

SERGIO FERRAZ FONSECA

**Compostos organosselênio derivados da crisina e do cardanol: novas
moléculas semi-sintéticas com atividades farmacológicas**

Tese de Doutorado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Federal
de Pelotas, como parte das
exigências parciais à obtenção do
título de Doutor em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Eder João Lenardão

Pelotas, Agosto de 2017.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

F677c Fonseca, Sergio Ferraz

Compostos organosselênio derivados da crisina e do cardanol: novas moléculas semi-sintéticas com atividades farmacológicas / Sergio Ferraz Fonseca ; Eder João Lenardão, orientador. — Pelotas, 2017.

113 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Antiproliferativa. 2. Antioxidante. 3. Crisina. 4. Cardanol. 5. Organosselênio. I. Lenardão, Eder João, orient. II. Título.

CDD : 664

Banca Examinadora

Prof. Dr. Eder João Lenardão – ORIENTADOR (CCQFA/UFPel)

Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Fiorentini

Prof^a. Dr^a. Lucielli Savegnago

Prof^a. Dr^a. Rosane da Silva Rodrigues

Dr. José Sebastião dos Santos Neto

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me abrir todas as portas e guiar o meu caminho.

Agradeço a minha família, que sempre esteve junto de mim dando o apoio necessário para eu seguir em frente com os meus sonhos e ambições.

A minha noiva Danielle, por sempre estar ao meu lado apoiando e incentivando para concluir mais esta etapa da minha vida e já visando a próxima.

Ao meu orientador, Professor Eder João Lenardão, por todos os ensinamentos e apoio desde o mestrado até este momento.

Aos Professores Diego Alves, Gelson Perin, Raquel Jacob, Ricardo Schumacher por toda a ajuda, disponibilidade e atenção.

Aos professores Tiago Collares e Fabiana Seixas e a aluna Julieti Buss, do Laboratório de Biotecnologia do Câncer, a professora Lucielli Savegnago e aos alunos Maurice e Mariana do GPN, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Aos professores e colegas do PPGCTA por todos os conhecimentos e experiências transmitidas.

A todos os colegas do grupo LASOL e GPN por toda a ajuda, ensinamentos e momentos de descontração, em especial a Nathalia e ao Juliano pela ajuda na realização do trabalho.

Ao Abacaxi com Bergamota (Angelita, Bruna, Daiane, Gabriel, Maiara, Manoela, Mariana e Natália) pela amizade, parceria, mates e risadas durante todos estes anos.

A UFPel pela oportunidade de me desenvolver profissionalmente.

A todos os amigos que sempre me apoiaram mesmo não podendo estar sempre por perto.

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado e Doutorado.

Ao CNPq, FAPERGS, FINEP e PROAP pelo suporte financeiro.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

*“A educação é o nosso passaporte para o futuro,
pois, o amanhã pertence as pessoas
que se preparam hoje.”*

Malcolm X

Resumo

FONSECA, SERGIO FERRAZ. **Compostos organosselênio derivados da crisina e do cardanol: novas moléculas semi-sintéticas com atividades farmacológicas**. 2017. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Com a necessidade de encontrar fármacos mais potentes, são necessárias pesquisas que visam potencializar as atividades já presentes em compostos de origem natural através de metodologias que sejam as mais ecológicas e eficientes possíveis. O objetivo deste trabalho foi sintetizar compostos derivados da crisina **1** e do cardanol **3**, contendo grupamentos organosselênio em suas estruturas, com o intuito de potencializar suas atividades farmacológicas. Os derivados da crisina foram sintetizados através de uma metodologia utilizando ultrassom como fonte de energia e iodeto de cobre como catalisador, obtendo-se seis novos compostos bis-selenilados., os quais foram obtidos em bons a ótimos rendimentos (60-89%) e posteriormente avaliados quanto às suas propriedades antioxidantes e antiproliferativas *in vitro*, onde foi possível observar que a presença de selênio aumentou ambas as propriedades da crisina. O composto com o grupo metila na posição *orto* apresentou os melhores resultados frente aos radicais DPPH (I_{max} : 39.79 μ M) e ABTS⁺ (IC₅₀: 6.5 μ M). No ensaio de Espécies Reativas (ERs), o mesmo apresentou alta atividade antioxidante no córtex de camundongos (IC₅₀: 5.67 μ M), enquanto o composto com o grupo metoxila foi mais ativo no hipocampo (IC₅₀: 5.63 μ M). Todos os compostos foram efetivos na prevenção da peroxidação lipídica, dando destaque para o composto contendo o átomo de flúor no teste com córtex (IC₅₀: 0.54 μ M) e o composto com o grupo metila no hipocampo (IC₅₀: 0.27 μ M). Além disso, o composto com flúor foi mais efetivo na inibição do crescimento de células tumorais pulmonares (A549), com um IC₅₀ de 19.9 μ M após 72 h, enquanto que o composto com grupo metoxila foi o mais efetivo após 48 h (IC₅₀ of 41.4 μ M). Em relação à síntese de derivados do cardanol **3**, foi realizado um estudo para encontrar as melhores condições reacionais. Determinou-se que utilizando uma mistura de **3**, disseleneto de difenila, *m*-CPBA como agente oxidante e ácido acético como solvente, com ultrassom como fonte de energia obteve-se o melhor resultado, com o produto desejado **37** em 25% de rendimento. A atividade antioxidante *in vitro* deste composto foi avaliada, e os resultados obtidos demonstram que o mesmo apresenta uma atividade antioxidante bastante promissora, com resultados superiores aos dos seus materiais de partida.

Palavras chave: antiproliferativa; antioxidante; crisina; cardanol; organosselênio.

Abstract

FONSECA, SERGIO FERRAZ. **Organoselenium compounds derived from Chrysin and Cardanol: new semi-synthetic molecules with pharmacological activities** 2017. Doctorate Thesis – Food Science and Technology Post-Graduation Program, Federal University of Pelotas, Pelotas.

With the necessity of finding more powerful drugs, new researches are needed aiming to improve the pharmacological activities already present in natural compounds through the most ecological and efficient methodologies possible. The aim of this work was to synthesize new selenium-containing chrysin **1** and cardanol **3** derivatives in order to increase its' biological activities. Chrysin derivatives were synthesized through a methodology using ultrasound as an energy source and copper iodine as catalyst, achieving six new compounds with two organoselenium moieties, which were obtained in good to excellent yields (60-90%) and after they were evaluated by their *in vitro* antioxidant and antiproliferative activities, where it was possible to see that the presence of selenium boosted both chrysin's activities. The compound with a methyl group in the *orto* position presented the best results against the DPPH ($I_{\max}$: 39.79 μ M) and ABTS⁺ (IC₅₀: 6.5 μ M) radicals. In the Reactive Species assay (RS), it presented high antioxidant activity in mice cortex (IC₅₀: 5.67 μ M), while the compound with the methoxyl group was more effective in the hippocampus (IC₅₀: 5.63 μ M). All compounds were effective against lipid peroxidation, highlighting the compound with the fluorine atom in the cortex assay (IC₅₀: 0.54 μ M) and the compound with the methyl group in the hippocampus assay (IC₅₀: 0.27 μ M). Besides, compound with the fluorine atom was more effective inhibiting lung cancer cells' growth (A549), with an IC₅₀ of 19.9 μ M after 72 h, while the compound with the methoxyl group was more effective after 48h (IC₅₀ of 41.4 μ M). Regarding the synthesis of cardanol **3** derivatives, a study was performed in order to find the best reaction conditions. It was determined that by using a mixture of **3**, diphenyl diselenide, *m*-CPBA as an oxidant agent and acetic acid as solvent, with ultrasound as energy source we achieved the best result, with the desired product **37** in 25% yield. The *in vitro* antioxidant activity of this compound was evaluated, and the obtained results revealed that this compound presents a very promising antioxidant activity, with superior results compared to its' starting materials.

Key words: antiproliferative, antioxidant, chrysin, cardanol, organoselenium.

Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	6
Lista de Figuras.....	8
Lista de Tabelas.....	9
Lista de Esquemas.....	10
Lista de Siglas e Abreviaturas.....	11
1 Introdução.....	13
1.1 Objetivos.....	16
1.1.1 Objetivo Geral.....	16
1.1.2 Objetivos específicos.....	16
2 Revisão Bibliográfica.....	18
2.1 Compostos de origem natural.....	18
2.1.1 Modificações químicas de compostos de origem natural.....	19
2.2 Flavonoides.....	23
2.2.1 Crisina.....	28
2.3 Cardanol.....	32
3 Manuscrito I – Ultrasound-promoted synthesis of bis-arylselanyl chrysin derivatives with antioxidant and anticancer activities.....	38
4 Demais atividades desenvolvidas.....	87
4.1 Análise da atividade antibacteriana das Bis-arilselanil crisinas.....	87
4.2 Reações com compostos derivados do LCC.....	90
4.2.1 Síntese utilizando o Cardanol Saturado.....	90
4.2.2 Síntese utilizando o Ácido Anacárdico.....	98
5 Conclusões.....	100
6 Referências Bibliográficas.....	101

Lista de Figuras

Figura 1 – Estrutura química da crisina.....	15
Figura 2 – Principais componentes do LCC.....	15
Figura 3 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos presentes em alimentos.....	19
Figura 4 – Estrutura química do Ebselen.....	22
Figura 5 – Estrutura básica de um flavonoide.....	24
Figura 6 – Classes existentes de flavonoides.....	24
Figura 7 – Exemplos de flavonoides de diferentes classes e alimentos nos quais são encontrados.....	25
Figura 8 – Estrutura química da (-) Epicatequina.....	26
Figura 9 – Estrutura química da Quercetina.....	26
Figura 10 – Estrutura química da crisina indicando as hidroxilas nas posições 5 e 7.....	29
Figura 11 – Síntese do Cardanol-BS para incorporação em Resina Epóxi.....	36
Figura 12 – Atividade antimicrobiana das bis-arilselanil crisinas sobre bactérias patogênicas de alimentos (<i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>).....	88
Figura 13 – Espectro de massas de alta resolução do composto 37 (massa exata calculada $M+1 = 461,2323$).....	92
Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C 75 MHz do composto 37 em CDCl_3	93
Figura 15 – Espectro de RMN ^1H 400 MHz do composto 37 em CDCl_3	93
Figura 16 – Ampliação da região dos hidrogênios aromáticos do espectro de RMN ^1H 400 MHz do composto 37 em CDCl_3	94
Figura 17 – Espectro de RMN ^1H NOE do composto 37 irradiado em 2,6 ppm.....	94
Figura 18 – Espectro de RMN ^1H NOE do composto 37 irradiado em 6,7 ppm.....	95
Figura 19 – Espectro de RMN ^1H NOE do composto 37 irradiado em 7,5 ppm.....	96

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Otimização das condições reacionais na síntese do composto 37	91
Tabela 2 – Otimização das condições reacionais utilizando TCCA.....	97

Lista de Esquemas

Esquema 1 – Síntese dos análogos da DHZ contendo selênio e enxofre	20
Esquema 2 – Síntese de novos compostos derivados do timol/carvacrol.....	21
Esquema 3 – Síntese do composto 2-fenilselênio citronelal.....	21
Esquema 4 – Síntese do composto 2-fenilselênio citronelol.....	22
Esquema 5 – Síntese de derivados da crisina contendo grupamentos organosselênio e organotelúrio.....	30
Esquema 6 – Síntese de derivados da crisina contendo grupamentos benzotiazólicos.....	30
Esquema 7 – Síntese de derivados da crisina contendo átomos de enxofre e selênio.....	31
Esquema 8 – Síntese de derivados da quercetina contendo átomos de enxofre e selênio.....	32
Esquema 9 – Síntese de cumarinas multifuncionalizadas derivadas do cardanol.....	34
Esquema 10 – Síntese de benzoxazinas baseadas no cardanol com núcleo de pireno.....	37
Esquema 11 – Síntese de compostos organosselênio utilizando ácido peracético.....	90
Esquema 12 – Síntese de 3-arilselanil e 3-arilsulfonilindóis utilizando TCCA.....	96
Esquema 13 – Síntese de 5-sulfenilpirrol utilizando TCCA.....	97
Esquema 14 – Reação de hidrogenação do ácido anacárdico.....	99
Esquema 15 – Síntese de tioésteres a partir de ácidos carboxílicos e tióis..	99
Esquema 16 – Síntese de tioéster a partir do ácido anacárdico.....	99

Lista de Siglas e Abreviaturas

^{13}C NMR – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
 ^1H NMR – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
ABTS* - Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AChE – Enzima Acetilcolinesterase
AcOH – Ácido Acético
AcOOH – Ácido Peracético
BHI – Caldo *Brain Heart Infusion*
BuChE – Enzima Butilcolinesterase
CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CNSL – Líquido da casca da castanha de caju (do inglês: *Cashew Nut Shell Liquid*)
DCC – *N,N'*-Dicicloexilcarbodiimida
DCE – Dicloroetano
DHZ – Deidrozingerona
DMF – Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EREs – Espécies Reativas de Enxofre
ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
ERs – Espécies Reativas
FDA – *Food and Drug Administration*
FRAP – Potencial redutor do íon férrico
GPx – Glutathione Peroxidase
HRMS – Espectrometria de Massas de Alta Resolução
IC₅₀ – Concentração Mínima capaz de inibir 50 %
I_{max} – Índice máximo de inibição
LCC – Líquido da Casca da Castanha de Caju
MH – Ágar Mueller-Hinton

MW – Micro-ondas (do inglês *Microwave*)

NOEdiff – *Nuclear Overhauser Experiment Difference spectrum*

t.a. – Temperatura Ambiente

TBARS – Espécies Reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCCA – Ácido Tricloroisocianúrico

TLC – Cromatografia de Camada Delgada (do inglês *Thin Layer Chromatography*)

TSA – Ágar *Tryptic Soy Agar*

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

US – Ultrassom

1. Introdução

A utilização de produtos naturais com finalidade medicinal é conhecida há cerca de 5000 anos em diversos países como a Grécia, China e Índia. No entanto, cerca de um século atrás, a humanidade começou a utilizar também os fármacos sintéticos e substâncias químicas isoladas (MAHADY, 2001).

Os problemas de saúde são mais comuns conforme as pessoas vão envelhecendo. Uma vez que a expectativa de vida está cada vez maior, faz-se necessário controlar o avanço de doenças como o Alzheimer, Parkinson, acidente vascular cerebral, entre outras. Os radicais livres (RL), os antioxidantes e cofatores são os três principais fatores que supostamente podem contribuir no retardo do processo de envelhecimento. Assim, entender estes eventos no corpo humano pode ajudar a prevenir ou reduzir a incidência destas doenças, além de contribuir para uma melhor qualidade de vida (RAHMAN, 2007).

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons com elétrons não pareados que são altamente instáveis e ativos frente a reações químicas com outras moléculas. Eles derivam de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre, criando assim as espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e as espécies reativas de enxofre (EREs). As EROs incluem os radicais livres ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), radical hidroperoxila ($HO_2^{\bullet}$), radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), óxido nítrico (NO), e outras espécies como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singleto (1O_2) entre outros. As ERNs derivam do NO ao reagirem com $O_2^{\bullet -}$, e formando peroxinitrito (ONOO). Já as EREs são facilmente formadas através da reação de EROs com tióis (LÜ et al., 2010; CAROCHO & FERREIRA, 2013).

De acordo com Lobo et al. (2010), internamente, os RL são produzidos como uma parte normal do metabolismo dentro das mitocôndrias, através da xantina oxidase, peroxissomos, processos inflamatórios, fagocitose, vias do ácido araquidônico, isquemia e exercícios físicos. No entanto, fatores externos como cigarros, poluição ambiental, radiação, drogas, pesticidas, solventes industriais e ozônio, também são responsáveis pela formação de RL. O equilíbrio entre a

produção e neutralização de espécies reativas (ERs) por antioxidantes é bastante frágil e se este equilíbrio tender para uma maior produção de ERs, as células começam a sofrer as consequências do estresse oxidativo.

Os compostos antioxidantes são capazes de reduzir os danos celulares causados pelos radicais livres. Para lidar com estes radicais o próprio organismo é capaz de produzir compostos antioxidantes, no entanto, estes também podem ser fornecidos ao organismo através da alimentação, uma vez que frutas e hortaliças contêm uma grande quantidade de compostos fitoquímicos e antioxidantes que contribuem na proteção contra diversas enfermidades (HAMID et al., 2010; SINDHI et al., 2013).

Os vegetais são boas fontes de fibras, vitaminas e minerais e o consumo destes alimentos está diretamente relacionado com a saúde humana. Uma dieta rica em frutas e hortaliças tem sido associada com efeitos favoráveis em fatores de risco metabólicos incluindo lipídeos séricos, pressão sanguínea e peso corporal. Além disso, estudos de *coorte* revelam uma associação inversa entre o consumo de frutas e hortaliças com derrames, doenças vasculares e coronárias, mortalidade total e alguns tipos de câncer (JÄRVI et al., 2016).

As frutas e hortaliças são considerados alimentos ricos em micronutrientes essenciais e fibras, sendo reconhecidas como importantes fontes de uma ampla quantidade de fitoquímicos como os compostos fenólicos, tocoferóis, carotenoides, etc. Estes compostos podem trazer benefícios à saúde individualmente ou combinados, apresentando diversas atividades biológicas, como antioxidante, antimicrobiana, entre outras. Diversos trabalhos relatam os efeitos benéficos à saúde de alimentos, plantas medicinais e alguns de seus constituintes, tais como flavonoides, alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, etc, sendo comprovadas estas ações farmacológicas por testes realizados tanto *in vitro* quanto *in vivo* (YAHIA, 2010; MEIYANTO, HERMAWAN & ANINDYAJATI, 2012).

Os flavonoides são alguns dos compostos responsáveis por conferirem a capacidade antioxidante de frutas e hortaliças, sendo que alguns possuem potencial antioxidante superior ao das vitaminas E e C. O papel dos flavonoides na redução dos danos oxidativos já foram demonstrados em diversos estudos *in vitro*. Um exemplo de flavonoide é a crisina **1** (Figura 1), que pode ser encontrada no maracujá, na camomila e na própolis, a qual possui diversas atividades biológicas já

descritas, como anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, entre outras (CHAUDHURI et al., 2007; LI et al., 2011; BAE, LEE & KIM, 2011; NABAVI et al., 2015; ALIPOUR, RASHIDKHANI e EDALATI, 2016).

Outra classe de compostos que tem chamado a atenção de muitos pesquisadores é a dos constituintes do líquido da casca da castanha de caju (LCC), que é um subproduto da indústria cajueira, rico em compostos fenólicos alquílicos renováveis. Os principais constituintes do LCC são o ácido anacárdico **2**, cardanol **3** e cardol **4** (Figura 2), os quais possuem diversas aplicações comerciais e atividades biológicas. Algumas destas atividades biológicas descritas, por exemplo, são: atividade larvicida, moluscicida, antifúngica e antimicrobiana (PARASA et al., 2011).

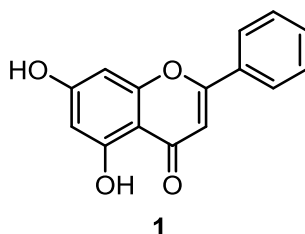


Figura 1 – Estrutura química da Crisina

Fonte: NABAVI et al., 2015.

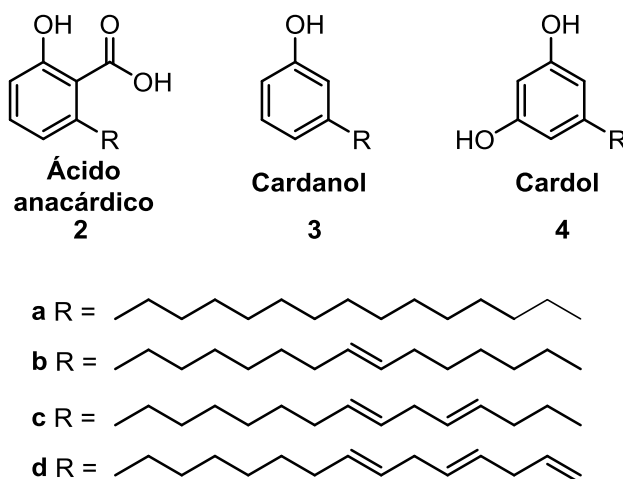


Figura 2 – Principais componentes do LCC

Fonte: HAMAD & MUBOFU, 2015.

Através da geração de compostos semi-sintéticos é possível potencializar as atividades biológicas apresentadas pelas moléculas de origem natural, sendo este fato muito relevante para indústrias químicas, farmacêuticas e também de alimentos.

Dentre os diversos tipos de modificações realizadas encontra-se a inserção de diferentes grupamentos químicos, como os organocalcogênios, os quais têm sido bastante utilizados na potencialização de diversas atividades biológicas. Os compostos organocalcogênios (compostos orgânicos contendo átomos de selênio, enxofre ou telúrio) possuem uma ampla versatilidade e utilidade em síntese orgânica devido a suas reações seletivas, seu uso em catálises assimétricas, síntese de produtos naturais e também às suas interessantes atividades biológicas (PLOU et al., 2008; GONÇALVES, et. al., 2010).

Em vista do que foi exposto, a hibridização molecular entre produtos de ocorrência natural como a crisina e o cardanol e compostos organosselênio pode ser uma estratégia interessante na busca por novas molécula semi-sintéticas bioativas.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Realizar a síntese de novos compostos organosselênio derivados da crisina e do cardanol a fim de potencializar as atividades antioxidante, antiproliferativa e antibacteriana destes compostos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar a síntese e caracterização de novos compostos organosselênio semi-sintéticos derivados da crisina.
- Realizar a síntese e caracterização de novos compostos organosselênio semi-sintéticos derivados do cardanol.
- Avaliar o potencial antioxidante dos derivados da crisina em ensaios *in vitro*, quanto à capacidade dos mesmos em neutralizar os radicais DPPH e ABTS⁺, potencial de redução do íon férrico (FRAP), captura do radical hidroxila, óxido nítrico, atividade tipo superóxido dismutase e potencial quelante;
- Avaliar o potencial antioxidante dos derivados da crisina em tecidos cerebrais (córtex e hipocampo) de camundongos, em ensaios de espécies reativas e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS);

- Avaliar o potencial antiproliferativo dos derivados da crisina frente a células tumorais pulmonares;
- Avaliar a atividade antibacteriana dos derivados da crisina frente a uma bactéria Gram positiva (*S. aureus*) e uma Gram negativa (*E. coli*);
- Avaliar o potencial antioxidante do derivado do cardanol

2 Revisão Bibliográfica

Para um melhor entendimento sobre os motivos da realização deste trabalho é necessário abordar alguns tópicos relevantes ao mesmo, como a importância de compostos de origem natural, suas diversas aplicações e a importância de realizar modificações químicas nos mesmos.

2.1 Compostos de origem natural

A utilização de compostos naturais é de suma importância para a saúde humana. Uma prova disso é que grande parte dos fármacos utilizados na medicina moderna são isolados diretamente de plantas ou sinteticamente modificados a partir de um componente majoritário de origem natural. Os extratos de plantas medicinais e compostos isolados dos mesmos são usualmente utilizados como uma alternativa para fármacos associados com complicações no tratamento de muitas enfermidades (NEWMAN, CRAGG & SNADER, 2000; BUTLER, 2004).

Segundo Newman e Cragg (2016), através de um estudo realizado sobre produtos naturais desde o ano de 1981 até 2014, constatou-se que aproximadamente 40% dos agentes terapêuticos desenvolvidos aprovados pelo órgão americano FDA (*Food and Drug Administration*) eram produtos naturais, seus derivados, ou produtos naturais sinteticamente mimetizados. As modificações destes compostos têm como principal objetivo a obtenção de novos fármacos, através de alterações de suas características como estabilidade química, oxidativa, térmica e solubilidade (CHEN et al., 2015).

Os produtos de origem vegetal são importantes fontes naturais de substâncias bioativas, como os compostos fenólicos, os quais podem ser relacionados com os benefícios à saúde associados com o consumo destes alimentos. Estas substâncias são produtos do metabolismo das plantas e têm como dentre várias funções protegê-las de qualquer situação adversa. Dentre os diversos grupos de compostos fenólicos, os mais comumente encontrados são os monofenóis

(compostos com um anel benzênico), os ácidos cinâmicos e os flavonoides e seus derivados glicosídicos, sendo possível ver alguns exemplos destes na Figura 3 (GÜLÇİN, 2012).

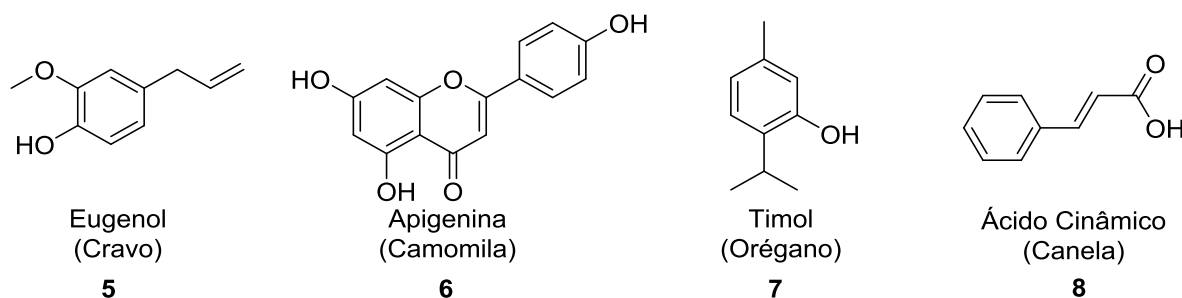


Figura 3 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos presentes em alimentos

Fonte: LENARDÃO et al., 2013; SHARMA, 2013; PALANIAPPAN, 2010.

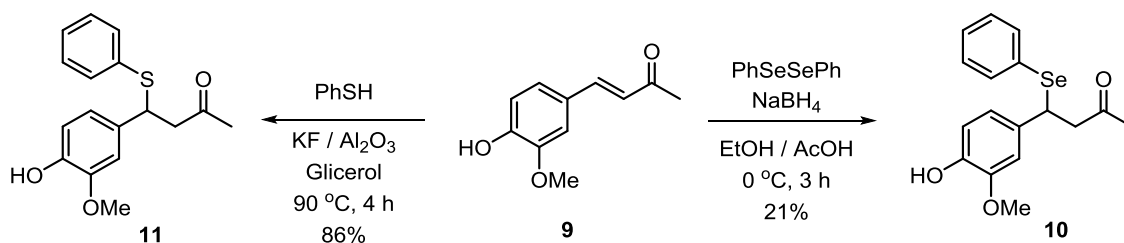
De acordo com Balasundram e colaboradores (2006), os compostos fenólicos apresentam diversas atividades biológicas, como por exemplo, antialérgica, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticancerígena. No entanto, seus principais efeitos são atribuídos à sua capacidade antioxidante. As atividades biológicas apresentadas por estes compostos dependem de alguns fatores, como a concentração destes e o tipo de componentes presentes. Outro fator que pode influenciar é o sinergismo que os compostos fenólicos podem exercer com outras moléculas (GÜLÇİN, 2012).

2.1.1 Modificações Químicas de Compostos de Origem Natural

A química orgânica moderna evoluiu juntamente com a modificação de produtos de origem natural, ocupando-se do estudo químico, identificação e elucidação estrutural de metabólitos secundários em plantas e animais, sendo hoje de suma importância na validação científica e na regulamentação terapêutica de produtos de origem natural e na síntese de novos fármacos através da identificação, isolamento, quantificação e avaliação farmacológica dos princípios ativos em matrizes naturais. Obtendo-se um composto biologicamente ativo, é possível iniciar estudos envolvendo modificações moleculares, que se constituem de métodos para potencializar estas atividades (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998; VIEGAS et al., 2009).

Alguns métodos utilizados na potencialização destas atividades são a inserção de diferentes grupamentos químicos nas estruturas destes compostos ou realizam-se modificações em suas propriedades físico-químicas, como a solubilidade, polaridade e a volatilidade destas moléculas. Deste modo, a síntese de compostos semi-sintéticos é muito importante para as indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos, uma vez que estes compostos podem ser utilizados como fármacos, defensivos agrícolas, conservantes, entre outras finalidades (PLOU, TORRES & KUNAMNENI, 2008).

Um exemplo de trabalho envolvendo a modificação química de compostos de origem natural é o estudo de Martinez e colaboradores (2015), que realizaram a síntese de derivados da deidrozingerona (DHZ) **9** contendo selênio **10** e enxofre **11** em sua estrutura, avaliando em seguida suas atividades antioxidantes (Esquema 1). A DHZ é um derivado da zingerona, que é um composto fenólico presente de forma minoritária no gengibre, uma raiz muito utilizada como ingrediente na culinária mundial, assim como agente terapêutico na medicina por apresentar diversas propriedades farmacológicas. Os compostos sintetizados apresentaram ótimos resultados nos testes de atividade antioxidante *in vitro*, sendo estes duas vezes mais ativos do que DHZ precursora (BALIGA et al., 2012).

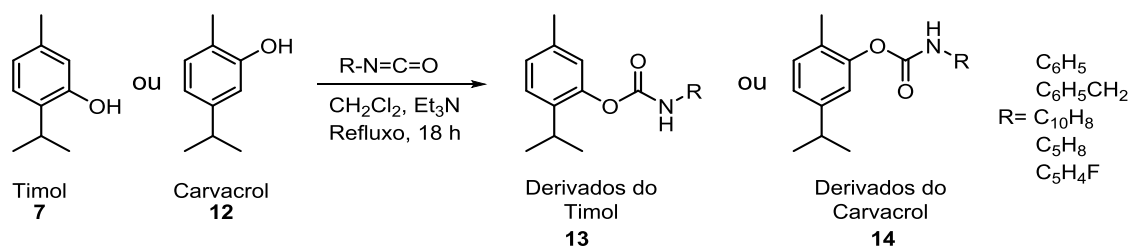


Esquema 1 – Síntese dos análogos da DHZ contendo selênio e enxofre

Fonte: MARTINEZ et al., 2015

A síntese e a avaliação dos efeitos inibitórios da acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) de derivados do timol **7** e do carvacrol **12** contendo diferentes grupamentos carbamato foram descritas por Kurt e colaboradores (2017) (Esquema 2). O timol e seu isômero, o carvacrol, são encontrados em ervas como o tomilho e o orégano e possuem diversas atividades biológicas já descritas, como antioxidante, antiviral, anti-inflamatória, entre outras. Através da inserção destes grupamentos, os autores observaram uma alta potencialização da capacidade

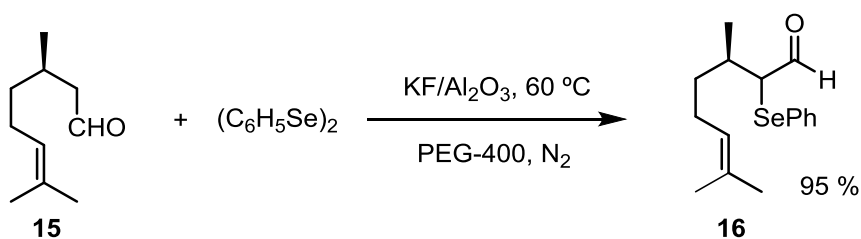
inibitória destas enzimas, as quais estão relacionadas com doenças neurodegenerativas (KORDALI et al., 2008; BEENA, KUMAR & RAWAT, 2013).



Esquema 2 – Síntese de novos compostos derivados do timol e do carvacrol contendo diferentes carbamatos substituídos.

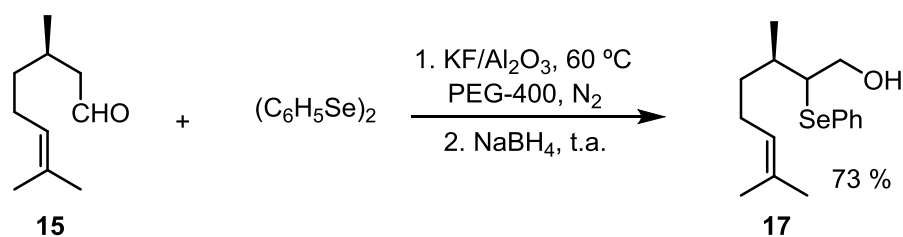
Fonte: KURT et al., 2017

Outro exemplo foi descrito por Victória e colaboradores (2009), no qual os autores realizaram a síntese de 2-fenilselenocitronelal **16** e 2-fenilselenocitronelol **17**, que são derivados do (*R*)-citronelal **15**, um terpeno quiral presente de forma majoritária no óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle), através da adição de um grupamento organocalcogênio a esta molécula (Esquemas 3 e 4). Estes compostos foram avaliados posteriormente quanto às suas propriedades antimicrobianas em comparação às propriedades do composto de origem natural, sendo os resultados apresentados superiores aos do (*R*)-citronelal em si, confirmando assim o efeito positivo da inclusão do grupo fenilselênio na molécula (VICTORIA et al, 2012).



Esquema 3 – Síntese do composto 2-fenilseleno citronelal

Fonte: VICTORIA et al., 2009



Esquema 4 – Síntese do composto 2-fenilselênio citronelol

Fonte: VICTORIA et al., 2009

Muitos tipos de substituintes utilizados na modificação de compostos de origem natural estão sendo pesquisados, no entanto, uma classe que tem chamado a atenção de muitos pesquisadores é a dos organocalcogênios. Este tipo de composto tem sido muito explorado por apresentar diversas propriedades, tais como: utilização em catálises assimétricas, síntese de vários produtos naturais, alvo sintético muito atrativo devido às suas reações seletivas e por apresentar diversas propriedades biológicas, como atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticâncer, antimicrobiana, antinociceptiva, entre outras (ZENI et al, 2001; BRAGA et al., 2006; SAVEGNAGO et al, 2006a; SAVEGNAGO et al, 2006b; OKORONKWO et al., 2008; PERIN et al, 2009; DOERING et al., 2012; LIBERO et al, 2012; VICTORIA et al, 2013).

O papel fundamental que moléculas contendo enxofre e selênio tem em muitas funções biológicas essenciais conduziu muitos grupos de pesquisa a focarem-se no desenvolvimento de novos compostos contendo calcogênios para o tratamento e prevenção de doenças. De fato, estes compostos são promissores candidatos para terapia de câncer devido a suas habilidades de modular múltiplas funções fisiológicas no desenvolvimento de câncer, apresentando atividades antioxidantes, quimiopreventivas ou apoptóticas (MARTINS et al., 2015).

De acordo com Engman e colaboradores (2001), os efeitos antioxidantes dos compostos organocalcogênios estão provavelmente relacionados à sua capacidade de estabilizar radicais livres. Além disso, outro fator que pode explicar esta capacidade é o caráter eletronegativo menor comparado ao oxigênio, o que contribuiria para a transferência de elétrons para radicais peroxila e alcóxila em processos oxidativos.

Uma vez que a indústria farmacêutica tem focado em estudar compostos capazes de neutralizar os efeitos causados pelas espécies reativas, os compostos

contendo selênio têm ganhado atenção pelo fato de possuírem a capacidade de mimetizar a atividade da enzima antioxidante glutathione peroxidase (GPx) contendo selenocisteína. Um exemplo de composto contendo selênio que se encontra em estágios avançados de testes clínicos para poder ser utilizado como fármaco no controle do distúrbio da bipolaridade é o Ebselen **17** (Figura 4) (ANTONY & BAYSE, 2011; MASAKI et al., 2016).

