



Universidade Federal do ABC  
Centro de Ciências Naturais e Humanas — CCNH

Trabalho de Conclusão de Curso

**SÍNTESE DO ÁCIDO FERÚLICO E DERIVADO PARA ESTUDOS DE**  
**ACOPLAMENTO OXIDATIVO**

*Aluno: Arthur de Pieri Maia Bezerra*  
*Orientadora: Profa. Dra. Mirela Inês de Sairre*

**Santo André — SP**

Maio de 2018

**Resumo:**

A síntese do ácido ferúlico, um dos substratos utilizados como material de partida de compostos das classes das lignanas e neolignanas, tem se tornado cada dia mais objeto de pesquisa científica em virtude da grande diversidade de atividades farmacológicas apresentadas nos últimos anos. As principais modificações estruturais apresentadas tanto no material de partida quanto nas neolignanas são nitrações clássicas, condensação de Knoevenagel e acoplamentos oxidativos, conduzidos em etapas distintas da rota sintética. Esse trabalho consiste no estudo da síntese do ácido ferúlico preparado a partir de vanilina e comparado ao eugenol isolado de fontes naturais (cravo-da-índia), visando à investigação futura de potenciais atividades tripanocida e leishmanicida após as duas diferentes propostas de acoplamento oxidativo utilizando HRP e água de coco.

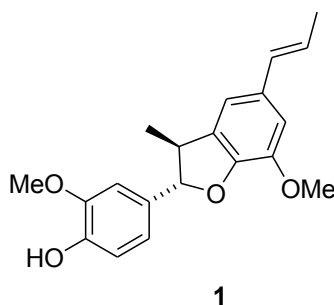
**Palavras-chave:** *ácido ferúlico, neolignanas, acoplamento oxidativo, eugenol, licarina.*

# Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	3
<b>2. Objetivos</b> .....	4
<b>3. Metodologia</b> .....	5
<b>4. Parte Experimental</b> .....	7
<b>5. Resultados e discussões</b> .....	11
<b>6. Conclusões</b> .....	15
<b>7. Referências Bibliográficas</b> .....	15

## 1. Introdução

As lignanas e neolignanas compreendem uma classe de produtos naturais que comumente apresentam funções orgânicas propícias para explorar propriedades farmacológicas diversas, sendo formadas pelo acoplamento de duas unidades fenilpropanoides (como no caso do eugenol, álcool coníferico, isoeugenol, etc.) (SOUZA, 2012). O interesse nesses compostos tornou-se mais acentuado em 1999, quando foram relatados estudos com plantas medicinais do gênero *Aristolochia* (família *Aristolochiaceae*) e, a partir do extrato hexânico de *A. pubescens*, algumas neolignanas foram isoladas (NASCIMENTO, 1999), entre elas a (-)-licarina A (**1**), mostrada na figura 1.



**Figura 1.** Estrutura da (-)-licarina A.

Em virtude da grande diversidade de atividades biológicas que muitas lignanas e neolignanas têm apresentado, esta classe de compostos tem despertado o interesse de muitos pesquisadores nos últimos anos, principalmente com relação à síntese destes compostos. Entre as atividades biológicas relatadas na literatura, destacam-se antitumoral, inseticida, antimicrobiana, anti-inflamatória, contra malária, doença de Chagas, entre outras (SILVA FILHO, 2008) (SOUZA, 2005) (CHAURET, 1996).

A ( $\pm$ )-licarina A (**1a**) pode ser sintetizada empregando o método descrito por Chioccara *et al.* (CHIOCCARA, 1993), que corresponde ao acoplamento oxidativo do isoeugenol. O composto racêmico obtido pode, então, ser submetido a uma resolução enantiomérica através de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) quiral (PEREIRA, 2011). Recentemente, estudos iniciais envolvendo a avaliação biológica de **1a** e dos respectivos enantiômeros separados foram relatados e mostraram-se promissores. A avaliação da atividade biológica foi realizada frente às formas tripomastigotas de *T. cruzi* e a (-)-licarina A (**1**) apresentou potente atividade tripanocida (PEREIRA, 2011).

Pesquisas mais recentes descreveram os resultados obtidos a partir de compostos isolados da espécie *Aristolochia brevipes*, endêmica da América Central e do Norte, como potenciais candidatos para o tratamento de tuberculose (GÓMEZ-CANSINO, 2017). Além disso, devido à alta mortalidade e invalidez causadas por animais peçonhentos em ambientes rurais, estudos têm sido conduzidos para avaliar a atividade de neolignanais como antagonistas do efeito neurotrópico de venenos comumente produzidos e inoculados por aracnídeos e répteis peçonhentos (ZAMILPA, 2014).

Diante dos resultados preliminares descritos na literatura, estudos de relação estrutura-atividade (SAR) foram realizados e indicaram a importância de desenvolver novos compostos análogos da (-)-licarina A (**1**) para serem investigados.

O ácido ferúlico é um composto que foi inicialmente extraído da espécie *Ferula foetida* para investigação de sua estrutura como molécula-alvo ou substrato para a síntese de compostos dotados de atividade biológica. Sua função de conferir rigidez à parede celular e de ser utilizado como material de partida para a síntese de curcuminas e álcoois coniferílicos é proveniente de ligações covalentes conjugadas realizadas com polissacarídeos, glicoproteínas, poliaminas, entre outros (KUMAR, 2014). O ácido ferúlico também tem sido objeto de estudo para fins de inibição de neurotoxinas e controle de expressão genética (BOUTIGNY, 2009) (NARASINHAM, 2015).

O acoplamento oxidativo do ácido ferúlico previamente sintetizado pode dar origem a um análogo do produto natural licarina A, com grande interesse para a investigação de suas atividades biológicas. As peroxidases são enzimas oxirredutases que catalisam o acoplamento oxidativo de compostos fenólicos utilizando peróxido de hidrogênio como agente oxidante (CHIOCCARA, 1993). A propriedade característica das reações enzimáticas é que a reação ocorre no sítio ativo da enzima. A molécula que se liga ao sítio ativo e sobre a qual a enzima age é denominada substrato. A superfície do sítio ativo é delimitada por resíduos de aminoácidos com grupos nas cadeias laterais que possibilitam interações com o substrato e catalisam a sua transformação química (NELO, 2016).

