

MARA DA SILVA RODRIGUES

**SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS*-EUGENOL E AVALIAÇÃO DE SUAS
ATIVIDADES FUNGICIDA E LEISHMANICIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Róbson Ricardo Teixeira

VIÇOSA – MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R696s
2024
Rodrigues, Mara da Silva, 1996-
Síntese de ésteres derivados do bis-eugenol e avaliação de
suas atividades fungicida e leishmanicida / Mara da Silva
Rodrigues. – Viçosa, MG, 2024.
1 dissertação eletrônica (147 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.437>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Eugenol. 2. Esterificação. 3. Fungicidas. 4. Leishmaniose
- Controle. I. Teixeira, Robson Ricardo, 1969-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica. III. Título.

CDD 22. ed. 547.638

MARA DA SILVA RODRIGUES

**SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS*-EUGENOL E AVALIAÇÃO DE SUAS
ATIVIDADES FUNGICIDA E LEISHMANICIDA**

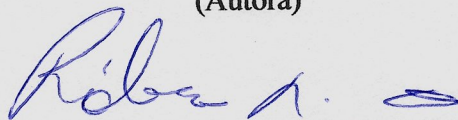
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 23 de fevereiro de 2024

Assentimento:



Mara da Silva Rodrigues
(Autora)



Róbson Ricardo Teixeira
(Orientador)

Dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

A caminhada foi árdua, mas é com imensa alegria que encerro mais essa importante etapa em minha vida.

Antes de tudo, agradeço a Deus, que me acolheu em seus braços nos momentos difíceis e me guiou por todo o caminho. Mostrou-me ser capaz e levou-me a acreditar que na presença Dele tudo é possível.

Aos meus amados pais, José Luiz e Maria Aparecida, que me incentivaram, acreditaram e me deram todo o suporte que eu precisei. Batalhadores que eu sempre admirarei, jamais mediram esforços para me apoiar nas diversas formas que eu precisei.

Às minhas irmãs, Maíra e Mariana e aos meus irmãos de coração, Danilo, Davi e Manuela por todo o companheirismo.

Ao meu Marido, João Henrique por todo amor, paciência e por estar sempre ao meu lado me apoiando e caminhando comigo.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira, pela orientação, atenção, apoio, incentivo e confiança ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Por ter compartilhado sua experiência, profissionalismo e motivação ao longo destes anos.

À Dra. Grasielle Tavares e à doutoranda Isabela Amorim pela realização dos ensaios de avaliação de atividade leishmanicida.

Aos doutorandos Maria Eduarda Leandro Assis e Pedro Henrique da Silva Medrado pela realização dos ensaios de avaliação de atividade fungicida.

À servidora técnico-administrativa Cristiane Isaac Cerceau pela aquisição dos espectros de ressonância magnética nuclear que auxiliaram na caracterização dos compostos sintetizados neste trabalho.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores da banca examinadora, que prontamente aceitaram participar da finalização desta pesquisa.

À minha família pelas orações e por terem contribuído, mesmo de forma indireta, para a realização desse trabalho. Meu eterno agradecimento.

RESUMO

RODRIGUES, Mara da Silva, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Síntese de ésteres derivados do *bis*-eugenol e avaliação de suas atividades fungicida e leishmanicida.** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira.

Os metabólitos secundários, também conhecidos como produtos naturais, têm sido fonte de inspiração tanto para a academia quanto para as indústrias farmacêutica e agroquímica, visando a obtenção de substâncias bioativas destinadas ao tratamento de doenças e ao controle de pragas agrícolas. Este estudo teve como objetivo a síntese e a avaliação das atividades leishmanicida e fungicida de dezoito ésteres derivados do produto natural *bis*-eugenol (**1**). A rota sintética utilizada para a síntese dos compostos incluiu, na primeira etapa, a reação de acoplamento oxidativo do eugenol para a obter o *bis*-eugenol (**1**), alcançando um rendimento de 97%. Em seguida, este composto foi empregado em reações de esterificação de Steglich com diferentes ácidos carboxílicos aromáticos, resultando na obtenção dos ésteres **2a–2r** com rendimentos variando de 34 a 93%. Os compostos sintetizados foram caracterizados por meio de técnicas como espectroscopia no infravermelho e espectroscopia unidimensional de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C . A avaliação da atividade leishmanicida dos compostos sintetizados foi conduzida contra as formas promastigota de *Leishmania amazonensis*, *Leishmania brasiliensis* e *Leishmania infantum*, agentes etiológicos da leishmaniose cutânea e visceral. Os compostos mais ativos frente a estas espécies foram o 2-bromobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2j**) e 2-nitrobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2p**), apresentando valores de IC_{50} inferiores a $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, avaliou-se a atividade fungicida dos ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**) frente ao fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum*, causador de fusariose em cultivares de bananeiras. Os resultados indicaram que, dentre os dezoito compostos avaliados, o 3-nitrobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2q**) foi o mais ativo, apresentando média de crescimento micelial de 91,71%, em comparação com 100% no controle negativo, sendo mais efetivo que o *bis*-eugenol (**1**). Os resultados obtidos nesta pesquisa apontam a possibilidade de utilização de ésteres derivados do *bis*-eugenol como ponto de partida para o desenvolvimento compostos bioativos destinados ao tratamento da leishmaniose e ao controle de fungos fitopatogênicos.

ABSTRACT

RODRIGUES, Mara da Silva, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, february de 2024. **Synthesis of esters derived from bis-eugenol and evaluation of their fungicidal and leishmanicidal activities.** Adviser: Róbson Ricardo Teixeira.

The secondary metabolites, also known as natural products, have been a source of inspiration for both academia and the pharmaceutical and agrochemical industries, aiming to obtain bioactive substances for the treatment of diseases and the control of agricultural pests. This study aimed to synthesize and evaluate the leishmanicidal and fungicidal activities of eighteen esters derived from the natural product *bis-eugenol* (**1**). The synthetic route used for the compound synthesis included, in the first step, the oxidative coupling reaction of eugenol to obtain bis-eugenol (**1**), with a yield of 97%. Subsequently, this compound was used in esterification reactions with different aromatic carboxylic acids, resulting in the synthesis of esters **2a–2r** with yields ranging from 34 to 93%. The synthesized compounds were characterized using techniques such as infrared spectroscopy and one-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy for ^1H and ^{13}C . The evaluation of the leishmanicidal activity of the synthesized compounds was conducted against the promastigote forms of *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis*, and *Leishmania infantum*, the etiological agents of cutaneous and visceral leishmaniasis. The most active compounds against these species were 2-bromobenzoate of 5,5'-diallyl-2'-hydroxy-3,3'-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-2-yl (**2j**) and 2-nitrobenzoate of 5,5'-diallyl-2'-hydroxy-3,3'-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-2-yl (**2p**), with IC_{50} values below $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Additionally, the fungicidal activity of esters derived from bis-eugenol (**1**) was evaluated against the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*, the causative agent of fusariosis in banana cultivars. The results indicated that, among the eighteen compounds evaluated, 3-nitrobenzoate of 5,5'-diallyl-2'-hydroxy-3,3'-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-2-yl (**2q**) was the most active, showing an average mycelial growth inhibition of 91.71%, compared to 100% in the negative control, being more effective than *bis-eugenol* (**1**). The results obtained in this research point to the possibility of using esters derived from *bis-eugenol* (**1**) as a starting point for the development of bioactive compounds for the treatment of leishmaniasis and the control of phytopathogenic fungi.

LISTA DE ABREVIATURAS

CDCl_3	Clorofórmio deuterado
J	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddt_{ap}	Duplo duplo tripleto aparente
DMSO	Dimetilsulfóxido
δ	Deslocamento químico
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
m	Multipletto
P.A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
quint	Quinteto
R_f	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1
s	Simpleto
t	Tripletto
td	Triplo dupleto
T_f	Temperatura de fusão

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 1

1	Produtos naturais empregados como fármacos.....	17
2	Antimaláricos sintéticos inspirados na quinina.....	17
3	Estruturas de algumas substâncias naturais e suas atividades.....	18
4	Botões florais secos de <i>Eugenia caryophyllata</i> (cravo da índia) (A) e estrutura do eugenol (B).....	20
5	Estrutura molecular do <i>bis</i> -eugenol.....	21
6	Estrutura do composto I derivado do eugenol.....	23
7	Estrutura dos compostos II e III	24
8	Estrutura dos compostos IV e V	24
9	Estrutura geral dos compostos alvos de estudo deste trabalho.....	25

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 2

1	Estruturas dos agentes de acoplamento EDC ou EDAC e DIC.....	33
2	Espectro no infravermelho (ATR) do composto 1	64
3	Espectro de RMN de ¹ H (300MHZ, CDCl ₃) do composto 1	65
4	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHZ, CDCl ₃) do composto 1	66
5	Espectro no infravermelho (ATR) do composto 2a	69
6	Espectro de RMN de ¹ H (300MHZ, CDCl ₃) do composto 2a	70
7	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHZ, CDCl ₃) do composto 2a	71

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 3

1	Estrutura dos quimioterápicos Anfotericina B e Miltefosina.....	77
2	Quimioterápico pentavalente Glucantime.....	78

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 4

1	Estruturas dos antibióticos penicilina, amoxicilina, ampicilina e meticilina.....	87
2	Estrutura dos medicamentos ciclosporina A, lovastatina e mevastatina.....	88
3	Teste de disco-difusão de derivados do <i>bis</i> -eugenol (1) e dos derivados 2a–2r frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	91
4	Teste de comparações múltiplas de Scott-Knott para o ensaio de avaliação da atividade do <i>bis</i> -eugenol (1) e dos derivados 2a–2r frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	92

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE ESQUEMAS DO CAPÍTULO 2

1	Reação ácido-base entre DMAP e o ácido carboxílico.....	31
2	Reação de formação da <i>O</i> -acilureia.....	32
3	Reação da <i>O</i> -acilureia com DMAP.....	32
4	Etapa final da reação de Steglich.....	32
5	Conversão da <i>O</i> -acilureia em <i>N</i> -acilureia.....	33
6	Equação geral para a reação de acoplamento cruzado.....	34
7	Equação geral para a reação de acoplamento oxidativo envolvendo compostos aromáticos.....	34
8	Preparação do ácido elágico a partir do ácido gálico via acoplamento oxidativo.....	35
9	Oxidação do 2-naftol em binol.....	35
10	Análise retrossintética para a preparação dos ésteres derivados do <i>bis</i> -eugenol (1).....	36
11	Rota sintética envolvida na preparação dos ésteres 2a-2r derivados do <i>bis</i> -eugenol (1).....	59
12	Proposta mecanística para a obtenção do <i>bis</i> -eugenol (1).....	60
13	Valores de constantes de acoplamentos J_{cis} e J_{trans} calculados a partir do espectro de 1H -RMN do <i>bis</i> -eugenol (1) e comparação com dados da literatura.....	62
14	Reação utilizada para a obtenção dos compostos 2a-2r	67

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 2

- 1 Comparação entre os valores de deslocamento químico de ^{13}C RMN descritos na literatura e descritos neste trabalho para o *bis*-eugenol (**1**)..... 63
- 2 Valores de deslocamento químicos de ^1H RMN experimentais e obtidos por meio de cálculos DFT da substância **2a**..... 72

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 3

- 1 Avaliação da atividade antipromastigota do *bis*-eugenol (**1**) e dos ésteres **2a-2r**..... 81
- 2 Avaliação da citotoxicidade pontual dos ésteres derivados do *bis*-eugenol frente a células de macrófagos..... 82
- 3 Efeitos dos derivados do *bis*-eugenol **2j** e **2p** nas formas promastigotas de *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum*..... 83

ANEXOS

1 Anexos.....	96
---------------	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – APRESENTAÇÃO	16
1.1 OS COMPOSTOS EXTRAÍDOS DE PLANTAS COMO BASE INSPIRADORA NA BUSCA POR NOVOS FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS.....	16
1.2 EUGENOL E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	20
1.3 <i>BIS</i> -EUGENOL.....	21
1.4 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TRABALHO.....	22
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE ÉSTRES DERIVADOS DO <i>BIS</i>-EUGENOL	31
2.1 REAÇÃO DE STEGLICH.....	31
2.2 ACOPLAMENTO OXIDATIVO DE COMPOSTOS AROMÁTICOS.....	33
2.3 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA E A SÍNTESE DOS ÉSTERES DERIVADOS DO <i>BIS</i> -EUGENOL.....	35
2.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
2.4.1 Generalidades metodológicas.....	37
2.4.2 Procedimentos experimentais.....	38
2.4.2.1 Síntese do 5,5'-dialil-3,3'-dimetoxi[1,1'-bifenil]-2,2'-diol (<i>bis</i> -eugenol) (1).....	38
2.4.2.2 Síntese dos ésteres (2a-2r) derivados do <i>bis</i> -eugenol.....	39
2.4.3 Cálculos teóricos relacionados à substância 2-metilbenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2a) para determinação de deslocamentos químicos de ¹ H-RMN.....	58
2.4.3.1 Busca conformacional.....	58
2.4.3.2 Minimização de energia.....	58
2.4.3.3 Simulação dos deslocamentos químicos de ¹ H RMN.....	58
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO <i>BIS</i>-EUGENOL.....	75
3.1 INTRODUÇÃO.....	75
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	79
3.2.1 Generalidades.....	79
3.2.2 Atividade antileishmanial.....	79
3.2.3 Citotoxicidade celular.....	80
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
3.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO <i>BIS</i>-EUGENOL.....	86
4.1 INTRODUÇÃO.....	86
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	90
4.2.1 Generalidades.....	90
4.2.2 Avaliação da atividade fungicida.....	90
4.2.3 Análises estatísticas.....	90
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	95
---	-----------

CAPÍTULO 1

APRESENTAÇÃO

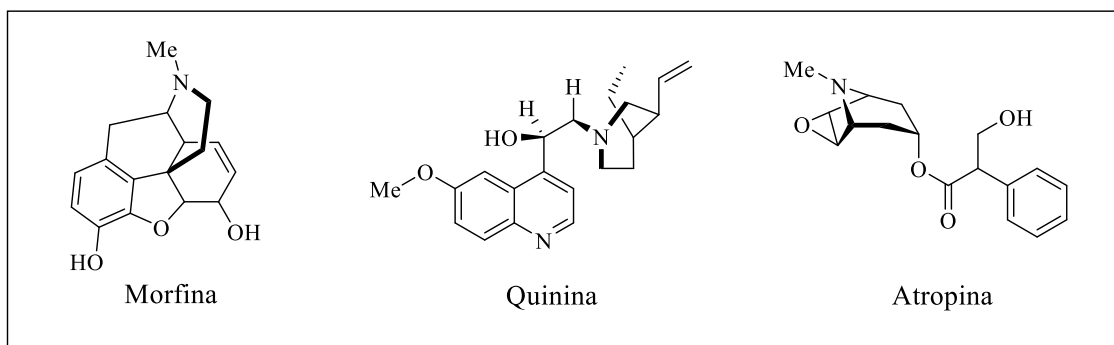
1.1 OS COMPOSTOS EXTRAÍDOS DE PLANTAS COMO BASE INSPIRADORA NA BUSCA POR NOVOS FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS

A história do desenvolvimento das civilizações humanas é composta por diversos exemplos da utilização das plantas pelo homem para a prevenção e cura de doenças (VIEGAS JR *et al.*, 2006; CALIXTO e SIQUEIRA JR, 2008). Tal prática teve início há 2.900 a.C com a civilização Egípcia, que registrou o uso de várias plantas medicinais, como a papoula (*Papaver somniferum*), babosa (*Aloe vera*) e maconha (*Cannabis sativa*), entre outras, ainda em uso nos dias de hoje (CRAGG e NEWMAN, 2013; CALIXTO e SIQUEIRA JR, 2008).

No entanto, o isolamento dos princípios ativos responsáveis pelos efeitos terapêuticos associados às plantas medicinais ocorreu somente a partir do século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos científicos sobre a composição química das plantas (MONTARI e BOLZANI, 2001). Desde então, os compostos extraídos de plantas, comumente denominados de produtos naturais, continuam desempenhando papel relevante na busca por novos fármacos. Os produtos naturais podem ser utilizados diretamente como fármacos ou podem ter suas estruturas moleculares modificadas para obtenção de novos princípios ativos. (VIEGAS JR *et al.*, 2006; PAWAR, 2014; CALIXTO, 2019; NEWMAN e CRAG, 2020; ATANASOV *et al.*, 2021; NEWMAN, 2022).

Entre os compostos provenientes de plantas que deram origem a uma variedade de medicamentos em diferentes categorias terapêuticas, destacam-se os alcaloides. Esses produtos naturais possuem propriedades básicas e são exemplificados por substâncias como a morfina, quinina e atropina (Figura 1, pg. 2) (BARREIRO e MANSSOUR, 2008).

Figura 1. Produtos naturais empregados como fármacos.

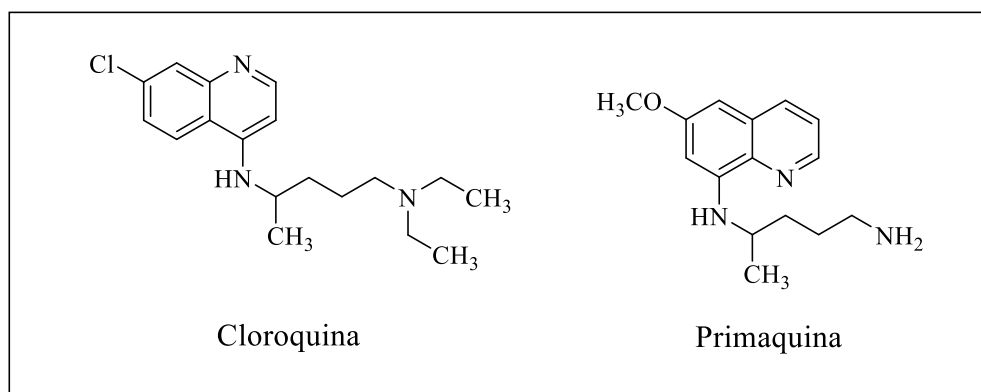


Fonte: Elaborada pela própria autora.

A morfina foi isolada pela primeira vez em 1805 pelo alemão Friedrich Sertürner. Pode-se afirmar que este foi o fato mais significativo para a medicina do século XIX. Trata-se de uma substância orgânica extraída do ópio (*Papaver Somniferum*) conhecida pelos egípcios por apresentar propriedades analgésica, sedativa e hipnótica (BOOTH, 1998). Nos dias atuais, a morfina é amplamente utilizada no tratamento da dor intensa de origem oncológica.

A quinina é um alcaloide quinolínico com propriedades antitérmica, antimalárica e analgésica. Extraída da casca da *Chinchona Officinalis*, esta substância possibilitou o tratamento de malária já no século XIX. A partir dela, originaram-se os antimaláricos quinolínicos cloroquina e primaquina (Figura 2) (KAUFMAN e RÚVEDA, 2005; DOS SANTOS e PINTO, 2012).

Figura 2. Antimaláricos sintéticos inspirados na quinina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

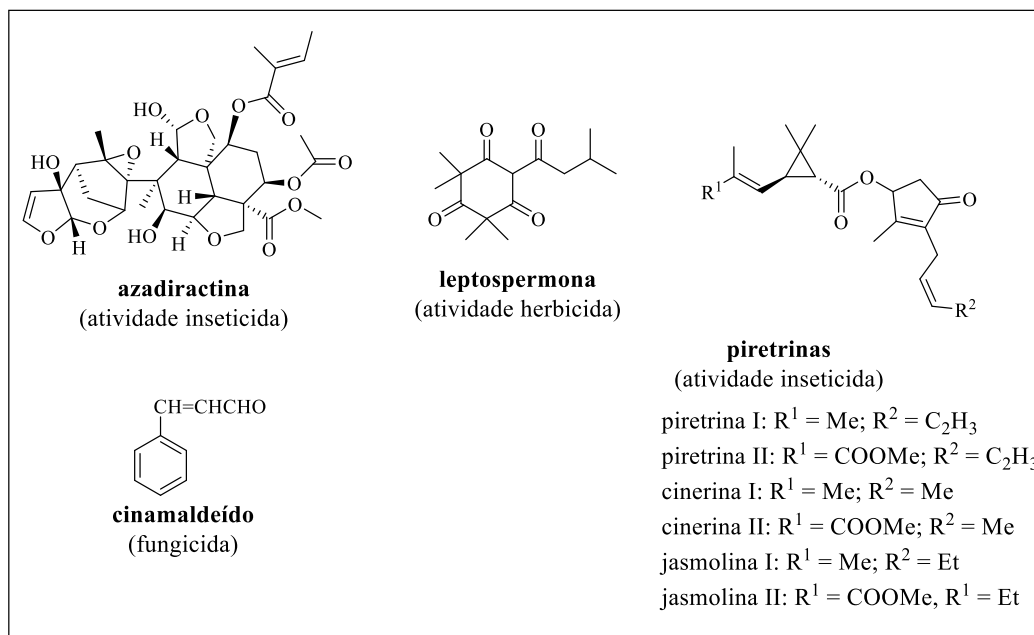
A atropina, principal componente do sumo dos frutos da *Atropa belladonna*, foi isolada pela primeira vez em 1831 pelo químico alemão Mein. Os efeitos terapêuticos da espécie *A. belladonna* eram conhecidos pelos gregos, romanos e egípcios. A atropina inibe a ação da enzima acetilcolina (MARTINEZ *et al.*, 2009).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial necessita principalmente de medicamentos tradicionais para seus cuidados primários de saúde. Pelo menos 119 substâncias químicas, derivadas de 90 espécies vegetais, podem ser consideradas importantes medicamentos em uso nos dias atuais. A partir de estudos químicos que se destinam a isolar substâncias ativas de plantas usadas na medicina tradicional, 74% destes 119 medicamentos foram descobertos (PAWAR, 2014).

Além da significativa contribuição dos produtos naturais derivados de plantas para a obtenção de novos fármacos ao longo dos tempos, estes também têm colaborado para o desenvolvimento de novos pesticidas ou agroquímicos. De acordo com a EPA (*United States Environmental Protection Agency*), pesticida é qualquer substância ou mistura de substâncias utilizadas com a finalidade de prevenção, destruição, afastamento ou contenção de qualquer praga.

A utilização de compostos químicos no controle de pragas (plantas daninhas, insetos, fungos, nematóides, entre outros) remonta ao período greco-romano. Os primeiros agentes químicos para controlar as pragas eram de origem inorgânica, apresentavam elevada toxicidade para organismos não alvo, possuíam baixa seletividade, além de serem aplicados em elevadas dosagens. Exemplos desses primeiros pesticidas incluem o ácido sulfúrico (H_2SO_4), arsênico (As_2O_3), verde Paris [$Cu(OAc)_2 \cdot 3Cu(AsO_2)_2$] e cloreto de mercúrio(II) ($HgCl_2$) (STETTER e LIEB, 2000). Com o desenvolvimento das ciências da química, bioquímica e biologia, compostos mais seletivos, de menor toxicidade para organismos não alvo e que podiam ser aplicados em dosagens menores, a grande maioria deles substâncias orgânicas, foram descobertos (STETTER e LIEB, 2000). Neste cenário, produtos naturais derivados de plantas vêm servindo de inspiração para descoberta de novos agroquímicos (DUKE *et al.*, 2010; LOISELEUR, 2017; ZHANG *et al.*, 2023). Na Figura 3 (pg. 4), estão mostradas as estruturas de pesticidas naturais encontrados em plantas. Salienta-se que os três grandes grupos de pesticidas são os herbicidas (para o controle de plantas daninhas), os inseticidas (para o controle de insetos) e os fungicidas (para o controle de fungos).

Figura 3. Estruturas de algumas substâncias naturais e suas atividades.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Cumprе ressaltar que, como descrito anteriormente no contexto do desenvolvimento de fármacos, os produtos naturais também podem ser usados diretamente como pesticidas (caso da azadiractina e cinamaldeído) ou podem servir de inspiração para o desenvolvimento de novos pesticidas (caso da leptospermona, que foi a fonte de inspiração para o desenvolvimento dos herbicidas da classe das tricetonas, e das piretrinas, que inspiraram o desenvolvimento dos inseticidas pertencentes à classe dos piretróides) (DUKE *et al.*, 2010; LOISELEUR, 2017; ZHANG *et al.*, 2023)

Na agricultura moderna, o uso dos pesticidas é a técnica mais eficiente para o controle de pragas devido ao baixo custo e eficácia (BARBOSA, 2004). Entretanto, o uso indiscriminado dos pesticidas tem levado ao desenvolvimento de espécies resistentes aos agroquímicos disponíveis. Além disso, seu uso inadequado pode resultar em problemas para o meio ambiente e para a saúde humana (BERNARD *et al.*, 1997). Deste modo, as pesquisas no campo de controle químico de pragas que afetam as culturas agrícolas buscam desenvolver novos pesticidas que causem nenhum ou baixo impacto ambiental, que possuam nenhuma ou baixa toxicidade para organismos não-alvo, que possam ser aplicados em baixas concentrações e que sejam seletivos para as espécies-alvo.

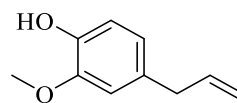
1.2 EUGENOL E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Conforme descrito anteriormente, os produtos naturais obtidos de plantas (e de outros organismos também) representam uma importante alternativa no contexto do desenvolvimento de novos fármacos e agroquímicos. Uma dessas substâncias é o eugenol. O eugenol (4-alil-2-metoxifenol) é um fenilpropanóide e apresenta fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$. Ele corresponde a um líquido oleoso claro, amarelado e ligeiramente solúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos (PRAMOD *et al.*, 2010). O óleo do cravo da Índia, derivado do botão seco da flor do craveiro (*Eugenia caryophyllata* = *Syzygium aromaticum*, Myrtaceae), é rico em eugenol e corresponde à principal fonte deste composto (KAMATOU *et al.*, 2012; AFFONSO *et al.*, 2012; PATHAK *et al.*, 2004) (Figura 4).

Figura 4. Botões florais secos de *Eugenia caryophyllata* (cravo da Índia) (A) e estrutura do eugenol (B).



(A)



(B)

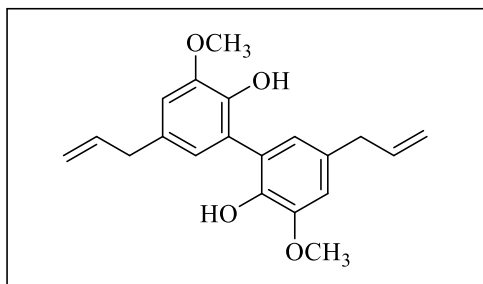
Fontes: (A): KAMATOU *et al.* (2012); (B) Elaborada pela própria autora.

Um número significativo de estudos mostra que o eugenol e seus derivados apresentam diversas atividades biológicas e aplicações na agricultura, indústria alimentícia e indústria de cosméticos. Dentre as atividades biológicas descritas na literatura para o eugenol, podem ser mencionadas analgésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, anestésica, antioxidante, antipirética, espasmolítica, antisséptica, inseticida, fungicida, leishmanicida e antiviral (MARKOWITZ *et al.*, 1992; KURIAN *et al.*, 2006; KAMATOU *et al.*, 2012; DEVI *et al.*, 2010; VIDAL *et al.*, 2008; GÜLÇİN, 2010; FENG e LIPTON, 1987; COITINHO *et al.*, 2006; PRAMOD *et al.*, 2010; KAMATOU *et al.*, 2012). A variedade de bioatividades apresentadas pelo eugenol é, certamente, a principal razão pela qual este composto continua a ser explorado como substância modelo para o desenvolvimento de compostos bioativos.

1.3 BIS-EUGENOL

O *bis*-eugenol (5,5'-dialil-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2,2'-diol) (Figura 5), também conhecido como desidrodieugenol, é um composto bifenólico do tipo neolignana, de ocorrência natural, encontrado em baixas concentrações nas flores, folhas e caule da árvore do craveiro (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Figura 5. Estrutura molecular do *bis*-eugenol.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Do ponto de vista sintético, o *bis*-eugenol pode ser preparado por meio da reação de acoplamento oxidativo do eugenol, resultando na obtenção do dímero *orto* (DE FARIAS, 1988). Kim e colaboradores (2012) mostraram que também é possível obter o *bis*-eugenol por meio de biotransformação utilizando culturas de células vegetais da espécie *Kalopanax pictus callus*.

Similarmente ao que ocorre com o eugenol e seus derivados, o *bis*-eugenol e seus derivados vêm sendo investigados quanto às suas bioatividades. Em termos de citotoxicidade, o estudo de FUJISAWA e colaboradores (1999) mostrou que o *bis*-eugenol possui menor citotoxicidade que o eugenol frente à cultura primária de fibroblastos gengivais humanos (HGF) e à linhagem celular de carcinoma epidermoide humano derivada de uma glândula salivar (HSG). Enquanto o tratamento com eugenol na concentração de 1×10^{-3} mol L⁻¹ resultou na morte da maioria das células, os efeitos citotóxicos do *bis*-eugenol nas concentrações de 1×10^{-4} mol L⁻¹ e 1×10^{-3} mol L⁻¹ foram menores.

O *bis*-eugenol foi investigado utilizando modelo animal com relação aos seus efeitos antidepressivos, utilizando o teste de natação forçada (FST) e o teste de suspensão da cauda (TST) em camundongos. O estudo demonstrou pela primeira vez que o *bis*-eugenol, administrado agudamente pela via intraperitoneal, diminuiu significativamente a duração da imobilidade no FST e TST, sugerindo um perfil semelhante ao antidepressivo, também

observado em medicamentos antidepressivos padrão em uso clínico, como a imipramina e a fluoxetina (DO AMARAL *et al.*, 2013).

Murakami e co-autores (2003) demonstraram que o *bis*-eugenol é um inibidor do denominado fator nuclear κ B (NF- κ B), que é um fator de transcrição envolvido no controle da expressão de diversos genes ligados à resposta inflamatória. Deste modo, ficou demonstrado que o *orto*-dímero do eugenol apresenta atividade anti-inflamatória. A inibição do NF- κ B não foi observada com o eugenol.

O estudo conduzido por Grecco e colaboradores (2017) revelou que o *bis*-eugenol, isolado da espécie *Nectandra leucanta* (Lauraceae), possui atividade tripanocida. O composto apresentou atividade contra as formas promastigota concentração inibitória 50% (IC₅₀ = 15,1 μ mol L⁻¹) e tripomastigota (IC₅₀ = 11,5 μ mol L⁻¹) de *Trypanosoma cruzi*. O *T. cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas. Quando avaliado frente à linhagem celular não tumoral NCTC, o valor de concentração citotóxica 50% (CC₅₀) encontrado foi igual a 58,2 μ mol L⁻¹. Assim, o índice de seletividade (IS = CC₅₀/IC₅₀) correspondeu a 3,9. Salienta-se que tanto a atividade tripanocida bem como o índice de seletividade do *bis*-eugenol foram inferiores ao benznidazol, o fármaco utilizado para o tratamento da doença de Chagas. Neste mesmo estudo, os grupos hidroxilas do *bis*-eugenol foram metilados, e o derivado dimetilado produzido apresentou atividade tripanocida inferior ao *bis*-eugenol.

O *bis*-eugenol e seus derivados monometilado e dimetilado foram avaliados contra a forma promastigota de *L. amazonensis* (RODRIGUES *et al.*, 2016). Neste caso, o derivado monometilado foi o que apresentou a melhor atividade leishmanicida (IC₅₀ = 13,68 μ g mL⁻¹), porém foi menos ativo que o fármaco anfotericina B (IC₅₀ = 0,13 μ g mL⁻¹) que é empregado para o tratamento da leishmaniose.

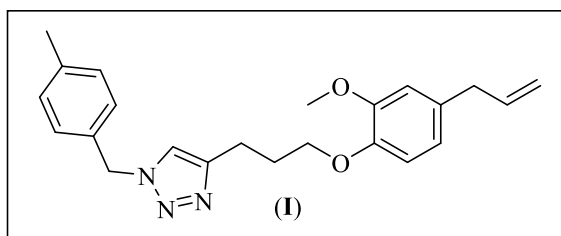
1.4 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TRABALHO

Os produtos naturais obtidos de plantas e seus derivados já foram legitimados por numerosos estudos como importantes fontes de estruturas modelo na busca por novos medicamentos e pesticidas.

Compostos derivados do eugenol possuem relevantes aplicações em estudos visando a síntese de fármacos e agroquímicos. Em busca do aperfeiçoamento de propriedades farmacológicas, derivados do eugenol vêm sendo sintetizados no Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos (GSPCB) do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Uma série de vinte e quatro derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos

foram sintetizados por Teixeira e colaboradores (2018) e avaliados quanto a sua atividade leishmanicida contra a espécie *Leishmania amazonensis* (WHOM/BR/75/Josefa) causadora da leishmaniose tegumentar. Dentre os derivados avaliados, o composto **I** (Figura 6) foi mais efetivo que a pentamidina e o glucantime que são fármacos tipicamente utilizados no tratamento da leishmaniose. Além disso, o composto **I** apresentou baixa citotoxicidade contra macrófago (CC_{50} igual a $211,9 \mu\text{mol L}^{-1}$) e mostrou relevante atividade contra as formas promastigota (IC_{50} igual $7,4 \mu\text{mol L}^{-1}$) e intracelular amastigota ($IC_{50} = 1,6 \mu\text{mol L}^{-1}$). O IS foi determinado sendo igual a 132,5 para a forma amastigota. Os resultados encontrados com este composto o qualificam como promissor para o tratamento da leishmaniose tegumentar.

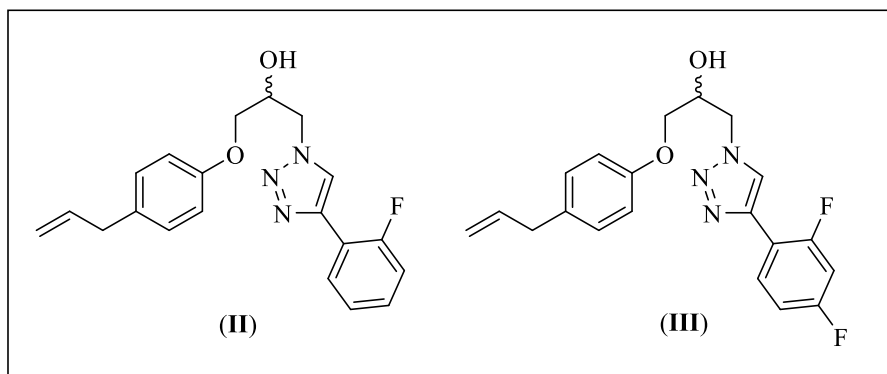
Figura 6. Estrutura do composto **I** derivado do eugenol.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Lima e colaboradores (2022) realizaram a síntese de novos derivados fluorados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos e avaliaram a atividade fungicida destes derivados contra o fungo fitopatogênico *Colletotrichum* que causa antracnose em mamoeiro. Dentre as moléculas avaliadas, as substâncias **II** e **III** apresentaram os menores valores de concentração inibitório 90% (IC_{90} iguais a $1,50 \text{ mg mL}^{-1}$ e $1,02 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente). Os valores da concentração inibitória mínima (MIC) dos compostos **II** e **III** foram determinados e compreendidos no intervalo de $1,00 - 2,50 \text{ mg mL}^{-1}$. Além disso, determinou-se que **II** e **III** inibem a germinação de conídios. O efeito direto na germinação de conídios de patógenos de plantas é desejável em uma molécula fungicida, pois impede as fases iniciais infectivas e nenhuma doença é observada.

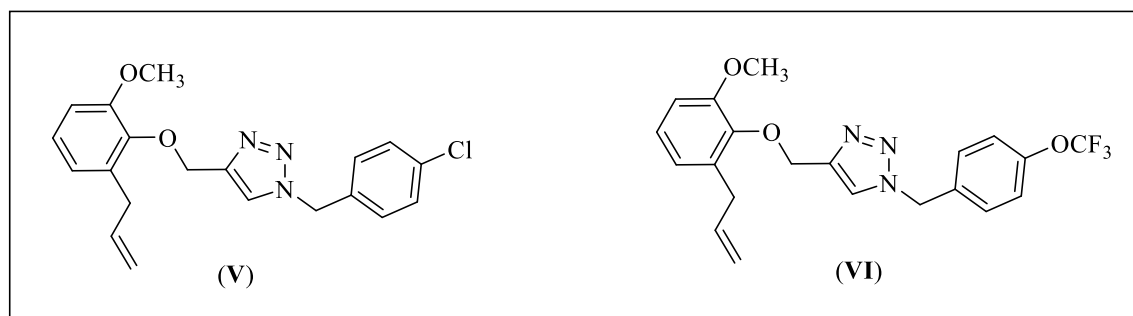
Figura 7. Estruturas dos compostos **II** e **III**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Mais recentemente, Evangelista e colaboradores (2023) sintetizaram vinte e dois derivados do *orto*-eugenol e contendo grupos 1,2,3-triazólicos. A avaliação dos efeitos dos compostos frente à forma intracelular amastigota de *Leishmania braziliensis* na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ resultou na identificação dos compostos **IV** e **V** (Figura 8) com significativos efeitos leishmanicida. Para **IV** e **V**, foram determinados os valores de CC_{50} , IC_{50} e ISs. Os valores encontrados para estes derivados corresponderam a IC_{50} de $28,09 \mu\text{mol L}^{-1}$ (para **IV**) e $52,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ (para **V**). Já os valores de CC_{50} corresponderam a $274,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (para **IV**) e $> 300 \mu\text{mol L}^{-1}$ (para **V**). Os ISs foram de 9,7 para **IV** e $> 5,7$ para **V**. Esses compostos possuem potencial como novos agentes leishmanicidas contra *L. braziliensis* e podem representar um ponto de partida para o desenvolvimento de tratamentos alternativos para leishmaniose tegumentar.

Figura 8. Estrutura dos compostos **IV** e **V**.



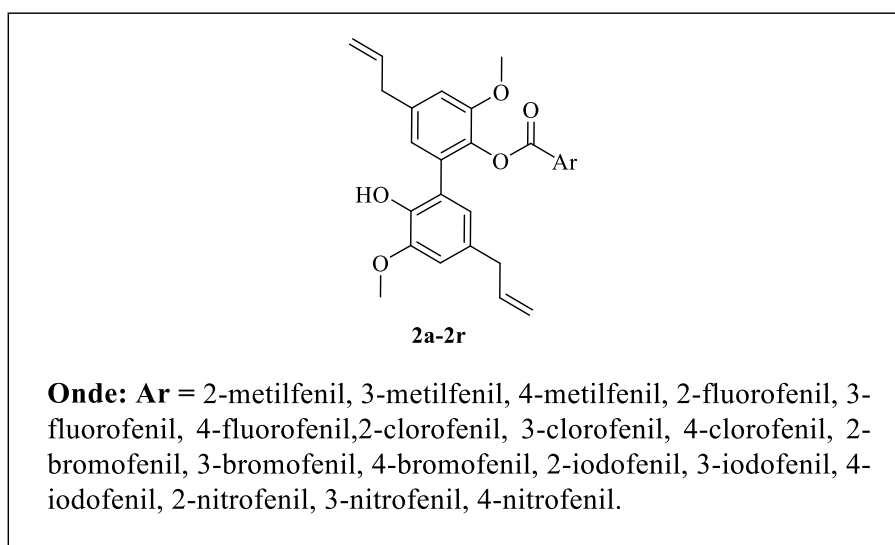
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os estudos envolvendo derivados do eugenol e prospecção de bioatividades envolvendo o eugenol no GSPCB têm sido voltados para avaliação de atividades leishmanicida e fungicida.

O objetivo destes estudos é buscar alternativas para o tratamento das leishmanioses bem como para o controle de fungos fitopatogênicos que acometem as culturas agrícolas. No caso das leishmanioses, a busca por novas alternativas medicamentosas é importante uma vez que os fármacos atualmente disponíveis para o tratamento das leishmanioses possuem toxicidade elevada e diversos efeitos colaterais, além da observação do aparecimento de cepas resistentes aos fármacos. Ressalta-se também que algumas opções de fármacos disponíveis para o tratamento das leishmanioses possuem custo elevado. No que tange aos fungicidas, embora haja no mercado um número variado de princípios ativos para o controle de fungos fitopatogênicos, a busca por novos fungicidas que sejam mais efetivos, que apresentem baixa toxicidade para organismos não-alvos, possam ser aplicados em baixas dosagens e que consigam suplantam o problema de resistência de espécies fúngicas, é uma área de intensa pesquisa.

O levantamento da literatura revelou que não há estudos envolvendo a conversão do *bis*-eugenol em ésteres e avaliação de bioatividades relacionadas a estes derivados. Considerando as premissas e levando-se em conta que o *bis*-eugenol é um derivado do eugenol, o presente trabalho objetivou utilizar o *bis*-eugenol como uma estrutura modelo para ser quimicamente modificada visando à obtenção de novos compostos que possam ser úteis para o tratamento das leishmanioses bem como para o controle de fungos fitopatogênicos. Assim, ésteres do *bis*-eugenol, apresentando a estrutura geral mostrada na Figura 9 foram preparados e caracterizados.

Figura 9. Estrutura geral dos compostos alvos de estudos deste trabalho.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

No capítulo 2 serão apresentadas as estruturas dos compostos sintetizados bem como as reações envolvidas nas suas preparações. No capítulo 3 será discutida a avaliação da atividade leishmanicida dos compostos sintetizados e no capítulo 4 será abordada a avaliação da atividade fungicida dos ésteres derivados do *bis*-eugenol.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial do cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*, v. 4, p. 146-161, 2012.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; SUPURAN, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews*, v. 20, p. 200-216, 2021.
- BARBOSA, L. C. Os Pesticidas, O Homem e o Meio Ambiente. Viçosa: Editora UFV, 2004.
- BARREIRO, E. J.; DA SILVABOLZANI, V. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Química Nova*, v. 32, p. 679-688, 2009.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- BERNARD, C.; DABERKOW, S.; PADGITT, M.; SMITH, M. E.; URI, N. D. Alternative measures of pesticide use. *The Science of the Total Environment*, v. 203, p. 229-244, 1997.
- BOOTH, M. Opium: a history. Londres: Simon & Schuster LTD., 1996.
- CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, p. 1-7, 2019.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JR., J. M. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. *Gazeta médica da Bahia*, v. 78, p. 98-106, 2008.
- COITINHO, R. L. B. C.; DE OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JR., M. G. C.; DA CÂMARA, C. A. G. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (coleoptera: curculionidae) em milho armazenado. *Revista caatinga*, v. 19, p. 176-182, 2006.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1830, p. 3670-3695, 2013.
- DE FARIAS DIAS, A. An improved high yield synthesis of dehydrodieugenol. *Phytochemistry*, v. 27, p. 3008-3009, 1988.

- DEVI, K. P.; NISHA, S. A.; SAKTHIVEL, R.; PANDIAN, S. K. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of Ethnopharmacology*, v.130, p. 107-115, 2010.
- DOS SANTOS, N.P.; PINTO, A. C. “A mata é sua farmácia” - A pesquisa de plantas brasileiras para o combate de doenças tropicais no século XIX. *Revista Virtual de Química*, v. 4, p. 162-172, 2012.
- DUKE, S. O.; CANTRELL, C. L.; MEEPAGALA, K. M.; WEDGE, D. E.; TABANCA, N.; SCHRADER, K. K. Natural toxins for use in pest management. *Toxins*, v. 2, p. 1943-1962, 2010.
- EVANGELISTA, R. S.; PEREIRA, L. C.; DE SOUZA, L. A.; COSTA, A. V.; DA SILVA, D. A.; DE OLIVEIRA, F. M.; VAZ, B. G.; BRESSAN, G. C.; FIETTO, J. R.; TEIXEIRA, R. R. Synthesis and Evaluation of the Antileishmanial Activity of Novel Eugenol Analogs Containing 1,2,3-Triazole Fragments against Intracellular *Leishmania braziliensis*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 34, p. 1810-1824, 2023.
- FENG, J.; LIPTON, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology*, v. 26, p. 1775-1778, 1987.
- FUJISAWA, S.; KASHIWAGIA, Y.; ATSUMIB, T.; IWAKURAC, I.; UEHA, T.; HIBINO, Y.; YOKOE, I. Application of bis-eugenol to a zinc oxide eugenol cement. *Journal of Dentistry*, v. 27, p. 291-295, 1999.
- GRECCO, S. S.; COSTA-SILVA, T. A.; JERZ, G.; DE SOUSA, F. S.; CONSERVA, G. A. A.; MESQUITA, J. T.; GALUPPO, M. K.; TEMPONE, A. G.; NEVES, B. J.; ANDRADE, C. H.; CUNHA, R. L. O. R.; UEMI, M.; SARTORELLI, P.; LAGO, J. H. G. Antitrypanosomal activity and evaluation of the mechanism of action of dehydrodieugenol isolated from *Nectandra leucantha* (Lauraceae) and its methylated derivative against *Trypanosoma cruzi*. *Phytomedicine*, v. 24, p. 62-67, 2017.
- GÜLÇİN, I. Antioxidant Activity of Eugenol: A Structure–Activity Relationship Study. *Journal of Medicinal Food*, v. 14, p. 975-985, 2011.
- KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. *Molecules*, v. 17, p. 6953-6981, 2012.

- KAUFMAN, T. S.; RÚVEDA, E. A. The Quest for Quinine: Those Who Won the Battles and Those Who Won the War. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 44, p. 854-885, 2005.
- KIM, B. G.; KIM, J. Y.; YI, Y.; LIM, Y. Biotransformation of Eugenol to Bis-eugenol by *kalopanax pictus* Cell Culture. *Journal of the Korean Society Applied Biological Chemistry*, v. 55, p. 677-680, 2012.
- KURIAN, R.; ARULMOZHI, D. K.; VEERANJANEYULU, A.; BODHANKAR, S. L. Effect of eugenol on animal models of nociception. *Indian Journal of Pharmacology*, v. 38, p. 341-345, 2006.
- LIMA, A. M. A.; DE PAULA, W. T.; LEITE, I. C. H. L.; GAZOLLA, P. A. R.; DE ABREU, L. M.; FONSECA, V. R.; ROMÃO, W.; LACERDA JR., V.; DE QUEIROZ, V. T.; TEIXEIRA, R. R.; COSTA, A. V. Synthesis of Eugenol-Fluorinated Triazole Derivatives and Evaluation of Their Fungicidal Activity. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 33, p. 1200-1210, 2022.
- LOISELEUR, O. Natural Products in the Discovery of Agrochemicals. *Chimia*, v. 71, p. 810-821, 2017.
- MARKOWITZ, K.; MOYNIHAN, M.; LIU, M.; KIM, S. Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. A clinically oriented review. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, v. 73, p. 729-737, 1992.
- MARTINEZ, S. T.; ALMEIDA, M. R.; PINTO, A. C. Alucinógenos naturais: um voo da Europa medieval ao Brasil. *Química Nova*, v. 32, p. 2501-2507, 2009.
- MONTARI, C.A; DA SILVA BOLZANI, V. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, v. 24, p. 105-111, 2001.
- MURAKAMI, Y.; SHOJI, M.; HANAZAWA, S.; TANAKA, S.; FUJISAWA, S. Preventive effect of bis-eugenol, a eugenol ortho dimer, on lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and inflammatory cytokine expression in macrophages. *Biochemical Pharmacology*, v. 66, p. 1061-1066, 2003.
- MURAKAMI, Y.; SHOJI, M.; HIRATA, A.; TANAKA, S.; YOKOE, I.; FUJISAWA, S. Dehydrodiisoeugenol, an isoeugenol dimer, inhibits lipopolysaccharide-stimulated nuclear

- factor kappa B activation and cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 434, p. 326-332, 2005.
- NEWMAN, D. J. Natural products and drug discovery. *National Science Review*, v. 9, p. 1-21, 2022.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, v. 83, p. 770-803, 2020.
- PATHAK, S. B.; NIRANJAN, K.; PADH, H.; RAJANI, M. TLC Densitometric Method for the Quantification of Eugenol and Gallic Acid in Clove. *Chromatographia*, v. 60, p. 241-244, 2004.
- PAWAR, H. A. Natural Product as a Source of Lead to the Design of New Drugs. *Natural Products Chemistry & Research*, v. 2, 2014.
- PRAMOD, K.; ANSARIB, S. H.; ALI, A. Eugenol: A Natural Compound with Versatile Pharmacological Actions. *Natural Product Communications*, v.5, p. 1999-2006, 2010.
- RODRIGUES, L. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DE OLIVEIRA, M. R.; NÉRIS, P. L. N.; BORGES, F. V. P.; MIOSO, R. Synthesis and Antileishmanial Activity of Natural Dehydrodieugenol and Its Mono and Dimethyl Ethers. *Chem. Biodivers.*, v. 13, 2016.
- STETTER, J.; LIEB, F. Innovation in crop protection: trends in research. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 39, p. 1724-1744, 2000.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 146, p. 274- 286, 2018.
- ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, p. 1-13, 2021.
- VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; DE LIRA, A. D.; DE ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.43, p. 1069-1074, 2008.
- VIEGAS JR, C.; DA SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, p. 326-337, 2006.

ZHANG, P.; DUAN, C.; JIN, B.; ALI, A. S.; HAN, X.; ZHANG, H.; ZHANG, M.; ZANG, W.;
GU, Y. Recent advances in the natural products-based lead discovery for new agrochemicals.
Advanced Agrochem, v. 2, p. 324-339, 2023.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS*-EUGENOL

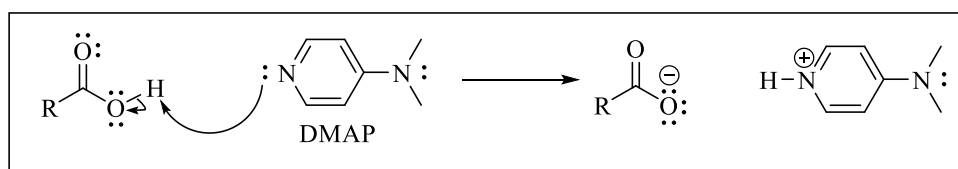
2.1 REAÇÃO DE STEGLICH

Desenvolvida por Wolfgang Steglich e Bernhard Neises, a reação de Steglich (também conhecida como esterificação de Steglich) é um método bastante utilizado para a preparação de ésteres. O processo foi descrito pela primeira vez em 1978 no artigo intitulado “*Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids*” e é uma adaptação de uma metodologia de amidação realizada com a dicicloexilcarbodiimida (DCC). A reação ocorre entre ácidos carboxílicos e álcoois ou tióis, na presença do agente de acoplamento DCC e o catalisador nucleofílico 4-(dimetilamino)-piridina (DMAP). O processo de esterificação é usualmente conduzido à temperatura ambiente e o solvente utilizado tipicamente é o diclorometano (NEISES e STEGLICH, 1978).

