

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTI-*Plasmodium falciparum* DE
HETEROCICLOS OBTIDOS A PARTIR DE REAÇÕES
MULTICOMPONENTES

Átila Menegardo Mofati

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*Plasmodium falciparum* DE HETEROCICLOS OBTIDOS A PARTIR DE REAÇÕES MULTICOMPONENTES

Átila Menegardo Mofati

Sob a Orientação do Professor

Cedric Stephan Graebin

e Co-orientação dos Professores

Arthur Eugen Kümmerle

Leonardo J. M. Carvalho

Dissertação submetida como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

Seropédica, RJ
Agosto de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M695p

Mofati, Atila Menegardo, 1995-
PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTI-Plasmodium falciparum DE HETEROCICLOS OBTIDOS A
PARTIR DE REAÇÕES MULTICOMPONENTES / Atila Menegardo
Mofati. - Seropédica, 2023.
213 f.

Orientador: Cedric Stephan Graebin.
Coorientador: Arthur Eugen Kümmerle.
Coorientador: Leonardo José de Moura Carvalho.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em
Química, 2023.

1. Malária. 2. Reação Multicomponente. 3. Hantzsch.
I. Graebin, Cedric Stephan, 1981-, orient. II.
Kümmerle, Arthur Eugen, 1979-, coorient. III.
Carvalho, Leonardo José de Moura, 1969-, coorient.
IV Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós Graduação em Química da Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. V. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO
DE QUÍMICA**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Atila Menegardo Mofati

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/08/2023

Cedric Stephan Graebin. Dr.UFRRJ
(Orientador)

Debora Decote Ricardo de Lima Dr^a. UFRRJ

Roberta Katlen Fusco Marra. Dr^a. UFRJ



Emitido em 2023

TERMO Nº 1000/2023 - PPGQ (12.28.01.00.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 31/08/2023 08:17)

CEDRIC STEPHAN GRAEBIN
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DQO (11.39.00.23)
Matrícula: ###359#5

(Assinado digitalmente em 31/08/2023 00:00)

DEBORA DECOTE RICARDO DE LIMA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)
Matrícula: ###227#6

(Assinado digitalmente em 10/10/2023 11:36)

ROBERTA KATLEN FUSCO MARRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.647-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número: **1000**, ano: **2023**, tipo:

TERMO, data de emissão: **30/08/2023** e o código de verificação: **b3eb5d955c**

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”

Antoine de Saint-Exupéry –
O Pequeno Príncipe

Agradecimentos

Primeiramente à Deus, que me deu forças, sustento, alento e esperança em todos os momentos da minha vida.

A família por todo o apoio durante todos esses anos. Obrigado tia Valéria e tio Luciano por todo o suporte dado desde o começo. Obrigado, especialmente a minha mãe Vânia, pelas conversas, os choros, as alegrias e os pesos compartilhados.

Aos meus amigos que fizeram o tempo pesado da pandemia se tornar mais leve. Obrigado Gabriel, Lucas, Marlon, Matheus, Nicolly e Yvy, os momentos que passamos juntos foram muito agradáveis.

Aos amigos da igreja, pelas conversas, conselhos e orações. Obrigado Sócrates e Carol, Felipe, Júlia, Karla, Vitória, Camila e Rodrigo, Thiago, Carolinne, Daiane, Mariana, Estevão e Madu. Vocês foram essenciais na minha caminhada.

Aos amigos do laboratório. Obrigado Marina, Lucas, Larissa, Nathália, Bruna, Letícia e Gleyton, aprendi muito com cada um de vocês.

Aos amigos que a faculdade me deu. Obrigado William e Felipe por além de compartilhar e ajudar nas dificuldades, tornaram os meus dias mais leves e alegres.

Aos amigos que a jornada da vida me deu. Obrigado Larissa, Luiz, Leônidas, Nayani, Fernanda. Cada conversa e cada momento com vocês foi importante para mim.

Ao dr. Cedric Graebin, por sempre ter acreditado e confiado em mim, abrindo as portas do laboratório e tornando esse trabalho possível.

Ao dr. Arthur por aceitar ser meu co-orientador em um momento de necessidade.

Ao dr. Leonardo Carvalho por toda a ajuda, paciência e assistência prestada durante todo o período que estive em seu laboratório na FIOCRUZ.

À Fabiana e ao Guilherme, que tão pacientemente me ensinaram a trabalhar com o cultivo e me ajudaram muito. Muito obrigado.