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

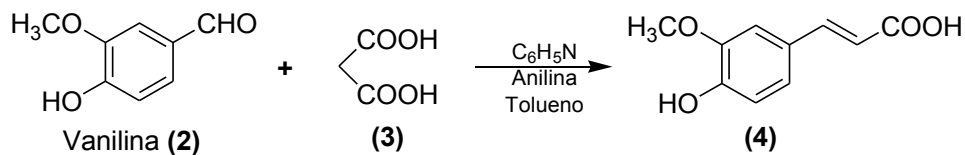
O objetivo geral deste trabalho é a síntese do ácido ferúlico e derivados, bem como a extração de eugenol de fontes naturais, para posterior utilização em reações de acoplamento oxidativo, visando à obtenção de análogos da licarina A (**1a**) para a investigação da atividade biológica.

## 2.2 Objetivos específicos

- Estudar e realizar a síntese do ácido ferúlico via Reação de Knoevenagel;
- Realizar reações de nitração e posterior obtenção de um derivado do ácido ferúlico;
- Extrair o óleo essencial eugenol a partir do cravo-da-índia e realizar a isomerização do eugenol para a obtenção do isoeugenol;
- Iniciar o desenvolvimento de uma metodologia para reações de acoplamento oxidativo empregando água de coco como fonte natural da enzima HRP (*horseradish peroxidase*);
- Realizar a caracterização dos compostos obtidos por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

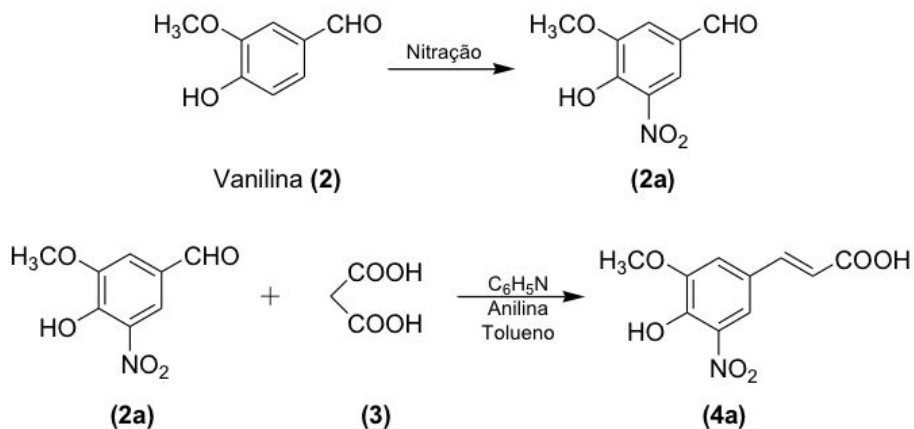
## 3. Metodologia

A proposta do trabalho foi sintetizar o ácido ferúlico (**4**) e o derivado ácido nitroferúlico (**4a**) para, em seguida, investigar reações de acoplamento oxidativo empregando estes compostos. Além disso, a obtenção do isoeugenol despertou nosso interesse para a síntese do produto natural ( $\pm$ ) licarina A (**1a**) também via acoplamento oxidativo. De acordo com o Esquema 1, é possível sintetizar o ácido ferúlico via reação de Knoevenagel, utilizando o reagente comercial vanilina (**2**) e o ácido malônico (**3**) (ZHAO, 2009).



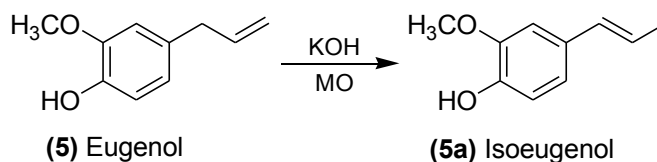
**Esquema 1.** Reação de Knoevenagel

A vanilina (**2**) poderia ser submetida a uma reação de nitração seguida da condensação de Knoevenagel para originar o derivado ácido nitroferúlico (**4a**), conforme mostrado no Esquema 2.



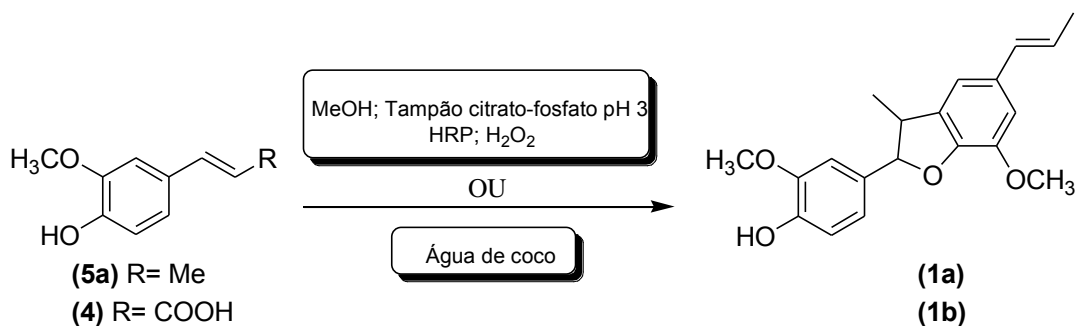
**Esquema 2.** Síntese do ácido nitroferúlico (**4a**)

Além dos compostos **4** e **4a**, para serem submetidos aos estudos de acoplamento oxidativo, a obtenção do isoeugenol (**5a**) foi proposta a partir da extração do óleo essencial do cravo-da-índia, o eugenol (**5**), seguida de uma reação de isomerização (Esquema 3).



**Esquema 3.** Isomerização do eugenol.

Uma vez obtidos os compostos **4**, **4a** e **5a**, as reações de acoplamento oxidativo seriam investigadas, buscando desenvolver uma nova metodologia para este tipo de reação. Através da reação de acoplamento oxidativo promovido pela enzima peroxidase de raiz forte (HRP, *horseradish peroxidase*) e água oxigenada, o isoeugenol (**5a**) poderia ser convertido diretamente ao composto de interesse ( $\pm$ )-licarina A (**1a**) em sua forma racêmica. O acoplamento oxidativo do ácido ferúlico (**4**) poderia dar origem ao análogo **1b** (Esquema 4). O ácido nitroferúlico (**4a**) poderia dar origem aos produtos de acoplamento oxidativo cruzados com presença do grupo nitro nas moléculas. Como alternativa para a reação de acoplamento oxidativo, voltada aos princípios da Química Verde, seria utilizada uma fonte natural da enzima HRP, a água de coco.