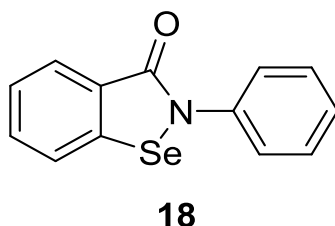


Figura 4 - Estrutura química do Ebselen.

Fonte: ANTONY & BAYSE, 2011

2.2 Flavonoides

Os flavonoides são um grupo de compostos polifenólicos de ocorrência natural encontrados no reino vegetal, amplamente distribuídos nas folhas, sementes, frutos, cascas e flores. O papel exato destes metabólitos secundários não é claro, mas sabe-se que os flavonoides são importantes para a sobrevivência das plantas em seus ambientes, através da regulação do crescimento destas, inibindo ou eliminando ataques de bactérias, vírus e protozoários. Além disso, podem atuar como atrativos visuais nas plantas, repelentes, fotorreceptores e na proteção contra radiação ultravioleta. Aproximadamente 9000 diferentes flavonoides já foram identificados, sendo então o maior grupo de polifenóis de ocorrência natural (AMIC et al., 2007).

A estrutura básica dos flavonoides possui um núcleo flavânico, constituído de dois anéis aromáticos (A e B) ligados a um anel pirano (C) formando normalmente um heterociclo oxigenado, como é possível ver na Figura 5. Biogeneticamente, o anel A dos flavonoides é originado de uma molécula de resorcinol ou floroglucinol sintetizado na rota do acetato, enquanto que o anel B deriva da rota do ácido chiquímico (AMIC et al., 2007).

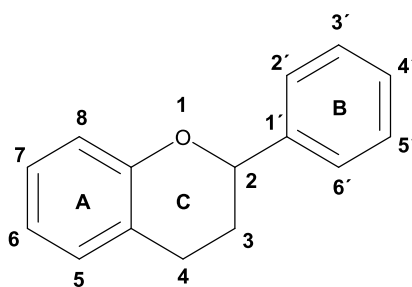


Figura 5 – Estrutura básica de um flavonoide.

Fonte: AMIC et al., 2007.

Os flavonoides diferem entre si pela sua estrutura química e características particulares, sendo as classes majoritárias as antocianinas, os flavonóis, as flavonas, as isoflavonas, os flavan-3-óis, as flavanonas e as antocianidinas, enquanto que os grupos minoritários incluem os diidroflavonóis, os flavan-3,4-dióis, as cumarinas, as chalconas, as diidrochalconas e as auronas (Figura 6) (MATEOS et al, 2014).

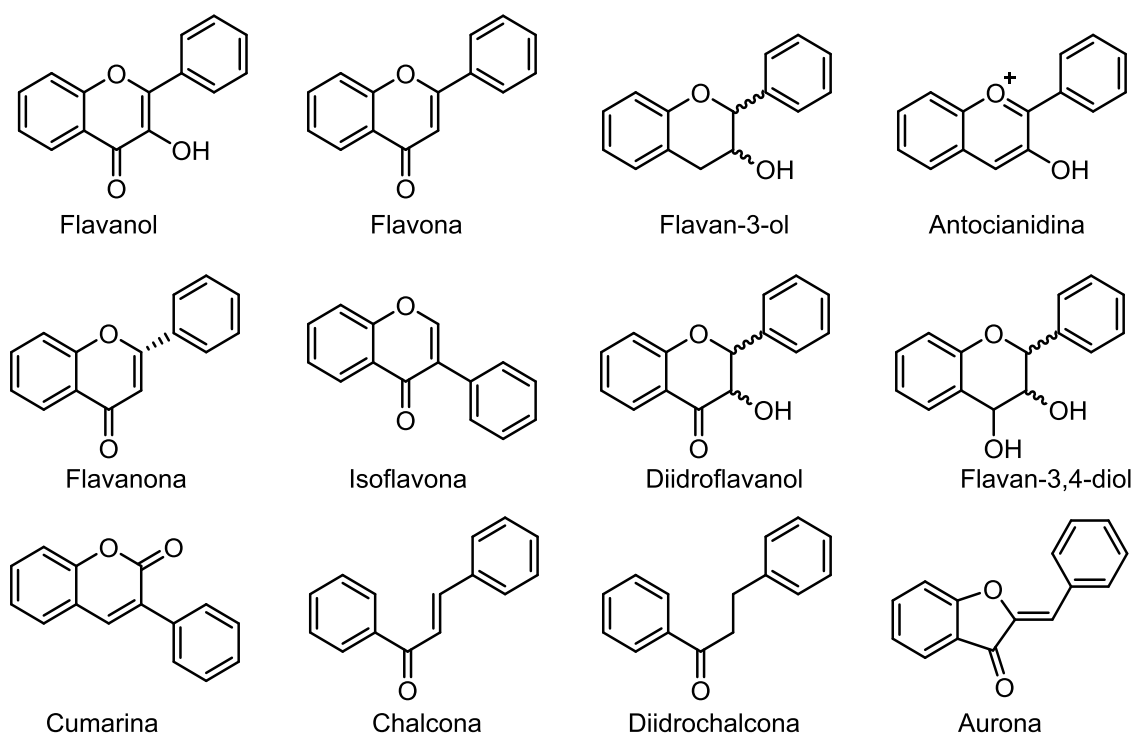


Figura 6 – Classes existentes de Flavonoides

Fonte: MATEOS et al., 2014.

Dentre as classes de flavonoides citadas anteriormente, destacam-se a dos flavonóis, flavonas, antocianidinas e as isoflavonas, que são as mais encontradas nos alimentos. Nestas classes há grandes variações nas estruturas dos compostos, dependendo do nível de hidrogenação, hidroxilação, metilação e sulfonação dos mesmos. Na Figura 7 demonstram-se alguns exemplos de flavonoides pertencentes a estas classes e também onde podem ser encontrados (CERQUEIRA et al., 2007).

Ultimamente, tem-se dado bastante atenção aos compostos bioativos, por estes promoverem benefícios para a saúde humana, como na redução na incidência de algumas doenças degenerativas como câncer e diabetes, redução de fatores de risco de doenças cardiovasculares, atividades antioxidante, antimutagênica, antialérgica, anti-inflamatória e antimicrobiana, entre outras. Devido a estas incontáveis características benéficas à saúde, os pesquisadores têm intensificado a busca por plantas, resíduos da agricultura e de agroindústrias como fonte de compostos fenólicos bioativos (MARTINS et al., 2011).

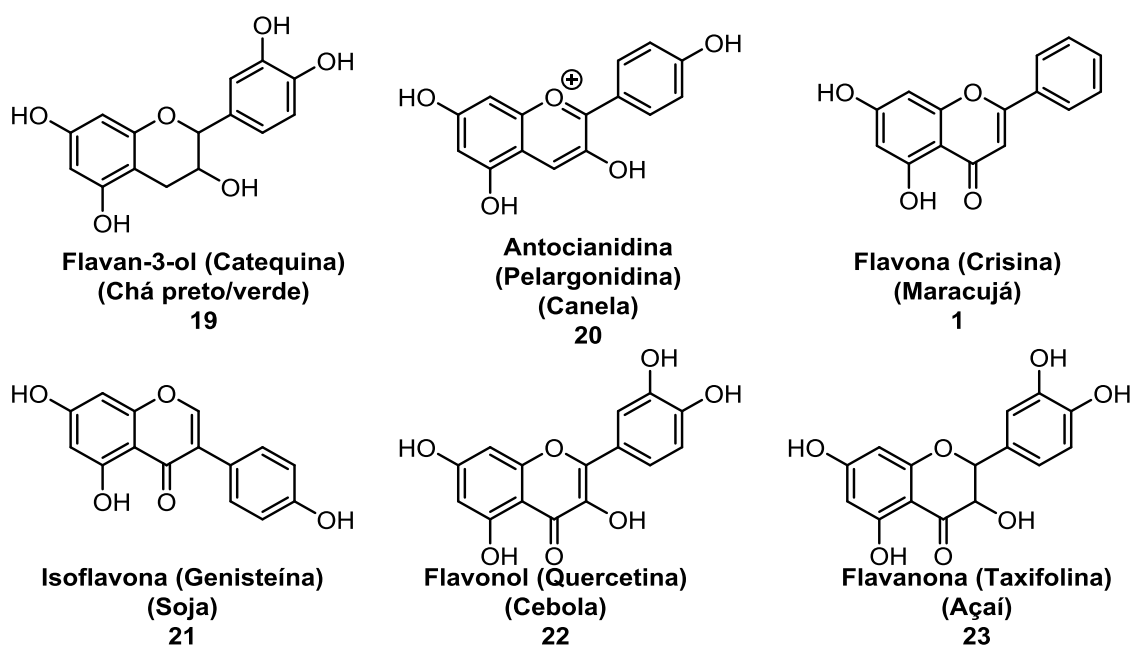


Figura 7 – Exemplos de flavonoides de diferentes classes e alimentos nos quais são encontrados.

Fonte: CERQUEIRA et al., 2007

Muitas atividades biológicas apresentadas pelos flavonoides têm sido relacionadas com as suas capacidades sequestrantes de radicais livres e capacidade antioxidante, mas descobertas recentes indicam que compostos naturais

podem aumentar também o potencial de defesa antioxidante endógeno. Alguns estudos demonstram que flavonoides como a epicatequina e a quercetina (Figuras 8 e 9) induzem um conjunto variado de mecanismos antioxidantes em diversos órgãos ou células cultivadas. Os efeitos de proteção destes compostos estão relacionados com as suas habilidades sequestrantes de ERO e/ou na manutenção dos componentes celulares em seus estados de redução corretos (RODRÍGUEZ-RAMIRO et al., 2011).

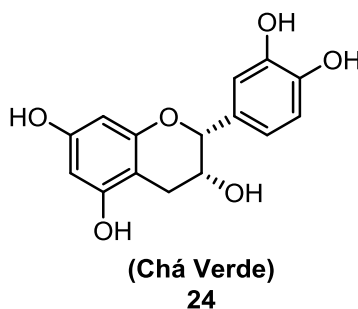


Figura 8 – Estrutura química da (-)-epicatequina.

Fonte: RODRÍGUEZ-RAMIRO et al., 2011

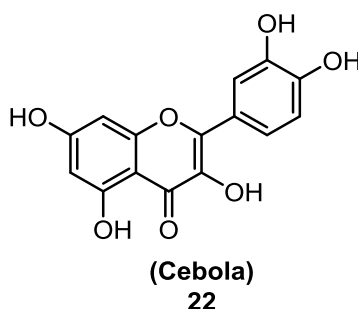


Figura 9 – Estrutura química da quercetina.

Fonte: AMIC et al., 2007

A capacidade de atuarem como antioxidantes é a atividade mais descrita dos flavonoides. Os flavonoides podem exercer efeitos antioxidantes e também anticancerígenos uma vez que podem atuar como sequestrantes de RL, compostos doadores de hidrogênio, eliminadores de oxigênio singlete e quelantes de íons metálicos, que são propriedades atribuídas aos grupos fenólicos ligados aos anéis aromáticos. No entanto, a intensidade da atividade antioxidante e anticancerígena de um flavonoide depende de sua estrutura química. Sabe-se que essa atividade antioxidante é diretamente influenciada pelo número e posição das hidroxilas nos

anéis A e B, e pela dimensão da conjugação entre os anéis B e C (MARCHAND, 2002; AMIC et al., 2007).

O câncer se refere a um grupo de doenças associadas a um distúrbio no controle de crescimento e metabolismo de células, que atualmente afeta aproximadamente 13 milhões de pessoas todos os anos e anualmente causa 7,6 milhões de mortes ao redor do mundo. O desequilíbrio na proliferação celular é uma característica primária de células cancerígenas e, deste modo, qualquer molécula capaz de inibir a proliferação de células cancerígenas pode ser útil como um potencial agente quimiopreventivo (MATEOS et al., 2014).

De acordo com Lautraite e colaboradores (2002), os flavonoides podem ter também um efeito benéfico, pelo seu impacto sobre a bioativação de carcinógenos. A maioria dos compostos carcinogênicos requer uma transformação ao metabolizar enzimas em uma forma mais reativa capaz de se ligar ao DNA. Se a mutação resultante não for reparada, isto pode iniciar a promoção de processos carcinogênicos. O grupo químico reativo introduzido pelas enzimas (ou o carcinógeno original) pode ser destoxificado através da conjugação por enzimas que os metabolizam em um composto solúvel em água, que pode então ser eliminado do organismo.

É comumente aceito que os flavonoides previnem, retardam ou até mesmo curam o câncer. Deste modo, é possível encontrar relatos na literatura associando flavonoides encontrados em bebidas (como chás e vinhos), frutas, hortaliças e ervas, com o câncer. Os flavonoides podem afetar o câncer por meios diferentes, mas nem sempre conhecidos. Eles podem prevenir a mutação do DNA que ocorre em genes importantes, como os oncogenes e os genes supressores de tumores, prevenindo assim a iniciação ou progressão do câncer (FERREIRA et al., 2010).

Le Marchand e colaboradores (2000) conseguiram encontrar uma correlação inversa entre o consumo de flavonoides através da dieta e a ocorrência subsequente de câncer de pulmão. Já em 2008, Kale, Gawande e Kotwal verificaram também que o consumo de quercetina, através da ingestão de cebola e maçã, foi inversamente associado com o risco de câncer de pulmão em um estudo envolvendo 9959 homens e mulheres finlandeses com idades entre 15 e 99 anos, sendo a cebola particularmente eficaz frente a carcinomas de células escamosas.

Segundo o Fundo Mundial de Pesquisa do Câncer e o Instituto Americano de Pesquisa do Câncer (em inglês: *World Cancer Research Fund and The American Institue for Cancer Research*) (1997, 2009), existem muitos tipos diferentes de câncer, no entanto, câncer de mama, câncer de pulmão, câncer colorretal e de próstata somam juntos em torno de metade de todos os novos casos. Muitos estudos indicam que somente 5–10% dos casos de câncer são determinados geneticamente, sendo que os demais casos são ligados a fatores de riscos ambientais, os quais incluem vários aspectos envolvendo o consumo de alimentos.

Acredita-se que 30 – 40% dos casos de câncer poderiam ser prevenidos através de uma dieta apropriada, sabendo-se que um consumo frequente de vegetais ajuda a prevenir o início e a progressão do câncer. Diversos relatos na literatura afirmam que o consumo de vegetais ricos em compostos polifenólicos exercem efeitos protetores frente ao desenvolvimento de câncer, particularmente no trato gastrointestinal, onde eles estarão em concentrações maiores (BROWN et al., 2014).

2.2.1 Crisina

A crisina **1** (5,7-diidroxiflavona, Figura 10) é um flavonoide natural da classe das flavonas, comumente encontrada em diversos alimentos, como no maracujá, na camomila, no mel, no cogumelo shimeji-preto, entre outros. Atualmente, este flavonoide tem sido amplamente estudado, devido as suas múltiplas atividades biológicas, tais como anti-inflamatória, anticâncer, antioxidante, antibacteriana, entre outras (LAPIDOT, WALKER & KANNER, 2002; BAE et al, 2011; LI et al., 2011; WANG et al., 2011).

No entanto, ao contrário de outros flavonoides, os benefícios terapêuticos da crisina ainda não são tão esclarecidos pela literatura devido a aspectos como a sua baixa solubilidade, absorção intestinal relativamente baixa e a sua biodisponibilidade no organismo, o que limita significativamente as suas possíveis aplicações. Estudos envolvendo a biodisponibilidade mostram que a maior parte da crisina absorvida foi detectada no sangue e no sistema vascular como ácido glucurônico e ésteres conjugados devido às hidroxilas desprotegidas das posições 5 e 7 da crisina (Figura 10) (NABAVI et al., 2015).

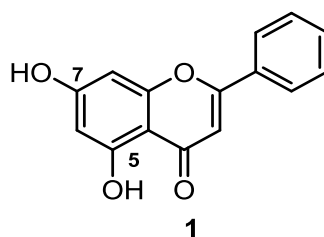


Figura 10 – Estrutura química da crisina indicando as hidroxilas nas posições 5 e 7

Fonte: WANG et al., 2011

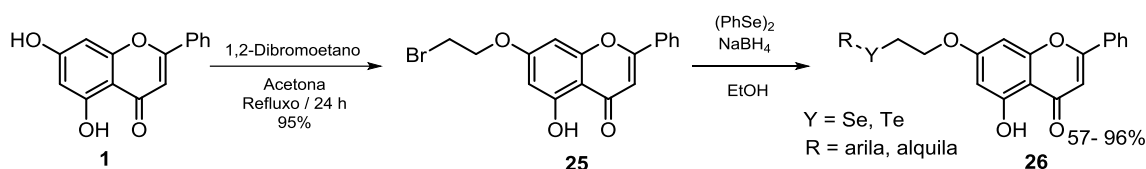
Como se sabe, a biodisponibilidade é a chave considerando os possíveis efeitos biológicos possíveis *in vivo*. Por estas razões, muitos estudos estão sendo realizados por pesquisadores ao redor do mundo para sintetizar novos compostos análogos e conjugados para obtenção de compostos com eficácia e seletividade potencializados para desenvolver fármacos clínicos mais ativos. Os pesquisadores esperam que as modificações na estrutura básica da crisina possam resultar em uma alteração marcante em suas funções. Enquanto isso, as diversas atividades biológicas e mecanismos de ação da crisina têm sido extensivamente investigados (LIU et al, 2014).

Um trabalho recente, publicado por Laishram e colaboradores (2015), avaliou a capacidade citotóxica de um extrato natural de *Scutellaria discolor* (uma planta da família da menta) frente a células cancerígenas cervicais. Os autores descobriram que o extrato atenuou o crescimento e sobrevivência das células cancerígenas sem causar muita toxicidade para as células normais. A crisina foi detectada não somente como o componente majoritário, mas também como o principal princípio ativo responsável pela atividade antiproliferativa do extrato de *S. discolor*.

Por sua vez, um grupo de pesquisa brasileiro (FILHO et al., 2015) desenvolveu um estudo avaliando a capacidade antidepressiva da crisina em camundongos. Os autores constataram que o tratamento com crisina apresentou um efeito antidepressivo, além de prevenir alterações nos níveis de corticosteronas e no sistema antioxidante dos animais.

Com o intuito de potencializar as atividades biológicas da crisina, diversos grupos de pesquisa realizam a síntese de compostos análogos a ela, como por exemplo, o trabalho realizado por Fonseca e colaboradores (2015) que sintetizaram 11 novos compostos análogos à crisina contendo grupamentos organosselênio e organotelúrio e suas estruturas em bons a ótimos rendimentos (57–96%) e avaliaram

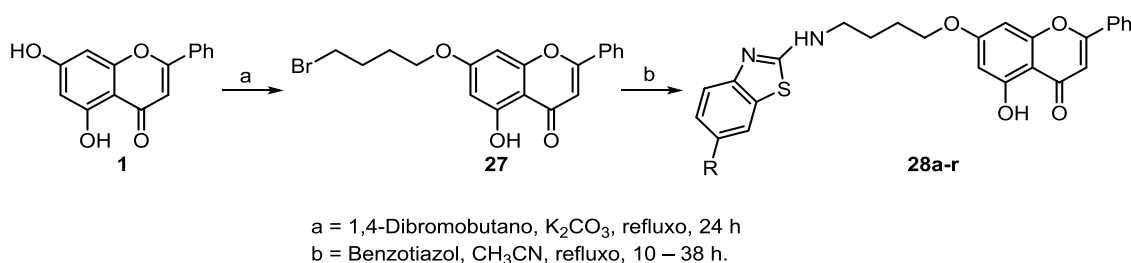
a capacidade antioxidante *in vitro* destes novos compostos (Esquema 5). Os autores realizaram testes como a avaliação da capacidade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS⁺ e o potencial de inibição do íon férrico (FRAP), comparando os resultados com os obtidos com a crisina. Os resultados demonstraram que alguns destes compostos apresentaram atividades antioxidantes superiores às da crisina em alguns testes.



Esquema 5 – Síntese de derivados da crisina contendo grupamentos organosselênio e organotelúrio

Fonte: FONSECA et al., 2015

Outro exemplo de síntese de análogos da crisina foi descrito por Mistry e colaboradores (2015), onde os autores, através de uma metodologia similar à descrita por Fonseca e colaboradores (2015), inseriram na hidroxila da posição 7 da molécula de crisina uma cadeia alifática com um átomo de bromo em seu final. Após, reagiram esta molécula intermediária com aminobenzotiazóis com diferentes substituintes em suas estruturas, chegando a um total de 18 novas moléculas em rendimentos considerados bons (50–67%) (Esquema 6). As moléculas foram avaliadas quanto a sua capacidade antioxidante nos ensaios *in vitro* de capacidade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS⁺, e sua atividade antiproliferativa frente a cepas de células cancerígenas cervicais e ovarianas.

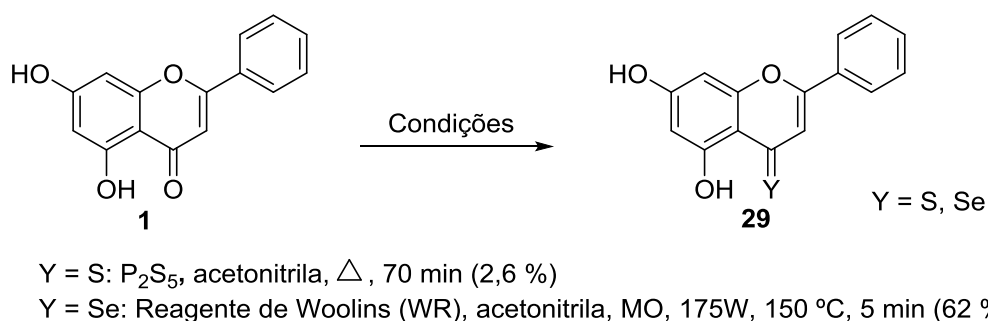


Esquema 6 – Síntese de derivados da crisina contendo grupamentos benzotiazólicos

Fonte: MISTRY et al., 2015

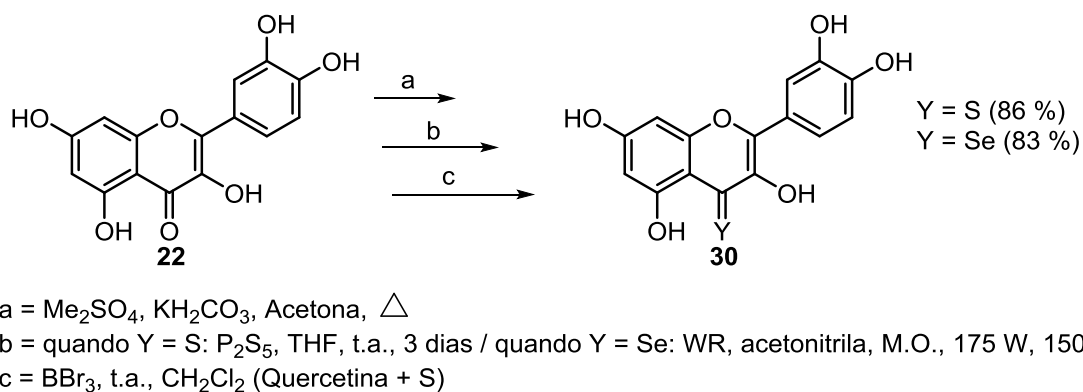
Através destes testes, os autores puderam observar que a inserção destes grupamentos à molécula da crisina foi capaz de potencializar as suas atividades biológicas. Os compostos apresentaram bons resultados nos testes antioxidantes apresentando uma eficiente capacidade de sequestrar os radicais DPPH e ABTS⁺. Além disso, os compostos também se mostraram promissores agentes anticancerígenos frente às células cancerígenas cervicais quando comparados com fármacos utilizados como controle.

Martins e colaboradores (2015), diferente dos trabalhos relatados anteriormente, realizaram a síntese de novos compostos derivados da crisina e da quercetina sem modificar qualquer hidroxila das moléculas em questão. Os autores conseguiram inserir átomos de enxofre e selênio no lugar do átomo de oxigênio da carbonila presente no anel C das moléculas (Esquemas 7 e 8) para, posteriormente, realizar ensaios para avaliar suas propriedades antiproliferativas frente a diversas cepas de células cancerígenas humanas. Os compostos contendo o átomo de selênio, principalmente a molécula derivada da crisina, apresentaram ótimos resultados nos testes realizados quando comparados àqueles contendo enxofre, à molécula precursora e a alguns compostos utilizados como padrão.



Esquema 7 – Síntese de derivados da crisina contendo átomos de enxofre e selênio

Fonte: MARTINS et al., 2015



Esquema 8 – Síntese de derivados da quercetina contendo átomos de enxofre e selênio

Fonte: MARTINS et al., 2015

2.3 Cardanol

A obtenção de produtos alimentícios de origem vegetal está, normalmente, relacionada com uma produção de resíduos em larga escala e o descarte destes resíduos gera um grande problema ambiental. No entanto, estes materiais também podem ser importante fonte de substratos orgânicos renováveis. Ao reutilizar estes compostos transformando-os em produtos químicos de grande valor, realiza-se uma ação duplamente “verde”, uma vez que se reciclam os resíduos e elimina-se uma onerosa etapa de descarte dos mesmos (AMORATI et al., 2011).

A cultura castanheira é uma das principais atividades socioeconômicas do nordeste brasileiro, que é a maior região produtora de castanha de caju. O líquido da casca da castanha de caju (LCC) representa aproximadamente 25% do peso total da castanha e como é um subproduto deste agronegócio, é considerado de baixo valor em termos econômicos (MAIA, 1978; MAZZETTO et al., 2009).

O LCC é constituído por uma mistura de compostos hidrocarbonetos fenólicos de cadeias alifáticas longas, como o ácido anacárdico **2a-d**, cardanol **3a-d**, cardol **4a-d** e outros. No entanto, a composição do LCC varia conforme o método de extração utilizado; por exemplo, o LCC natural (extração a frio com uso de solventes) contém entre 60-65% de ácido anacárdico, 15-20% de cardol, 10% de cardanol, e uma baixa porcentagem de outras substâncias (KUMAR et al., 2002).

Por outro lado, no método de extração do LCC técnico (extração a quente), o processo térmico leva à descarboxilação do ácido anacárdico formando o cardanol, deixando assim a constituição do LCC com 60-65% de cardanol, 15-20% de cardol, 10% de material polimérico e o restante de outras substâncias. Todos estes componentes do LCC possuem em comum a presença de uma grande cadeia hidrofóbica, diferindo no grau de insaturação, sendo aproximadamente 5-8% saturado, 48-49% de monoinsaturado, 16-17% de di-insaturado e 29-30% de tri-insaturado (LUBI & THACHIL, 2000; SETIANTO et al., 2009).

Os componentes principais do LCC apresentam em sua estrutura grupos polares e apolares, apresentando, portanto, comportamento tanto hidrofílico quanto hidrofóbico. O comportamento anfipático destes compostos permite que eles atravessem membranas plasmáticas, potencializando suas funções biológicas (CORREIA et al., 2006).

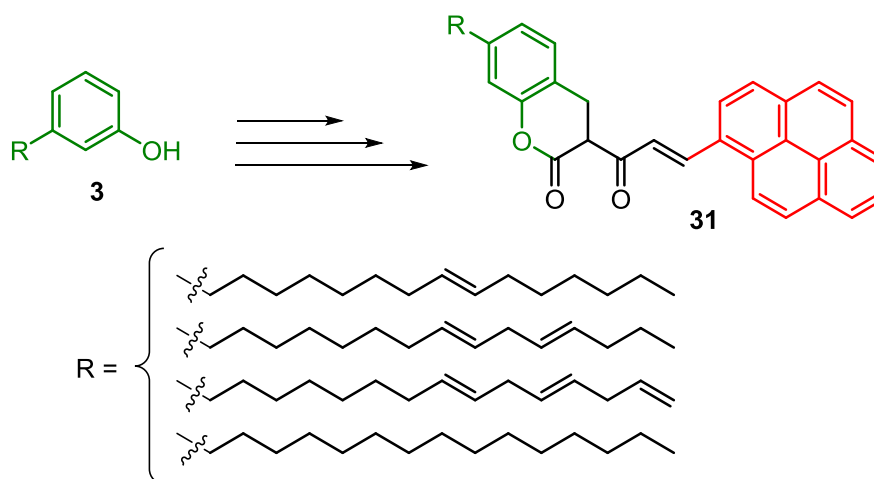
Estes compostos têm atraído a atenção de muitos pesquisadores e empresas farmacêuticas por apresentarem diversas atividades biológicas, como por exemplo, atividade moluscicida (KUBO et al., 1986), antioxidante (AMORATI et al., 2001), bactericida (JÚAREZ et al., 2007), anticancerígena (HEMSHEKHAR et al, 2011), entre outras. No entanto, dentre estes componentes, o ácido anacárdico é o grande responsável pela maior parte destas atividades, sendo o cardol e o cardanol mais utilizados pela indústria química na preparação de resinas, revestimentos, surfactantes e dispersantes de pigmentos para tintas à base de água (HEMSHEKHAR et al, 2011).

Através da purificação do LCC por destilação à vácuo é possível obter o cardanol como um óleo amarelado. Este óleo é composto por quatro tipos de compostos fenólicos que diferem entre si de acordo com o seu grau de insaturação na cadeia lateral, sendo estes o cardanol saturado, o mono-insaturado, o di-insaturado e o tri-insaturado. Estes compostos apresentam boa flexibilidade funcional devido às três principais características estruturais e químicas. A primeira é o grupo reativo fenólico –OH, o qual oferece flexibilidade sintética. A segunda é a cadeia *meta* alquílica não-isoprenóide, a qual atribui anfifilicidade e característica lipídica. E por último, o anel aromático que permite a interação com outras moléculas aromáticas e funcionalizações (BALACHANDRAN et al., 2013).

Ainda de acordo com Balachandran e colaboradores (2013), por estas características o cardanol é considerado um bom precursor de modificações químicas para geração de muitos monômeros anfifílicos e funcionais. Diversos grupos funcionais podem ser anexados ao grupo fenólico do cardanol para derivatizações posteriores. Por esta razão, o cardanol é mantido como um bloco construtor na síntese de produtos químicos aplicados na química fina, assim como na síntese de materiais e polímeros funcionais.

Devido à dificuldade de sintetizar compostos fenólicos com longas cadeias alifáticas na posição *meta*, o cardanol hidrogenado representa uma possibilidade simples e prática para elaboração de diversos derivados com diferentes propósitos (por exemplo: antioxidantes, retardantes de chamas, agentes a prova d'água, inibidores de goma para gasolina) (ATTANASI et al., 2006).

Um exemplo de utilização do cardanol na síntese de outros compostos foi o trabalho realizado por Lalitha e colaboradores (2014), no qual os autores realizaram a síntese de cumarinas funcionalizadas derivadas do cardanol com o intuito de formar géis, os quais foram utilizados em testes para avaliação das suas propriedades antiproliferativas frente a células tumorais da próstata (Esquema 9). Através destes ensaios os autores observaram que os compostos não tiveram nenhum efeito sobre os fibroblastos, mas foram eficazes contra a proliferação das células cancerígenas.



Esquema 9 – Síntese de cumarinas multifuncionalizadas derivadas do cardanol

Fonte: LALITHA et al., 2014

Já Wang, Kalali e Wang (2015), realizaram um estudo sobre a incorporação de um composto sintetizado por eles à base de cardanol renovável com camada modificada com dois hidróxidos para atuar como surfactante em uma resina epóxi, a qual foi utilizada como retardante de chamas (Figura 11). Para isso, inicialmente realizaram a reação entre o cardanol e o 1,4-butano sultona, em etanol na presença de *terc*-butóxido de potássio ($t\text{BuOK}$) sob temperatura de refluxo. Nesta reação ocorreu a abertura do anel do 1,4-butano sultona, que foi então acoplado à estrutura do cardanol, formando o cardanol-BS. Este composto foi então incorporado à resina epóxi com camadas de hidróxidos duplos através de diferentes técnicas, como moinho de bolas e ultrassonicação, em diferentes concentrações. O produto foi avaliado quanto as suas propriedades retardantes de chamas e comprovou-se que a inserção do cardanol, de fato, aumentou a propriedade retardante de chama da resina.

O cardanol também foi utilizado por Vaithilingam, Jayanthi e Muthukaruppan (2017) na síntese de um monômero de benzoxazinas com um núcleo pireno que foi inserido em nanotubos (Esquema 9). Os autores descobriram que esta adição aumentou a estabilidade térmica destes nanocompósitos. Além disso, os nanotubos apresentaram uma boa atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas e também propriedades de fotoluminescência e absorção. Deste modo, podendo ser aplicado nas áreas eletrônicas e ópticas.

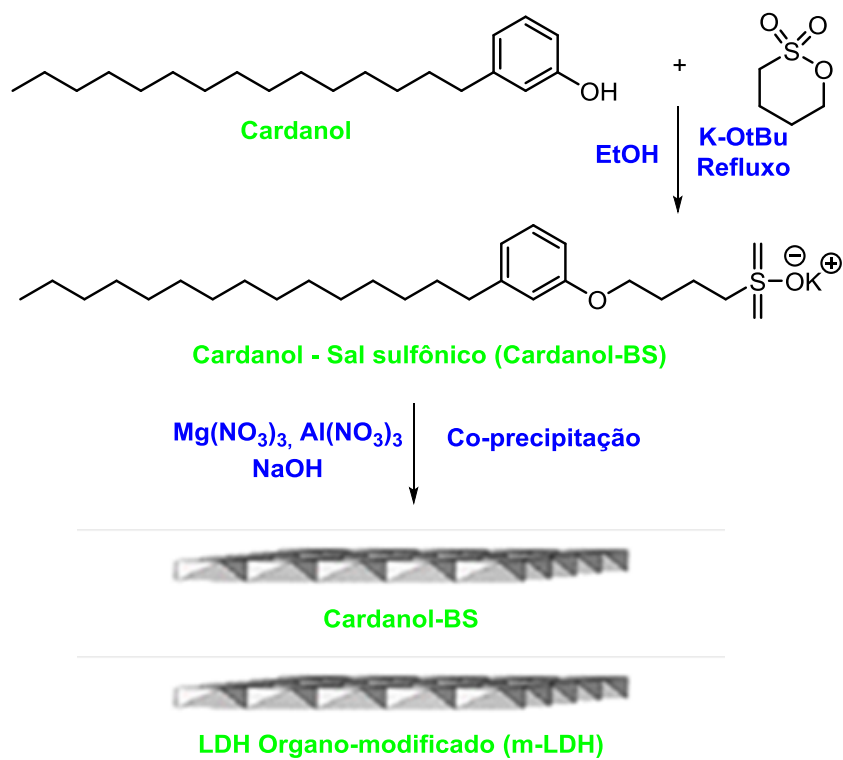
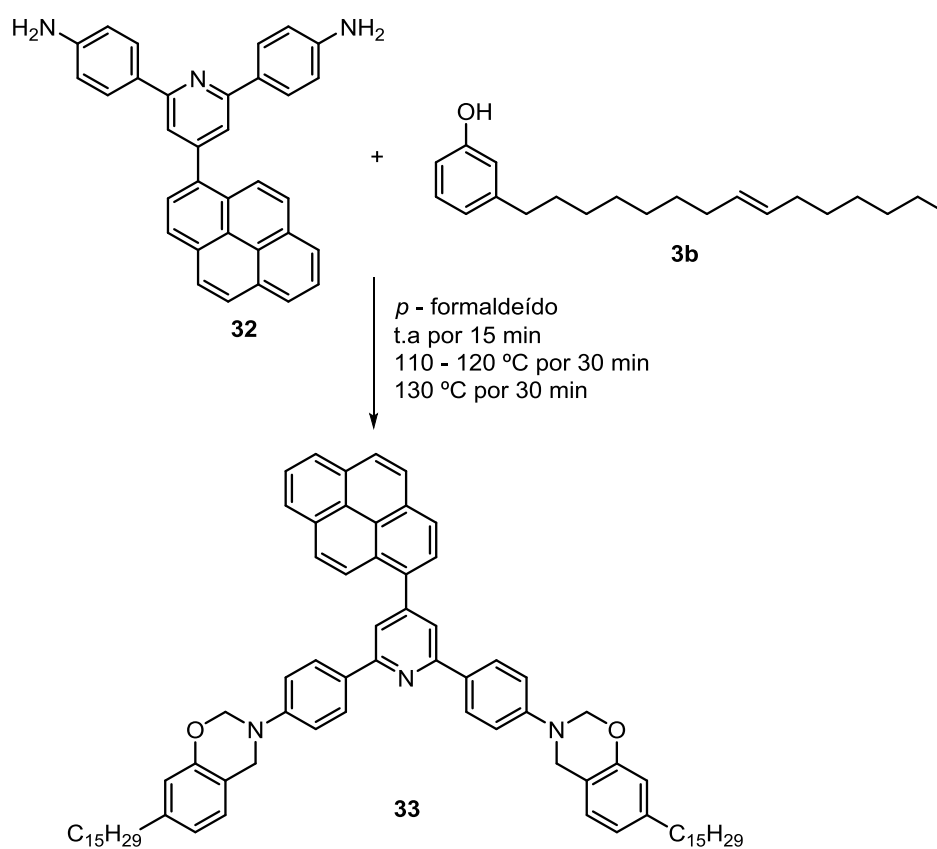


Figura 11 – Síntese do Cardanol-BS para incorporação em Resina Epóxi

Fonte: WANG, KALALI & WANG, 2015



Esquema 10 - Síntese de benzoxazinas baseadas em cardanol com núcleo de pireno

Fonte: VAITHILINGAM, JAYANTHI & MUTHUKARUPPAN, 2017

3 Manuscrito I

Neste capítulo é exposto, na forma de artigo científico, o estudo relacionado à modificação da molécula de crisina, um importante flavonoide encontrado em diversas frutas e hortaliças, inserindo na mesma dois grupamentos orgânicos contendo selênio, através de uma metodologia que utiliza catálise de cobre e ultrassom como fonte de energia e preservando a estrutura natural da mesma.