À Capes - O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A malária é uma doença infecciosa, potencialmente grave, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, com ampla distribuição no mundo. Em 2021, estima-se que tenham ocorrido cerca de 247 milhões de casos e 617 mil mortes por malária no mundo. Sendo transmitida através da picada de mosquitos do gênero *Anopheles*, a malária é mais comum em regiões onde há uma maior proliferação desses vetores, isto é, em regiões de clima tropical e subtropical. O combate à malária é dificultado graças a diversos fatores, entre os quais: a resistência do patógeno aos principais tratamentos e a toxicidade que estes possuem. Assim, faz-se necessária uma busca por novos fármacos capazes de combater efetivamente o protozoário causador da doença, além de possuírem menores efeitos colaterais. Os cromenos são uma classe de moléculas que tem mostrado interessantes atividades biológicas, entre elas a inibição dos protozoários. Além disso, essa classe de compostos não apresenta altos índices de toxicidade de forma que se tornam bons candidatos para o tratamento da malária. Uma das formas de obtenção de cromenos se dá por meio de reações multicomponentes que são reações realizadas de forma *one pot*, seguindo os princípios da química verde, isto é, mantém uma grande economia atômica, produzem poucos resíduos e são seguros. Uma das reações multicomponentes que se destaca é a reação de Hantzsch, que gera, como produto, uma série de heterociclos de interesse, sendo que a partir de uma modificação nos protocolos é possível a obtenção de uma diversidade ainda maior de compostos. Neste trabalho, a partir de reações multicomponentes, foi possível obter um total de 28 compostos diferentes divididos em duas coleções distintas. Os rendimentos obtidos variaram de 2 a 89%, sendo que a maior parte possui um rendimento superior a 60%. O grau de pureza dos compostos, com duas exceções, mostrou-se superior a 90%, obtidos através de recristalização com etanol. A confirmação de cada estrutura foi feita através de técnicas espectrográficas de IV e RMN ^1H e ^{13}C . Os testes para a avaliação de potencial atividade biológica encontram-se em andamento.

Palavras-Chave: Malária, Reação Multicomponente, Hantzsch

ABSTRACT

Malaria is a potentially serious infectious disease caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, which is widely distributed throughout the world. In 2021, it's estimated that there were around 247 million cases and 617 thousand of deaths from Malaria in the World. Being transmitted through the bite of mosquitoes of the genus *Anopheles*, malaria is more common in regions where there is a greater proliferation of these vectors, that is, in regions with a tropical and subtropical climate. The fight against malaria is made difficult due to several factors, among which: the resistance of the pathogen to the main treatments and the toxicity they have. Thus, it is necessary to search for new drugs capable of effectively combating the protozoan that causes the disease, in addition to having fewer side effects. The chromenes are an class of molecules that have shown interesting biological activities, including the inhibition of protozoa. Furthermore, this class of compounds does not have high levels of toxicity, making them good candidates for the treatment of malaria. One of the ways to obtain chromenes is through multicomponent reactions that are reactions carried out in a one pot way, following the principles of green chemistry, that is, it maintains a great atomic economy, produces little residues and is safe. One of the multicomponent reactions that stands out is the Hantzsch reaction, which generates, as a product, a series of heterocycles of interest, and from a modification in the protocols it is possible to obtain an even greater diversity of compounds. In this work, from multicomponent reactions, it was possible to obtain a total of 28 different compounds divided into two distinct collections. The yields obtained ranged from 2 to 89%, with the majority having a yield above 60%. The purity of the compounds, except for two, was greater than 90%, obtained through recrystallization with ethanol. Each structure was confirmed using IR and ¹H and ¹³C NMR spectrographic techniques. Tests to evaluate potential biological activity are underway.

Keywords: Malaria, Multicomponent Reaction, Hantzsch

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT – *Artemisinin Combined Therapies* (Terapias Combinadas com Artemisinina)

PABA – ácido para-aminobenzóico

DHPS – diidropteroato sintase

DHF – ácido diidrofólico

DHFR – diidrofolato redutase

DHPM - dihidropirimidinona

DMSO – dimetilsulfóxido

IV – Infravermelho

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

NMR – *Nuclear Magnetic Resonance* (Ressonância Magnética Nuclear)

s – singleto / simpleto

d – dubleto

dd – duplo dubleto

t - tripleto

q - quarteto

m – múltiplo

H – hidrogênio

C – carbono

PBS – *Phosphate Buffered Saline* (Tampão Fosfato Salino)