**Esquema 4.** Acoplamento oxidativo

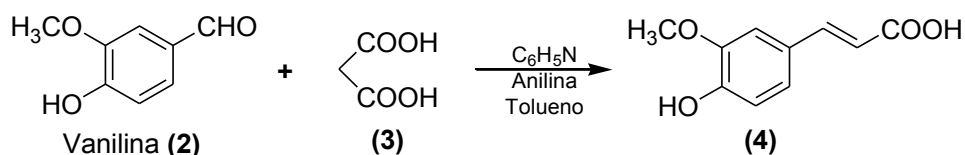
## 4. Parte Experimental

Os experimentos de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizados em equipamentos da Universidade Federal do ABC e também da Universidade de São Paulo (*Campus Ribeirão Preto*). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram obtidos a 500 MHz (VARIAN-500; Bruker DRX-500) ou 400 MHz (Bruker DRX-400). Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram obtidos a 125 MHz (VARIAN-500; Bruker DRX-500) ou 100 MHz (Bruker DRX-400). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno, colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = singleto, sl = singleto largo, d = dubleto, t = tripleto, q = quadrupeto, m = multipeto), a constante de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas de sílica gel da Sigma-Aldrich<sup>®</sup> e as purificações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando sílica gel 60 (0,063-0,200) da Merck<sup>®</sup>.

Para concentrar as soluções orgânicas foram utilizados rotaevaporadores do tipo Büchi e bombas a vácuo para operar sob variadas pressões reduzidas.

### 4.1 Preparação do ácido ferúlico (4):





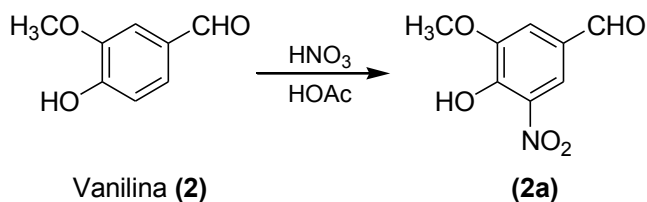
Em um balão de 50 mL, misturou-se a vanilina (**2**) (5,000 g; 32,65 mmoles) e ácido malônico (**3**) (3,684 g; 35,40 mmoles). Paralelamente, preparou-se uma solução de tolueno (7,5 mL), anilina (350 µL) e piridina (4,1 mL). A solução foi então transferida para o balão onde **2** e **3** se encontravam e este foi então mantido sob refluxo e agitação por 2 horas. Em seguida, após resfriamento, adicionou-se solução de carbonato de sódio 19% (22,0 mL). Algumas gotas de HCl (4 M) foram adicionadas para que a precipitação de **4** ocorresse, além da adição de uma quantidade mínima de acetato de etila para solubilizar o produto. As fases foram separadas em um funil de separação e a fase orgânica foi coletada e secada com sulfato de magnésio anidro. Em seguida, a mesma foi filtrada para separação do agente secante e o solvente orgânico foi eliminado sob pressão reduzida em um rotavaporador, fornecendo um sólido amarelado como produto bruto.

**Rendimento de 4:** 4,0564 g; 20,89 mmoles (64 %).

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ:** 7,71 (d, 1H, *J* = 16 Hz); 7,11 (dd, 1H, *J* = 1,9 Hz, *J* = 8,1 Hz); 7,06 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz); 6,94 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz); 6,30 (d, 1H, *J* = 16 Hz); 3,95 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ:** 53,2 (CH<sub>3</sub>); 108,6 (CH); 112,4 (CH); 113,1 (CH); 120,7 (CH); 124,0 (C); 143,6 (CH); 145,3 (C); 145,6 (C); 168,0 (C).

#### 4.2 Preparação da nitrovanilina (**2a**):



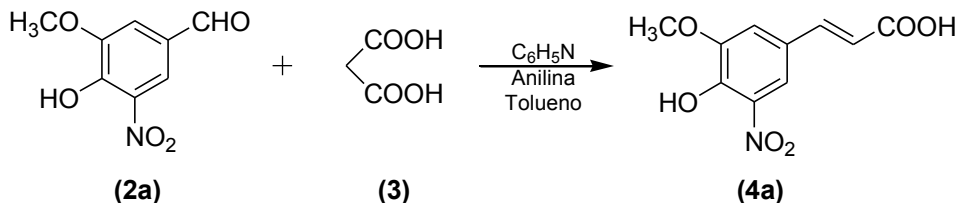
Em um balão de 50 mL, à temperatura ambiente, solubilizou-se vanilina (**2**) (2,001 g; 13,16 mmoles) em ácido acético (20 mL). Em seguida, adicionou-se ácido nítrico 65% (1,05 eq.; 13,82 mmoles; 1,24 mL) e a mistura foi colocada sob agitação por 30 minutos. A mistura foi então vertida em um béquer de 50 mL contendo gelo triturado. Notou-se a formação de um precipitado amarelo que foi filtrado, obtendo-se um sólido amorfo amarelado. O produto final foi colocado em um dessecador por dois dias e então submetido às análises de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

**Rendimento de 2a:** 1,8891 g; 9,583 mmoles (73%).

**<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ:** 3,96 (s, 3H); 7,58 (d, 1H, *J* = 1,77 Hz); 8,17 (d, 1H, *J* = 1,77 Hz); 9,83 (s, OH); 11,2 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  : 56,9 ( $\text{CH}_3$ ); 113,5 (CH); 121,4 (CH); 127,9 (C); 133,5 (C); 151,1 (C); 151,2 (C); 188,9 (CH).