Este trabalho teve como objetivo modificar a molécula de crisina mantendo sua estrutura básica a fim de potencializar suas propriedades biológicas pela presença de grupamentos organosselênio na mesma, uma vez que os compostos organocalcogênios, assim como a própria crisina, já possuem diversas atividades biológicas descritas na literatura.

A parte da síntese foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – LASOL, da UFPel, enquanto que os testes biológicos realizados em conjunto com os o Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN), o Laboratório de Biotecnologia do Câncer, ambos pertencentes ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) da UFPel.

O trabalho foi publicado na revista *Ultrasonics Sonochemistry* **2017**, 39, 827-836.

Ultrasound-promoted copper-catalyzed synthesis of bis-arylselanyl chrysin derivatives with boosted antioxidant and anticancer activities

Sergio F. Fonseca,^a Nathalia B. Padilha,^a Samuel Thurow,^a Juliano A. Roehrs,^a Lucielli Savegnago,^{b,*} Maurice N. de Souza,^b Mariana G. Fronza,^b Tiago Collares,^c Julieti Buss,^c Fabiana K. Seixas,^c Diego Alves,^a Eder J. Lenardão^{a,*}

^a Laboratório de Síntese Orgânica Limpa - LASOL - Universidade Federal de Pelotas - UFPel - P.O. Box 354, 96010-900, Pelotas – RS, Brazil.

^b Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN – Universidade Federal de Pelotas – UFPel, 96010-900, Pelotas – RS, Brazil

^c Laboratório de Biotecnologia do Câncer – Universidade Federal de Pelotas – UFPel, 96010-900, Pelotas – RS, Brazil.

Abstract: Herein we report the use of ultrasonic irradiation (US) in the synthesis of six new semi-synthetic selenium-containing chrysin derivatives by a simple and effective methodology utilizing CuI as catalyst, in good to excellent yields (60-89%). It was observed that US accelerates the reaction compared to conventional heating with excellent selectivity for diselenylated products. Compounds were tested for their antioxidant and anticancer activities *in vitro* and it was observed that the presence of selenium in the A-ring of chrysin enhanced both antioxidant and anticancer properties. Semi-synthetic 6,8-bis(*o*-tolylselanyl)-chrysin **3b** has the best radical scavenging activity of DPPH ($I_{\max}$: 39.79 μ M) and ABTS⁺ (IC₅₀: 6.5 μ M) radicals. Similarly, in the Reactive Species (RS) assay, **3b** showed high antioxidant activity in mice cortex (IC₅₀: 5.67 μ M), whereas 6,8-bis(*p*-anisoylselanyl)-chrysin **3c** was the more active in the hippocampus (IC₅₀: 5.63 μ M). The Se-chrysin derivatives were effective in prevention of lipid peroxidation, highlighting 6,8-bis(*p*-fluorophenylselanyl)-chrysin **3d** in cortex (IC₅₀: 0.54 μ M) and **3b** in hippocampus (IC₅₀: 0.27 μ M). In addition, **3d** was effective in inhibiting human lung adenocarcinoma (A549) cells growth, with a IC₅₀ of 19.9 μ M after 72 h of treatment, while 6,8-bis(*p*-anisoylselanyl)-chrysin **3c** presented the higher antiproliferative activity after 48 h of treatment (IC₅₀ of 41.4 μ M).

Keywords: sonochemistry, anticancer, oxidative stress, flavonoids, organoselenium.

1 Introduction

Flavonoids and their derivatives present many well-known biological activities that are desired for human health, which can be explained by the presence of aromatic moieties and oxygenated groups in their structure [1]. Many research groups around the world are focused on this kind of compound as they act through physiological mechanisms in a large number of signaling pathways involved in many diseases [2].

Among flavonoids, it is worth noting chrysin (5,7-dihydroxyflavone, **1**) (Figure 1), which is a naturally occurring flavone present in the blue passion (*Passiflora caerulea*) and the Indian trumpet flowers (*Oroxylum indicum*), as well as in edible items like mushroom, honey and propolis [3]. Chrysin **1** has been shown to be a very active flavonoid, exhibiting a vast number of pharmacological activities, including anticancer [4], anti-mutagenic [5], bactericidal [6] and antioxidant [7]. Of particular importance, Mercer et al. [8] suggested that chrysin can protect neurons from oxidative injury and apoptosis. Additionally, chrysin exhibited tumor-specific antiproliferative effect in malignant glioma cells (U87-MG and U-251) [9].

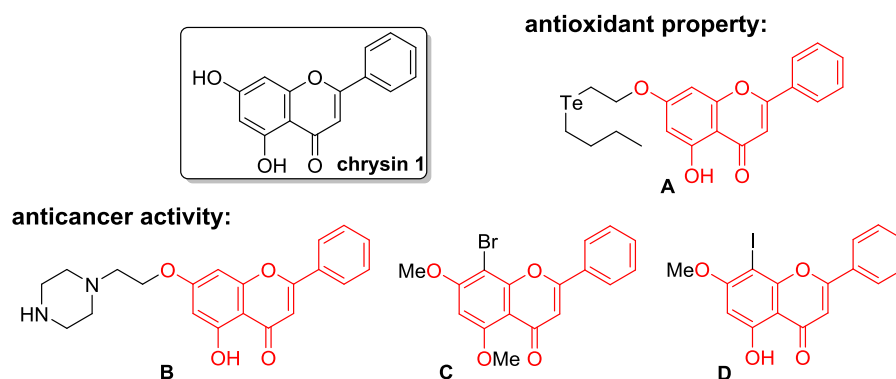


Figure 1. Chrysin **1** and chrysin derivatives with biological activity.

In recent years, various attempts have been made in order to synthesize chrysin derivatives/analogues, aiming to increase its pharmacological properties [10-15]. For instance, our group recently published the synthesis of telluride **A**, a powerful antioxidant *in vitro*, superior to chrysin itself [11]. The piperazine-containing chrysin **B** presented activity against HCT-116, Hela, DU-145, K562, and SGC-7901 cancer cells [14]. The bromo-containing methoxylated derivative **C** is a potent anti HT-29

tumor cells, while the iodo-substituted analogue **D** was active against SGC-7901 tumor cells [15] (Figure 1).

Since Luche's seminal works on organometallic chemistry in the eighties [16], the use of ultrasonic irradiation (US) in organic synthesis has experienced an increasing in recent years, both using US cleaner bath and sonicator probes [17]. US is a non-conventional energy source that is able to accelerate reactions due the cavitation, which leads to turbulent flow of the liquid phase and enhanced mass transfer in the system [18-19]. Reactions under US are considered environmentally friendly, being less energy consumer and generating fewer side products [20-21]. The use of the beneficial effects of US in the chemistry of natural products, on the other hand, is mainly on the US-assisted extraction (USAE) processes [22]. The US-promoted transesterification of vegetable oils to prepare biodiesel has been also subject of study [23]. However, the chemical modification of natural occurring compounds to prepare boosted bioactive semi-synthetic molecules using US remains underexplored [17,24].

Many of the previous studies on the modification of the chrysin's structure involve the reaction in one of the phenolic hydroxyl groups of the A-ring. However, it is well known that this group is responsible by most of the biological activities of flavonoids and other natural products, once it can react with free radicals in the organism and protect DNA and proteins from oxidative damage [12]. Thus, the development of methodologies that preserve the hydroxyl groups of chrysin is desirable and could generate even more potent semi-synthetic antioxidants and antiproliferatives.

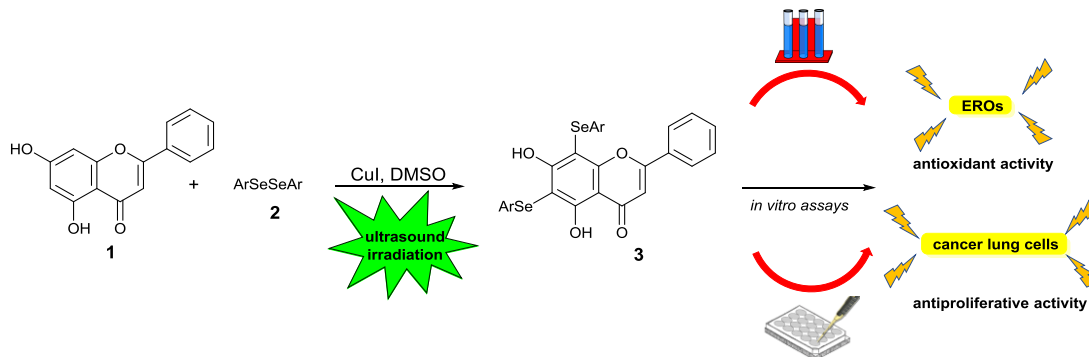
Organoselenium compounds are interesting due their chemical properties, being used in selective reactions [25] and asymmetric catalysis [26]. Besides, the number of biological activities associated with lack of toxicity, are also attractive features of this class of compounds [27-32].

Advances in science have allowed elucidating the oxidative damage contribution to onset and progression of several diseases [33]. Such evidence has driven the search for novel antioxidant molecules as an alternative to prevention and pharmacotherapy [34]. In this context organoselenium compounds are attractive, due their radical scavenging activity and enzymatic decomposition of oxygen metabolites [35].

The insertion of an organoselenium group in bioactive moieties by isosteric replacement has shown to enhance their original biological and pharmaceutical properties. This improvement can be attributed mainly due to their ability to stabilize free radicals [36-38], boosting the antibacterial, antifungal [39], antioxidant [40-41] and antidepressant activities of the natural compounds [42-43].

Moreover, several studies have reported the use of selenium-containing heterocyclic compounds as potent chemopreventive and chemotherapeutic agents against various types of cancer [44]. The mechanism behind selenium function is dual, either *via* a pro-oxidant pathway, as seen in cytotoxicity and apoptosis of cancer cells, or *via* an antioxidant pathway, as proposed in cancer chemoprevention [45].

The promising biological activities of both organoselenium compounds and chrysin, indicates that the molecular hybridization of these molecules could be an interesting strategy for the development of new multifunctional drugs. The objective of this work was to synthesize new Se-derivatives of chrysin using ultrasonic irradiation and investigate their antioxidant and anticancer properties *in vitro* (Scheme 1).



Scheme 1. General scheme of the work.

2 Experimental

2.1 General Remarks

The TLC used to follow the reactions were carried out on Merck silica gel (60 F₂₅₄) by using UV light as visualizing agent and 5% vanillin in 10% H₂SO₄ and heat as developing agents. Sigma Aldrich silica gel (particle size 230-400 mesh) was used for flash chromatography. Proton nuclear magnetic resonance spectra (¹H NMR) were obtained at 400 MHz on a Bruker DPX 400 spectrometer. Spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO solutions. Chemical shifts are reported in ppm,

referenced to tetramethylsilane (TMS) as the external reference. Hydrogen coupling patterns are described as singlet (s), doublet (d), double doublet (dd), double triplet (dt), double double doublet (ddd), triplet (t), quintet (qui), sextet (sex), multiplet (m), and broad singlet (bs). Coupling constants (*J*) are reported in Hertz. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra (¹³C NMR) were obtained at 100 MHz on a Bruker DPX 400 spectrometer. Chemical shifts are reported in ppm, referenced to the solvent peak of CDCl₃ or DMSO.

The ultrasound-promoted reactions were performed using a Cole Parmer-ultrasonic processor Model CPX 130, with a maxim power of 130 W, operating at amplitude of 60% and a frequency of 20 kHz. The temperature of the reaction under US was monitored using a Incoterm digital infrared thermometer Model Infraterm (Brazil).

High-resolution mass spectra (HRMS) were obtained for all compounds on a LTQ Orbitrap Discovery mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific). This hybrid system meets the LTQ XL linear ion trap mass spectrometer and an Orbitrap mass analyzer. The experiments were performed via direct infusion of sample (flow: 10 µL/min) in the positive-ion mode using electrospray ionization. Elemental composition calculations for comparison were executed using the specific tool included in the Qual Browser module of Xcalibur (Thermo Fisher Scientific, release 2.0.7) software. Mass spectra (MS) were measured on a Shimadzu GCMS-QP2010 mass spectrometer. Melting point (mp) values were measured in a Marte PFD III instrument with a 0.1 °C precision.

2.2 General Procedure for the Synthesis of Bis-arylselanyl Chrysin **3a-f**

Method A (Ultrasound-promoted): To a 10 mL round bottomed glass vial containing a solution of the appropriate diorganyl diselenide **2a-f** (0.75 mmol) in DMSO (2.0 mL), chrysin **1** (0.127 g; 0.5 mmol) and CuI (5 mol%, 0.0048 g) were added. The US probe was placed in the reaction vial, which was sonicated (20 KHz, 60% of sonic amplitude) for the time indicated in Table 2. The reaction temperature was monitored and after 5 min it was around 120-130 °C, which was maintained until the end of the reaction. The reactions were monitored by TLC in order to evaluate the starting materials' consumption. After that, the reaction mixture was received in NH₄Cl saturated solution (15 mL), extracted with ethyl acetate (3 × 15 mL), dried over

MgSO₄ and concentrated under vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel by removing the unreacted ArSeSeAr **2** using hexanes and then 80:20 hexanes/ethyl acetate as eluents to remove product **3**. **Method B** (Microwave-promoted): The glass tube contained the above reaction mixture was sealed and placed in a CEM Discover microwave apparatus. A maximum irradiation power of 200 W (temperature of 120 °C) was applied for 2.5 h.

2.2.1 5,7-Dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3a**)

Yellow solid; mp: 188.7–190.6 °C; Yield: 0.251 g (89%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃/DMSO) δ = 14.08 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.84 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 7.52 – 7.38 (m, 2H), 7.33 – 7.31 (m, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 3H), 6.72 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃/DMSO-*d*₆) δ = 180.6, 163.8, 163.2, 162.3, 157.1, 130.5, 130.3, 130.0, 128.9, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 124.9, 124.7, 124.6, 103.8, 103.7, 97.8, 91.7. HRMS: Calculated for C₂₇H₁₉O₄Se₂ [M + H⁺]: 566.9614. Found: 566.9614.

2.2.2 5,7-Dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(*o*-tolylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3b**)

Yellow solid; mp: 195.3–197.6 °C; Yield: 0.260 g (88%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.07 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.51–7.41 (m, 4H), 7.16–7.05 (m, 5H), 6.98–6.91 (m, 3H), 6.72 (s, 1H), 2.50 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 182.4, 165.3, 164.6, 164.3, 159.1, 138.0, 137.3, 132.1, 131.7, 130.9, 130.7, 130.4, 130.3, 129.8, 129.1, 129.0, 127.0, 126.9, 126.8, 126.7, 126.6, 106.2, 105.7, 99.2, 92.3, 21.8, 21.6. HRMS: Calculated for C₂₉H₂₃O₄Se₂ [M + H⁺]: 594.9927. Found: 594.9926.

2.2.3 5,7-Dihydroxy-6,8-bis((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenyl-4H-chromen-4-one (**3c**)

Yellow solid; mp: 201.1–203.9 °C; Yield: 0.187 g (60%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.00 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.50–7.32 (m, 7H), 6.76–6.70 (m, 5H), 3.74–3.70 (m, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 182.5, 164.6, 164.4, 163.6, 159.7, 159.4, 158.5, 134.0, 132.9, 132.1, 131.0, 129.2, 126.6, 121.1, 120.3, 115.2, 115.1, 106.0, 105.5, 101.3, 94.3, 55.3 (2×OCH₃). HRMS: Calculated for C₂₉H₂₃O₆Se₂ [M + H⁺]: 626.9826, found: 626.9826.

2.2.4 6,8-Bis((4-fluorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one (3d)

Brownish solid; mp: 198.3–200.1 °C; Yield: 0.240 g (80%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.15 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.92–7.90 (m, 2H), 7.58–7.49 (m, 2H), 7.46–7.43 (m, 1H), 7.37–7.33 (m, 1H), 6.95–6.87 (m, 2H), 6.77 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 182.4, 164.8, 164.4, 163.5, 162.45 (C-F, d, J = 247.4 Hz), 162.2 (C-F, d, J = 247.2 Hz), 158.7, 133.5 (C-F, d, J = 7.9 Hz), 132.5 (C-F, d, J = 7.8 Hz), 132.3, 130.6, 129.2, 126.5, 125.3 (C-F, d, J = 3.3 Hz), 124.4 (C-F, d, J = 3.4 Hz), 116.6 (C-F, d, J = 21.7 Hz), 116.5 (C-F, d, J = 21.7 Hz), 106.0, 105.5, 100.4, 93.4. HRMS: Calculated for C₂₇H₁₇F₂O₄Se₂ [M + H⁺]: 602.9425. Found: 602.9419.

2.2.5 6,8-Bis((4-chlorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one (3e)

Brown solid; mp: 212.9–215.1 °C; Yield: 0.231 g (73%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.18 (s, 1H), 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 3H), 7.57–7.48 (m, 3H), 7.34 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.27–7.25 (m, 2H), 7.20–7.14 (m, 4H), 6.77 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 182.3, 165.1, 164.5, 163.6, 158.8, 133.6, 133.2, 132.4, 132.3, 131.3, 130.5, 129.5, 129.4, 129.2, 129.1, 128.1, 126.5, 106.0, 105.6, 99.8, 92.8. HRMS: Calculated for C₂₇H₁₇Cl₂O₄Se₂ [M + H⁺]: 634.8826. Found: 634.8807.

2.2.6 5,7-Dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((3-(trifluoromethyl)phenyl)selanyl)-4H-chromen-4-one (3f)

White solid; mp: 195.5–197.4 °C; Yield: 0.311 g (89%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 14.19 (s, 1H), 7.84 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.68–7.63 (m, 2H), 7.55–7.40 (m, 8H), 7.34–7.27 (m, 2H), 6.75 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 182.2, 165.5, 164.7, 163.7, 158.6, 133.7, 133.5, 132.7, 132.5, 132.4, 130.0, 129.9, 129.7, 129.6, 129.1, 126.4, 125.1, 125.09, 125.07, 122.9, 122.9, 122.85, 122.81, 122.8, 105.3, 105.2, 98.7, 93.0. HRMS: Calculated for C₂₉H₁₇F₆O₄Se₂ [M + H⁺]: 702.9361. Found: 702.9347.

2.3 Antioxidant activity assays

The antioxidant properties of new compounds **3a-f** were evaluated by different methods *in vitro*: DPPH and ABTS⁺, nitric oxide (NO) and hydroxyl radical (OH•) scavenging, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), ferrous

ion chelating and superoxide dismutase (SOD) like activity. The results obtained were compared with those of chrysin **1**. Because no activity was observed in the NO, OH•, FRAP, ferrous ion chelating and SOD-like assays, these procedures will not be discussed here. All compounds were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers. ABTS and DPPH assays were performed according described elsewhere [46-47]. For the the reactive species (RS) and TBARS assays, the cerebral tissue of Swiss male mice were previously prepared as described elsewhere [48-50]. All procedures were made according to the guidelines of the Committee of Care and Use of Experimental Animal Resources at the Federal University of Pelotas, Brazil (1877–2016). Detailed experimental procedures regarding the assays with and without tissue homogenates are presented in the Supporting Information.

2.4 In vitro evaluation of cell growth inhibition capacity

The human lung adenocarcinoma (A549) was obtained from the Rio de Janeiro Cell Bank (PABCAM, Federal University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil) and cultured as described in Supporting Informaiton. The proliferation of the A549 cell line was determined by MTT assay, according described elsewhere [51].

2.5 Statistical Analysis

The experimental results were given as the means $\pm$ standard deviation (SD) to show the variations among the groups. The statistical analysis was performed using one-way and two-way ANOVA followed by Newman-Keuls multiple comparison test when appropriate. The differences were considered statistically significant at a probability of less than 5% ($p < 0.05$). All tests were performed at least three times in duplicate. The IC₅₀ values (the concentration of sample required to scavenge 50% of the free radicals) were calculated from the graph of the scavenging effect percentage *versus* the compound concentration.

3 Results and discussion

3.1 Chemistry

Firstly, our attention was focused on the determination of the best reaction conditions for the synthesis of selenylated chrysin-derivatives starting from chrysin **1** and diphenyl diselenide **2a** (Scheme 1). Recently, some of us [52] described the arylselenation of anilines through the copper-catalyzed C-H bond cleavage of arylamines using DMSO as solvent and we decided to explore that reaction with our substrates. We started reacting chrysin **1** (0.50 mmol) and diphenyl diselenide **2a** (0.25 mmol), in the presence of CuI (30 mol%) and DMSO (2 mL) as the solvent at 120 °C in an open vessel using an oil bath. After stirring for 24 h, a mixture of mono- and bis-selenylated product **3a** was obtained, together unreacted chrysin and diphenyl diselenide (Table 1, entry 1). Attempts to direct the reaction to form exclusively the mono-selenylated product have failed, due to the high reactivity of the aromatic ring of chrysin **1**. Then, we decided to direct our efforts to prepare 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselenanyl)-4*H*-chromen-4-one **3a**. Accordingly, by using an excess of **2a** (0.75 mmol) related to chrysin **1a** (0.50 mmol), the desired product **3a** was obtained in 76% yield after 24 h at 120 °C (Table 1, entry 2).

In order to improve the previous result, we tested different amounts of CuI in the reaction, using 20, 10, 5, 3 and 1 mol% (Table 1, entries 3-7) and the best result was obtained using 5 mol%, with **3a** being obtained in 87% yield (Table 1, entry 5). The reaction was also tested in the absence of CuI (entry 8), but no product was obtained after 24 h of reaction.

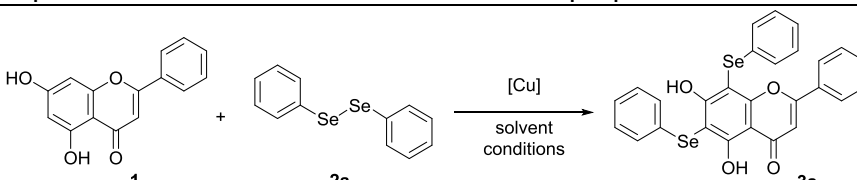
Following, we investigated the effect of the amount of **2a** in the reaction (Table 1, entries 9-11) and it was observed that the best result was obtained using 1 mmol of **2a** (2.0 equiv), with **3a** being obtained in 93% yield after 19 h (Table 1, entry 11). Different solvents were also tested for the reaction, such as DMF, toluene, acetonitrile and dioxane; with the exception of DMF, which afforded **3a** in 20% yield after 24 h, the other solvents failed completely (Table 1, entries 12-15).

No satisfactory results were obtained when different copper species, like CuO_{NPs}, CuCl and Cu(OAc)₂, were used, while CuBr delivered **3a** in only 74% yield (Table 1, entries 16-19). The effect of the temperature in the reaction was

evaluated and the yield of **3a** decreased to 52 and 18% at 100 and 80 °C, respectively (Table 1, entries 20-21).

Aiming to minimize the reaction time to prepare **3a**, we performed the reaction using microwaves (MW) and ultrasound irradiation (US) as alternative energy sources (Table 1, entries 22-25). Gratifyingly, the first assay using US was very satisfactory, with product **3a** being obtained in 92% yield after only 3 h (Table 1, entry 22). With this result in hands, we reevaluated the minimal amount of diphenyl diselenide **2a** necessary to prepare **3a** without decrease in the yield (Table 1, entries 23-24). When a stoichiometric amount of **2a** (0.5 mmol) was used, it took twice as long (6 h) to achieve 90% yield of **3a** (Table 1, entry 23). The best result was achieved using 0.75 mmol (1.5 equiv) of **2a**, giving **3a** in 89% yield after 3 h (Table 1, entry 23). Irradiation with microwaves (200 W) was less efficient and product **3a** was obtained in 80% yield after 2.5 h at 120 °C (Table 1, entry 25). Microwaves is an efficient way to warm Because US apparatus is easier to manipulate and scale up, the best condition was defined as that of line 24, consisting in the sonication of a mixture of **1** (0.5 mmol), **2a** (0.75 mmol) and CuI (5 mol%) in DMSO (2.0 mL) for 3 h.

Table 1. Optimization of the reaction conditions to prepare **3a**.^a



Entry	2a (mmol)	[Cu] (mol%)	Solvent	T (°C)	Time (h)	Yield (%) ^b
1	0.25	CuI (30)	DMSO	120	24	^c
2	0.75	CuI (30)	DMSO	120	24	76
3	0.75	CuI (20)	DMSO	120	24	77
4	0.75	CuI (10)	DMSO	120	24	82
5	0.75	CuI (5)	DMSO	120	24	87
6	0.75	CuI (3)	DMSO	120	24	78
7	0.75	CuI (1)	DMSO	120	24	62
8	0.75	-	DMSO	120	24	NR
9	0.50	CuI (5)	DMSO	120	24	56
10	0.60	CuI (5)	DMSO	120	24	79
11	1.00	CuI (5)	DMSO	120	19	93
12	1.00	CuI (5)	DMF	120	24	20
13	1.00	CuI (5)	dioxane	101	24	NR
14	1.00	CuI (5)	toluene	110	24	NR
15	1.00	CuI (5)	CH ₃ CN	82	24	NR
16	1.00	CuONPs (5)	DMSO	120	24	40
17	1.00	CuCl (5)	DMSO	120	24	20
18	1.00	CuBr (5)	DMSO	120	24	74
19	1.00	Cu(OAc) ₂ (5)	DMSO	120	24	7

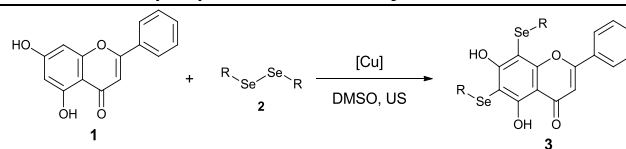
20	1.00	CuI (5)	DMSO	100	24	52
21	1.00	CuI (5)	DMSO	80	24	18
22	1.00	CuI (5)	DMSO	130	3	92 ^d
23	0.50	CuI (5)	DMSO	130	6	90 ^d
24	0.75	CuI (5)	DMSO	130	3	89^d
25	0.75	CuI (5)	DMSO	120	2.5	80 ^e

^a All reactions performed using 0.5 mmol of chrysin **1** and 2 mL of solvent. ^b Yields after purification by column chromatography on silica gel. ^c A mixture of **3a** and moselenylated chrysin was obtained, among unreacted **1a** and **2a**. ^d Reaction performed under ultrasonic (US) irradiation at 60% of amplitude. ^e Reaction performed under microwaves (MW) irradiation at 200 W.

This methodology was then extended to different diorganyl diselenides containing neutral (**2a**), electron-withdrawing (**2d**, **2e**, **2f**) and electron-donating groups (**2b**, **2c**, **2g**), in order to expand the reaction scope (Table 2). The reaction does not seem to be sensitive to the presence of electron-releasing and electron-withdrawing groups at the aromatic ring of the diselenide **2**. 5,7-Dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(*o*-tolylselenanyl)-4*H*-chromen-4-one **3b** was obtained in 88% from **2b** after 5 h (Table 2, entry 2), while bis(4-fluorophenyl)diselenide **2d** reacted with chrysin **1** for 3.5 h under US to give the desired product **3d** in 80% yield (Table 2, entry 4). Similar good results were obtained starting from bis(4-chlorophenyl)diselenide **2e** and bis(3-trifluoromethylphenyl)diselenide **2f**, which afforded the respective products **3e** and **3f** in 73 and 89% yields after 5 h (Table 2, entries 5 and 6). The electron-rich bis(4-methoxyphenyl)diselenide **2c**, however, afforded the respective product **3c** in only 60% yield after sonication for 3 h (Table 2, entry 3).

Attempts to increase the yield by sonication for more time were unsuccessful and decomposition of the product was observed with the time. The reaction of bis(2-aminophenyl)diselenide **2g** under our conditions failed completely, even after 8 h of sonication and the starting materials were recovered (Table 2, entry 7). Probably the presence of the amino group at the *ortho* position of selenium deactivates the copper catalyst. The reaction does not work well with dibutyl diselenide **2h**, affording the respective functionalized chrysin **3h** only in trace amount (Table 2, entry 8). The method is not suitable also to prepare tellurium and sulfur analogs **3i** and **3j**, even after long times of sonication.

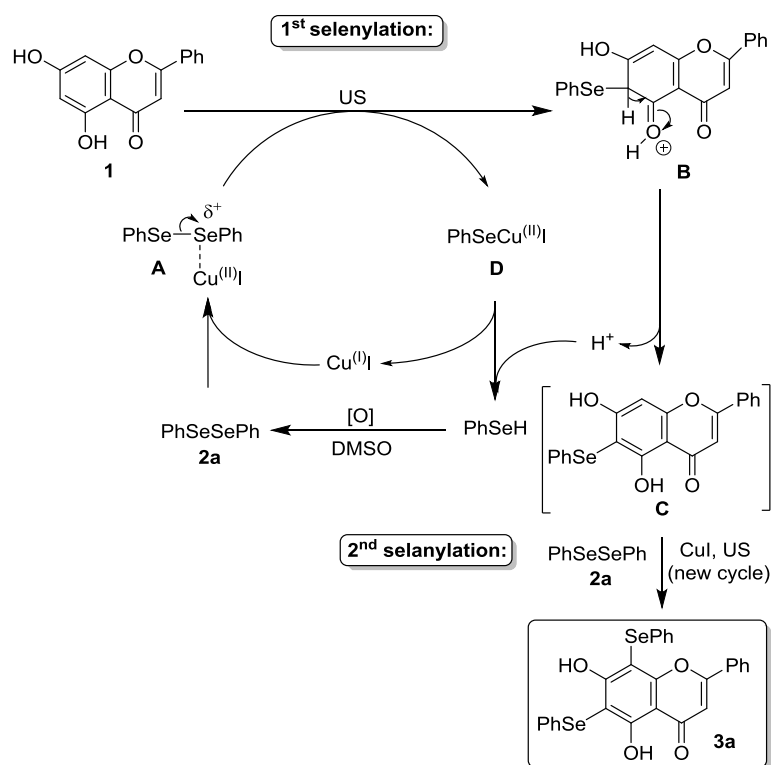
Table 2: Scope of the reaction to prepare selenochrysin **3**.^a



Entry	Diselenide 2	Time (h)	Product 3	Yield (%) ^d
1		3		89
2		5		88
3		3		60
4		3.5		80
5		5		73
6		5		89
7		8		NR
8		8		trace
9		8		NR
10		8		trace

^a All reactions were performed using 0.5 mmol of **1**, 0.75 mmol of **2a-j**, 5 mol% of CuI and 2 mL of DMSO. The reaction temperature was of 120 – 130 °C. ^b Yields after purification by column chromatography on silica gel. NR = no reaction.

Based on recent works involving the copper-catalyzed carbon-chalcogen bond formation [52-54] and, supported by our results, a plausible mechanism for the bis-arylselenation of chrysin **1** by C-H bond cleavage to prepare **3a** is depicted on Scheme 2. Firstly, diphenyl diselenide **2a** reacts with CuI to afford the Cu(II)-complex **A** which, under sonication, suffers a nucleophilic attack from chrysin to give intermediate **B** and the selenolate **D**. Following, **B** loses a proton to **D**, affording the mono-Se-chrysin **C**, PhSeH and restoring CuI. In the presence of air and DMSO, PhSeH is oxidized to diphenyl diselenide **2a**, which reacts with CuI to start a new reaction cycle, now starting from **C** instead **1a** (the 2nd selenylation step), delivering the desired compound **3a** under sonication.



Scheme 2. A plausible mechanism for the reaction.

3.2 Antioxidant activity

The antioxidant activity *in vitro* of compounds **3a-3f** was evaluated by different methods in order to verify the effect of the presence of two organoselenium groups in the chrysin molecule. The results are displayed in Tables S1-S5 (see Supporting Information).

3.2.1 Radical scavenging activity

Assays based upon the use of DPPH and ABTS⁺ radicals are among the most popular spectrophotometric methods for the determination of antioxidant activity [55] as both, chromogens and radical compounds, can directly react with antioxidants. As can be seen in Table S1, all compounds demonstrated an effective ABTS⁺ radical scavenger activity. Compounds **3a-3f** were effective at concentrations equal and higher than 1 μ M. The values of maximum inhibition ($I_{\max}$) followed the order **3d** $\geq$ **3a** > **3c** > **3b** > **3f** > **3e**.

Se-chrysin **3a** showed the lowest IC₅₀ (5.13 ± 0.73 μ M) and the second highest $I_{\max}$ ($95.83 \pm 1.04\%$) value among the tested compounds on ABTS⁺ radical assay, being the most potent in this test. Since **3a** presented the best performance in this assay and was not as effective in the other ones, it is possible to infer that its antioxidant activity is principally based on a single electron transfer mechanism.

In Tables S2 and S4, which shown results on DPPH-scavenging and protection against lipid peroxidation induced by SNP in mice cortex, respectively, there is no IC₅₀ value for Se-chrysin **3a**, once it did not show dose-response results in those assays.