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. MALÁRIA | 14 |
| 1.1. Ciclo Biológico e Sintomas | 16 |
| 1.2. Fármacos Antimaláricos | 18 |
| 1.3. Diagnóstico e Tratamento | 25 |
| 1.4. Novos Alvos e Fármacos em Desenvolvimento | 27 |
| 1.5. A Malária no Brasil | 30 |
| 2. REAÇÕES MULTICOMPONENTES | 32 |
| 3. CROMENOS | 37 |
| 4. TRABALHOS ANTERIORES DO GRUPO | 42 |
| 5. RETROSSÍNTESE | 43 |
| 6. OBJETIVOS GERAIS | 44 |
| 6.1. Objetivos Específicos | 45 |
| 7. MATERIAIS E METODOS | 46 |
| 7.1. Síntese dos Compostos Propostos | 46 |
| 7.2. Ensaio Biológico | 47 |
| 7.3. Ponto de Fusão | 47 |
| 7.4. Elucidação Estrutural | 47 |
| 8. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 48 |
| 8.1. Reação Multicomponente | 48 |
| 8.2. Metodologia A | 54 |
| 8.3. Metodologia B | 54 |
| 8.4. Elucidação Estrutural | 55 |
| 8.4.1. Molécula MCR 04 | 56 |
| 8.4.2. IV | 57 |
| 8.4.3. RMN ¹H | 58 |
| 8.4.4. RMN ¹³C | 61 |
| 8.5. Análises Espectroscópicas | 66 |
| 9. ENSAIOS BIOLÓGICOS | 73 |
| 10. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS | 78 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 79 |
| ANEXOS | 84 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Mapa Mundial da incidência da Malária | 15 |
| Figura 2 Mosquito do gênero Anopheles | 16 |
| Figura 3 Ciclo de vida do parasita | 17 |
| Figura 4 Mapa de risco de malária | 31 |
| Figura 5 Casos notificados de malária, segundo a espécie | 32 |
| Figura 6 2H e 4H-Cromenos, Cumarina e Flavona | 38 |
| Figura 7 Estrutura Química da Vitamina E | 39 |
| Figura 8 Cromenos isolados da <i>Calyptanthes tricona</i> | 39 |
| Figura 9 Cromeno isolado da <i>Wisteria sinensis</i> | 40 |
| Figura 10 Cromenos com potencial anticâncer | 41 |
| Figura 11 2H-cromenos com atividade antiparasitária | 42 |
| Figura 12 Compostos promissores sintetizados anteriormente | 43 |
| Figura 13 Retrossíntese dos Produtos Desejados | 44 |
| Figura 14 Coleções de compostos planejados A-D..... | 45 |
| Figura 15 MCR 04 | 56 |
| Figura 16 Espectro IV | 57 |
| Figura 17 Espectro de RMN de ^1H com expansões da molécula MCR 04 | 60 |
| Figura 18 Espectro de RMN ^{13}C da molécula MCR 04 | 62 |
| Figura 19 Espectro de COSY da Molécula MCR 04..... | 65 |
| Figura 20 Espectro de HSQC da Molécula MCR 04..... | 65 |
| Figura 21 Espectro de HMBC da Molécula MCR 04 | 66 |
| Figura 22 Estratégia de gate para a avaliação de parasitemia..... | 76 |
| Figura 23 Resultados do Ensaio de Parasitemia..... | 77 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|--|----|
| Esquema 1 Metodologia proposta por Strecker..... | 33 |
| Esquema 2 Metodologia proposta por Biginelli..... | 34 |
| Esquema 3 Metodologia proposta por Mannich | 34 |
| Esquema 4 Metodologia proposta por Passerini | 34 |
| Esquema 5 Metodologia proposta por Ugi | 34 |
| Esquema 6 Metodologia proposta por Hantzsch | 35 |
| Esquema 7 Mecanismo da Reação de Hantzsch..... | 36 |
| Esquema 8 Reação proposta por Dyachenko | 37 |
| Esquema 10 Sínteses propostas..... | 47 |
| Esquema 11 Mecanismo de reação para a metodologia A | 54 |
| Esquema 12 Mecanismo de reação para a metodologia B | 55 |

1. MALÁRIA

A malária é uma doença infecciosa grave, sendo categorizada como uma das doenças que mais impactam na morbidade e mortalidade de países localizados nas zonas tropicais e subtropicais do planeta. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, houve, em 2021, 247 milhões de casos em todo o mundo, com um número de mortes próximo a 619 mil pessoas. (WHO, 2023; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2020).

