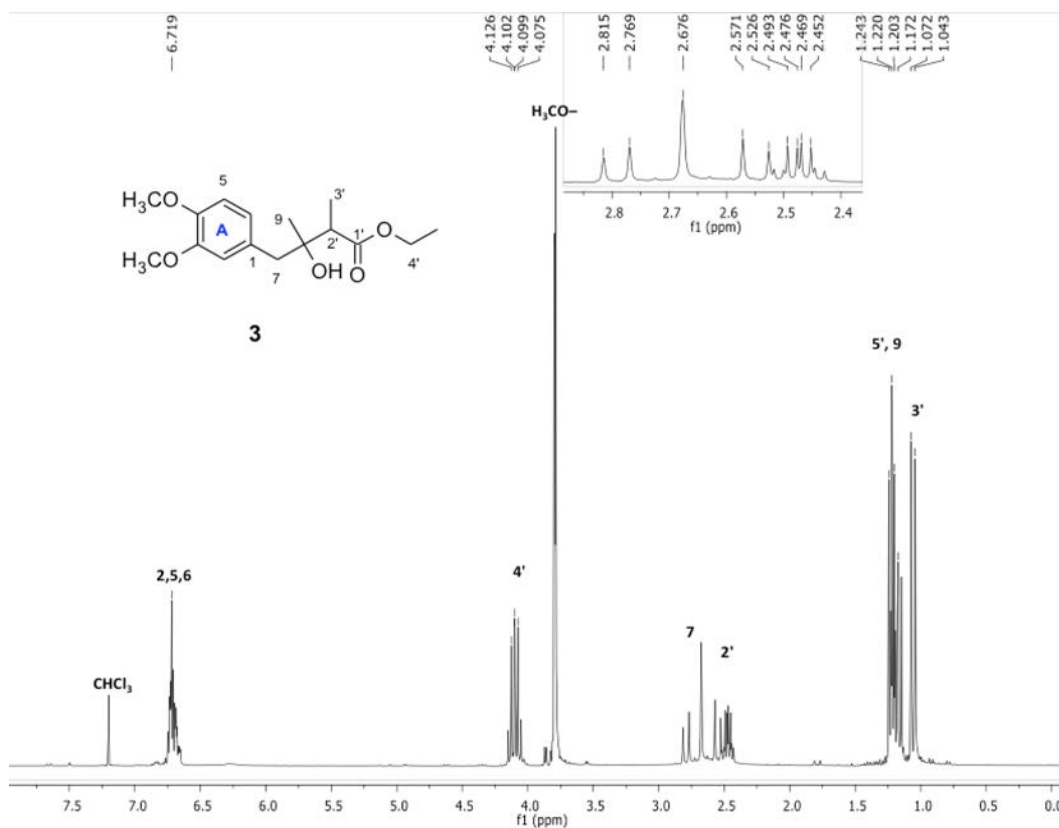
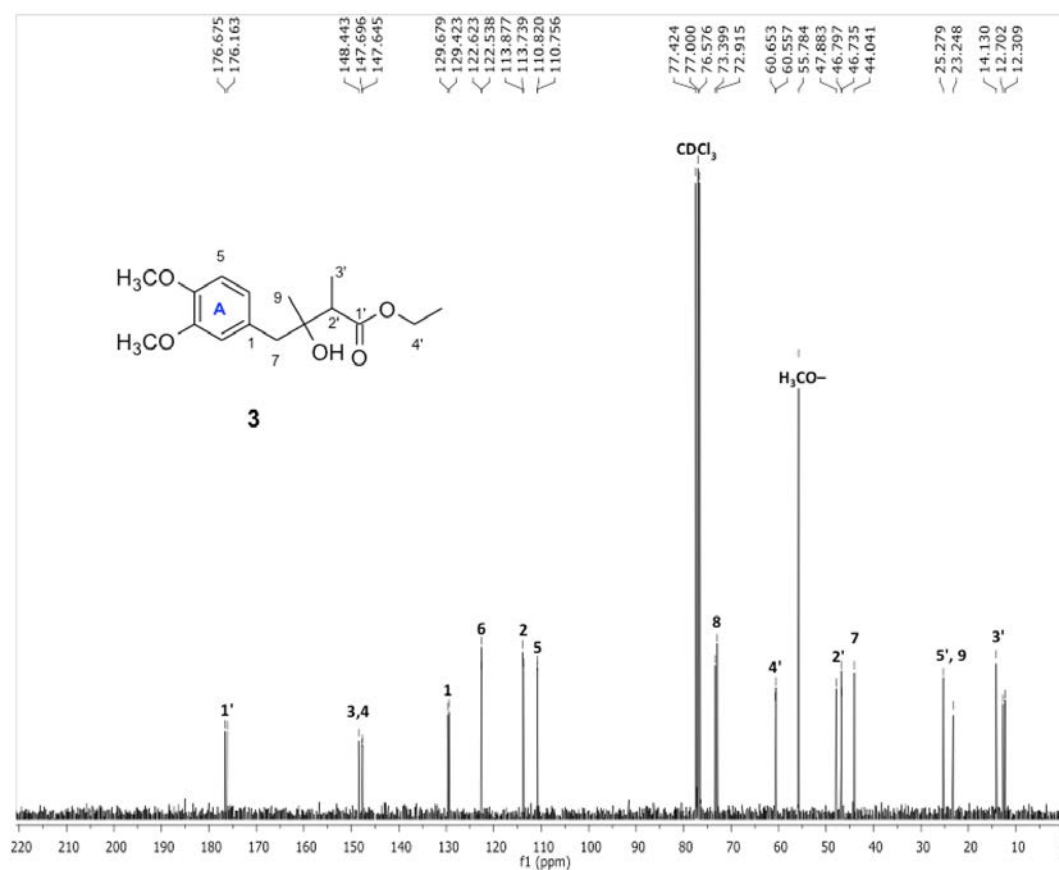