Results on the DPPH radical scavenging activity of Se-chrysin **3b** are presented in Table S2. At concentrations of 100-500 μ M, it was able to scavenge DPPH radicals and the value of the maximum inhibition ($I_{\max}$) was $39.79 \pm 4.67\%$. In contrast, this compound did not present IC₅₀ value, once it was not able to scavenge 50% of the radicals. None of the other derivatives nor the parent chrysin **1** were significantly active in this assay (data not shown).

3.2.2 Reactive Species (RS) assay – Cortex

All compounds demonstrated an effective inhibition in the formation of RS induced by DCF in mice cortex (Table S3). Compounds **3a** and **3b** were effective at concentrations equal and higher than 1 μ M, followed by Se-chrysin **3e** at concentration of 5 μ M. While compounds **3c** and **3d** were able to inhibit the formation of reactive species at concentrations equal and higher than 10 μ M, compound **3f** presented activity at concentration of 100 μ M. The values of maximum inhibition ($I_{\max}$) followed the order **3b** > **3a** > **3d** > **3e** > **3c** > **3f** > **1**. Compound **3b** has an IC₅₀ of 5.67

$\pm 4.27 \mu\text{M}$; however, compounds **3c**, **3f** and chrysin **1** did not present IC_{50} , once they inhibit less than 50 % of the RS formation.

3.2.3 Reactive Species (RS) assay – Hippocampus

All compounds presented ability to inhibit the formation of RS in mice hippocampus (Table S4). Compounds **3a-3e** presented effect in concentrations equal and higher than $1 \mu\text{M}$, while **3f** was active at concentrations equal to or higher than $5 \mu\text{M}$. The relative efficacy of compounds in this test, based in the I_{max} , follows the order **3f** > **3b** > **3d** > **3e** > **3a** > **3c** > **1**. Compound **3c** presented an IC_{50} value of $5.63 \pm 1.14 \mu\text{M}$ and was the more potent among the Se-chrysin derivatives.

3.2.4 Lipid peroxidation - Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) assay

The capacity of compounds **3a-3f** to protect against lipid peroxidation was evaluated by the lipid peroxidation in regions of the mouse brain (cortex and hippocampus).

3.2.4.1 Cortex

Results on the ability of chrysin **1** and derivatives **3a-f** in inhibiting the lipid peroxidation in mice cortex are presented in Table S5. Compounds **3a-3f** were effective at concentrations equal and higher than $0.01 \mu\text{M}$. The maximum inhibition (I_{max}) values follows the order **3e** > **3c** > **3a** > **3f** = **3b** > **3d** > **1**. Compounds **3e** and **3f** showed IC_{50} at the lower concentrations (0.074 ± 0.013 and $0.074 \pm 0.018 \mu\text{M}$), followed by **3d**, **3b**, **3c**, **3a** and unmodified chrysin **1**.

3.2.4.2 Hippocampus

Table S6 presents the results on the ability of chrysin **1** and derivatives **3a-f** in inhibiting the lipid peroxidation in mice hippocampus. Compound **3b** inhibited lipid peroxidation in mice hippocampus at concentrations equal to or higher than $0.01 \mu\text{M}$, while **3a**, **3c** and **3f** were effective at concentrations of $0.1-100 \mu\text{M}$. A good level of protection was observed for Se-chrysin **3e** at $1 \mu\text{M}$ and **3d** at concentration of $5-100 \mu\text{M}$. The maximum inhibition (I_{max}) of Se-chrysin follows the order **3c** > **3e** > **3f** > **3b** > **3d** > **3a** > **1**. Regarding IC_{50} , Chrysin **1** and derivative **3a** did not present a value, given that they inhibit less than 50% of the lipid peroxidation. The rest of compounds followed the order of **3b** < **3c** < **3d** < **3e**

< **3f**.

Besides compound **3b** was the only capable of neutralizing DPPH radicals, it was also the very best in RS assay in mice cortex, presenting an $I_{\max}$ of $77.57 \pm 4.19\%$ and IC_{50} of $5.67 \pm 4.27 \mu\text{M}$. In the hippocampus, **3b** was the second most efficient ($I_{\max}$ of $77.17 \pm 5.48\%$) compared with the other compounds. In relation to TBARS assay, Se-chrysin **3b** was the fourth most potent (IC_{50} of $1.67 \pm 0.88 \mu\text{M}$) in mice cortex and presented the best (IC_{50} of $0.27 \pm 0.33 \mu\text{M}$) result in hippocampus. These results may be due to the presence of the methyl group in *ortho* to the selenium. The phenolic radicalar $\text{H}^\bullet$ donation for peroxy radicals is accelerated by the presence of *o*-methyl groups and it could also influence in the selenium activity. [56]

In summary, Se-chrysin **3c** presented the lowest IC_{50} ($5.63 \pm 1.14 \mu\text{M}$) of the compounds in the RS assay in mice hippocampus and the second greatest $I_{\max}$ ($86.26 \pm 9.55\%$) in TBARS assay in cortex. Also, it presented the best results on TBARS assay in mice hippocampus, having an $I_{\max}$ of $77.72 \pm 14.30\%$ and was the second most potent compound with an IC_{50} of $1.18 \pm 0.71 \mu\text{M}$. The results of Se-chrysin **3c** are probably due to the methoxyl in *para* position in its structure, which increases its polarity and the electronic density.

In other hand, the Se-chrysin **3d**, which contains a fluorine atom in the *para* position to selenium, exhibited the best ABTS⁺ scavenger activity among the tested compounds ($I_{\max}$ of $96.29 \pm 1.38\%$). Compound **3d** also presented a good potency, presenting the third lowest IC_{50} value in TBARS assay in mice cortex.

In relation to Se-chrysin **3f**, on the RS assay in mice hippocampus, it exhibited the higher $I_{\max}$ value ($78.85 \pm 4.13\%$), therefore being the most efficient of the compounds. Also, it presented an IC_{50} of $0.074 \pm 0.018 \mu\text{M}$ on TBARS assay in mice cortex, being one of the two most potent compounds in this test. This effect is at least in part due the tri-fluoromethyl group in the *meta* position to selenium.

The addition of chlorine at the *para* position to selenium, as in compound **3e**, boosted the effect against lipid peroxidation. It can be seen by the highest $I_{\max}$ ($86.79 \pm 5.77\%$) and the lowest IC_{50} ($0.074 \pm 0.013 \mu\text{M}$) among all the Se-chrysin in TBARS assay in mice cortex. Besides, **3e** presented the second highest $I_{\max}$ on hippocampus ($76.59 \pm 10.67\%$).

3.2.5 Other tests

Since the tested compounds did not present activity in nitric oxide (NO) and hydroxyl radical (OH•) scavenging, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), ferrous ion chelating and superoxide dismutase-like activity (data not show), we can postulate that these mechanisms are not involved in the antioxidant activity of compounds.

3.3 *In vitro* antiproliferative study

The antioxidant activity can be associated to a diversity of inhibitory effects against different diseases, and several studies have been conducted to evaluate the activity of chrysin and derivatives against different cancer types. [4,11,14,15] The results obtained on the antioxidant evaluation of the Se-chrysin **3a-f** motivate us to explore their antiproliferative potential against lung adenocarcinoma A-549 cells using the the MTT assay [51] and the results are displayed in Figure 2.

As it can be seen in Figure 2, the semi-synthetic Se-chrysin **3** showed an inhibitory capacity superior to the precursor molecule chrysin **1**. Among the synthesized compounds, **3b**, **3c** and **3d** showed lower IC₅₀ values (39.28, 32.25 and 19.19 µM, respectively), when compared with chrysin **1** (> 50 µM) at all the evaluated times in this study. The insertion of the organoselenium groups resulted in an increase of the antiproliferative capacity of these molecules and **3b**, **3c** and **3d** were able to inhibit 65.64, 66.33 and 91.45% of the lung adenocarcinoma cells growth, respectively after 72 h (Figures 2B-D). Furthermore, compound **3c** inhibit in more than 50% the growth at all tested times, 51.08, 60.66 and 66.33% after 24, 48 and 72 h of exposition, respectively (Figure 2C).

IC₅₀ values of compound **3a** were superior than 50µM in all the tested times, even that it was superior to chrysin **1** at all concentrations and at all tested times. At the concentration of 50µM, **3a** was capable of inhibiting cellular growth in 36.61, 49.11 and 47.67% at 24, 48 and 72 h, respectively (Figure 2A), while chrysin **1** was able to inhibit only 21.44% of the cell growth at the same concentration after 24 h.

Similarly, compounds **3e** and **3f** showed IC₅₀ values greater than 50µM at all tested times. The antiproliferative activity of **3e** at 72 h was superior to that of

compound **3f** and of chrysin **1**, with a reduction of 37.8% cell growth at the concentration of 50 μ M (Figure 2E). Furthermore, we can infer that compound **3f** presented maximum cell growth after 24 h at 12.5 μ M (19.51% of cell growth inhibition). However, no significant difference between any of the concentrations and tested times was observed.

Our results demonstrate that after 48 h of treatment, 6,8-bis(*p*-anisoylselanyl)-chrysin **3c** showed superior antiproliferative activity compared to all tested compounds, with an IC₅₀ value of 41.4 μ M (Figure 2C).

Previous studies have shown that the presence of methoxyl groups in the selenium moiety causes a superior antitumor activity when compared to other organoselenium compounds. Liu et al. demonstrated the activity of 3-methoxy-4-hydroxy- and 3-methoxy-4-acetyloxy-cinnamic aldehyde semicarbazones against Ehrlich ascitic tumor cells. [57] Wen et al. evaluated a series of 3-(3'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)selenyl-5,6,7-trimethoxy-1*H*-indoles, which presented antiproliferative activity in three human cancer cell lines. [58] In addition, studies reported the chemopreventive activities of selenium compounds containing methoxy group in colon cancer. [59]

In contrast, after 72 h of treatment, 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((4-fluorophenyl)selanyl)-4*H*-chromen-4-one **3d** was superior to the other compounds, presenting an IC₅₀ of 19.19 μ M (Figure 2D). Structure-activity relationship studies indicate that heterocyclic compounds having one halogen (fluorine, chlorine or bromine) as substituent are more potent inhibitors against different cell lines, including human lung adenocarcinoma cell line A549. [60]

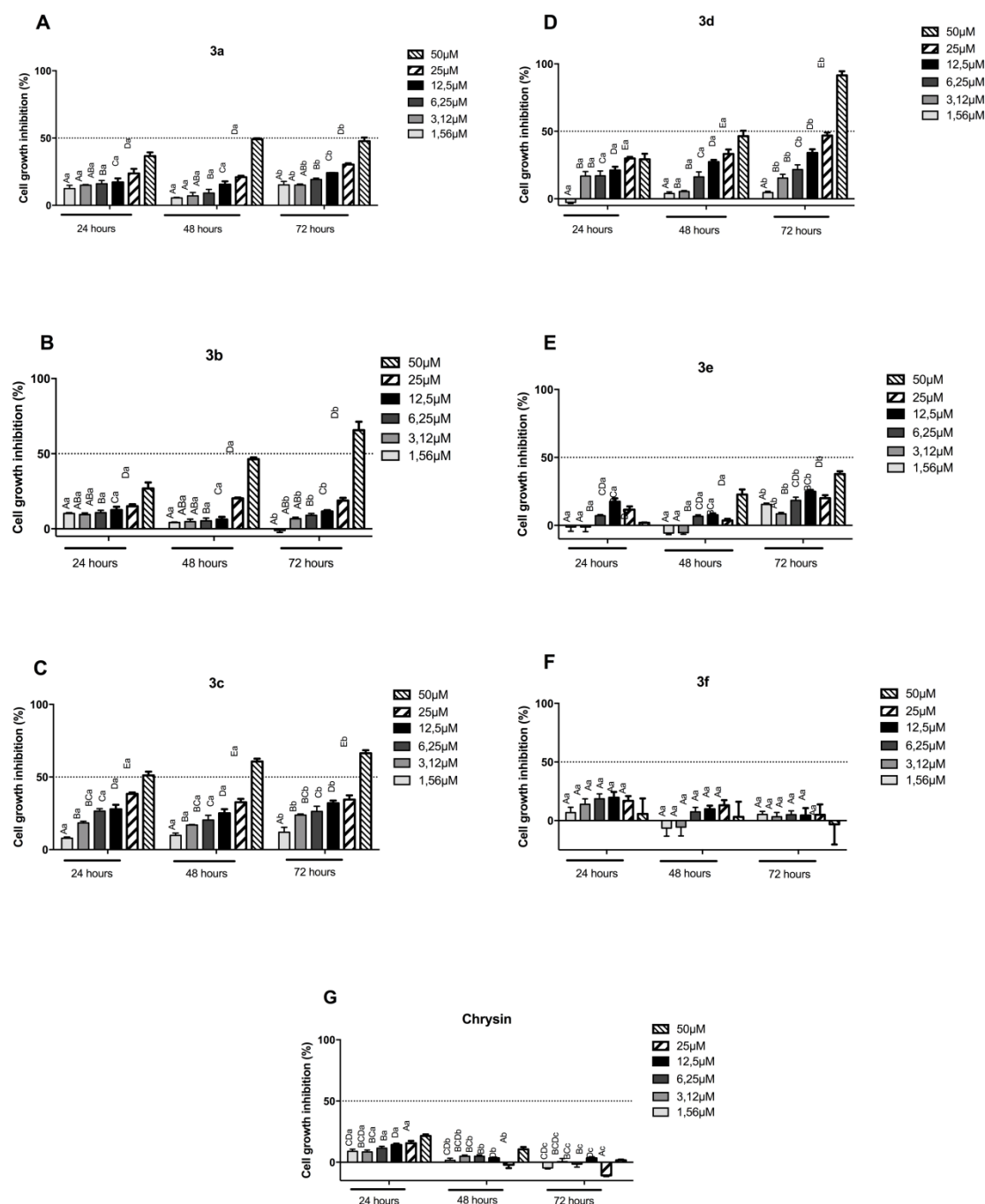


Figure 2. Percent of growth inhibition by chrysin **1** and the seleno-chrysin derivatives **3a-f** in human lung adenocarcinoma (A549) cells by the MTT assay. Data were evaluated by Two-way ANOVA, followed by Tukey test to multiple comparisons. Upper case letters indicate statistical difference between the concentrations tested and lower case letters indicate statistical difference between the times tested. Values of $p < 0.05$ were considered significant.

4 Conclusions

Six new Se-containing derivatives of chrysin were prepared by an efficient protocol starting from diaryl diselenides and chrysin under copper-catalysis and sonication. Compounds were evaluated for their antioxidant and antiproliferative activities *in vitro*. The presence of the selenium moiety boosts the antioxidant and antiproliferative activities of natural chrysin. Semi-synthetic 6,8-bis(*o*-tolylselenanyl)-chrysin **3b** presented the best results in the antioxidant assays, followed by 6,8-bis(*p*-anisoylselenanyl)-chrysin **3c**. In the antiproliferative assay against lung adenocarcinoma A-549 cells, 6,8-bis(*p*-fluorophenylselenanyl)-chrysin **3d** was the more effective, with a IC_{50} of 19.9 μ M after 72 h of treatment, while compound 6,8-bis(*p*-anisoylselenanyl)-chrysin **3c** presented the higher antiproliferative activity after 48 h of treatment (IC_{50} of 41.4 μ M).

Se-chrysin should be studied in more complex and physiologically relevant systems to improve the knowledge regarding its exact antioxidant mechanism, toxicology and bioavailability. It is worth mentioning that these compounds were synthesized in a straightforward manner, which permitted us to explore the influence of the electronic and steric characteristics to find a compound with a superior activity.

Acknowledgements

The authors are grateful to FAPERGS and CNPq (PRONEX 10/0005-1 and 10/0027-4, PRONEM 11/2026-4, PRONEM 6/2551-0000240-1), CAPES and FINEP for the financial support.

Appendix A. Supplementary data

References

- [1] K. E. Heim, A. R. Tagliaferro and D. J. Bobilya, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J. Nutr. Biochem.* 13 (2002) 572–584.
- [2] P. 2. G. Pietta, Flavonoids as Antioxidants, *J. Nat. Prod.* 63 (2000) 1035–1042.
- [3] K. V. Anand, R. Anandhi, M. Pakkiyaraj and P. Geraldine, Protective Effect of Chrysin on Carbon Tetrachloride (CCl_4)-induced Tissue Injury in Male Wistar Rats, *Toxicol. Ind. Health* 27 (2011) 923–933.

- [4] (a) C. Han, Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols. *Cancer Lett.* 114 (1997) 153–158. (b) S. Samarghandian, M. Azimi-Nezhad, A. Borji, M. Hasanzadeh, F. Jabbari, T. Farkhondeh, M. Samini, Inhibitory and Cytotoxic Activities of Chrysin on Human Breast Adenocarcinoma Cells by Induction of Apoptosis. *Pharmacogn. Mag.* 12 (2016) S436–S440; (c) Q. Zhang, S. Ma, B. Liu, J. Liu, R. Zhu, M. Li, Chrysin induces cell apoptosis via activation of the p53/Bcl-2/caspase-9 pathway in hepatocellular carcinoma cells, *Exp. Ther. Med.* 12 (2016) 469–474. (d) Q. Tang, F. Ji, J. Guo, J. Wang, Y. Li, Y. Bao, Directional modification of chrysin for exerting apoptosis and enhancing significantly anti-cancer effects of 10-hydroxy camptothecin. *Biomed. Pharmacother.* 82 (2016) 693–703.
- [5] J. Yamada, Y. Tomita, Antimutagenic Activity of Water Extracts of Black Tea and Oolong Tea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58 (1994) 2197–2200.
- [6] J.M.T. Hamilton-Miller, Antimicrobial Properties of Tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrob. Agents Chemother.* 39 (1995) 2375–2377.
- [7] S. Miura, J. Watanabe, M. Sano, T. Tomita, T. Osawa, Y. Hara, I. Tomita, Effects of Various Natural Antioxidants on the Cu^{2+} - Mediated Oxidative Modification of Low Density Lipoprotein. *Biol. Pharm. Bull.* 18 (1995) 1–4.
- [8] L. D. Mercer, B. L. Kelly, M. K. Horne, P. M. Beart, Dietary polyphenols protect dopamine neurons from oxidative insults and apoptosis: investigations in primary rat mesencephalic cultures, *Biochem. Pharmacol.* 69 (2005) 339–345.
- [9] P. Parajuli, N. Joshee, A.M. Rimando, S. Mittal, A.K. Yadav, In vitro antitumor mechanisms of various *Scutellaria* extracts and constituent flavonoids. *Planta Med.* 75 (2009) 41–48.
- [10] S.F. Fonseca, D.B. Lima, D. Alves, R.G. Jacob, G. Perin, E.J. Lenardão, L. Savegnago, Synthesis, characterization and antioxidant activity of organoselenium and organotellurium compound derivatives of chrysin. *New J. Chem.* 39 (2015) 3043–3050.
- [11] I.L. Martins, C. Charneira, V. Gandin, J.L.F. da Silva, G.C. Justino, J.P. Telo, A.J.S.C. Vieira, C. Marzano, A.M.M. Antunes, Selenium-Containing Chrysin and Quercetin Derivatives: Attractive Scaffolds for Cancer Therapy. *J. Med. Chem.* 58 (2015) 4250–4265.

- [12] H. Che, H. Lim, H. P. Kim, H. Park, A chrysin analog exhibited strong inhibitory activities against both PGE₂ and NO production. *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 4657–4660.
- [13] X. Song, Y. Liu, J. Ma, J. He, X. Zheng, X. Lei, G. Jiang, L. Zhang, Synthesis of novel amino acid derivatives containing chrysin as anti-tumor agents against human gastric carcinoma MGC-803 cells. *Med. Chem. Res.* 24 (2015) 1789–1798.
- [14] K. Hu, W. Wang, H. Cheng, S. Pan and J. Ren, Synthesis and cytotoxicity of novel chrysin derivatives, *Med. Chem. Res.* 20 (2011) 838–846.
- [15] X. Zheng, W.-D. Meng, Y.-Y. Xu, J.-G. Cao, F.-L. Qing, Synthesis and anticancer effect of chrysin derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003) 881–884.
- [16] (a) J.-L. Luche, J.C. Damiano, Ultrasounds in organic syntheses. 1. Effect on the formation of lithium organometallic reagents. *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 7926–7927. (b) J.-L. Luche, C. Pétrier, A.L. Gemal, N. Zikra, Ultrasound in Organic Synthesis. 2. Formation and Reaction of Organocopper Reagents. *J. Org. Chem.* 47 (1982) 3806–3808.
- [17] (a) J.-L. Luche, *Synthetic Organic Sonochemistry*, Springer Science: New York, 1998. (b) M.A. Schiel, A.B. Chopra, G.F. Silbestri, M.B. Alvarez, A.G. Lista, C.E. Domini, *Use of Ultrasound in the Synthesis of Heterocycles of Medicinal Interest*, In: G. Brahmachari (Ed.), *Synthetic Approaches for Biologically Relevant Heterocycles*, Elsevier: Amsterdam, 2015. (c) R. Cella, *Ultrasound in Synthetic Applications and Organic Chemistry*, In: D. Chen, S.K. Sharma, A. Mudhoo (Eds.), *Handbook on Applications of Ultrasound Sonochemistry for Sustainability*, CRC Press: New York, 2012, pp.263–279. (d) J. T. Li, S. X. Wang, G. F. Chen and T. S. Li, Some applications of ultrasound irradiation in organic synthesis, *Curr. Org. Chem.* 2 (2005) 415–436.
- [18] M.M. Mojtahedi, M.S. Abaee, Ultrasound Applications in Synthetic Organic Chemistry, In: D. Chen, S.K. Sharma, A. Mudhoo (Eds.), *Handbook on Applications of Ultrasound Sonochemistry for Sustainability*. CRC Press: New York, 2012, pp 281–322.
- [19] M. Nüchter, B. Ondruschka, A. Jungnickel, U. Müller, Organic processes initiated by non-classical energy sources. *J. Phys. Org. Chem.* 13 (2000) 579–586.

- [20] T.J. Mason, Sonochemistry and the environment - providing a "green" link between chemistry, physics and engineering. *Ultrasonics Sonochem.* 14 (2007) 476–483.
- [21] T.J. Mason, Ultrasound in synthetic organic chemistry, *Chem. Soc. Rev.* 26 (1997) 443–451.
- [22] (a) B.K. Tiwari, Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 100–109. (b) F. Chemat, N. Rombaut, A.-G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.-S. Fabiano-Tixier, M. Abert-Vian, Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochem.* 34 (2017) 540–560.
- [23] V.B. Veljković, J.M. Avramović, O.S. Stamenković, Biodiesel production by ultrasound-assisted transesterification: State of the art and the perspectives, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 16 (2012) 1193–1209.
- [24] (a) G. Cravotto, P. Cintas, Power ultrasound in organic synthesis: moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. *Chem. Soc. Rev.* 35 (2006) 180–196. (b) D.N.K. Reddy, K.B. Chandrasekhar, Y.S.S. Ganesh, G.R. Reddy, J.P. Kumar, R.K. Kapavarapu, M. Pal, FeF_3 -catalyzed MCR in PEG-400: ultrasound assisted synthesis of N-substituted 2-aminopyridines. *RSC Adv.* 6 (2016) 67212–67217. (c) M. Rouhani, A. Ramazania, S.W. Joo. Ultrasonics in isocyanide-based multicomponent reactions: A new, efficient and fast method for the synthesis of fully substituted 1,3,4-oxadiazole derivatives under ultrasound irradiation, *Ultrasonics Sonochem.* 22 (2015) 391–396. (d) P.N. Kalaria, S.P. Satasia, J.R. Avalani, D.K. Raval. Ultrasound-assisted one-pot four-component synthesis of novel 2-amino-3-cyanopyridine derivatives bearing 5-imidazopyrazole scaffold and their biological broadcast. *Eur. J. Med. Chem.* 83 (2014) 655–664. (e) R. Ramesh, D.S. Reddy. Zinc mediated allylations of chlorosilanes promoted by ultrasound: Synthesis of novel constrained sila amino acids. *Org. Biomol. Chem.* 12 (2014) 4093–4097. (f) M. Rouhani, A. Ramazani, S.W. Joo. Novel, fast and efficient one-pot sonochemical synthesis of 2-aryl-1,3,4-oxadiazoles. *Ultrasonics Sonochem.* 21 (2014) 262–267. (g) R. Patil, P. Bhoir, P. Deshpande, T. Wattamwar, M. Shirude, P. Chaskar. Relevance of sonochemistry or ultrasound (US) as a proficient means for the synthesis of fused heterocycles. *Ultrasonics Sonochem.* 20 (2013) 1327–1336.

- [25] G. Perin, E.J. Lenardão, R.G. Jacob, R. B. Panatieri, Synthesis of Vinyl Selenides. *Chem. Rev.* 109 (2009) 1277–1301.
- [26] A.L. Braga, D.S. Ludtke, F. Vargas, R.C. Braga, Catalytic Applications of Chiral Organoselenium Compounds in Asymmetric Synthesis. *Synlett* 17 (2006), 1453–1466.
- [27] L.M.P. Brod, M.G. Fronza, E.A. Wilhelm, C. Luchese, J.P. Vargas, D.S. Lüdtke, L. Savegnago, Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 65C (2016) 201–207.
- [28] L. Savegnago, V.C. Borges, D. Alves, C.R. Jesse, J.B.T. Rocha, C.W. Nogueira, Evaluation of antioxidant activity and potential toxicity of 1-buthyltelurenyl-2-methylthioheptene. *Life Sci.* 79 (2006) 1546–1552.
- [29] C. Brunning, F. Martini, S.M. Soares, T.B. Sampaio, L. Savegnago, C.W. Nogueira, Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- α is attenuated by *m*-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice. *J. Psychiatr. Res.* 66-67 (2015), 75–83.
- [30] M. Pinz, A.S. Reis, V. Duarte, M.J. da Rocha, B.S. Goldani, D. Alves, L. Savegnago, C. Luchese, E.A. Wilhelm. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. *Eur. J. Pharmacol.* 780 (2016) 122–128.
- [31] L. Savegnago, C.R. Jesse, C.W. Nogueira, Structural modifications into diphenyl diselenide molecule do not cause toxicity in mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 27 (2009) 271–276.
- [32] R.P. Ineu, M dos Santos, O.S.R. Barros, C.W. Nogueira, J.B.T. Rocha, G. Zeni, M.E. Pereira, Antioxidant activity and low toxicity of (E)-1-(1-(methylthio)-1-(selenophenyl) hept-1-en-2-yl) pyrrolidin-2-one. *Cell Biol. Toxicol.* 28 (2012) 213–223.
- [33] H.J. Forman, Redox signaling: an evolution from free radicals to aging. *Free Rad. Biol. Med.* 97 (2016) 398–407.
- [34] L. Wojciech, A. Gegotek, E. Skrzydlewska, Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Rad. Biol. Med.* (2016), DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.033.

- [35] E.E. Battin, J.L. Brumaghim, Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochem. Biophys.* 55 (2009) 1–23.
- [36] C.W. Nogueira, J.B. Rocha, Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem. Rev.* 104 (2004) 6255–6285.
- [37] T.L. Silva, L.M.F. Miolo, F.S.S. Sousa, L.M.P. Brod, L. Savegnago, P.H. Schneider, New thioureas based on thiazolidines with antioxidant potential. *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 6674–6680.
- [38] L. Savegnago, M.D. Sacramento, L.M.P. Brod, M.G. Fronza, N. Seus, E.J. Lenardão, M.W. Paixão, D. Alves, Phenylselanyl-1H-1,2,3-triazole-4-carbonitriles: synthesis, antioxidant properties and use as precursors to highly functionalized tetrazoles. *RSC Adv.* 6 (2016) 8021–8031.
- [39] F.N. Victoria, C.S. Radatz, M. Sachini, R.G. Jacob, D. Alves, L. Savegnago, G. Perin, A.S. Motta, W.P. Silva, E.J. Lenardão, Further analysis of the antimicrobial activity of α -phenylseleno citronellal and α -phenylseleno citronellol. *Food Control* 23 (2012) 95–99.
- [40] F.N. Victoria, D.M. Martinez, M. Castro, A.M. Casaril, D. Alves, E.J. Lenardão, H.D. Salles, P.H. Schneider, L. Savegnago, Antioxidant properties of (R)-Se-aryl thiazolidine-4-carboselenoate. *Chem. Biol. Interact.* 205 (2013) 100–107.
- [41] D.M. Martinez, A. Barcellos, A.M. Casaril, L. Savegnago, G. Perin, C.H. Schiesser, K.L. Callaghan, E.J. Lenardão, Twice acting antioxidants: synthesis and antioxidant properties of selenium and sulfur-containing zingerone derivatives. *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 2243–2246.
- [42] F.N. Victoria, R. Anversa, F. Penteado, M. Castro, E.J. Lenardão, L. Savegnago, Antioxidant and antidepressant-like activities of semi-synthetic α -phenylseleno citronellal. *Eur. J. Pharmacol.* 742 (2014) 131–138.
- [43] D.M. Martinez, A. Barcellos, A.M. Casaril, L. Savegnago, E.J. Lenardão, Antidepressant-like activity of dehydrozingerone: Involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 127 (2014) 111–117.
- [44] Y. Liang, Y. Zhou, S. Deng, T. Chen, Microwave-Assisted Syntheses of Benzimidazole Containing Selenadiazole Derivatives that Induce Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Breast Cancer Cells by Activation of the ROS/AKT Pathway. *ChemMedChem* 11 (2016) 2339–2346.

- [45] R. Terazawa, D.R. Garud, N. Hamada, Y. Fujita, T. Itoh, Y. Nozawa, K. Nakaned, T. Deguchi, M. Koketsu, M. Ito, Identification of organoselenium compounds that possess chemopreventive properties in human prostate cancer LNCaP cells. *Bioorg. Med. Chem.* 24 (2010) 7001–7008.
- [46] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, M. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (1999) 1231–1237.
- [47] C.W. Choi, S.C. Kim, S.S. Hwang, B.K. Choi, H.J. Ahn, M.Y. Lee, S.H. Park, S.K. Kim, Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci.* 163 (2002) 1161–116.
- [48] C. Loetchutinat, S. Kothan, S. Dechsupa, J.J.G.J. Meesungnoen, S. Mankhetkorn, Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2,7-dichlorofluorescein diacetate assay. *Radiat. Phys. Chem.* 72 (2005) 323–331.
- [49] J. Harvey, S.C. Hardy, M. L.J. Ashford, Dual actions of the metabolic inhibitor, sodium azide on K_{ATP} channel currents in the rat CRI-G1 insulinoma cell line. *Br. J. Pharmacol.* 126 (1999) 51–60.
- [50] H. Ohkawa, H. Ohishi, K. Yagi, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95 (1979) 351–358.
- [51] M.C. Alley, D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, M.R. Boyd, Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* 48 (1988) 589–601.
- [52] V.G. Ricordi, S. Thurow, F. Penteado, R.F. Schumacher, G. Perin, E.J. Lenardão, D. Alves, Copper-Catalyzed Direct Arylselenation of Anilines by C-H Bond Cleavage. *Adv. Synth. Catal.* 357 (2015) 933–939.
- [53] B.M. Vieira, S. Thurow, J.S. Brito, G. Perin, D. Alves, R. G. Jacob, C. Santi, E.J. Lenardão, Sonochemistry: An efficient alternative to the synthesis of 3-selanylindoles using CuI as catalyst. *Ultrasonics Sonochem.* 27 (2015) 192–199.
- [54] Z. Li, J. Hong, X. Zhou, An efficient and clean CuI-catalyzed chalcogenylation of aromatic azaheterocycles with dichalcogenides. *Tetrahedron* 67 (2011) 3690–3697.

- [55] I. Gülçin, Antioxidant activity of L-adrenaline: a structure-activity insight. *Chem.-Biol. Interact.* 179 (2009) 71–80.
- [56] A.L.B.S. Barreiros, J.M. David, J.P. David, Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas. *Quím. Nova* 29 (2006) 113–123.
- [57] M. Liu; P.L. Xu, Z.J. Wang, Synthesis and antitumor activity of substituted benzaldehyde/cinnamicaldehyde selenosemicarbazones. *Yao Xue Xue Bao* 27 (1992) 388–393.
- [58] Z. Wen, X. Li, D. Zuo, B. Lang, Y. Wu, M. Jiang, H. Ma, K. Bao, Y. Wu, W. Zhang, Ultrasound-promoted two-step synthesis of 3-arylselenylindoles and 3-arylthioindoles as novel combretastatin A-4 analogues. *Sci. Rep.* 6 (2016) 23986.
- [59] (a) B.S. Reddy, T.T. Wynn, K. el-Bayoumy, P. Upadhyaya, E. Fiala, C.V. Rao, Evaluation of organoselenium compounds for potential chemopreventive properties in colon cancer. *Anticancer Res.* 16 (1996) 1123–1127; (b) B.S. Reddy, C.V. Rao, K. el-Bayoumy, P. Upadhyaya, A. Rivenson, L. Martin, B. Pittman, Chemoprevention of Colon Cancer by Organoselenium Compounds and Impact of High- or Low-Fat Diets. *J. Nat. Cancer Inst.* 89 (1997) 506–512.
- [60] T.S. Reddy, H. Kulhari, V.G. Reddy, V. Bansal, A. Kamal, R. Shukla, Design, synthesis and biological evaluation of 1,3-diphenyl-1H-pyrazole derivatives containing benzimidazole skeleton as potential anticancer and apoptosis inducing agents. *Eur. J. Med. Chem.* 101 (2015) 790–805.

Ultrasound-promoted copper-catalyzed synthesis of bis-arylselanyl chrysin derivatives with boosted antioxidant and anticancer activities

Sergio F. Ferraz,^a Nathalia B. Padilha,^a Samuel Thurow,^a Juliano A. Roehrs,^a Lucielli Savegnago,^{b,*} Maurice N. de Souza,^b Mariana G. Fronza,^b Tiago Collares,^c Julieti Buss,^c Fabiana K. Seixas,^c Diego Alves^a, Eder J. Lenardão^{a,*}

^a Laboratório de Síntese Orgânica Limpa - LASOL - CCQFA - Universidade Federal de Pelotas - UFPel, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brazil. Phone/Fax: +55 (53) 3275-7533; e-mail: lenardao@ufpel.edu.br. ^b Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia - GPN, CDTec, Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas, RS, Brazil; e-mail: luciellisavegnago@yahoo.com.br ^c Research Group on Cellular and Molecular Oncology, CDTec, Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas, RS, Brazil.

Contents

General Information.....	S2
General Procedure for the Synthesis of Bis-arylselanyl Chrysin 3.....	S2
Selected NMR Spectra.....	S5
High Resolution Mass Spectra (HRMS) of Compounds 3a-f.....	S12
Antioxidant activity assays.....	S15

General Information: The TLC used to follow the reactions were carried out on Merck silica gel (60 F₂₅₄) by using UV light as visualizing agent and 5% vanillin in 10% H₂SO₄ and heat as developing agents. Sigma Aldrich silica gel (particle size 230-400 mesh) was used for flash chromatography. Proton nuclear magnetic resonance spectra (¹H NMR) were obtained at 400 MHz on a Bruker DPX 400 spectrometer. Spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO solutions. Chemical shifts are reported in ppm, referenced to tetramethylsilane (TMS) as the external reference. Hydrogen coupling patterns are described as singlet (s), doublet (d), double doublet (dd), double triplet (dt), double double doublet (ddd), triplet (t), quintet (qui), sextet (sex), multiplet (m), and broad singlet (bs). Coupling constants (*J*) are reported in Hertz. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra (¹³C NMR) were obtained at 100 MHz on a Bruker DPX 400 spectrometer. Chemical shifts are reported in ppm, referenced to the solvent peak of CDCl₃ or DMSO.