O mecanismo proposto para o processo de esterificação de Steglich consiste nas etapas representadas nos esquemas a seguir.

No Esquema 1 observa-se a captura de um próton do grupo carboxila do ácido realizada pelo catalisador DMAP.

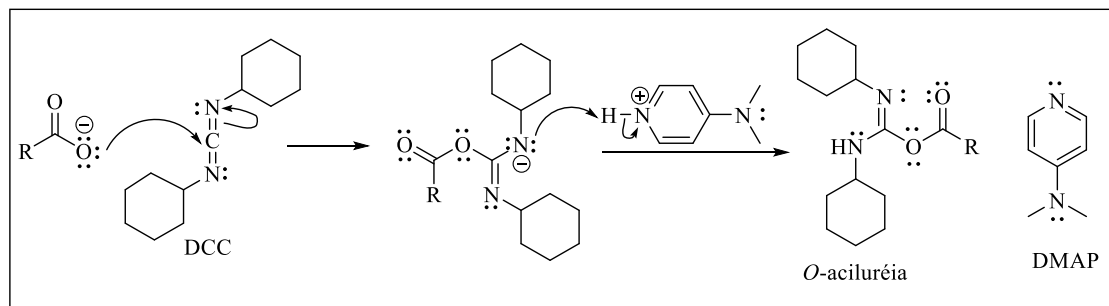
Esquema 1. Reação ácido-base entre DMAP e o ácido carboxílico.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Subsequentemente, um par de elétrons livres do carboxilato formado realiza uma nova ligação com o carbono imídico da DCC e após uma transferência de prótons há a formação da *O*-acilureia.

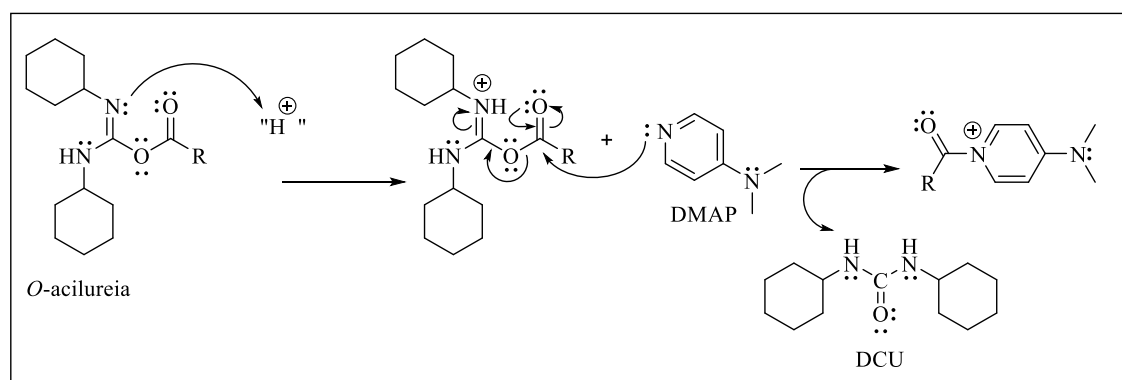
Esquema 2. Reação de formação da *O*-acilureia.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Na sequência, (Esquema 3) a *O*-acilureia captura um próton do meio reacional e o intermediário protonado sofre um ataque nucleofílico da DMAP. Em seguida, há eliminação da dicicloexilureia (DCU), com formação de um composto acilado contendo um cátion imínio.

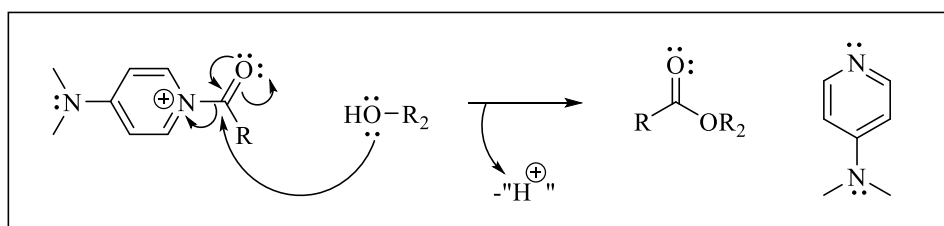
Esquema 3. Reação da *O*-acilureia com DMAP.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Na etapa final (Esquema 4), um par de elétrons não compartilhado de uma molécula de álcool ataca o carbono carbonílico da espécie formada, gerando então o éster.

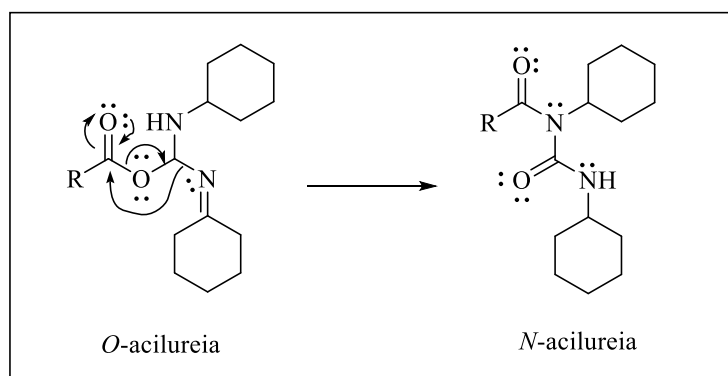
Esquema 4. Etapa final da reação de Steglich.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Além de catalisador, o DMAP também é responsável por impedir o rearranjo 1,3 da espécie reativa *O*-acilureia na espécie inerte *N*-acilureia, evitando o comprometimento do rendimento da reação. No Esquema 5, é mostrada a conversão do intermediário *O*-acilureia em *N*-acilureia nas reações de acoplamento sem a presença do catalisador DMAP.

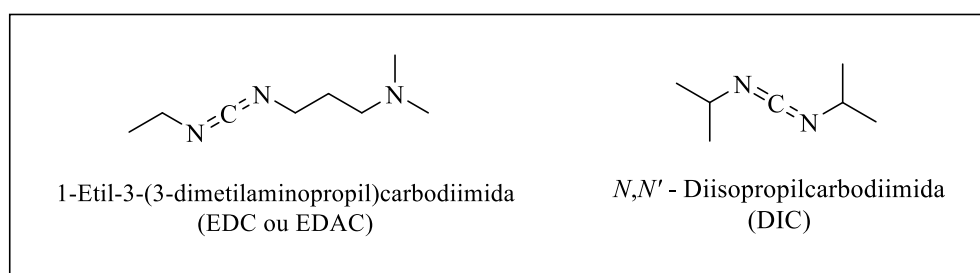
Esquema 5. Conversão da *O*-acilureia em *N*-acilureia.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Além do dicitloexilcarbodiimida (DCC), outros agentes de acoplamento podem ser utilizados em uma reação de esterificação de Steglich, como a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC ou EDAC) e a *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC), cujas estruturas estão mostradas na Figura 1 a seguir.

Figura 1. Estruturas dos agentes de acoplamento EDC ou EDAC e DIC.



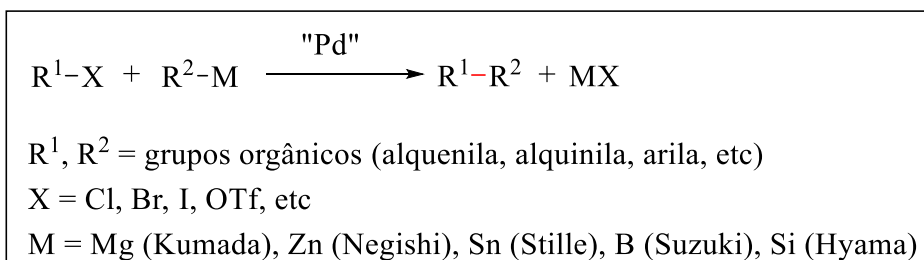
Fonte: Elaborada pela própria autora.

2.2 ACOPLAMENTO OXIDATIVO DE COMPOSTOS AROMÁTICOS

O termo reação de acoplamento relaciona-se à direta formação de ligações C-C entre dois fragmentos moleculares contendo átomos de carbono (HUANG *et al.*, 2015). A reação entre haletos (ou pseudo-haletos) e reagentes organometálicos, tipicamente catalisada por complexos de paládio, é um exemplo típico de processo de acoplamento e é designada na literatura como acoplamento cruzado (DIEDERICH e STANG, 1998; MEIJERE e DIEDERICH, 2004). O

Esquema 6 contém uma equação geral do processo de acoplamento cruzado e a nova ligação C-C formada é destacada em vermelho.

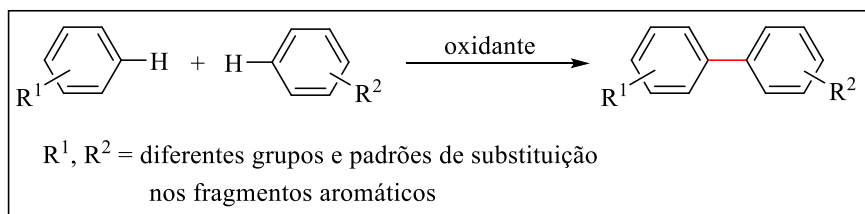
Esquema 6. Equação geral para a reação de acoplamento cruzado.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Os acoplamentos oxidativos, por sua vez, são reações nas quais duas entidades moleculares são acopladas por meio de processos oxidativos (HUANG *et al.*, 2015). Compostos aromáticos sofrem este tipo de transformação, que pode ser descrita pela equação geral mostrada no Esquema 7 (GRZYBOWSKY *et al.*, 2013; GRZYBOWSKY *et al.*, 2020). A nova ligação C-C formada é destacada em vermelho.

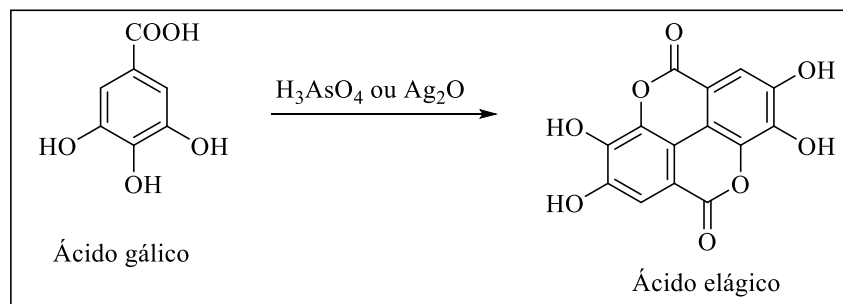
Esquema 7. Equação geral para a reação de acoplamento oxidativo envolvendo compostos aromáticos



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Este tipo de reação é promovida por diferentes oxidantes tais como FeCl_3 , AlCl_3 , MoCl_5 , $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, CoF_3 , 2,3-dicloro-5,6-diciano-*p*-benzoquinona (DDQ) e $\text{PhI}(\text{OCOCF}_3)_2$. O primeiro acoplamento oxidativo utilizando compostos aromáticos foi publicado em 1868, envolvendo a formação do ácido elágico a partir do ácido gálico, promovida por óxido de prata ou ácido arsênico (Esquema 8, pg. 20) (GRZYBOWSKY *et al.*, 2013).

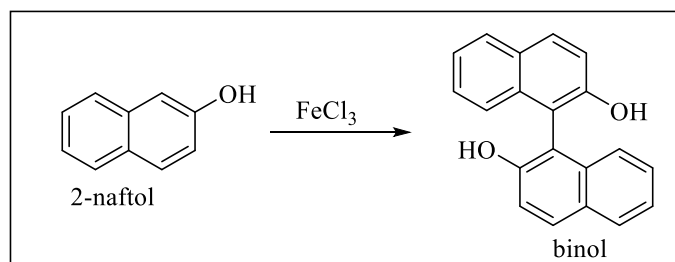
Esquema 8. Preparação do ácido elágico a partir do ácido gálico via acoplamento oxidativo.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Dois anos mais tarde, demonstrou-se que fenóis e éteres fenílicos, na presença de sais de ferro como FeCl_3 ou $\text{K}_3\text{Fe}[(\text{CN})_6]$, sofrem este tipo de transformação (GRZYBOWSKY *et al.*, 2013), conforme mostrado no Esquema 9 para a conversão do 2-naftol em 1,1'-bi-2-naftol (binol).

Esquema 9. Oxidação do 2-naftol em binol.



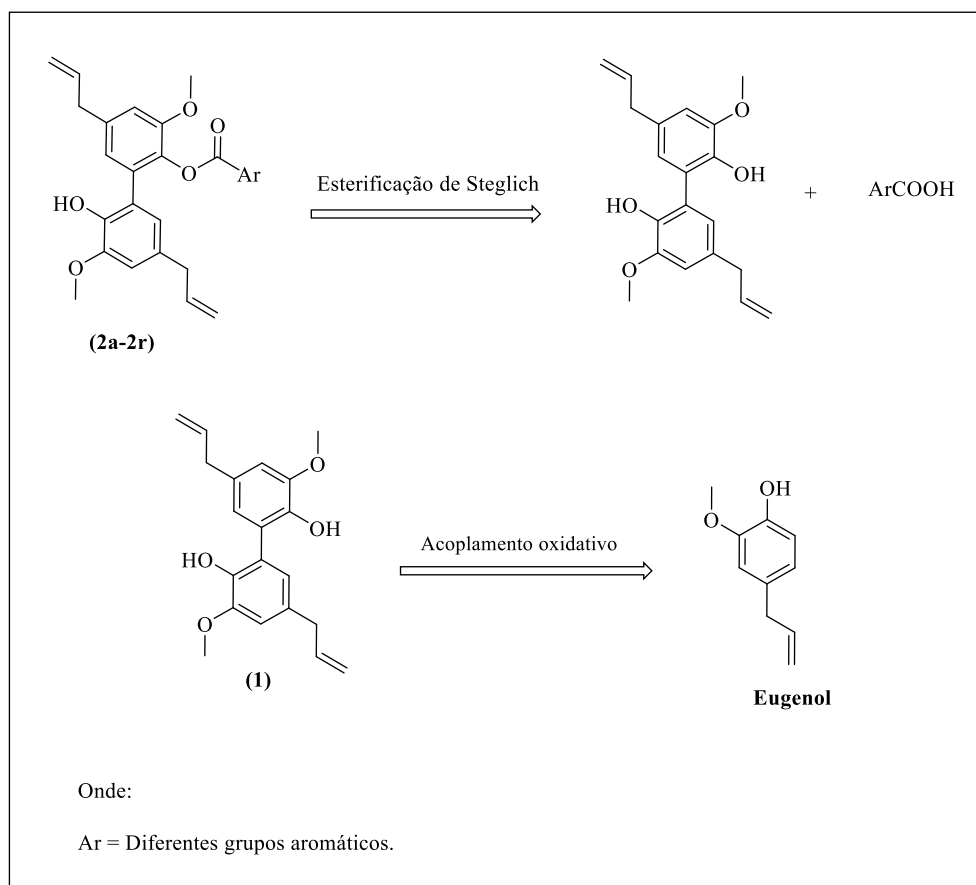
Fonte: Elaborado pela própria autora.

Desde então, uma miríade de compostos tem sido preparada via acoplamento oxidativo (GRZYBOWSKY *et al.*, 2013; GRZYBOWSKY *et al.*, 2020). Ademais, a utilidade deste processo tem sido demonstrada na preparação de diversas substâncias de origem natural (CARSON e KOSLOWSKI, 2023).

2.3 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA E A SÍNTESE DOS ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS*-EUGENOL

No Esquema 10 (pg. 21), está representado o plano sintético delineado para a obtenção dos ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**).

Esquema 10. Análise retrossintética para a preparação dos ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**).



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Conforme representado no Esquema 10, a etapa final para a obtenção dos ésteres **2a-2r** envolve a reação de Steglich entre o *bis*-eugenol (**1**) e diferentes ácidos carboxílicos. A obtenção do *bis*-eugenol (**1**), por sua vez, foi planejada via reação de acoplamento oxidativo do eugenol. Neste capítulo serão descritas a síntese dos ésteres **2a-2r**, realizada de acordo com o planejamento mostrado no Esquema 10, bem como a caracterização destes compostos.

2.4 MATERIAIS E MÉTODOS

2.4.1 Generalidades metodológicas

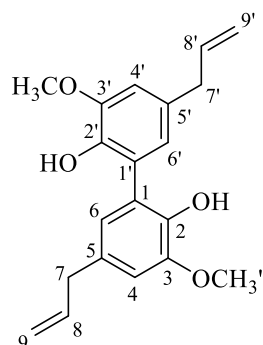
Foram utilizados reagentes de grau P.A. para a síntese dos compostos. As substâncias eugenol, ácido 2-metilbenzóico, ácido 3-metilbenzóico, ácido 4-metilbenzóico, ácido 2-fluorobenzóico, ácido 3-fluorobenzóico, ácido 4-fluorobenzoico, ácido 2-clorobenzoico, ácido 3-clorobenzóico, ácido 4-clorobenzóico, ácido 2-bromobenzoico, ácido 3-bromobenzoico, ácido 4-bromobenzóico, ácido 2-iodobenzóico, ácido 3-iodobenzóico, ácido 4-iodobenzóico, ácido 2-nitrobenzoico, ácido 3-nitrobenzóico, ácido 4-nitrobenzoico, DIC (*N,N*-diisopropilcarbodiimida) e DMAP (4-*N,N'*-dimetilaminopiridina) foram adquiridas comercialmente da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e utilizados sem prévia purificação. Acetona foi adquirida da Química Moderna (Recife, Pernambuco, Brasil). O ferrocianeto de potássio e ácido clorídrico foram adquiridos comercialmente da Fmaia (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). Hidróxido de amônia foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). O tetraidrofurano foi adquirido da Êxodo Científica (Sumaré, São Paulo, Brasil). Os solventes diclorometano, acetato de etila e hexano foram adquiridos da Neon (Suzano, São Paulo, Brasil) e utilizados após destilação realizada por meio do evaporador rotativo.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio. Após a eluição, as placas CCD foram observadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 , 5 mL de NaOH 5% m v⁻¹, 300 mL de água destilada). As separações em coluna cromatográfica foram realizadas utilizando-se sílica-gel (70–230 mesh) como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados após destilação realizada por meio de evaporador rotativo.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302. Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660 com acessório GladiATR na região de 4000 a 500 cm⁻¹. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H, 300 MHz) e de carbono (RMN de ¹³C, 75 MHz) foram obtidos em espectrômetro VARIAN MERCURY 300. Foram utilizados como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3) e dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$). As constantes de acoplamento escalar (*J*) foram expressas em Hertz (Hz).

2.4.2 Procedimentos experimentais

2.4.2.1 Síntese do 5,5'-dialil-3,3'-dimetoxi[1,1'-bifenil]-2,2'-diol (*bis-eugenol*) (1)



Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo uma solução de eugenol (1,00 g, 6,10 mmol, 1,00 equivalente) em uma mistura de acetona-água destilada (2:1 v v⁻¹, 30 mL), 18 mL de NH₄OH aquoso foram adicionados e a mistura foi agitada por 10 minutos. Em seguida, uma solução aquosa saturada de K₃Fe(CN)₆ (2,00 g, 6,10 mmol, 1,00 equivalente) foi adicionada, gota a gota, durante um período de aproximadamente 5 horas. Decorrido este período, 18 mL de NH₄OH aquoso foram adicionados e a mistura de reação resultante foi agitada por 16 horas à temperatura ambiente e depois neutralizada com HCl (solução aquosa 37% m v⁻¹). Houve a formação de um precipitado sólido que foi filtrado, lavado com água destilada e seco sob pressão reduzida. O produto bruto foi cristalizado a partir de diclorometano e obtido como um sólido amarelo palha com 97% (0,969 g, 3,05 mmol) de rendimento.

Característica: Sólido amarelo palha.

CCD: R_f = 0,38 (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 104–105 °C [literatura 106–107 °C (De Farias Dias, 1988)].

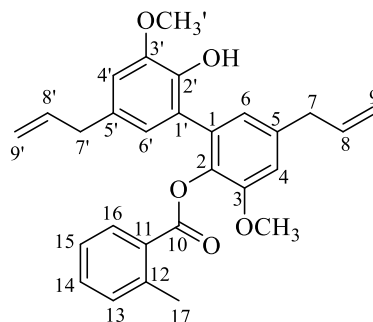
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3275, 2999, 2948, 2908, 2881, 2830, 1699, 1636, 1508, 1461, 1420, 1377, 1326, 1248, 1183, 1140, 1052, 998, 947, 899, 841, 801, 732, 668, 612, 557, 501, 436. O espectro é apresentado na Figura 2, página 49.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,36 (d, 4H, $J = 6,7$ Hz, H-7/H-7'); 3,87 (s, 6H, OCH₃/OCH₃'); 5,16-4,99 (m, 4H, H-9/H-9'); 5,45 (s, 2H, OH); 5,98 (ddt_{ap}, 2H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{(H-8'/H-8)/(H-7'/H-7)} = 6,6$ Hz, H-8/H-8'); 6,69 (d, 2H, $J = 2,0$ Hz, H-4/H-4'); 6,78 (d, 2H, $J = 2,0$ Hz, H-6/H-6'). O espectro é apresentado na Figura 3, página 50.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 40,16 (C-7/C-7'); 55,99 ($\text{OCH}_3/\text{OCH}_3'$); 110,67 (C-4/C-4'); 115,60 (C-9/C-9'); 123,20 (C-6/C-6'); 126,17 (C-1/C-1'); 130,95 (C-5/C-5'); 138,02 (C-8/C-8'); 142,81 (C-2/C-2'); 148,37 (C-3/C-3'). O espectro é apresentado na Figura 4, página 51.

2.4.2.2 Síntese dos ésteres (2a-2r) derivados do *bis*-eugenol

2.4.2.2.1 Síntese do 2-metilbenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2a)



Em um balão de fundo redondo de 25 mL contendo o ácido 2-metilbenzóico (0,0620 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente) dissolvido em 3 mL de diclorometano, foram adicionados *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 1 hora. Após o término da reação, evidenciado por análise por CCD, adicionaram-se 5 mL de água destilada e realizou-se a extração da fase aquosa com diclorometano (3 x 10 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto **2a** foi purificado a partir do resíduo por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila-diclorometano (3:1:1 v v⁻¹). O procedimento descrito resultou na obtenção de **2a** como um óleo amarelo claro (0,173 g, 0,390 mmol) com 87% de rendimento.

Característica: óleo amarelo claro.

CCD: $R_f = 0,68$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

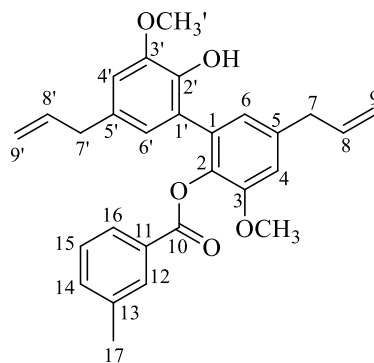
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3517, 3074, 3001, 2967, 2932, 2841, 2362, 2111, 1736, 1638, 1588, 1495, 1457, 1416, 1344, 1243, 1197, 1136, 1041, 993, 963, 910, 866, 844, 800, 735, 691, 667, 598, 548, 487, 452. O espectro é apresentado na Figura 5, página 54.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,49 (s, 3H, H-17); 3,26 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,45 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,85 (s, 3H, OCH_3'); 3,86 (s, 3H, OCH_3); 4,93–5,04 (m, 2H, H-9); 5,07–5,21 (m, 2H, H-9); 5,85 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,8$ Hz, H-8'); 6,02 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,7$ Hz, H-8); 6,64 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-4'); 6,69 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-4); 6,83 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-6'); 6,91 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-6); 7,12–7,24 (m, 2H, H-13/H-14); 7,33–7,41 (m, 1H, H-15); 7,84 (dd, 1H, $J_{orto} = 7,8$ Hz, $J_{meta} = 1,5$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 6, página 55.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,35 (C-17); 39,07 (C-7'); 40,91 (C-7); 56,21 ($\text{OCH}_3/\text{OCH}_3'$); 110,85 (C-4'); 112,19 (C-4); 115,67 (C-9); 116,35 (C-9'); 123,01 (C-6); 123,15 (C-6'); 123,56 (C-1'); 126,19 (C-15); 129,52 (C-11); 130,98 (C-16); 131,08 (C-13); 131,43 (C-1); 131,88 (C-14); 132,01 (C-5'); 136,30 (C-5); 137,20 (C-8); 137,68 (C-8'); 138,37 (C-2); 140,50 (C-12); 141,47 (C-2'); 146,02 (C-3'); 151,66 (C-3); 165,69 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 7, página 56.

Os compostos **2b–2r** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **2a**. A seguir, estão descritas as informações relativas às reações e os dados obtidos para a identificação de cada substância.

2.4.2.2 Síntese do 3- metilbenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2b**)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,162 g, 0,364 mmol) com 81% de rendimento a partir do ácido 3-metilbenzóico (0,0610 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 4 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

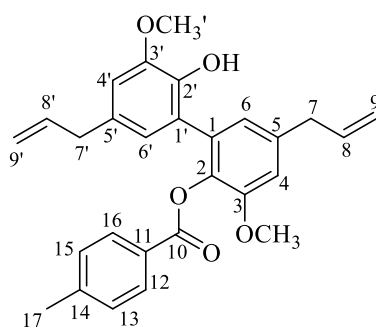
CCD: $R_f = 0,68$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3511, 3075, 3003, 2973, 2851, 2361, 2112, 1734, 1638, 1588, 1496, 1459, 1418, 1345, 1273, 1231, 1183, 1139, 1087, 994, 912, 841, 804, 599, 549, 490. O espectro é apresentado na Figura 1 (pg. 82) no anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,35 (s, 3H, H-17); 3,22 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,43 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,81 (s, 6H, $\text{OCH}_3/\text{OCH}_3'$); 4,87–5,01 (m, 2H, H-9'); 5,04–5,21 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 1H, OH); 5,80 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,1$ Hz, $J_{\text{H-8'}/\text{H-7'}} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8}/\text{H-7}} = 6,8$ Hz, H-8); 6,58 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,67 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-4); 6,84 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,21–7,37 (m, 2H, H-14/H-15); 7,82 (ddd, 2H, $J_{\text{orto}} = 7,7$ Hz; $J_{\text{meta}} = 1,6$ Hz; $J_{\text{para}} = 0,8$ Hz, H-12/H-16). O espectro é apresentado na Figura 2 (pg. 83) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,31 (C-17); 39,89 (C-7); 40,32 (C-7'); 56,14 (OCH_3); 56,20 (OCH_3'); 110,78 (C-4'); 112,12 (C-4); 115,60 (C-9); 116,34 (C-9'); 123,03 (C-6); 123,15 (C-6'); 123,33 (C-1); 127,43 (C-16); 128,22 (C-11); 129,71 (C-15); 130,80 (C-12); 130,98 (C-1); 131,82 (C-5'); 133,88 (C-14); 136,24 (C-5); 137,18 (C-8); 137,67 (C-8'); 138,07 (C-13); 138,37 (C-2); 141,42 (C-2'); 146,73 (C-3'); 151,71 (C-3'); 164,85 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 3 (pg. 84) no anexo.

2.4.2.2.3 Síntese do 4- metilbenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2c)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,120 g, 0,270 mmol) com 60% de rendimento a partir do ácido 4-metilbenzóico (0,0600 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 4 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

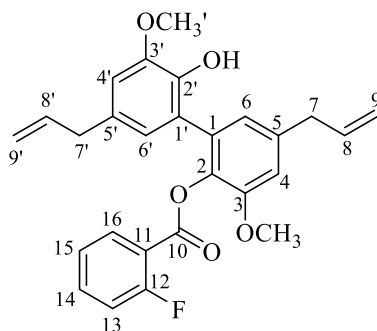
CCD: $R_f = 0,62$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3498, 3073, 3001, 2960, 2922, 2850, 2111, 1732, 1673, 1638, 1609, 1587, 1495, 1456, 1416, 1345, 1264, 1198, 1175, 1137, 1067, 1044, 992, 909, 837, 801, 745, 687, 596, 546, 474. O espectro é apresentado na Figura 4 (pg. 85) no anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,38 (s, 3H, H-17); 3,22 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 6H, $\text{OCH}_3/\text{OCH}_3'$); 4,91–4,99 (m, 2H, H-9'); 5,08–5,19 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 1H, OH); 5,80 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8'/H-7}} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8/H-7}} = 6,8$ Hz, H-8); 6,58 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,67 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,83 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,87 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,16–7,21 (m, 2H, H-13/H-15); 7,89–7,94 (m, 2H, H-12/H-16). O espectro é apresentado na Figura 5 (pg. 86) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,66 (C-17); 39,76 (C-7'); 40,19 (C-7); 56,03 (OCH_3); 56,09 (OCH_3'); 110,66 (C-4'); 112,01 (C-4); 115,48 (C-9); 116,21 (C-9'); 122,91 (C-6); 123,04 (C-6'); 123,24 (C-1'); 126,89 (C-11); 128,91 (C-13/C-15); 130,23 (C-12/C-16); 130,85 (C-1); 131,70 (C-5'); 136,13 (C-5); 137,06 (C-8); 137,56 (C-8'); 138,20 (C-2); 141,28 (C-12); 143,70 (C-2'); 146,60 (C-3'); 151,61 (C-3); 164,61 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 6 (pg. 87) no anexo.

2.4.2.2.4 Síntese do 2-fluorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2d)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,181 g, 0,404 mmol) com 87% de rendimento a partir do ácido 2-flúorbenzóico (0,0630 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,00 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 4 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

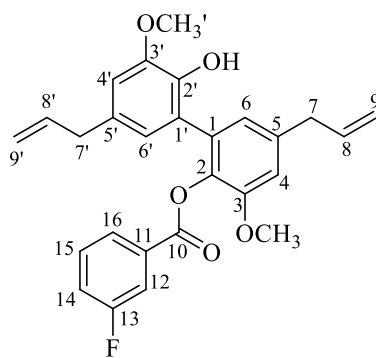
CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3315, 3076, 2971, 2934, 2361, 2111, 1747, 1703, 1640, 1612, 1587, 1489, 1453, 1417, 1341, 1246, 1229, 1196, 1138, 1045, 994, 914, 848, 801, 745, 687, 596, 546, 474. O espectro é apresentado na Figura 7 (pg. 88) no anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,24 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7'); 3,43 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,83 (s, 3H, OCH_3'); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 4,90–5,02 (m, 2H, H-9'); 5,06–5,19 (m, 2H, H-9); 5,62 (s, 1H, OH); 5,83 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8'/H-7'}} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,00 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8/H-7}} = 6,8$ Hz, H-8); 6,61 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4'); 6,69 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,8 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,04–7,23 (m, 3H, H-13/H-14/H-15); 7,86 (td, 1H, $J_{\text{orto}} = 7,5$ Hz, $J_{\text{meta}} = 1,8$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 8 (pg. 89) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,88 (C-7'); 40,28 (C-7); 56,17 (OCH_3); 56,22 (OCH_3'); 110,81 (C-4'); 112,13 (C-4); 115,58 (C-9); 116,02 (C-9'); 116,30 (C-13); 116,78-117,07 (C-17); 123,03 (C-6); 123,16 (C-6'); 123,82-123,87 (C-15); 124,70-124,75 (C-16); 131,03 (C-1'); 131,60 (C-1); 132,54 (C-5'); 134,54 (C-5); 134,66 (C-14); 137,12 (C-8); 137,68 (C-8'); 138,52 (C-2); 141,46 (C-2'); 146,75 (C-3'); 151,56 (C-3); 159,65-160,50 (C-12); 161,85-161,90 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 9 (pg. 90) no anexo.

2.4.2.2.5 Síntese do 3-fluorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2e)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,136 g, 0,303 mmol) com 67% de rendimento a partir do ácido 3-flúorbenzóico (0,0630 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), bis-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,080 mL, 0,500 mmol, 1,00 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 20 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

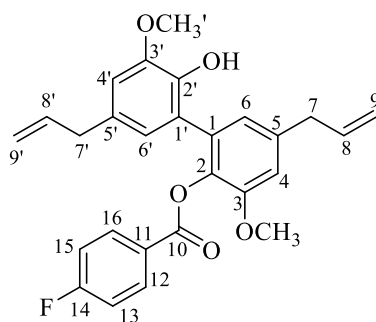
CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3530, 3077, 2969, 2634, 2357, 2112, 1741, 1674, 1590, 1486, 1448, 1418, 1345, 1269, 1231, 1184, 1139, 1079, 1046, 994, 916, 843, 803, 748, 674, 550. O espectro é apresentado na Figura 10 (pg. 91) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,83 (s, 6H, OCH₃/OCH₃'); 4,90–5,00 (m, 2H, H-9'); 5,05–5,19 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 1H, OH); 5,81 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,1$ Hz; $J_{H-8'/H-7} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz; $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,60 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4'); 6,66 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,84 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,21 (dd, 1H, $J_{orto} = 9,4$ Hz, $J_{meta} = 2,7$ Hz, H-14); 7,36 (td, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-15); 7,65–7,72 (m, 1H, H-12), 7,81 (dt, 1H, $J_{orto} = 7,7$ Hz, $J_{meta} = 1,3$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 11 (pg. 92) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,89 (C-7'); 40,33 (C-7); 56,04 (OCH₃); 56,08 (OCH₃'); 110,84 (C-4'); 112,16 (C-4); 115,68 (C-9); 116,42 (C-9'); 116,97-117,27 (C-12); 120,05-120,33 (C-14); 122,98 (C-6); 123,18 (C-6'); 129,91-130,01 (C-16); 131,10 (C-15); 131,78 (C-11); 131,95 (C-1); 132,05 (C-5'); 135,98 (C-5); 137,12 (C-8); 137,62 (C-8'); 138,65 (C-2); 141,42 (C-2'); 146,70 (C-3'), 151,57 (C-3); 163,50-163,54 (C-13); 164,17 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 12 (pg. 93) no anexo.

2.4.2.2.6 Síntese do 3-fluorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2f)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,148 g, 0,330 mmol) com 74% de rendimento a partir do ácido 3-fluorobenzoico (0,0630 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), bis-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 2 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

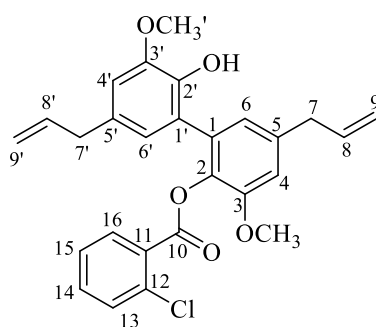
CCD: $R_f = 0,69$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3522, 3076, 3003, 2970, 2926, 2848, 2112, 1738, 1638, 1602, 1505, 1460, 1413, 1345, 1264, 1200, 1139, 1069, 1046, 1013, 994, 913, 851, 795, 760, 685, 613, 548, 500. O espectro é apresentado na Figura 13 (pg. 94) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,22 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,43 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,82 (s, 6H, OCH₃/OCH₃'); 4,90–4,98 (m, 2H, H-9'); 5,06-5,19 (m, 2H, H-9); 5,80 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,1$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,00 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,9$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,59 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,65 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4); 6,84 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,87 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 6,99–7,18 (m, 2H, H-13/H-15); 7,97–8,05 (m, 2H, H-12/H-16). O espectro é apresentado na Figura 14 (pg. 95) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 139,86 (C-7'); 40,76 (C-7); 56,15 (OCH₃); 56,20 (OCH₃'); 110,77 (C-4'); 112,13 (C-4); 115,32 (C-9); 115,61 (C-13/C-15); 116,38 (C-9'); 122,96 (C-6); 123,16 (C-6'); 123,21 (C-1'); 126,02-126,06 (C-11); 131,02 (C-1); 131,78 (C-5'); 132,78/132,90 (C-12/C-16); 136,04 (C-5); 137,12 (C-8); 137,63 (C-8'); 138,53 (C-2); 141,37 (C-2'); 146,68 (C-3'); 151,63 (C-3); 163,66 (C-10); 164,26-167,62 (C-14). O espectro é apresentado na Figura 15 (pg. 96) no anexo.

2.4.2.2.7 Síntese do 2-clorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2g)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,102 g, 0,220 mmol) com 49% de rendimento a partir do ácido 2-clorobenzoico (0,0710 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 18 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

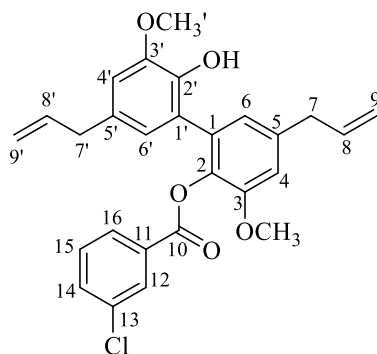
CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3389, 3071, 2966, 2926, 2112, 1717, 1677, 1637, 1499, 1455, 1416, 1341, 1269, 1246, 1181, 1136, 1095, 1044, 993, 965, 866, 842, 804, 742, 644, 594, 548, 488, 467. O espectro é apresentado na Figura 16 (pg. 97) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,28 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,86 (s, 3H, OCH₃'); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 4,95–5,06 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,19 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 1H, OH); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz; $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,00 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 17,0$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,7$ Hz, H-8); 6,65 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,69 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,20–7,26 (m, 1H, H-15); 7,34–7,41 (m, 2H, H-13/H-14); 7,73 (ddd, 1H, $J_{orto} = 7,7$ Hz, $J_{meta} = 1,6$ Hz, $J_{para} = 0,6$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 17 (pg. 98) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,94 (C-7'); 40,31 (C-7); 56,19 (OCH₃); 56,25 (OCH₃'); 110,74 (C-4'); 112,16 (C-4); 115,71 (C-9); 116,42 (C-9'); 122,96 (C-6); 123,12 (C-6'); 123,21 (C-1'); 126,46 (C-15); 129,81 (C-11); 130,95 (C-13); 131,16 (C-16); 131,74 (C-1); 131,80 (C-14); 132,63 (C-5'); 134,12 (C-12); 135,90 (C-5); 137,11 (C-8); 137,70 (C-8'); 138,61 (C-2); 146,72 (C-3'); 151,48 (C-3); 163,31 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 18 (pg. 99) no anexo.

2.4.2.2.8 Síntese do 2-clorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2h)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,149 g, 0,320 mmol) com 71% de rendimento a partir do ácido 3-clorobenzóico (0,0700 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), bis-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 17 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

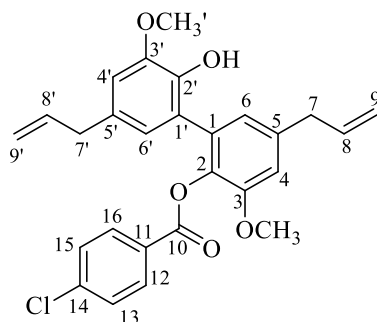
CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3379, 3076, 2967, 2933, 2363, 2112, 1739, 1668, 1587, 1496, 1455, 1417, 1345, 1287, 1247, 1197, 1138, 1064, 990, 911, 841, 808, 740, 673, 654, 598, 547, 492. O espectro é apresentado na Figura 19 (pg. 100) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,24 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,45 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,83 (s, 6H, OCH₃'/OCH₃); 4,92–5,01 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,20 (m, 2H, H-9); 5,64 (s, 1H, OH); 5,83 (dd_{tap}, 1H, $J_{trans} = 16,9$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,02 (dd_{tap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,7$ Hz, H-8); 6,61 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4'); 6,66 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,89 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,33 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-14); 7,50 (ddd, 1H, $J_{orto} = 8,0$ Hz, $J_{meta} = 2,2$ Hz, $J_{para} = 1,1$ Hz, H-15); 7,90 (dt, 1H, $J_{orto} = 7,8$ Hz, $J_{meta} = 1,4$ Hz, H-12); 7,98 (t, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 20 (pg. 101) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,88 (C-7'); 40,32 (C-7); 56,18 (OCH₃); 56,21 (OCH₃'); 110,84 (C-4'); 112,13 (C-4); 115,70 (C-9); 116,44 (C-9'); 122,95 (C-6); 123,09 (C-6'); 123,16 (C-1); 128,38 (C-16); 129,67 (C-11); 130,26 (C-15); 131,11 (C-12); 131,59 (C-1); 131,79 (C-14); 133,16 (C-5'); 134,47 (C-5); 135,95 (C-13); 137,10 (C-8'); 137,62 (C-8); 138,67 (C-2); 141,40 (C-2'); 146,69 (C-3'); 151,55 (C-3); 163,48 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 21 (pg. 102) no anexo.

2.4.2.2.9 Síntese do 4-clorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2i)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,194 g, 0,417 mmol) com 93% de rendimento a partir do ácido 4-clorobenzoico (0,0700 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10

equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,045 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 1 hora.

Característica: óleo amarelo claro.

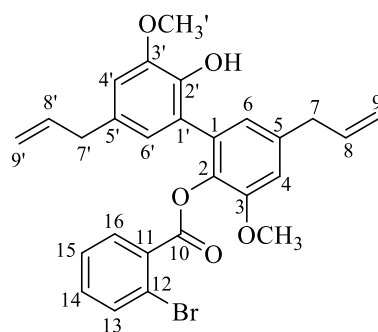
CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3517, 3075, 3002, 2969, 2931, 2845, 2110, 2029, 1737, 1699, 1638, 1590, 1488, 1459, 1418, 1344, 1260, 1199, 1138, 1090, 994, 963, 912, 845, 801, 752, 681, 629, 600, 526, 476, 421. O espectro é apresentado na Figura 22 (pg. 103) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,83 (s, 6H, OCH₃'/OCH₃); 4,90–5,00 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,20 (m, 2H, H-9); 5,81 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,9$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,60 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,65 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,34–7,39 (m, 2H, H-13/H-15); 7,92–7,98 (m, 2H, H-12/H-16). O espectro é apresentado na Figura 23 (pg. 104) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,89 (C-7'); 40,33 (C-7); 56,04 (OCH₃); 56,08 (OCH₃'); 110,78 (C-4'); 112,15 (C-4); 115,67 (C-9); 116,42 (C-9'); 122,96 (C-6); 123,18 (C-6'); 128,29 (C-1'); 128,69 (C-11); 131,07 (C-13/C-15); 131,68 (C-12/C-16); 131,78 (C-1); 135,88 (C-5); 136,99 (C-8); 137,50 (C-8'); 138,47 (C-2); 139,46 (C-14); 141,39 (C-2'); 146,68 (C-3'); 151,60 (C-3); 163,77 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 24 (pg. 105) no anexo.

2.4.2.2.10 Síntese do 2-bromobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2j**)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,185 g, 0,364 mmol) com 81% de rendimento a partir do ácido 2-bromobenzoico (0,0920 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), bis-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10

equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 3 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

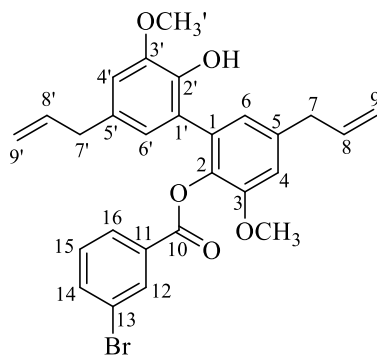
CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3339, 2966, 2927, 1752, 1705, 1615, 1568, 1522, 1462, 1384, 1361, 1245, 1198, 1168, 1129, 1085, 1046, 1023, 915, 865, 744, 636, 527, 451. O espectro é apresentado na Figura 25 (pg. 106) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,28 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,86 (s, 3H, OCH₃'); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 4,95–5,07 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,19 (m, 2H, H-9); 5,60 (s, 1H, OH); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 17,0$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8'/H-7} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,00 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,9$ Hz, H-8); 6,65 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,69 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,87 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,24–7,31 (m, 2H, H-14/H-15); 7,57–7,63 (m, 1H, H-13); 7,67–7,71 (m, 1H, H-16). O espectro é apresentado na Figura 26 (pg. 107) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,97 (C-7'); 40,32 (C-7); 56,21 (OCH₃); 56,26 (OCH₃'); 110,76 (C-4'); 112,19 (C-4); 115,73 (C-9); 116,42 (C-9'); 122,12 (C-12); 122,99 (C-6); 123,12 (C-6'); 123,24 (C-1'); 127,05 (C-15); 130,71 (C-16); 131,20 (C-11); 131,73 (C-13); 131,79 (C-1); 132,65 (C-5'); 133,05 (C-14); 134,26 (C-5); 135,93 (C-5); 137,12 (C-8); 137,73 (C-8'); 138,64 (C-2); 141,47 (C-2'); 146,74 (C-3'); 151,47 (C-3); 163,85 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 27 (pg. 108) no anexo.

2.4.2.2.11 Síntese 3-bromobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2k)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,175 g, 0,344 mmol) com 76% de rendimento a partir do ácido 3-bromobenzoico (0,0940 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente),

bis-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 3 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

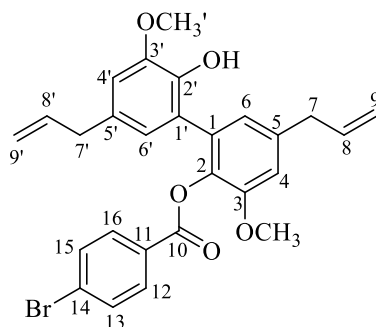
CCD: $R_f = 0,68$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3533, 3379, 3075, 2964, 2924, 2362, 2111, 1739, 1669, 1587, 1495, 1455, 1416, 1345, 1273, 1244, 1197, 1138, 1090, 1044, 991, 911, 842, 803, 738, 710, 671, 649, 598, 546, 484. O espectro é apresentado na Figura 28 (pg. 109) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,24 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz, H-7'); 3,45 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,8 (s, 3H, OCH₃'); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 4,91–5,03 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,22 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 1H, OH); 5,83 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,9$ Hz, $J_{cis} = 10,3$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,02 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,61 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4'); 6,66 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,89 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,27 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-15); 7,66 (ddd, 1H, $J_{orto} = 8,0$ Hz, $J_{meta} = 2,1$ Hz, $J_{para} = 1,1$ Hz, H-14); 7,94 (dt, 1H, $J_{orto} = 7,8$ Hz, $J_{meta} = 1,3$ Hz, H-16); 8,14 (t, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-12). O espectro é apresentado na Figura 29 (pg. 110) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,90 (C-7'); 40,35 (C-7); 56,20 (OCH₃); 56,22 (OCH₃'); 110,84 (C-4'); 112,15 (C-4); 115,73 (C-9); 116,45 (C-9'); 122,42 (C-6); 122,97 (C-13); 123,10 (C-6'); 123,16 (C-1'); 128,84 (C-16); 129,93 (C-11); 131,13 (C-15); 131,80 (C-1); 131,83 (C-5'); 133,20 (C-12); 135,97 C-5); 136,07 (C-14); 137,12 (C-8); 137,64 (C-8'); 138,69 (C-2); 141,42 (C-2'); 146,69 (C-3'); 151,57 (C-3); 163,34 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 30 (pg. 111) no anexo.

2.4.2.2.12 Síntese do 4-bromobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2l**)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,106 g, 0,209 mmol) com 46% de rendimento a partir do ácido 4-bromobenzoico (0,0900 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 1,00 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 22 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

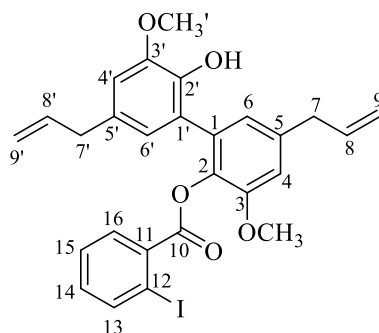
CCD: $R_f = 0,65$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3509, 3075, 3002, 2972, 2934, 2842, 1736, 1673, 1638, 1588, 1486, 1459, 1418, 1345, 1261, 1200, 1138, 1070, 1046, 1010, 912, 842, 801, 749, 679, 598, 548, 493, 465. O espectro é apresentado na Figura 31 (pg. 112) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,83 (s, 3H, OCH₃'); 3,83 (s, 3H, OCH₃); 4,91–5,00 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,20 (m, 2H, H-9); 5,60 (s, 1H, OH); 5,81 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,9$ Hz, $J_{cis} = 10,3$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,7$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,60 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,65 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,51–7,55 (m, 2H, H-13/H-15); 7,85–7,90 (m, 2H, H-12/H-16). O espectro é apresentado na Figura 32 (pg. 113) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,89 (C-7'); 40,32 (C-7); 56,17 (OCH₃); 56,21 (OCH₃'); 110,78 (C-4'); 112,14 (C-4); 11,68 (C-9); 116,42 (C-9'); 122,95 (C-6); 123,17 (C-6'); 128,29 (C-1'); 128,74 (C-14); 131,07 (C-11); 131,69 (C-13/C-15); 131,78 (C-1); 131,80 (C-12/C-16); 135,99 (C-5/C-5'); 137,11 (C-8'); 137,63 (C-8); 139,23 (C-2); 141,38 (C-2'); 146,67 (C-3'); 151,58 (C-3); 163,91 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 33 (pg. 114) no anexo.