Figura 8: Espectro de RMN de ^{13}C de **3** (CDCl_3 , 14,1 T).



5.2.3 2,3-Dimetil-4-veratril-4-butirolactona (4)

Os conjuntos de sinais triplicados nos espectros de RMN de ^1H indicam uma mistura, obtida com base na relação entre os hidrogênios carbinólicos benzílicos medidos pelas integrais dos espectros de RMN de ^1H . Uma análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (Figura 9 e 10) levou a caracterização estrutural dos dois compostos majoritários presentes na mistura isomérica.

Os espectros de RMN de ^1H apresentam sinais sobrepostos para hidrogênios aromáticos (δ_{H} 6,72-6,84) e metoxílicos (δ_{H} 3,79-3,81). As principais diferenças observadas nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C em relação aos intermediários **4** são evidenciadas pela presença de sinais em δ_{H} 4,69, 4,91 e 5,40 (d , $J= 9,6$, 15,6 e 4,8 Hz, respectivamente) atribuídos a três hidrogênios ligados a carbono carbinólico benzílico, três conjuntos de sinais correspondentes a seis metilas [δ_{H} 1,21 e 1,03 (d , $J= 7,2$ e $J= 6,6$ Hz); δ_{H} 1,13 e 0,98 (d , $J= 6,6$ e 7,2 Hz); δ_{H} 0,47 e 1,12 (d 7,2 Hz)] e sinais entre δ_{H} 1,89 e 2,95 atribuídos a seis hidrogênios metínicos. Além destes, destaca-se sinais de carbonos acílicos em δ_{C} 179,7-178,6.

Figura 9: Espectro de ^1H de **4** (CDCl_3 , 14,1 T).