The ultrasound-promoted reactions were performed using a Cole Parmer-ultrasonic processor Model CPX 130, with a maxim power of 130 W, operating at amplitude of 60% and a frequency of 20 kHz. The temperature of the reaction under US was monitored using a Incoterm digital infrared thermometer Model Infraterm (Brazil). High-resolution mass spectra (HRMS) were obtained for all compounds on a LTQ Orbitrap Discovery mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific). This hybrid system meets the LTQ XL linear ion trap mass spectrometer and an Orbitrap mass analyzer. The experiments were performed via direct infusion of sample (flow: 10 µL/min) in the positive-ion mode using electrospray ionization. Elemental composition calculations for comparison were executed using the specific tool included in the Qual Browser module of Xcalibur (Thermo Fisher Scientific, release 2.0.7) software. Mass spectra (MS) were measured on a Shimadzu GCMS-QP2010 mass spectrometer. Melting point (mp) values were measured in a Marte PFD III instrument with a 0.1 °C precision.

General Procedure for the Synthesis of Bis-arylselanyl Chrysins 3a-f

Method A (Ultrasound-promoted): To a 10 mL round bottomed glass vial containing a solution of the appropriate diorganyl diselenide **2a-f** (0.75 mmol) in DMSO (2.0 mL), chrysin **1** (0.127 g; 0.5 mmol) and CuI (5 mol%, 0.0048 g) were added. The US probe was placed in the reaction vial, which was sonicated (20

KHz, 60% of sonic amplitude) for the time indicated in Table 2. The reaction temperature was monitored and after 5 min it was around 120-130 °C, which was maintained until the end of the reaction. The reactions were monitored by TLC in order to evaluate the starting materials' consumption. After that, the reaction mixture was received in NH₄Cl saturated solution (15 mL), extracted with ethyl acetate (3 × 15 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel by removing the unreacted ArSeSeAr **2** using hexanes and then 80:20 hexanes/ethyl acetate as eluents to remove product **3**. **Method B** (Microwave-promoted): The glass tube contained the above reaction mixture was sealed and placed in a CEM Discover microwave apparatus. A maximum irradiation power of 200 W (temperature of 120 °C) was applied for 2.5 h.

5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselanyl)-4H-chromen-4-one (3a): Yield: 0.251 g (89%); yellow solid; mp: 188.7–190.6 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.08 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.52 – 7.38 (m, 2H), 7.33 – 7.31 (m, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 3H), 6.72 (s, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 180.6, 163.8, 163.2, 162.3, 157.1, 130.5, 130.3, 130.0, 128.9, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 124.9, 124.7, 124.6, 103.8, 103.7, 97.8, 91.7. HRMS: Calculated for C₂₇H₁₉O₄Se₂ [M + H⁺]: 566.9614. Found: 566.9614.

5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(o-tolylselanyl)-4H-chromen-4-one (3b): Yield: 0.260 g (88%); yellow solid; mp: 195.3–197.6 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.07 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.51–7.41 (m, 4H), 7.16–7.05 (m, 5H), 6.98–6.91 (m, 3H), 6.72 (s, 1H), 2.50 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 182.4, 165.3, 164.6, 164.3, 159.1, 138.0, 137.3, 132.1, 131.7, 130.9, 130.7, 130.4, 130.3, 129.8, 129.1, 129.0, 127.0, 126.9, 126.8, 126.7, 126.6, 106.2, 105.7, 99.2, 92.3, 21.8, 21.6. HRMS: Calculated for C₂₉H₂₃O₄Se₂ [M + H⁺]: 594.9927. Found: 594.9926.

5,7-dihydroxy-6,8-bis((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenyl-4H-chromen-4-one (3c): Yield: 0.187 g (60%); yellow solid; mp: 201.1–203.9 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 14.00 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.50–7.32 (m, 7H),

6.76-6.70 (m, 5H), 3.74-3.70 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 182.5, 164.6, 164.4, 163.6, 159.7, 159.4, 158.5, 134.0, 132.9, 132.1, 131.0, 129.2, 126.6, 121.1, 120.3, 115.2, 115.1, 106.0, 105.5, 101.3, 94.3, 55.3 ($2\times\text{OCH}_3$). HRMS: Calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{O}_6\text{Se}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 626.9826, found: 626.9826.

6,8-bis((4-fluorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one

(3d): Yield: 0.240 g (80%); brownish solid; mp: 198.3–200.1 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 14.15 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.92-7.90 (m, 2H), 7.58-7.49 (m, 2H), 7.46-7.43 (m, 1H), 7.37-7.33 (m, 1H), 6.95-6.87 (m, 2H), 6.77 (s, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 182.4, 164.8, 164.4, 163.5, 162.45 (C-F, d, J = 247.4 Hz), 162.2 (C-F, d, J = 247.2 Hz), 158.7, 133.5 (C-F, d, J = 7.9 Hz), 132.5 (C-F, d, J = 7.8 Hz), 132.3, 130.6, 129.2, 126.5, 125.3 (C-F, d, J = 3.3 Hz), 124.4 (C-F, d, J = 3.4 Hz), 116.6 (C-F, d, J = 21.7 Hz), 116.5 (C-F, d, J = 21.7 Hz), 106.0, 105.5, 100.4, 93.4. HRMS: Calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{O}_4\text{Se}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 602.9425. Found: 602.9419.

6,8-bis((4-chlorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one

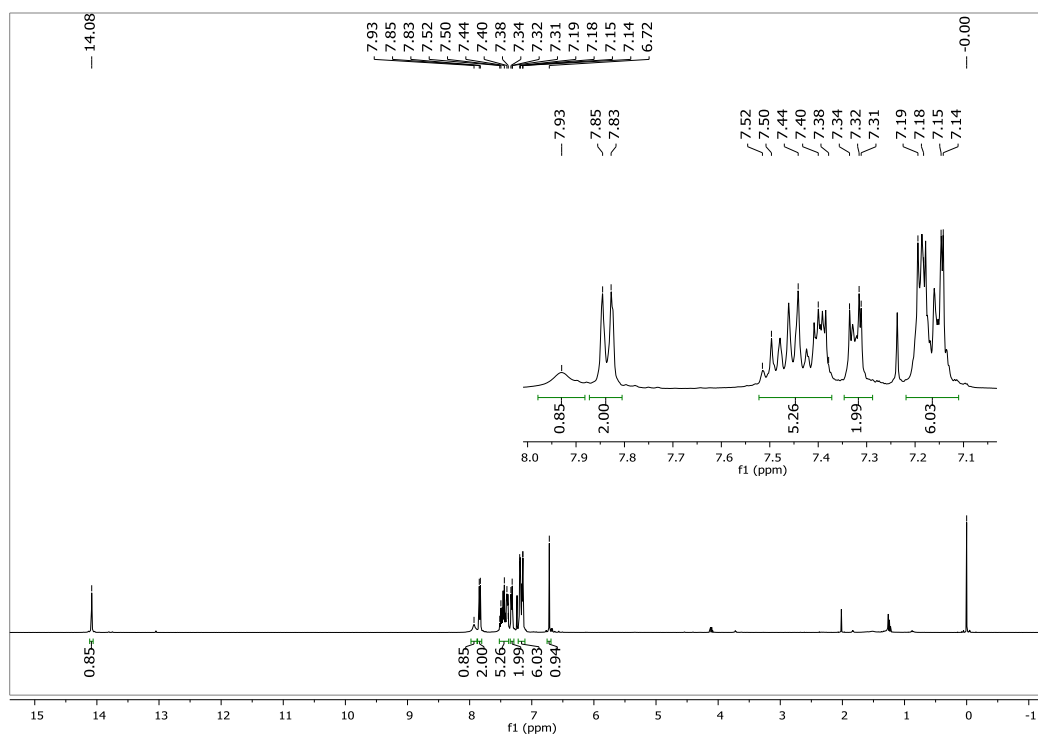
(3e): Yield: 0.231 g (73%); brown solid; mp: 212.9–215.1 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 14.18 (s, 1H), 7.88 (d, J = 7.8 Hz, 3H), 7.57-7.48 (m, 3H), 7.34 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.27-7.25 (m, 2H), 7.20-7.14 (m, 4H), 6.77 (s, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 182.3, 165.1, 164.5, 163.6, 158.8, 133.6, 133.2, 132.4, 132.3, 131.3, 130.5, 129.5, 129.4, 129.2, 129.1, 128.1, 126.5, 106.0, 105.6, 99.8, 92.8. HRMS: Calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{O}_4\text{Se}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 634.8826. Found: 634.8807.

5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((3-(trifluoromethyl)phenyl)selanyl)-4H-chromen-4-one (3f):

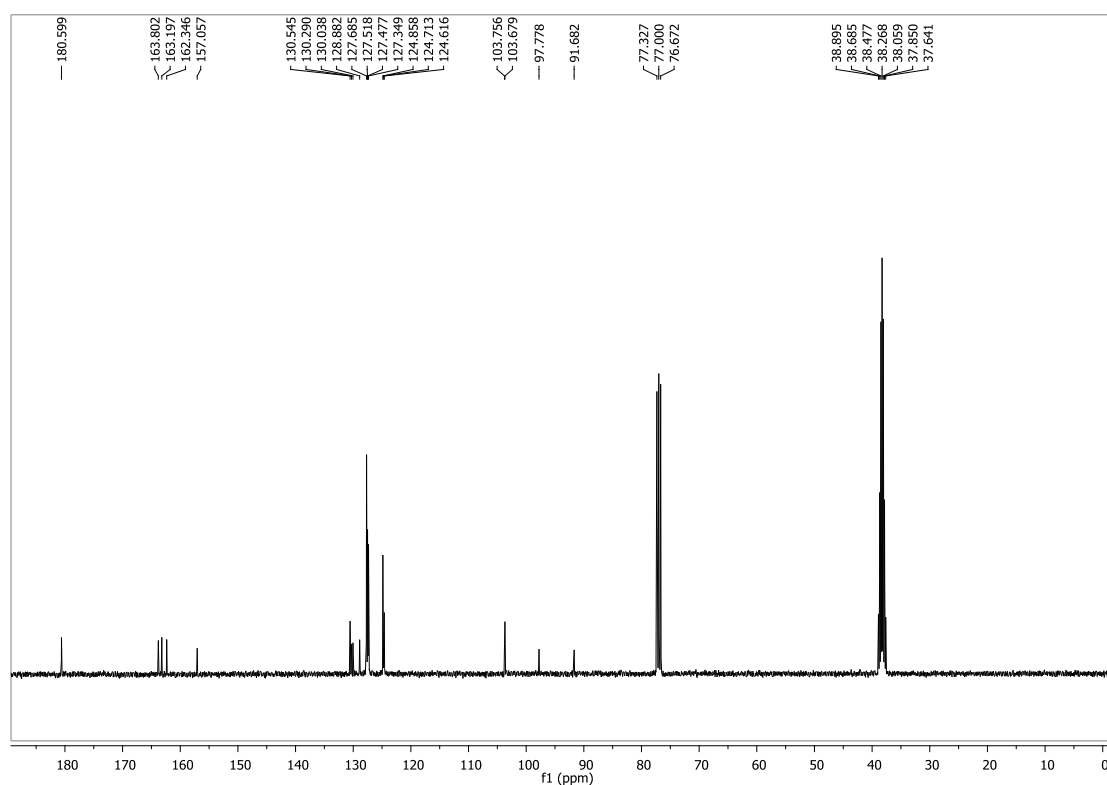
Yield: 0.311 g (89%); white solid; mp: 195.5–197.4 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 14.19 (s, 1H), 7.84 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.68-7.63 (m, 2H), 7.55-7.40 (m, 8H), 7.34-7.27 (m, 2H), 6.75 (s, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ = 182.2, 165.5, 164.7, 163.7, 158.6, 133.7, 133.5, 132.7, 132.5, 132.4, 130.0, 129.9, 129.7, 129.6, 129.1, 126.4, 125.1, 125.09, 125.07, 122.9, 122.9, 122.85, 122.81, 122.8, 105.3, 105.2, 98.7, 93.0. HRMS: Calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{O}_4\text{Se}_2$ [$\text{M} + \text{H}^+$]: 702.9361. Found: 702.9347.

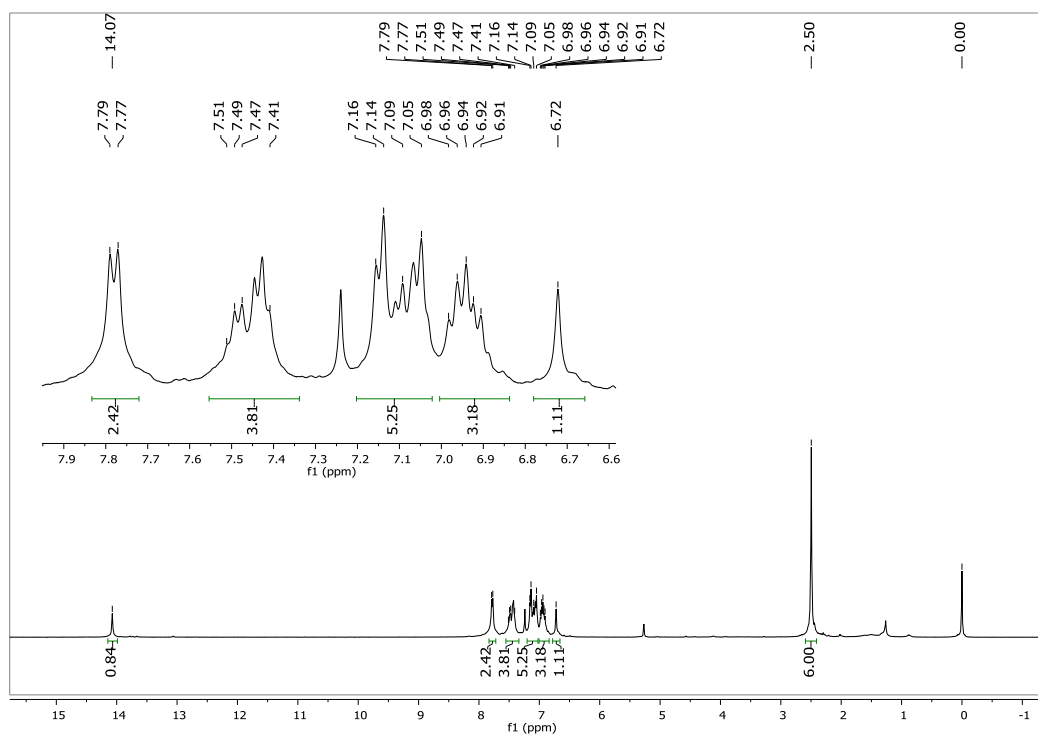
Selected Spectra



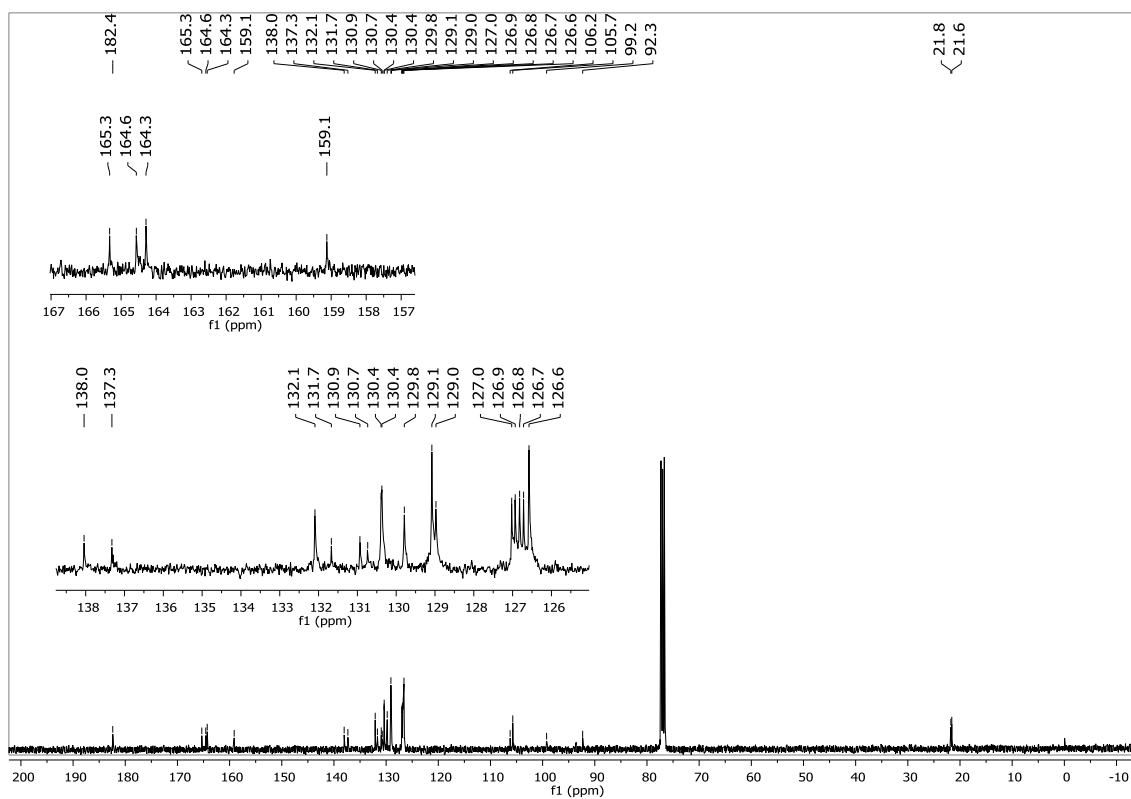
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃/DMSO) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3a**).



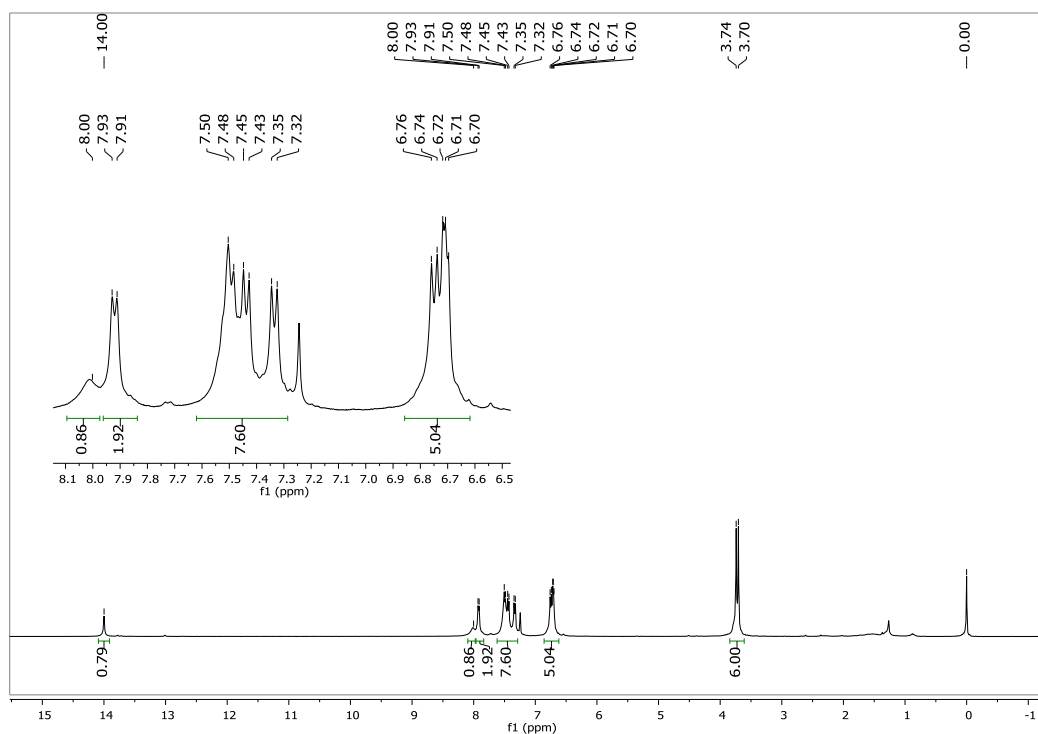
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃/DMSO) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3a**).



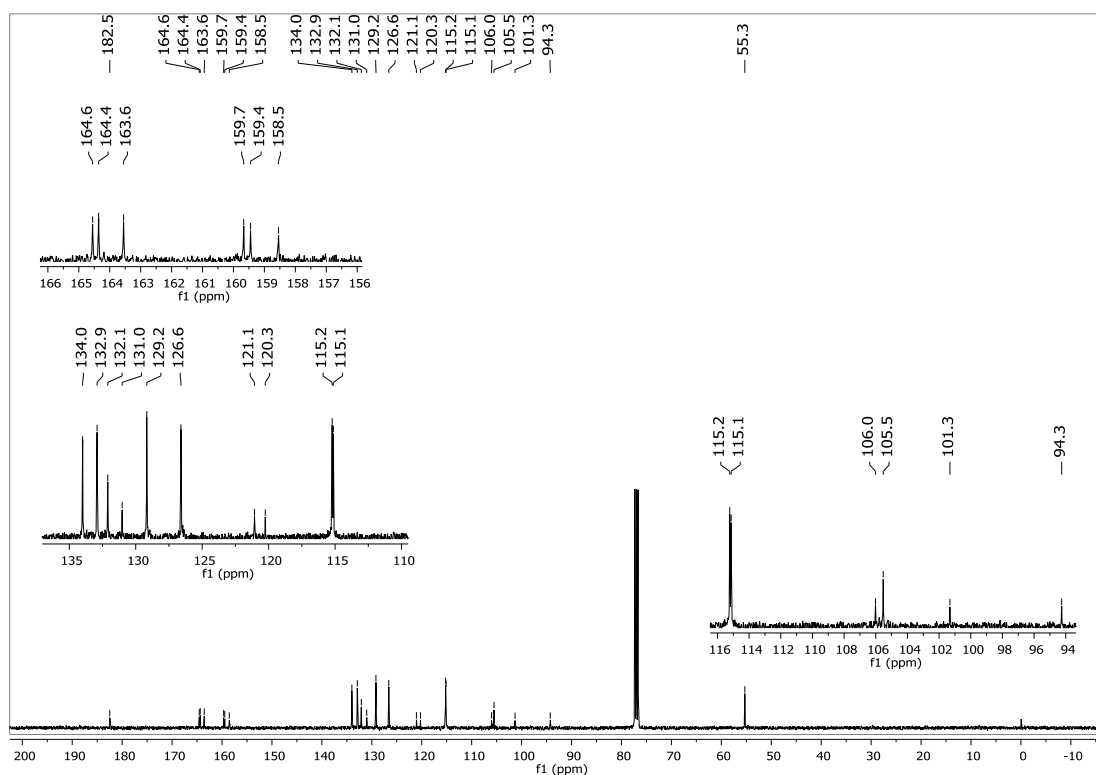
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(o-tolylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3b**)



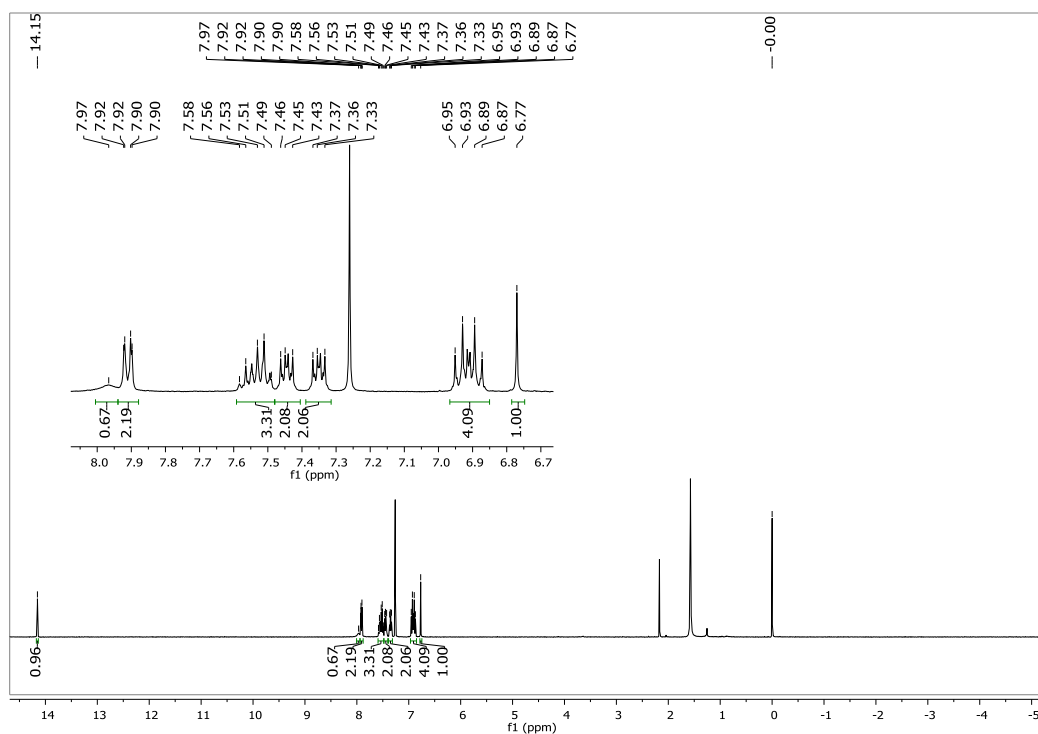
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(o-tolylselanyl)-4H-chromen-4-one (**3b**)



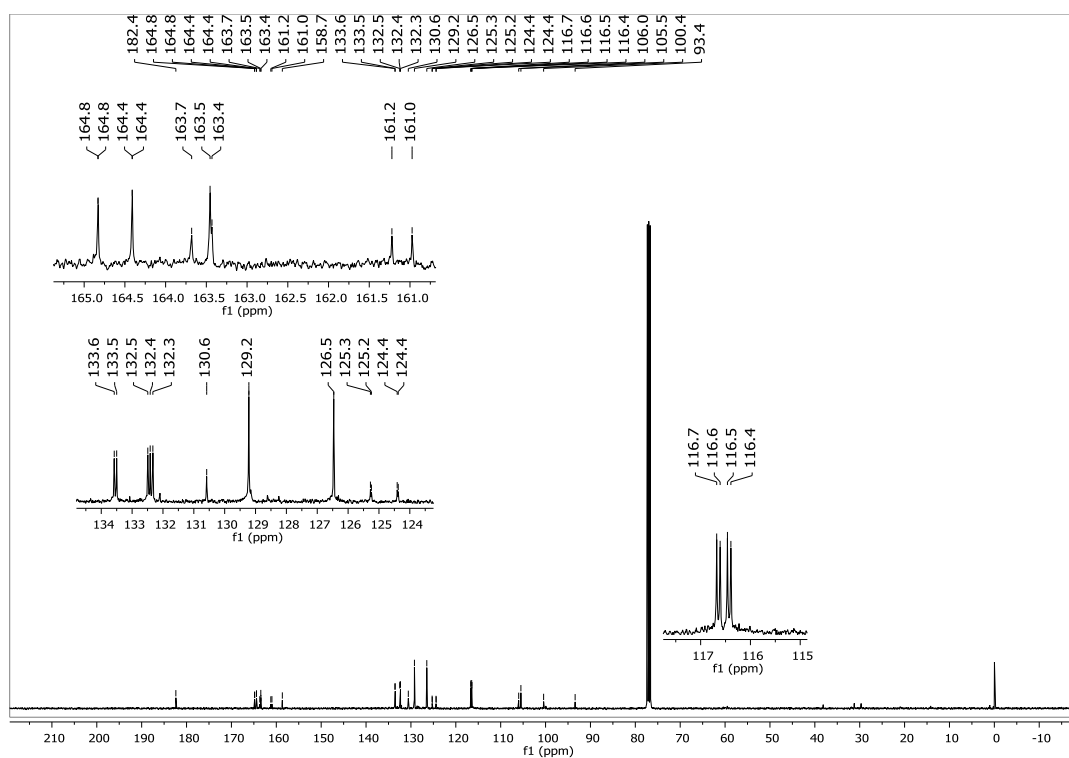
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum of 5,7-dihydroxy-6,8-bis((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3c**)



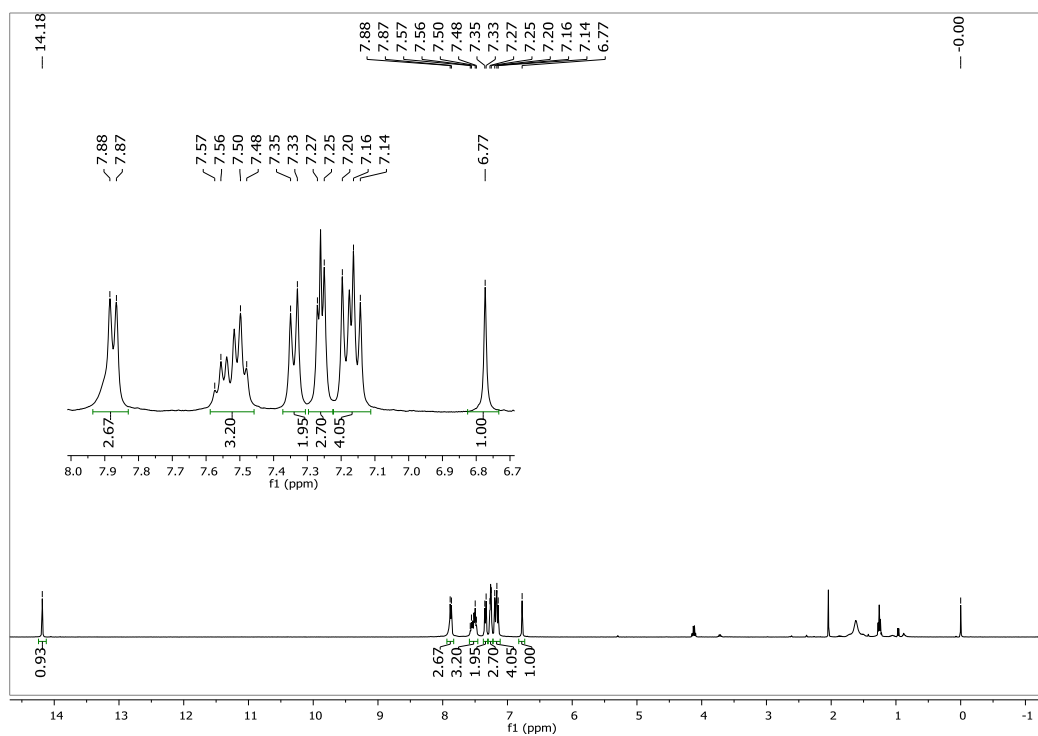
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum of 5,7-dihydroxy-6,8-bis((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3c**)



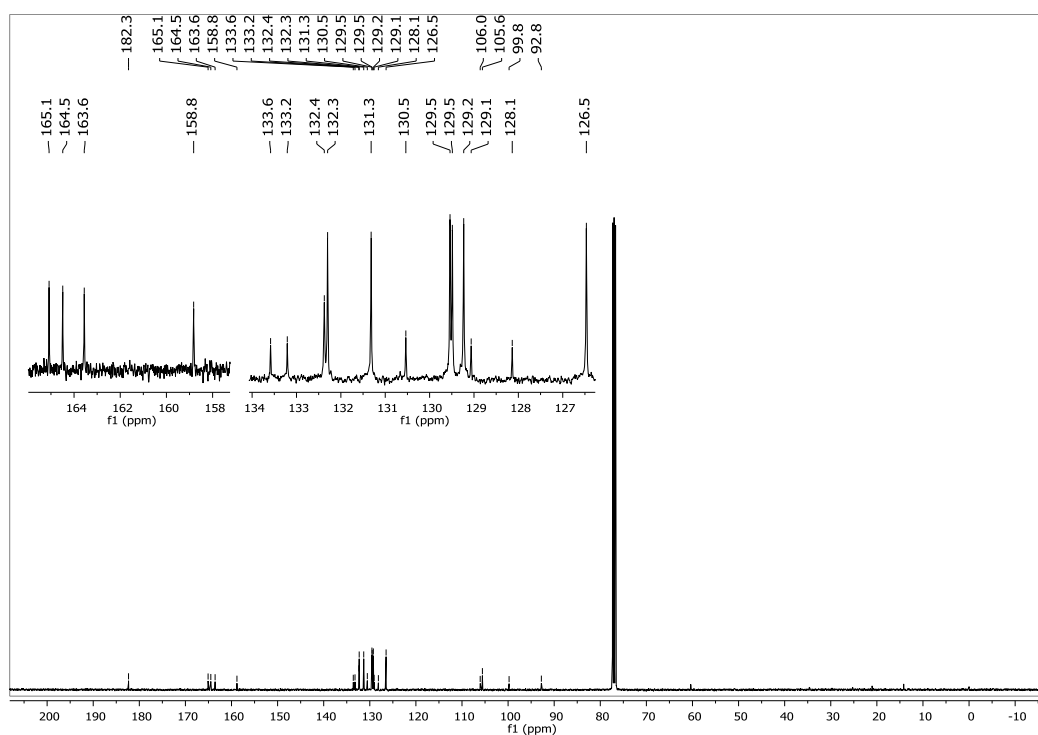
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum of 6,8-bis((4-fluorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one (**3d**)



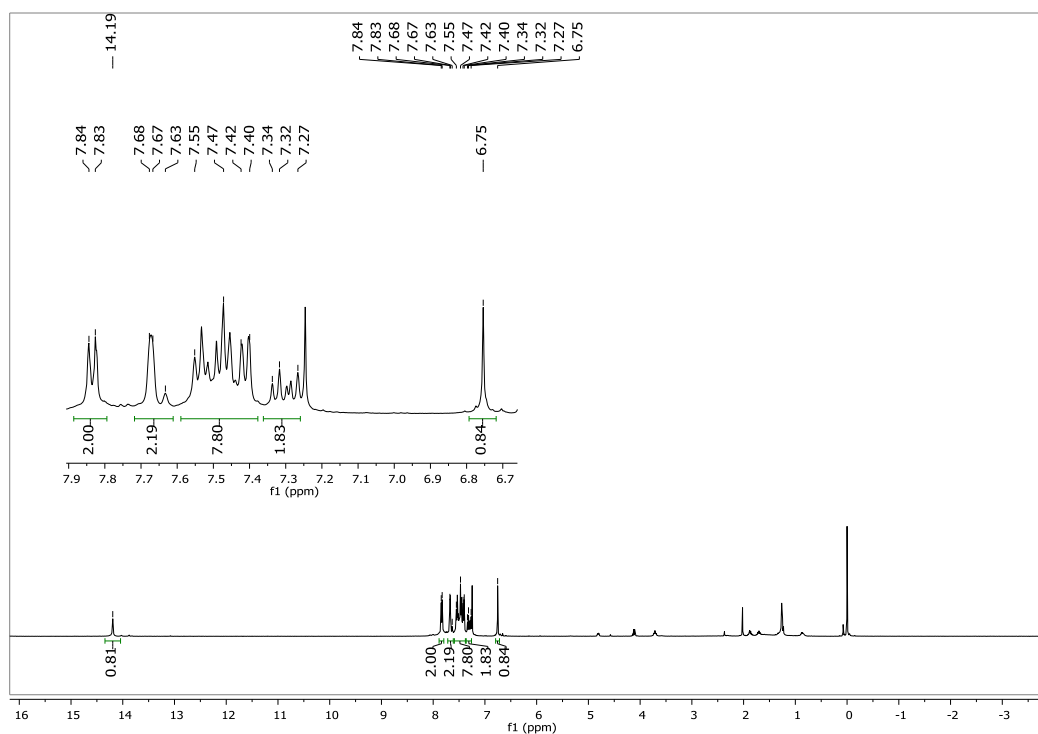
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum of 6,8-bis((4-fluorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one (**3d**)