2.4.2.2.13 Síntese do 2-iodobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (**2m**)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,206 g, 0,370 mmol) com 82% de rendimento a partir do ácido 2-iodobenzóico (0,112 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada utilizando tetraidrofurano como solvente em temperatura ambiente com duração de 4 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

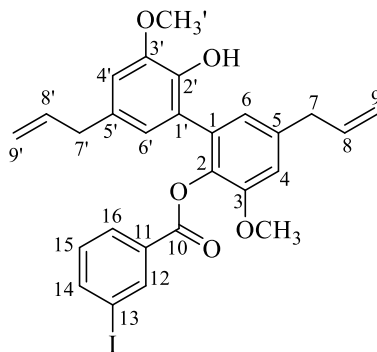
CCD: $R_f = 0,65$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3525, 3396, 3289, 3073, 2970, 2933, 2843, 1747, 1700, 1639, 1586, 1497, 1458, 1419, 1337, 1269, 1241, 1196, 1185, 1137, 1076, 1044, 1011, 912, 845, 809, 739, 674, 638, 594, 548, 442. O espectro é apresentado na Figura 34 (pg. 115) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,28 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7'); 3,43 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,86 (s, 3H, OCH₃'); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 4,93–5,06 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,19 (m, 2H, H-9); 5,60 (s, 1H, OH); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 17$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,9$ Hz, H-8') 6,00 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 17$ Hz, $J_{cis} = 10,1$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,9$ Hz, H-8); 6,65 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,69 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,87 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,31 (td, 1H, $J_{orto} = 7,6$ Hz, $J_{meta} = 1,2$ Hz, H-14); 7,40 (td, 1H, $J_{orto} = 7,5$ Hz, $J_{meta} = 1,1$ Hz, H-15); 7,84(dd, 1H, $J_{orto} = 7,9$ Hz, $J_{meta} = 1,1$ Hz, H-13); 7,95 (dd, 1H, $J_{orto} = 7,9$ Hz, $J_{meta} = 1,2$ Hz, H-16). O espectro é apresentado na Figura 35 (pg. 116) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,99 (C-7'); 40,32 (C-7); 56,25 (OCH₃/OCH₃'); 94,62 (c-12); 110,85 (C-4); 112,23 (C-4'); 115,71 (C-9); 116,39 (c-9'); 123,04 (C-6); 123,15 (C-6'); 126,13 (C-1'); 127,81 (C-15); 131,48 (C-16); 132,74 (C-14); 134,73 (C-5'); 136,02 (C-5); 137,13 (C-1); 137,76 (C-11); 138,63 (C-8); 139,46 (C-8'); 141,27 (C-13); 141,52 (C-2); 143,28 (C-2'); 146,79 (C-3'); 151,50 (C-3); 164,41 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 36 (pg. 117) no anexo.

2.4.2.2.14 Síntese do 3-iodobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2n)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,136 g, 0,244 mmol) com 54% de rendimento a partir do ácido 3-iodobenzóico (0,111 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,045 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada utilizando tetraidrofurano como solvente em temperatura ambiente com duração de 20 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

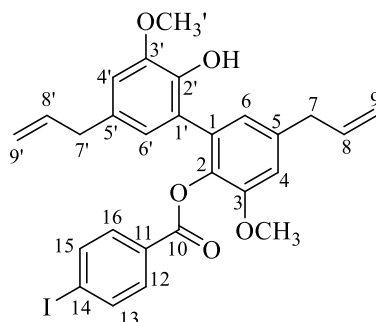
CCD: $R_f = 0,67$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3525, 3075, 2918, 2849, 1740, 1676, 1638, 1589, 1566, 1497, 1459, 1417, 1345, 1276, 1247, 1199, 1139, 1046, 996, 914, 846, 802, 737, 706, 645, 592, 548. O espectro é apresentado na Figura 37 (pg. 118) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,24 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,83 (s, 6H, OCH₃'/OCH₃); 4,92–5,01 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,19 (m, 2H, H-9); 6,60 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,65 (d, 1H, $J = 0,8$ Hz, H-4); 6,84 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz; H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 7,12 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-15); 7,85 (ddd, 1H, $J_{orto} = 7,9$ Hz, $J_{meta} = 1,8$ Hz, H-16); 7,94–7,99 (m, 1H, H-14); 8,32 (t, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-12). O espectro é apresentado na Figura 38 (pg. 119) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,89 (C-7'); 40,32 (C-7); 56,19 (OCH₃/OCH₃'); 93,73 (C-13); 110,81 (C-4); 112,11 (C-4'); 115,73 (C-9); 116,42 (C-9'); 122,93 (C-6); 123,07 (C-6'); 123,13 (C-1'); 129,39 (C-15); 130,03 (C-11); 131,09 (C-16); 131,79 (C-5'); 135,94 (C-5); 137,09 (C-1); 137,63 (C-8); 138,65 (C-8'); 139,01 (C-2); 141,39 (C-14); 141,93 (C-2'); 146,67 (C-3'); 151,54 (C-3); 163,15 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 39 (pg. 120) no anexo.

2.4.2.2.15 Síntese do 4-iodobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2o)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,105 g, 0,189 mmol) com 42% de rendimento a partir do ácido 4-iodobenzóico (0,111 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,00700 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada utilizando tetraidrofurano como solvente em temperatura ambiente com duração de 17 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

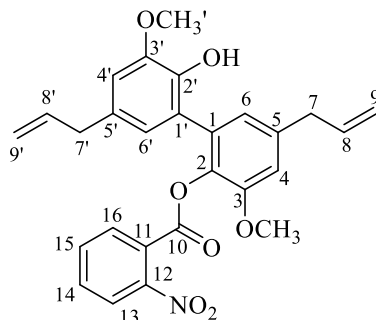
CCD: $R_f = 0,68$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3447, 3074, 3001, 2960, 2925, 2849, 1734, 1638, 1586, 1495, 1458, 1418, 1392, 1344, 1259, 1199, 1175, 1137, 1069, 1044, 1005, 964, 911, 842, 801, 746, 679, 548, 459. O espectro é apresentado na Figura 40 (pg. 121) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH₃'); 3,83 (s, 3H, OCH₃); 4,92–5,00 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,20 (m, 2H, H-9); 5,58 (s, 1H, OH); 5,81 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,9$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,3$ Hz, $J_{\text{H-8'-H-7'}} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,01 (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 19,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz, $J_{\text{H-8/H-7}} = 6,8$ Hz, H-8); 6,60 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,65 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,84 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,88 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,69–7,78 (m, 4H, H-12/H-13/H-15/H-16). O espectro é apresentado na Figura 41 (pg. 122) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,90 (C-7'); 40,34 (C-7); 56,19 (OCH₃); 56,22 (OCH₃'); 101,03 (C-14); 110,79 (C-4); 112,15 (C-4'); 115,70 (C-9); 116,44 (C-9'); 122,96 (C-6); 123,18 (C-6'); 129,33 (C-1'); 131,08 (C-11); 131,72 (C-12/C-16); 131,78 (C-5'); 136,00 (C-5); 137,13 (C-1); 137,65 (C-8/C-8'); 137,72 (C-13/C-15); 138,62 (C-2); 141,39 (C-2'); 146,67 (C-3'); 151,58 (C-3); 164,17 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 42 (pg. 123) no anexo.

2.4.2.2.16 Síntese do 2-nitrobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2p)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,0720 g, 0,015 mmol) com 34% de rendimento a partir do ácido 2-nitrobenzóico (0,0760 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,08000 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 6 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

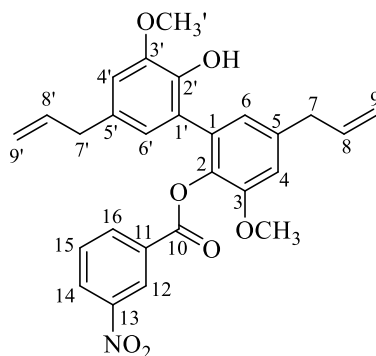
CCD: $R_f = 0,55$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3391, 3073, 2972, 2547, 1740, 1637, 1589, 1535, 1495, 1461, 1417, 1345, 1257, 1180, 1134, 1044, 998, 964, 917, 849, 789, 747, 729, 697, 644, 548. O espectro é apresentado na Figura 43 (pg. 124) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,33 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,89 (s, 3H, OCH₃'); 3,91 (s, 3H, OCH₃); 4,96–5,20 (m, 4H, H-9'/H-9); 5,60 (s, 1H, OH); 5,96 (m, 2H, H-8'/H-8); 6,70 (q, 2H, $J = 2,0$ Hz, H-4'/H-4); 6,87 (s, 2H, H-6'/H-6); 7,50–7,61 (m, 3H, H-14/H-15/H-16); 7,80-7,85 (m, 1H, H-13). O espectro é apresentado na Figura 44 (pg. 125) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,96 (C-7'); 40,31 (C-7); 56,30 (OCH₃'); 56,38 (OCH₃); 110,92 (C-4'); 112,38 (C-4); 115,26 (C-9); 116,50 (C-9'); 123,06/123,07 (C-6/C-6'); 123,17 (C-13); 123,90 (C-1'); 126,98 (C-11); 130,51 (C-16); 131,38 (C-14); 131,84 (C-1); 131,99 (C-15); 132,40 (C-5'); 135,65 (C-5); 137,03 (C-8); 137,78 (C-8'); 139,05 (C-2); 141,56 (C-2'); 146,81 (C-3'); 148,76 (C-12); 151,53 (C-3); 162,57 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 45 (pg. 126) no anexo.

2.4.2.2.17 Síntese do 3-nitrobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2q)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,136 g, 0,286 mmol) com 64% de rendimento a partir do ácido 3-nitrobenzóico (0,0760 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,0450 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 4 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

CCD: $R_f = 0,55$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

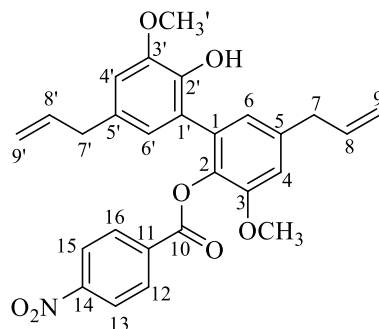
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3511, 3079, 2868, 2934, 2110, 1744, 1674, 1588, 1531, 1495, 1459, 1418, 1348, 1289, 1251, 1198, 1138, 1112, 1044, 993, 910, 845, 805, 749, 714, 598, 547. O espectro é apresentado na Figura 46 (pg. 127) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,24 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz, H-7'); 3,45 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃'); 3,83 (s, 3H, OCH₃); 4,88–5,01 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,22 (m, 2H, H-9); 5,69 (s, 1H, OH); 5,81 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,1$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,02 (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,60 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4'); 6,66 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,86 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6'); 6,89 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-6); 7,60 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-15); 8,30–8,40 (m, 2H, H-14/H-16); 8,82 (t, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-12). O espectro é apresentado na Figura 47 (pg. 128) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,83 (C-7'); 40,30 (C-7); 56,14 (OCH₃); 56,18 (OCH₃'); 110,79 (C-4'); 112,13 (C-4); 115,66 (C-9); 116,49 (C-9'); 122,87 (C-6); 122,94 (C-6'); 123,17 (C-1'); 125,19 (C-12); 127,53 (C-14); 129,59 (C-11); 131,19 (C-15); 131,70 (C-1); 131,78 (C-5'); 135,71 (C-5); 135,83 (C-16); 137,01 (c-8); 137,58 (C-8'); 138,95 (C-2); 141,38 (C-2');

146,65 (C-3'); 148,29 (C-13); 151,37 (C-3); 162,53 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 48 (pg. 129) no anexo.

2.4.2.2.18 Síntese do 3-fluorobenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2r)



Este composto foi obtido como um óleo amarelo claro (0,118 g, 0,248 mmol) com 55% de rendimento a partir do ácido 4-nitrobenzóico (0,0760 g, 0,450 mmol, 1,00 equivalente), *bis*-eugenol (**1**) (0,164 g, 0,500 mmol, 1,10 equivalente), DIC (0,0800 mL, 0,500 mmol, 1,10 equivalente) e DMAP (0,007 g, 0,045 mmol, 0,100 equivalente). A reação foi realizada em temperatura ambiente com duração de 22 horas.

Característica: óleo amarelo claro.

CCD: $R_f = 0,58$ (hexano-acetato de etila- diclorometano 3:1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3348, 2924, 1744, 1589, 1527, 1495, 1417, 1346, 1264, 1200, 1140, 1075, 1046, 915, 847, 716. O espectro é apresentado na Figura 49 (pg.130) no anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7'); 3,44 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH₃'); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 4,90–4,99 (m, 2H, H-9'); 5,07–5,19 (m, 2H, H-9); 5,62 (s, 1H, OH); 5,81 (dd_{tap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,1$ Hz, $J_{H-8'/H-7'} = 6,6$ Hz, H-8'); 6,00 (dd_{tap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-7} = 6,8$ Hz, H-8); 6,59 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-4'); 6,64 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-4); 6,85 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6'); 6,87 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-6); 8,14–8,24 (m, 4H, H-12/H-13/H15/H-16). O espectro é apresentado na Figura 50 (pg. 131) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 39,86 (C-7'); 40,31 (C-7); 56,17 (OCH₃); 56,20 (OCH₃'); 110,77 (C-4'), 112,15 (C-4); 115,72 (C-9); 116,51 (C-9'); 122,88 (C-6); 122,97 (C-6'); 123,19 (C-13/C-15); 123,50 (C-1'); 131,18 (C-12/C-16); 131,30 (C-1); 131,72 (C-5'); 135,34 (C-11);

135,73 (C-5); 136,99 (C-8); 137,57 (C-8'); 138,98 (C-2); 141,37 (C-2'); 146,62 (C-3'); 150,66 (C-14); 151,35 (C-3); 162,68 (C-10). O espectro é apresentado na Figura 51 (pg. 132) no anexo.

2.4.3 Cálculos teóricos relacionados à substância 2-metilbenzoato de 5,5'-dialil-2'-hidroxi-3,3'-dimetoxi-[1,1'-bifenil]-2-ila (2a) para determinação de deslocamentos químicos de ¹H-RMN

2.4.3.1 Busca conformacional

A busca conformacional foi realizada utilizando o software Spartan '14' (Wavefunction, Inc.), aplicando o método semiempírico PM6. Este procedimento foi escolhido por sua eficiência em explorar o espaço conformacional da molécula alvo, permitindo a identificação do confômero mais estável baseado em critérios de energia. A utilização do Spartan '14' facilitou a geração e avaliação de múltiplas conformações moleculares, resultando na seleção daquela com a menor energia relativa como sendo potencialmente a mais estável em condições padrão.

2.4.3.2 Minimização de energia

Seguindo a busca conformacional, a minimização de energia foi conduzida com o Gaussian '09' (Gaussian, Inc.), empregando a teoria do funcional da densidade (DFT) com a funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G(d) (Becke, 1993; Lee, Yang e Parr, 1988). Esta etapa refinou a geometria molecular do confômero selecionado, assegurando sua representação como um mínimo energético mais preciso. O método B3LYP/6-31G(d), implementado no Gaussian '09', foi utilizado devido à sua eficiência computacional e adequação para uma ampla gama de aplicações iniciais, oferecendo um bom equilíbrio entre custo computacional e precisão para a análise de estruturas moleculares e algumas propriedades eletrônicas.

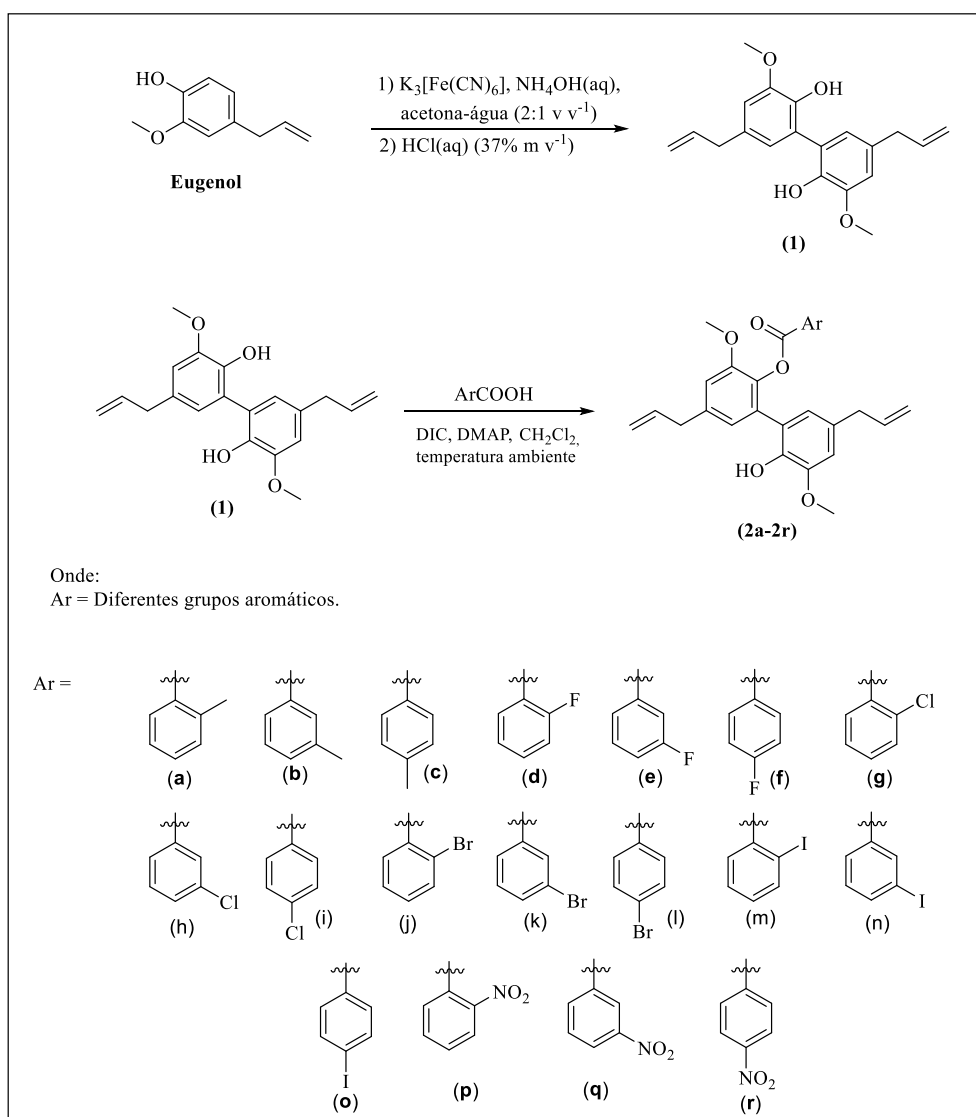
2.4.3.3 Simulação dos deslocamentos químicos de ¹H RMN

A simulação dos deslocamentos químicos de ¹H RMN foi realizada utilizando o Gaussian '09', com a funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G(d), incorporando o efeito do solvente acetona através do modelo de solvatação polarizável contínuo (PCM) (Tomasi, Mennucci, & Cammi, 2005). Este modelo simula as interações solvente-soluto, permitindo uma previsão mais precisa das deslocações químicas em espectroscopia de RMN, em concordância com as condições experimentais. Neste procedimento, também foi realizada a simulação dos deslocamentos dos átomos do tetrametilsilano (TMS) como referência interna para a molécula simulada.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Esquema 11 estão mostradas as transformações envolvidas na preparação dos ésteres **2a–2r** bem como as estruturas de todos os compostos sintetizados.

Esquema 11. Rota sintética envolvida na preparação dos ésteres **2a–2r** derivados do *bis*-eugenol.

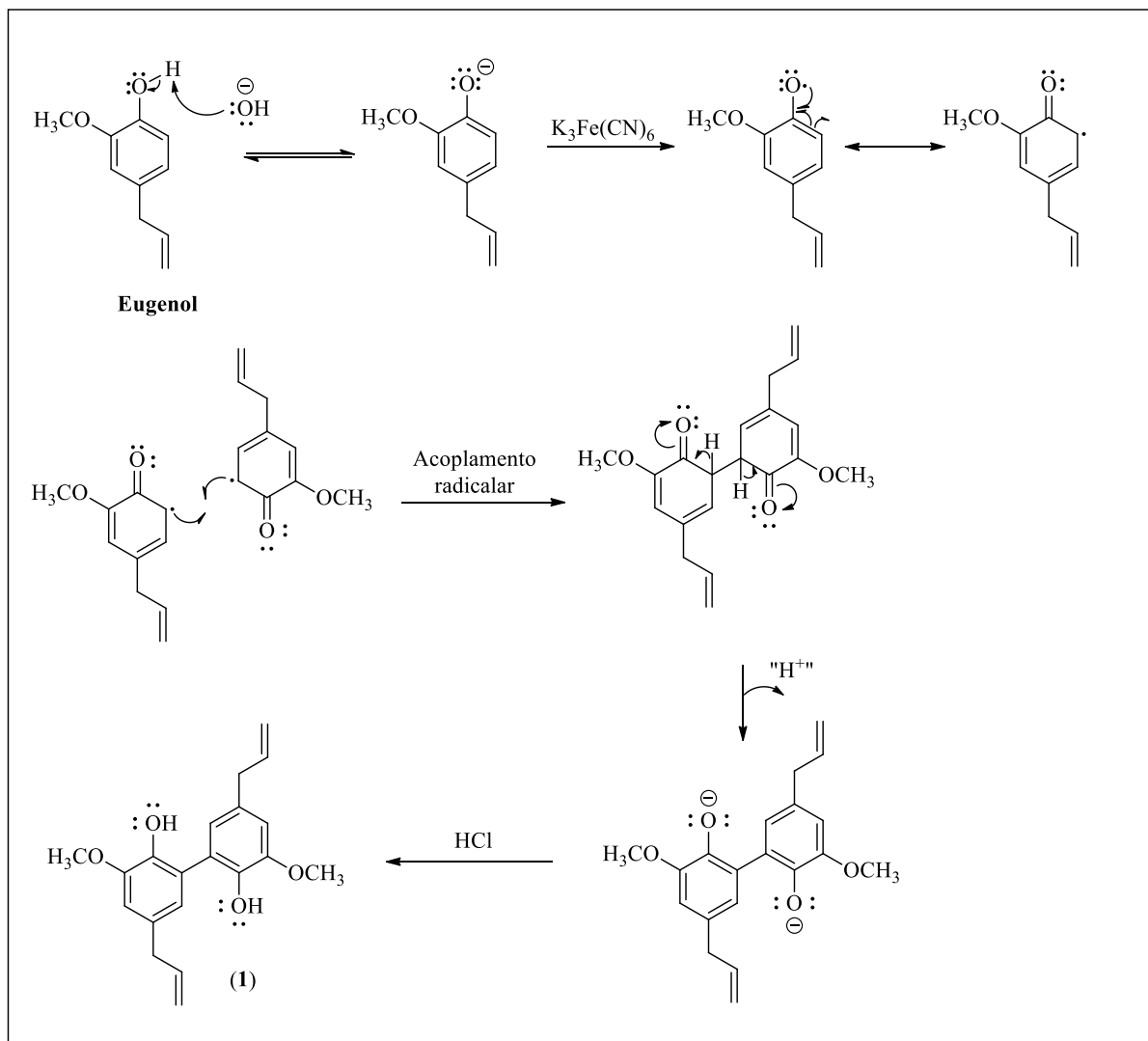


Fonte: Elaborado pela própria autora.

A primeira etapa envolvida na preparação dos compostos **2a–2r** consistiu na síntese do *bis*-eugenol (**1**) a partir do eugenol (Esquema 11). A preparação do composto **1** ocorreu via reação de acoplamento oxidativo do material de partida tendo o ferrocianeto de potássio como agente oxidante (de Farias Dias, 1988). Conforme mencionado seção 2.2, fenóis (como o eugenol) e éteres fenílicos sofrem acoplamento oxidativo, na presença de sais de Fe(III),

resultando na formação de novas ligações C-C. No esquema 12, está apresentada uma proposta mecanística para a obtenção de **1**.

Esquema 12. Proposta mecanística para a obtenção do *bis*-eugenol (**1**).



Fonte: Elaborado pela própria autora.

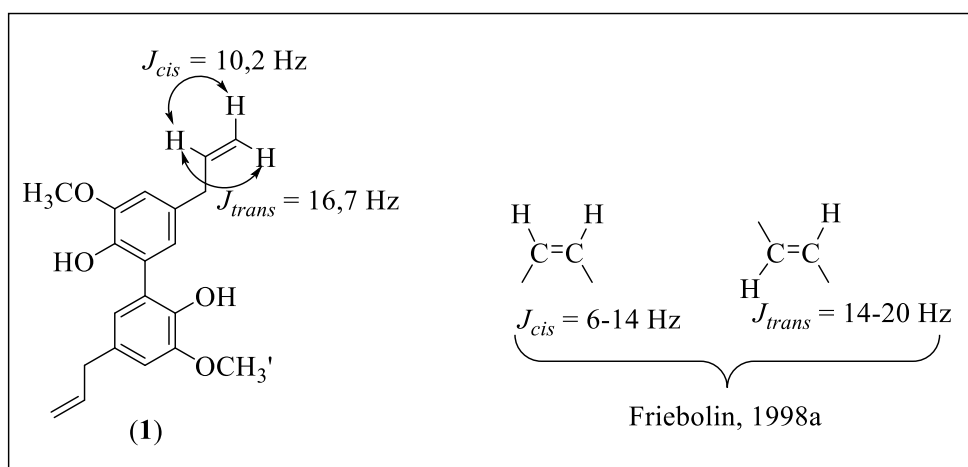
Como a reação é conduzida em meio básico, na primeira etapa há a desprotonação da hidroxila fenólica do eugenol resultando na obtenção do correspondente ânion fenóxido. Em seguida, há a transferência de elétron entre o fenóxido e o agente oxidante (ferricianeto de potássio, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + 1 e^- \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$). O radical resultante da transferência de elétron sofre um processo de dimerização. Tem-se eliminação de prótons a partir do dímero, resultando na formação do fenóxido aromático. A adição de HCl ao final da reação resulta na formação do *bis*-eugenol (**1**) (Haynes et al., 1956; Musso, 1963; McDonald e Hamilton, 1973).

A identidade do *bis*-eugenol (**1**) foi confirmada de maneira inequívoca pelas espectroscopias no infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

No espectro no IV (Figura 2, pg. 49), observa-se uma banda alargada entre $\sim 3200\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento da ligação O-H. A presença de uma banda intensa em 1248 cm^{-1} indica a presença da ligação C-O. As bandas em 1624 , 1508 e 1461 cm^{-1} foram relacionadas às vibrações de estiramentos das ligações C=C. Na faixa de $2995\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$ observam-se estiramentos assimétricos e simétricos atribuídos aos grupos OCH_3 (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN ^1H do composto **1** (Figura 3, pg. 50) o duplete observado em δ_{H} 3,35 e integrado para quatro átomos de hidrogênio ($J = 6,9\text{ Hz}$) foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-7 e H-7'. O simpleto em δ_{H} 3,87 e integrado para seis átomos de hidrogênio foi associado aos átomos de hidrogênio dos grupos metoxila (OCH_3). O simpleto alargado em δ_{H} 5,45 corresponde ao sinal referente aos hidrogênios das hidroxilas (OH). O multiplete em δ_{H} 5,03-5,12 e integrado para quatro hidrogênios foi relacionado aos hidrogênios vinílicos terminais H-9 e H-9'. Esperava-se um duplete de duplete de tripletos para o sinal relativo aos hidrogênios H-8/H-8', o qual deveria apresentar seis picos em cada metade do multiplete simétrico. Porém, o que se observa é um sinal que se assemelha a quintetos sobrepostos devido à sobreposição de sinais (PAVIA et al., 2010). No entanto, foi possível calcular as constantes de acoplamento $J_{trans} = 16,8\text{ Hz}$, $J_{cis} = 10,2\text{ Hz}$ (Esquema 13, pg. 47), além da constante de acoplamento $J = 6,9\text{ Hz}$, referente ao acoplamento H-8/H-8' com os hidrogênios vizinhos H-7/H-7'. Os valores de constante de acoplamento J_{trans} e J_{cis} estão de acordo com aqueles reportados na literatura (Friebolin, 1998a).

Esquema 13 – Valores de constantes de acoplamentos J_{cis} e J_{trans} calculados a partir do espectro de ^1H -RMN do *bis*-eugenol (**1**) e comparação com dados da literatura.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos, foram observados dois dupletos em δ_{H} 6,69 e δ_{H} 6,78, cada um deles apresentando valores de $J = 2 \text{ Hz}$ e atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-4/H-4' e H-6/H-6'. Os valores de J para estes átomos são compatíveis para o acoplamento de hidrogênios em *meta* ($J = 1-3 \text{ Hz}$; Friebolin, 1998b). Os dados da espectroscopia de ^1H de RMN para o composto **1** estão em completo acordo com aqueles descritos na literatura (de Farias Dias, 1988).

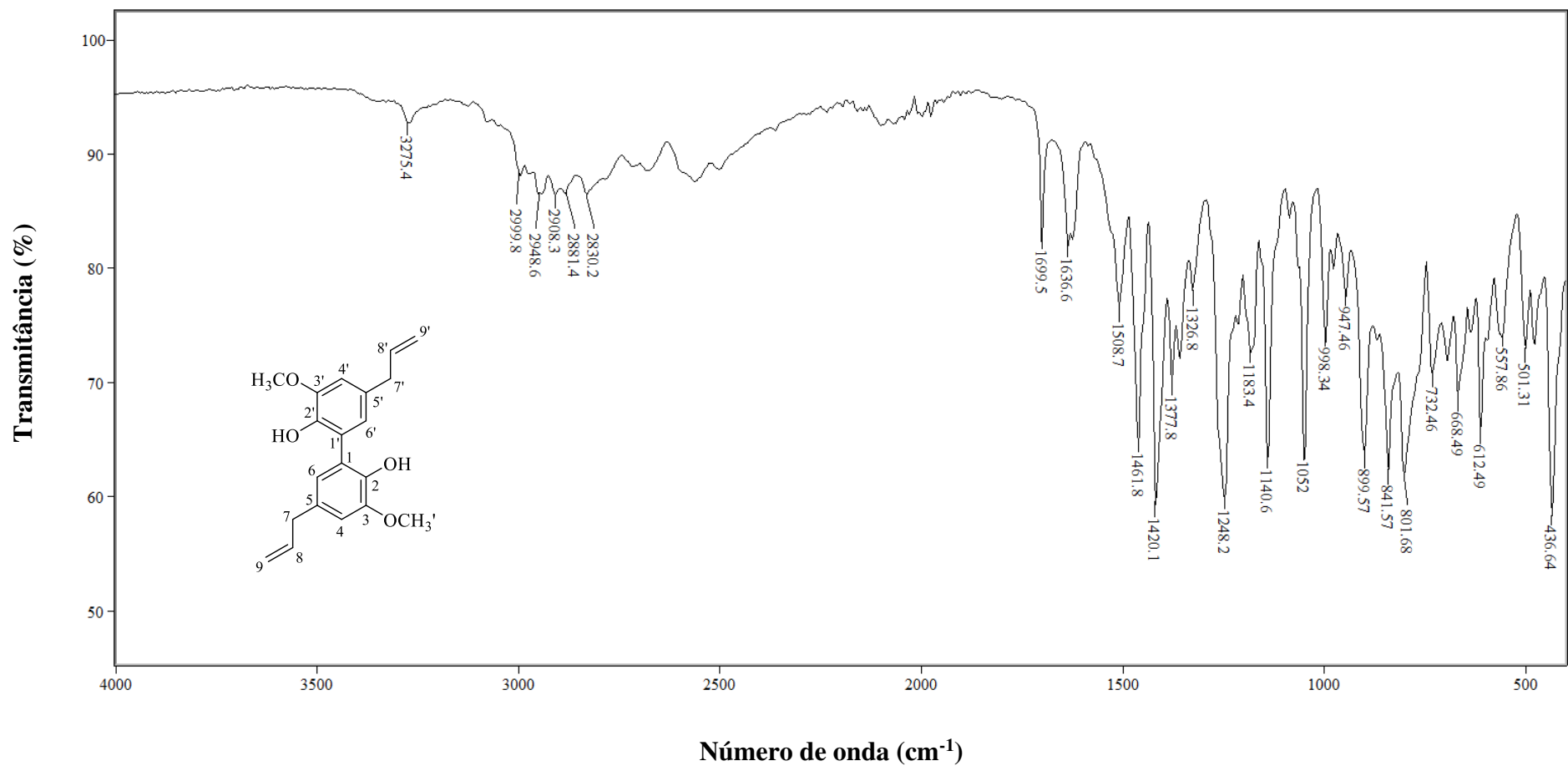
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 4, pg. 51), observa-se que o número de sinais presentes é compatível com a estrutura desta substância. Assim, o sinal observado em δ_{C} 40,16 foi atribuído aos carbonos metilênicos (C-7 e C-7'). O sinal observado em δ_{C} 55,99 foi associado aos carbonos dos grupos metoxila ($\text{OCH}_3/\text{OCH}_3'$). Os sinais em δ_{C} 115,60 e δ_{C} 138,02 correspondem aos carbonos sp^2 C-9/C-9' e C-8/C-8', respectivamente. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático. Salienta-se que estas atribuições dos sinais dos átomos de carbono da estrutura do *bis*-eugenol (**1**) estão em completo acordo com dados da literatura (de Farias Dias, 1988), conforme mostrado na Tabela 1 (pg. 48) a seguir.

Tabela 1 – Comparação entre os valores de deslocamentos químico de ^{13}C RMN descritos na literatura e descritos neste trabalho para o *bis*-eugenol (1).

CARBONOS	DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE ^{13}C RMN	
	Descritos por de Farias Dias (1998)	Descritos neste trabalho
C-7/C-7'	40,02	40,16
OCH ₃ /OCH ₃ '	56,02	55,99
C-4/C-4'	110,84	110,67
C-9/C-9'	115,59	115,60
C-6/C-6'	123,28	123,20
C-1/C-1'	124,75	126,17
C-5/C-5'	131,82	130,95
C-8/C-8'	137,79	138,02
C-2/C-2'	141,23	142,81
C-3/C-3'	147,44	148,37

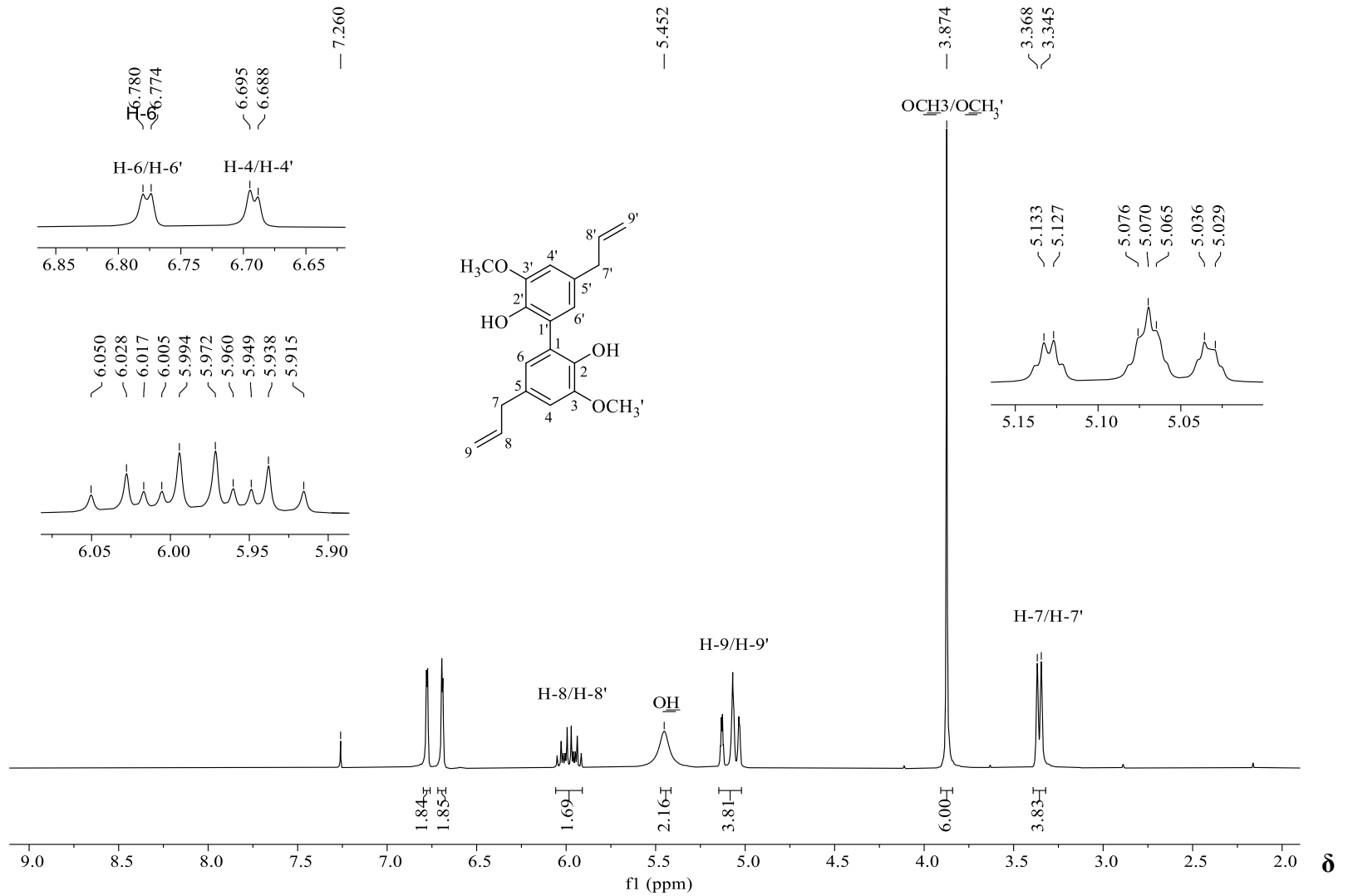
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 2. Espectro no infravermelho (ATR) do composto 1.



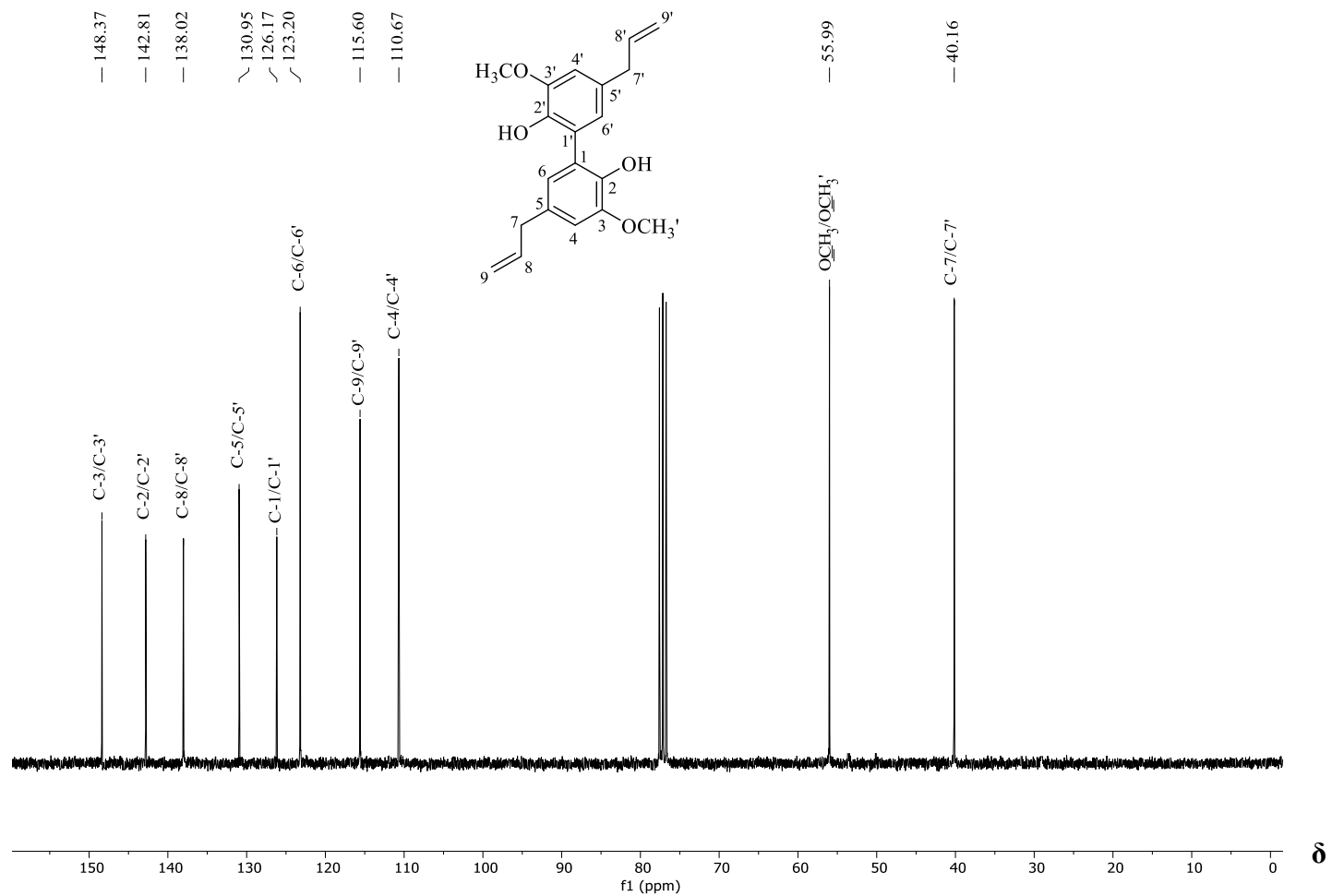
Fonte: Elaborada pela própria autora (2023).

Figura 3. Espectro de RMN de ^1H (300MHz, CDCl_3) do composto **1**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

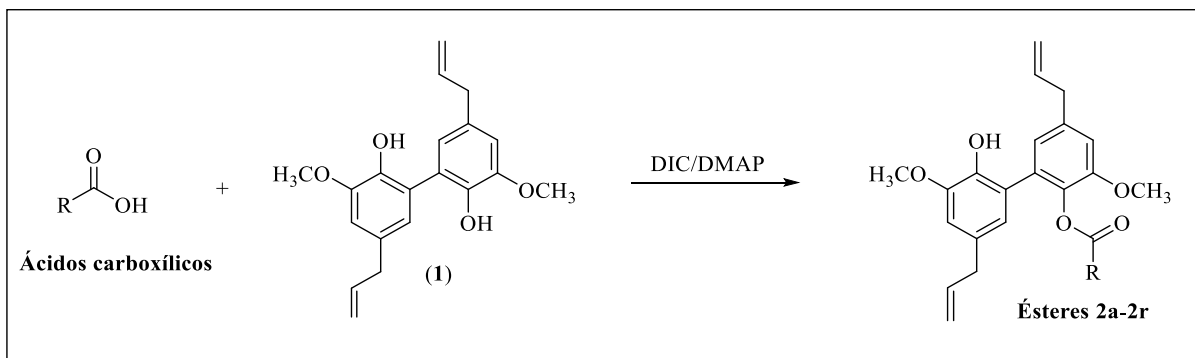
Figura 4. Espectro de RMN de ^{13}C (75MHz, CDCl_3) do composto **1**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Uma vez sintetizado, o *bis*-eugenol (**1**) foi utilizado para a produção dos compostos **2a–2r** (Esquema 14). A preparação dos compostos ocorreu via esterificação de Steglich entre o *bis*-eugenol e diferentes ácidos carboxílicos, utilizando-se DIC como agente de acoplamento na presença catalítica de DMAP. Conforme descrito na seção 2.1, a reação de Steglich é um método útil para a preparação de ésteres. No esquema 14, está apresentada a reação utilizada para a obtenção dessas substâncias.

Esquema 14. Reação utilizada para a obtenção dos compostos **2a–2r**.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

A seguir será descrita a caracterização do composto **2a**. A caracterização dos demais ésteres foi realizada de maneira similar ao derivado **2a**.

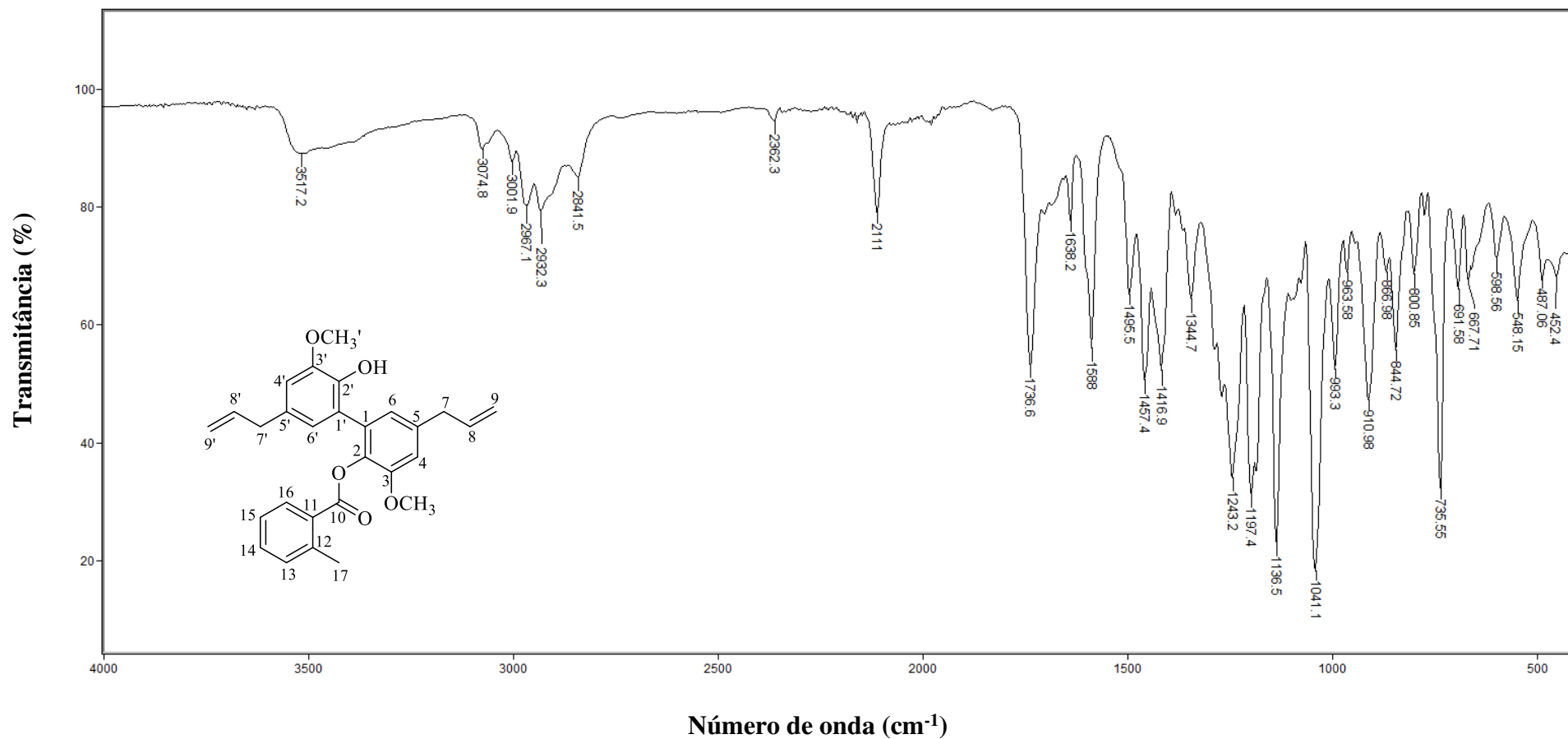
No espectro no infravermelho do composto **2a** (Figura 5, pg. 54) destaca-se a banda larga em 3517 cm^{-1} referente ao grupo hidroxila. A presença da banda em 1736 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O e das bandas em 1197 e 1243 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos da ligação C-O, respectivamente, são características de ésteres. Na faixa de 3074 a 2841 cm^{-1} , observam-se estiramentos assimétricos e simétricos atribuídos aos grupos OCH₃. Por fim, as bandas em 1416 , 1457 , 1495 cm^{-1} , foram atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C=C (BARBOSA, 2007).

No espectro de RMN de ¹H do composto **2a**, (Figura 6, pg.55) observa-se um simpleto em $\delta_{\text{H}} 2,49$, integrado para três átomos de hidrogênio, correspondente aos hidrogênios do grupo metila H-17. Os dupletos observados em $\delta_{\text{H}} 3,26$ ($J = 6,9\text{ Hz}$) e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,6\text{ Hz}$) e o duplete em $\delta_{\text{H}} 3,45$, também integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,9\text{ Hz}$), foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-7 e H-7', respectivamente. Os simpletos sobrepostos compreendidos entre $\delta_{\text{H}} 3,85$ e $\delta_{\text{H}} 3,86$ e integrados para seis átomos de hidrogênio foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos metoxila. Os multipletos compreendidos em $\delta_{\text{H}} 4,94-4,99$ e $\delta_{\text{H}} 5,09-5,19$ e integrados para dois átomos de hidrogênio cada, foram atribuídos aos hidrogênios vi terminais H-9 e H-9', respectivamente. O sinal observado em $\delta_{\text{H}} 5,85$ (ddt_{ap}, 1H, $J_{\text{trans}} = 16,8\text{ Hz}$, $J_{\text{cis}} = 10,0\text{ Hz}$, $J_{\text{H-8'/H-9'}} = 6,9\text{ Hz}$) e o

sinal em δ_H 6,02 com atribuição (ddt_{ap}, 1H, $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz, $J_{H-8/H-9} = 6,6$ Hz) referem-se, respectivamente aos hidrogênios H-8' e H-8. O sinal alargado em δ_H 5,55 corresponde ao hidrogênio do grupo hidroxila. Na região de deslocamento químico característico de hidrogênio aromáticos, observam-se dupletos em δ_H 6,64 e δ_H 6,69, ambos integrados para um átomo de hidrogênio, sendo o duplete mais blindado em δ_H 6,64 atribuído ao hidrogênio H-4' ($J = 2,0$ Hz) e o duplete em δ_H 6,69 atribuído a H-4 ($J = 2,0$ Hz); os dupletos compreendidos entre δ_H 6,83 ($J = 2,0$ Hz) e δ_H 6,91 ($J = 2,0$ Hz) e integrados para dois átomos de hidrogênios, foram atribuídos a H-6' e H-6, respectivamente. O multipletos observado em δ_H 7,15-7,21 foram atribuídos aos hidrogênios H-13 e H-14. O sinal referente a H-15 pode ser interpretado como dois duplos dupletos superpostos, o que resulta na aparência de um duplo tripleto ($J_{orto} = 7,7$ Hz e $J_{meta} = 2,0$ Hz). A maior desblindagem observada em δ_H 7,84 para o duplete atribuído ao hidrogênio H-16 com $J_{orto} = 7,8$ Hz e $J_{meta} = 1,5$ Hz pode ser justificada pela proximidade deste hidrogênio ao grupo éster retirador de elétrons, que diminui a densidade eletrônica nas posições *orto* devido a deslocalização de elétrons.