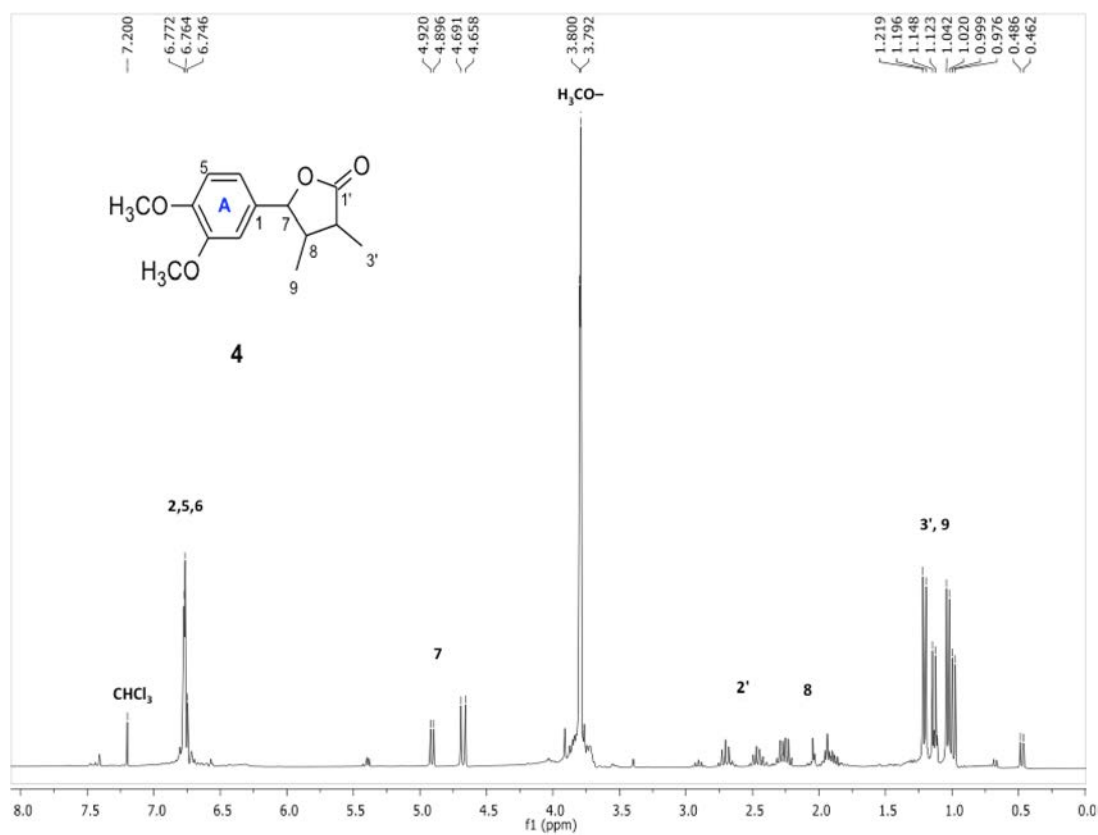
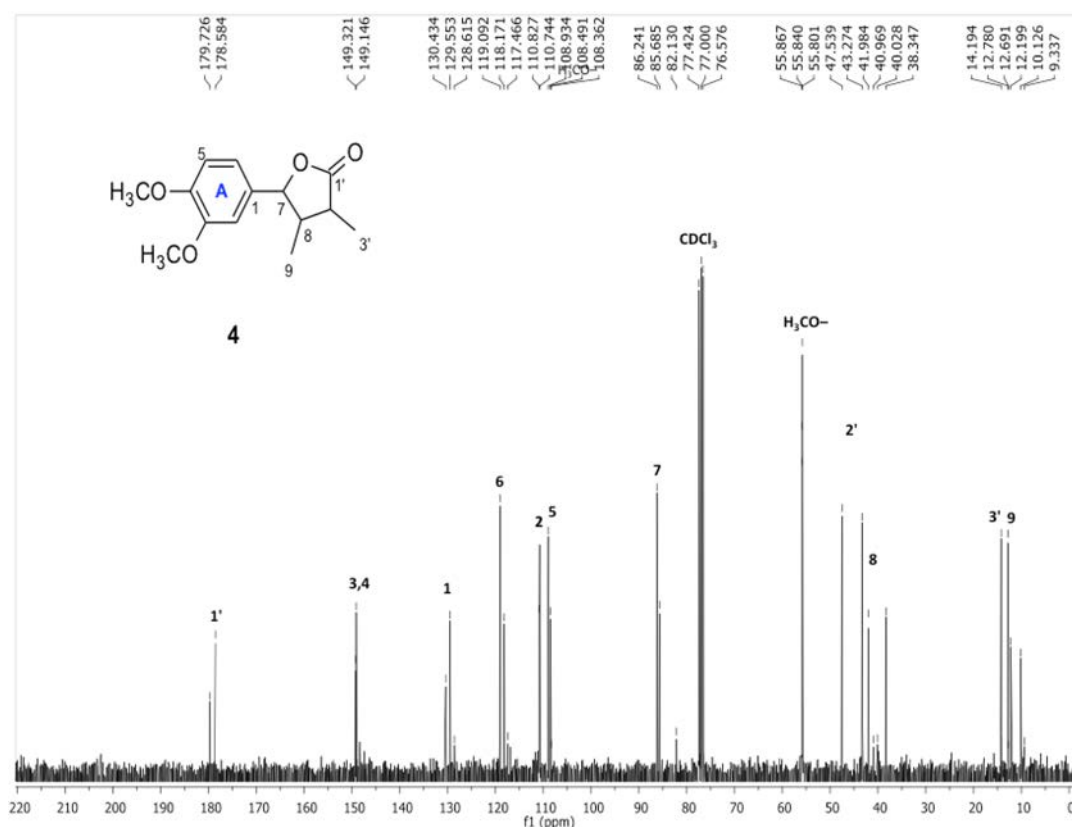


Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C de **4** (CDCl_3 , 14,1 T).