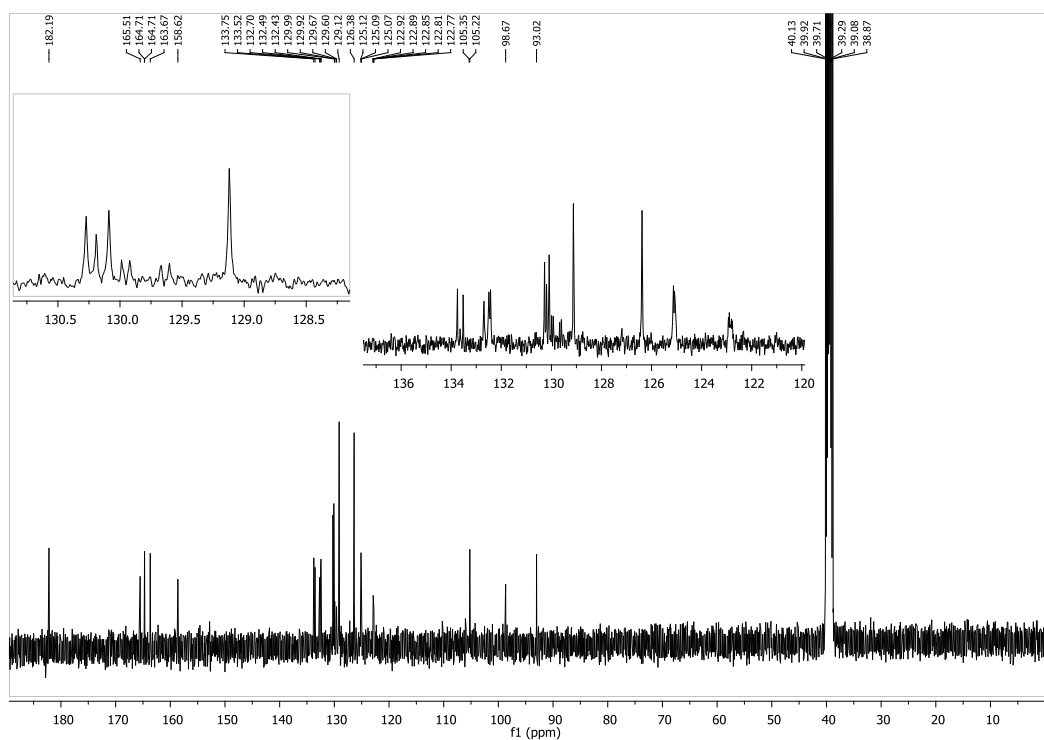
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum of 6,8-bis((4-chlorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3e**)



¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum of 6,8-bis((4-chlorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3e**)

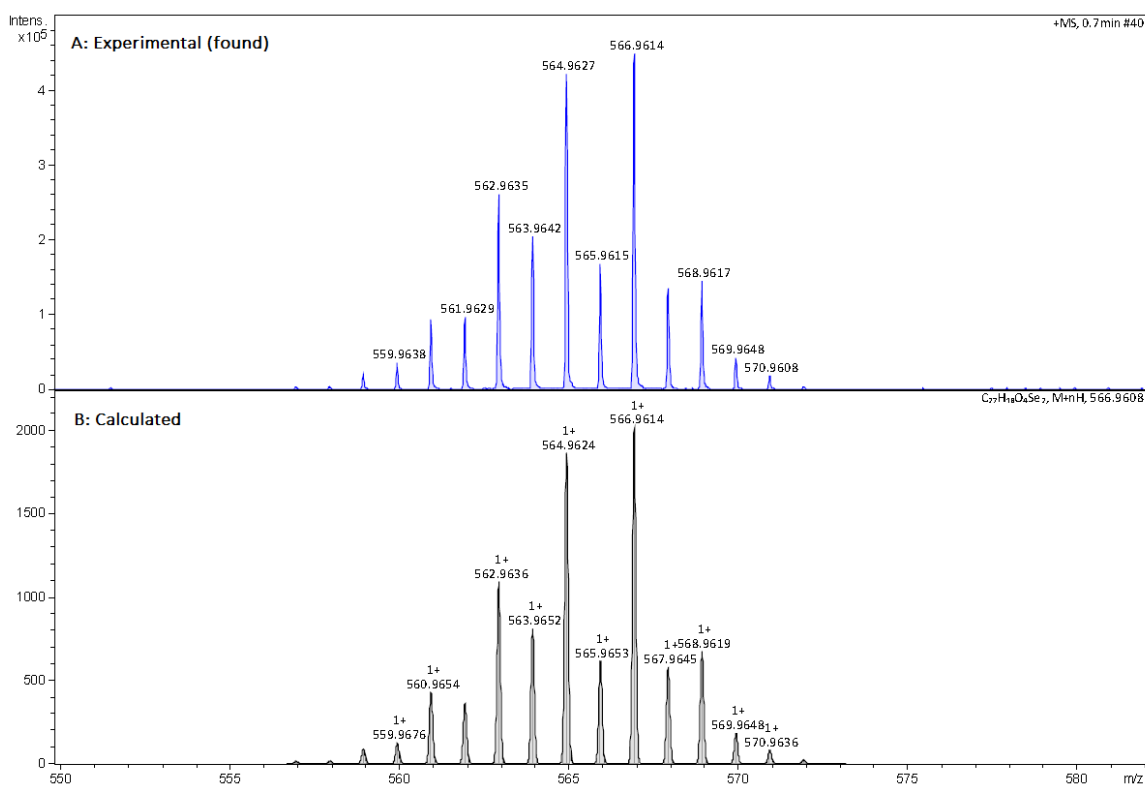


¹H NMR (400 MHz, DMSO) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((3-(trifluoromethyl)phenyl)selanyl)-4H-chromen-4-one (**3f**)

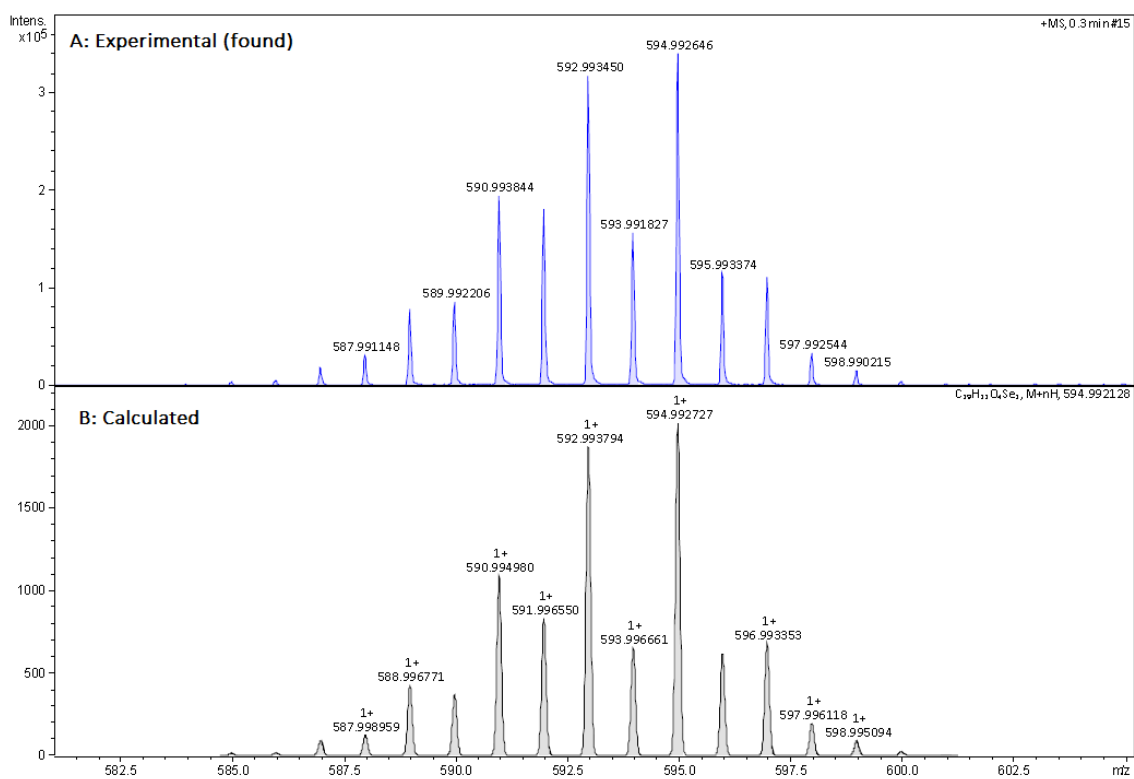


¹³C NMR (100 MHz, DMSO) spectrum of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((3-(trifluoromethyl)phenyl)selanyl)-4H-chromen-4-one (**3f**)

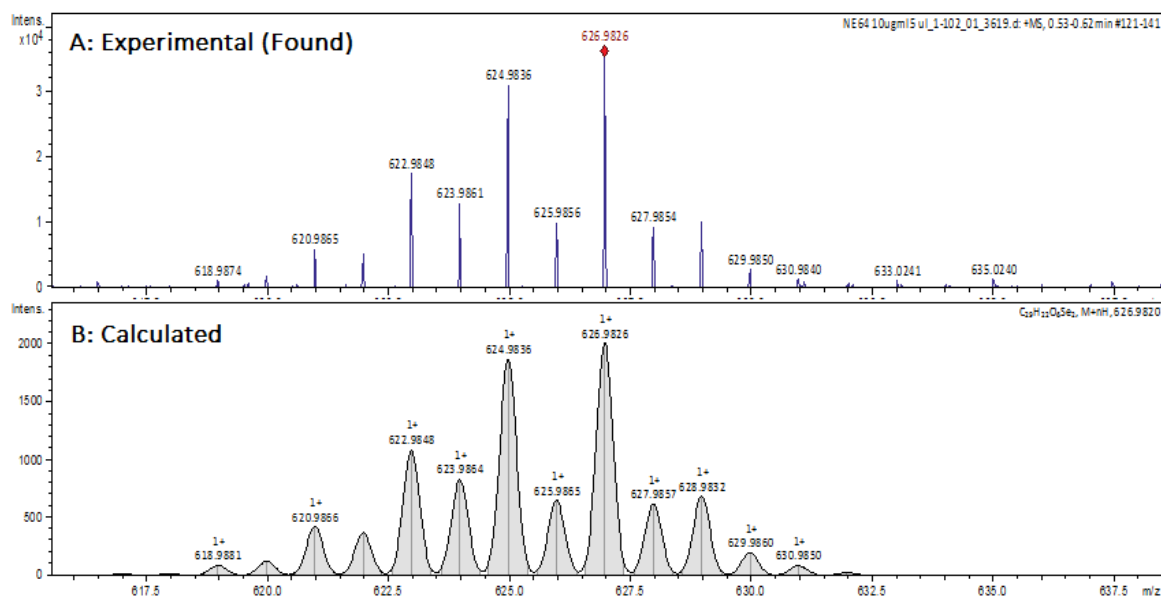
High Resolution Mass Spectra (HRMS) of Compounds 3a-f



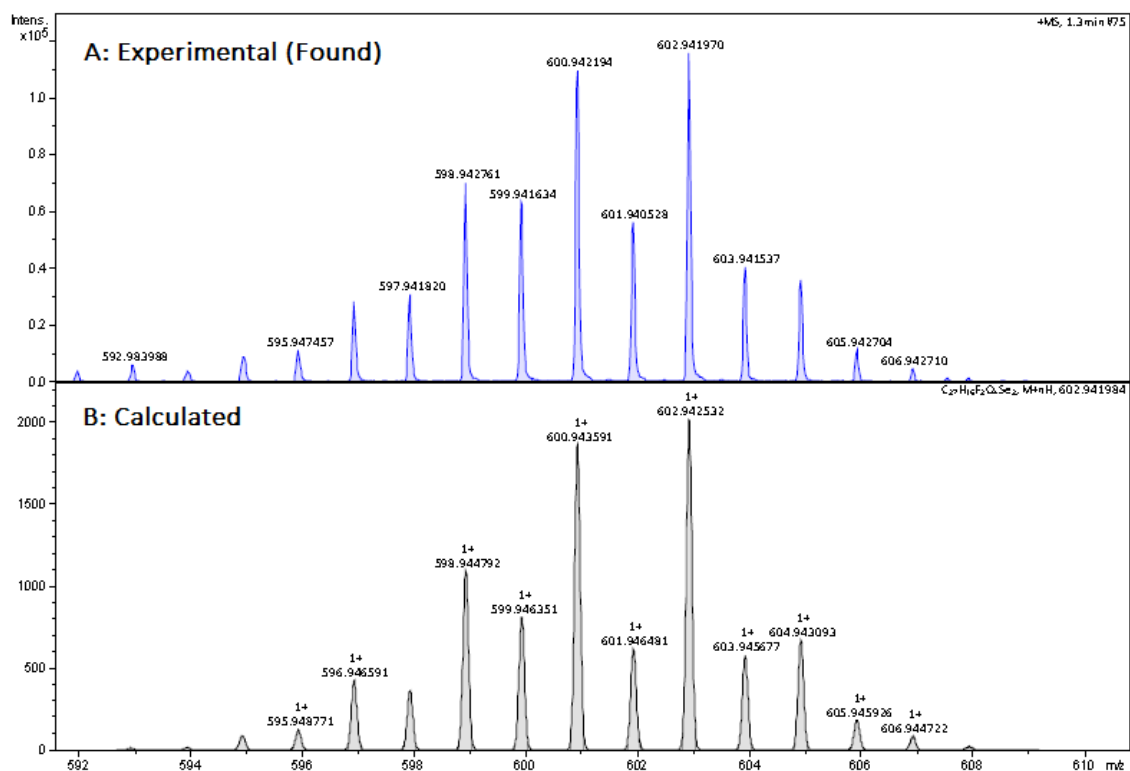
HRMS of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(phenylselanyl)-4*H*-chromen-4-one (**3a**) [M+1].



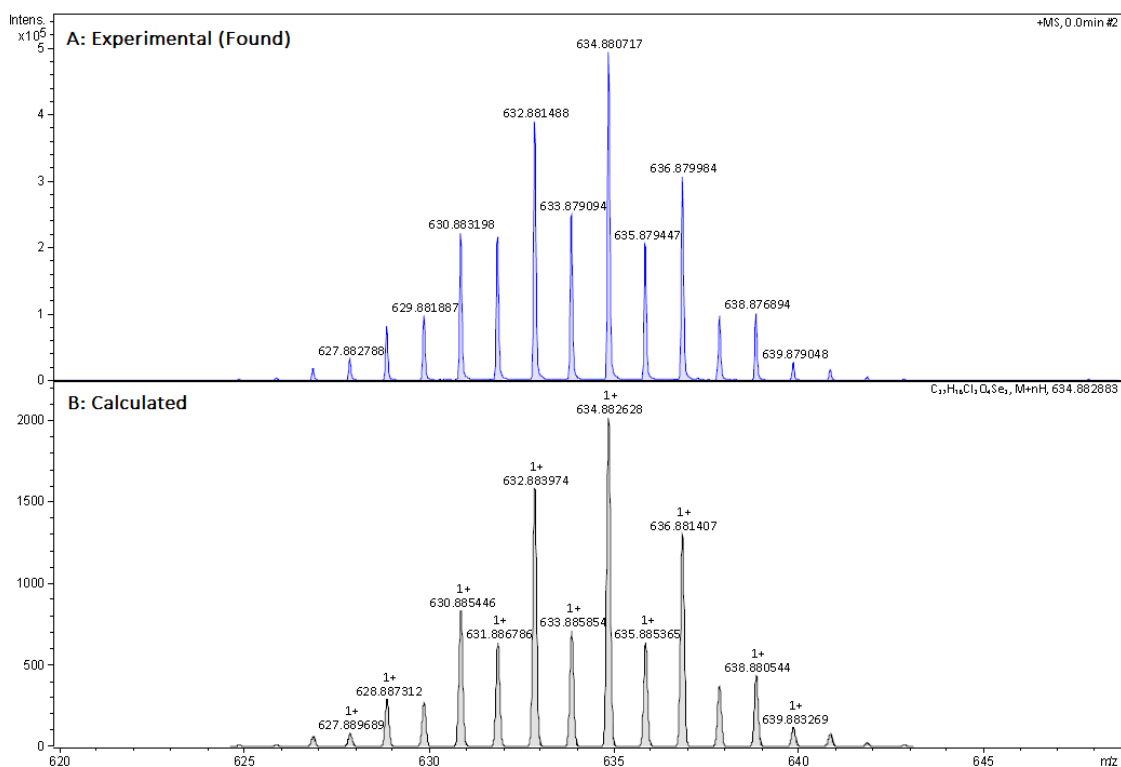
HRMS of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis(o-tolylselanyl)-4*H*-chromen-4-one (**3b**) [M+1].



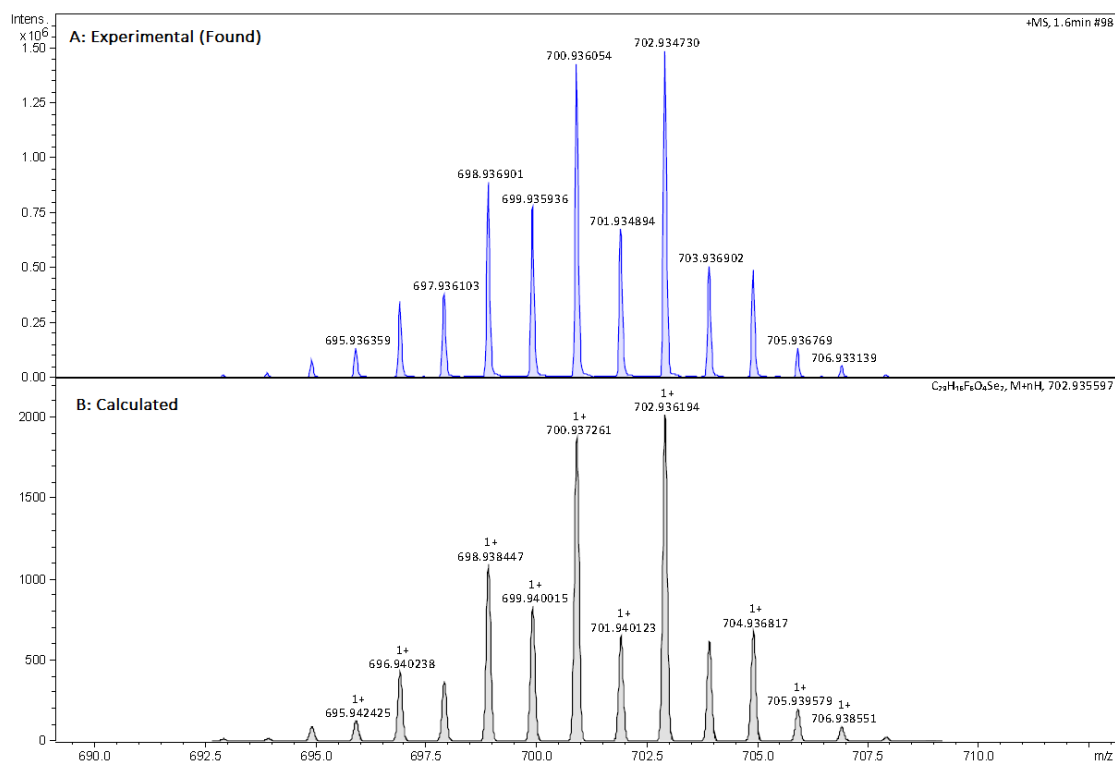
HRMS of 5,7-dihydroxy-6,8-bis((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3c**) [M+1].



HRMS of 6,8-bis((4-fluorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3d**) [M+1].



HRMS of 6,8-bis((4-chlorophenyl)selanyl)-5,7-dihydroxy-2-phenyl-4*H*-chromen-4-one (**3e**) [$M+1$].



HRMS of 5,7-dihydroxy-2-phenyl-6,8-bis((3-(trifluoromethyl)phenyl)selanyl)-4*H*-chromen-4-one (**3f**) [$M+1$].

2.3 Antioxidant activity assays

The antioxidant properties of new compounds **3a-f** were evaluated by different methods *in vitro*: DPPH and ABTS⁺, nitric oxide (NO) and hydroxyl radical (OH•) scavenging, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), ferrous ion chelating and superoxide dismutase (SOD) like activity. The results obtained were compared with those of chrysin **1**. Because no activity was observed in the NO, OH•, FRAP, ferrous ion chelating and SOD-like assays, these procedures will not be discussed here. All compounds were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers.

2.3.1 Assays without tissue homogenates

2.3.1.1 2,20-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) and 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assays:

The ABTS method is based on the ability of molecules to quench the long-lived ABTS radical cation, a blue/green chromophore with characteristic absorption at 734 nm. The ABTS⁺ assay is based on a single electron transfer and was determined according to the method described by Re et al. [1] with some modifications. Different concentrations of compounds (0.1-100 µM) were mixed with the ABTS⁺ solution, and the decrease in the absorbance at 734 nm was recorded. Results are depicted in Table S1.

The stable radical DPPH is commonly used as a substrate to evaluate *in vitro* antioxidant activity. The principle of the DPPH assay involves an electron transfer reaction and a hydrogen-atom abstraction. Thus, the assay is based on the measurement of the scavenging ability of antioxidants towards the DPPH radical. The scavenging activity of compounds **1** and **3a-f** (10-500 µM) was determined according to the method of Choi et al. [2] with some modifications and the results are showed in Table S2.

The values are expressed as the percentages of radical inhibition absorbance (I%) in relation to the control values, as calculated by the following equation:

$$I\% = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

A_c is the absorbance of the control excluding the test compounds, and A_s is the absorbance of the tested compounds.

2.3.2 Assays with tissue homogenates

Tissue preparation: Swiss male mice (25-30 g) were euthanized, and the cerebral tissue was rapidly removed and placed on ice. The cortex and hippocampus were dissected, kept chilled and homogenized in 50 mM Tris-HCl at pH 7.4 (1/4, weight/volume [w/v]). The homogenate was centrifuged for 10 min at 2500 rpm to yield a pellet, that was discarded, and a low-speed supernatant (S₁) for each tissue. All procedures were made according to the guidelines of the Committee of Care and Use of Experimental Animal Resources at the Federal University of Pelotas, Brazil (1877–2016).

2.3.2.1 Reactive Species (RS) assay

The quantification of RS levels in the cortex and hippocampus of mice was performed according Loetchutinat et al. [3] Briefly, 10 µL of 1 mM dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) was incubated with 10 µL of S₁, 2950 µL of 10 mM Tris-HCl pH 7.4, 10 µL of each compound and 30 µL of azide. The oxidation of DCFH-DA to fluorescent dichlorofluorescein (DCF) is measured for the detection of intracellular ROS. The generation of RS can be induced by a variety of oxidants, one of them is azide, which acts by inhibiting the electron transport in Complex IV. [4] Results on the inhibition in the formation of RS induced by DCF in mice cortex and hippocampus are showed in Tables S3 and S4, respectively.

2.3.2.2 Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) assay

The potential in inhibiting the lipid peroxidation in cortex and hippocampus of mice was evaluated using all compounds, at concentrations of 0.01-100 µM, by the formation of TBARS during an acid-heating reaction, as previously described by Ohkawa et al. [5] The peroxidation was induced by SNP and the levels of TBARS were determined spectrophotometrically at 532 nm. Results are displayed in Tables S5 and S6.

2.4 *In vitro* evaluation of cell growth inhibition capacity

The human lung adenocarcinoma (A549) was obtained from the Rio de Janeiro Cell Bank (PABCAM, Federal University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil) and

cultured as described in Supporting Informaiton. The proliferation of the A549 cell line was determined by MTT assay, according described elsewhere [6].

Cell culture: The human lung adenocarcinoma (A549) obtained from the Rio de Janeiro Cell Bank (PABCAM, Federal University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil) were cultured in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and kept at 37 °C, 5% CO₂ and 95% humidified air. The experiments were performed with the cells in logarithmic phase of growth.

2.4.1 Colorimetric MTT Assay

The proliferation of the A549 cell line was determined by MTT assay. [6] This method is based on the selective ability of living cells to reduce the yellow soluble salt of MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) to a intense blue insoluble formazan precipitate. The viable cell number is proportional to the production of formazan salts. For this assay, the cells were plated at a density of 2×10^4 cell per well in 96-well plates in a total volume of 100 μ L. The plates were maintained at 37 °C in a 5% CO₂ atmosphere for 24 h until the execution of the cell viability assay. After, the cells were treated with the synthesized compounds **3a-f** and chrysin **1** at concentrations of 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25.0 and 50.0 μ M or DMSO vehicle alone, for 24 h, 48 h and 72 h. After the incubation times, 20 μ L of MTT was added to each well, and the cells were incubated during 3 h at 37 °C. After this time, the medium was removed and crystals of formazan were dissolved in DMSO. Finally, the absorbance was measured at 492 nm using a microplate reader (iMarkTM, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). The inhibition (%) of cell proliferation was determined as follows: inhibitory growth = $(1 - \text{Abs.492nm treated cells} / \text{Abs.492nm control cells}) \times 100\%$. The data were validated by three independent experiments in triplicate for each experiment. The IC₅₀ (concentration μ M that inhibits 50% of cell growth) was calculated using GraphPad Prism 5.0 Software.

2.5 Statistical Analysis

The experimental results were given as the means $\pm$ standard deviation (SD) to show the variations among the groups. The statistical analysis was performed using one-way and two-way ANOVA followed by Newman-Keuls

multiple comparison test when appropriate. The differences were considered statistically significant at a probability of less than 5% ($p < 0.05$). All tests were performed at least three times in duplicate. The IC_{50} values (the concentration of sample required to scavenge 50% of the free radicals) were calculated from the graph of the scavenging effect percentage *versus* the compound concentration.

Table S1. Effect of Se-chrysin **3a-3f** on ABTS⁺ radical scavenging.

Concentration (μ M)	Compound						
	1	3a	3b	3c	3d	3e	3f
0.1	2.5 $\pm$ 3.1	0.21 $\pm$ 0.36	0	0.90 $\pm$ 1.55	1.32 $\pm$ 0.21	2.13 $\pm$ 1.99	3.90 $\pm$ 0.86
1	13.8 $\pm$ 7.2	10.16 $\pm$ 0.77**	10.33 $\pm$ 2.01*	8.64 $\pm$ 2.48*	11.39 $\pm$ 0.54***	12.57 $\pm$ 1.76**	12.81 $\pm$ 1.84**
5	60.1 $\pm$ 17.0***	49.71 $\pm$ 7.04***	41.11 $\pm$ 8.15***	41.96 $\pm$ 3.36***	45.67 $\pm$ 3.68***	32.81 $\pm$ 2.94***	38.14 $\pm$ 8.54***
10	91.6 $\pm$ 3.9***	86.95 $\pm$ 1.23***	68.78 $\pm$ 2.63***	77.14 $\pm$ 2.94***	84.47 $\pm$ 2.70***	39.94 $\pm$ 3.00***	51.87 $\pm$ 6.82***
50		95.83 $\pm$ 1.04***	85.06 $\pm$ 3.87***	91.57 $\pm$ 5.89***	95.51 $\pm$ 1.34***	54.80 $\pm$ 5.15***	70.93 $\pm$ 2.52***
100		-	-	-	96.29 $\pm$ 1.38***	61.07 $\pm$ 4.65***	79.10 $\pm$ 1.70***
IC_{50} (μ M)	5	5.13 $\pm$ 0.73	6.5 $\pm$ 1.04	6.17 $\pm$ 0.46	5.55 $\pm$ 0.41	39.73 $\pm$ 15.23	11.37 $\pm$ 5.80
I_{max} (%)		95.83 $\pm$ 1.04	85.06 $\pm$ 3.87	91.57 $\pm$ 5.89	96.29 $\pm$ 1.38	61.07 $\pm$ 4.65	79.10 $\pm$ 1.70

Data are expressed as mean $\pm$ SD ($n = 3$) of absorbance at 734 nm, the results are calculated as % of inhibition. . (°) $p < 0.05$; (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$, when compared with control sample by Student–Newman-Keuls. “-” is used when the result is not applied. IC_{50} = concentration (μ M) to decrease 50% of ABTS⁺ radical formation; I_{max} = % maximal inhibition.

Table S2. Effect of Se-chrysin **3b** on DPPH radical scavenging.

Concentration of 3b (μ M)	% of inhibition
10	2.21 $\pm$ 1.91
50	7.77 $\pm$ 2.16
100	12.50 $\pm$ 5.85**
250	25.62 $\pm$ 4.00***
500	39.79 $\pm$ 4.67***
I_{max} (%)	39.79 $\pm$ 4.67

Data are expressed as mean $\pm$ SD ($n = 3$) of absorbance at 517 nm, the results are calculated as % of inhibition. (°) $p < 0.05$; (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$, when compared with control sample by Student–Newman-Keuls. IC_{50} = concentration (μ M) to decrease 50% of DPPH radical formation; I_{max} = % maximal inhibition.

Table S3. Effect of compounds Se-chrysin **3a-3f** and chrisyn **1** in the formation of RS induced by azide in mice cortex.

Concentration (μM)	Compound						
	1	3a	3b	3c	3d	3e	3f
1	93.16 $\pm$ 11.47	67.85 $\pm$ 14.98***	67.81 $\pm$ 15.10***	89.27 $\pm$ 18.58	83.98 $\pm$ 10.97	88.96 $\pm$ 3.79	100 $\pm$ 0.0
5	92.14 $\pm$ 9.86	54.98 $\pm$ 6.90***	45.03 $\pm$ 16.87***	87.05 $\pm$ 12.33	83.47 $\pm$ 12.61	76.70 $\pm$ 8.63***	98.5 $\pm$ 2.60
10	75.37 $\pm$ 18.46*	49.36 $\pm$ 2.46***	42.86 $\pm$ 7.57***	57.23 $\pm$ 3.09**	60.37 $\pm$ 17.82**	74.80 $\pm$ 10.84***	85.79 $\pm$ 10.82
50	62.02 $\pm$ 13.69***	36.63 $\pm$ 6.47***	28.20 $\pm$ 9.83***	51.27 $\pm$ 16.68***	34.25 $\pm$ 20.69***	58.94 $\pm$ 8.94***	92.13 $\pm$ 11.95
100	54.18 $\pm$ 15.42***	25.98 $\pm$ 6.35***	22.43 $\pm$ 4.19***	50.45 $\pm$ 22.76***	33.48 $\pm$ 9.31***	43.60 $\pm$ 7.77***	53.82 $\pm$ 4.25***
IC ₅₀ (μM)	-	10.54 $\pm$ 2.73	5.67 $\pm$ 4.27	-	30.88 $\pm$ 31.37	77.13 $\pm$ 26.43	-
I _{max} (%)	45.82 $\pm$ 15.42	74.02 $\pm$ 6.35	77.57 $\pm$ 4.19	49.55 $\pm$ 22.76	66.52 $\pm$ 9.31	56.40 $\pm$ 7.77	46.18 $\pm$ 4.25

Data are expressed as mean $\pm$ S.E.M; (*) p < 0.05; (**) p < 0.01; (***) p < 0.001 compared to dichlorofluorescein sample (3.5 μM) (One way ANOVA/Newman-Keuls). "-" is used when the result is not applied. IC₅₀ = concentration (μM) to decrease 50% of reactive species formation; I_{max} = % maximal inhibition.

Table S4. Effect of compounds Se-chrysin **3a-3f** in the formation of RS induced by azide in mice hippocampus.

Concentration (μM)	Compound						
	1	3a	3b	3c	3d	3e	3f
1	76.04 $\pm$ 17.34	55.50 $\pm$ 10.75***	66.17 $\pm$ 1.30***	70.61 $\pm$ 5.30***	74.99 $\pm$ 16.89*	55.59 $\pm$ 18.96**	85.00 $\pm$ 5.85
5	76.32 $\pm$ 19.19	52.74 $\pm$ 19.27***	54.21 $\pm$ 2.00***	52.43 $\pm$ 5.61***	62.94 $\pm$ 10.07**	46.16 $\pm$ 11.69**	56.14 $\pm$ 7.74***
10	64.37 $\pm$ 6.94*	61.30 $\pm$ 9.62***	50.55 $\pm$ 3.97***	34.53 $\pm$ 5.22***	64.06 $\pm$ 18.20**	54.27 $\pm$ 36.97**	51.48 $\pm$ 15.54***
50	58.01 $\pm$ 23.25**	56.43 $\pm$ 14.61***	34.26 $\pm$ 7.17***	38.77 $\pm$ 10.66***	31.13 $\pm$ 5.37***	39.26 $\pm$ 32.85**	35.53 $\pm$ 9.50***
100	40.98 $\pm$ 20.34***	31.88 $\pm$ 10.78***	22.83 $\pm$ 5.48***	36.22 $\pm$ 7.64***	24.49 $\pm$ 3.67***	27.50 $\pm$ 26.76***	21.15 $\pm$ 4.13***
IC ₅₀ (μM)	57.77 $\pm$ 33.02	-	14.3 $\pm$ 8.04	5.63 $\pm$ 1.14	22.87 $\pm$ 15.72	-	18.76 $\pm$ 21.81
I _{max} (%)	59.02 $\pm$ 20.34	68.12 $\pm$ 10.78	77.17 $\pm$ 5.48	65.47 $\pm$ 5.22	75.51 $\pm$ 3.67	72.50 $\pm$ 26.76	78.85 $\pm$ 4.13

Data are expressed as mean $\pm$ S.E.M; (*) p < 0.05; (**) p < 0.01; (***) p < 0.001 compared to dichlorofluorescein sample (3.5 μM) (One way ANOVA/Newman-Keuls). "-" is used when the result is not applied. IC₅₀ = concentration (μM) to decrease 50% of reactive species formation; I_{max} = % maximal inhibition.

Table S5. Effect of compounds Se-chrysin **3a-3f** on lipid peroxidation induced by SNP in mice cortex.