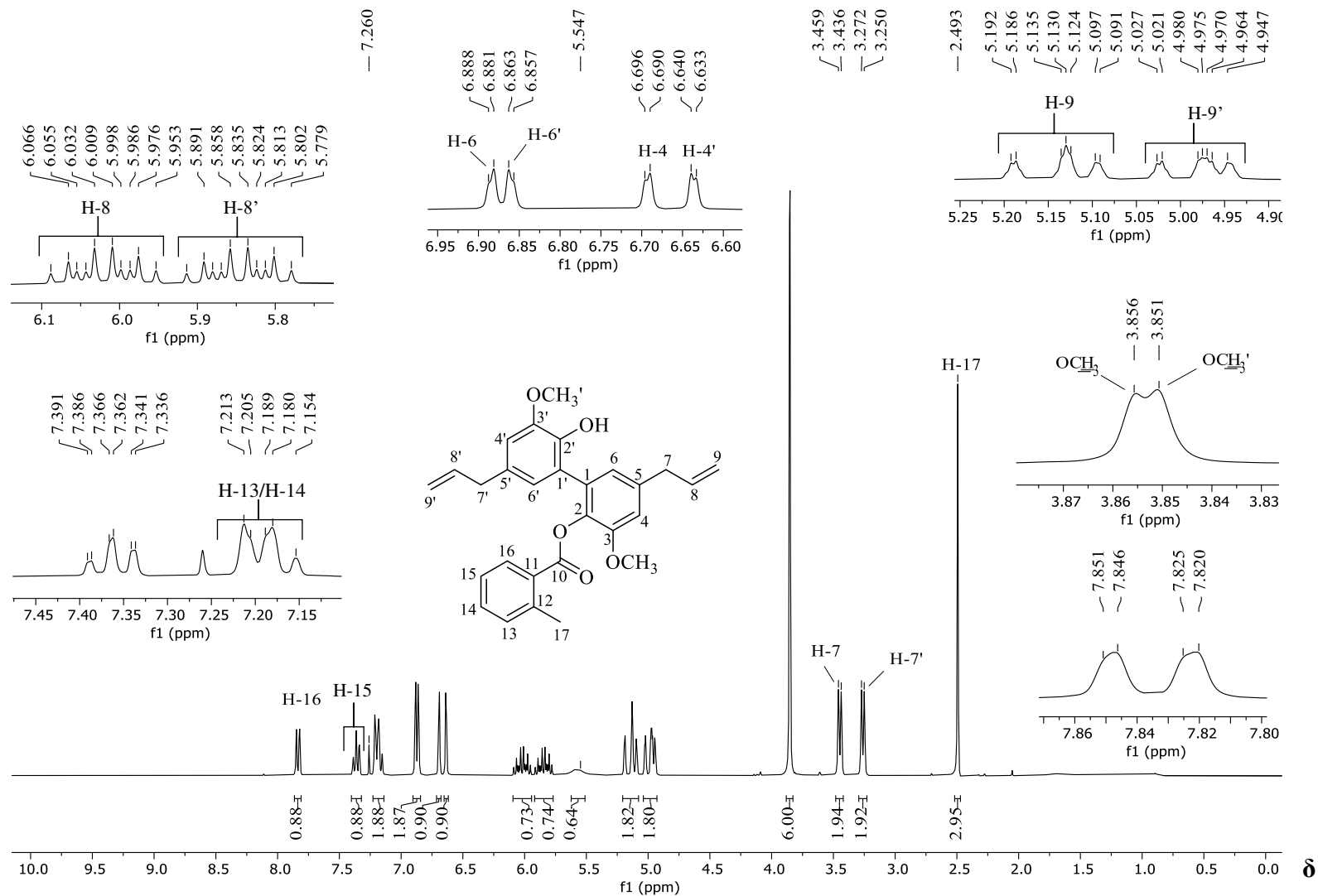
No espectro de RMN de ^{13}C da substância **2a** (Figura 7, pg. 56), observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura desta substância. O sinal observado em δ_C 21,35 foi atribuído ao carbono do grupo metila C-17. Observam-se ainda sinais em δ_C 125,64 atribuído a C-15; δ_C 129,52 atribuído a C-11; δ_C 130,98 atribuído a C-16; δ_C 131,08 atribuído a C-13; δ_C 131,88 atribuído a C-14; δ_C 140,50 atribuído a C-12. O sinal observado em δ_C 165,69 foi atribuído ao carbono carbonílico C-10. Os outros sinais foram atribuídos com base nos dados de ^{13}C RMN do do *bis*-eugenol (**1**) (Figura 3, pg. 50).

Figura 5. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2a**.



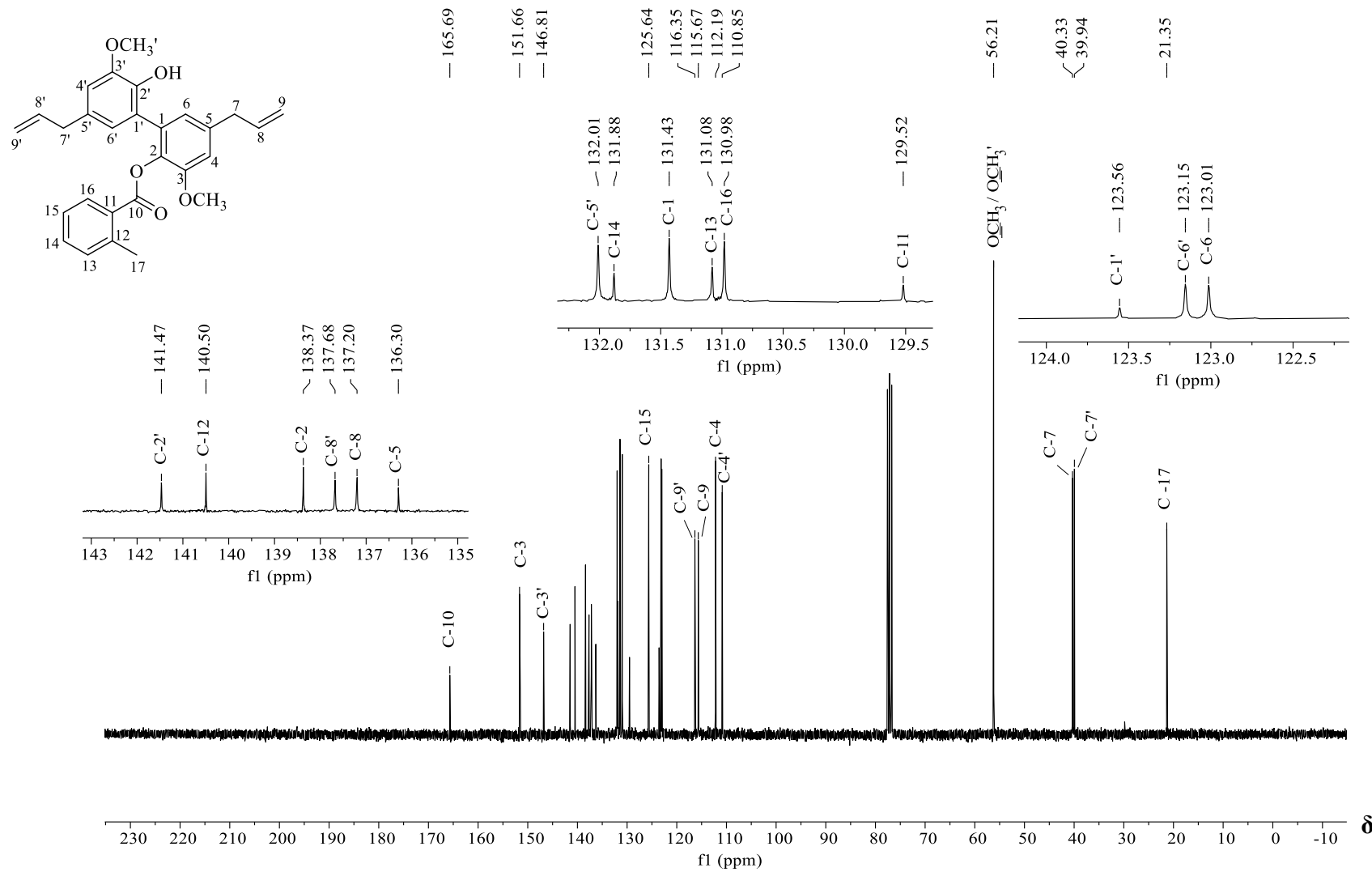
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2a**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

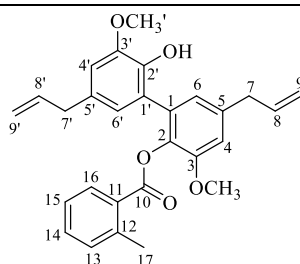
Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2a**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Cálculos de DFT (*Density Functional Theory*) foram realizados para determinar valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios de **2a** e auxiliaram na atribuição dos sinais vistos no espectro de ^1H RMN desta substância. Na Tabela 2 estão representados valores de deslocamento químico obtidos experimentalmente (espectro da Figura 7 pg. 56) *versus* deslocamentos químicos dos hidrogênios correspondentes determinados por cálculos de DFT. Deve ser observado a concordância entre os valores experimentais e os calculados (Tabela 2), sendo os erros inferiores a 10%.

Tabela 2. Valores de deslocamentos químicos de ^1H RMN experimentais e obtidos por meio de cálculos DFT da substância **2a**.



(2a)

Átomos(s) de hidrogênio	δ_{EXP}	δ_{CALC}	Erro (%)
17	2,94	3,20	8,84
3-OCH ₃ '	3,86	3,90	1,04
3-OCH ₃	3,85	3,90	1,30
OH	5,55	5,60	0,90
7	3,45	3,70	7,24
7'	3,26	3,40	4,12
8	6,02	6,50	7,97
8'	5,85	5,70	2,56
4'	6,64	6,60	0,60
6'	6,83	6,90	1,02
4	6,91	7,10	2,74
6	6,69	6,90	3,13
15	7,36	7,50	1,90
16	7,84	8,50	8,40

δ_{EXP} = deslocamento químico observado experimentalmente

δ_{CALC} = deslocamento químico determinado por meio de cálculos de DFT

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Os dados espectroscópicos dos compostos **2b–2r** estão descritos na seção 2.4.2.2 e os espectros utilizados na caracterização destes ésteres estão presentes no Anexo. Tendo assegurado a obtenção dos dezoito ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**), procedeu-se à avaliação de suas atividades leishmanicida e fungicida (capítulos 3 e 4).

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, p. 61-84, 2007.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*, v. 98, p. 5648–5652, 1993.
- CARSON, M. C.; KOZLOWSKI, M. C. Recent advances in oxidative phenol coupling for the total synthesis of natural products. *Natural Product Reports*, p. 1-20, 2023.
- DE FARIAS DIAS, A. An improved high yield synthesis of dehydrodieugenol. *Phytochemistry*, v. 27, p. 3008-3009, 1988.
- DIEDERICH, F.; STANG, P. J. Metal-catalyzed Cross-coupling reactions. 2^a Ed. New York: Wiley-VCH, 1998.
- FRIEBOLIN, H. Basic one- and two-dimensional NMR spectroscopy. 3^a Ed. Weinheim: Wiley-VCH, p.94, 1998a.
- FRIEBOLIN, H. Basic one- and two-dimensional NMR spectroscopy. 3^a Ed. Weinheim: Wiley-VCH, p.95, 1998b.
- Gaussian, Inc. (2009). Gaussian 09, Revision D.01. Wallingford, CT: Gaussian, Inc.
- GRZYBOWSKI, M.; SADOWSKI, B.; BUTENSCHÖN, H.; GRYKO, D. Synthetic Applications of Oxidative Aromatic Coupling—From Biphenols to Nanographenes. *Angewandte Chemie International Edition*, v.59, p. 2998-3027, 2020.
- GRZYBOWSKI, M.; SKONIECZNY, K.; BUTENSCHÖN, H.; GRYKO, D. Comparison of oxidative aromatic coupling and the Scholl reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, v.52, p. 9900-9930, 2013.
- HAYNES, C. G.; TURNER, A. H.; WATERS, W. A. The Oxidation of MonoHydric Phenols by Alkaline Ferricyanide. *Journal of the Chemical Society*, p.2823-2831, 1956.
- HUANG, Z.; TANG, S. Oxidative cross-coupling: an alternative way for C–C bond formations. *Science Bulletin* v. 60, p.1391-1394, 2015.

- LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, v. 37, p. 785–789, 1988.
- McDONALD, P. D.; HAMILTON, G. A. On the Mecanismo of Phenolic Oxidative Coupling Reactions. Ferricyanid Oxidation Of 2,3',4-Trihydroxybenzophenone, as Example of a Radical Aromatic Substitution Mechanism. *Journal of the American Chemical Society*, p.7752-7758, 1973.
- MEIJERE, A.; DIEDERICH, F. Metal-catalyzed cross-coupling reactions. 2^a Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2004.
- MUSSO, H. Phenol Oxidation Reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, v.2, p.723-735, 1963.
- NEISES, B.; STEGLICH, W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angewandte Chemie*, v. 7, p. 522-524 1978.
- PAVIA, D. L. LAMPMAN, G. M. KRIZ, G. S. VYVYAN, J. R. Introdução a espectroscopia. 4^a ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, p.267-269, 2010.
- TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. *Chemical Reviews*, v. 105, p. 2999–3094, 2005.
- Wavefunction, Inc. (2014). Spartan '14 User's Guide. Irvine, CA: Wavefunction, Inc.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS-EUGENOL*

3.1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um grupo de doenças parasitárias causadas por espécies de protozoários digenéticos do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). Também conhecida como calazar indiano, botão do oriente, ferida brava e úlcera de Bauru, essas doenças possuem como hospedeiro tanto o homem quanto animais domésticos e selvagens e são transmitidas, principalmente, pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas do gênero *Lutzomyia* (GONTIJO e DE CARVALHO, 2003).

Consideradas um importante problema de saúde pública de países em desenvolvimento, as leishmanioses são endêmicas em 98 países, sendo que 350 milhões de pessoas estão sob risco de serem infectadas. Por ano, a incidência de casos de leishmaniose cutânea é de 1,5 milhão e a prevalência mundial é de 12 milhões (BAILEY e LOCKWOOD, 2007; DE VRIES *et al.*, 2015).

Dependendo da espécie envolvida e da relação entre parasita e seu hospedeiro, uma infecção por *Leishmania* pode dar origem a três principais manifestações clínicas, podendo acometer a pele, vísceras e mucosas (SARAVIA *et al.*, 1989; DE VRIES *et al.*, 2015). As manifestações clínicas são as seguintes:

- i. Leishmaniose visceral: também conhecida como Calazar, esta é a forma clínica mais grave da doença envolvendo órgãos internos como fígado, baço e medula óssea, podendo levar o paciente à morte se não for tratada.
- ii. Leishmaniose cutânea: forma mais prevalente em todo o mundo, apresenta úlceras cutâneas únicas ou múltiplas desenvolvidas no local da picada do inseto.
- iii. Leishmaniose mucocutânea: similar à forma cutânea, caracteriza-se por úlceras crônicas que, no entanto, reaparecem mesmo após a cicatrização. Além disso, esta forma afeta também as mucosas.

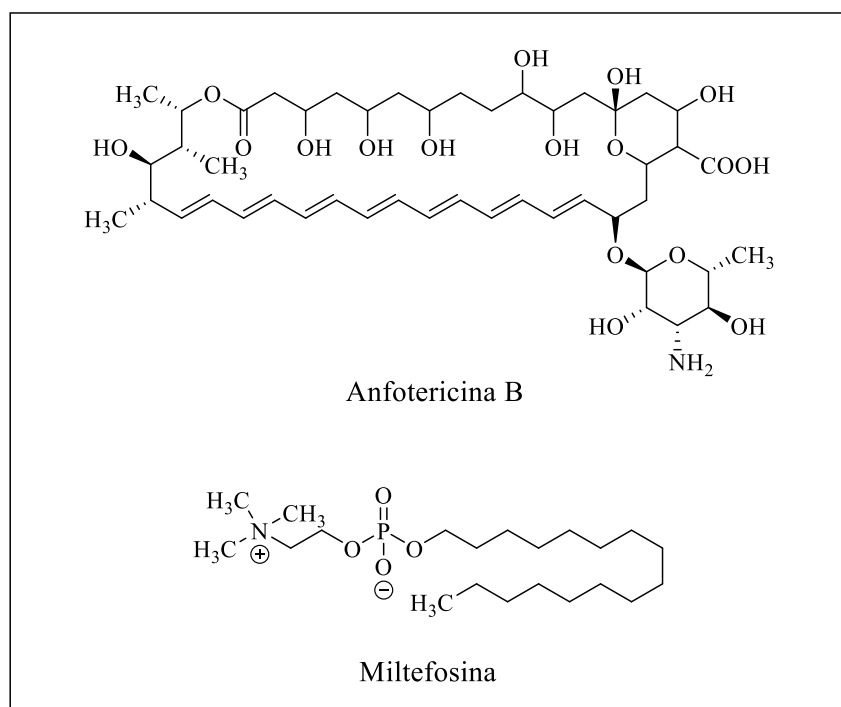
Os parasitos do gênero *Leishmania* possuem duas formas distintas, sendo elas promastigotas, que se encontram no trato digestório do inseto vetor e se apresentam de forma alongada com um longo flagelo livre, e as formas amastigotas, parasito intracelular

encontrado em hospedeiros vertebrados possuindo formas arredondadas ou ovuladas sem flagelo (SILVA et al., 2014).

O ciclo de transmissão da doença se inicia quando a fêmea do vetor pica um vertebrado infectado. Durante a ingestão do sangue, também são ingeridos macrófagos parasitados que, durante o trajeto pelo trato digestivo, são rompidos, liberando as amastigotas que por sua vez se transformam em promastigotas. Posteriormente, as promastigotas se multiplicam-se ainda no sangue ingerido, sendo este envolto por uma membrana quitinosa de nome membrana peritrófica. Esta membrana é secretada pelas células do estômago do inseto, que se rompe após a digestão liberando as formas promastigotas que se multiplicam, aparentemente por divisão simples e assexuada, e migram para a probóscida do inseto após aproximadamente 4 a 5 dias. Devido ao bloqueio da probóscida, a alimentação do inseto se torna difícil e, ao picar o vertebrado, regurgita os parasitos para o interior da pele do hospedeiro, inoculando-os no local da picada, ocorrendo desta forma a transmissão (MARZOCHI, 1992).

Atualmente, os tratamentos para as leishmanioses dividem-se em dois grupos. O tratamento de primeira linha requer injeções diárias de soluções antimoniais pentavalentes (Sb^{5+}). O procedimento é doloroso, de resposta lenta e causa efeitos colaterais graves, além da possibilidade de recidivas. Os tratamentos de segunda linha consistem em tratamentos alternativos caros como a anfotericina B e a miltefosina (Figura 1, pg. 62) (VEGA *et al.*, 2023).

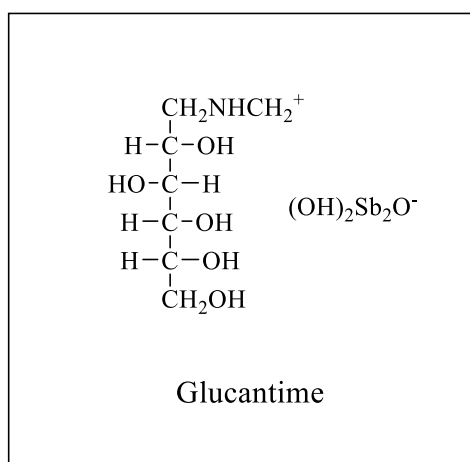
Figura 1. Estrutura dos quimioterápicos anfotericina B e miltefosina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Sinteticamente obtido a partir do ácido do antimônio e da *N*-metil-glucamina, o antimoniato de metilglucamina (Glucantime[®]) é o medicamento a base de antimônio utilizado como primeira escolha no tratamento das leishmanioses no Brasil. O composto de fórmula estrutural não definida, é especialmente eficaz no tratamento das leishmanioses visceral, cutânea e mucocutânea, provocando rápida regressão das manifestações clínicas e hematológicas da doença (RATH *et al.*, 2003).

Figura 2. Quimioterápico pentavalente glucantime.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

A recomendação da OMS sobre o padrão de administração das dosagens é de 20 mg de antimoniais por quilograma de peso corporal por dia, com dosagem máxima de 850 mg de antimônio. Baixas dosagens e descontinuidade nos tratamentos são as principais causas de recaídas e aumento das formas resistentes dos parasitos *Leishmania* aos antimoniais pentavalentes (Balaña-Fouce *et al.*, 1998).

Para obter eficácia no tratamento, a administração de doses elevadas do antimoniato de metilglucamina, em regime contínuo, se faz necessária uma vez que, após a administração endovenosa ou intramuscular, o fármaco é rapidamente absorvido e cerca de 90% do antimônio é excretado pelos rins nas primeiras 48 horas (LIMONGI, 1973).

Efeitos colaterais graves como artralgia, mialgia, insuficiência renal aguda, pancreatite, arritmias, dores abdominais, distúrbios gastrointestinais e respiratórios, são observados devido ao uso de antimoniais pentavalentes (de LIMA *et al.*, 2007).

Os tratamentos de segunda linha são alternativas nos casos de intolerância e resistência aos antimoniais. As drogas utilizadas são administradas por via parenteral e também exibem toxicidade, manifestação de resistência e podem não apresentar índice terapêutico favorável (SILVA-LÓPEZ, 2010).

A ausência de vacinas contra a leishmaniose e as dificuldades enfrentadas no tratamento, torna urgente a busca por novas alternativas terapêuticas mais efetivas, de baixo custo e com efeitos colaterais menos severos, a fim de substituir ou suplementar aquelas medicações já existentes (ROCHA *et al.*, 2005).

Por outro lado, o reino vegetal já se mostrou uma fonte valiosa de novos agentes medicinais. Inúmeros quimioterápicos derivados de plantas já foram relatados na literatura. Deste modo, a utilização de plantas medicinais como potenciais fontes de moléculas anti-protozoários vêm ganhando foco (de MORAIS *et al.*, 2014)

Assim sendo, avaliou-se a atividade leishmanicida dos ésteres derivados do *bis*-eugenol, **2a–2r**, uma vez que, conforme apresentado no Capítulo 1, o eugenol possui ação leishmanicida confirmada e documentada na literatura.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Generalidades

O ensaio de avaliação da atividade leishmanicida dos ésteres derivados do *bis*-eugenol foi realizado em colaboração com a Dra. Grasielle Tavares na Faculdade de Medicina na Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

3.2.2 Atividade antileishmanial

Em uma placa de cultura celular de 96 poços, 1×10^6 formas promastigotas estacionárias de *Leishmania amazonensis*, *Leishmania brasiliensis* e *Leishmania infantum* foram incubadas com o *bis*-eugenol (**1**) e os derivados (**2a–2r**) na concentração de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, bem como com a anfotericina B ($1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) para controle positivo. As substâncias foram diluídas em meio RPMI-PR, em um volume final de $100 \mu\text{L}$ e incubadas por 48 horas a $24 \text{ }^\circ\text{C}$. Logo após, $10 \mu\text{L}$ do reagente [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio] na concentração de 5 mg mL^{-1} foram adicionados e, em seguida, a placa foi incubada por mais 4 horas a $24 \text{ }^\circ\text{C}$. As células foram analisadas em microscópio ótico composto para verificar a formação de cristais de formazan. Posteriormente, $60 \mu\text{L}$ de uma solução de dodecilsulfato de sódio a 10% de ácido clorídrico (SDS 10% / HCL $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foram acrescentados para solubilização dos cristais de formazan e, novamente, a placa foi incubada por 18 horas. As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro de microplacas a 570 nm . Para determinação dos valores de concentração inibitória 50% (IC_{50}), os compostos mais ativos foram incubados com os parasitos em concentrações variando de $0\text{--}50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os valores de IC_{50} foram determinados por análise de regressão sigmoidal das curvas dose-resposta por meio do software Microsoft Excel (versão 10.0).

3.2.3 Citotoxicidade celular

Este ensaio foi realizado para avaliação da citotoxicidade de determinado composto sobre células de mamíferos, especificamente, macrófagos murinos. Dessa forma, camundongos BALB/c foram inoculados, via peritoneal, com 3 mL de uma solução de tioglicolato 3% m v⁻¹. Após quatro dias, os animais foram eutanasiados e os macrófagos extraídos por lavagem peritoneal com 5 mL de PBS estéril e gelado para posterior centrifugação a 1.000 x g por 10 minutos. Em seguida, os macrófagos foram ressuspensos em 1 mL de meio de cultura RPMI 1640. Deste modo, 5 x 10⁵ células foram incubadas em placas de cultura de 96 poços, em meio RPMI 1640, juntamente com 10% de SFB e antibióticos, por 24 horas a 37 °C em estufa sob tensão de 5% CO₂. Posteriormente, os compostos foram adicionados (200 µg mL⁻¹) e, novamente, incubadas em estufa sob tensão de 5% CO₂ por 48 horas a 37 °C. Logo após, foram acrescentados 50 µL de MTT para incubação por 4 horas a 37 °C. Os cristais de formazan foram solubilizados por SDS 10% m v⁻¹ / HCl 0,1 mol L⁻¹ por 16 horas e as absorvâncias determinadas a 570 nm em espectrofotômetro.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na presente investigação, o *bis*-eugenol (**1**) e os ésteres **2a–2r** foram avaliados contra as espécies *L. amazonensis* e *L. braziliensis* que são os causadores das leishmanioses cutâneas bem como contra *L. infantum* que é o agente etiológico da leishmaniose visceral, na concentração de 200 µg mL⁻¹. Os valores de absorvância apresentados na Tabela 1 (pg. 64) para compostos **1**, **2a–2r** e anfotericina B estão relacionados às células viáveis. Isso porque o ensaio de MTT é usado para medir a atividade metabólica celular como um indicador de viabilidade e proliferação celular, bem como de citotoxicidade. Esse ensaio colorimétrico é baseado na redução de um sal de tetrazólio amarelo (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio ou MTT) para cristais de formazan de coloração roxa por células metabolicamente ativas. As células viáveis contêm enzimas oxidoredutases dependentes de NAD(P)H que reduzem o MTT em formazan. Assim, comparando-se os valores de absorvância determinados experimentalmente para os compostos supracitados com o valor de absorvância do controle negativo pode-se determinar a porcentagem de inibição dos parasitos que as substâncias apresentaram.

Tabela 1. Avaliação da atividade antipromastigota do *bis*-eugenol (**1**) e dos ésteres **2a–2r**.

Composto	<i>L. amazonenses</i>		<i>L. brasiliensis</i>		<i>L. infantum</i>	
	Absorbância (200 µg mL ⁻¹)	% de inibição	Absorbância (200 µg mL ⁻¹)	% de inibição	Absorbância (200 µg mL ⁻¹)	% de inibição
1	0,848	23	1,34	22	0,0800	93
2a	0,0560	95	0,125	93	0,0760	93
2b	0,0890	92	0,126	93	0,0890	92
2c	0,0790	93	0,105	94	0,0880	92
2d	0,0710	94	0,0810	95	0,0710	94
2e	0,0720	93	0,0860	95	0,0740	93
2f	0,0620	93	0,0730	96	0,0670	94
2g	0,0680	94	0,0920	95	0,0690	94
2h	0,0640	94	0,0780	95	0,0720	93
2i	0,0690	94	0,116	93	0,0810	93
2j	0,0800	93	0,176	90	0,107	90
2k	0,106	90	0,119	93	0,121	89
2l	0,0570	95	0,0870	95	0,0570	95
2m	0,105	90	0,159	91	0,117	89
2n	0,0860	92	0,132	92	0,144	87
2o	0,0820	93	0,156	91	0,0960	91
2p	0,162	85	0,211	88	0,103	91
2q	0,0520	95	0,0580	97	0,0550	95
2r	0,0510	95	0,0550	97	0,0510	95
Anfotericina B	0,217	80	0,232	87	0,208	81
Controle negativo	1,102	0	1,729	0	1,095	0

A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 1, foi possível verificar que todos os ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**) apresentaram porcentagens de inibição contra as três espécies de parasitos superiores à anfotericina B que é um fármaco utilizado para o tratamento das leishmanioses. Além disso, os ésteres, com relação às espécies que causam a leishmaniose cutânea, apresentarem atividade superior ao *bis*-eugenol (**1**), demonstrando que conversão de **1** nos correspondentes ésteres correspondeu a uma abordagem adequada para a produção de compostos com atividade leishmanicida. O composto **1** se mostrou bastante eficiente para inibir os parasitos da espécie *L. infantum*.

A citotoxicidade pontual de todos os compostos **2a–2r**, frente a células de macrófagos na concentração de 200 µg mL⁻¹ foram determinados e os valores apresentados na Tabela 2 (pg. 67) correspondem à porcentagem de células metabolicamente ativas.

Tabela 2. Avaliação da citotoxicidade pontual dos ésteres derivados do *bis*-eugenol frente a células de macrófagos.

Código do composto	Citotoxicidade pontual (%)
2a	57
2b	98
2c	99
2d	98
2e	96
2f	98
2g	98
2h	99
2i	63
2j	29
2k	97
2l	95
2m	97
2n	96
2o	84
2p	48
2q	99
2r	98
Anfotericina B	69
Controle negativo	0

Por meio da análise da Tabela 2, nota-se que os compostos identificados como **2a**, **2i**, **2j** e **2p** apresentaram valores percentuais de citotoxicidade pontual inferiores ao valor exibido pela Anfotericina B. No entanto, os compostos mais promissores foram o **2j** e o **2p**, os quais apresentaram valores inferiores a 50% de citotoxicidade pontual. Cumpre ressaltar que os macrófagos são células do sistema de defesa de mamíferos que são infectadas pela forma promastigota do parasito durante o processo de infecção. É desejável que compostos sendo investigados com relação aos seus efeitos leishmanicida apresentem baixa citotoxicidade frente a células sadias, como os macrófagos, dos infectados. Conforme mostrado na Tabela 2, os compostos **2j** e **2p** foram aqueles que apresentarem melhor citotoxicidade.

Para os compostos **2j** e **2p**, que apresentaram os menores valores de citotoxicidade pontual, foram determinados os valores de concentração inibitória 50% (IC₅₀) da atividade antipromastigota (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de concentração inibitória 50% (IC₅₀) determinados para os derivados **2j** e **2p** contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum*.

Composto	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)		
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. infantum</i>
2j	10,0	5,99	6,78
2p	12,4	7,98	40,1

A análise da Tabela mostra que ambos os ésteres apresentaram valores de IC₅₀ inferiores a 50 µg mL⁻¹. Além disso, os compostos apresentam maior eficácia frente à espécie *L. braziliensis*. Em comum, estes dois derivados possuem grupos retiradores de elétrons (Br no caso de **2j** e NO₂ no caso de **2p**) ligados à posição *orto* do anel aromático do grupo acila destes ésteres.

3.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DE MORAIS, S., M.; VILA-NOVA, N. S.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, F. C.; LOBO, C. H.; MOURA, A. A. A. N.; SALES, A. D.; RODRIGUES, A. P. R.; DE FIGUEIREDO, J. R.; CAMPELLO, C. C.; WILSON, M. E.; JR. ANDRADE, H. F. Thymol and eugenol derivatives as potential antileishmanial agentes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 22, p. 6250–6255, 2014.
- ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACÊDO, R. O.; BARBOSA-FILHO, J. M. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*, v. 12, p. 514-535, 2005.
- SILVA-LÓPEZ, R. E. Proteases de Leishmania: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. *Química Nova*, v. 33, p. 1541-548, 2010.
- DE LIMA, E. B.; DA MOTTA, J. O. C.; PORTO, C.; SAMPAIO, R. N. R. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 82, p. 111-124, 2007.

- BALANÑA-FOUCE, R.; REGUERA, R. M.; CUBRÍA, J. C.; ORDÓÑEZ, D. The Pharmacology of Leishmaniasis, *General Pharmacology: The Vascular System*, v. 30, p. 435-443, 1998.
- RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESUS, M. N.; MARZAL, P. C.; ANDRADE JÚNIOR, H. F.; TEMPONE, A. G.; Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Química Nova*, v. 26, p. 550-553, 2003.
- VEGA, D. M.; DI MEGLIO, M.; ALONSO, S. DV.; ALVIRA, F.; MONTANARI, J. Nanomaterials for diagnosis, treatment, and prevention of human cutaneous leishmaniasis: A review. *OpenNano*, v. 12, p. 1-22, 2023.
- MARZOCHI, M. C. A.; Leishmanioses no Brasil (As Leishmanioses Tegumentares). *Jornal Brasileiro de Medicina*, v. 63, p. 82-105, 1992.
- SILVA, C. G.; SILVA, R. M. M.; DINIZ, V. A.; CÔRTE-REAL, S. Ultraestrutura de parasitos do gênero *Leishmania*. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. Leishmanioses do continente americano. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. p. 53-67.
- SARAIVA, N. G.; VALDERRAMA, L.; LABRADA, M.; HOLGUÍN, A. F.; NAVAS, C.; PALMA, G.; WEIGLE, K. A. The relationship of *Leishmania braziliensis* subspecies and immune response to disease expression. In new world leishmaniasis. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 159, p. 725-735, 1989.
- DE VRIES, H. J. C.; REEDIJK, S. H.; SHALLING, H. D. F. Cutaneous Leishmaniasis: recent development in diagnosis and management. *American Journal of Clinical Dermatology*, v. 16, p. 99-109, 2015.
- GONTIJO, B.; DE CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, p. 71-80, 2003.
- ROSS, R. Further Notes on Leishman's Bodies. *The British Medical Journal*, v. 28, p. 1401, 1903.
- LIMONGI, J. P. Em Farmacodinâmica; Corbett, C. E., ed.; Livraria Editora Artes Médicas: São Paulo, 1973, cap. 61.

BAILEY, M. S.; LOCKWOOD, D. N. J. Cutaneous leishmaniasis. *Clinics in Dermatology*, v. 25, p. 203-211, 2007.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO *BIS-EUGENOL*

4.1 INTRODUÇÃO

Os fungos constituem um grupo de microrganismos unicelulares ou pluricelulares, formados por células eucarióticas, com parede celular rica em quitina (TRABULSI, 1991). Eles são aclorofilados e heterotróficos, portanto, não possuem as organelas responsáveis pela fotossíntese e são incapazes de sintetizar seu próprio alimento. A nutrição ocorre através da liberação de enzimas sobre a matéria-prima pré-formada seguida da absorção dos nutrientes necessários (AZEVEDO E BARATA, 2018).

As formas pluricelulares são caracterizadas pela formação de filamentos numerosos, denominados hifas, que densamente unidas formam o chamado micélio. Este pode ser observado em cogumelos, por exemplo, e tem a função de absorver nutrientes e dar forma ao fungo. Os fungos não filamentosos são os unicelulares, como é o caso das leveduras (NASCIMENTO, 2006).

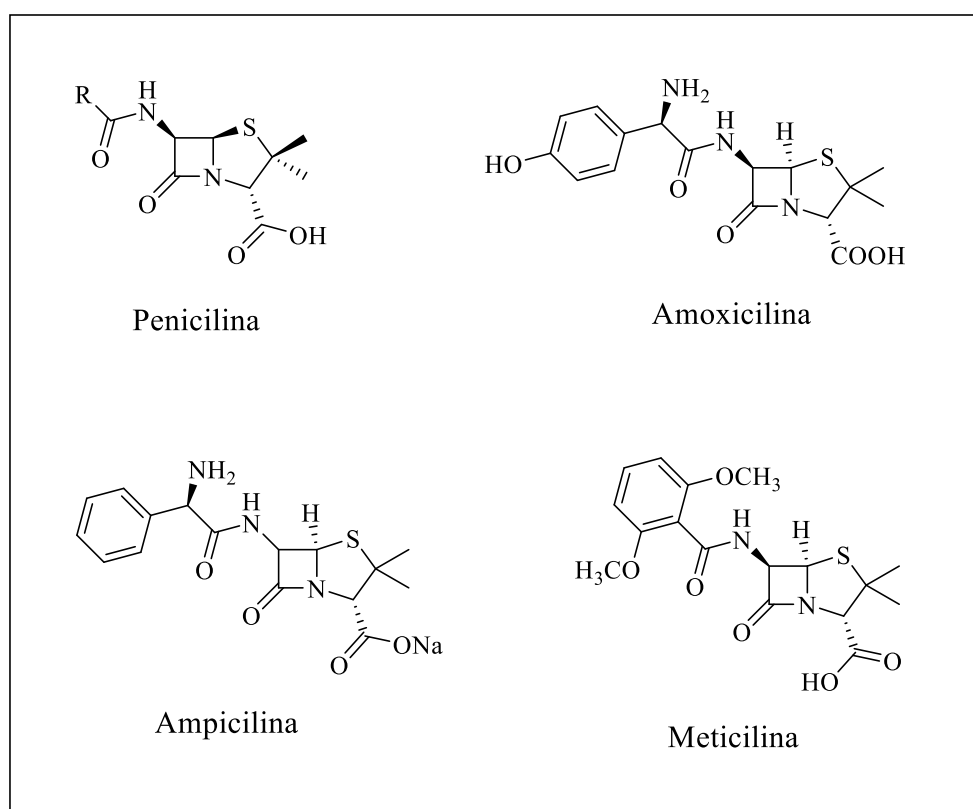
Os fungos desenvolvem um papel muito importante no meio ambiente, atuando na decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes na natureza sintetizando substâncias húmicas (CHRISTENSEN, 1989). A ação decompositora dos fungos não se restringe apenas a ambientes terrestres, mas também atuam nos ecossistemas aquáticos (GESSNER e CHAUVET, 1993).

Na alimentação, os fungos são utilizados em forma de alimentos e bebidas fermentadas há vários anos. Estimativas indicam que o processo fermentativo tenha surgido com a produção de queijos há mais de 8000 anos, e a fermentação alcoólica de vinhos e cervejas entre 2000 -4000 a.C., seguida da fabricação de pães (ROSS *et al.*, 2002).

Os fungos também são utilizados como fonte de alimentação direta, na forma de cogumelos. Desde a idade antiga, os cogumelos são alimentos muito apreciados, devido a crença em seu elevado valor nutritivo e potencial medicinal (FURLANI e GODOY, 2007). Suas propriedades alucinógenas já eram conhecidas no período paleolítico, sendo cultivados na China desde 600 a.C. (BOA, 2004).

Na medicina, os fungos também desempenham papel importante. Em 1929 Alexander Fleming descobriu a penicilina (Figura 1) a partir da espécie *Penicillium crysogenum*, um marco para a história dos fungos. Além de salvar inúmeras vidas, este antibiótico serviu de modelo para a indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos antibióticos como ampicilina, amoxicilina e meticilina (Figura 1) (PEREIRA E PITA, 2005; VELOSO, 1995).

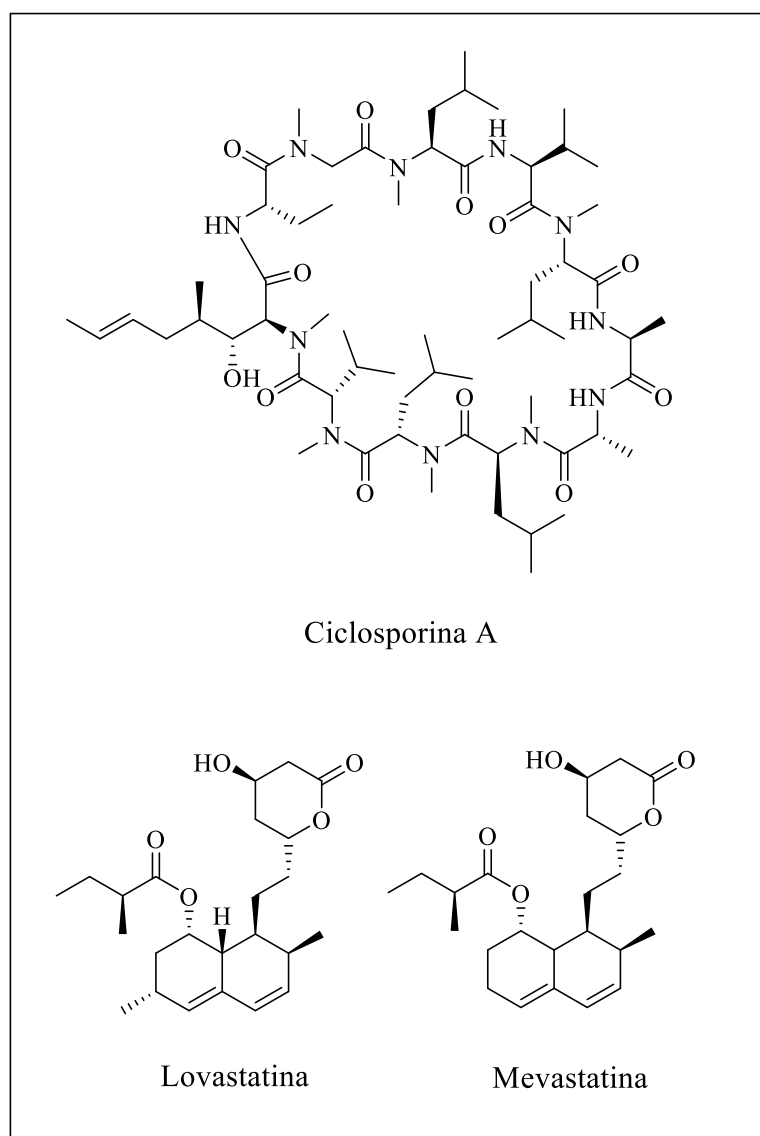
Figura 1. Estruturas dos antibióticos penicilina, amoxicilina, ampicilina e meticilina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Outros medicamentos foram descobertos a partir de fungos, como por exemplo a ciclosporina A, em 1972, obtido a partir do caldo de fermentação dos fungos *Trichoderma polysporum* e *Cylindrocarpon lucidum*. A ciclosporina A foi o primeiro imunossupressor a ser descoberto. A lovastatina e mevastatina, redutores de colesterol, foram obtidos a partir das espécies *Aspergillus terreu* e *Penicillium* spp., respectivamente (Figura 2, pg. 73) (LAUPACIS et al., 1982; BARREIRO E BOLZANI, 2009).

Figura 2. Estrutura dos medicamentos ciclosporina A, lovastatina e mevastatina.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Em contrapartida, os fungos estão relacionados a perdas econômicas, visto que eles podem contaminar os alimentos destinados a consumo humano e animal por causa das micotoxinas produzidas por algumas espécies durante o crescimento, podendo causar doenças ou morte do indivíduo quando ingeridas (IAMANAKA *et al.*, 2010). Das duzentas espécies fúngicas produtoras de micotoxinas, trinta delas são micotoxicológicas, sendo que algumas podem produzir vários tipos de micotoxinas simultaneamente (TRABULSI e ALTERTHUM, 2004). A presença de fungos que se desenvolvem em alimentos e a produção de micotoxinas ocorre se o ambiente for favorável, como o tipo de substrato, a temperatura e a umidade (FILHO *et al.*, 2013).

Os fungos também podem ser prejudiciais na agricultura, pois são responsáveis por inúmeras doenças que acometem plantações, resultando em significativas perdas econômicas. Capazes de colonizar diferentes substratos, os fungos colocam em vulnerabilidade as diversas etapas de produção, desde a contaminação do solo, passando pelo armazenamento, até etapas de processamento e embalagem, contribuindo para a perda de 30% do rendimento das culturas (SALADINO *et al.*, 2016). Desta maneira, o uso de fungicidas é uma ferramenta importante na cadeia produtiva agrícola, concedendo maior estabilidade de produção (DOS SANTOS *et al.*, 2011).

De acordo com Garcia (1999), fungicidas são substâncias químicas com a capacidade de prevenir infecções de tecido de plantas vivas causadas por fungos fitopatogênicos. Seu uso é antigo e está entre uma das soluções mais eficientes no controle de espécies fúngicas. O primeiro fungicida foi descoberto em 1913, o acetato de fenilmercúrio, e desde então mais de 110 novos defensivos agrícolas pertencentes à classe dos fungicidas foram desenvolvidos durante o último século, contribuindo para o aumento da produtividade agrícola (RUSSEL, 2005).

Entretanto, o surgimento de fungos fitopatogênicos resistentes é um sério problema enfrentado no controle de doenças (GHINI, 1996). Quando ameaçados, os fungos, assim como outros organismos vivos, podem desenvolver mecanismos que lhes confirmam resistência aos fungicidas, de modo que a espécie perdure (PARREIRA *et al.*, 2009). Neste sentido, a busca por novos compostos ativos capazes de controlar espécies de patógenos resistentes é de relevância. Além disso, é desejável que estes compostos possam ser aplicados em baixas concentrações, objetivando minimizar impactos ambientais, e sejam significativamente mais seletivos (TAKAHASHI e MELHEM, 2014).

Dentro deste cenário, a inspiração na natureza é uma alternativa para a busca por novos fungicidas. Metabólitos secundários, como o *bis*-eugenol, produzidos por plantas podem ser utilizados como modelo estrutural para a síntese destes novos compostos (LIMA *et al.*, 2022).

Descreve-se neste capítulo a avaliação da atividade fungicida dos compostos derivados do *bis*-eugenol, **2a-2r** contra o fungo patogênico *Fusarium oxysporum*, causador de fusariose em cultivares de bananeiras.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Generalidades

O ensaio de avaliação da atividade fungicida dos compostos derivados do eugenol foi realizado em colaboração com os doutorandos Maria Eduarda Leandro Assis e Pedro Henrique da Silva Medrado do Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola do Laboratório de Genética Molecular de Bactérias (LGMB) da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

4.2.2 Avaliação da atividade fungicida

No ensaio de biocontrole, foi utilizado o fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum*, causador da fusariosose em cultivares de bananeiras. Para ativação do estoque fúngico, o mesmo foi cultivado em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) durante 7 dias a 28 °C.

Soluções estoque do *bis*-eugenol e dos derivados **2a–2r** em dimetilsulfóxido (DMSO) (50 mg mL⁻¹) foram diluídas em uma solução de Tween 80 a 0,05%, alcançando uma concentração final de 10 mg mL⁻¹. A mesma solução aquosa foi utilizada como controle negativo nos bioensaios.

Para o teste de difusão, um disco de 5 mm de crescimento micelial foi transferido para uma placa de Petri de 50 mm. Em lados opostos a inoculação do fungo, foram feitos poços de 6 mm contendo 30 µL do *bis*-eugenol e dos derivados **2a–2r** na concentração de 10 mg mL⁻¹, assim como os controles. As placas foram incubadas a 28 °C, e o diâmetro de crescimento micelial medido todos os dias com auxílio de um paquímetro até que algum dos tratamentos atingisse a borda das placas.

4.2.3 Análises estatísticas

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância após confirmação da normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk, seguido do teste de comparações múltiplas de Scott-Knott. As análises foram realizadas no software R e RStudio.

O percentual de crescimento apresentou distribuição normal dos dados pelo teste Shapiro-Wilk e a análise de variância demonstrou diferença estatística ($p < 0,05$) (Figura 4).

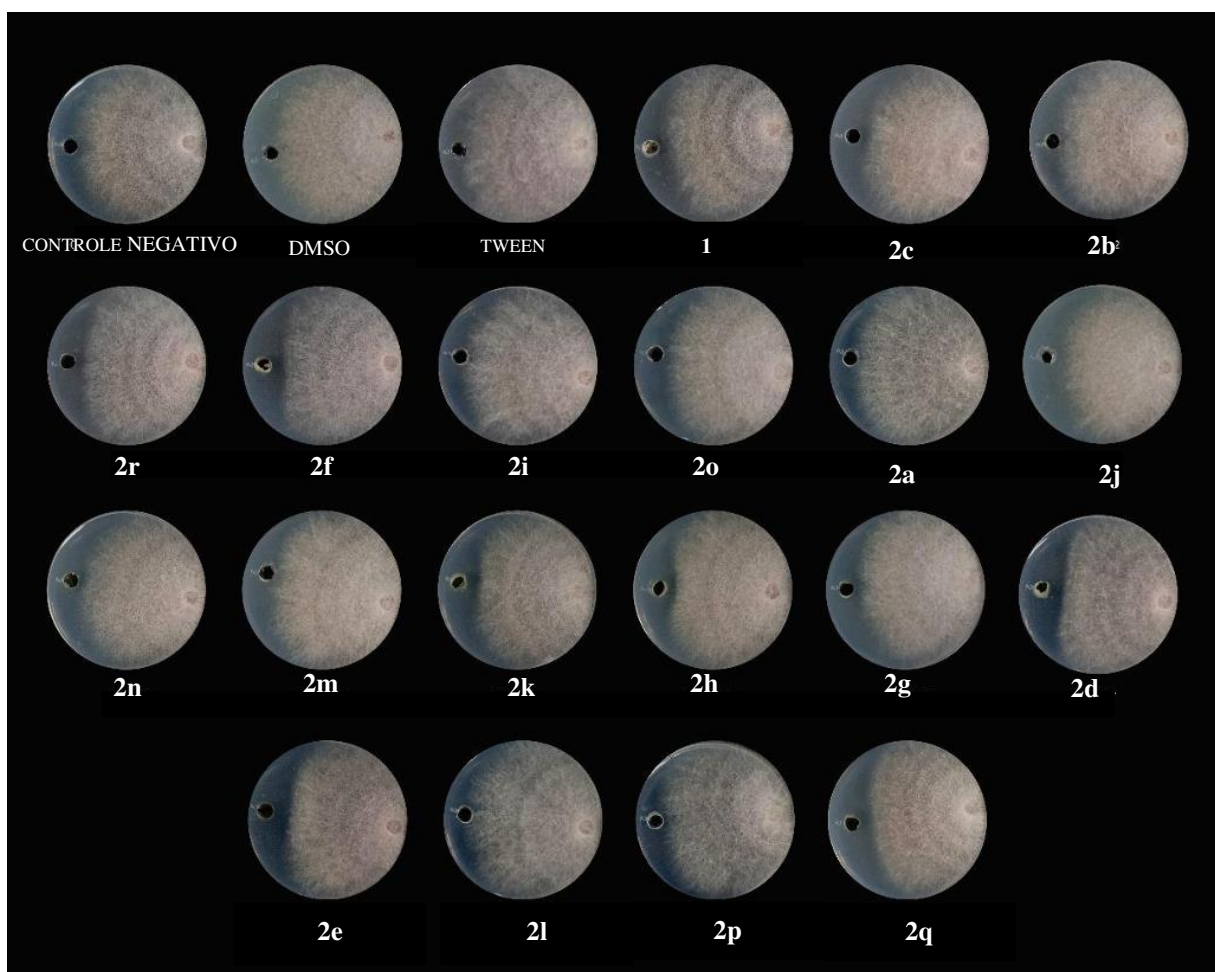
O percentual de crescimento foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$PC = 100 - \left(\frac{\text{Controle} - \text{Tratamento}}{\text{Controle}} \right) \times 100$$

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *bis*-eugenol (**1**) bem como os derivados **2a–2r** foram avaliados *in vitro*, por meio do teste de disco-difusão, com relação aos seus efeitos sobre a espécie *Fusarium oxysporum* e os resultados estão mostrados na Figura 3. Os derivados do *bis*-eugenol (**1**) exibiram um efeito moderado sobre o crescimento micelial do fitopatógeno quando comparado ao controle negativo.