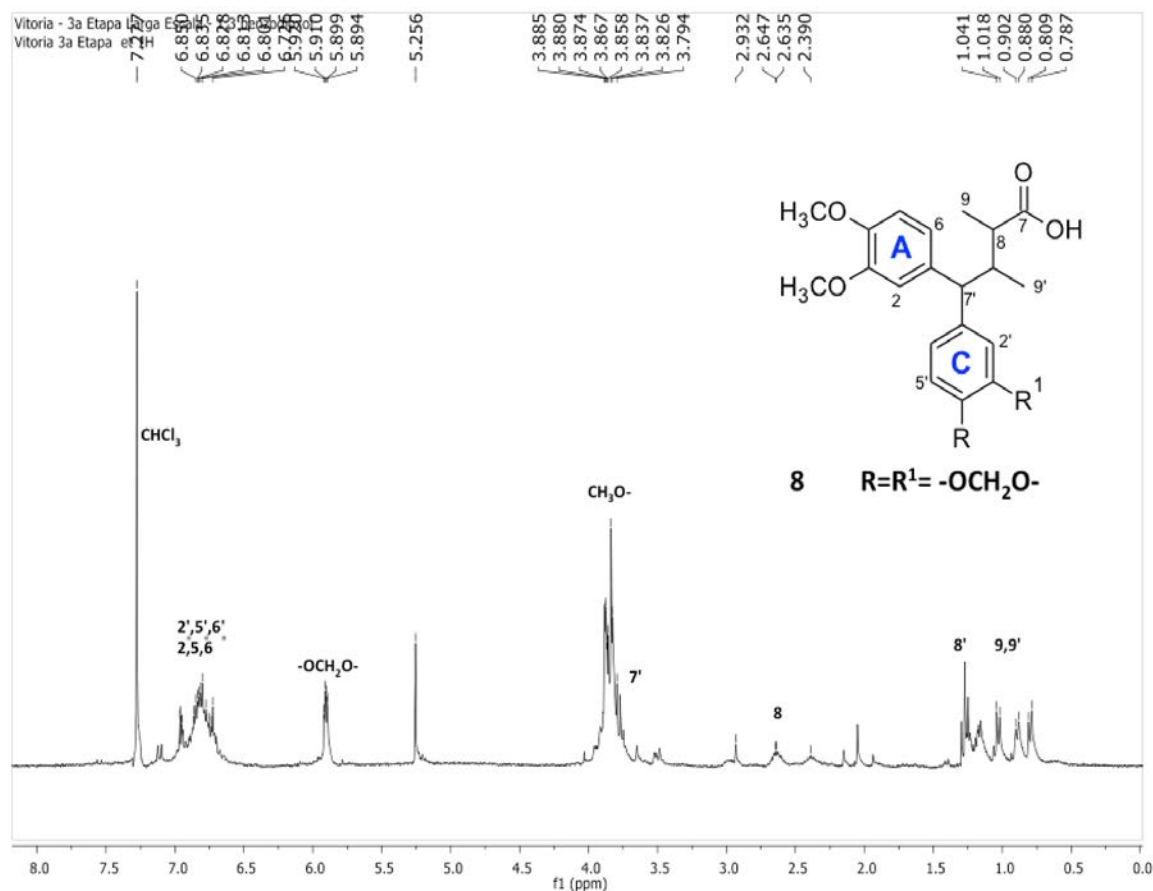
5.2.4 Ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-butírico (7)

Os dados espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 11 e 12) de ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-butírico apresentam sinais, evidenciando a formação de uma mistura diastereoisomérica como produtos da reação. Entre os sinais de deslocamento químico evidenciados nos espectros de RMN unidimensionais, destacam-se, os sinais em δ_{H} 7,1-7,3 (δ_{C} ~ 107-149) atribuídos aos hidrogênios aromáticos, sinais atribuídos a carbonos acílicos em δ_{C} 180,5 e 182,5, além de sinais atribuídos a grupos metílicos δ_{H} 0,71-1,15 (δ_{C} 12,8-15,7) e metoxílicos aromáticos em δ_{H} 3,80-3,87 (δ_{C} 55,8). A principal diferença entre os deslocamentos químicos dos compostos **4** e **7**, é evidenciado pela ausência dos sinais do grupo carbinólico benzílico δ_{H} 4,69 e 4,91 (δ_{C} 86,3 e 85,7) em **4**, contraposto pela presença dos sinais em δ_{H} 2,35-3,35 (δ_{C} 40,3 e 48,8) atribuídos aos hidrogênios dibenzílico em **7**. Esses dados corroboram para identificação e determinação da formação dos isômeros do ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(4'-fluorofenil)-2,3-dimetil-butírico.