#### 4.3 Preparação do ácido nitroferúlico (4a):

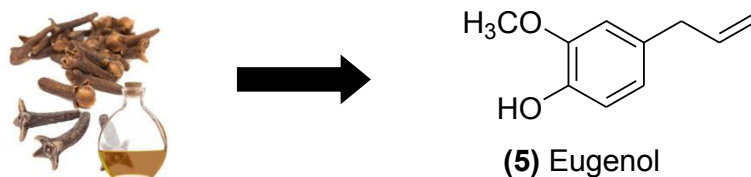


Em um balão de 50 mL, misturou-se nitrovanilina (**2a**) (1,295 g; 6,57 mmoles) e ácido malônico (**3**) (0,737 g; 7,08 mmoles). Paralelamente, preparou-se uma solução de tolueno (1,5 mL), anilina (0,5 mL) e piridina (0,8 mL). A solução foi então transferida para o balão onde **2a** e **3** se encontravam e este foi então mantido sob refluxo e agitação por 2 horas. Em seguida, algumas gotas de HCl (4 M) foram adicionadas para que a precipitação de **4a** ocorresse, além da adição de uma quantidade mínima de acetato de etila para solubilizar o produto. As fases foram separadas em um funil de separação e a fase orgânica foi coletada e secada com sulfato de magnésio anidro. Em seguida, a mesma foi filtrada para separação do agente secante e o solvente orgânico foi eliminado sob pressão reduzida no rotavaporador, fornecendo um sólido branco. Realizou-se um teste de CCD com acetato de etila e *n*-hexano (1:1). O produto final foi submetido às análises de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Rendimento de 4a: 35%**

$^1\text{H}$ -RMN (MeOD, 400 MHz)  $\delta$ : 7,78 (d, 1H,  $J = 2,0$  Hz); 7,62 (d, 1H,  $J = 16,0$  Hz); 7,50 (d, 1H,  $J = 2,0$  Hz); 6,50 (d, 1H,  $J = 16,0$  Hz); 3,95 (s, 3H).

#### 4.4 Obtenção do eugenol (5) a partir de extração do cravo-da-índia:



Um sistema de extração do tipo *soxhlet*, balão de 500 mL e manta de aquecimento foi montado, verticalmente orientado. O interior do *soxhlet* é então preparado com uma camada de papel de filtro, de modo a alocar a quantidade usada de cravo-da-índia (41,256 g). O solvente *n*-hexano (200 mL) foi colocado no balão, e o sistema é colocado em refluxo por 6 horas. Após o

término, o solvente foi eliminado sob pressão reduzida, fornecendo um óleo amarelado. Esse óleo, ainda impuro, foi submetido a um processo de purificação:

I. Agitação com bicarbonato de sódio (2 x 50 mL) para retirar ácidos fortes da fase orgânica, com auxílio de um funil de separação. A fase aquosa foi descartada;

II. Tratou-se, então, a fase orgânica com hidróxido de sódio 5% para transferir o eugenol para a fase aquosa, que foi separada. Descartou-se a fase orgânica;

III. Adicionamos 50g de gelo triturado à fase aquosa, seguido de HCl concentrado (até alcançar pH = 2). Nessa etapa, o composto **5** foi transferido para a fase orgânica, e a fase aquosa pode se descartada;

IV. Na etapa final, adicionou-se acetato de etila, que confere polaridade à solução. Em seguida, o solvente orgânico foi removido em rotavaporador e o produto **5** foi coletado e armazenado em ambiente de refrigeração. O teste de CDD foi realizado com os eluentes *n*-hexano e acetato de etila (7:3), evidenciando a presença de um único produto, o qual teve sua estrutura confirmada como sendo o eugenol (**5**) através de RMN de <sup>1</sup>H.

O eugenol foi obtido com rendimento aproximado de 55% e teve sua estrutura química elucidada através de RMN de <sup>1</sup>H.

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ: 3,30 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz); 3,85 (s, 3H); 5,04 (dq, 1H, *J* = 1,8 Hz, *J* = 10,1 Hz); 5,07 (dq, 1H, *J* = 1,8 Hz, *J* = 16,7 Hz); 5,94 (ddt, 1H, *J* = 6,6 Hz, *J* = 10,1 Hz, *J* = 16,7 Hz); 6,67 (m, 2H); 6,84 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 39,8 (CH<sub>2</sub>); 55,7 (CH<sub>3</sub>); 111,0 (CH); 114,2 (CH); 115,4 (CH<sub>2</sub>); 121,0 (CH); 131,8 (C); 137,7 (CH); 143,8 (C); 146,4 (C).

#### **4.5 Preparação das soluções-tampão e da enzima HRP:**

##### **4.5.1 Preparação da solução-tampão citrato-fosfato:**

Preparou-se, em um primeiro momento desta etapa, 500 mL de uma solução 0,1 M de ácido fosfórico e 500 mL de uma solução 0,1 M de citrato de sódio para controle de pH e avaliação da razão base conjugada/ácido. Após encontrar a razão de 2:5 (citrato de sódio/ácido fosfórico) por meio da realização de testes em tubo falcon, adicionou-se 140 mL da solução de citrato de sódio a 350 mL da solução de ácido fosfórico a fim de atingir um pH de aproximadamente 2,98.

##### **4.5.2 Preparação da solução-tampão fosfato:**

Sendo pH igual a aproximadamente 6,0 a condição ideal para conduzir a próxima etapa de estudos (preparação da HRP para uso no acoplamento oxidativo), preparou-se duas soluções: a

primeira ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1 M) foi preparada para volume de 30 mL a partir de 10,74 g de hidrogenofosfato de sódio, enquanto a segunda ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) foi preparada para volume de 180 mL a partir de 24,84 g de dihidrogenofosfato de sódio.

#### **4.5.3 Preparação da enzima HRP para uso no acoplamento oxidativo:**

A enzima peroxidase de raiz forte (19 mg) foi dissolvida em metanol (23,8 mL) e o pH controlado com a solução-tampão de fosfato (23,8 mL, pH = 6,0) em um balão de fundo chato com saída lateral de 250 mL. A reação foi conduzida sob agitação magnética branda e atmosfera de  $\text{N}_2$  por 20 horas, que é fornecida à solução por meio de um sistema vertical fechado incluindo uma válvula de vidro para encaixar a mangueira com  $\text{N}_2$  pressurizado. O conteúdo, após o processo de digestão da enzima, foi colocado em dois tubos falcon, centrifugado e separado para a etapa subsequente.