Figura 3. Teste de disco-difusão de derivados do *bis*-eugenol (**1**) e dos derivados **2a–2r** frente a *Fusarium oxysporum*.

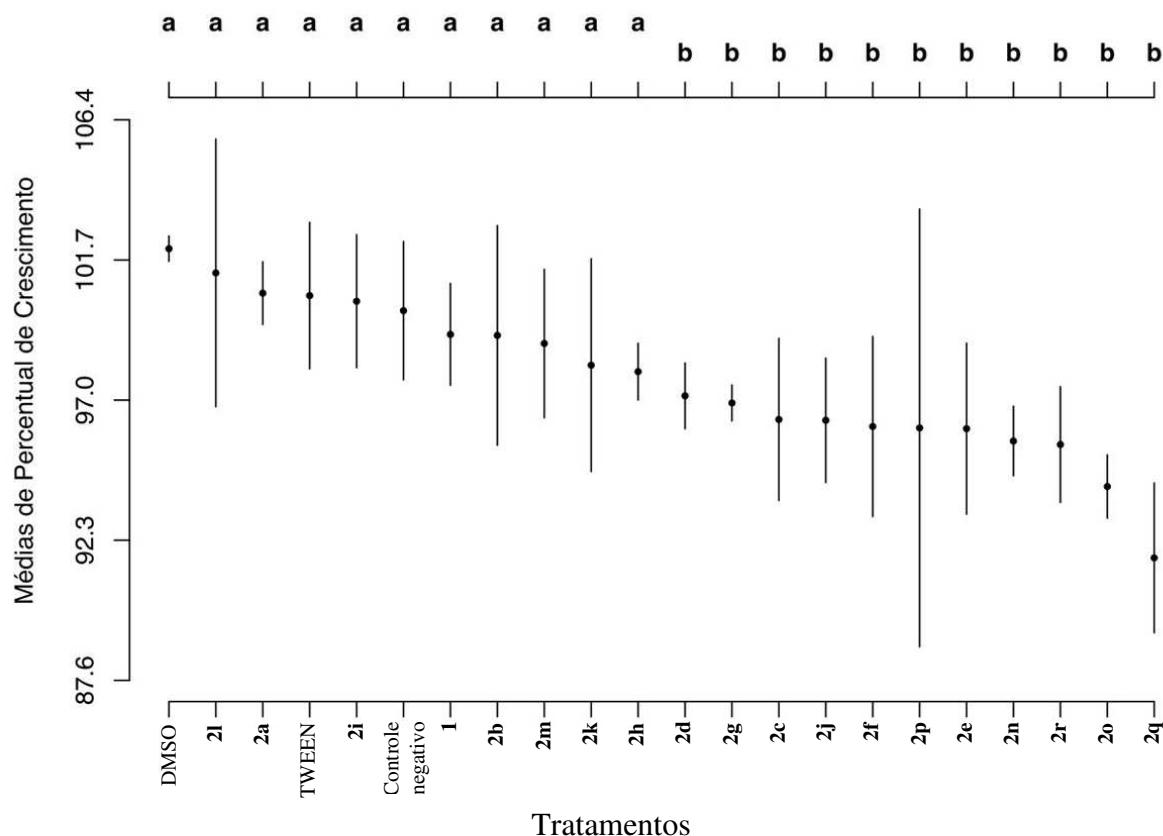


Fonte: Elaborada pela própria autora.

A partir do teste de comparações múltiplas de Scott-Knott, nas análises estatísticas dos dados coletados, os compostos avaliados foram separados em duas classes. O *bis*-eugenol (**1**) e os compostos **2a**, **2b**, **2h**, **2i**, **2k**, **2l**, **2m** foram agrupados juntamente com o controle negativo, o controle referente ao solvente DMSO e o controle relativo ao

surfactante TWEEN, indicando que não há diferença estatística entre eles, indicado na Figura 4 pelas letras minúsculas **a**.

Figura 4. Teste de comparações múltiplas de Scott-Knott para o ensaio de avaliação da atividade do *bis*-eugenol (**1**) e dos derivados **2a–2r** frente a *Fusarium oxysporum*.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para os outros tratamentos, o agrupamento diferiu estatisticamente do grupo **a** ($p < 0,05$), sendo indicado na Figura 4 pela letra minúscula **b**. Estes dados indicam que o segundo grupo de derivados do *bis*-eugenol (**1**) apresentou menores médias de percentual de crescimento micelial de *F. oxysporum*, com o composto **2q** apresentando o menor valor de média de crescimento micelial, o que pode corresponder a um indicativo de uma maior eficiência no controle do crescimento micelial do fungo por este derivado, com média de crescimento de 91.71% em relação ao crescimento do controle negativo (100%) (Figura 4).

Investigações conduzidas no Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos (GSPCB), realizadas utilizando metodologia idêntica à descrita neste capítulo, revelou

que o crescimento micelial médio do fungo *F. oxysporum* na presença de eugenol correspondeu a 94,69% quando comparado ao controle negativo. O bis-eugenol (**1**) exibiu 99,20% de média de crescimento micelial, demonstrando que o dímero é menos eficiente que o monômero em controlar o crescimento do fungo. No entanto, as médias de crescimento micelial observadas para os compostos **2o** e **2q** (Figura 4) foram inferiores ao valor apresentado pelo eugenol, indicando o efeito benéfico das modificações moleculares realizadas no dímero para produzir compostos mais ativos que **1** e o eugenol em inibir o crescimento do fungo *F. oxysporium*.

4.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, E.; BARATA, B. Diversidade no reino Fungi e aplicações à indústria. *Revista de Ciência Elementar*, v. 6, p. 1-7, 2018.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte de potencial para a descoberta de fármacos. *Química Nova*, v. 32, p. 679-688, 2009.
- BOA, E. R. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. FAO: Roma, 2004.
- CHRISTENSEN, M. A view of fungal ecology. *Mycologia*, v. 81, p.1-19, 1989.
- DOS SANTOS, R.; FERREIRA, D. T. L.; FIEIRA, C. Controle de doenças com fungicidas em trigo. *Revista Cultivando o Saber*, v. 4, p. 126-132, 2011.
- FILHO, A. A.; CAMPOLINA, D.; DIAS, M. B. Toxicologia clínica. 2ª edição. Ed. Folium. Belo Horizonte 2013.
- FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 64, p. 149-154, 2007.
- GARCIA, A. Fungicidas i: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1999. 32 p.
- GESSNER, M. O.; CHAUVET, E. Ergosterol-to-Biomass conversion factors for aquatic hyphomycetes. *American Society for Microbiology*, v. 59, p. 502-507, 1993.
- GHINI, R. Ocorrência de resistência a fungicidas em linhagens de *Botrytis cinerea*, no estado de São Paulo. *Fitopatologia brasileira*, v. 21, p. 285-288, 1996.

- IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v. 7, p. 138-161, 2010.
- LAUPACIS, A.; KEOWN, P. A.; ULAN, R. A.; MCKENZIE, N.; Stiller, C. R. Cyclosporin A: A powerful immunosuppressant. *Canadian Medical Association Journal*, v. 126, p. 1041-1046, 1982.
- LIMA, A. M. A.; DE PAULA, W. T.; LEITE, I. C. H. L.; GAZOLLA, P. A. R.; DE ABREU, L. M.; FONSECA, V. R.; ROMÃO, W.; LECERDA JR., V.; DE QUEIROZ, V. T.; TEIXEIRA, R. R.; COSTA, A. V. Synthesis of Eugenol-Fluorinated Triazole Derivatives and Evaluation of Their Fungicidal Activity. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 33, p. 1200-1210, 2022.
- NASCIMENTO, J. S. Noções básicas sobre fungos. *UFP: Pelotas, Brazil* (2006).
- PARREIRA, D. F.; NEVES, W. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, v. 3, p. 24-34, 2009.
- PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881 – 1995): Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). *Revista da Faculdade de Letras*, v. 6, p. 129-151, 2005.
- ROSS, R. P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, v. 79, p. 3-16, 2002.
- RUSSEL, P. E. A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science*, v. 143, p. 11-25, 2005.
- TAKAHASHI, J. P.; MELHEM, M. S. C. Uso de fungicidas na agricultura e resistência a antifúngicos na clínica médica. *Boletim do Instituto Adolfo Lutz*, p. 40-41, 2014.
- TRABULSI, L. R., M.R.F. de, ed. - Microbiologia. 2. ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 1991. 386 p.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM F. Microbiologia. 4ª edição. Atheneu. São Paulo. 2004.
- VELOSO, B. Penicilina: a lenda, a história e os acasos. *Medicina Interna*, v. 2, p. 193-201, 1995.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

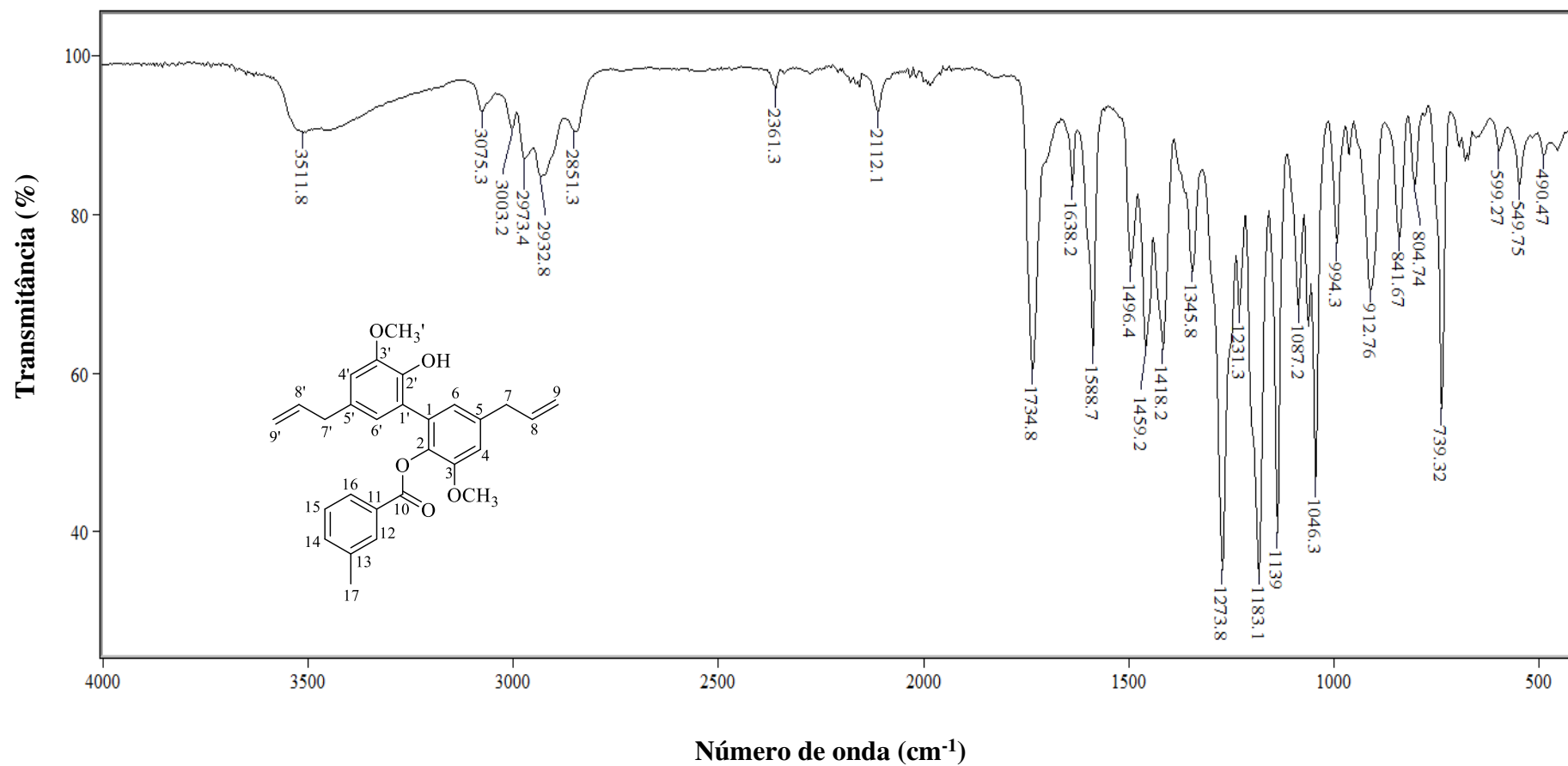
Neste trabalho, foram descritas as etapas envolvidas na obtenção de uma série de ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**). No total, sintetizaram-se dezenove compostos, sendo um deles o *bis*-eugenol (**1**), obtido a partir do eugenol, e dezoito ésteres (**2a–2r**). As estruturas dos compostos obtidos foram confirmadas por meio de espectroscopia no infravermelho e espectroscopia de RMN. Para a síntese dessas substâncias, foram empregadas metodologias como acoplamento oxidativo e reação de esterificação de Steglich. De maneira geral, a estratégia utilizada para a obtenção dos compostos neste estudo mostrou-se adequada, resultando em bons rendimentos.

Os ensaios de avaliação da atividade leishmanicida dos ésteres derivados do *bis*-eugenol (**1**) contra *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum* indicaram que os compostos **2j** e **2p** apresentam atividade superior contra as formas promastigotas dos parasitos, comparadas ao quimioterápico anfotericina B, além de possuírem baixa citotoxicidade frente a macrófagos. Diante deste resultado, pode-se concluir que o desenvolvimento do trabalho resultou na identificação de dois compostos promissores para o desenvolvimento de novos quimioterápicos para o tratamento da leishmaniose. Salienta-se que posteriormente será investigado os efeitos destes compostos contra a forma amastigota intracelular, forma esta responsável pela infecção em mamíferos. O possível mecanismo de ação dos compostos também será investigado.

Os ensaios de avaliação da atividade fungicida, utilizando o fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum*, causador da fusariose em cultivares de bananeiras, mostraram que o éster **2q** apresentou eficácia de inibição de crescimento micelial superior ao *bis*-eugenol (**1**) bem como ao eugenol. Pretende-se realizar ensaios contra outras espécies de fungos fitopatogênicos e a determinação das concentrações inibitórias mínimas (MICs) para os compostos mais promissores no que tange à atividade fungicida.

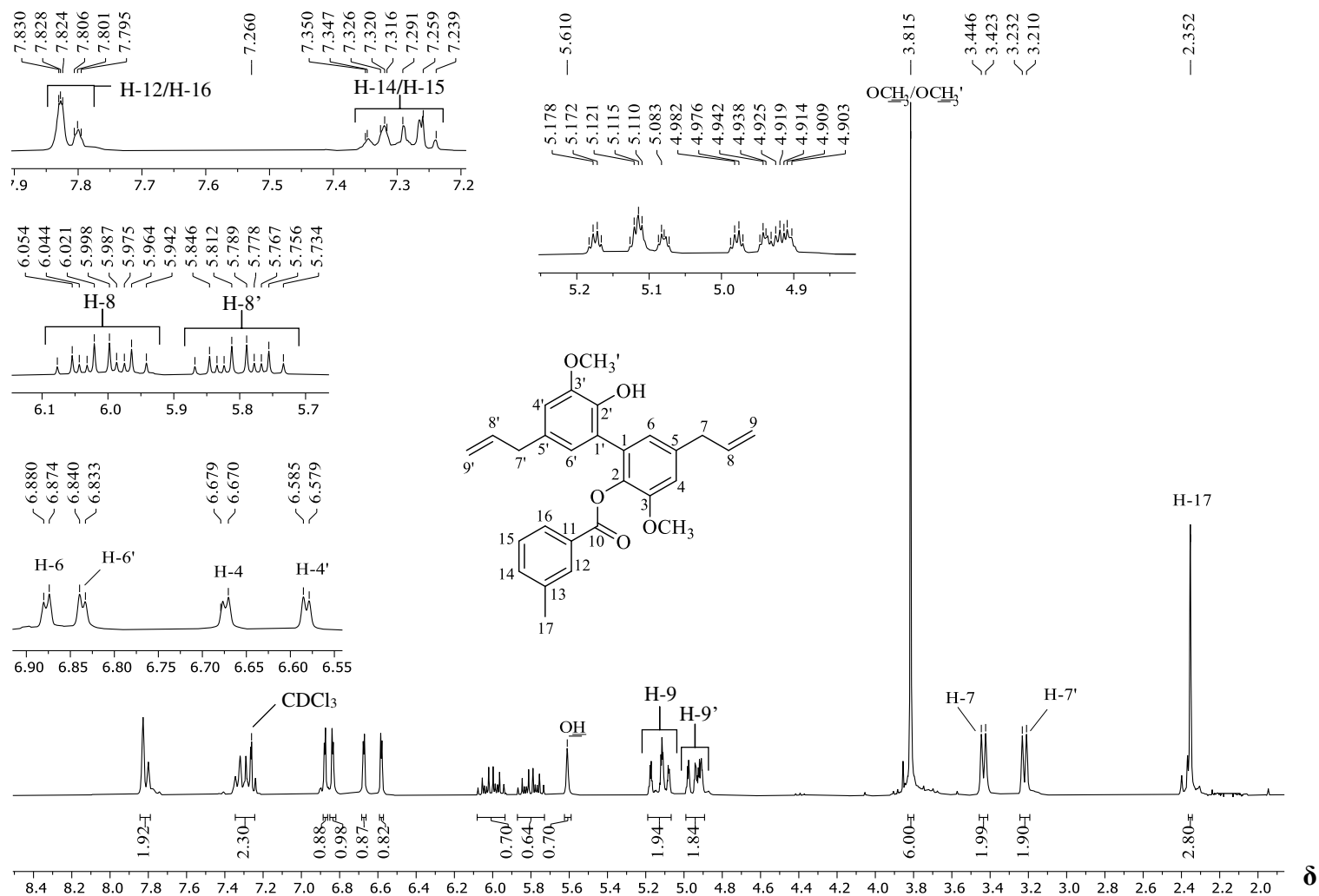
ANEXOS

Figura 1. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2b**.



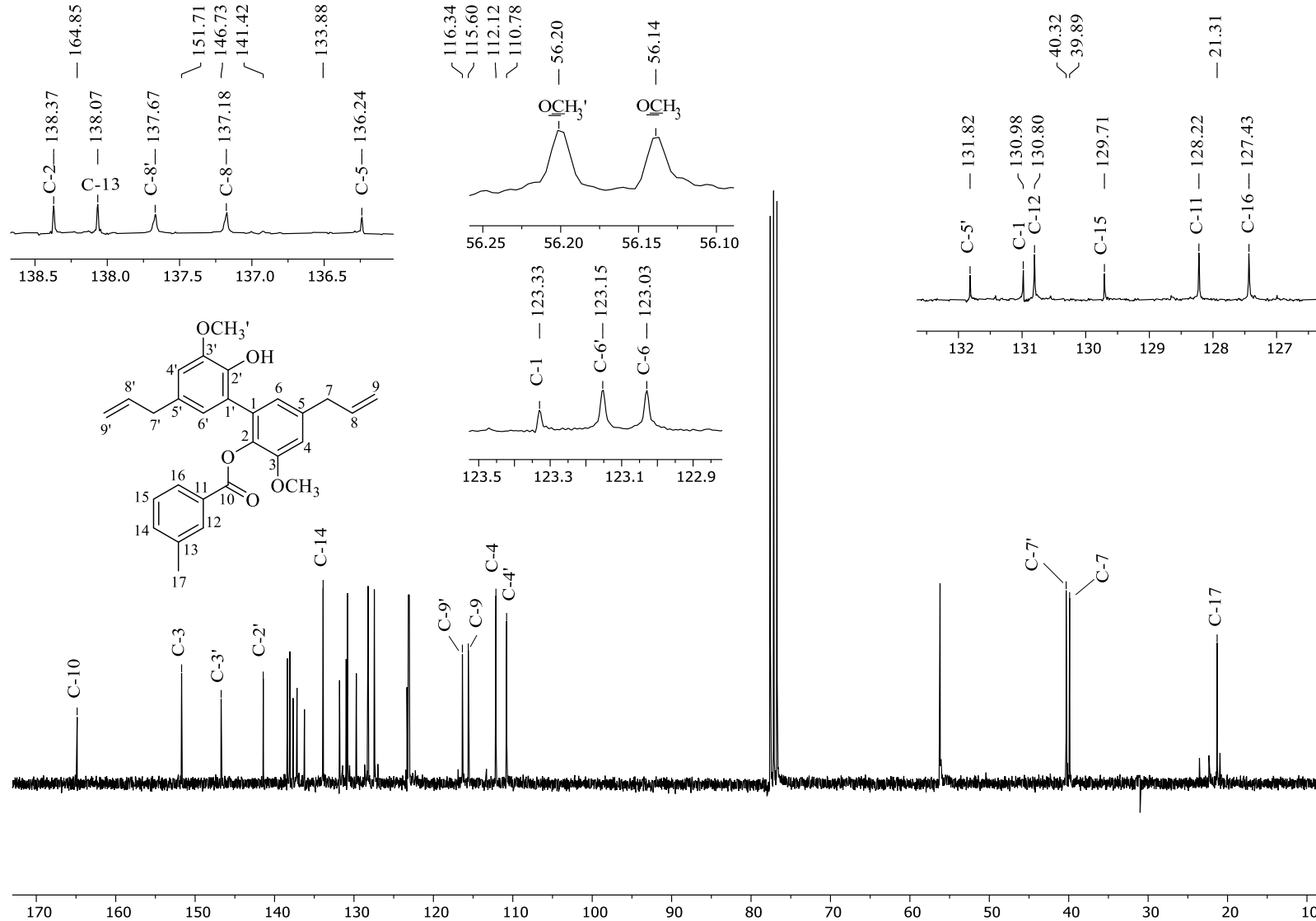
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 2. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2b**.



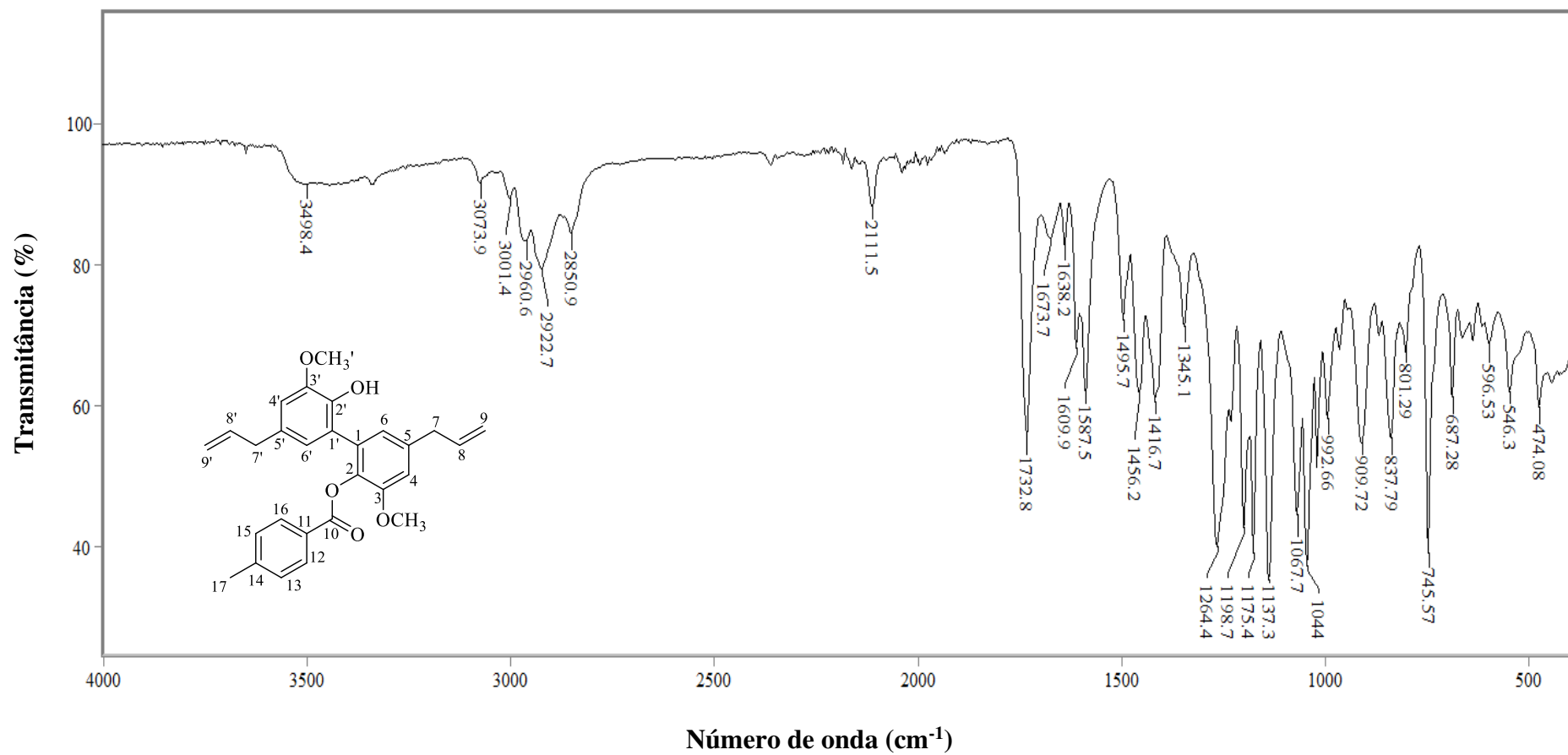
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 3. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2b**.



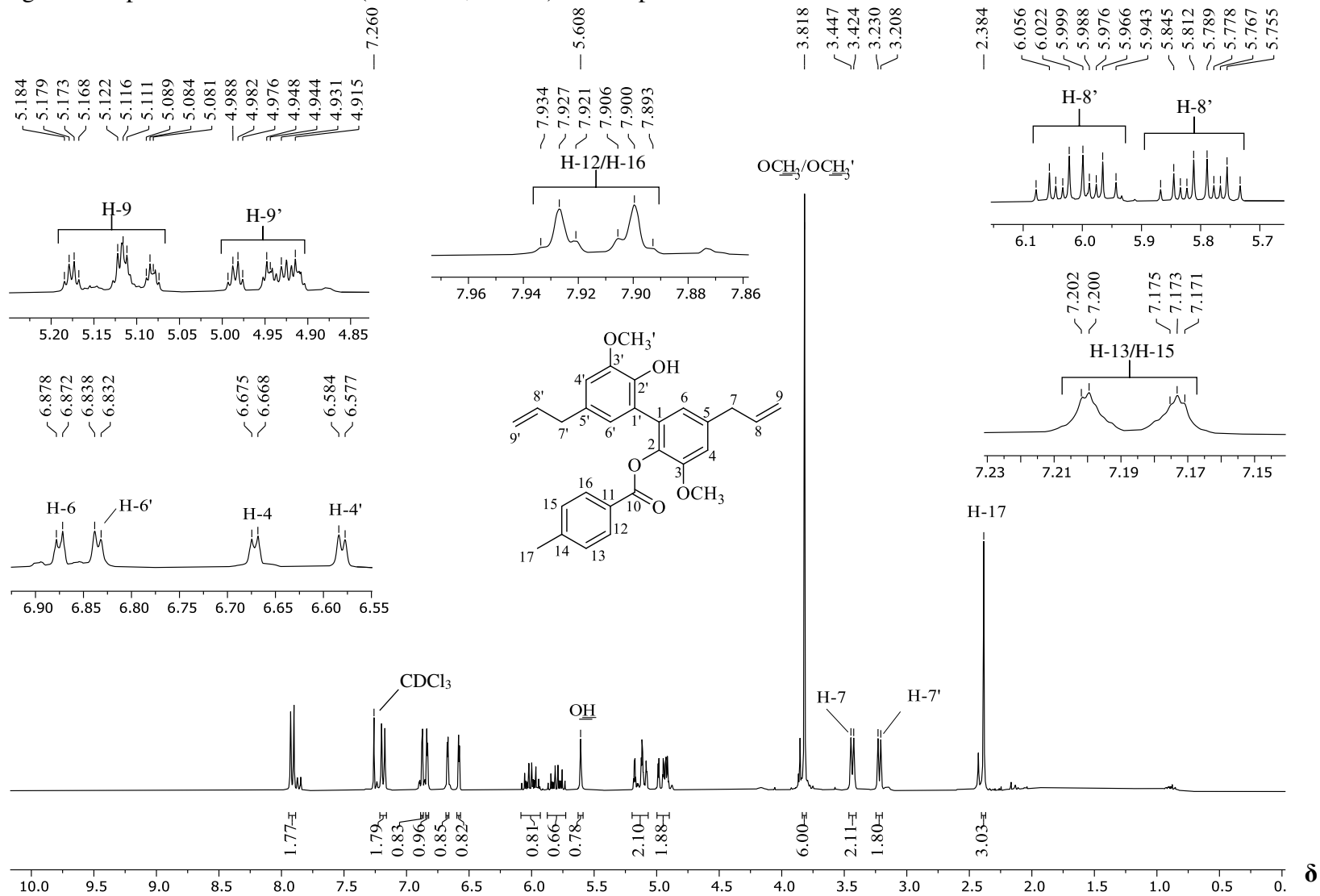
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 4. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2c**.



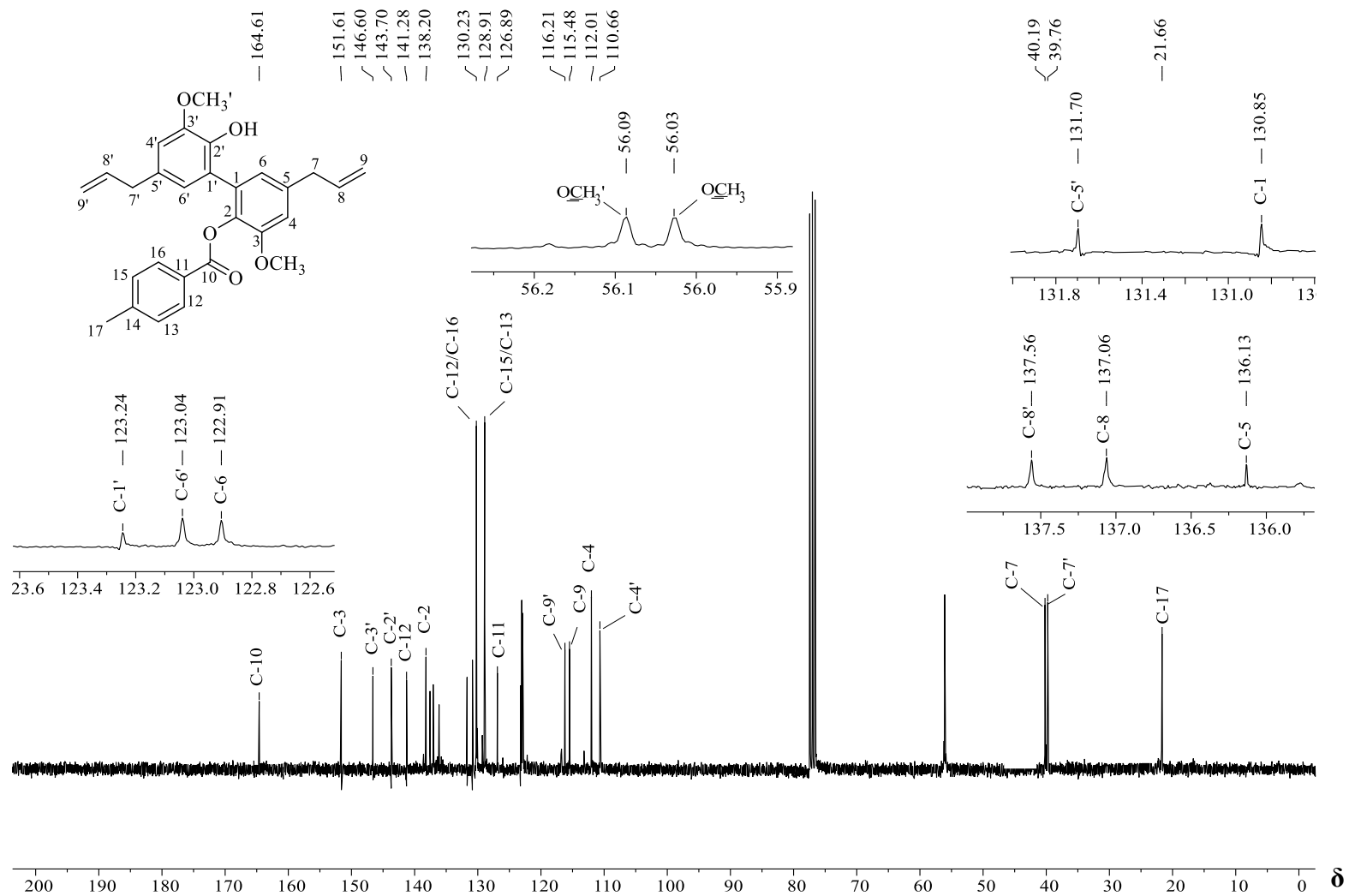
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 5. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2c**.



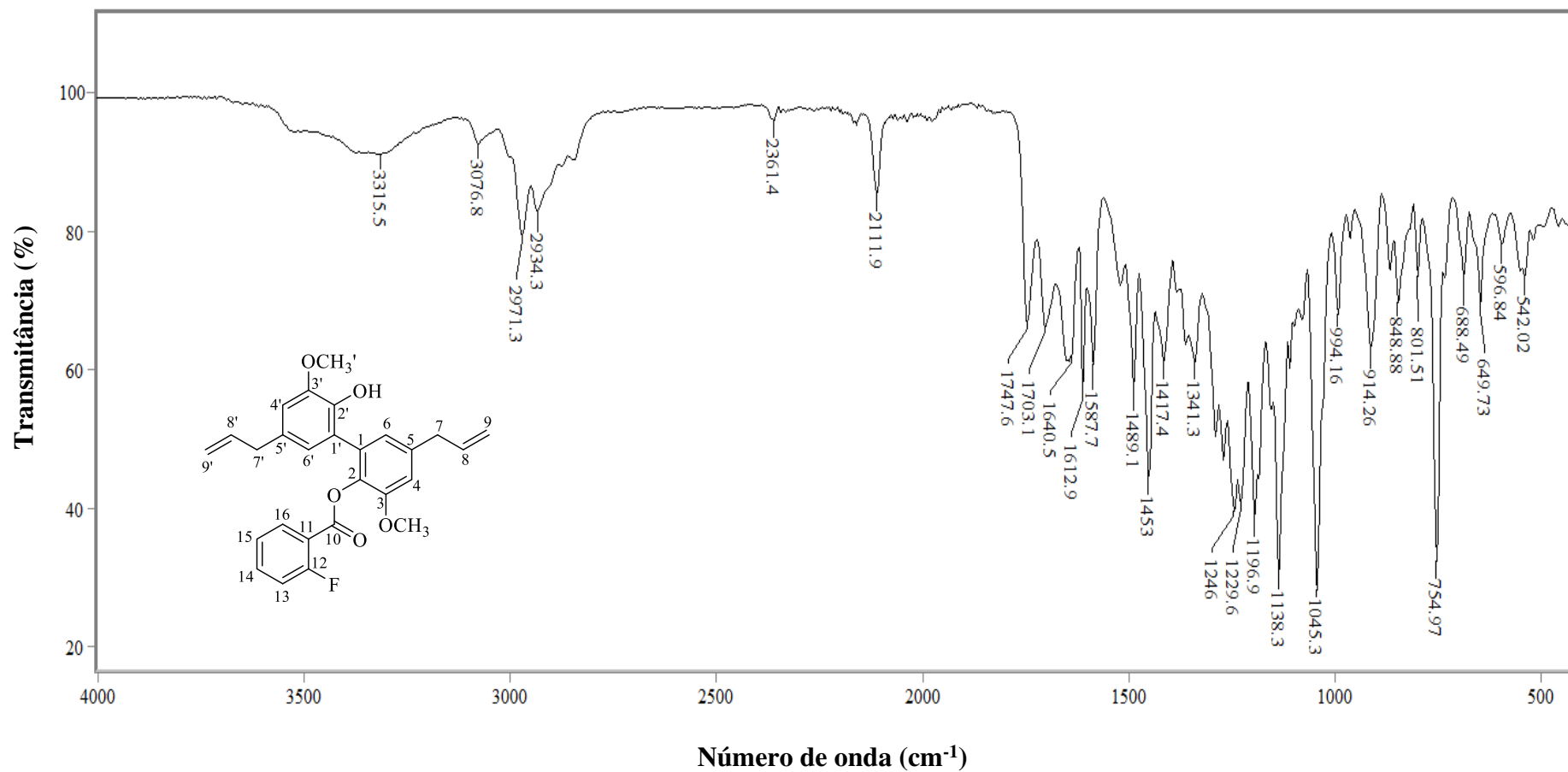
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 6. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2c**.



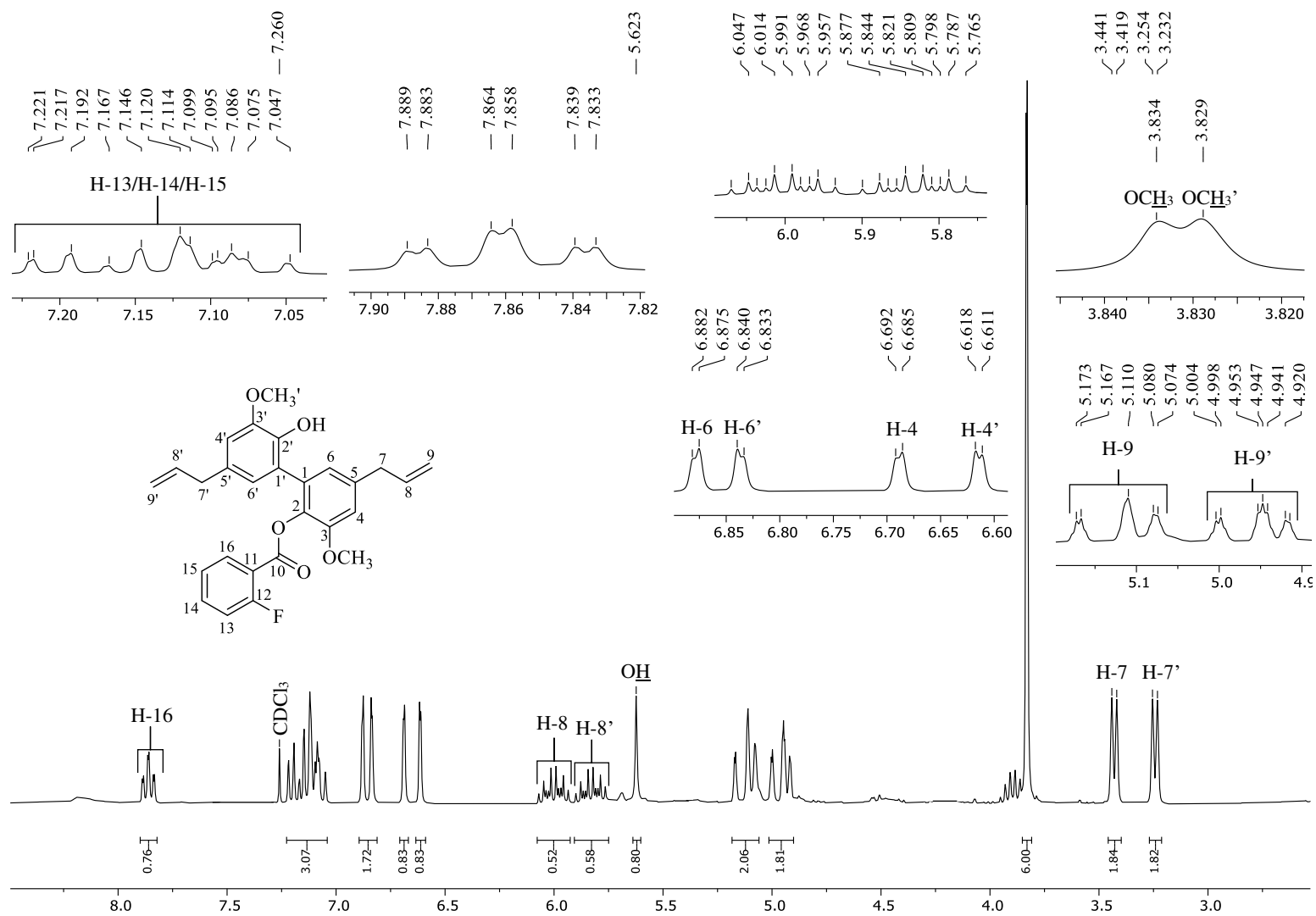
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 7. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2d**.



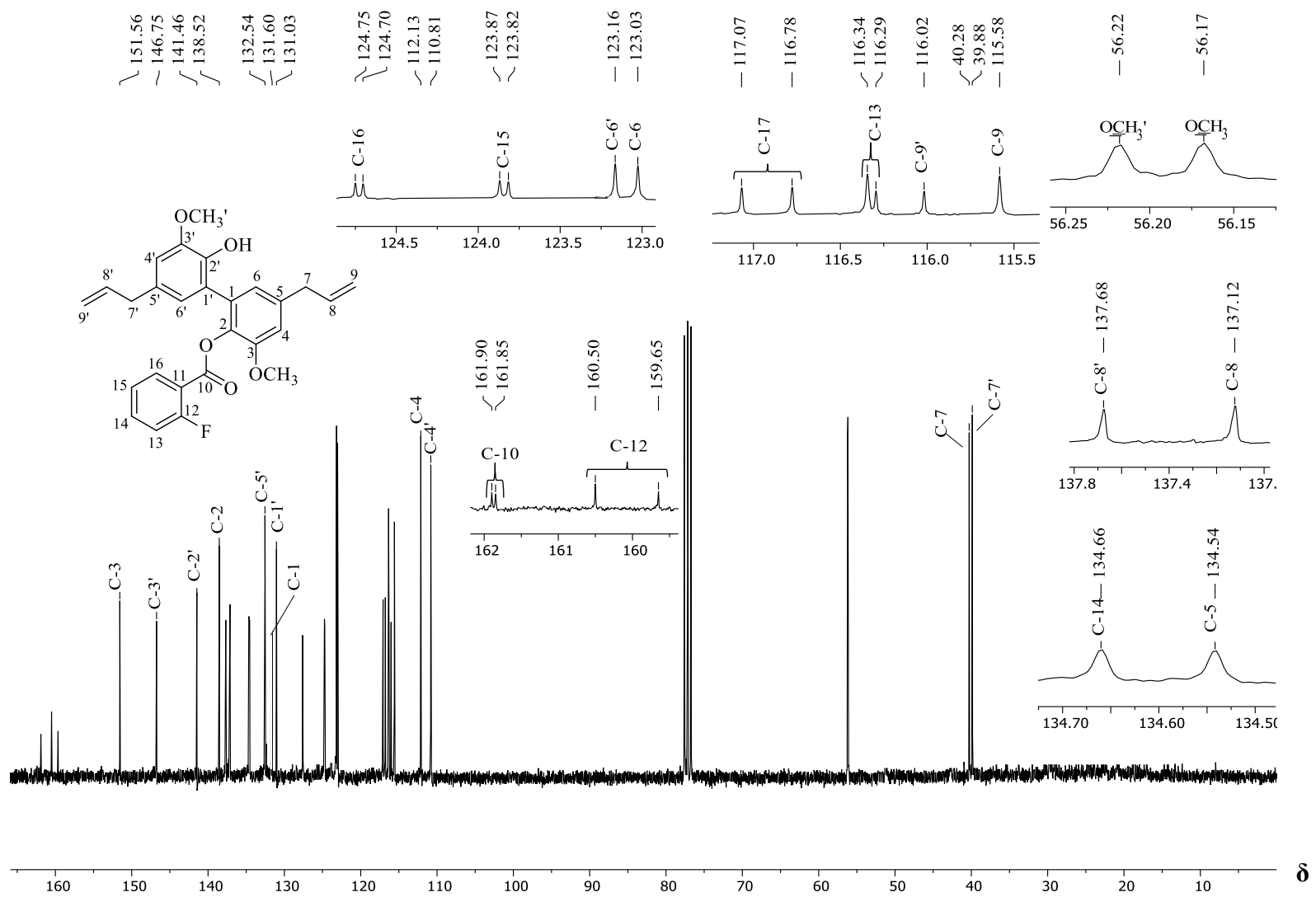
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 8. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2d**.



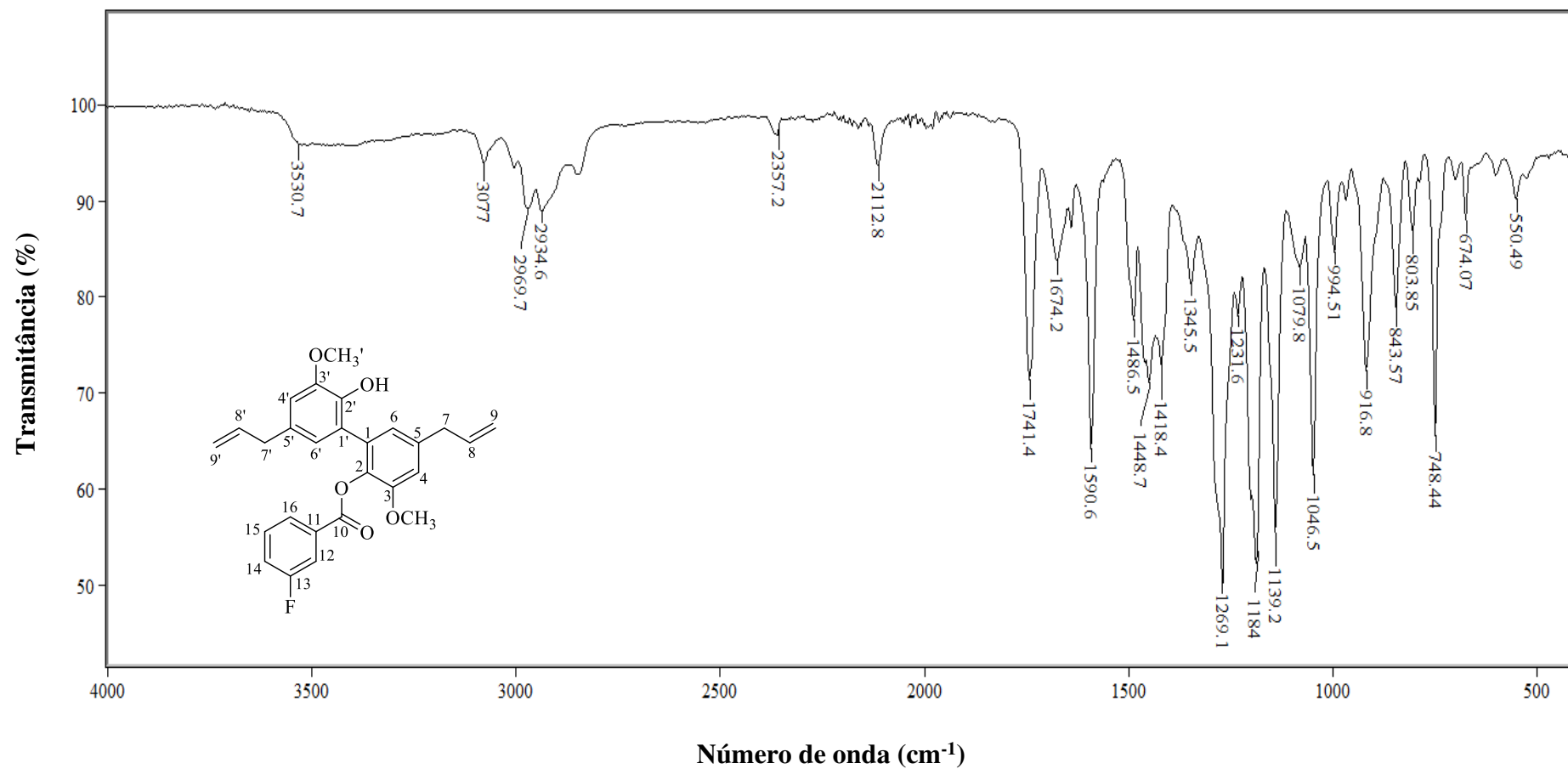
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2d**.