5.2.5 Ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-butírico (8)

Os espectros de RMN de ^1H de **8** (Figura 13) apresentam sinais sobrepostos para hidrogênios aromáticos (δ_{H} 6,6-7,2) e metoxílicos (δ_{H} 3,8-4,0), além de sinais duplicados de hidrogênios metílicos (δ_{H} 0,8-1,3). As principais diferenças observadas nos espectros destes compostos em relação ao intermediário **4** é a presença adicional de um grupo fenílico tendo como substituinte nas posições C-3 e C-4 um grupo metilenodioxílico (δ_{H} ~ 5,90). Esses dados, e a ausência dos sinais de hidrogênio carbinólico da lactona em δ_{H} ~ 4,80 evidenciada no intermediário **4**, indicam a formação dos isômeros do ácido 4-(3,4-dimetoxifenil)-4-(3',4'-fenildioxol)-2,3-dimetil-butírico **8**.

Figura 13: Espectro de RMN de ^1H de **8** (CDCl_3 , 7,1 T).



5.2.6 4'-fluoro-3,4-dimetoxi-2,7'-ciclolignan-7-ona (9)

Os dados espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C de **9** (Figura 14 e 15) apresentam grande complexidade gerada pela sobreposição dos sinais. A principal diferença observada entre os dados deste desta mistura, **9**, com os descritos para **7**, é a presença de sinais de deslocamento químico atribuído aos hidrogênios em alta frequência ($\delta_{\text{H}} \sim 7,56$) e de grupos carbonílicos aromáticos ($\delta_{\text{C}} \sim 199,0$). Tais dados indicam a formação da mistura das lignanas ariltetralônicas. Baseando-se no mecanismo da reação de acilação de Friedel Crafts, propõe-se que **9** seja constituinte desta mistura.

Figura 14: Espectro de RMN de ^1H de **9** (CDCl_3 , 7,1 T).