#### **4.6 Reações de acoplamento oxidativo:**

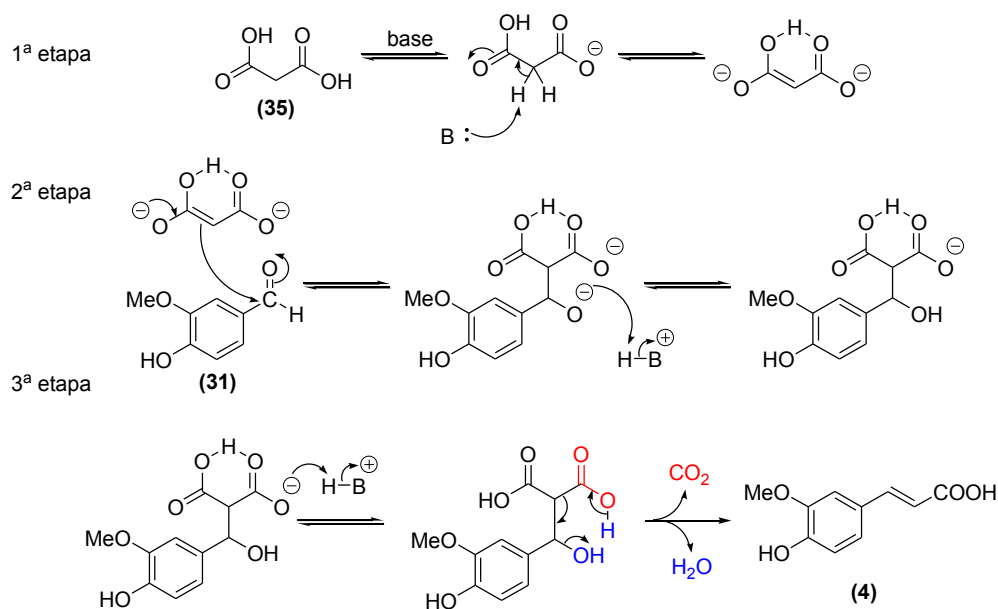
As reações de acoplamento oxidativo simples foram conduzidas em dois erlenmeyers diferentes sob agitação magnética constante por 2 horas. Em cada um deles, foi adicionado 0,576 g (2,97 mmol) de ácido ferúlico, 15,0 mL de metanol, 135 mL de solução-tampão citrato-fosfato 0,02 M e 172  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 30%.

Após distinguir cada um dos sistemas, foi adicionado 2,85 mL de HRP a um deles e 10,0 mL de água de coco natural ao outro. Como a avaliação da eficácia da água de coco natural como fonte de peroxidase era um dos objetivos desta etapa, a estequiometria não foi levada em consideração.

## **5. Resultados e discussões**

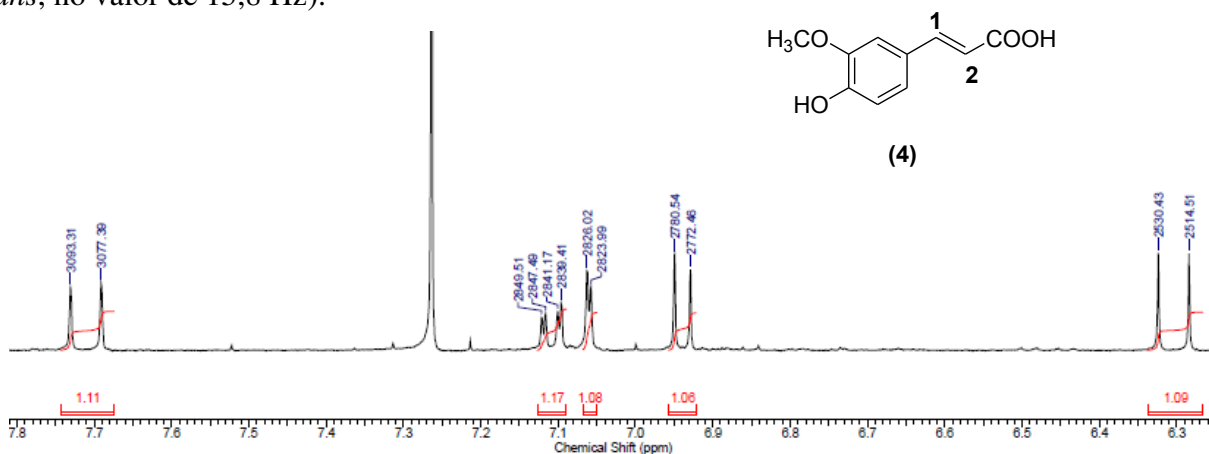
A primeira etapa foi a preparação do ácido ferúlico (**4**) a partir da vanilina (**2**), que foi solubilizada em uma solução de tolueno, anilina e piridina. Em seguida, adicionou-se o ácido malônico (**3**), em um processo conhecido como condensação de Knoevenagel. A mistura foi mantida sob agitação e refluxo por duas horas e então vertida em um recipiente com gelo.

A condensação de Knoevenagel consiste em uma condensação aldólica modificada, é uma adição nucleofílica de um carbânion a um grupo carbonila (aldeído ou cetona), seguida de uma desidratação. No caso de se utilizar o ácido malônico, ocorre uma descarboxilação ( $-\text{CO}_2$ ) em etapa subsequente (PION, 2012). O mecanismo desta reação está mostrado no Esquema 5.



**Esquema 5.** Mecanismo da reação de Knoevenagel (Fonte: NELO, 2016)

O produto foi então mantido em local com refrigeração por uma semana para então ser filtrado e recristalizado com etanol, e o rendimento foi de 64%. A estrutura do produto **4** esperado foi caracterizada por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Os hidrogênios 1 e 2 (especificados na estrutura), característicos da dupla ligação do composto **4**, apareceram como dubletos em deslocamentos químicos distintos (H1 em 7,70 ppm e H2 em 6,30 ppm, apresentando constantes de acoplamento, *J* *trans*, no valor de 15,8 Hz).



**Figura 2.** Região selecionada do espectro de RMN de <sup>1</sup>H do ácido ferúlico (**4**)

Em seguida, foi realizada a reação de nitração da vanilina (**2**). O composto **2** foi solubilizado em ácido acético e, então, adicionou-se uma solução de ácido nítrico 65% (Esquema 2). Após o período de 30 minutos, a mistura de coloração amarela foi vertida em um frasco contendo gelo e observou-se a precipitação de um sólido amarelo, o qual foi elucidado através de experimento de

ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) como sendo o produto desejado, a nitrovanilina (**2a**).