Concentration (μM)	Compound						
	1	3a	3b	3c	3d	3e	3f
0.01	93.72 $\pm$ 5.63	59.89 $\pm$ 7.61***	44.56 $\pm$ 9.00***	51.88 $\pm$ 2.54***	50.30 $\pm$ 11.56***	66.49 $\pm$ 14.42**	67.83 $\pm$ 12.69***
0.1	95.58 $\pm$ 7.66	48.46 $\pm$ 11.02***	50.79 $\pm$ 10.21***	59.94 $\pm$ 9.50***	44.91 $\pm$ 2.13***	44.18 $\pm$ 2.15***	44.77 $\pm$ 4.39***
1	87.35 $\pm$ 8.18	59.42 $\pm$ 4.06***	51.17 $\pm$ 11.33***	59.07 $\pm$ 22.38***	37.36 $\pm$ 16.39***	27.52 $\pm$ 21.90***	36.98 $\pm$ 18.49***
5	83.09 $\pm$ 15.98	36.08 $\pm$ 1.81***	19.53 $\pm$ 9.52***	19.24 $\pm$ 6.21***	23.61 $\pm$ 2.74***	17.81 $\pm$ 11.01***	30.97 $\pm$ 10.24***
10	70.44 $\pm$ 20.28	18.26 $\pm$ 7.47***	25.04 $\pm$ 5.36***	13.74 $\pm$ 9.55***	21.62 $\pm$ 7.00***	38.48 $\pm$ 18.69***	19.11 $\pm$ 4.77***
50	56.23 $\pm$ 18.33**	28.03 $\pm$ 17.42***	25.73 $\pm$ 16.57***	19.75 $\pm$ 10.83***	31.59 $\pm$ 7.29***	15.15 $\pm$ 4.14***	20.53 $\pm$ 2.63***
100	36.06 $\pm$ 16.58***	39.60 $\pm$ 7.72***	36.07 $\pm$ 15.03***	23.31 $\pm$ 13.93***	31.96 $\pm$ 10.93***	19.98 $\pm$ 12.87***	25.13 $\pm$ 8.70***
IC ₅₀ (μM)	39.35 $\pm$ 23.97	3.69 $\pm$ 0.73	1.67 $\pm$ 0.88	2.72 $\pm$ 0.32	0.54 $\pm$ 0.20	0.074 $\pm$ 0.013	0.074 $\pm$ 0.018
I _{max} (%)	63.94 $\pm$ 16.58	81.74 $\pm$ 7.47	80.47 $\pm$ 9.52	86.26 $\pm$ 9.55	78.38 $\pm$ 7.00	86.79 $\pm$ 5.77	80.89 $\pm$ 4.77

Data are presented as the mean $\pm$ S.E.M; (*) p < 0.05; (**) p < 0.01; (***) p < 0.001, compared to sodium nitroprusside sample (100 μM) (One way ANOVA/Newman-Keuls). "-" is used when the result is not applied. IC₅₀ = concentration (μM) to decrease 50% of lipid peroxidation; I_{max} = % maximal inhibition.

Table S6. Effect of compounds Se-chrysin **3a-3f** on lipid peroxidation induced by SNP in mice hippocampus.

Concentration (μM)	Compound						
	1	3a	3b	3c	3d	3e	3f
0.01	95.42 $\pm$ 4.01	91.48 $\pm$ 6.52	72.59 $\pm$ 2.65*	89.77 $\pm$ 10.74	-	-	94.19 $\pm$ 10.06
0.1	90.67 $\pm$ 10.07	66.16 $\pm$ 8.75**	50.62 $\pm$ 11.07***	54.26 $\pm$ 3.01***	94.23 $\pm$ 2.47	74.25 $\pm$ 10.14	76.83 $\pm$ 8.53*
1	91.94 $\pm$ 8.87	56.16 $\pm$ 9.15***	49.18 $\pm$ 7.19***	49.96 $\pm$ 10.27***	78.82 $\pm$ 16.10	67.95 $\pm$ 15.34*	76.36 $\pm$ 13.66**
5	84.37 $\pm$ 10.61	53.21 $\pm$ 15.56***	31.96 $\pm$ 18.6***	33.45 $\pm$ 12.26***	43.48 $\pm$ 8.34***	38.79 $\pm$ 17.46***	67.39 $\pm$ 11.65***
10	71.08 $\pm$ 17.52*	46.73 $\pm$ 17.57***	37.55 $\pm$ 17.79***	22.28 $\pm$ 14.30***	31.91 $\pm$ 13.08***	38.18 $\pm$ 24.82***	47.01 $\pm$ 11.13***
50	67.47 $\pm$ 6.89**	55.70 $\pm$ 7.10***	29.15 $\pm$ 14.66***	25.52 $\pm$ 13.74***	32.31 $\pm$ 14.06***	38.98 $\pm$ 16.06***	45.72 $\pm$ 4.225***
100	59.69 $\pm$ 3.97***	65.90 $\pm$ 5.27**	31.43 $\pm$ 18.32***	25.16 $\pm$ 0.85***	30.12 $\pm$ 16.70***	39.12 $\pm$ 11.29***	25.72 $\pm$ 10.90***
IC ₅₀ (μM)	-	-	0.27 $\pm$ 0.33	1.18 $\pm$ 0.71	4.8 $\pm$ 1.76	18.25 $\pm$ 10.97	26.43 $\pm$ 22.61
I _{max} (%)	41.57 $\pm$ 6.15	53.27 $\pm$ 17.57	70.85 $\pm$ 14.66	77.72 $\pm$ 14.30	69.88 $\pm$ 16.70	76.59 $\pm$ 10.67	74.28 $\pm$ 10.90

Data are presented as the mean $\pm$ S.E.M; (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$, compared to sodium nitroprusside sample (100 μM) (One way ANOVA/Newman-Keuls). "-" is used when the result is not applied. IC₅₀ = concentration (μM) to decrease 50% of lipid peroxidation; I_{max} = % maximal inhibition.

References

- [1] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, M. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (1999) 1231–1237.
- [2] C.W. Choi, S.C. Kim, S.S. Hwang, B.K. Choi, H.J. Ahn, M.Y. Lee, S.H. Park, S.K. Kim, Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci.* 163 (2002) 1161–116.
- [3] C. Loetchutinat, S. Kothan, S. Dechsupa, J.J.G.J. Meesungnoen, S. Mankhetkorn, Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2,7-dichlorofluorescein diacetate assay. *Radiat. Phys. Chem.* 72 (2005) 323–331.
- [4] J. Harvey, S.C. Hardy, M. L.J. Ashford, Dual actions of the metabolic inhibitor, sodium azide on K_{ATP} channel currents in the rat CRI-G1 insulinoma cell line. *Br. J. Pharmacol.* 126 (1999) 51–60.
- [5] H. Ohkawa, H. Ohishi, K. Yagi, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95 (1979) 351–358.
- [6] M.C. Alley, D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, M.R. Boyd, Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* 48 (1988) 589–601.

4 Demais Atividades Desenvolvidas

Neste capítulo descreve-se o trabalho realizado envolvendo a síntese de compostos derivados do cardanol e do ácido anacárdico, dois dos principais componentes do LCC, contendo grupamentos organocalcogênio em sua estrutura. Similarmente ao trabalho anterior, a ideia era preparar derivados do cardanol que apresentassem as propriedades biológicas já descritas dos compostos presentes no LCC com as propriedades biológicas já descritas dos compostos orgânicos contendo selênio, visando a obtenção de híbridos moleculares bioativos.

Além disso, foi realizado um estudo da atividade antibacteriana das selenocrisinas sintetizados no manuscrito I, frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas.

4.1 Análise da atividade antibacteriana das bis-aryl-selanylcrisinas

A atividade antimicrobiana das crisinas seleniladas foi avaliada pela técnica de macrodiluição em caldo (CLSI 2015) para bactérias patogênicas de relevância em alimentos, sendo uma Gram positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e uma Gram negativa (*Escherichia coli* ATCC 8739). Ambas as bactérias foram ativadas por 12 h a 37 °C em ágar *Tryptic Soy Agar* (TSA - Oxoid®), sendo na sequência suspensas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI - Oxoid®) na concentração celular de 10⁴ UFC/mL (partindo da escala 0,5 de McFarland).

Os compostos foram inicialmente solubilizados em DMSO na concentração de 50 mg/mL e adicionados aos tubos, contendo o caldo com as bactérias, obtendo a concentração final de 5 mg/mL. O sistema foi incubado sob agitação (180 rpm) por 24 h a 37 °C. Após este período, alíquotas de cada tratamento foram submetidas a diluições seriadas e plaqueadas em Ágar Mueller-Hinton (MH - Oxoid®), as placas foram incubadas a 37 °C por 24 h, realizando na sequência a contagem de colônias formadas (logUFC/mL).

A análise foi realizada em triplicata e os dados foram estatisticamente comparados por análise de variância (ANOVA *one way analysis*) utilizando o *software* STATISTICA (StatSoft, França - versão 6.1). Foi aplicado o teste de Tukey para detectar diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os valores médios.

Através dos resultados obtidos foi possível observar que o composto **3b**, o qual possui grupamentos doadores de elétrons presentes nos anéis aromáticos ligados aos átomos de selênio, foi mais eficaz frente à bactéria Gram negativa (*E. coli*) sendo capaz de inibir o seu crescimento, deixando sua concentração em 40 logUFC/mL. Os compostos **3e** e **3f** também apresentaram bons resultados frente a esta bactéria, deixando sua concentração em torno de 45 logUFC/mL. No entanto, frente a uma bactéria Gram positiva (*S. aureus*), os compostos não foram tão eficazes em inibir o seu crescimento, sendo que o composto **3c** (grupamento metoxila ligados ao anel aromático ligado ao átomo de selênio) deixou o crescimento em torno de 75 logUFC/mL, sendo este o melhor resultado dentre os compostos.

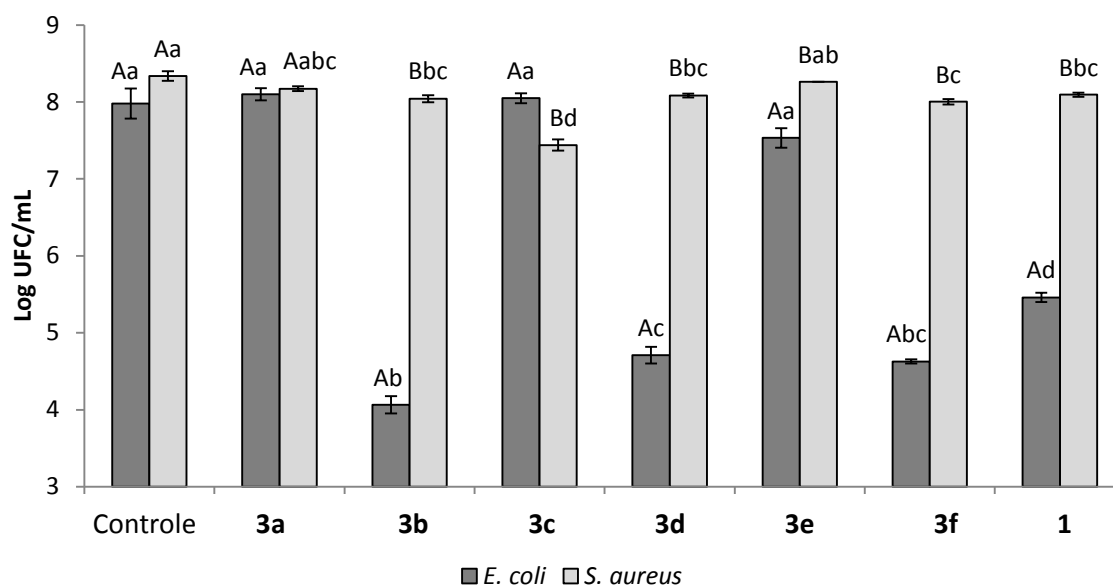


Figura 12 – Atividade antimicrobiana das bis-arilselanilcrisinas sobre bactérias patogênicas de alimentos (*E. coli* e *S. aureus*). Resultados expressos em médias ($n = 3$) $\pm$ Desvio Padrão (DP); Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa (Tukey - $p \leq 0,05$) na ação dos diferentes compostos sobre uma mesma bactéria; Letras maiúsculas diferentes representam diferença significativa (Tukey - $p \leq 0,05$) para a ação de um mesmo composto sobre as diferentes bactérias.

Estes resultados corroboram com a ideia de que a inserção de grupamentos organocalcogênicos em compostos de origem natural pode potencializar a atividade

antimicrobiana destes compostos. Isso pode ser comprovado por outros relatos na literatura como no caso de Victoria et al. (2012) que realizaram a síntese dos compostos α -fenilseleno citronelal e α -fenilseleno citronelol, os quais são derivados do óleo essencial de citronela, e verificaram que os compostos sintetizados apresentaram atividades antimicrobianas superiores aos compostos não modificados, frente a bactérias Gram positivas (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium*).

Outro exemplo foi descrito por Goldbeck et al. (2014), no qual os autores relataram a atividade antimicrobiana do composto 3-(*p*-clorofenil)-tio citronelal, um composto semi-sintético derivado do óleo essencial de capim limão, frente à bactérias deteriorantes e patogênicas presentes em alimentos. Eles puderam observar que o composto 3-(*p*-clorofenil)-tio citronelal se mostrou um potente agente antimicrobiano, apresentando uma maior eficácia frente às bactérias Gram-positivas. A concentração inibitória mínima do composto foi aproximadamente 100 vezes menor do que a concentração de citral, o que demonstra que a adição do grupamento organocalcogênio na molécula de citral potencializou sua atividade bactericida.

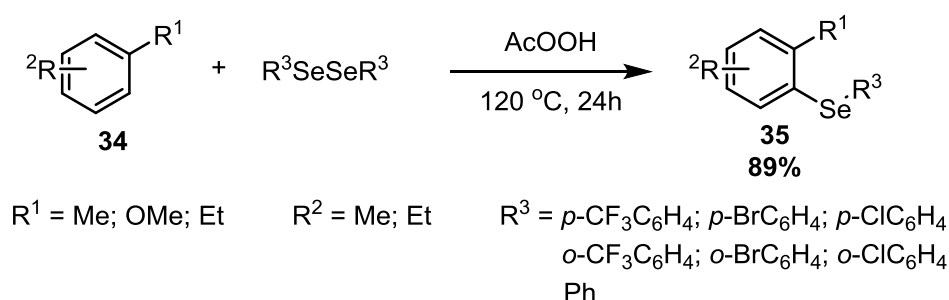
Com isso, é possível dizer que o teste realizado com estes compostos organosselenados derivados da crisina apresentam resultados promissores, uma vez que os mesmos foram submetidos a um ensaio realizado em um ambiente totalmente favorável ao crescimento das bactérias em estudo, fora o fato de sua concentração no meio não ser muito elevada. Deste modo, mais testes seriam necessários para confirmar a atividade antibacteriana destes compostos.

4.2 Reações com compostos derivados do LCC

Para a realização dos estudos envolvendo a síntese de novos compostos organocalcogênicos derivados de moléculas presentes no LCC, obteve-se os respectivos materiais de partida (Ácido Anacárdico, Cardanol e Cardol, além do LCC *in natura* e LCC técnico) através de uma parceria feita com o Professor Diego Lomonaco, da Universidade Federal do Ceará, o qual, em seu laboratório, extraiu e purificou os respectivos compostos diretamente do líquido da casca da castanha de caju. Os demais reagentes utilizados durante o estudo foram adquiridos de forma comercial ou estavam disponíveis no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – LASOL.

4.2.1 Síntese utilizando o Cardanol Saturado

Para realizar a síntese dos compostos derivados do LCC contendo grupamentos organocalcogênicos, utilizou-se inicialmente como material de partida o Cardanol saturado **3a**. Para isso, adaptou-se uma metodologia já descrita por Hsieh e colaboradores (2016), na qual os autores realizaram a selenilação de metil-arenos sob condições livres de metais e solventes. Ao reagir metil-arenos com dicalcogenetos de diorganoíla na presença de ácido peracético (AcOOH), a 120 °C por 24 h, os autores obtiveram os respectivos produtos em bons rendimentos (Esquema 10).



Esquema 11 – Síntese de compostos organosselênio utilizando ácido peracético

Fonte: HSIEH et al., 2016

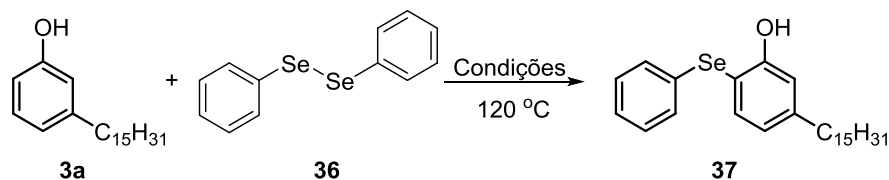
No entanto, pelo fato do ácido peracético não estar disponível no laboratório e pelo fato de ser um reagente de altíssimo custo, optou-se por adaptar a metodologia

utilizando ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) como agente oxidante na reação. Reagiu-se então o cardanol saturado **3a** com disseleneto de difenila **36**, na presença de *m*-CPBA à temperatura de 120 °C em sistema convencional de aquecimento, por 48 h. Obteve-se o produto desejado **37** em apenas 18% de rendimento após purificação por coluna cromatográfica (Tabela 1, linha 1).

Com o intuito de encontrar melhores condições reacionais, variaram-se alguns parâmetros, como a estequiometria da reação, utilização de ácido acético (AcOH) como solvente e o uso de fontes de energia alternativas (Tabela 1, linhas 2-7).

Através das variações realizadas foi possível determinar que ao utilizar a sonda de ultrassom (US) como fonte de energia, com 1 equivalente de **3a**, 0,5 equivalentes de **35**, 1 equivalente de *m*-CPBA e 1 mL de AcOH como solvente, obteve-se a melhor condição reacional para a obtenção do produto **37**, com 25% de rendimento. Por se tratar de um composto inédito, análises específicas são necessárias para identificação e confirmação de sua estrutura.

Tabela 1 – Otimização das condições reacionais na síntese do composto **37**

				
Linha	36 (equiv)	Solvente	Tempo (h)	Rendimento (%) ^b
1	0,50	-	48	18
2	0,50	-	2	22 ^c
3	0,25	-	2	12 ^c
4	0,50	AcOH	48	26
5	0,50	AcOH	2	18 ^c
6	0,50	AcOH	1	15 ^c
7	0,50	AcOH	2	25 ^d

^a Todas as reações foram realizadas com 1 equiv de *m*-CPBA a 120 °C sem solvente ou usando 1 mL de AcOH. ^b Rendimentos isolados após coluna cromatográfica em sílica gel. ^c Reações utilizando irradiação de micro-ondas (MW). ^d Reação utilizando uma sonda de ultrassom.

Neste sentido, o composto foi identificado através de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) (Figura 12) e ressonância magnética nuclear (RMN) de carbono-13 e de hidrogênio (Figuras 13 e 14). A posição onde se encontra o grupo fenisselenenila na molécula foi determinada utilizando-se a técnica chamada NOE, (*Nuclear Overhauser Experiment Difference spectrum*), que é um experimento em uma dimensão em que um espectro convencional de hidrogênio é subtraído de outro espectro em que um “H” em particular é irradiado. Esta subtração deixa apenas as absorções intensificadas e nessas condições pode-se esperar um efeito mensurável entre núcleos ^1H distantes até 4 Å. Em um experimento NOE o sinal irradiado aparece em fase inversa no espectro, enquanto que os hidrogênios especialmente próximos a estes que sofrem o efeito nuclear *Overhauser* têm seu sinal intensificado em fase oposta ao sinal irradiado (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2013).

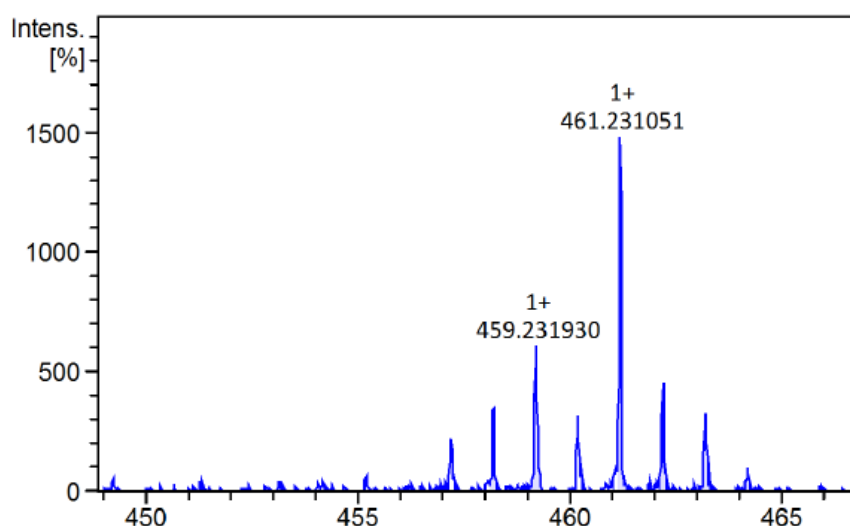


Figura 13 – Espectro de massas de alta resolução do composto **37** (massa exata calculada $M+1 = 461,2323$).

No espectro de RMN ^{13}C é possível visualizar 25 sinais referentes aos 27 carbonos presentes na molécula do composto **37**. Já no espectro de RMN ^1H é possível verificar que a soma das integrais referentes à quantidade de átomos de hidrogênio presentes na molécula, corresponde à mesma.

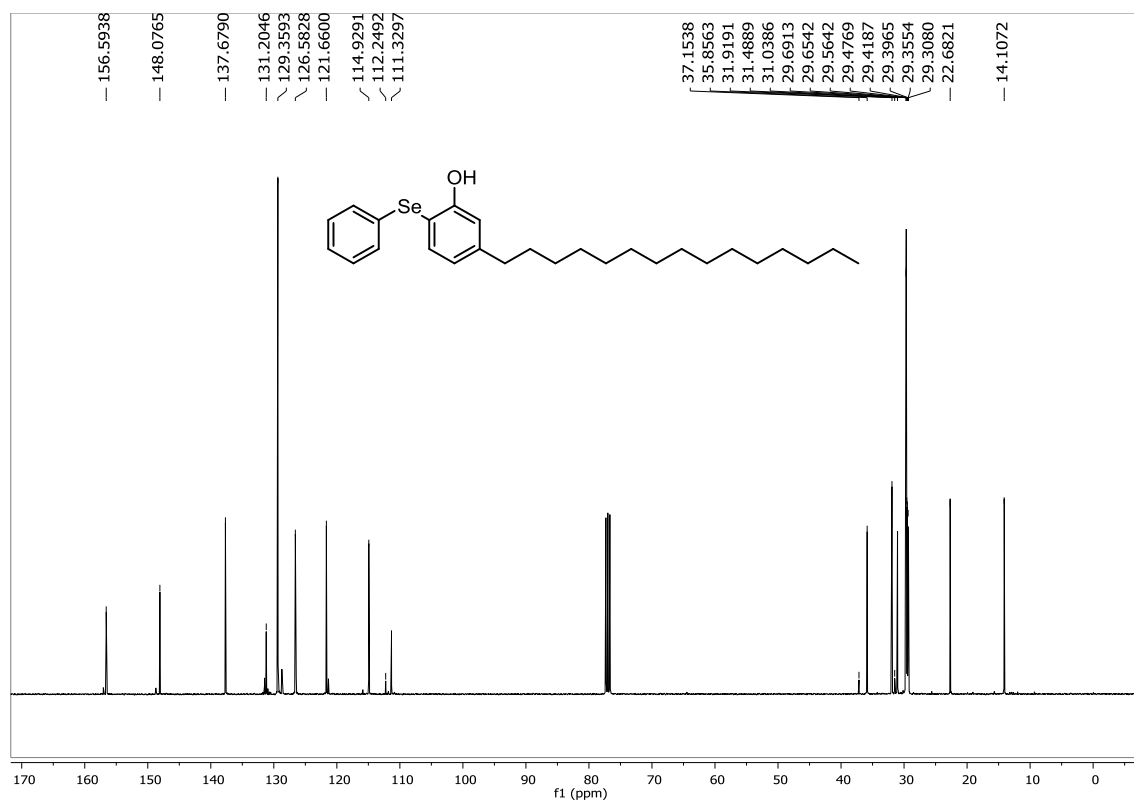


Figura 14 – Espectro de RMN ¹³C 75 MHz do composto **37** em CDCl₃.

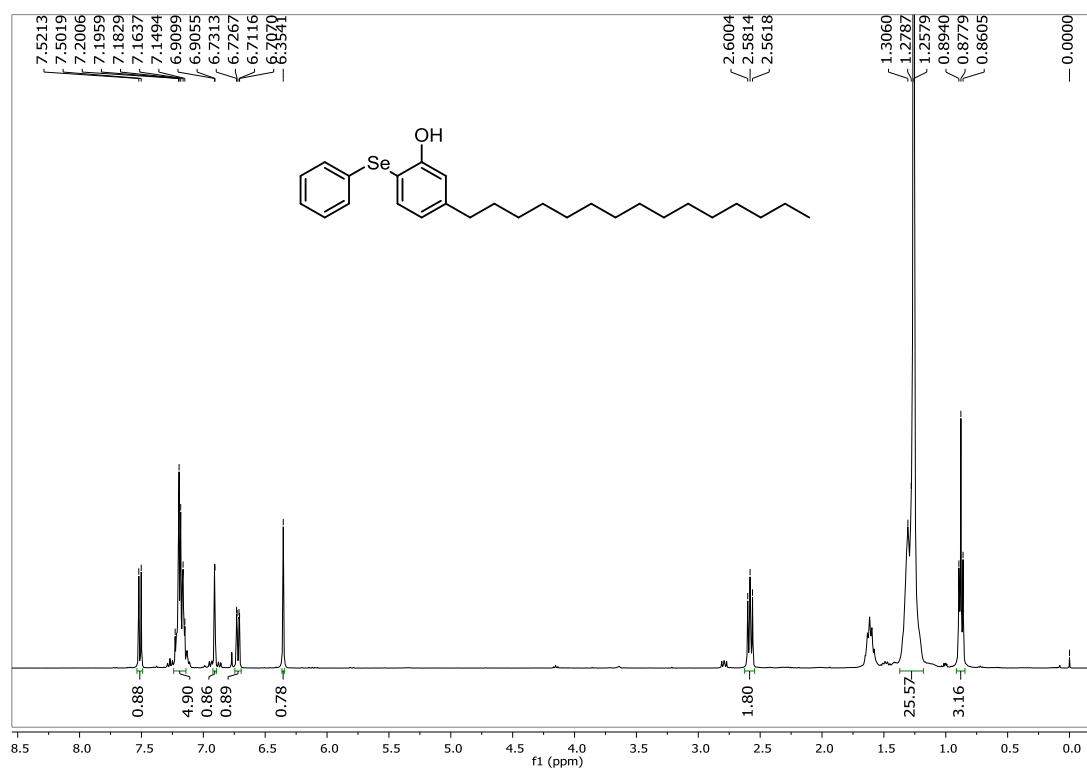


Figura 15 – Espectro de RMN ¹H 400 MHz do composto **37** em CDCl₃.

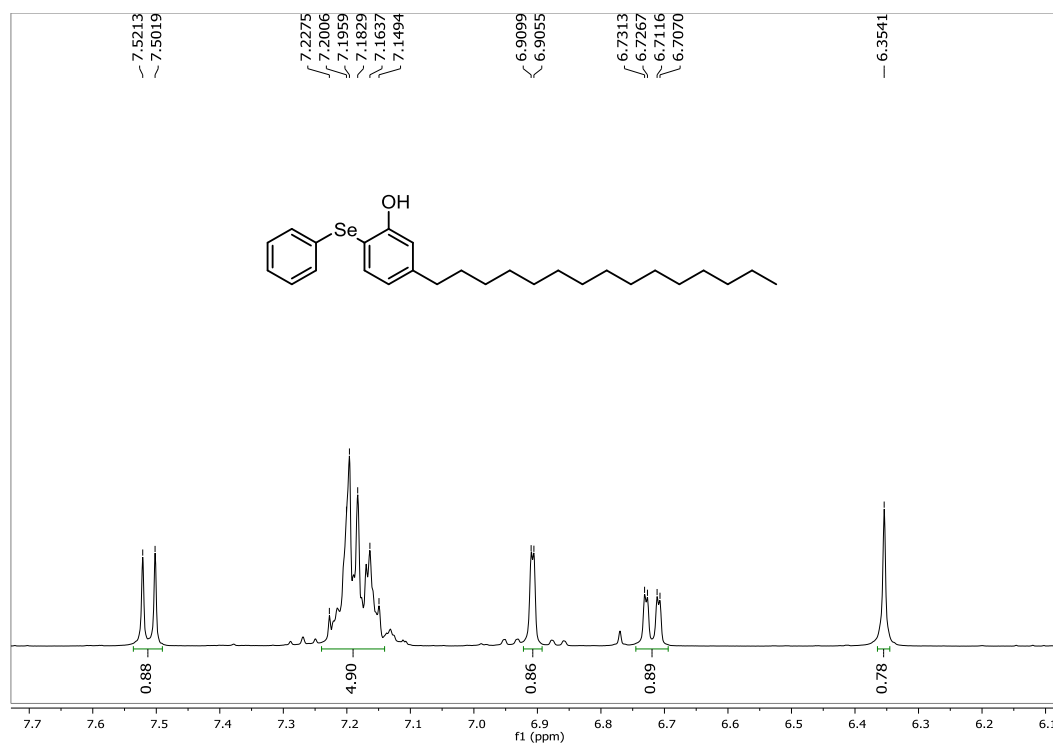


Figura 16 – Ampliação da região dos hidrogênios aromáticos do espectro de RMN ^1H 400 MHz do composto **37** em CDCl_3 .

Através da técnica NOE (*Nuclear Overhauser Experiment Difference spectrum*) foi possível comprovar a localização do grupo contendo selênio na molécula (Figuras 17 – 19).

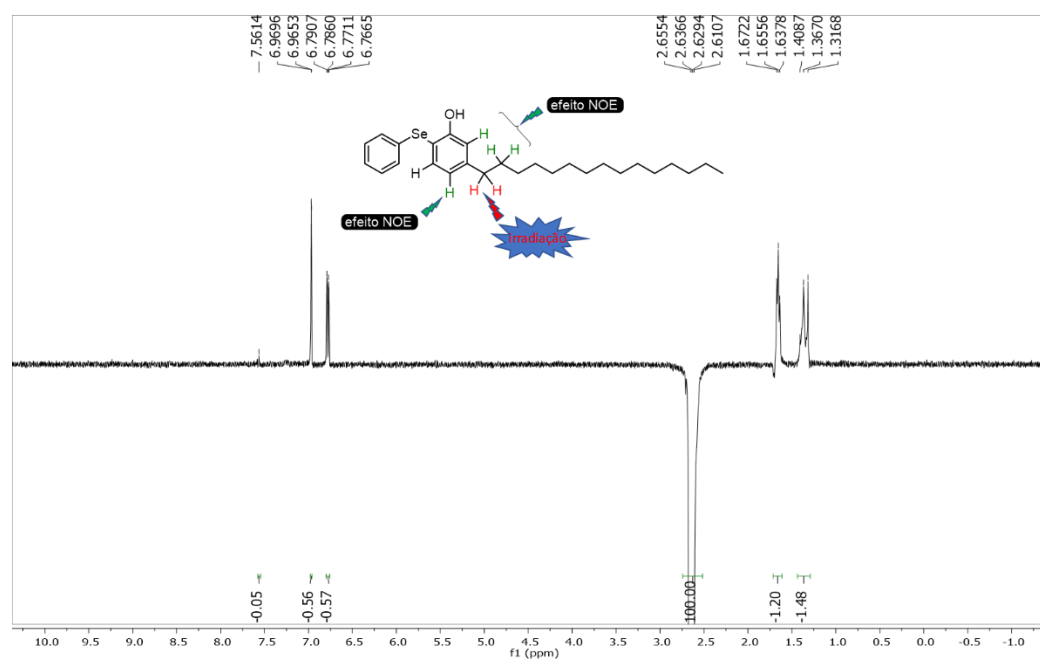
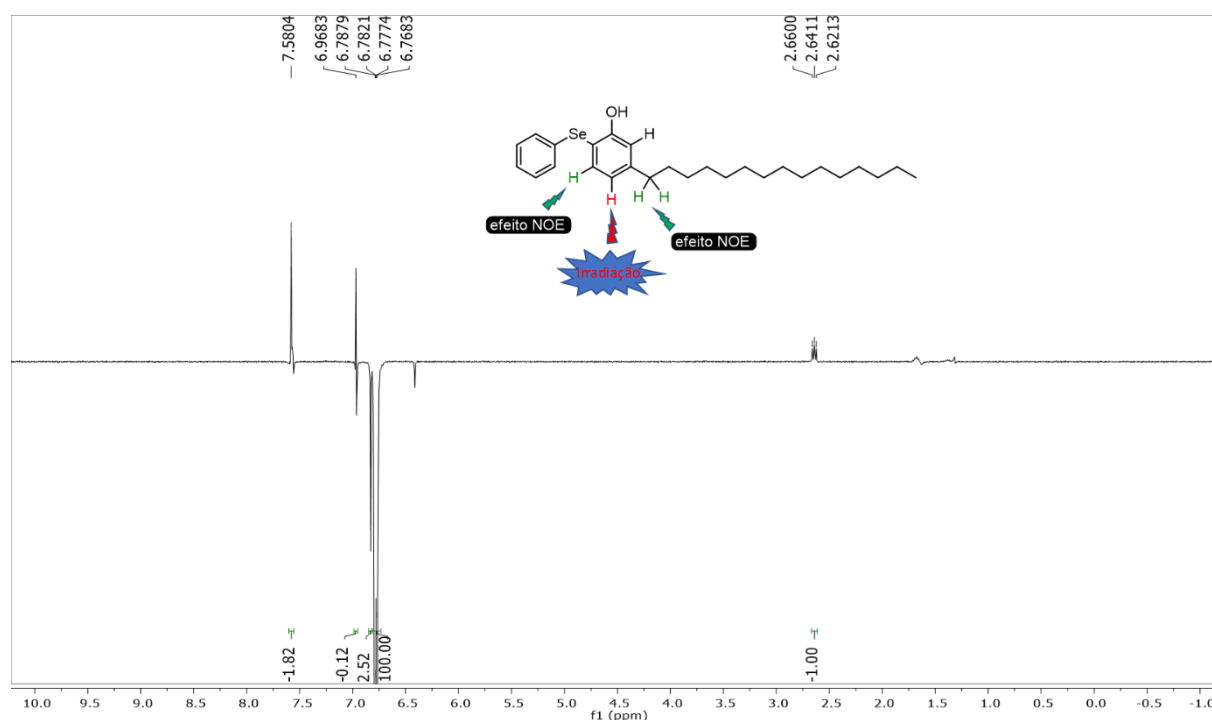


Figura 17 – Espectro de RMN ^1H NOE do composto **37** irradiado em 2,6 ppm.

A Figura 17 demonstra que, ao irradiar a região correspondente aos átomos de hidrogênio benzílicos (2,6 ppm) do composto **37**, há um aumento na intensidade dos sinais do anel aromático em 7,5 (singleto, 1H) e 6,8 ppm (d, 1H), além do aumento no sinal em torno de 1,67 ppm. Como mostrado na estrutura da Fig. 17, esses átomos de hidrogênio estão próximos daqueles irradiados e, assim, indicam que, com certeza, entre as posições para a entrada do grupo fenilselênio, a reação foi seletiva para a formação do composto **37**.

Quando a irradiação foi efetuada na região correspondente ao dubleto em 6,8 ppm, observou-se uma maior intensidade nos sinais em 7,5 e 2,6 ppm, correspondentes aos átomos de hidrogênio mais próximos (Figura 18).



Quando a região correspondente ao H-3, no deslocamento químico de 7,5 ppm foi irradiada, observou-se aumento na intensidade do dubleto em 6,8 ppm, devido ao H-4, único próximo ao átomo irradiado (Figura 19).