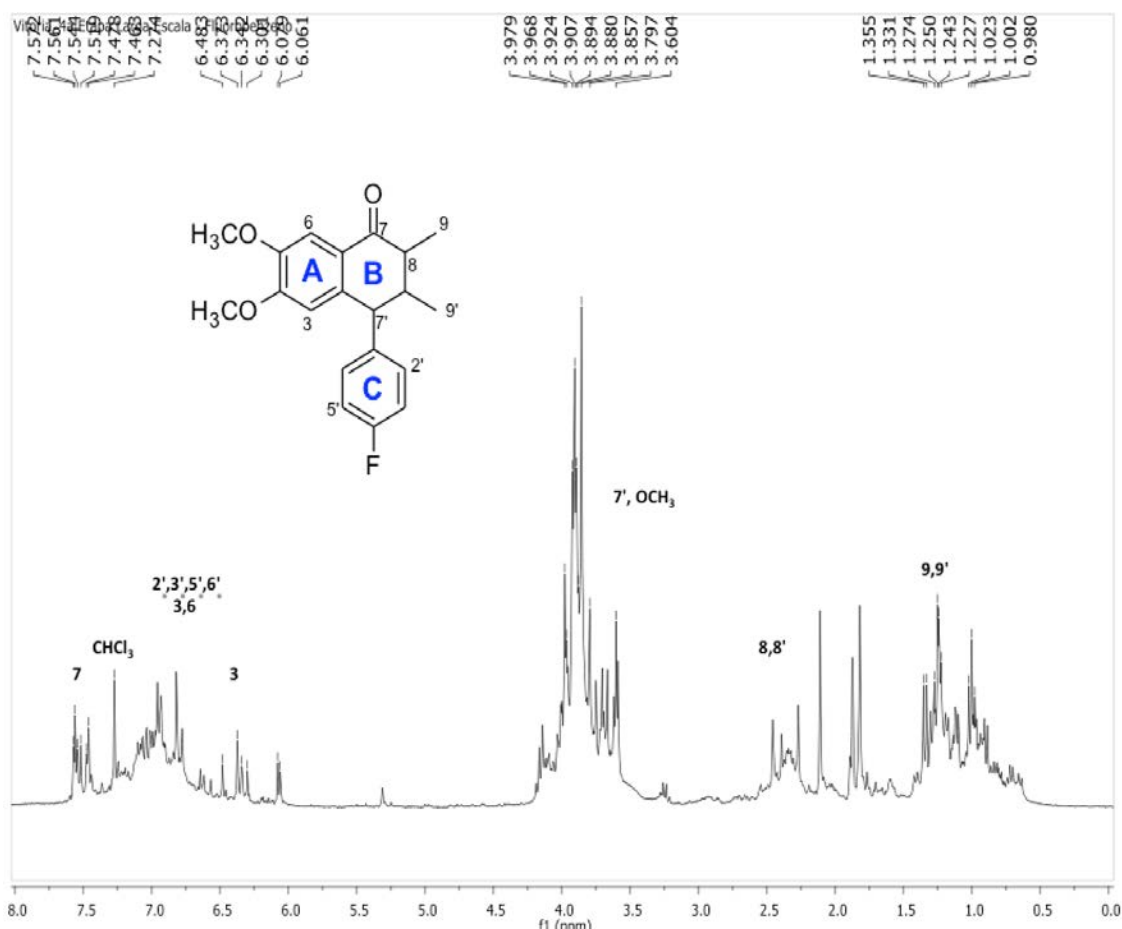
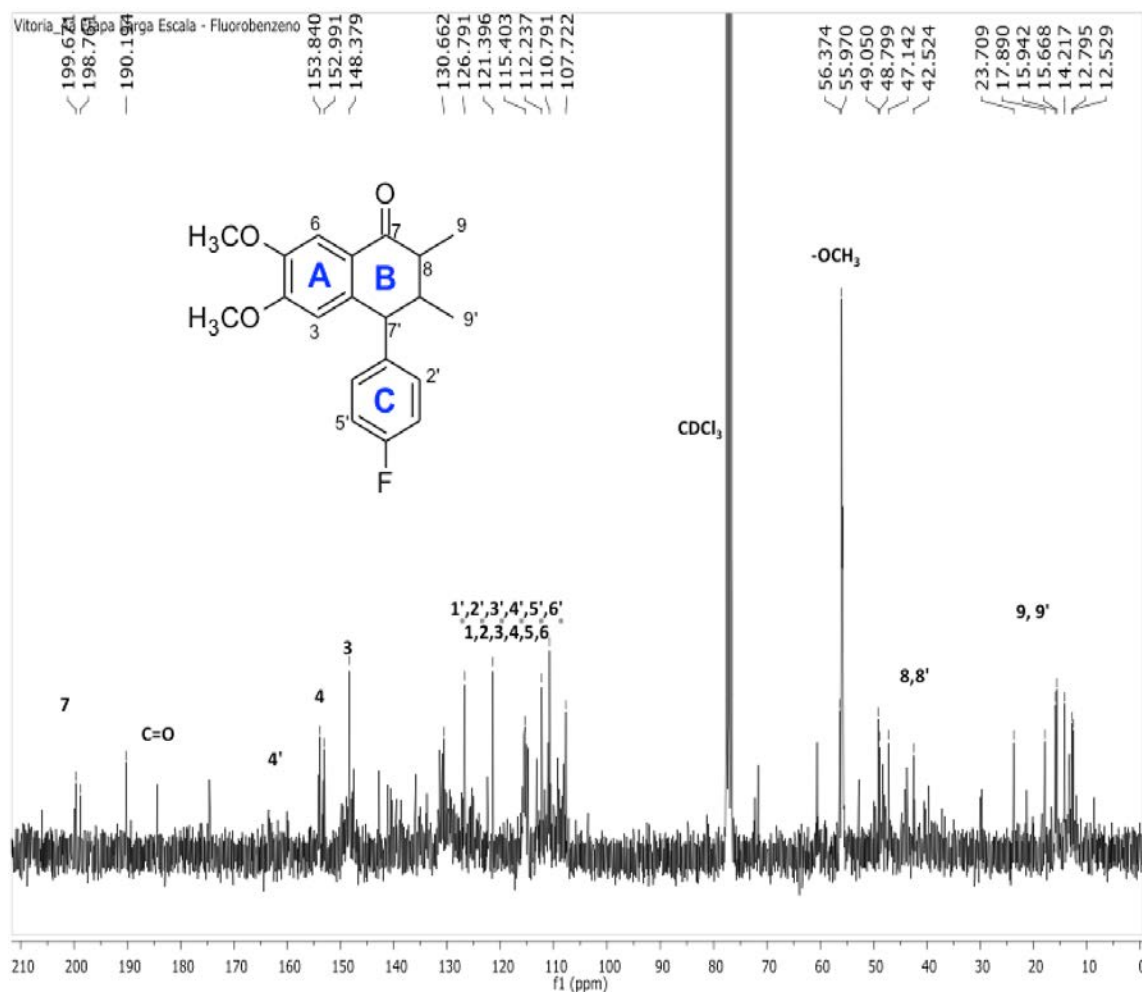


Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C de **9** (CDCl_3 , 7,1 T).