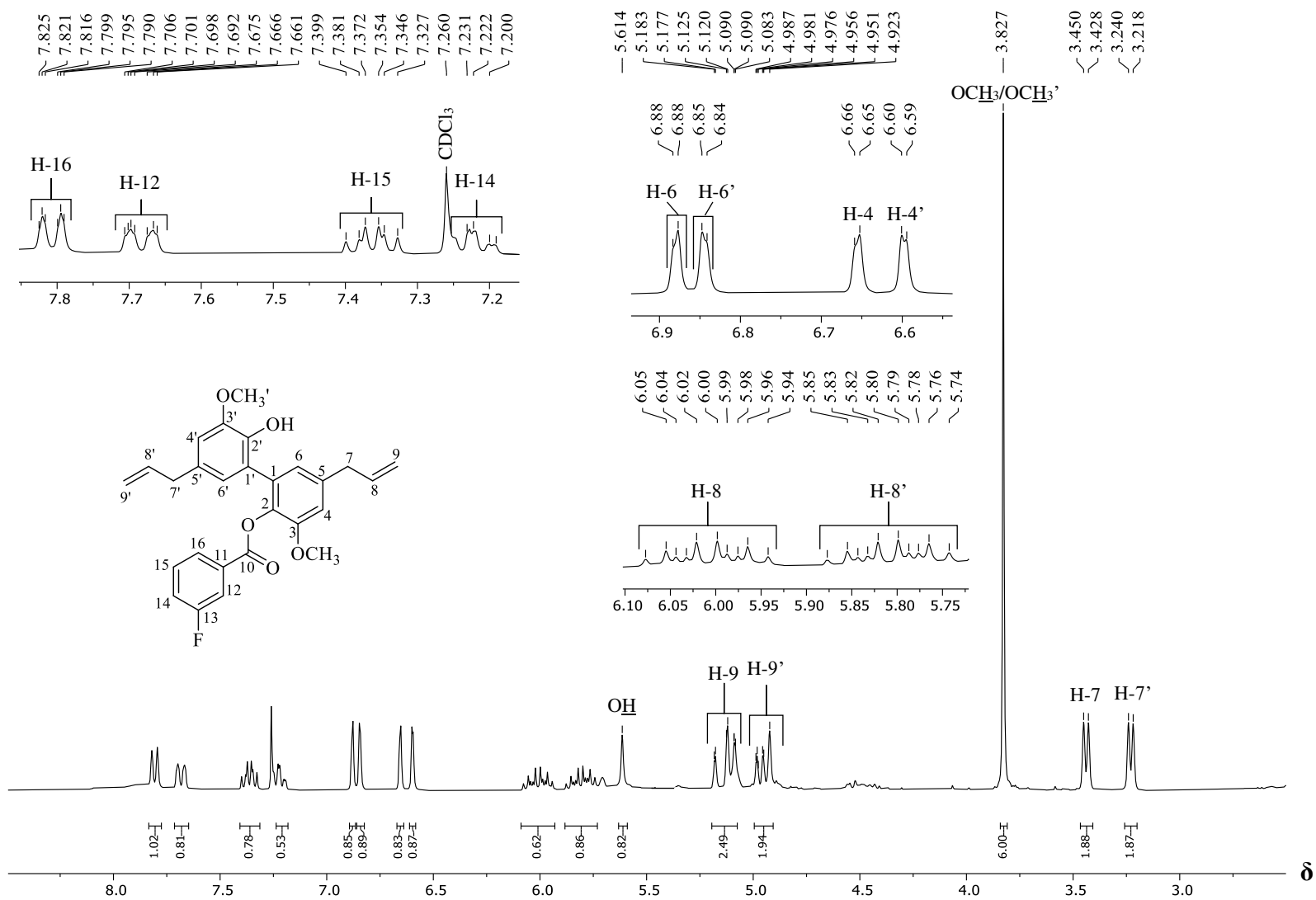
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 10. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2e**.



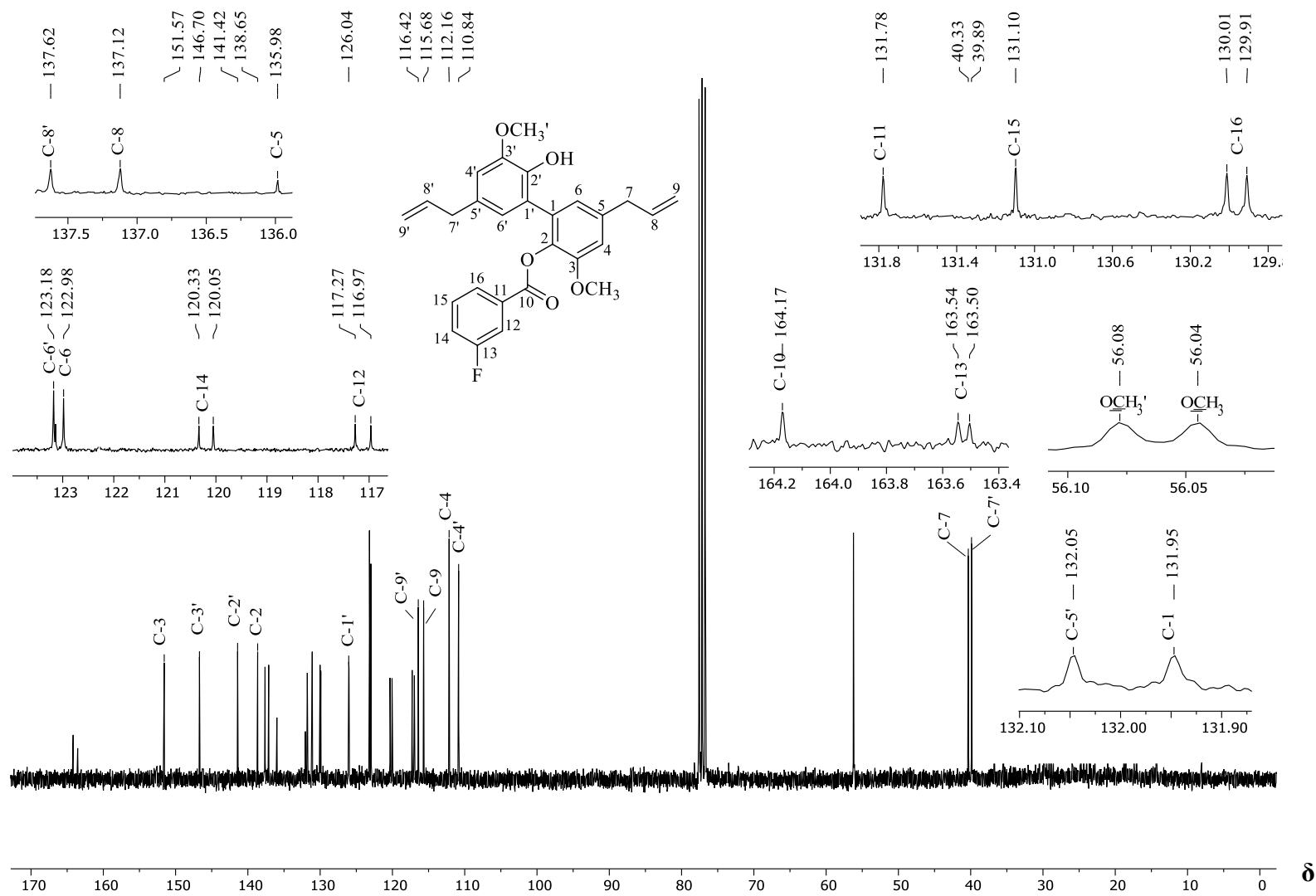
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2e**.



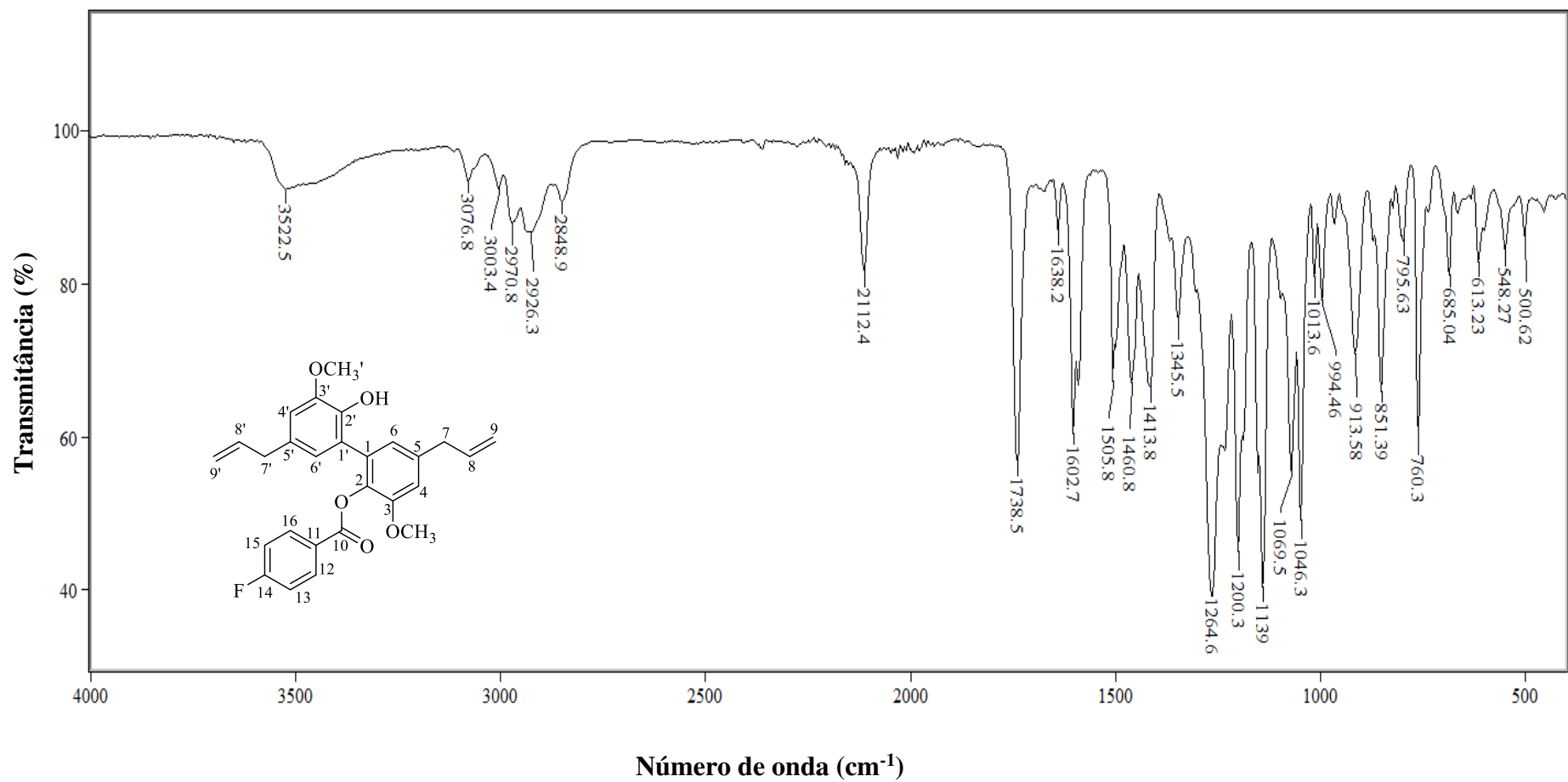
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2e**.



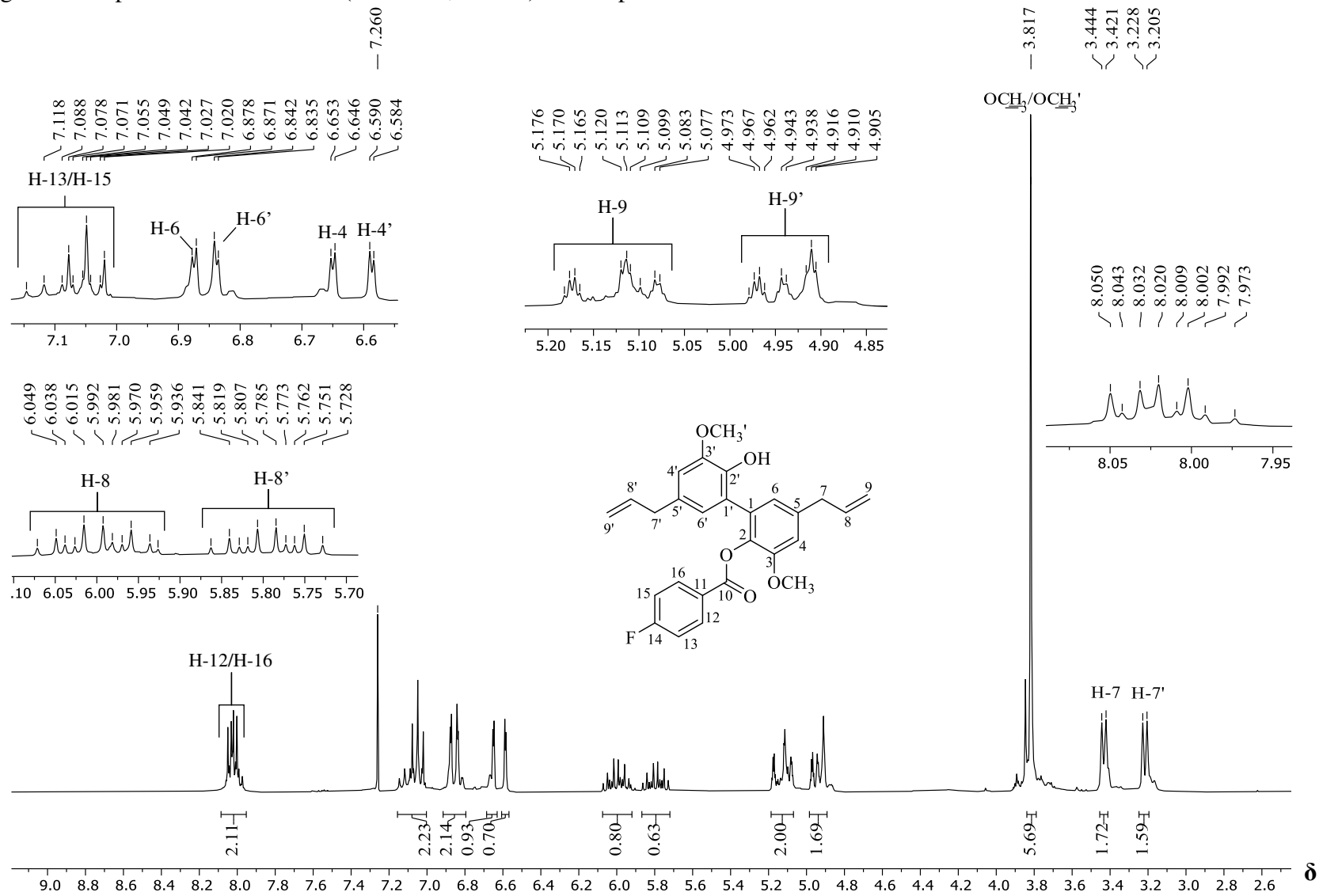
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 13. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2f**.



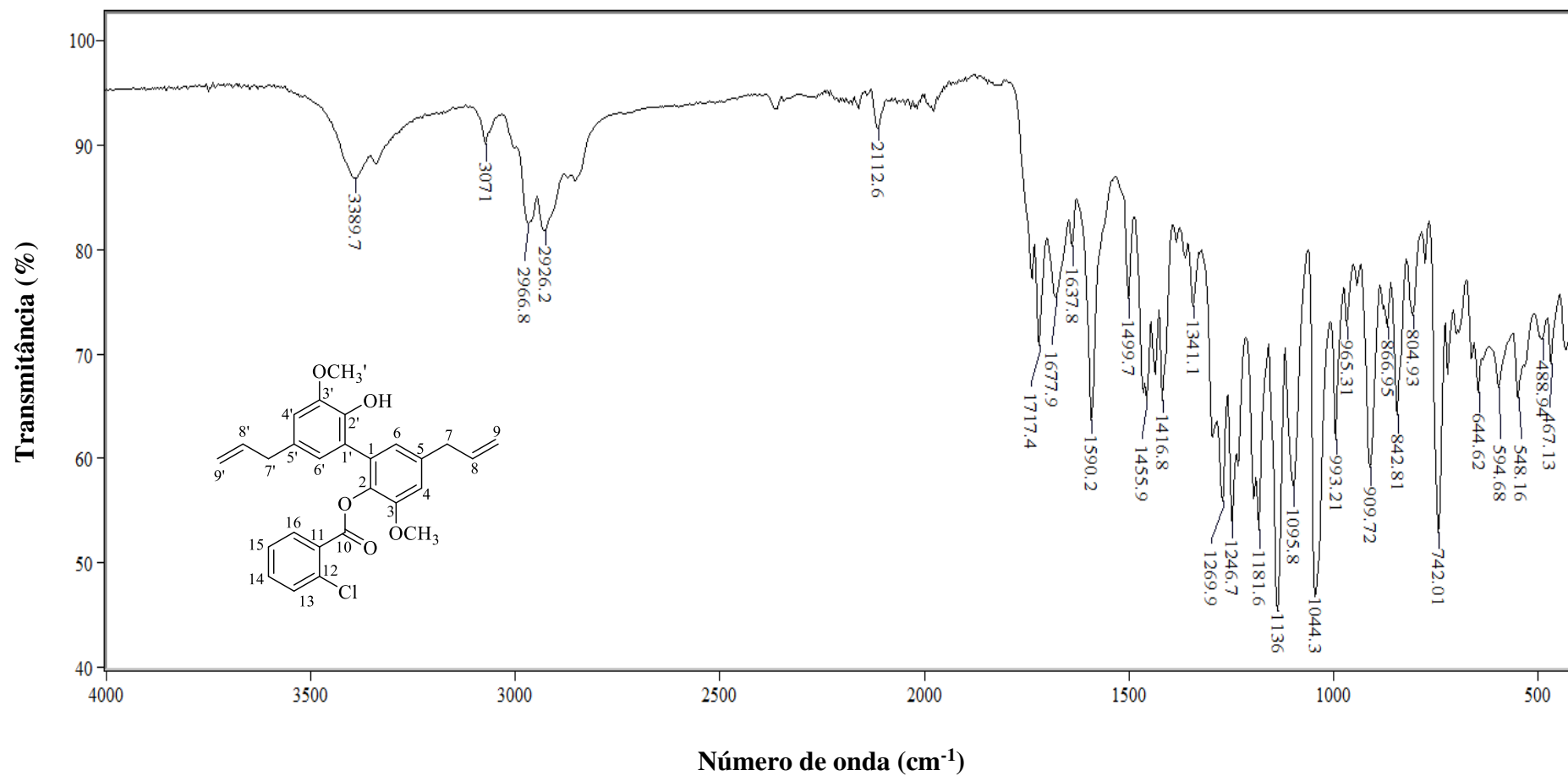
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 14. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2f**.



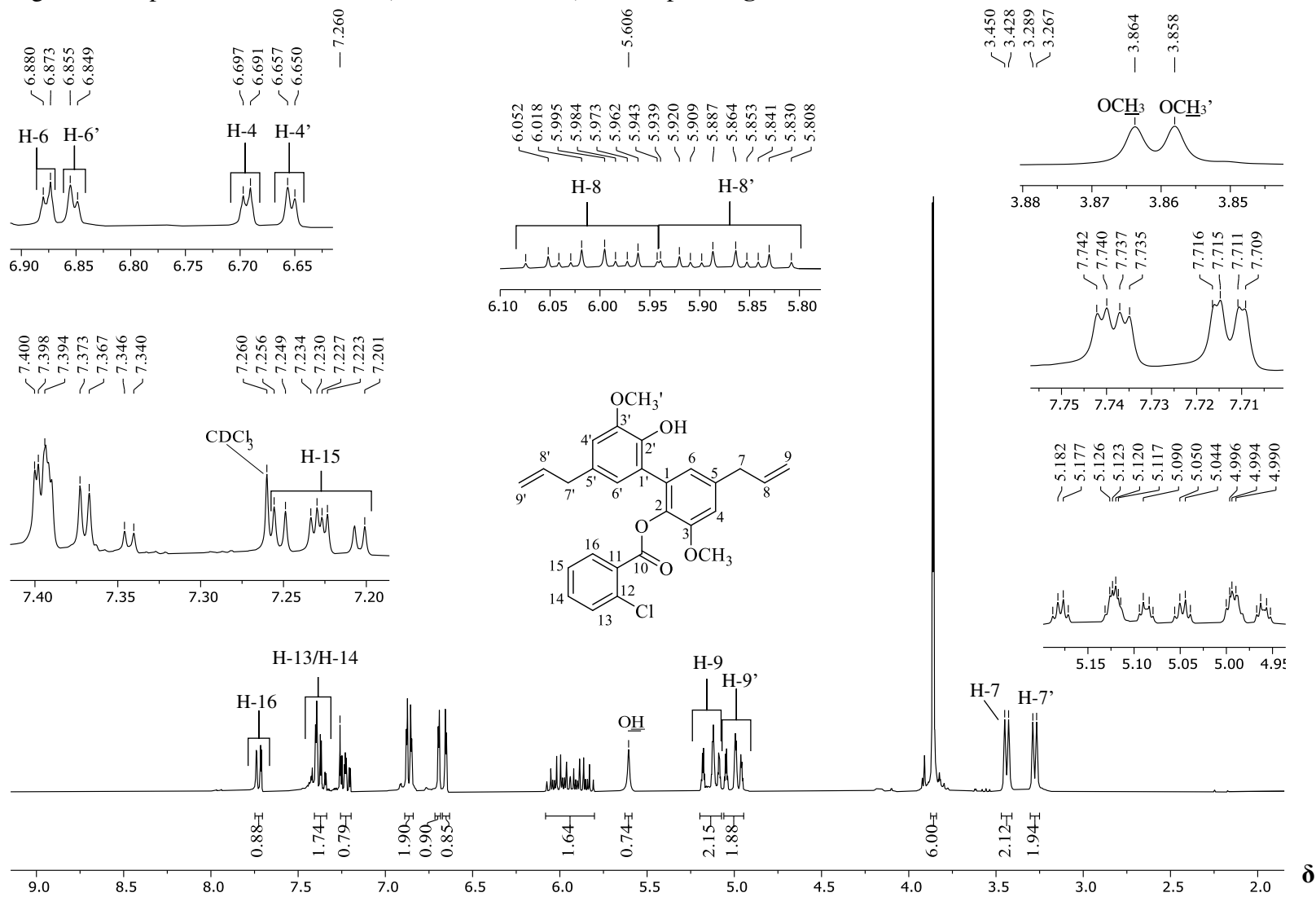
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 16. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2g**.



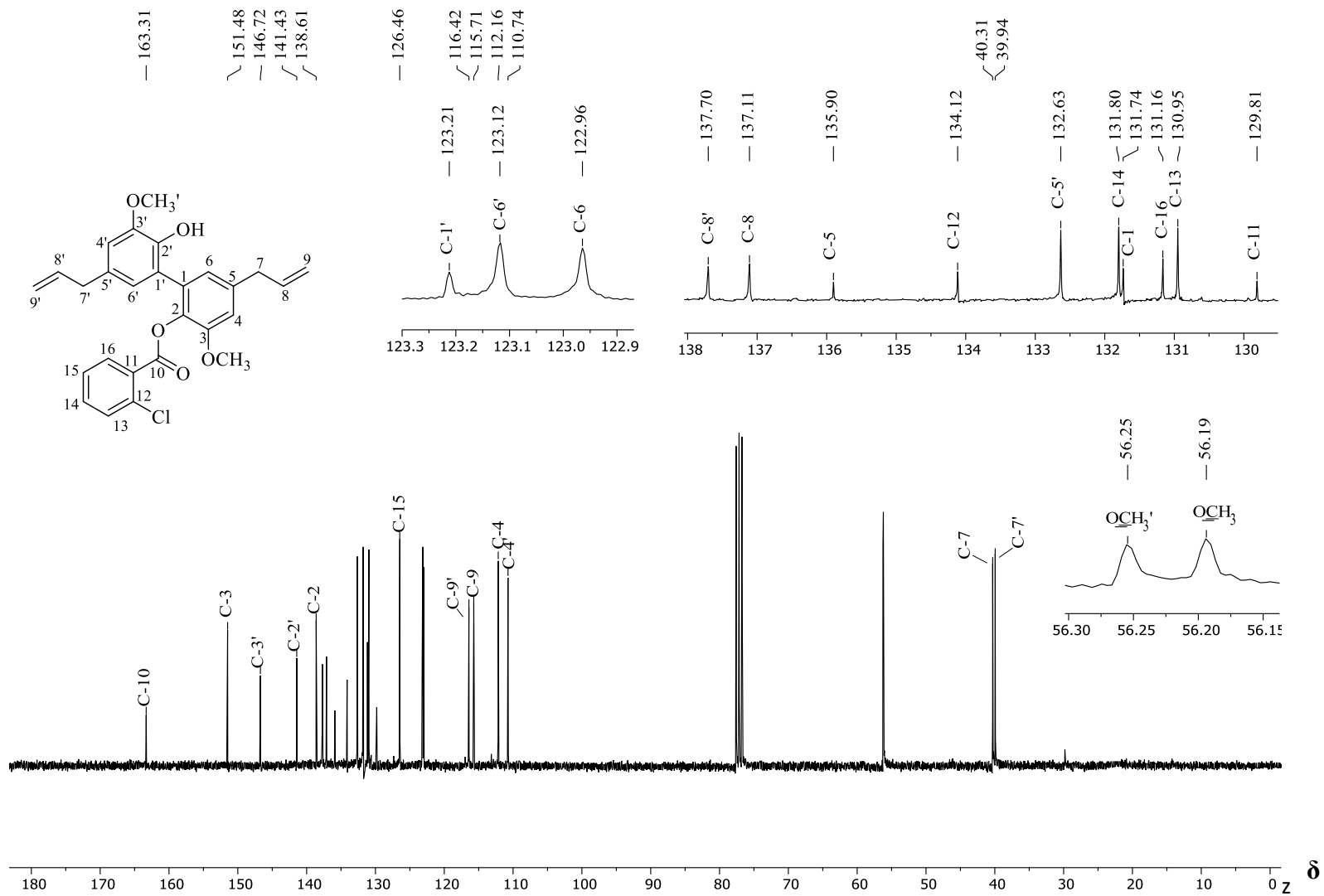
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2g**.



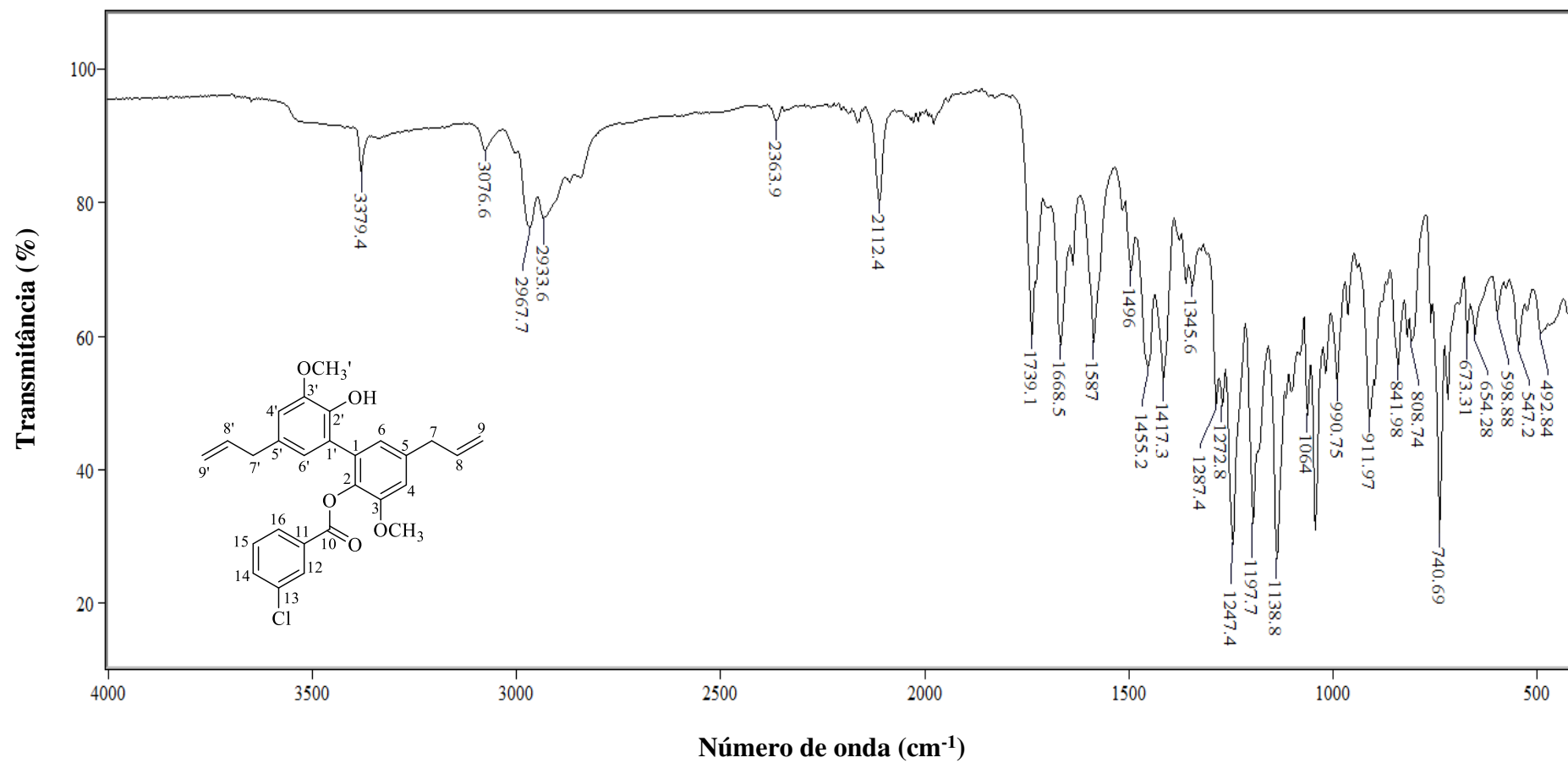
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2g**.



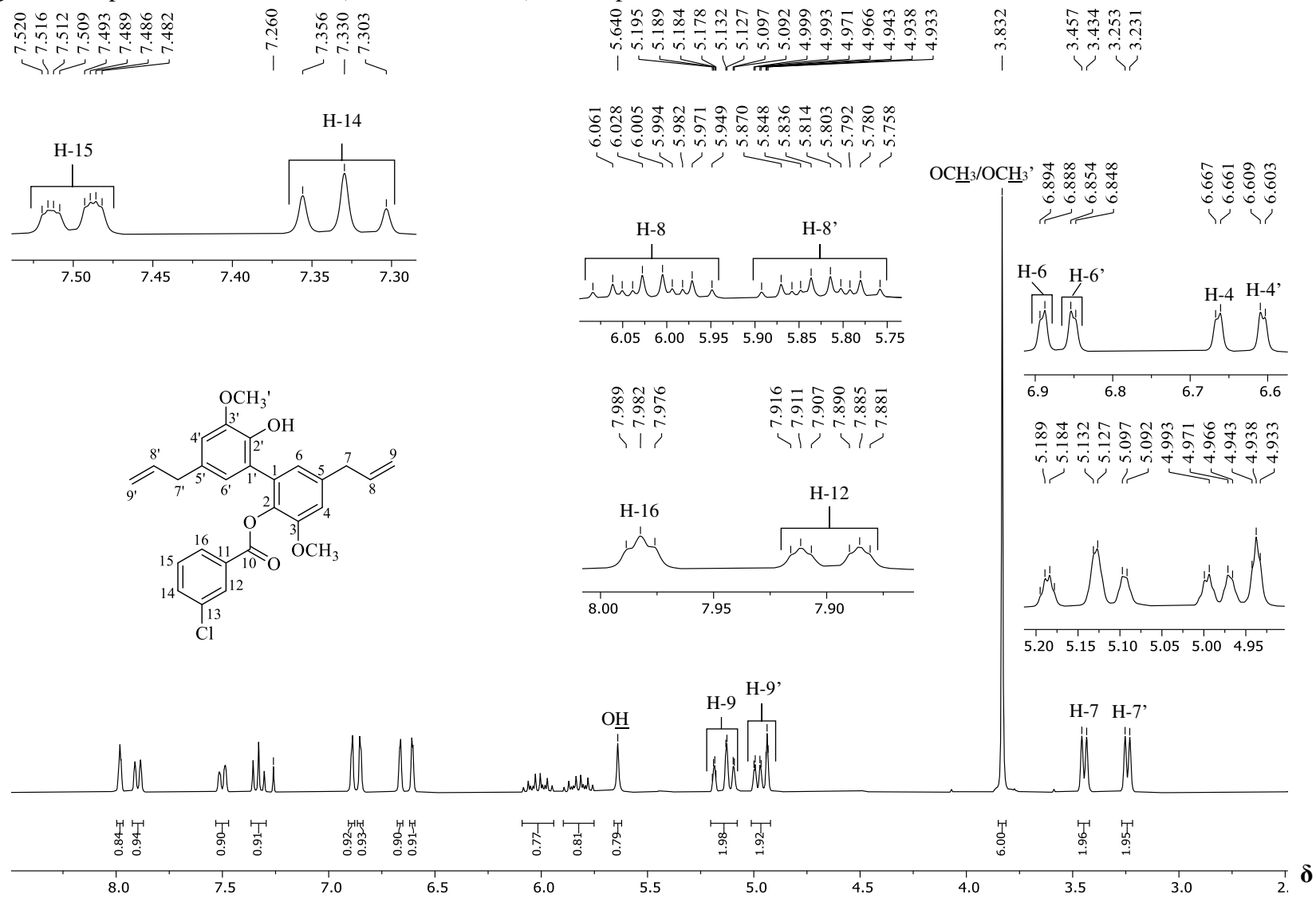
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 19. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2h**.



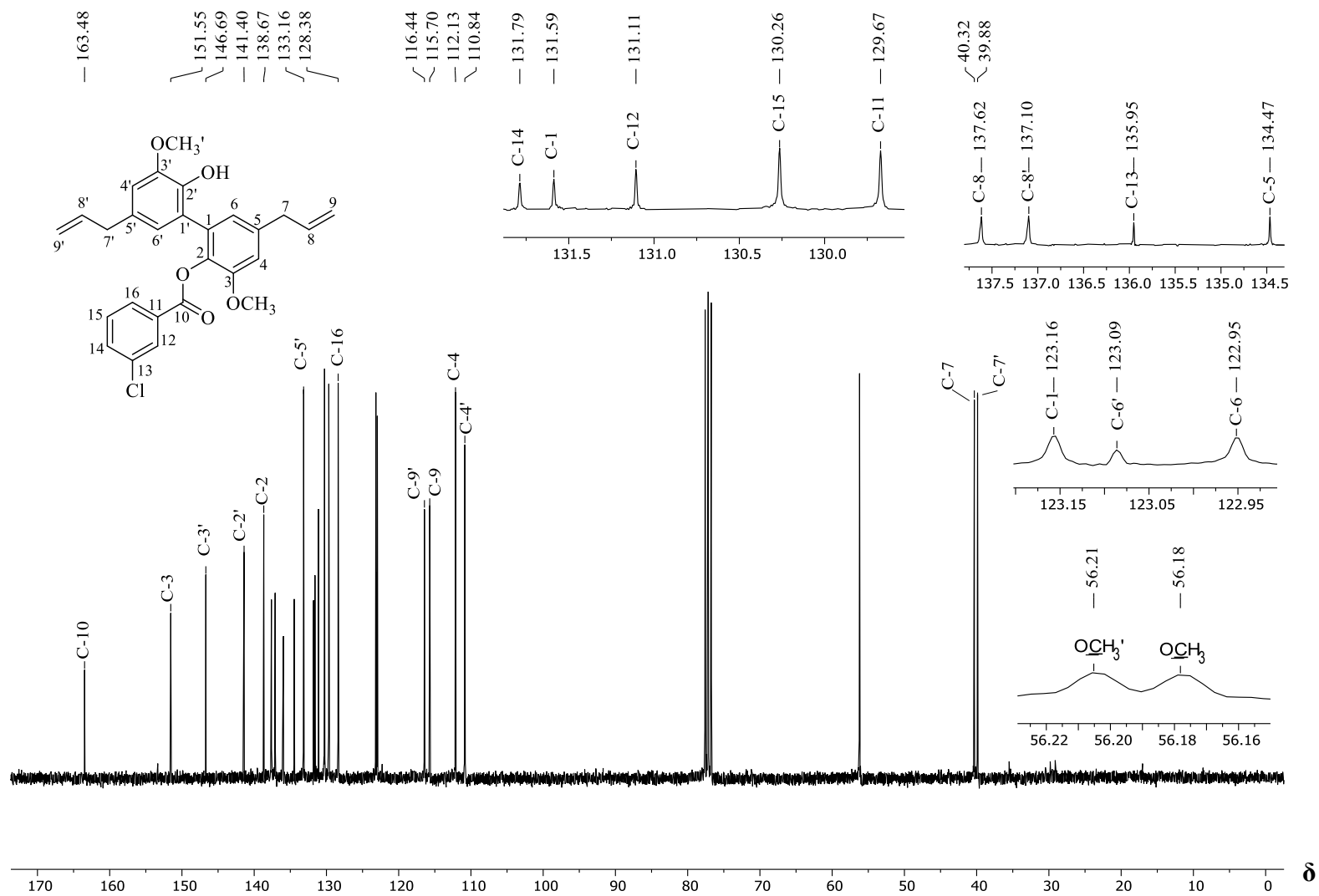
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2h**.



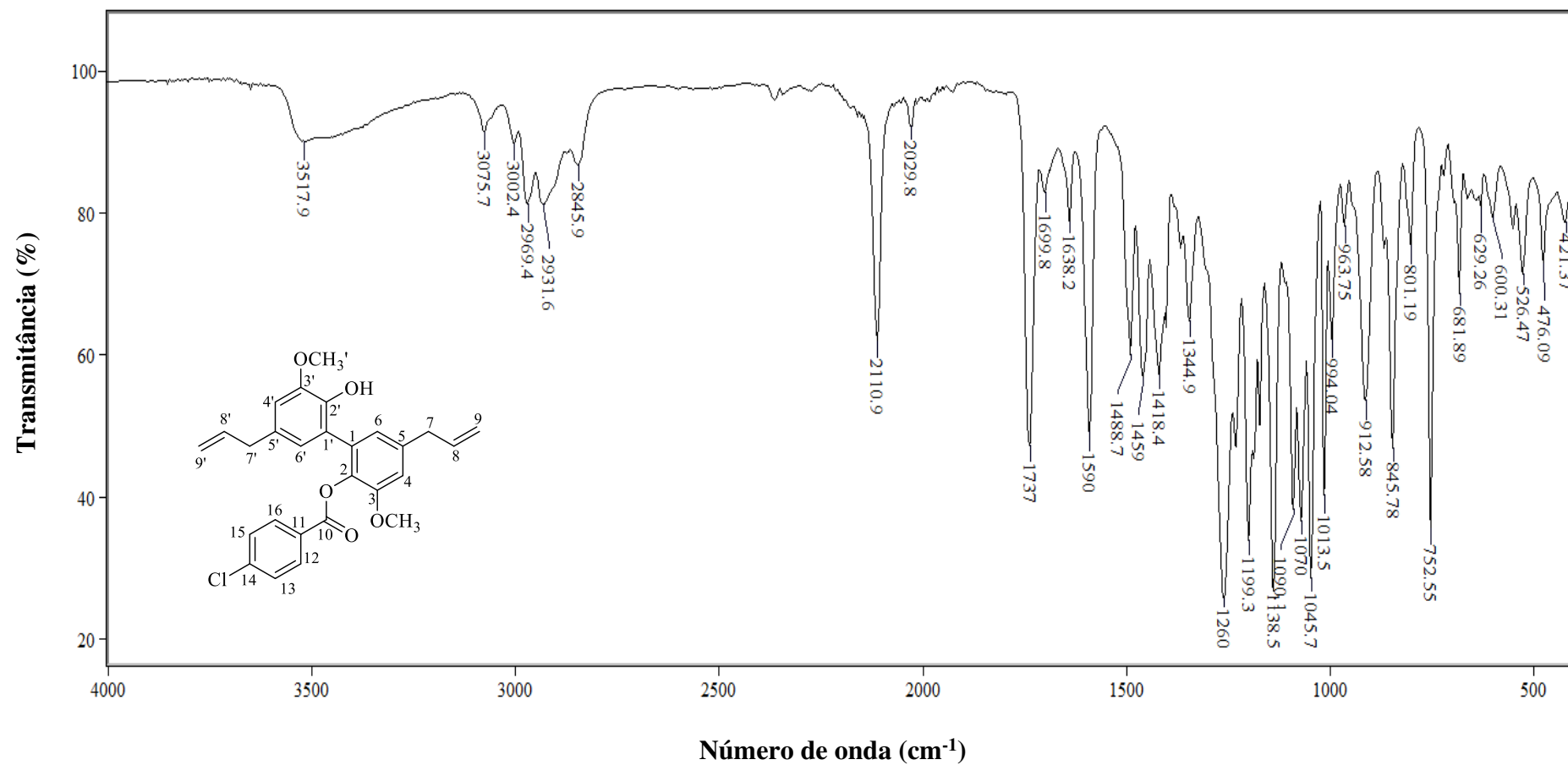
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2h**.



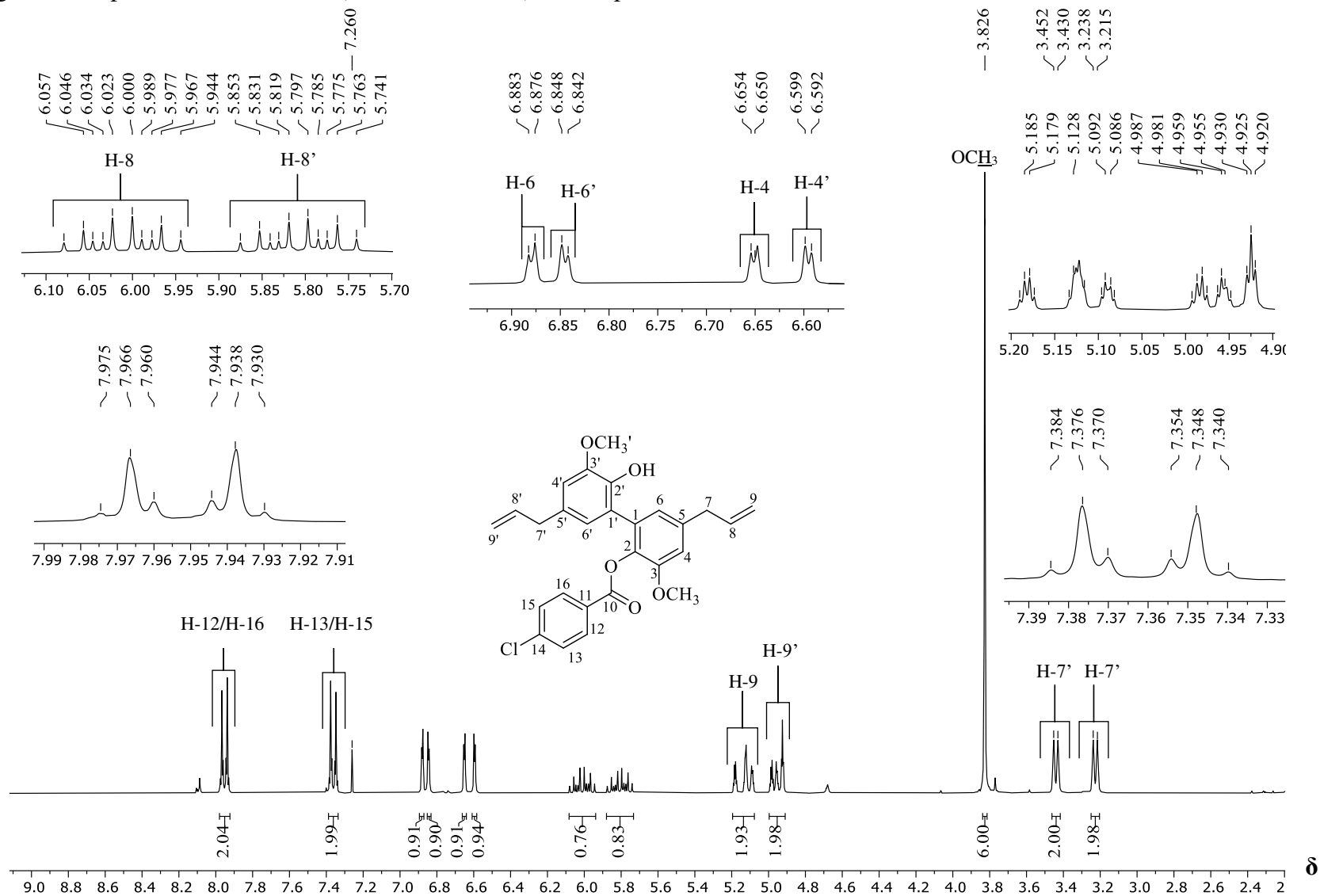
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 22. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2i**.



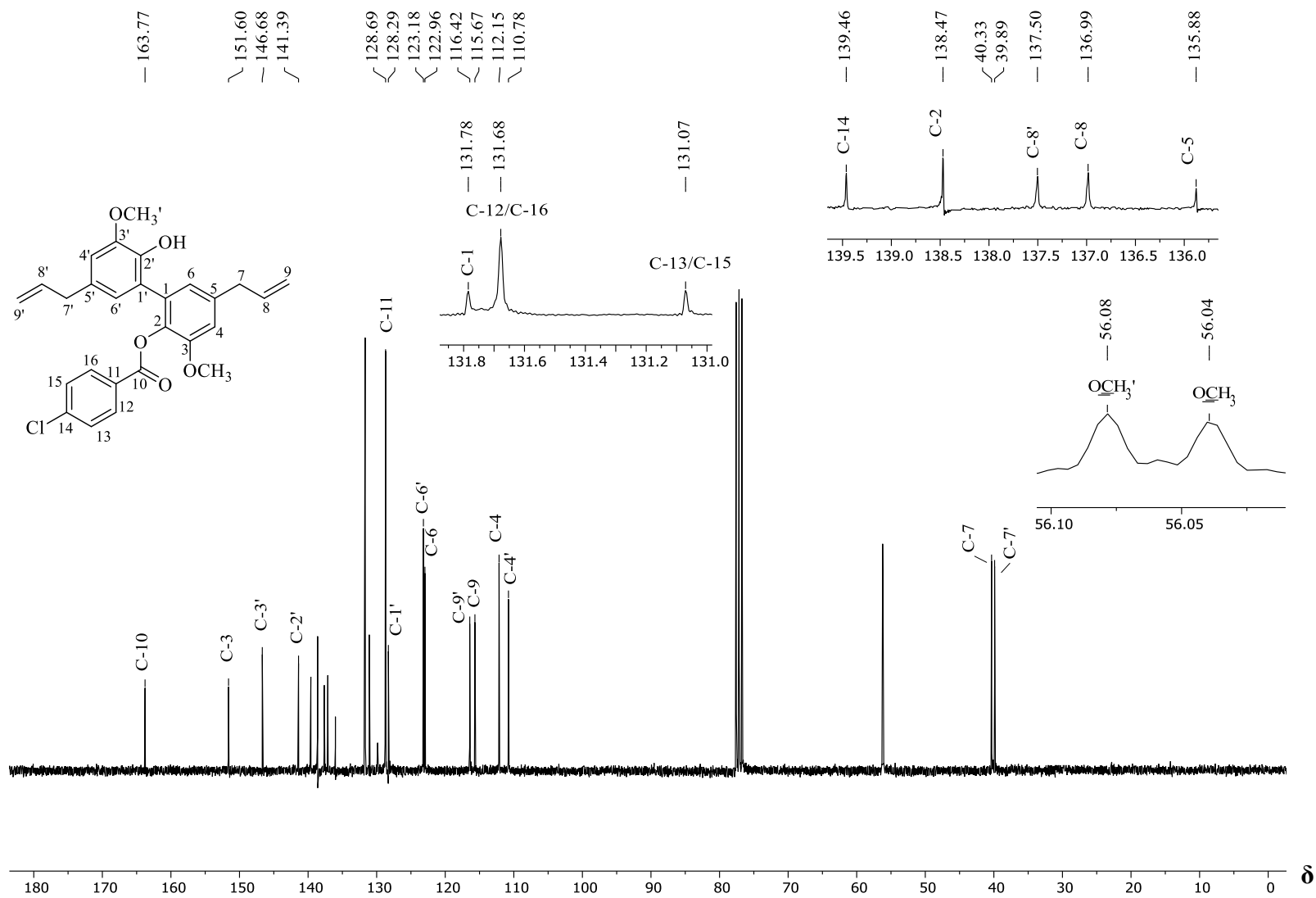
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2i**.