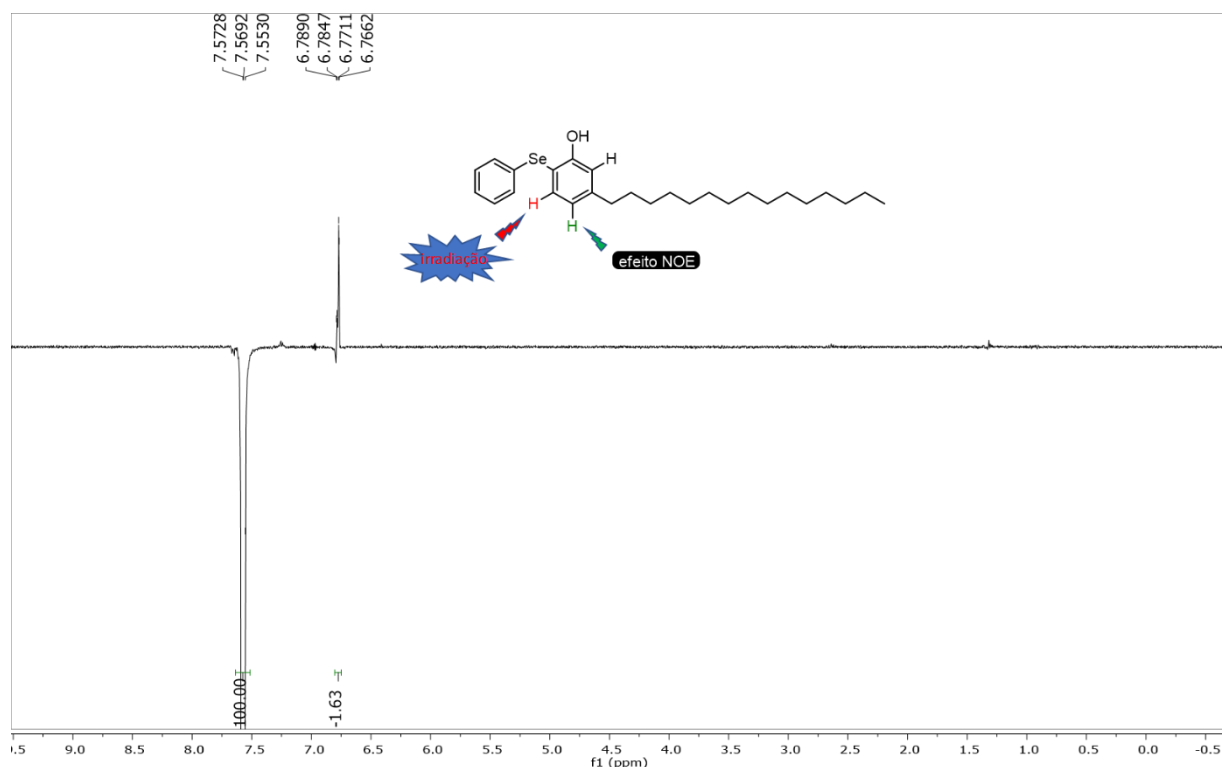
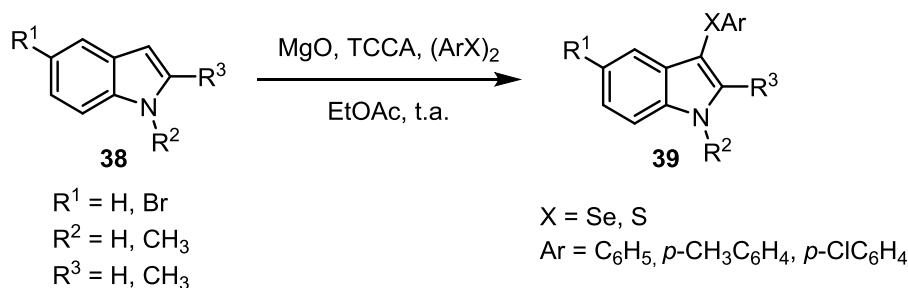


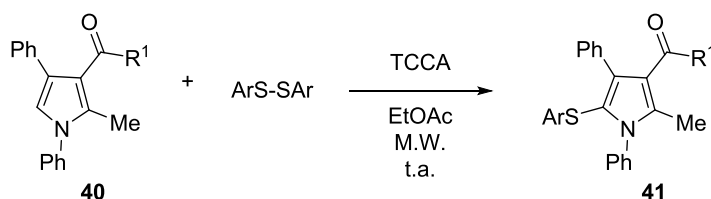
Figura 19 – Espectro de RMN ^1H NOE do composto **37** irradiado em 7,5 ppm.

Insatisfeitos com o baixo rendimento obtido na selenilação do cardanol, fêz-se uma nova revisão na literatura, onde foram encontrados dois trabalhos realizados por Silveira e colaboradores (2012; 2013), nos quais os autores realizaram a calcogenação de pirróis e indóis mediada pelo ácido tricloroisocianúrico (TCCA) (Esquemas 3 e 4), obtendo os produtos desejados em rendimentos de bons a excelentes (40 – 90%).



Esquema 12 – Síntese de 3-arilselanil e 3-ariltioindóis utilizando TCCA

Fonte: SILVEIRA et al., 2012



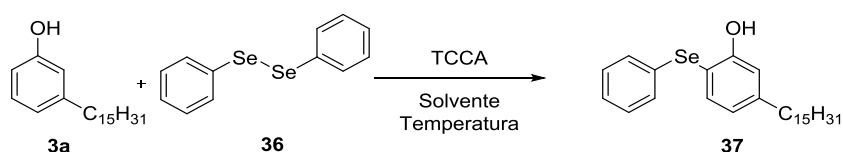
Esquema 13 – Síntese de 5-sulfenilpirrol utilizando TCCA

Fonte: SILVEIRA et al., 2013

Adaptando estas metodologias, resolveu-se reagir o cardanol saturado com o disseleneto de difenila (1.2 equiv), na presença de TCCA (0.5 equiv) em diferentes solventes, conforme a Tabela 2.

As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (TLC) observando-se o consumo dos materiais de partida. Após 40 h de reação, percebeu-se que quando se utilizou dicloroetano (DCE) como solvente, à temperatura de refluxo (83 °C), o cardanol foi praticamente todo consumido, havendo a formação de um novo produto. Extraíu-se a reação com acetato de etila e solução saturada de carbonato de sódio. Em seguida, separou-se a fase orgânica da fase aquosa, secou-se utilizando sulfato de magnésio anidro, filtrou-se, para então evaporar o solvente sob agitação e pressão reduzida. Após, a reação foi purificada por coluna cromatográfica utilizando uma solução 9:1 de hexano/diclorometano como eluente, obtendo o produto desejado com 46% de rendimento, na forma de um óleo amarelado.

Tabela 2 – Otimização das condições reacionais utilizando TCCA



Linha	Solvente	Temp. °C	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	EtOAc	77	40	^b
2	DCE	83	40	46
3	DCE	25	18	^b
4	DMSO	100	40	^{b,c}
5	CH ₃ CN	82	40	^b

^a Reações utilizando 0,3 mmol de cardanol, 0,25 mmol de disseleneto de difenila, 0,12 mmol de TCCA e 10 mL de solvente. ^b Não houve formação do produto. ^c Reação utilizando 5 mL de solvente.

Nas outras reações (Tabela 2, linhas 1,3-5) o cardanol não foi consumido totalmente, nem se percebeu uma formação acentuada do produto desejado e, por esta razão não foram purificadas através de coluna cromatográfica.

Após análise do espectro de RMN ^1H do produto isolado na reação, foi possível verificar que houve formação do produto desejado, porém, constatou-se também a presença de estereoisômeros, fato este que impossibilita o avanço dos estudos com esta metodologia, uma vez que não seria possível realizar análises biológicas com uma mistura de produtos. Sendo assim, elegeu-se como a melhor metodologia para a obtenção do produto **37**, a utilização de 0,5 equiv de disseleneto de difenila **36**, 1 equiv de *m*-CPBA, ácido acético como solvente e uma sonda de ultrassom como fonte de energia por 2 h (Tabela 1, linha 7).

Utilizando-se esta condição, pretende-se aumentar o escopo reacional, utilizando diferentes disselenetos de diorganoíla contendo grupamentos retiradores e doadores de elétrons em suas estruturas, para posteriormente avaliar as atividades antioxidantes destes compostos em diferentes ensaios.

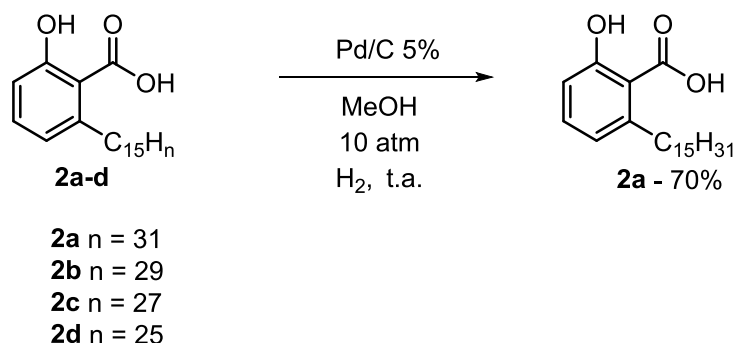
Testes preliminares para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* do composto **37** demonstraram que o mesmo possui propriedades antioxidantes bastante promissoras, sendo superior à capacidade antioxidante tanto do cardanol em si, quanto do disseleneto de difenila.

4.2.2 Síntese utilizando o Ácido anacárdico

O ácido anacárdico bruto **2a-d** é um líquido viscoso escuro, formado por uma mistura de ácidos que contêm cadeias alifáticas sem insaturações **2a**, com uma insaturação **2b**, com duas insaturações **2c** ou com três insaturações **2d**. Deste modo, a utilização desta mistura como material de partida em reações torna-se inviável, sendo necessária alguma forma de obter-se apenas um destes.

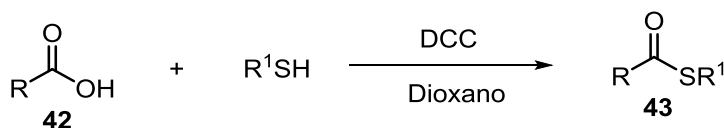
Para isso, realizou-se uma reação de hidrogenação com o ácido bruto (3,3 mmol), utilizando-se uma metodologia com paládio suportado em carbono (5%) em metanol (30 mL), sob uma pressão de 10 atm de hidrogênio, por 6 h à temperatura ambiente, com agitação magnética (Esquema 13). Após este tempo, evaporou-se o solvente e realizou-se uma filtração com celite[®] para retirar o paládio suportado em carbono. O extrato resultante foi recristalizado, obtendo-se um produto sólido de

coloração branca. As análises de RMN ^1H e CG-EM confirmaram a obtenção do ácido anacárdico saturado com 70% de rendimento.



Esquema 14 – Reação de hidrogenação do ácido anacárdico **2a-d**

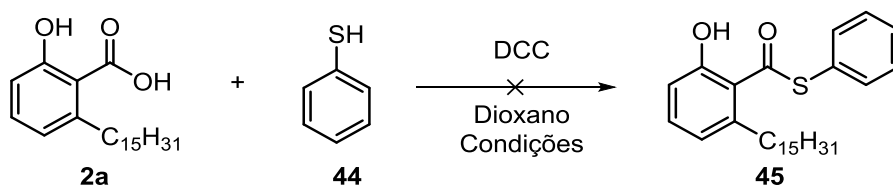
Adaptando-se uma metodologia descrita por Lara e colaboradores (2011), onde os autores descrevem a síntese de tioésteres reagindo ácidos carboxílicos com tióis (Esquema 14), tentou-se realizar a síntese de um tioéster a partir do ácido anacárdico saturado.



Esquema 15 – Síntese de tioésteres a partir de ácidos carboxílicos e tióis

Fonte: Lara e colaboradores, 2011

Reagiu-se então o ácido anacárdico **2a** com tiofenol **44** (1,2 equiv), N,N' -dicioexilcarbodiimida (DCC) (1,2 equiv) e dioxano (0,5 mL) como solvente, sob atmosfera inerte de argônio e sob ultrassom por 2 h. Entretanto, não houve a formação do produto desejado **45**. Realizou-se a mesma reação novamente, porém, ao invés de utilizar a sonda de ultrassom, realizou-se a reação à temperatura ambiente sob agitação magnética; porém, novamente não foi possível chegar ao produto desejado (Esquema 15).



Esquema 16 – Síntese de tioéster **45** a partir do ácido anacárdico **2a**

5 Conclusões e Perspectivas

Através dos trabalhos realizados é possível concluir que a inserção de grupamentos organosselênio em moléculas de origem natural pode potencializar as atividades biológicas das mesmas. Foram sintetizados seis novos compostos derivados da crisina, contendo grupamentos organosselênio em suas estruturas por meio de uma metodologia simples e eficiente com uso de ultrassom e catálise com iodeto de cobre, obtendo os produtos em bons a ótimos rendimentos. Estes compostos apresentaram resultados bastante promissores em ensaios para avaliação da capacidade antioxidante e antiproliferativa, sendo que o composto **3b** (6,8-bis(*o*-tolil-selenil)crisina) foi o que apresentou as melhores propriedades antioxidantes e o composto **3d** (6,8-bis((4-fluorfenil)selenil)crisina) apresentou os melhores resultados antiproliferativos. Os testes antibacterianos realizados posteriormente verificaram que os compostos apresentaram atividades promissoras frente à bactérias Gram positivas e Gram negativas, no entanto mais estudos são necessários para comprovar suas atividades.

Em relação à síntese de compostos derivados do cardanol contendo grupamentos organosselênio, é possível concluir que o mesmo é de difícil obtenção. Foi possível realizar a síntese do composto **37** em apenas 25% de rendimento, através de uma metodologia utilizando ultrassom como fonte de energia. O mesmo foi caracterizado e avaliado quanto à sua atividade antioxidante, apresentando resultados expressivos comparados àqueles obtidos com o cardanol e o disseleneto de difenila, seus materiais de partida. Novos exemplos serão sintetizados a fim de aumentar o escopo reacional e serão testados quanto às suas propriedades antioxidantes.

Como perspectivas para estes trabalhos, espera-se que mais publicações sejam feitas referentes aos testes para avaliar a capacidade antidepressiva dos compostos derivados da crisina e outros estudos sejam feitos para comprovar as propriedades farmacológicas dos mesmos, assim como a síntese e as atividades dos compostos derivados do cardanol contendo grupamentos organosselênio.

6 Referências Bibliográficas

ALIPOUR, B.; RASHIDKHANI, B.; EDALATI, S. Dietary flavonoids intake, total antioxidant capacity and lipid oxidative damage: A crosssectional study of Iranian women. **Nutrition**, v.32 (5), p. 566 – 572, 2016.

AMIC, D.; DAVIDOVIC-AMIC, D.; BESLO, D.; RASTIJA, V.; LUCIC, B.; TRINAJSTIC, N. SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 827 – 845, 2007.

AMORATI, R.; PEDULLI, G.F.; VALGIMGLI, L.; ATTANASI, O.A.; FILIPPONE, P.; FIORUCCI, C.; SALADINO, R. Absolute rate constants for the reaction of peroxy radicals with cardanol derivatives. **Journal of the Chemistry Society, Perkin Transactions**, v. 2, p. 2142–2146, 2001.

AMORATI, R.; ATTANASI, O. A.; FAVI, G.; MENICHETTI, S.; PEDULLI, G. F.; VIGLIANISI, C. Amphiphilic antioxidants from “cashew nut shell liquid” (CNSL) waste. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 9, p. 1352 – 1355, 2011.

ANTONY, S.; BAYSE, C. A. Modeling the Mechanism of the Glutathione Peroxidase Mimic Ebselen. **Inorganic Chemistry**, v. 50, p. 12075 – 12084, 2011.

ATTANASI, O. A.; BERRETTA, S.; FIANI, C.; FILIPPONE, P.; MELE, G.; SALADINO, R. Synthesis and reactions of nitro derivatives of hydrogenated cardanol. **Tetrahedron**, v. 62, p. 6113 – 6120, 2006.

BAE, Y., LEE, S., KIM, S. H., Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-kB. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 254, 56 – 64, 2011.

BALACHANDRAN, V. S.; JADHAV, S. R.; VEMULA, P. K.; JOHN, G. Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, v. 42, 427 – 438, 2013.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plant and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191 – 203, 2006.

BALIGA, M. S.; HANIADKA, R.; PEREIRA, M. M.; THILAKCHAND, K. R.; RAO, S.; ARORA, R. Radioprotective effects of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger): past, present and future. **Food and Function**, v. 3, p. 714 – 723, 2012.

BEENA; KUMAR, D.; RAWAT, D. S. Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 641 – 645, 2013.

BRAGA, A. L.; LUDTKE, D. S.; VARGAS, F.; BRAGA, R. C. Catalytic Applications of Chiral Organoselenium Compounds in Asymmetric Synthesis. **Synlett**, v. 17 p. 1453 – 1466, 2006.

BROWN, E. M.; LATIMER, C.; MCDUGALL, G. J.; STEWART, D.; CROZIER, A.; ROWLAND, I.; GILL, C. I. R. In vitro and in vivo models of colorectal cancer: antigenotoxic activity of berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 3852 – 3866, 2014.

BUTLER, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**. v. 67, p. 2141 – 2153, 2004.

CAROCHO, M.; I. FERREIRA, C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15 – 25, 2013.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Plantas Medicinais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99 – 105, 1998.

CERQUEIRA, F. M.; DE MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes Dietéticos: Controvérsias e Perspectivas. **Química Nova**, vol. 30, nº 2, p. 441 – 449, 2007.

CHAUDHURI, S., BANERJEE, A., BASU, K., SENGUPTA, B., SENGUPTA, P. K. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, p 42 – 48, 2007.

CHEN, J.; LI, W.; YAO, H.; XU, J. Insights into drug discovery from natural products through structural modification. **Fitoterapia**, v. 103, p. 231 – 241, 2015.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J M. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. **Química Nova**, v.29, p.1287 – 1300, 2006.

DOERING M.; DIESEL B.; GRUHLKE M. C.H.; VISWANATHAN U. M.; MÁNIKOVÁ D.; CHOVANEC M.; BURKHOLZ T.; SLUSARENKO A. J.; KIEMER A. K.; JACOB C. Selenium and tellurium-containing redox modulators with distinct activity against macrophages: possible implications for the treatment of inflammatory diseases. **Tetrahedron** v. 68, p. 10577 – 10585, 2012.

ENGMAN, L.; MALMSTROM, J.; JONSSON, M.; COTGREAVE, I. A.; HAMMARSTRÖM, L.; SJÖDIN, M. The antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno, and 1-telluro analogues. **Journal of The American Chemical Society**. v. 123, p. 3434-3440, 2001.

FERREIRA, J. F. S.; LUTHRIA, D. L.; SASAKI T.; HEYERICK, A. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and Cancer. **Molecules**, v. 15, p. 3135 – 3170, 2010.

FILHO, C. B.; JESSE, C. R.; DONATO, F.; GIACOMELI, R.; DEL FABBRO, L.; DA SILVA ANTUNES, M.; DE GOMES, M. G.; GOES, A. T.; BOEIRA, S. P.; PRIGOL, M.; SOUZA, L. C. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺, K⁺ - ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: antidepressant effect of chrysin. **Neuroscience**, v. 289, p. 367 – 380, 2015.

FONSECA, S. F.; LIMA, D. B.; ALVES, D.; JACOB, R. G.; PERIN, G.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L. Synthesis, characterization and antioxidant activity of organoselenium and organotellurium compound derivatives of chrysin. **New Journal of Chemistry**, v. 39, p. 3043 – 3050, 2015.

GOLDBECK, J. C.; VICTORIA, F. N.; MOTTA, A.; SAVEGNAGO, L.; JACOB, R. G.; PERIN, G.; LENARDÃO, E. J.; SILVA, W. P. Bioactivity and morphological changes of bacterial cells after exposure to 3-(*p*-chlorophenyl)thio citronellal. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, 813 – 819, 2014.

GONÇALVES, L. C; FISS, G. F.; PERIN, G.; ALVES, D.; JACOB, R. G.; LENARDÃO, E. J., Glycerol as a promoting médium for cross-coupling reactions of diaryl diselenides with vinyl bromides. **Tetrahedron Letters**, v. 51, p. 6772-6775, 2010.

GÜLÇİN, I., Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, p. 345–391, 2012.

HAMAD, F. B.; MUBOFU, E. B. Potential Biological Applications of Bio-Based Anacardic Acids and Their Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 8569 – 8590, 2015.

HAMID, A. A.; AIYELAAGBE, O. O.; USMAN, L. A.; AMEEN, O. M.; LAWAL, A. Antioxidants: its medicinal and pharmacological applications. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 4(8), p. 142 – 151, 2010.

HEMSHEKHAR, M.; SANTHOSH, M. S.; KEMPARAJU, K.; GIRISH, K. S. Emerging Roles of Anacardic Acid and Its Derivatives: A Pharmacological Overview. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 110, p. 122 – 132, 2011.

HSIEH, P.A; BADSARA, S. S.; TSAI, C.H.; REDDY, D.M.; LEE, C.F. Peracetic acid (AcOOH) mediated sp² C–H selenation of methyl arenes under metal-free and solvent-free conditions. **Synlett**, v. 27, p. A-F, 2016.

JÄRVI, A.; KARLSTRÖM, B.; VESSBY; B.; BECKER, W. Increased intake of fruits and vegetables in overweight subjects: effects on body weight, body composition, metabolic risk factors and dietary intake. **British Journal of Nutrition**, v. 115, p. 1760 – 1768, 2016.

JÚAREZ, I. C.; CRUZ, F. R.; CELIS, H.; ROMERO, I. Anti-*Helicobacter pylori* activity of anacardic acids from *Amphipterygium adstringens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 72 – 77, 2007.

KALE, A.; GAWANDE, S.; KOTWAL, S. Cancer phytotherapeutics: role for flavonoids at the cellular level. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 567 – 577, 2008.

KORDALI, S.; CAKIR, A.; OZER, H.; CAKMAKCI, R.; KESDEK, M; METE, E. Antifungal, Phytotoxic and Insecticidal Properties of Essential Oil Isolated from Turkish *Origanum acutidens* and Its Three Components, Carvacrol, Thymol and p-Cymene. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8788 – 8795, 2008.

KUBO, I.; KOMATSU, S.; OCHI, M. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large-scale isolation. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 34, p. 970–973, 1986.

KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P.J.; RAO, P.V.S.; RAO, A.S. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4705 – 4708, 2002.

KURT, B. Z.; GAZIOGLU, I.; DAG, A.; SALMAS, R. E.; KAYIK, G.; DURDAGI, S.; SONMEZ, F. Synthesis, anticholinesterase activity and molecular modeling study of novel carbamate-substituted thymol/carvacrol derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2017, DOI: 10.1016/j.bmc.2016.12.037.

LAISHRAM, S.; MOIRANGTHEMA, D. S.; BORAH, J. C.; PAL, B. C.; SUMAN, P.; GUPTA, S. K.; KALITA, M. C.; TALUKDAR, N. C. Chrysin rich *Scutellaria discolor* Colebr. induces cervical cancer cell death via the induction of cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis. **Life Sciences**, v. 143, p. 105 – 113, 2015.

LALITHA, K.; JENIFER, P.; PRASAD, Y. S.; MUTHUSAMY, K.; JOHN, G.; NAGARAJAN, S. Self-assembled π -conjugated system as an anti-proliferative agent in prostate cancer cells and probe for intra-cellular imaging. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 4 (89), p. 48433 – 48437, 2014.

LAPIDOT, T.; WALKER, M. D.; KANNER, J. Antioxidant and Prooxidant Effects of Phenolics on Pancreatic β -Cells in Vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7220 – 7225, 2002.

LARA, R. G.; RODRIGUES, D. C.; MENDES, S. R.; PANATIERI, R. B.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; LENARDÃO, E. J.; PERIN, G. Synthesis of Thiol Esters by the reaction of Ricinoleic Acid with Thiols under Solvent-Free Conditions. **Synthetic Communications**, v. 41, p. 2974 – 2984, 2011.

LAUTRAITE, S.; MUSONDA, A. C.; DOEHMER, J.; EDWARDS, G. O.; CHIPMAN, J. K. Flavonoids inhibit genetic toxicity produced by carcinogens in cells expressing CYP1A2 and CYP1A1. **Mutagenesis**, v.17, p. 45 – 53, 2002.

LE MARCHAND, L.; MURPHY, S.P.; HANKIN, J.H.; WILKENS, L.R.; KOLONEL, L.N. Intake of flavonoids and lung cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 154 – 160, 2000.

LENARDÃO, E. J.; JACOB, R. G.; MESQUITA, K. D.; LARA, R. G.; WEBBER, R.; MARTINEZ, D. M.; SAVEGNAGO, L.; MENDES, S. R.; ALVES, D.; PERIN, G.. Glycerol as a promoting and recyclable medium for catalyst-free synthesis of linear thioethers: new antioxidants from eugenol. **Green chemistry letters and reviews**, v. 6, p. 269 – 276, 2013.

LI, X., WANG, J. N., HUANG, J. M., XIONG, X. K., CHEN, M. F., ONG, C. N., SHEN, H. M., YANG, X. F. Chrysin promotes tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induced apoptosis in human cancer cell lines. **Toxicology in Vitro**, v. 25, p. 630 – 635, 2011.

LIBERO F. M; XAVIER M. C. D.; VICTORIA F. N; NASCENTE P. S.; SAVEGNAGO L.; PERIN G; ALVES D.; Synthesis of novel selenium and tellurium-containing tetrazoles: a class of chalcogen compounds with antifungal activity. **Tetrahedron Letters**, v. 53, p. 3091–3094, 2012.

LIU, Y.; SONG, X.; HE, J.; ZHENG, X.; WU, H. Synthetic derivatives of chrysin and their biological activities. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, p. 555 – 563, 2014.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4 (8), p. 118 – 126, 2010.

LÜ, J., LIN, P.H., YAO, Q., CHEN, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 14, p. 840 – 860, 2010.

LUBI, M. C.; THACHIL, E. T. Cashew nut shell liquid (CNSL) - A versatile monomer for polymer synthesis. **Designed Monomers and Polymers**, v. 3, p. 123 – 153, 2000.

MAIA, D. Esboço da ecologia agrícola do Nordeste. SEPLAN/MA, p. 372, 1978.

MARCHAND, L. L. Cancer preventive effects of flavonoids – a review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 56, p. 296–301, 2002.

MAHADY, G. B. Global Harmonization of Herbal Health Claims. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1120S – 1123S, 2001.

MARTINEZ, D. M.; BARCELLOS, A. M.; CASARIL, A. M.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; SCHIESSER, C. H.; CALLAGHAN, K. L.; LENARDÃO, E. J. Twice acting antioxidants: synthesis and antioxidant properties of selenium and sulfur-containing zingerone derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p. 2243 – 2246, 2015.

MARTINS, I. L.; CHARNEIRA, C.; GANDIN, V.; FERREIRA DA SILVA, J. L.; JUSTINO, G. C.; TELO, J. P.; VIEIRA, A. J. S. C.; MARZANO, C.; ANTUNES, A. M. M. Selenium-Containing Chrysin and Quercetin Derivatives: Attractive Scaffolds for Cancer Therapy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 4250 – 4265, 2015.

MARTINS, S.; MUSSATTO, S. I.; MARTÍNEZ-AVILA, G.; MONTAÑEZ-SAENZ, J.; AGUILAR, C. N.; TEIXEIRA, J. A. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 365 – 373, 2011.

MASAKI, C.; SHARPLEY, A. L.; GODLEWSKA, B. R.; BERRINGTON, A.; HASHIMOTO, T.; SINGH, N.; VASUDEVAN, S. R.; EMIR, U. E.; CHURCHILL, G. C.; COWEN, P. J. Effects of the potential lithium-mimetic, ebselen, on brain neurochemistry: a magnetic resonance spectroscopy study at 7 tesla. **Psychopharmacology**, v. 233, p. 1097 – 1104, 2016.

MATEOS, A. R.; VAUZOUR, D.; KRUEGER, C. G.; SHANMUGANAYAGAM, D.; REED, J.; CALANI, L.; MENA, P.; DEL RIO, D.; CROZIER, A. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, p. 1803 – 1853, 2014.

MAZZETTO, S.E., LOMONACO, D., MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732–741, 2009.

MEIYANTO, E.; HERMAWAN, A.; ANINDYAJATI, A. Natural Products for Cancer-Targeted Therapy: Citrus Flavonoids as Potent Chemopreventive Agents. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, p. 427 – 436, 2012.

MISTRY, B. M.; PATEL, R. V.; KEUM, Y. S.; KIM, D. H. Chrysin–benzothiazole conjugates as antioxidant and anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 5561 – 5565, 2015.

NABAVI, S. F.; BRAIDY, N.; HABTEMARIAM, S.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; MANAYI, A.; GORTZI, O.; NABAVI, S. M. Neuroprotective effects of chrysin: From chemistry to medicine. **Neurochemistry International**, v. 90, p. 224 – 231, 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629–661, 2016.

OKORONKWO A. E.; ROSÁRIO A. R.; ALVES D.; SAVEGNAGO L.; NOGUEIRA C. W.; ZENI G. Synthesis of ω -hydroxy- α -alkyl/aryl- γ -organo-selenium and γ -organo-tellurium: a new class of organochalcogen compounds with antinociceptive activity. **Tetrahedron Letters**, v. 49, p. 3252 – 3256, 2008.

PALANIAPPAN, K.; HOLLEY, R. A. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140 (2–3), p. 164 – 168, 2010.

PARASA, L. S.; TUMATI, S. R.; KUMAR, L. C. A.; CHIGURUPATI, S. P.; RAO, G. S. In Vitro – Antimicrobial Activity of Cashew (*Anacardium Occidentale*, L.) Nuts Shell Liquid Against Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa) Clinical Isolates. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3 (4), p. 436 – 440, 2011.

PERIN G., LENARDÃO E. J., JACOB R. G., PANATIERI R. B., Synthesis of Vinyl Selenides. **Chemical Reviews**, v. 109, p. 1277 – 1301, 2009.

PLOU, F.; TORRES, P.; KUNAMNENI, A. B. Enzymatic Modification for Ascorbic Acid and Alpha-Tocopherol to Enhance their Stability in Food and Nutritional Applications. **The Open Food Science Journal**. v. 2, p. 1 – 9. 2008.

RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2(2), p. 219 – 236, 2007.

RODRÍGUEZ-RAMIRO, I.; MARTÍN, M. Á.; RAMOS, S.; BRAVO, L.; GOYA, L. Comparative effects of dietary flavanols on antioxidant defences and their response to oxidant-induced stress on Caco2 cells. **European Journal of Nutrition**, v. 50, p. 313 – 322, 2011.

SAVEGNAGO L., BORGES V. C., ALVES D., JESSE C. R., ROCHA J. B. T., NOGUEIRA C. W., Evaluation of Antioxidant Activity and Potential Toxicity of 1-Butyltelurenyl-2-methylthioheptene. **Life Sciences**, v. 79, p. 1546 – 1552, 2006a.

SAVEGNAGO L.; TREVISAN M.; ALVES D.; ROCHA J. B. T.; NOGUEIRA C. W., ZENI G.; Antisecretory and antiulcer effects of diphenyl diselenide. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 86–92, 2006b.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F.C.; CARLE R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, p. 401 – 413, 2001.

SETIANTO, W.B.; YOSHIKAWA, S.; SMITH, R.L., JR.; INOMATA, H.; FLORUSSE, L.J.; PETERS, C.J. Pressure profile separation of phenolic liquid compounds from cashew (*Anacardium occidentale*) shell with supercritical carbon dioxide and aspects of its phase equilibria. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, p. 203 – 210, 2009.

SHARMA, N. K. Modulation of radiation-induced and mitomycin C-induced chromosome damage by apigenin in human lymphocytes in vitro. **Journal of Radiation Research**, v. 54, p. 789 – 797, 2013.

SILVEIRA, C. C.; MENDES, S. R.; WOLF, L.; MARTINS, G. M.; VON MUHLEN, L. Efficient synthesis of 3-selanyl- and 3-sulfanylindoles employing trichloroisocyanuric acid and dichalcogenides. **Tetrahedron**, v. 68, p. 10464 – 10469, 2012.

SILVEIRA, C. C.; MENDES, S. R.; MARTINS, G. M.; SCHLOSSER, S. C.; KAUFMAN, T. S. Modular $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -catalyzed multi-component synthesis of 1,2,3,4-tetrasubstituted pyrroles under microwave irradiation and their further trichloroisocyanuric acid-mediated conversion into 5-sulphenylpyrrole derivatives. **Tetrahedron**, v. 69, p. 9076 – 9085, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos, LTC: Rio de Janeiro, 2013, p. 167 – 169.

SINDHI, V.; GUPTA, V.; SHARMA, K.; BHATNAGAR, S., KUMARI, R., DHAKA, N. Potential applications of antioxidants – A review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, p. 828 – 835, 2013.

VAITHILINGAM, S.; JAYANTHI, K. P.; MUTHUKARUPPAN, A. Synthesis and characterization of cardanol based fluorescent composite for optoelectronic and antimicrobial applications. **Polymer**, v. 108, p. 449 – 461, 2017.

VICTORIA, F. N., RADATZ, C. S., SACHINI, M., JACOB, R. G., PERIN, G., DA SILVA, W. P. LENARDÃO, E. J. $\text{KF/Al}_2\text{O}_3$ and PEG-400 as a recyclable medium for the selective α -selenation of aldehydes and ketones. Preparation of potential antimicrobial agentes. **Tetrahedron Letters**. v. 59, p. 6761-6763, 2009.

VICTORIA, F. N.; RADATZ, C. S.; SACHINI, M.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; MOTTA, A. S.; SILVA, W. P.; LENARDÃO, E. J.

Further analysis of the antimicrobial activity of α -phenylseleno citronellal and α -phenylseleno citronellol. **Food Control**, v. 23, p. 95 – 99, 2012.

VICTORIA, F. N.; BRAHM, A. S.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E. J. Involvement of serotonergic and adrenergic systems on the antidepressant-like effect of *E. uniniflora* L. leaves essential oil and further analysis of its antioxidant activity. **Journal of Neuroscience Letters**, v. 544, p. 105 – 109, 2013.

VIEGAS JR., C.; NICASTRO, P. C.; FOSSALUZZA, P. C.; GOMES, C. P.; SANTOS, L. A.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M.; DA SILVA, D. J. C.; MELO, G. M. A.; DA SILVA, Y. K. C.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; DA COSTA, R. S.; AREAS, T. F. M.; CASTRO, N. G. Modificações estruturais na (-)-cassina e LASSBio-767: estratégias para a descoberta e otimização de novos candidatos a fármacos. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v.1 (2), p. 117 – 127, 2009.

YAHIA, E. M. **The contribution of fruits and vegetable consumption to human health**. In: DE LA ROSA, L. A.; ÁLVAREZ-PARILLA, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. (Eds.), **Fruit and vegetable phytochemicals**. Iowa: Wiley-Blackwell, p. 3 – 51, 2010.

WANG, J.; QIU, J.; DONG, J.; LI, H.; LUO, M.; DAI, X.; ZHANG, Y.; LENG, B.; NIU, X.; ZHAO, S.; DENG, X. Chrysin protects mice from *Staphylococcus aureus* pneumonia. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, p. 1551 – 1558, 2011.

WANG, X.; KALALI, E. N.; WANG, D. Y. Renewable Cardanol-Based Surfactant Modified Layered Double Hydroxide as a Flame Retardant for Epoxy Resin. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 3, p. 3281 – 3290, 2015.

World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research. **Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective**. American Institute for Cancer Research, Washington, 1997.

World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research. **Policy and action for cancer prevention. Food, nutrition, and physical activity: a global perspective.** American Institute for Cancer Research, Washington, 2009.

ZENI G., PANATIERI R. B., LISSNER E., MENEZES P. H., BRAGA A. L., STEFANI H. A., Synthesis of Polyacetylenic Acids Isolated from *Heisteria acuminata*. **Organic Letters**, v. 3, nº 6, p. 819 – 82, 2001.