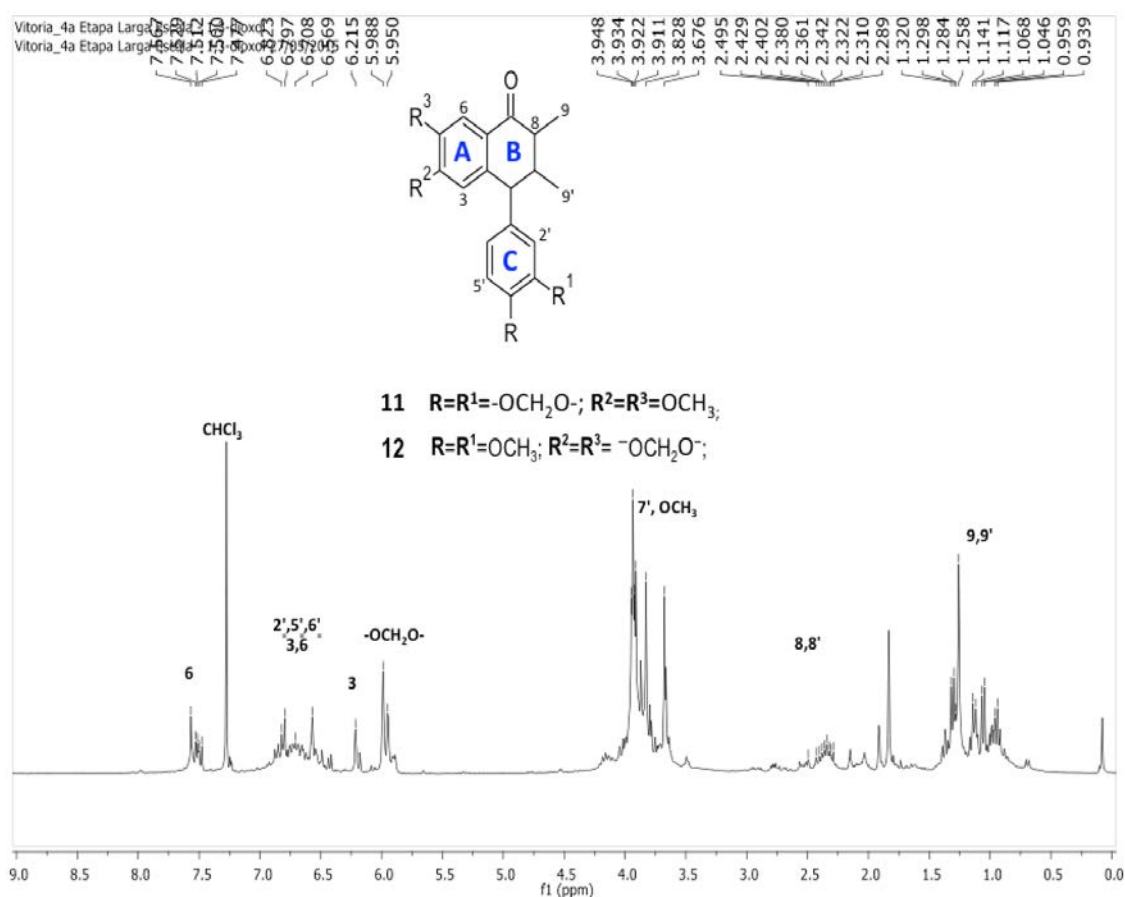


5.2.7 4,5-Dimetoxi-3',4'-metilenodioxí-2,7'-ciclolignan-7-ona (**11+12**)

Os dados espectrométricos de RMN de ^1H (Figura 16) de **11+12** apresentam sinais característicos a uma mistura de lignanas ariltetralônicas, evidenciado principalmente pela presença dos sinais de hidrogênios ligados ao carbono na posição β e conjugados a carbonila, C-6, em $\delta_{\text{H}} \sim 7,5\text{--}7,6$. Além destes sinais são observados ainda, sinais de hidrogênios aromáticos em $\delta_{\text{H}} 6,2\text{--}6,9$ e de grupos metoxílicos aromáticos em $\delta_{\text{H}} 3,66\text{--}3,95$. Esses dados indicam a obtenção de uma mistura de lignanas ariltetralônicas, porém não indicam a posição referente aos substituintes metilenodioxílicos e metoxílicos. Propõe-se

que compostos como **11** e **12** estejam presentes nesta mistura. Entretanto, posteriores separações cromatográficas se fazem necessárias para a comprovação desta proposta.