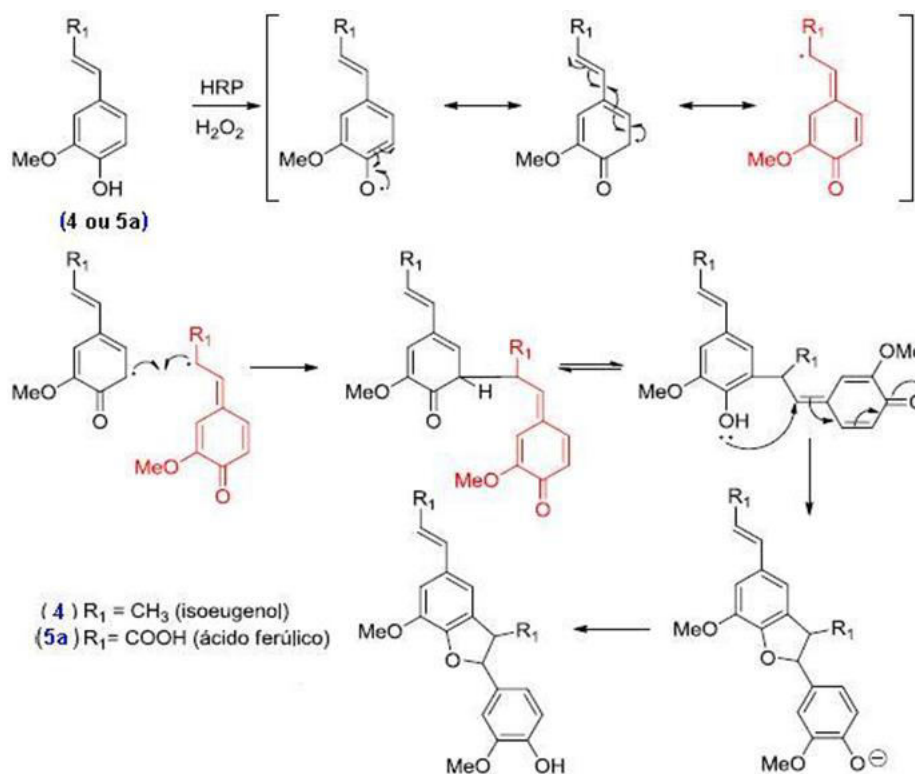
Como previsto e caracterizado posteriormente por RMN, o grupo nitro foi orientado para a posição *meta* com relação à função orgânica aldeído e *orto* ao grupo hidroxila, já que a carbonila (*meta* dirigente) e o grupo hidroxila (*orto-para* dirigente) favoreceram essa posição, preferencialmente. O rendimento obtido após a secagem do produto em dessecador foi de 73%.

De modo análogo ao descrito para a síntese do ácido ferúlico, a síntese do ácido nitroferúlico (**4a**) foi realizada empregando o produto da reação de nitração da vanilina, conforme mostrado no esquema 2. A mistura de tolueno, anilina, piridina e nitrovanilina (**2a**) foi preparada, seguida da adição do ácido malônico. Novamente, a condensação de Knoevenagel foi utilizada para a reação.

A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 2 horas e seu progresso foi acompanhado através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), empregando como eluente a mistura de *n*-hexano e acetato de etila na proporção 7:3, respectivamente. Algumas gotas de trietilamina foram adicionadas ao eluente para conferir alcalinidade, já que a sílica tem caráter ácido. Após a etapa de CCD, observou-se a formação de um sólido branco, mostrado na CCD com diferente  $R_f$ , o qual foi recristalizado com etanol e obtido com 39% de rendimento. Após ser enviado para RMN de  $^1\text{H}$ , o sólido branco foi identificado como o ácido nitroferúlico (**4a**). A preparação deste derivado do ácido ferúlico foi proposta devido ao grande interesse na realização posterior de estudos de acoplamento oxidativo cruzado, ou seja, o acoplamento entre o ácido ferúlico (**4**) e o ácido nitroferúlico (**4a**), possibilitando a formação de análogos da licarina contendo o grupo nitro.

Além dos compostos **4** e **4a** para serem submetidos aos testes de acoplamento oxidativo, tentou-se preparar o isoeugenol (**5a**). Inicialmente, o eugenol (**5**) foi extraído com o auxílio de *soxhlet* a partir do cravo-da-índia comercialmente disponível, aplicou-se um processo de extração e separação em etapas com os solventes hexano e acetato de etila. Após o teste de CCD, observou-se que apenas um produto foi formado. O produto **5** teve sua estrutura confirmada através da elucidação estrutural do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . A reação de isomerização com hidróxido de potássio não foi conclusiva, pois o espectro de RMN mostrou a presença de subprodutos, provavelmente provenientes de degradação do isoeugenol.

Uma vez obtido o ácido ferúlico (4), este foi empregado na reação de acoplamento oxidativo (Esquema 4), que utiliza enzimas fonte de peroxidase para catalisar a formação de lignanas via acoplamento de duas unidades fenilpropanoides. As peroxidases têm aplicações em diversos campos, como em síntese química, na análise de alimentos e em aplicações ambientais. Com relação à aplicação ambiental, podem citar a desintoxicação e remoção de diversos poluentes orgânicos fenólicos, aminas aromáticas e corantes de água residuais. Essas enzimas catalisam o acoplamento oxidativo de compostos fenólicos utilizando peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) como agente oxidante e convertendo os fenóis em radicais fenóxidos por abstração de elétrons (CHIOCCARA, 1993).



**Esquema 6.** Mecanismo radicalar da reação de acoplamento oxidativo (Adaptado de: NELO, 2016)

Foram realizadas duas reações com o objetivo de comparar a eficácia dos métodos empregados: a primeira foi realizada com a enzima HRP comercial; a segunda foi conduzida empregando água de coco natural como fonte da enzima HRP. Ambas reações não forneceram resultados conclusivos, pois os espectros de RMN de <sup>1</sup>H dos produtos obtidos apresentaram-se complexos para a interpretação, com a presença de subprodutos não identificados.

A continuidade deste trabalho resultou em uma dissertação de mestrado do grupo de pesquisa (NELO, 2016).

## 6. Conclusões

O desenvolvimento do trabalho forneceu resultados satisfatórios para as reações realizadas inicialmente, como, por exemplo, a reação de nitração e a preparação dos ácidos ferúlico e nitroferúlico, mesmo sem conduzir ensaios que comprovem atividade farmacológica por conta do tempo de desenvolvimento do projeto. Os compostos obtidos foram devidamente caracterizados, permitindo o aprendizado da técnica de RMN.