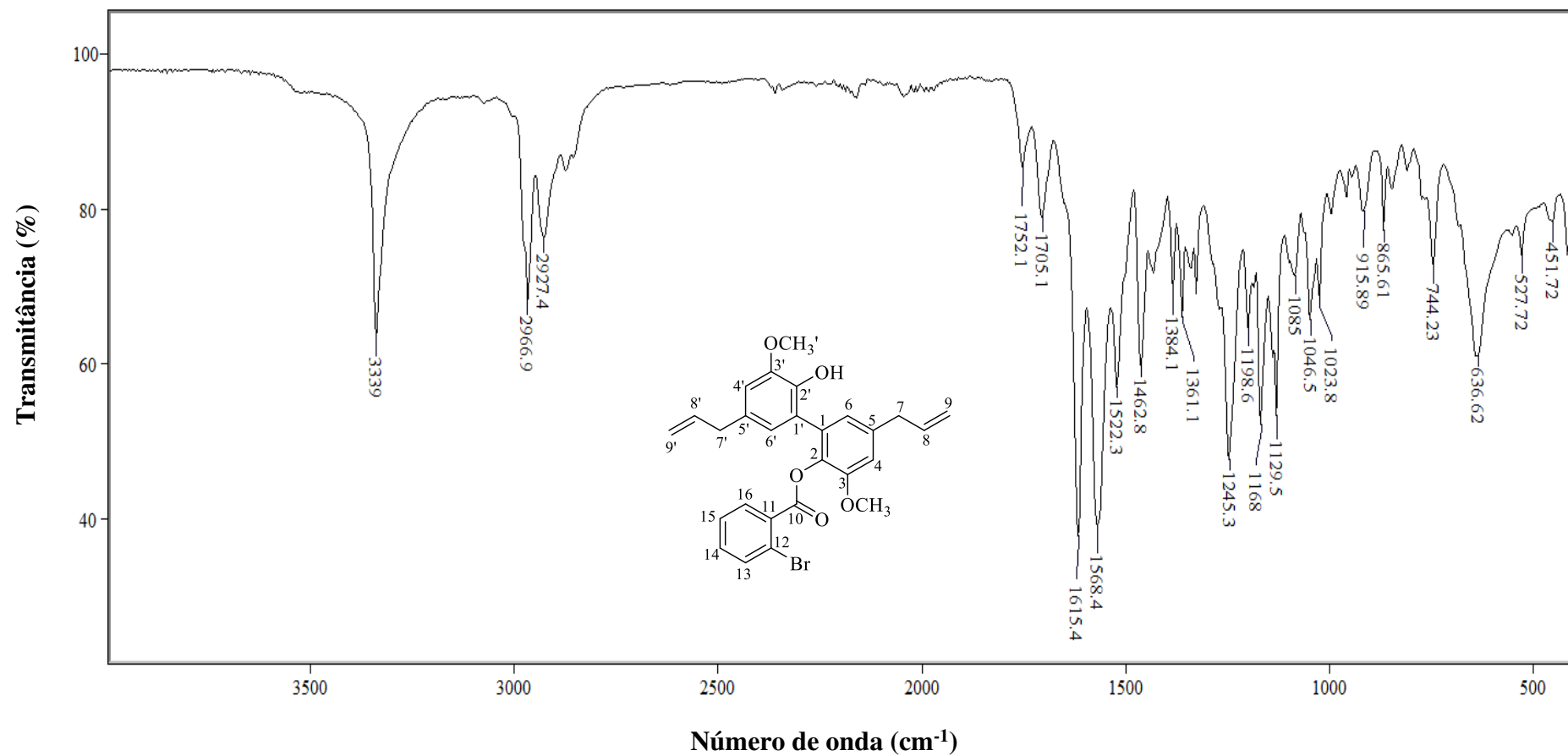
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2i**.



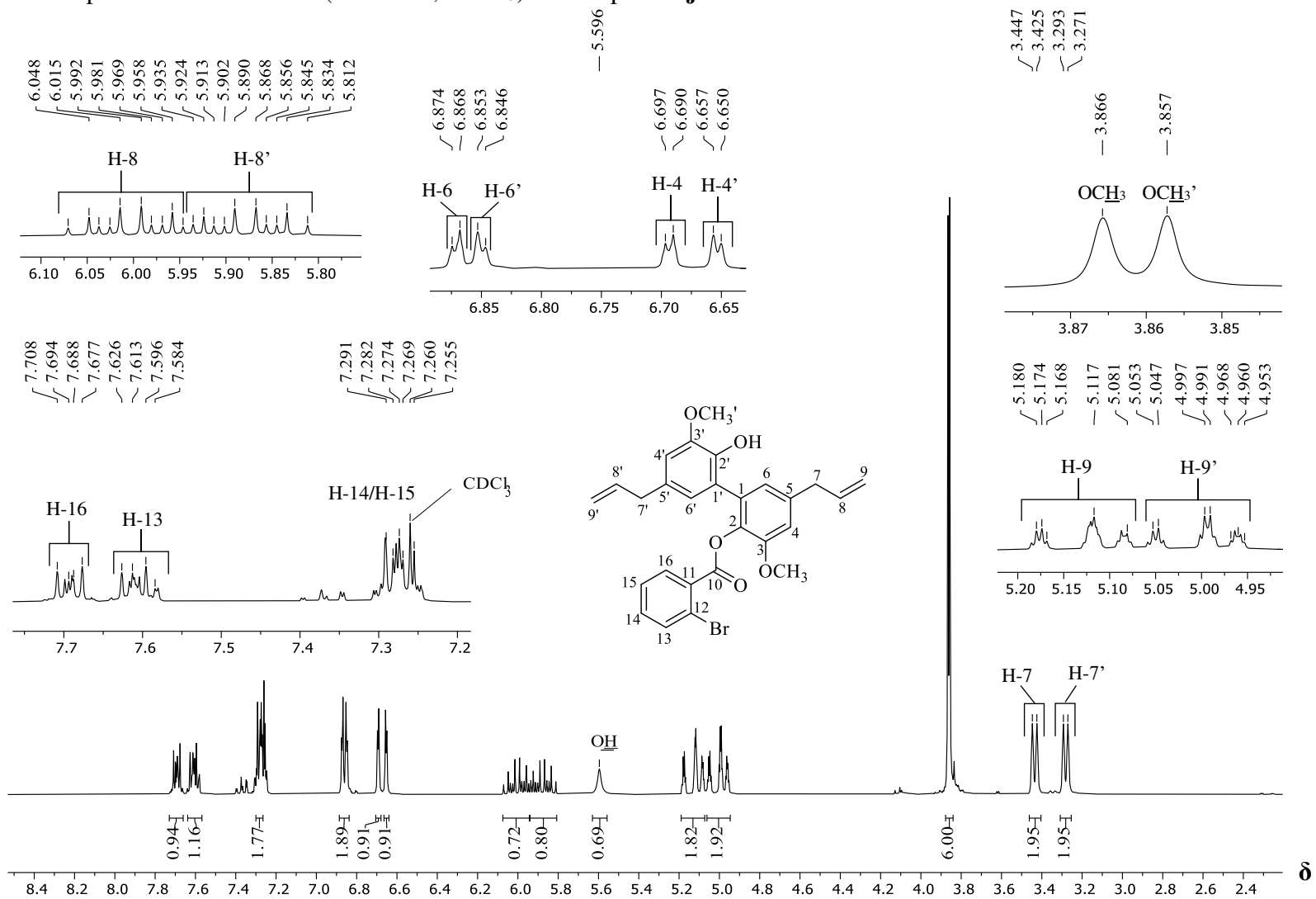
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 25. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2j**.



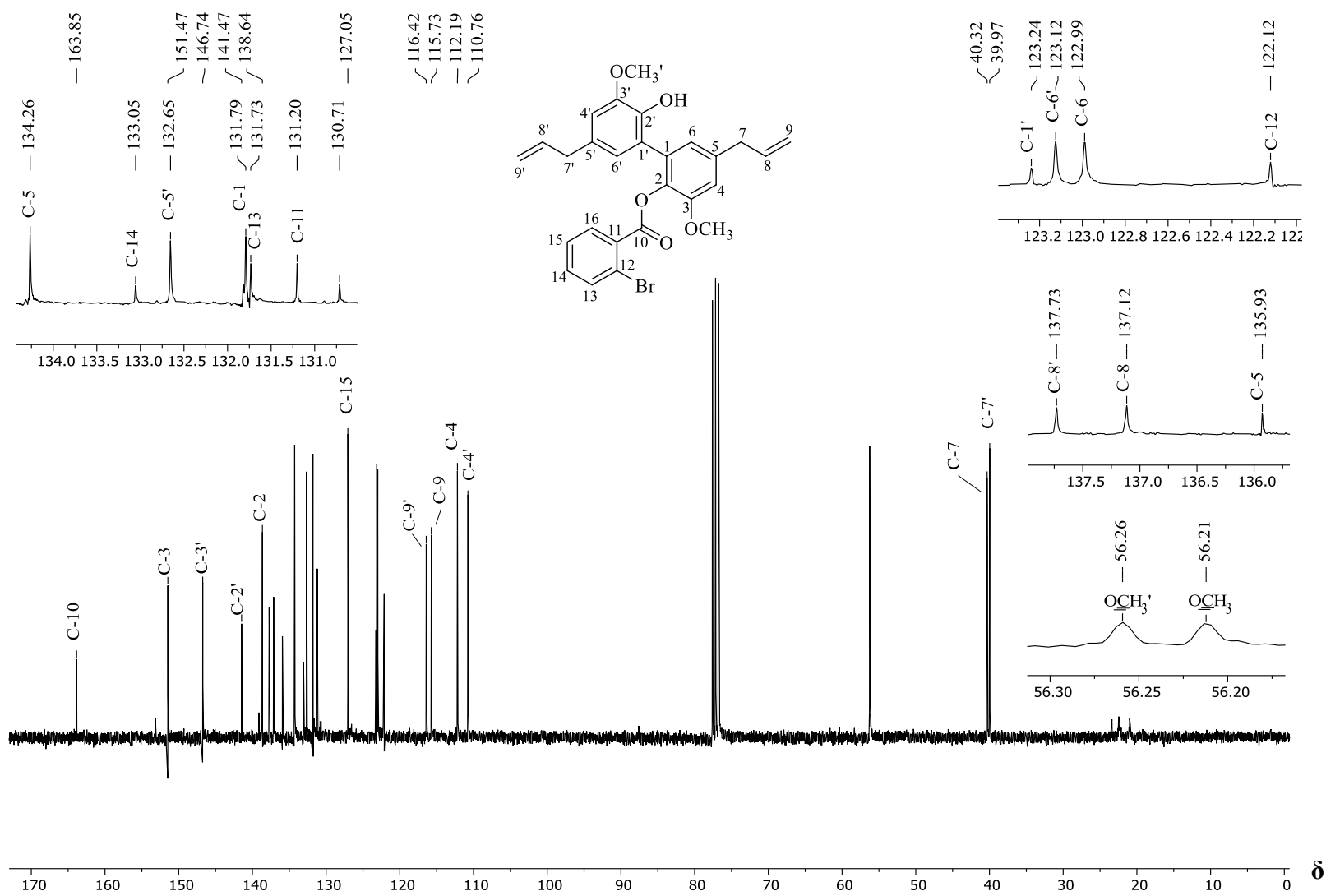
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2j**.



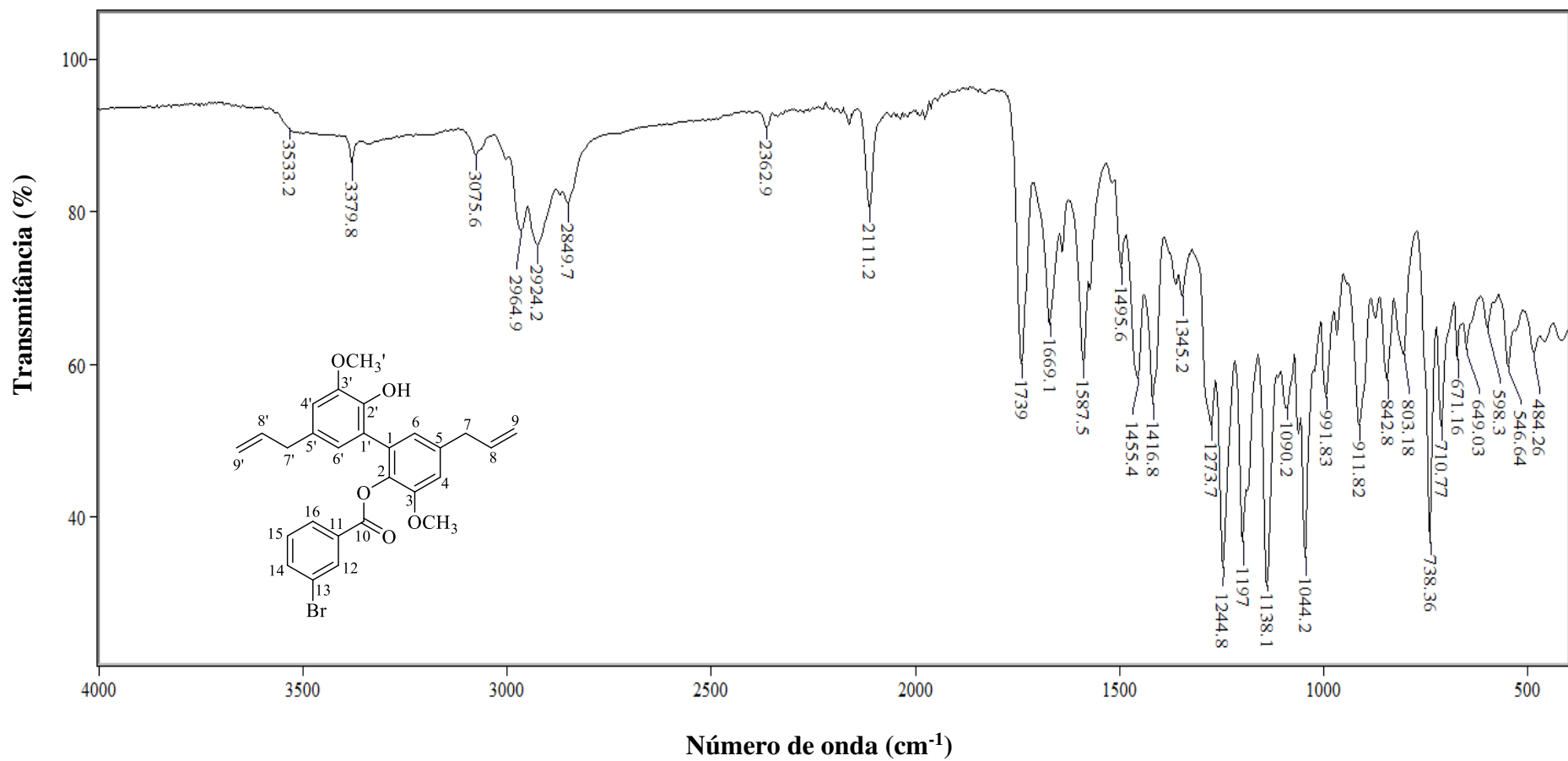
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2j**.



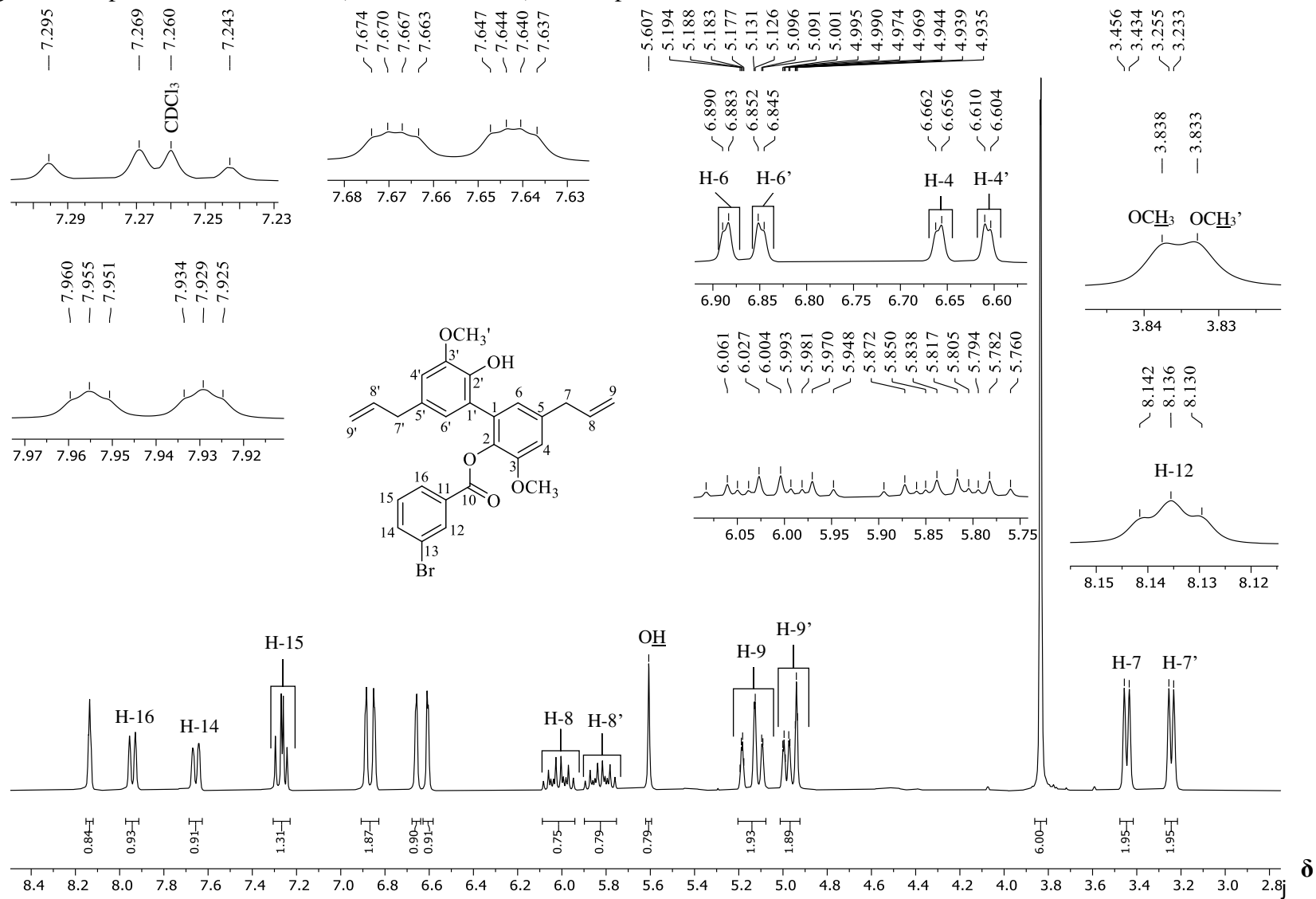
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 28. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2k**.



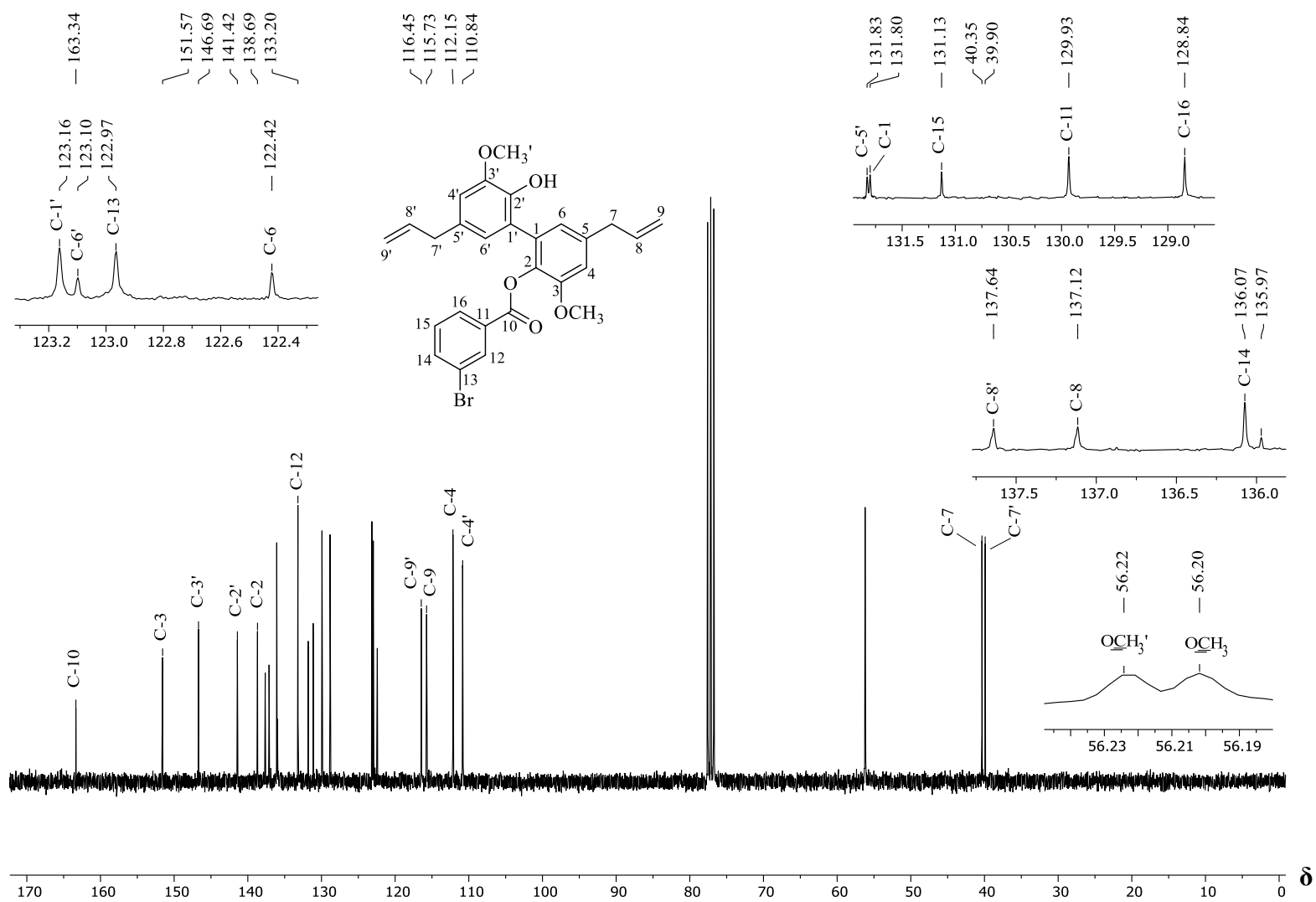
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2k**.



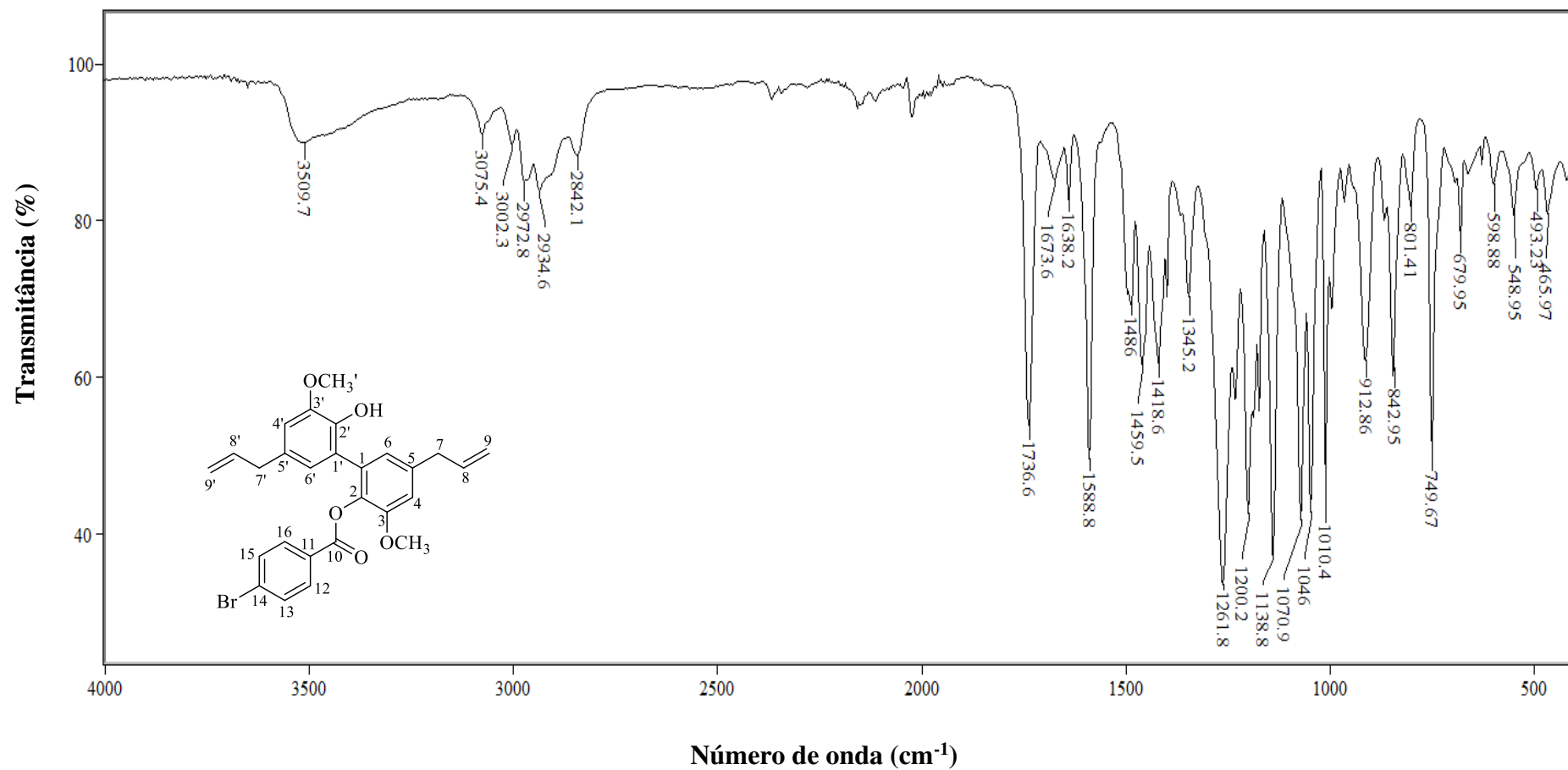
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2k**.



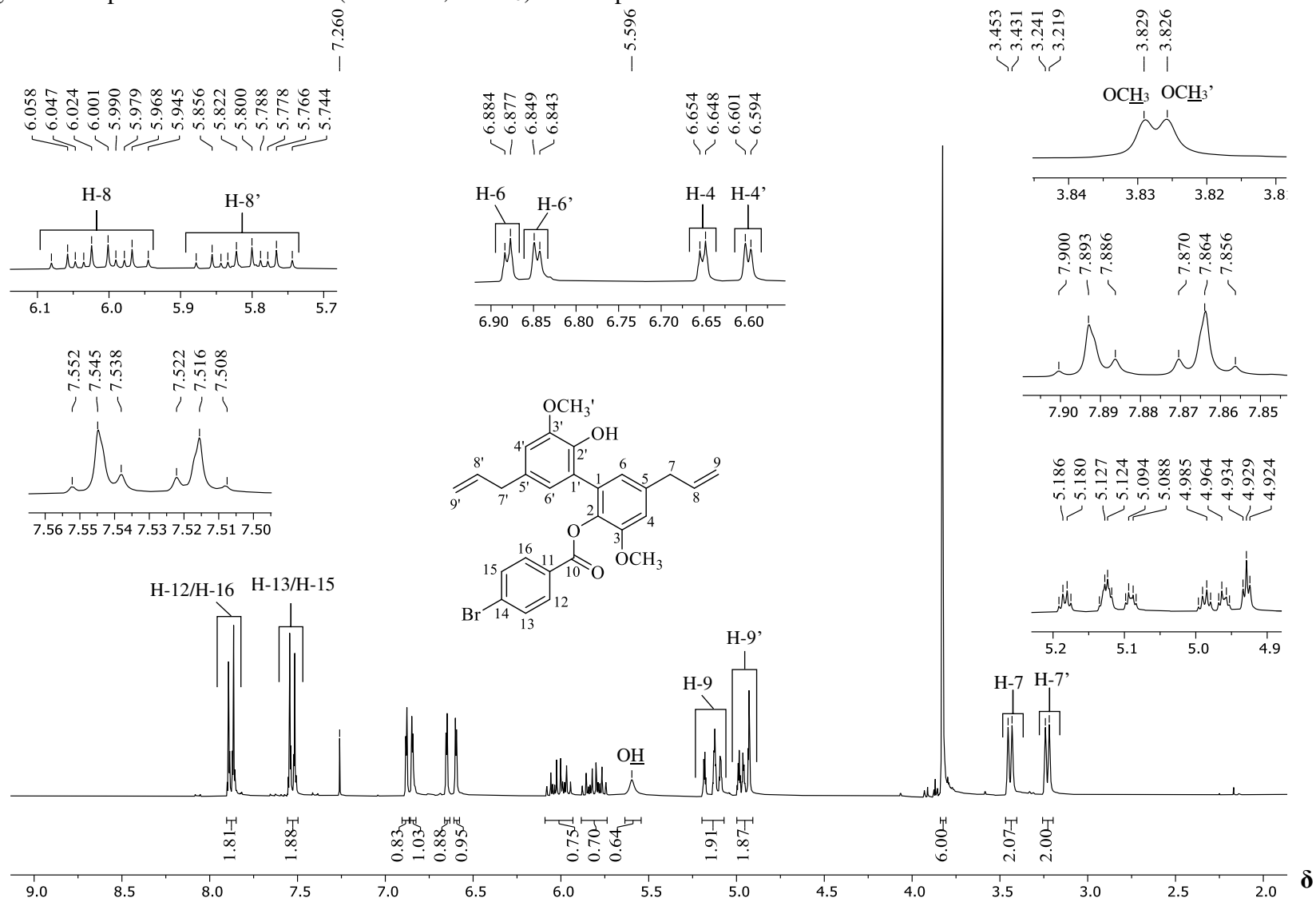
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 31. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **21**.



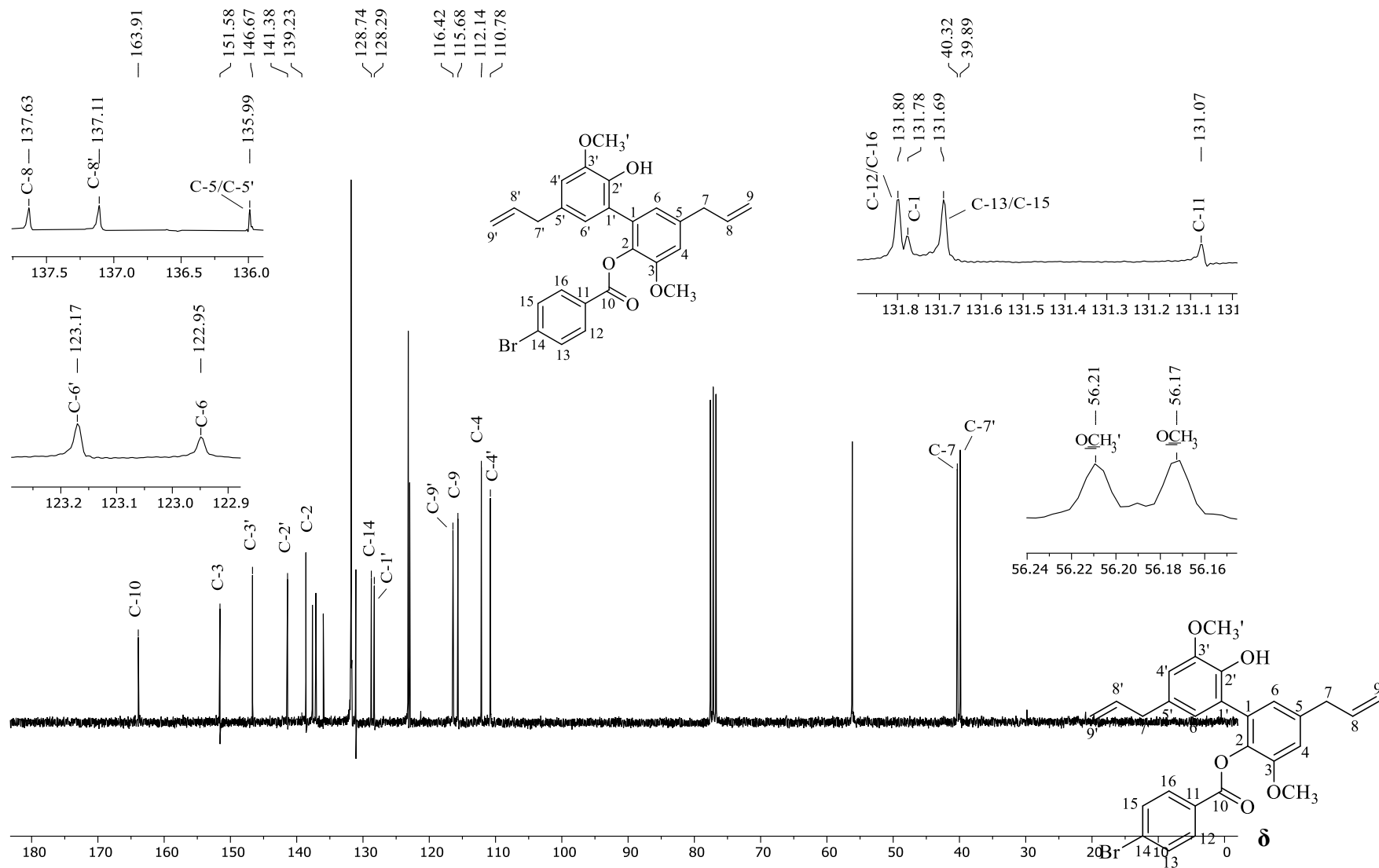
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **21**.



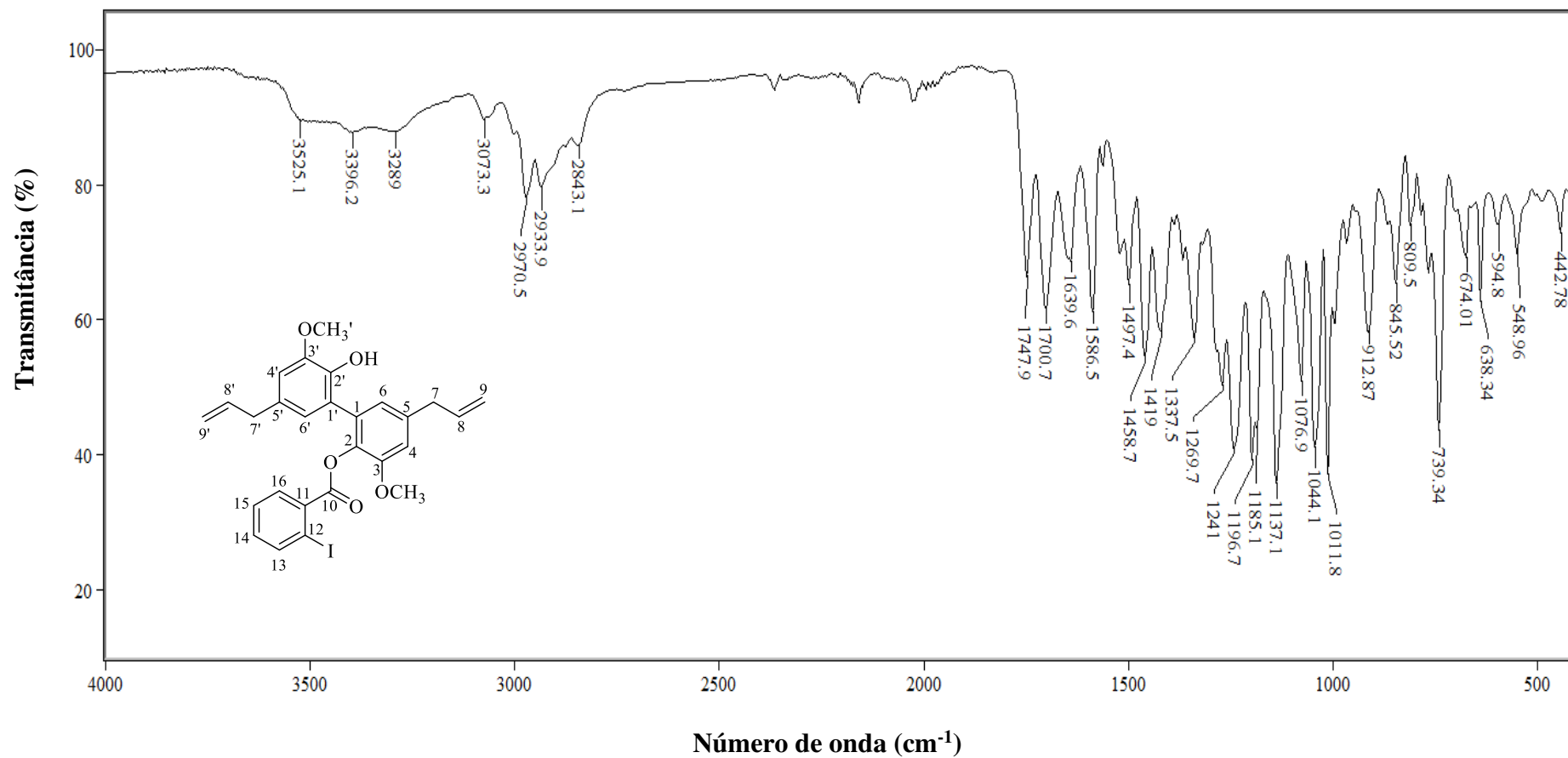
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **21**.



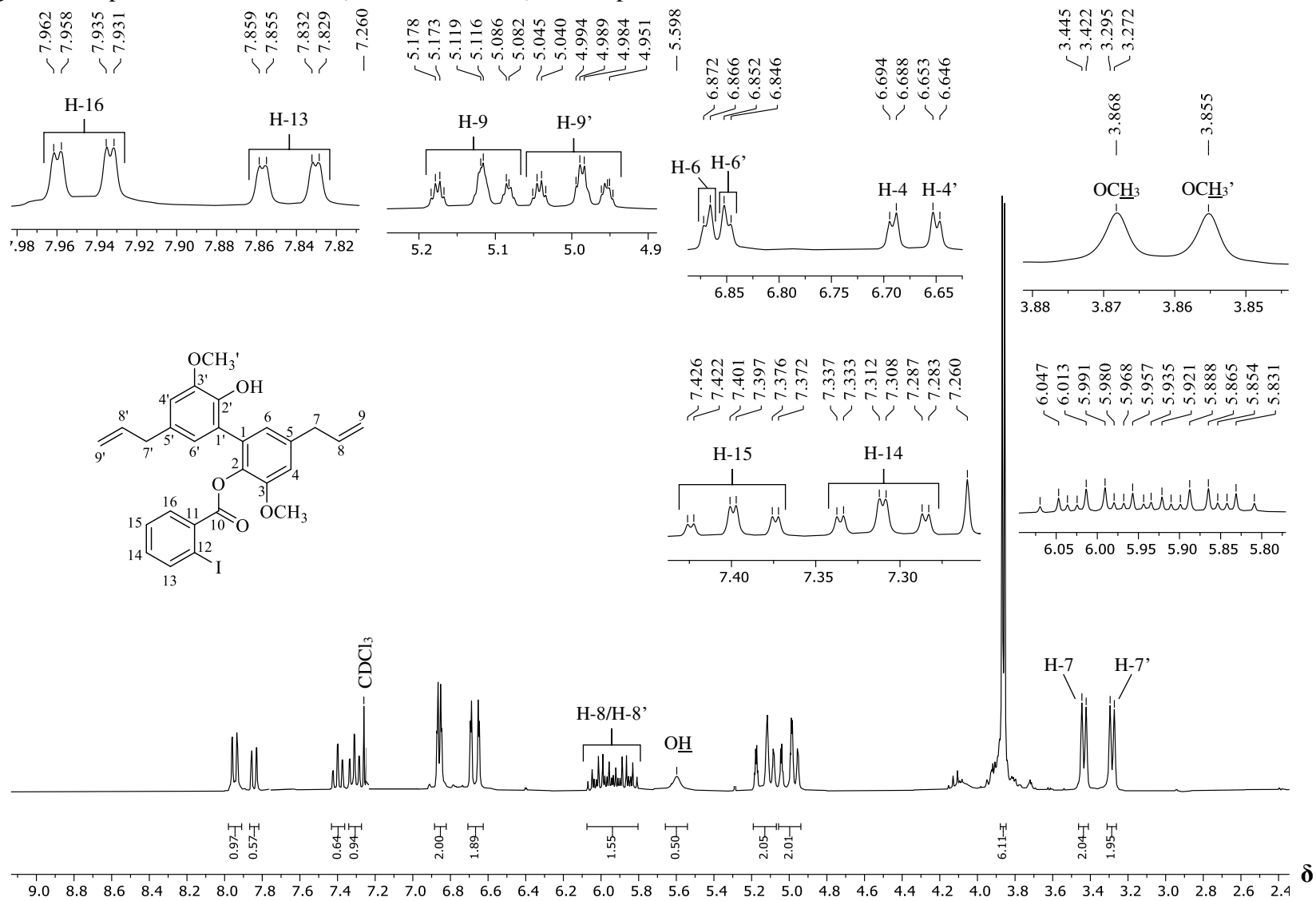
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 34. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2m**.



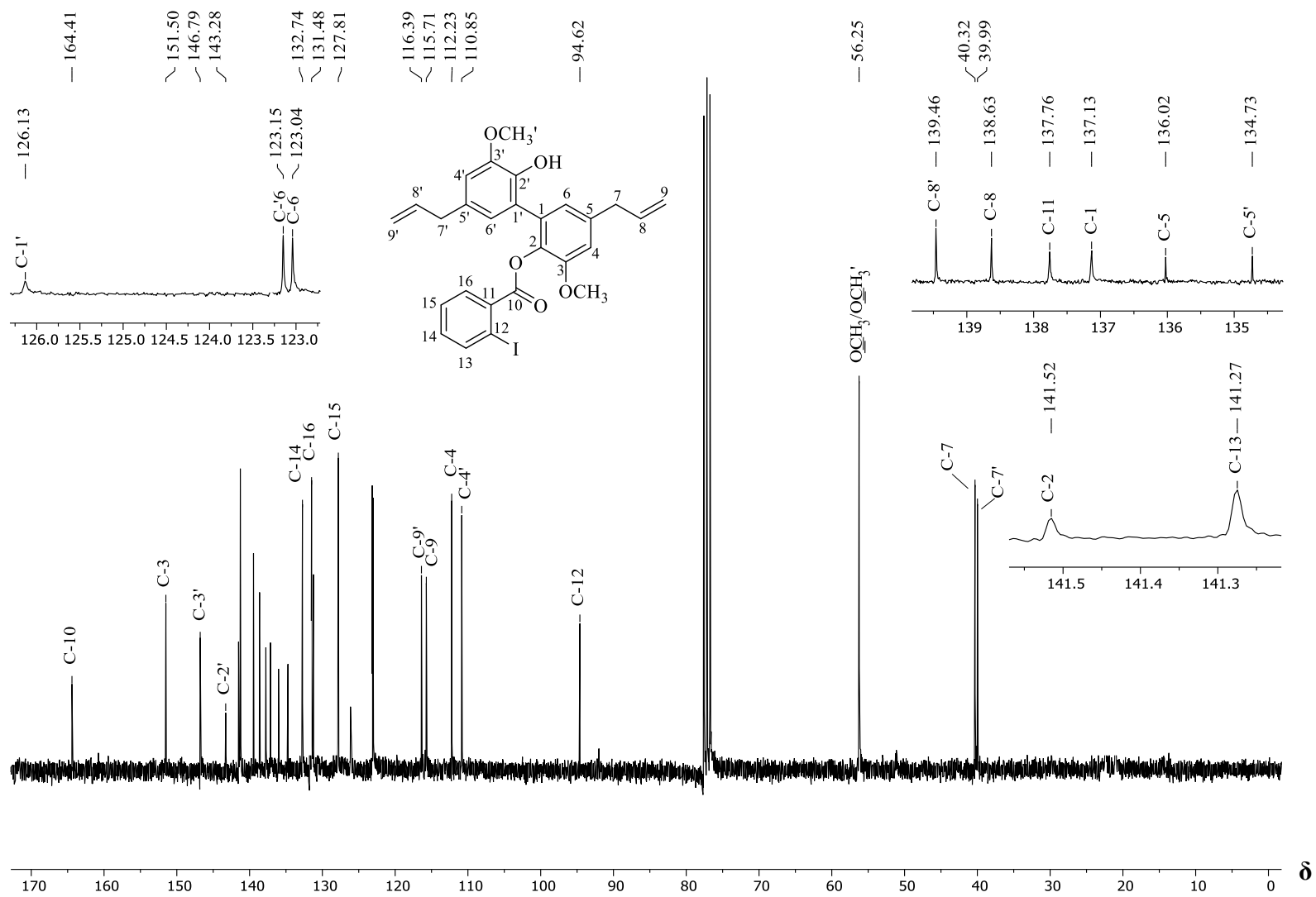
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2m**.



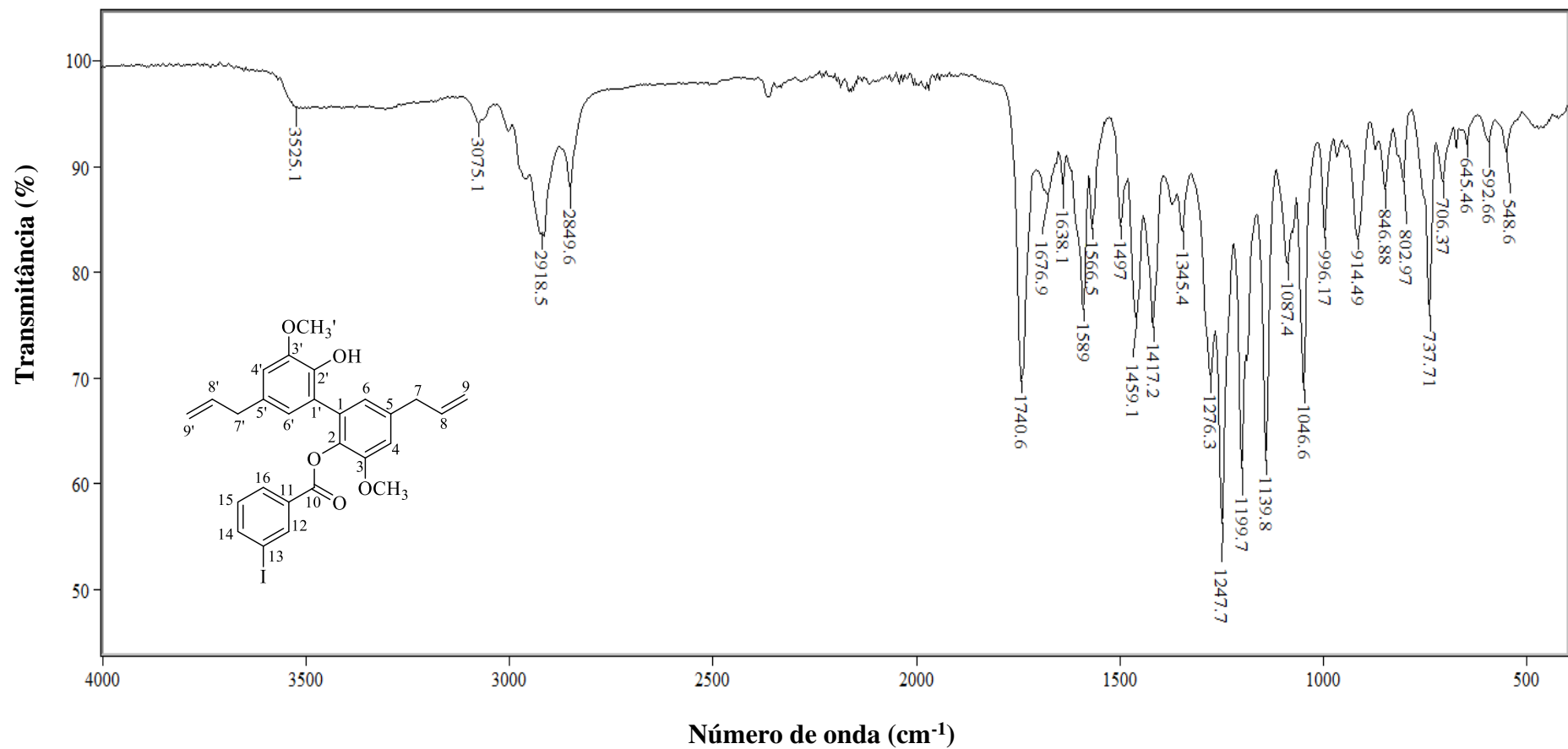
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2m**.