Figura 16: Espectro de RMN de ^1H de **11+12** (CDCl_3 , 7,1 T).



6. CONCLUSÕES

O processo de síntese realizado para a obtenção dos dois análogos de lignanas apresentou viabilidade para a escala de ~200 mg e para ~600 mg. Esses dados refletem a reprodutibilidade das sínteses que são de extrema importância para novos estudos de potenciais fármacos antiplasmodiais. Estudos posteriores serão necessários para a separação das duas misturas de lignanas ariltetralônicas obtidas. O derivado **9** é o constituinte mais provável de uma das misturas, enquanto que **11+12** podem ser os constituintes majoritários

da outra mistura. Além disso, a continuidade deste trabalho para novos análogos de lignanas ariltetralônicas, com diferentes grupos funcionais adicionados à estrutura molecular, poderiam levar a maior seletividade e, até mesmo, menor toxicidade do composto.

7. REFERÊNCIAS

ANDRADE-NETO, V. F. DE; SILVA, T. DA; LOPES, L. M. X.; DO ROSÁRIO, V. E.; VAROTTI, F. DE P.; KRETTLI, U. A. Antiplasmodial activity of aryltetralone lignans from *Holostylis reniformis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 7, p. 2346-2350, 2007.

BÉGUÉ, J-P; BONNET-DELPON, D. Fluoroartemisinins: Metabolically More Stable Antimalarial Artemisin Derivates. **ChemMedChem**, v. 2, p. 608-624, 2007.

BÉGUÉ, J-P.; BONNET-DELPON, D. Recent Advances (1995-2005) in fluorinated pharmaceuticals based on natural products. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 127, p. 992-1012, 2006.

CHAVAN, S. P.; K. SHIVASANKAR, AND R. SIVAPPA. "Reformatsky reaction of-chloroesters with carbonyl compounds with commercially available zinc". **Journal of Chemical Research**, v. 35, p. 406-407, 2004.

Malaria 2015. Ciclo de vida *Plasmodium* spp. Disponível em: < <http://pt.slideshare.net/lipamufca/malaria-20151> >. Acesso em: 20 de setembro de 2016.

MORAES, R. M.; LATA, H.; BEDIR, E.; MAQBOOL, M.; CUSHMAN, K. The american mayapple and its potential for podophyllotoxin production. **Trends in new crops and new uses**, v. 1, p. 1-8, 2002.

MOSS, G.P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and applied chemistry**, v.72, n.8, p. 1493-1523, 2000.

MÜLLER, A.; VADJA, M. Dimeric propenyl phenol ethers. The synthesis of 1-

veratryl-2,3-dimethyl-6,7-dimethoxytetralin. **Journal of Organic Chemistry**, v. 17, p. 800-806, 1952.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Relatório sobre o Paludismo no mundo 2014**. Resumo. Genebra, Suíça: Swiss THP, 2015, 28 p.

PEREIRA, M. D. P., FERREIRA, M. R., MESSIANO, G. B., CERÁVOLO, I. P., LOPES, L. M. X., KRETTLI, A. U. Aryltetralols from *Holostylis reniformis* and synthesis of lignan analogous. **Phytochemistry Letters**, v. 13, p. 200-205, 2015.

SUH, N. K.; KAIN, C. K.; KEYSTONE, J. S. Malaria. **Canadian Medical Association Journal**, v. 170, n. 9, p. 1693-1702, 2004.

TEPONNO, R. B.; KUSARI, S.; SPITELLER, M. Recent advances in research on lignanas and neolignans. **Natural Product Report.**, 2016, 33, 1044-1092.

WALKER, N. F.; NDJM, B.; WHITTY, C. J. M. Malaria. **The American Journal of Medicine**, v. 42, n. 2, p. 100-106, 2014.

WHITE, N. J.; PUKRITTAYAKAMEE, S; HIEN, T. T.; FAIZ, M. A.; MOKUOLU, O. A.; DONDORP, A. M. Malaria. **The Lancet**, v. 383, p. 723-735, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Malaria. Antimalarial drug resistance. (2014) Disponível em: <http://www.who.int/malaria/areas/drug_resistance/overview/en/>. Acesso em: 18 de setembro de 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Malaria Report 2015. **WHO Global Malaria Programme**. Genebra, Suíça: Swiss THP, 2015, 280 p.