As reações de acoplamento oxidativo foram relevantes para uma abordagem de síntese mais voltada à química verde, levando também em consideração a disponibilidade e custo da HRP e da água de coco como fonte de peroxidase. No entanto, os resultados iniciais não foram conclusivos.

## 7. Referências Bibliográficas

BOUTIGNY, A.; BARREAU, C.; ATASANOVA-PENICHON, V.; VERDAL-BONNIN, M.; PINSON-GADAIS, L.; RICHARD-FORGET, F. **Ferulic acid, an efficient inhibitor of type B trichothecene biosynthesis and Tri gene expression in Fusarium liquid cultures.** Mycological Research, 2009, 113 (6-7), pp. 746-753.

CHAURET, D.; BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; DURST, T. **Insecticidal Neolignans from *Piper decurrens*.** Journal of Natural Products, 1996, 59, pp. 152-155.

CHIOCCARA, F.; POLI, S.; RINDONE, B.; PILATI, T.; BRUNOW, G.; PIETIKÄINEN, P.; SETÄLÄ, H. **Regio- and Diastereo-selective synthesis of dimeric lignans using oxidative coupling.** Acta Chemica Scandinavica, 1993, 47, pp. 610-610.

GÓMEZ-CANSINO, R.; GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. L.; CAMPOS-LARA, M. G.; ESPITIA-PINZÓN, C. I.; REYES-CHILPA, R. **Natural Compounds from Mexican Medicinal Plants as**



**Potential Drug Leads for Anti-Tuberculosis Drugs.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2017, 89 (1).

KUMAR, N.; PRUTHI, V. **Potential application of ferulic acid from natural resources.** Biotechnology Reports, 2014, 4, pp. 86-93.

NARASIMHAN, A.; CHINNAIYAN, M.; KARUNDEVI, B. **Ferulic acid regulates hepatic GLUT2 gene expression in high fat and fructose-induced type-2 diabetic adult male rat.** European Journal of Pharmacology, 2015, 761, pp. 391-397.

NASCIMENTO, I. R.; LOPES, L. M. X. **2,3-Dihydrobenzofuran neolignans from *Aristolochia pubescens*.** Phytochemistry, 1999, 52, 345.

NELO, R.A. **Síntese de análogos da licarina A para investigação da atividade tripanocida.** 2016, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia – Química) – Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, São Paulo.

PEREIRA, A. C.; MAGALHÃES, L. G.; GONÇALVES, U. O.; LUZ, P. P.; MORAES, A. C. G.; RODRIGUES, V.; MATTA-GUEDES, P. M.; SILVA FILHO, A. A.; CUNHA, W. R.; BASTOS, J. K.; NANAYAKKARA, D. N. P.; Silva, M. L. A. **Schistosomicidal and trypanocidal structure-activity relationships for (±)-licarin A and its (-)- and (+)-enantiomers.** Phytochemistry, 2011, 72, pp. 1424-1430.

PEREIRA, A. C.; MAGALHÃES, L. G.; JANUÁRIO, A. H.; PAULETTI, P. M.; CUNHA, W. R.; BASTOS, J. K.; NANAYAKKARA, D. N. P.; SILVA, M. L. A. **Enantiomeric resolution of (±)-licarin A by high-performance liquid-chromatography using a chiral stationary phase.** Journal of Chromatography A, 2011, 1218, pp. 7051-7054.

PION, F.; DUCROT, P.; ALLAIS, F. **Renewable Alternating Aliphatic-Aromatic Copolyesters Derived from Biobased Ferulic Acids, Diols and Diacids: Sustainable Polymers with Tunable Thermal Properties.** *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2014, 215 (5), pp. 431-439.

SILVA FILHO, A. A.; COSTA, E. S.; CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; NANAYAKKARA, N. P. D.; BASTOS, J. K. ***In vitro* antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae).** *Phytotherapy Research*, 2008, 22, 1307-1310.

SOUZA, V. A.; NAKAMURA, C. V.; CORRÊA, A. G. **Atividade Antichagásica de Lignanas e Neolignanas.** *Revista Virtual de Química*, 2012, 4, 197-207.

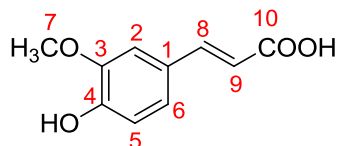
SOUZA, V. A.; SILVA, R.; PEREIRA, A. C.; ROYO, V. A.; SARAIVA, J.; MONTANHEIRO, M.; SOUZA, G. H. B.; SILVA FILHO, A. A.; GRANDO, M. D.; DONATE, P. M.; BASTOS, J. K.; ALBUQUERQUE, S.; SILVA, M. L. A. **Synthesis and biological activity evaluation of lignan lactones derived from (-)-cubebin.** *Bioorganic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

ZAMILPA, A.; ABARCA-VARGAS, R.; Ventura-Zapata, E.; OSUNA-TORRES, L.; ZAVALA, M. A.; HERRERA-RUIZ, M.; JIMÉNEZ-FERRER, E.; GONZÁLEZ-CORTAZAR, M. **Neolignans from *Aristolochia elegans* as antagonists of the neurotropic effect of scorpion venom.** *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 157, pp. 156-160.