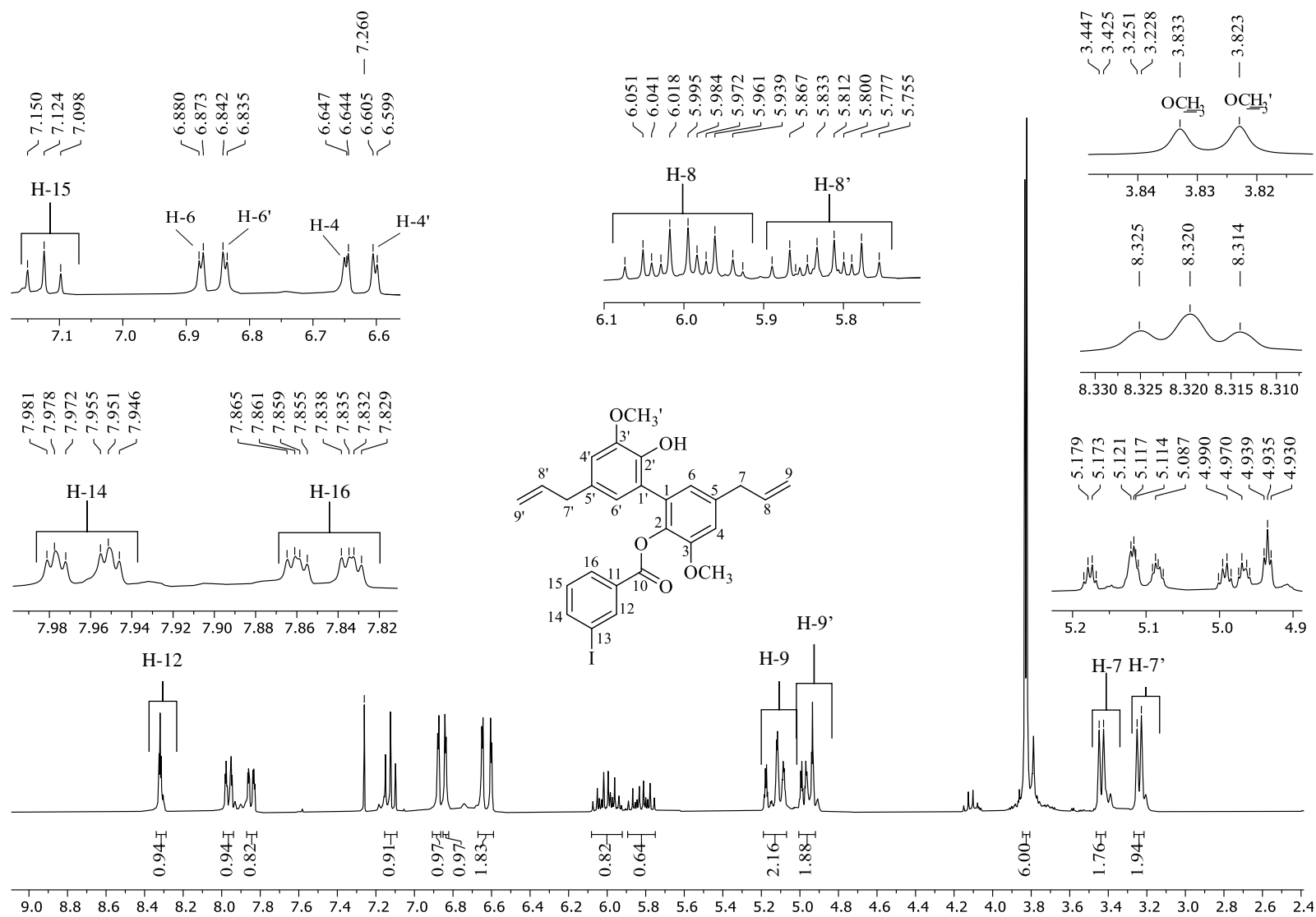
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 37. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2n**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

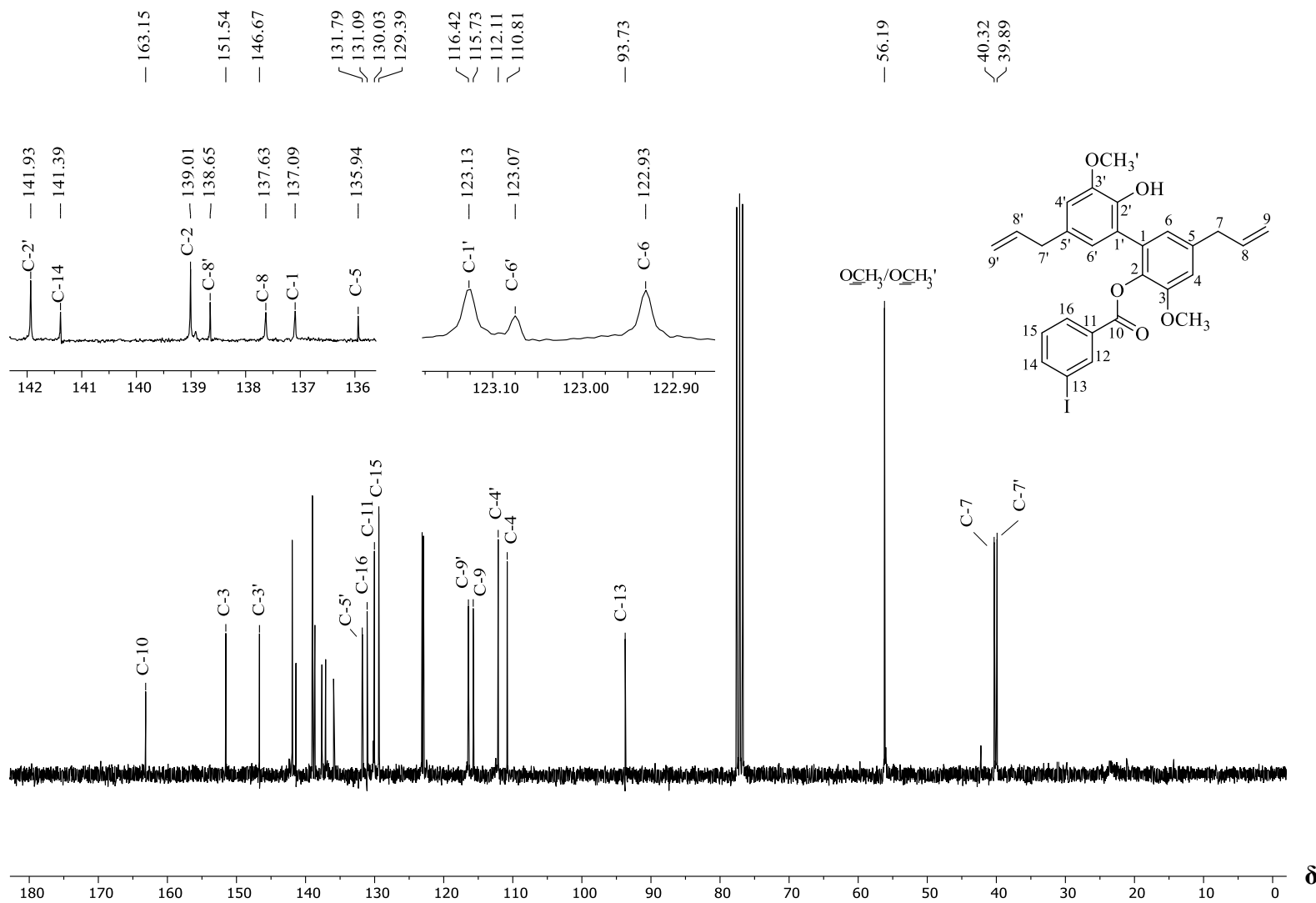
Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2n**.



δ

Fonte: Elaborada pela própria autora.

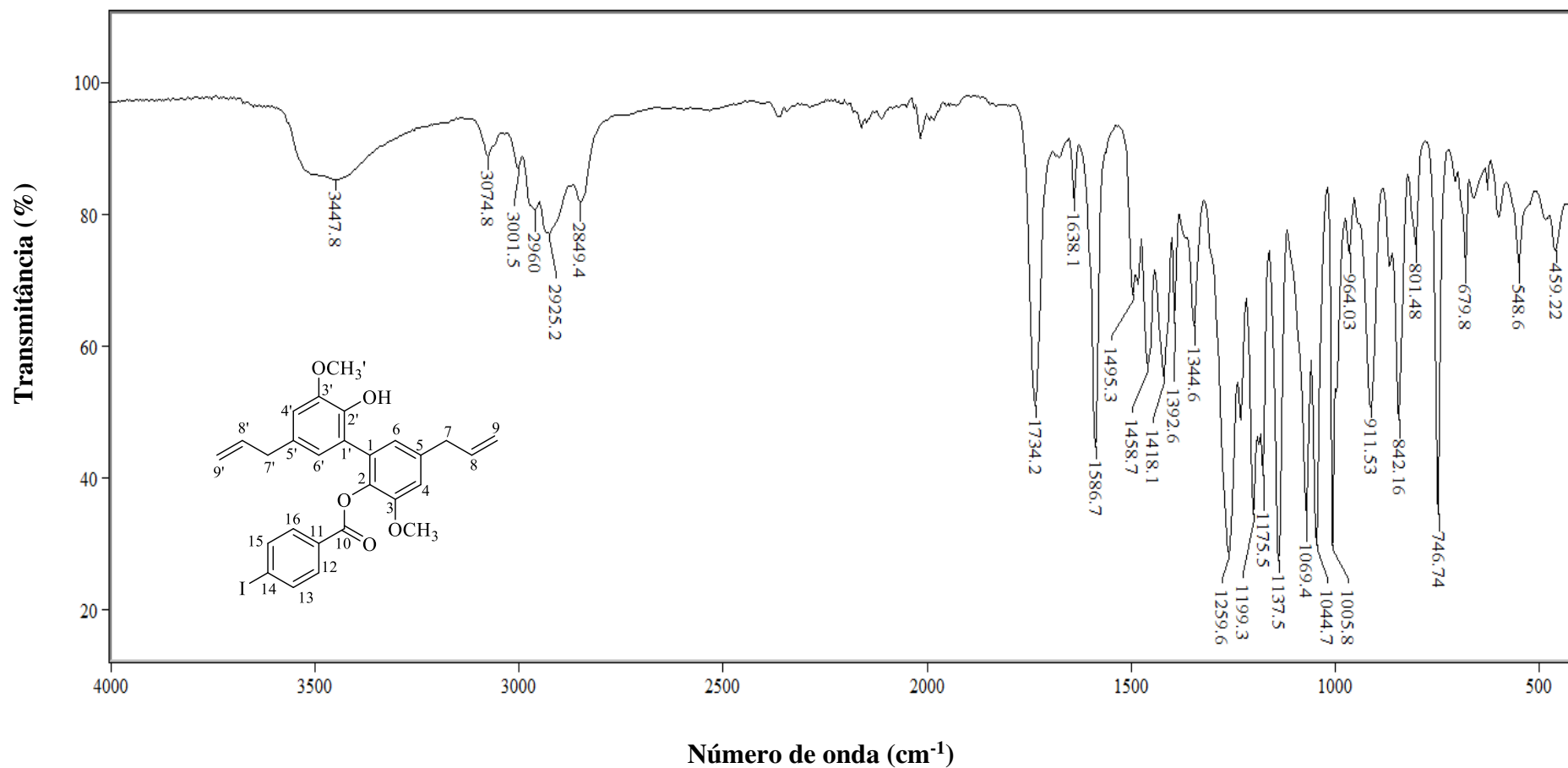
Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2n**.



δ

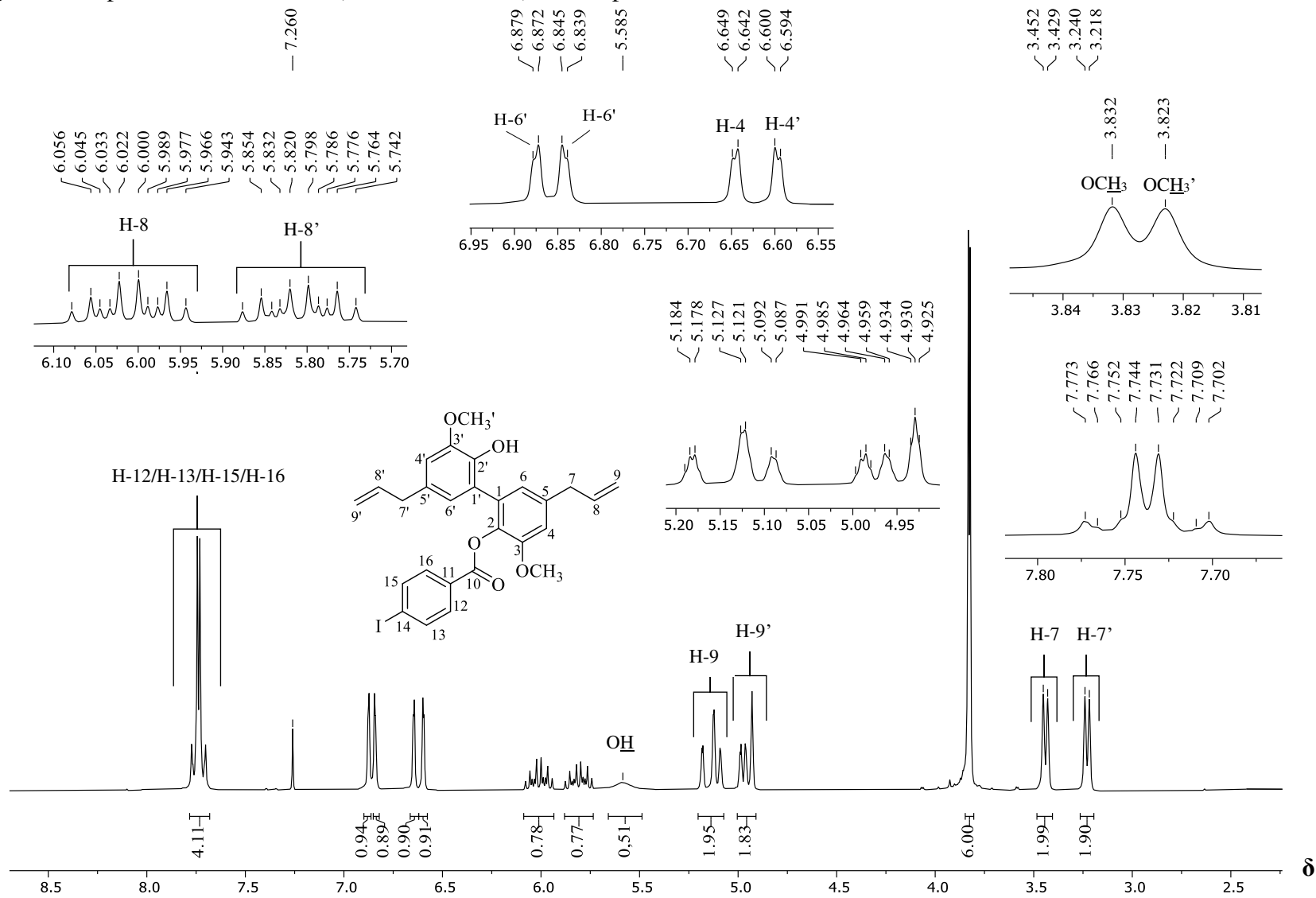
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 40. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2o**.



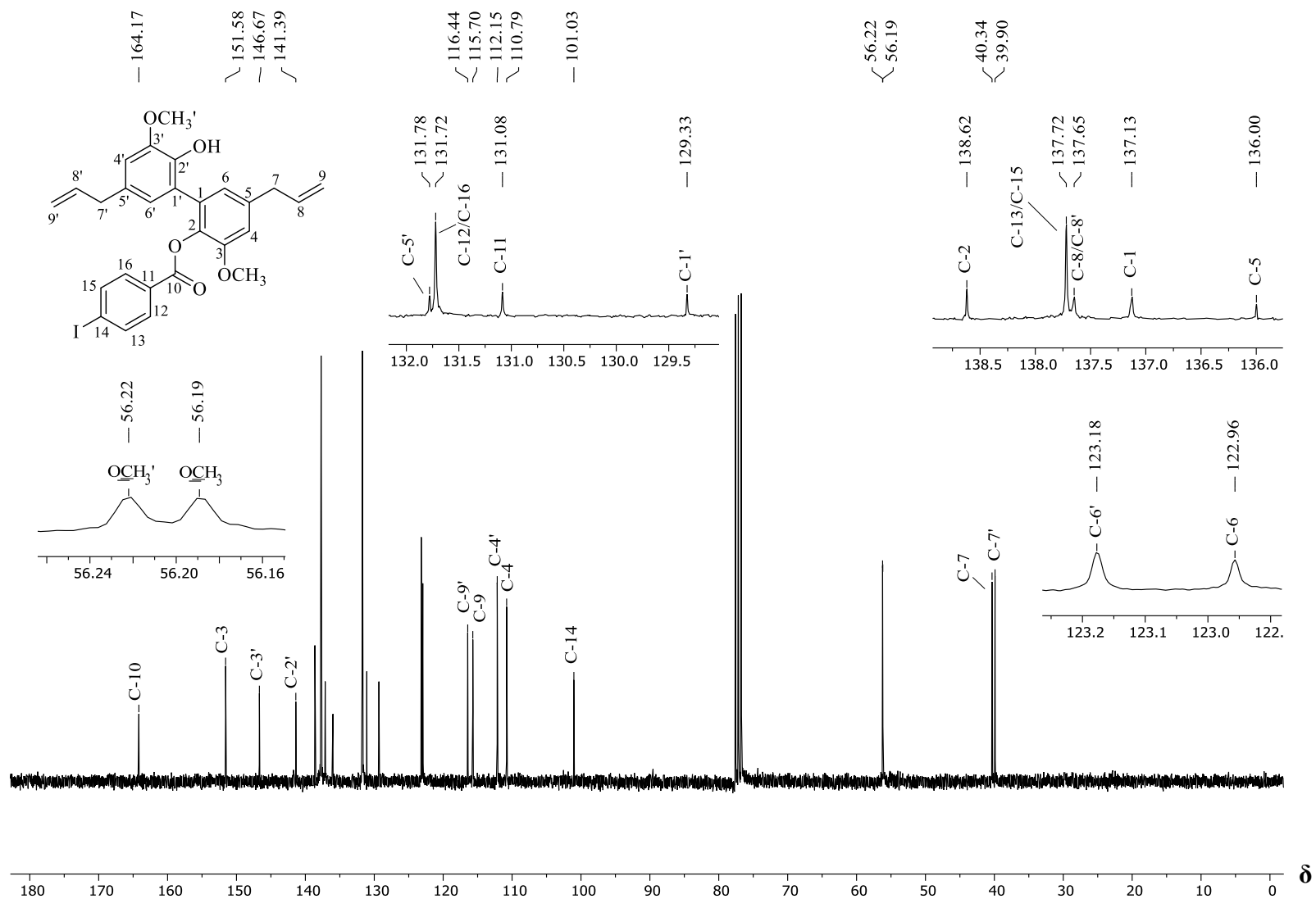
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **20**.



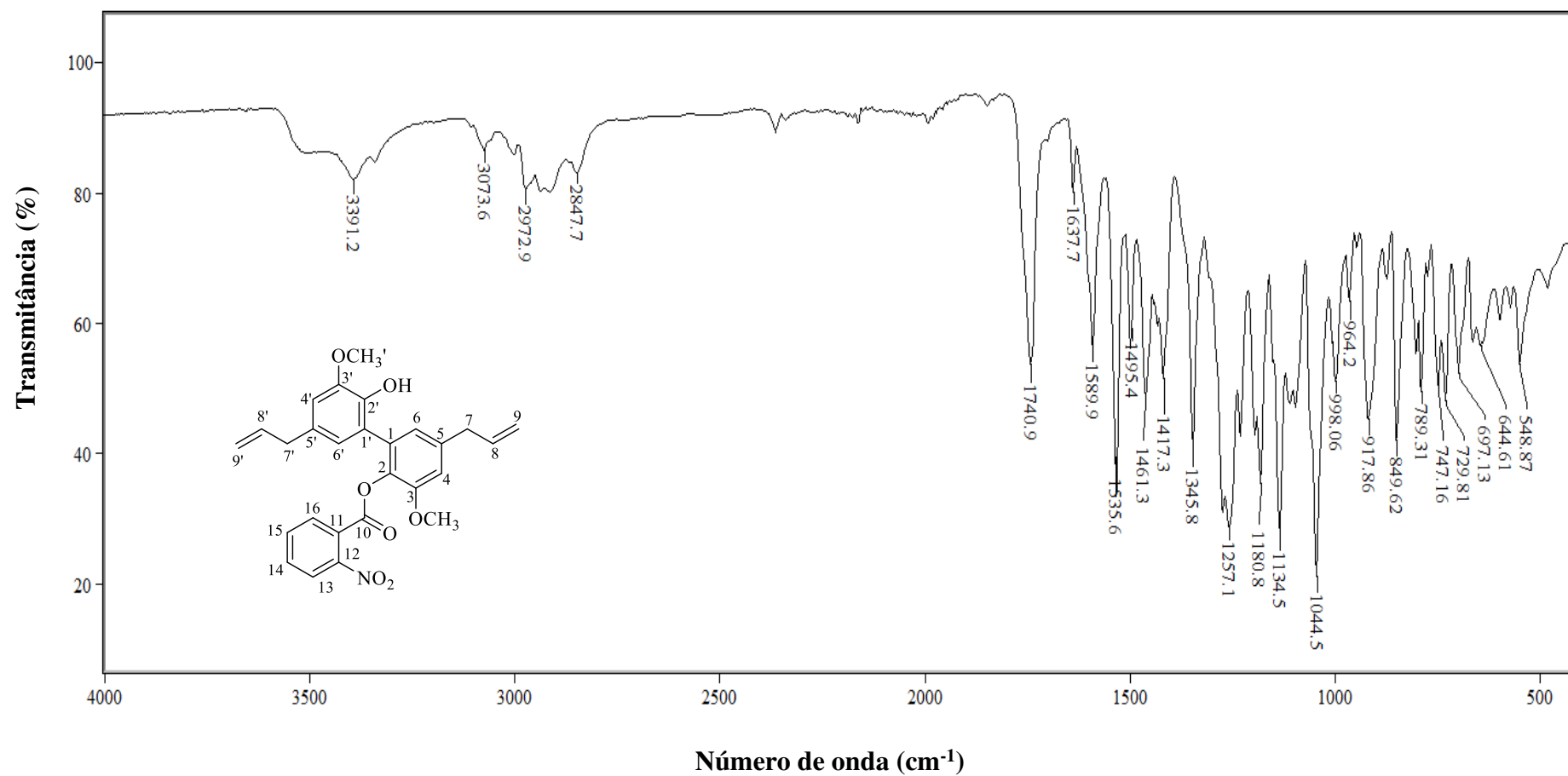
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **20**.



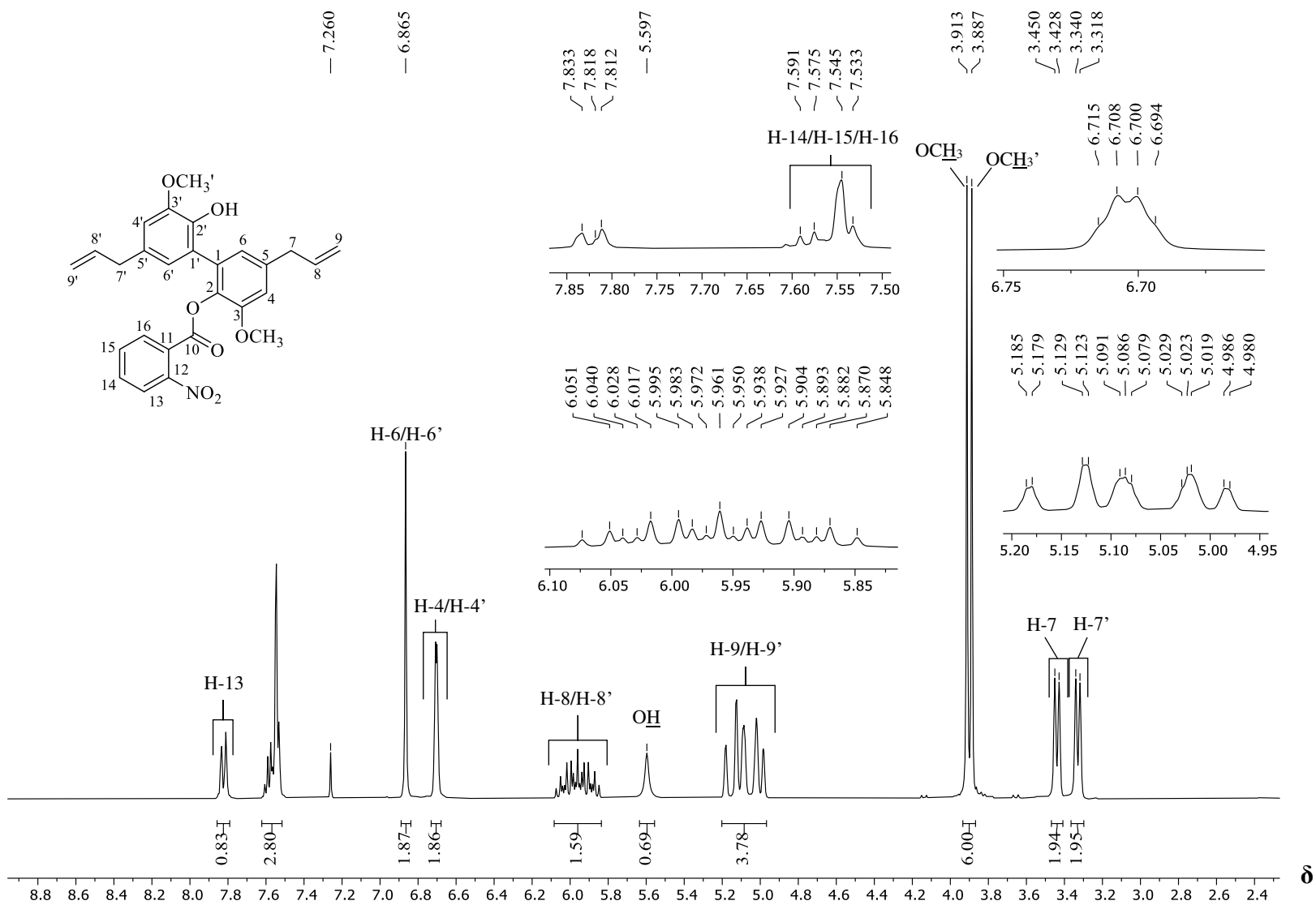
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 43. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2p**.



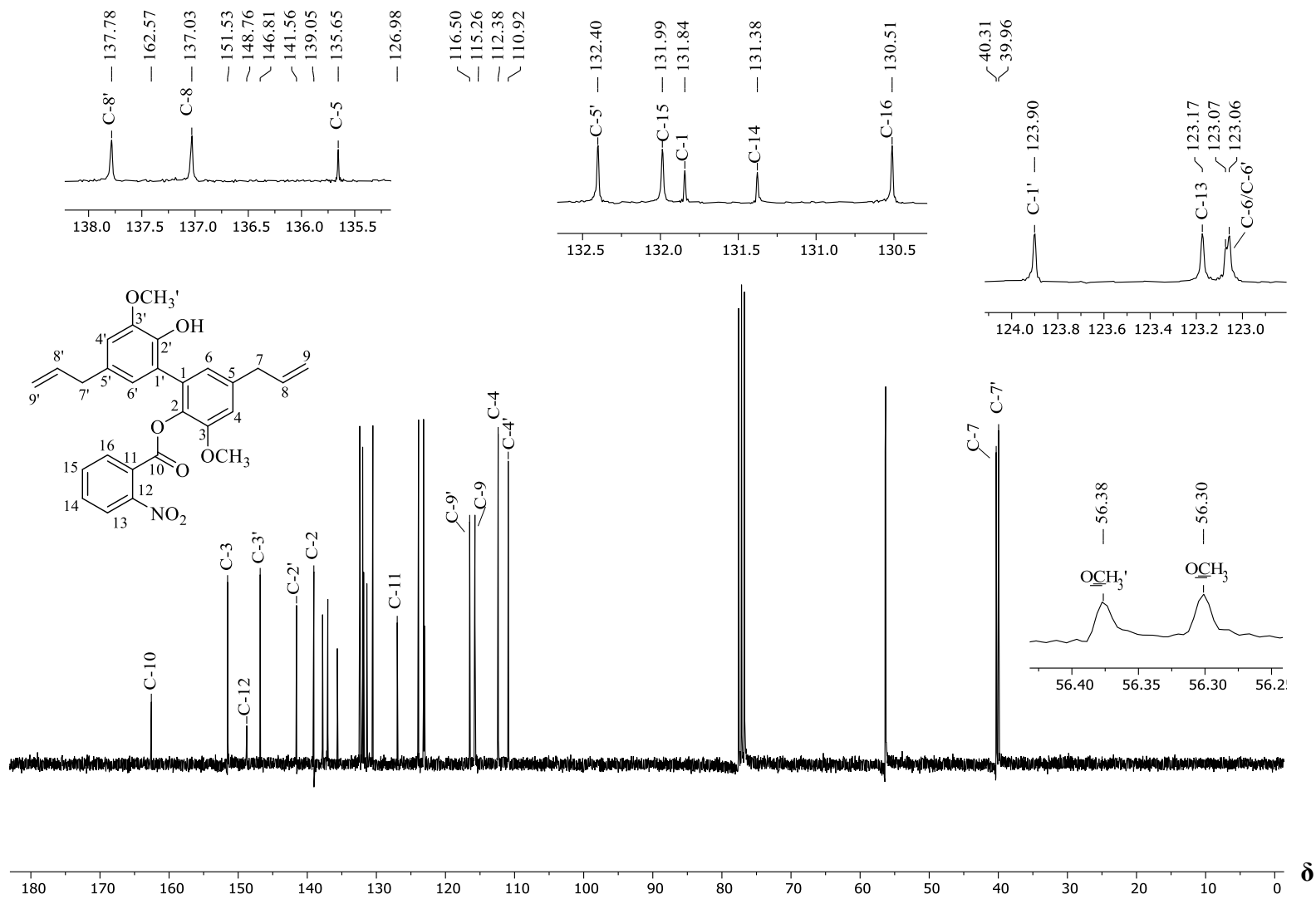
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 44. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2p**.



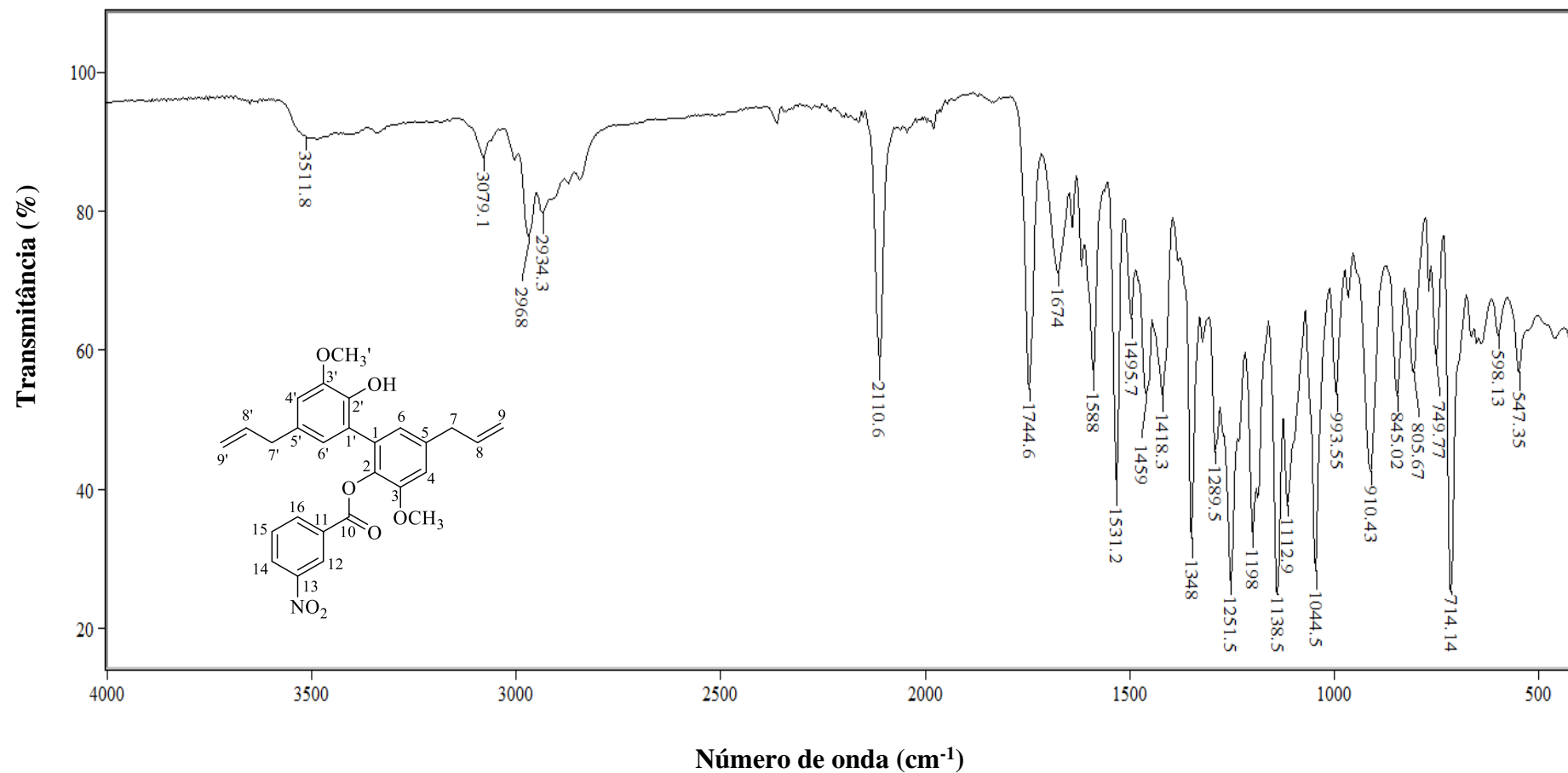
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2p**.



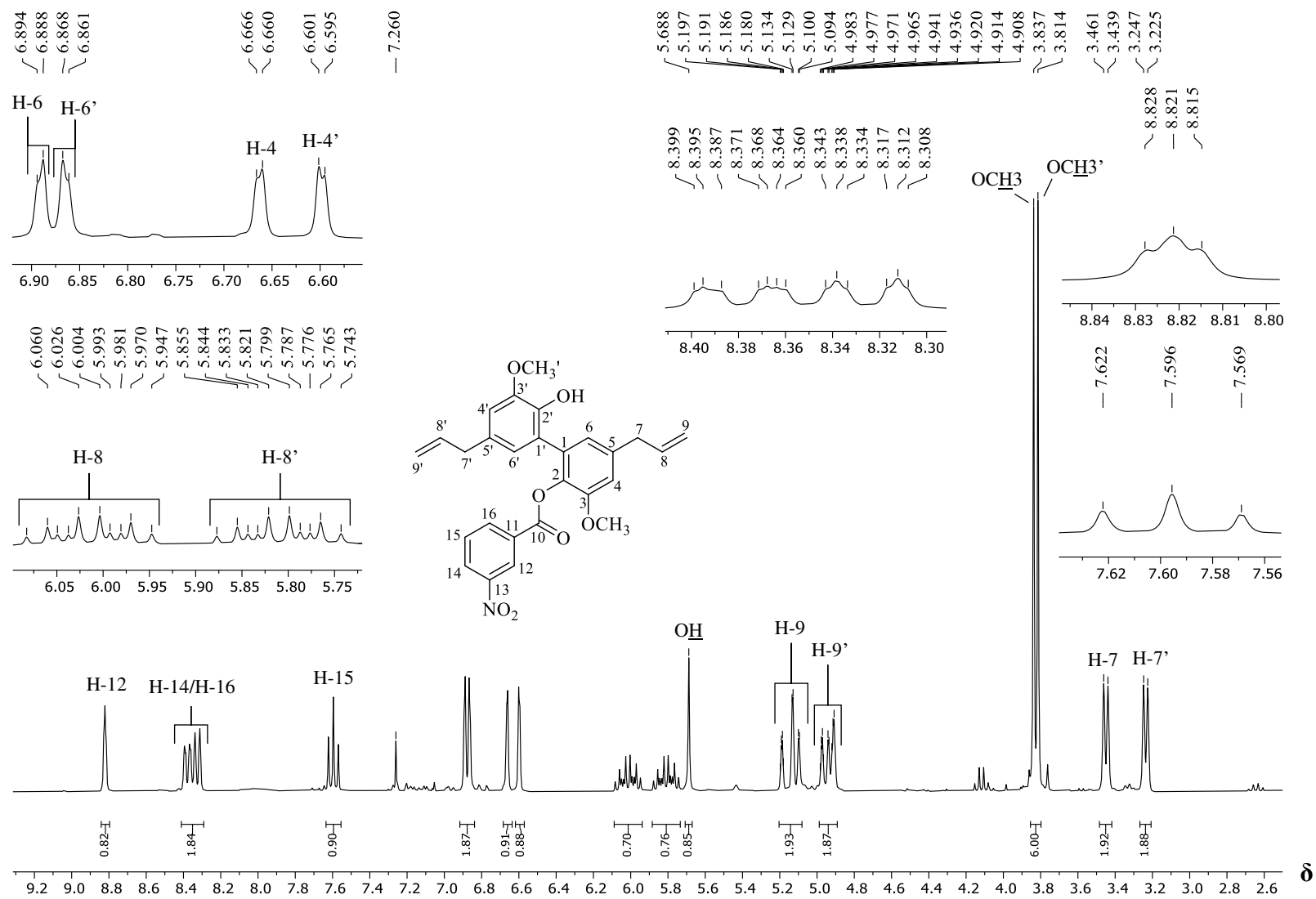
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 46. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2q**.



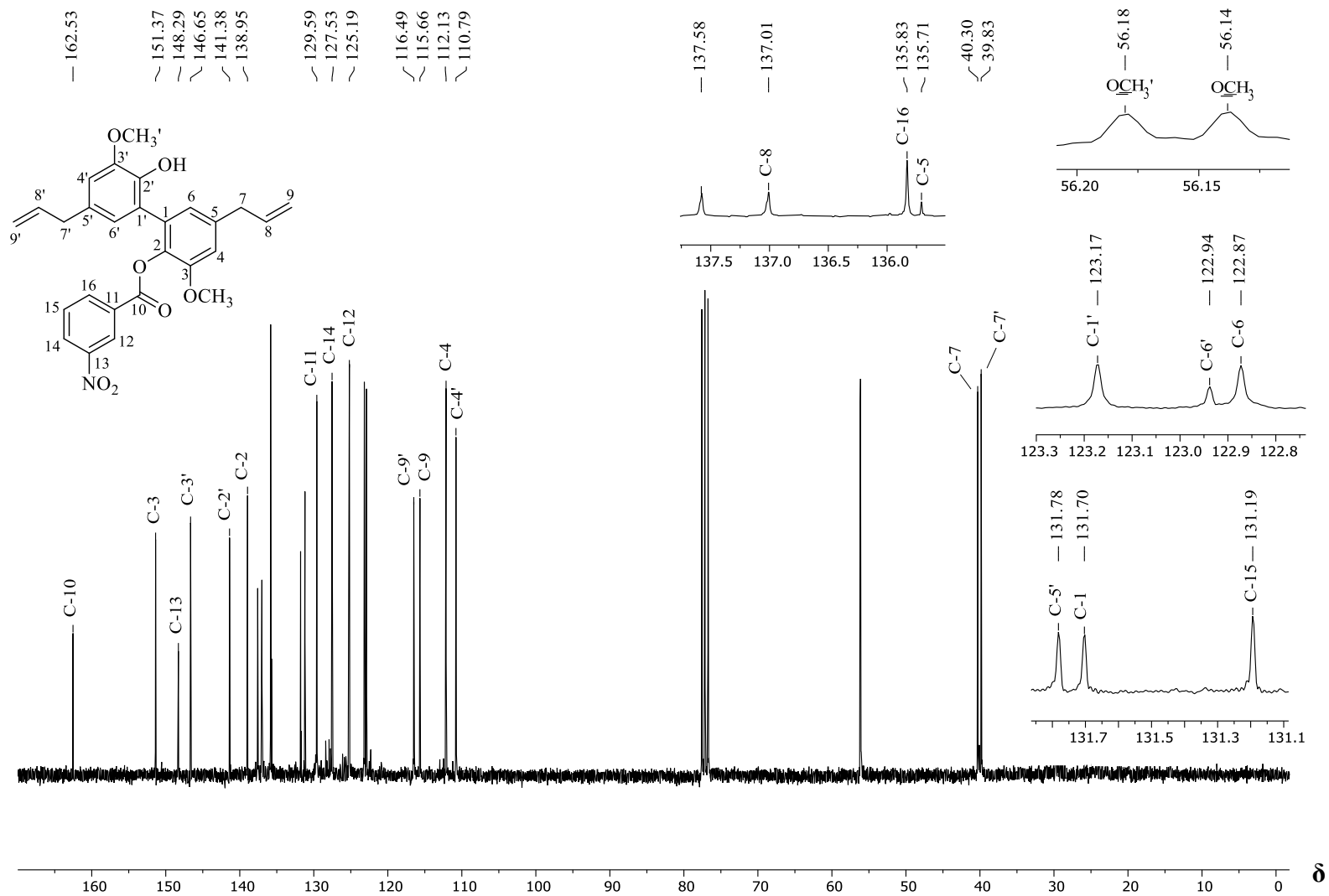
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 47. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2q**.



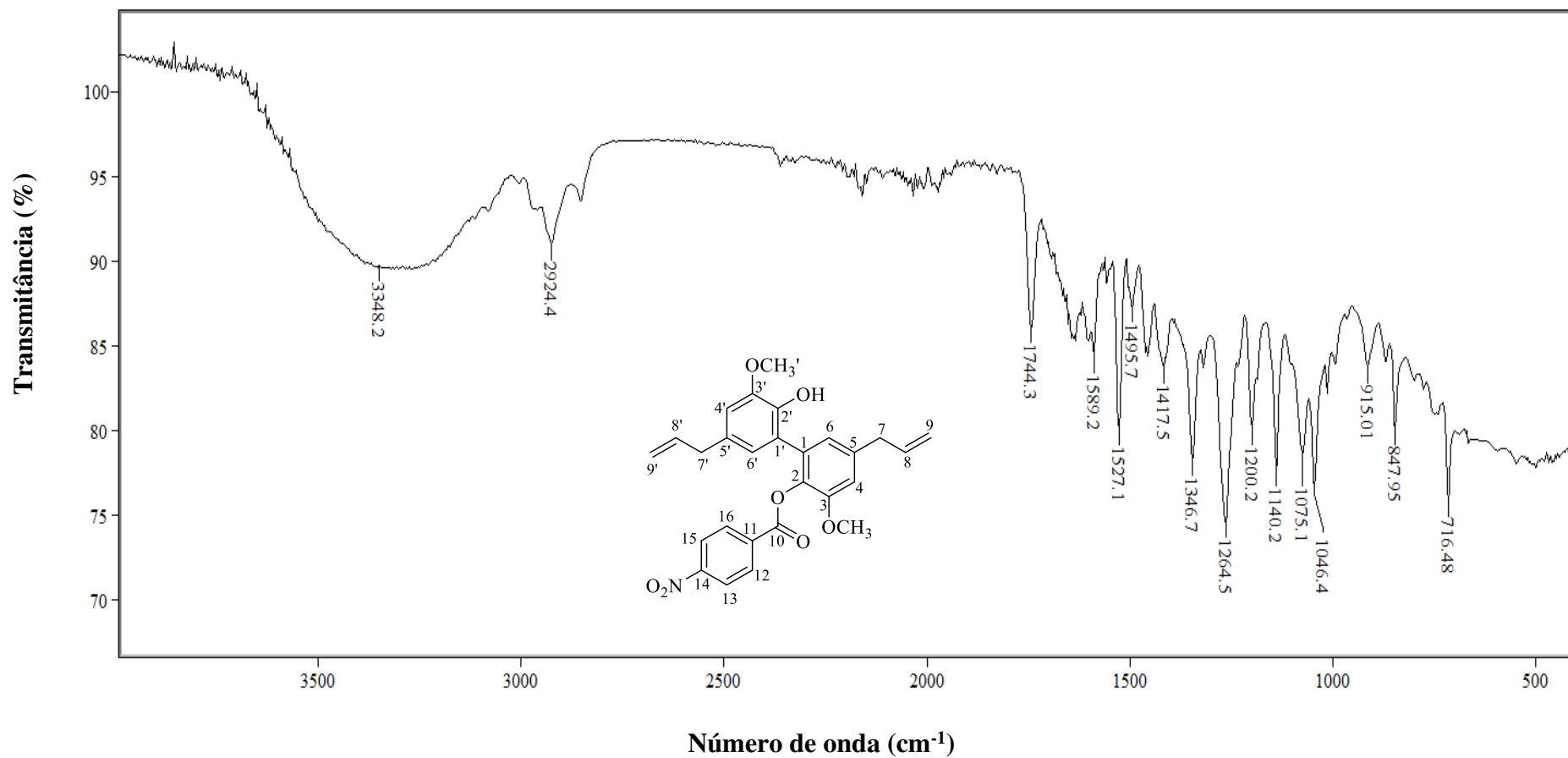
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2q**.



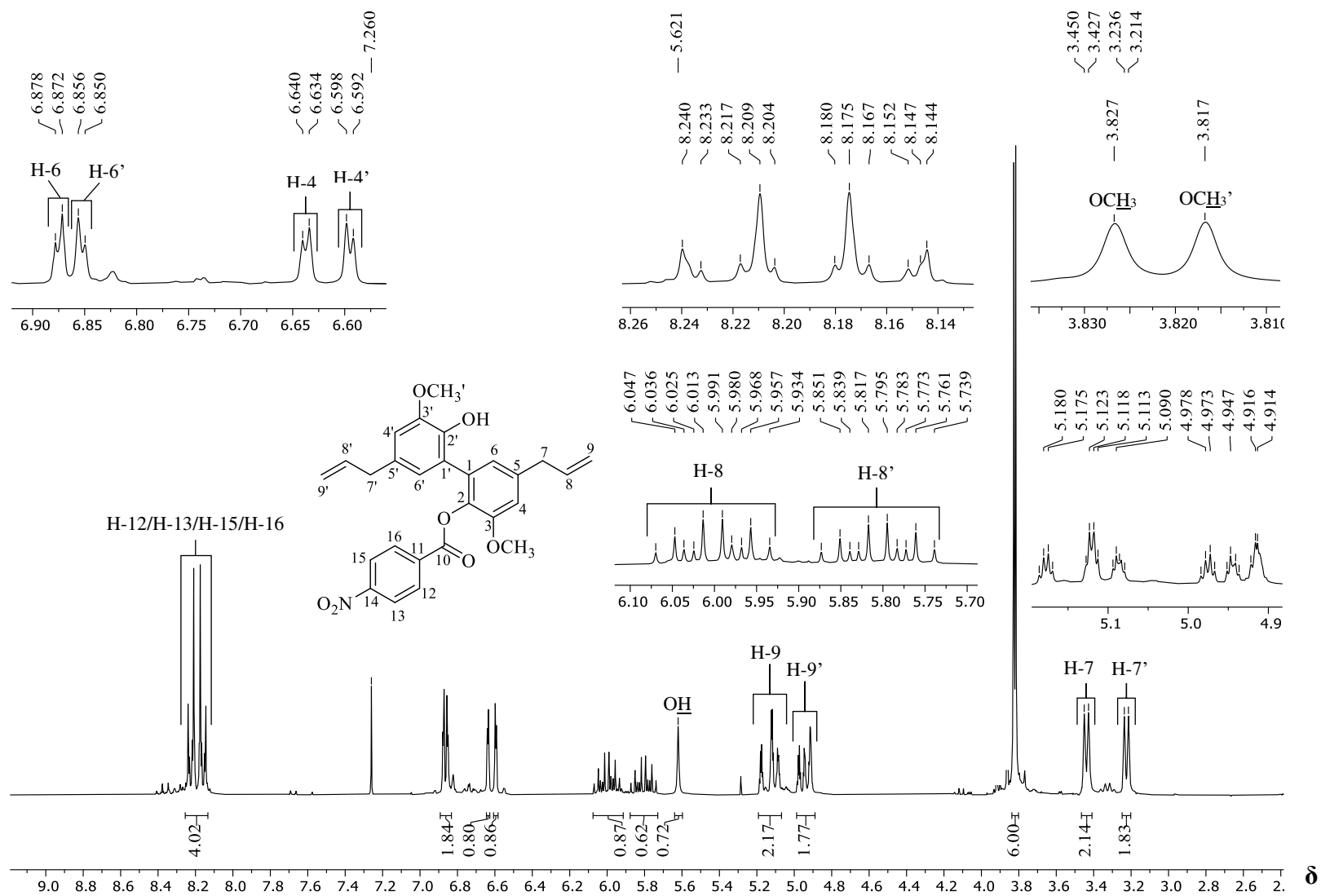
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 49. Espectro no infravermelho (ATR) do composto **2r**.



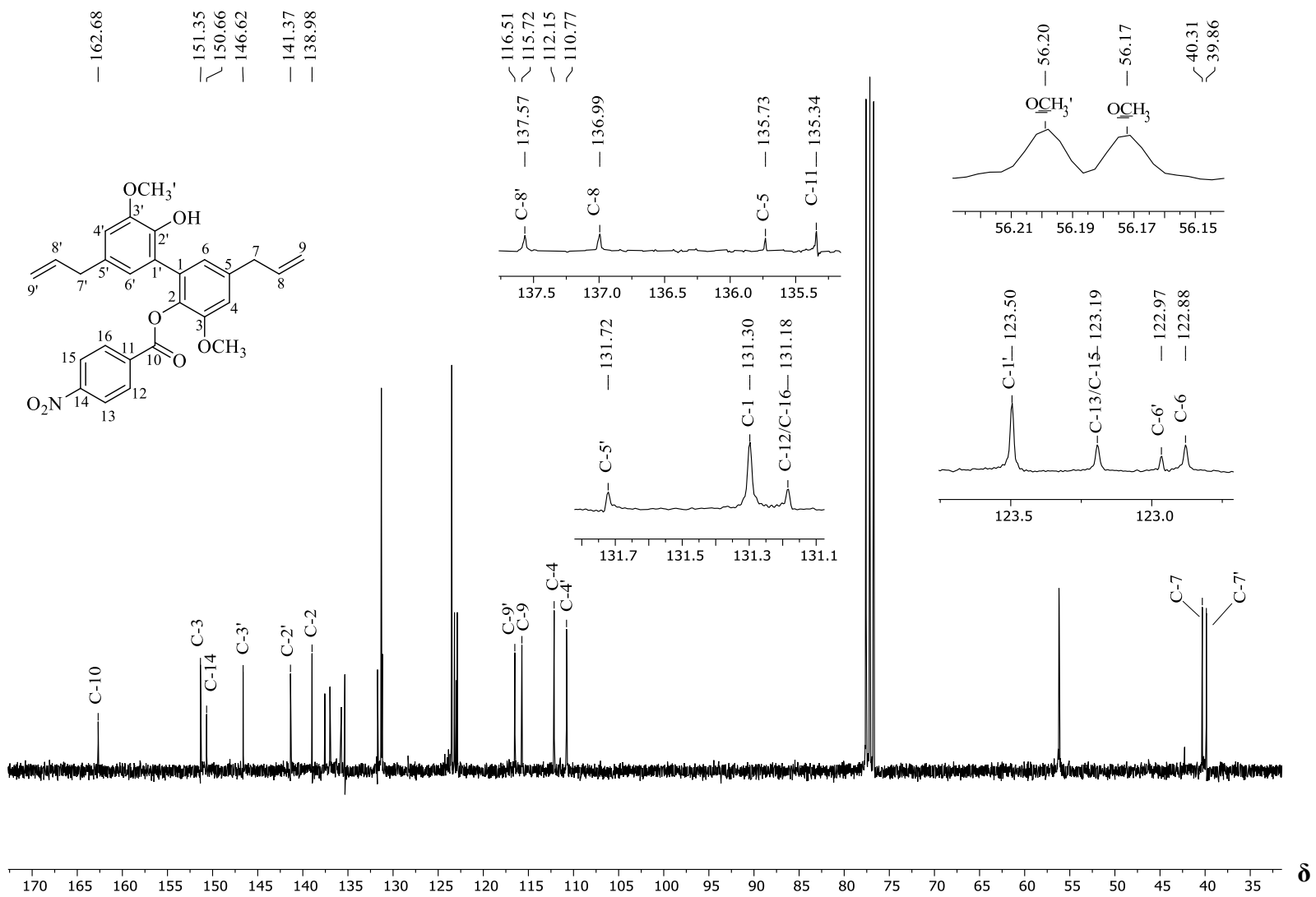
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 50. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2r**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2r**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.