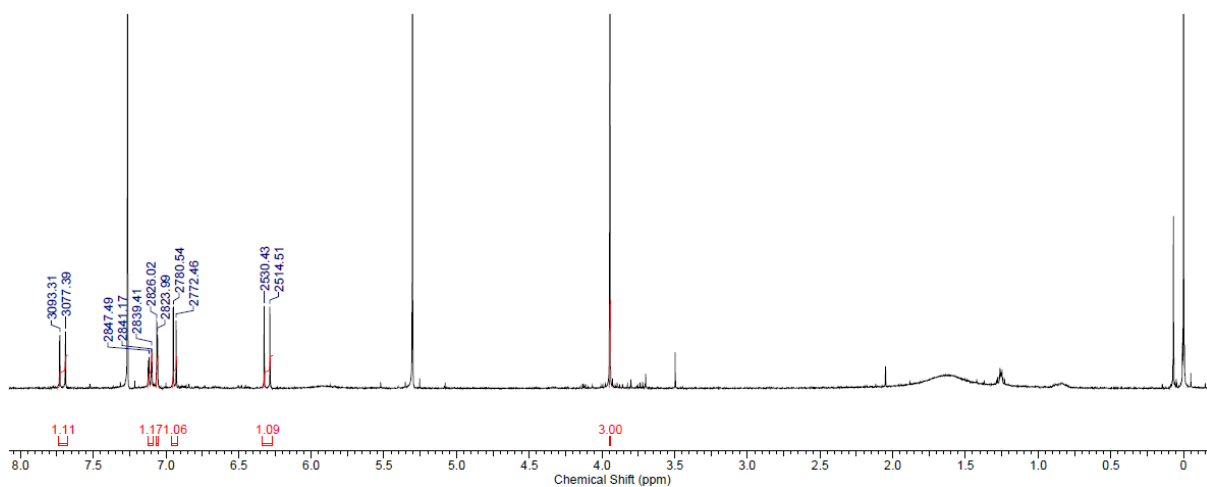
ZHAO, L.; ZHANG, Y.; MA, Z. **Synthesis and application of ferulic acid.** *Chinese Journal of Chemical Education*, 2009, 07.

## 8. Anexo

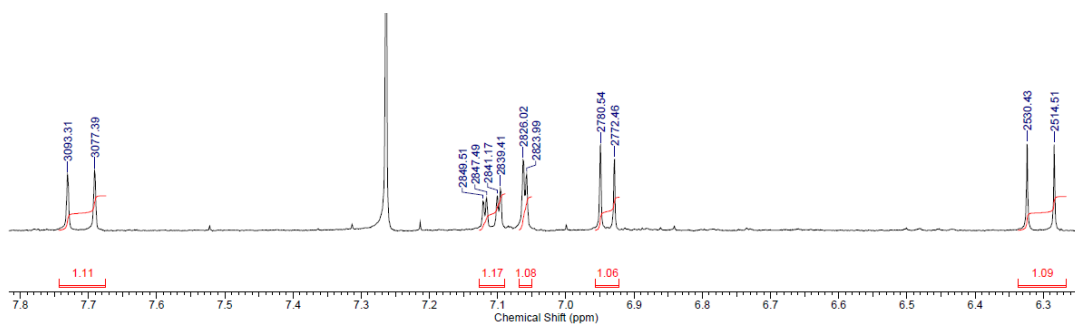
- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do ácido ferúlico:



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$ :

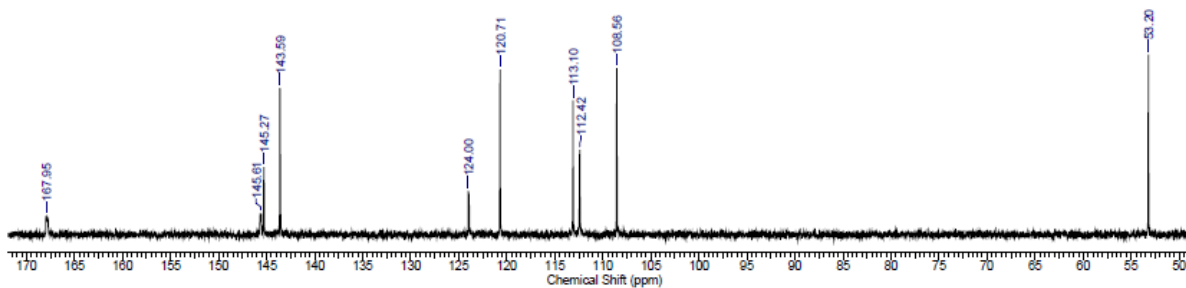


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  - Expansão da região aromática:

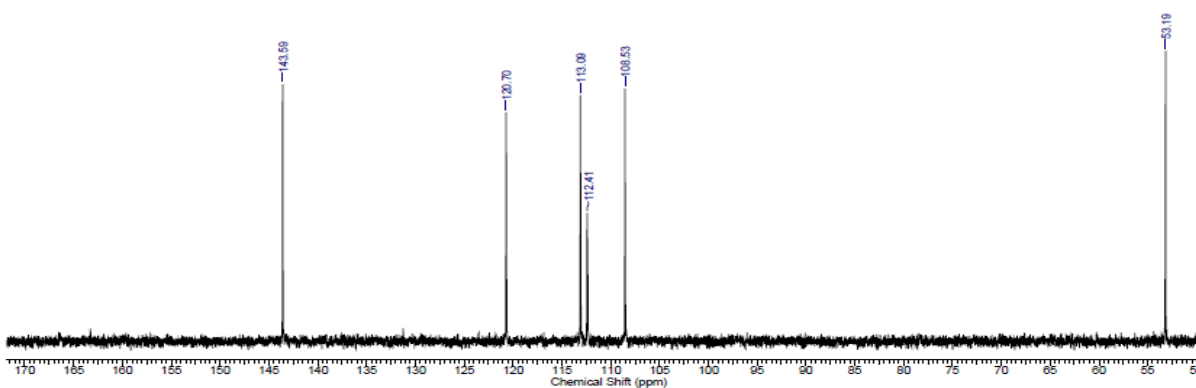


$\delta\text{H}$ (ppm)	Atribuição	Multiplicidade	Constantes de acoplamento (Hz)
7,71	H <sub>8</sub>	d	$J_{8,9} = 16$ Hz
7,11	H <sub>6</sub>	dd	$J_{6,2} = 1,9$ Hz ; $J_{6,5} = 8,1$ Hz
7,06	H <sub>2</sub>	d	$J_{2,6} = 1,9$ Hz
6,94	H <sub>5</sub>	d	$J_{5,6} = 8,1$ Hz
6,30	H <sub>9</sub>	d	$J_{9,8} = 16$ Hz
3,95	H <sub>7</sub>	s	-

**Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ :**



**Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DEPT-135):**



$\delta\text{C}$ (ppm)	Atribuição
53,2	$\text{C}_7$
108,6	$\text{C}_2$
112,4	$\text{C}_9$
113,1	$\text{C}_5$
120,7	$\text{C}_6$
124,0	$\text{C}_1$
143,6	$\text{C}_8$
145,3	$\text{C}_4$
145,6	$\text{C}_3$
168,0	$\text{C}_{10}$