Sendo causada pelo parasita protozoário do gênero *Plasmodium*, a malária se dá por meio de cinco diferentes espécies de protozoários: *Plasmodium falciparum*; *P. vivax*; *P. malariae*; *P. ovale*; *P. knowlesi*, destes o mais perigoso é o *P. falciparum* por evoluir para a forma mais grave, a cerebral, levando o paciente a morte na maioria dos casos. Estima-se que, em 2021, a região africana, principalmente as regiões subsaarianas, foi responsável por cerca de 95% dos casos globais de malária e 96% do total de mortes, sendo que a Nigéria e a República do Congo concentram os maiores números de casos, com 31.3% e 12.6%, respectivamente. Na América três países contabilizam cerca de 90% dos casos de malária: Venezuela (55%); Brasil (22%) e Colômbia (11%) (**figura 1**) (FRANÇA, 2008; WHO, 2023).

A maior parte dos casos de malária na região africana é provocada pelo *P. falciparum*, porém nas Américas a espécie predominante é o *P. vivax*, que é responsável por cerca de 75% dos casos de malária. (WHO, 2020).

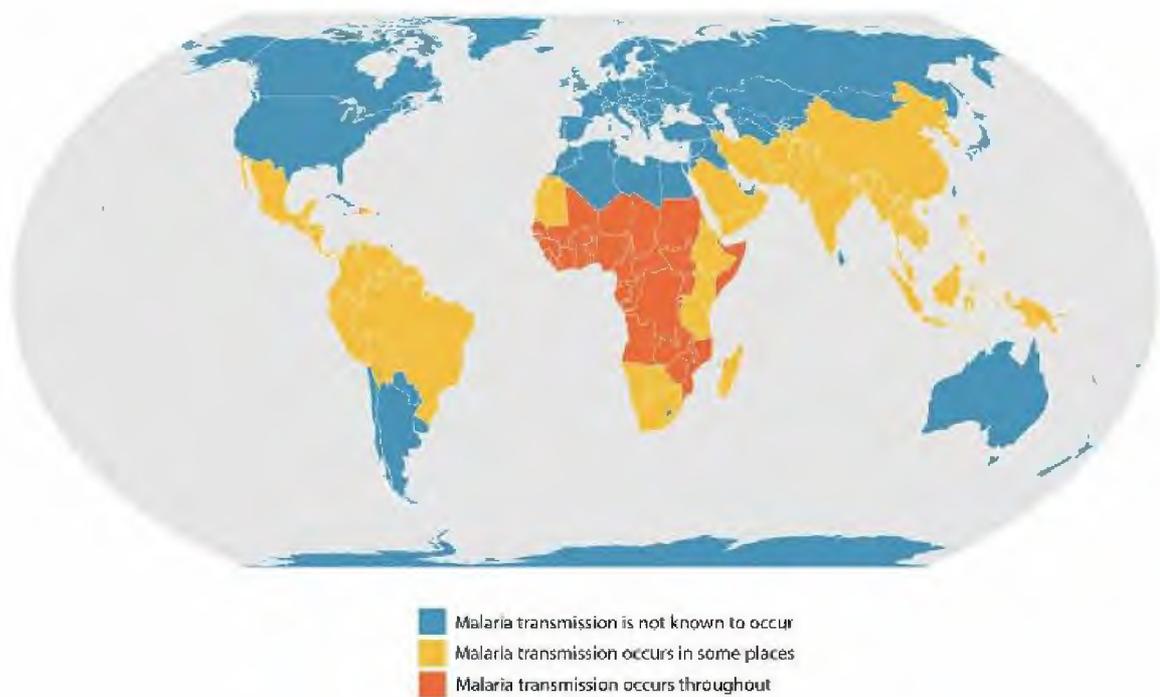


Figura 1 Mapa Mundial da incidência da Malária (CDC, 2020)

A malária é transmitida através da picada dos mosquitos fêmeas do gênero *Anopheles* (**Figura 2**), popularmente conhecidos por “carapanã”; “muriçoca”; “sovela”; “mosquito-prego”; “bicuda”, infectados com o *Plasmodium*. Dentre as mais de 400 espécies de *Anopheles*, cerca de 30 são realmente vetores de maior importância, sendo que todos têm hábitos noturnos. A intensidade de transmissão se dá por uma soma de diversos fatores como a presença do parasita, do vetor, do hospedeiro humano e do meio ambiente. Em locais onde o tempo de vida do vetor é maior, a transmissão de malária se mostra mais intensa, assim, a presença de água parada e o grande número de pessoas desprotegidas e suscetíveis às picadas são alguns dos motivos que levam a África a liderar o número de casos de malária no mundo, com aproximadamente 95% dos casos. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; WHO, 2023).

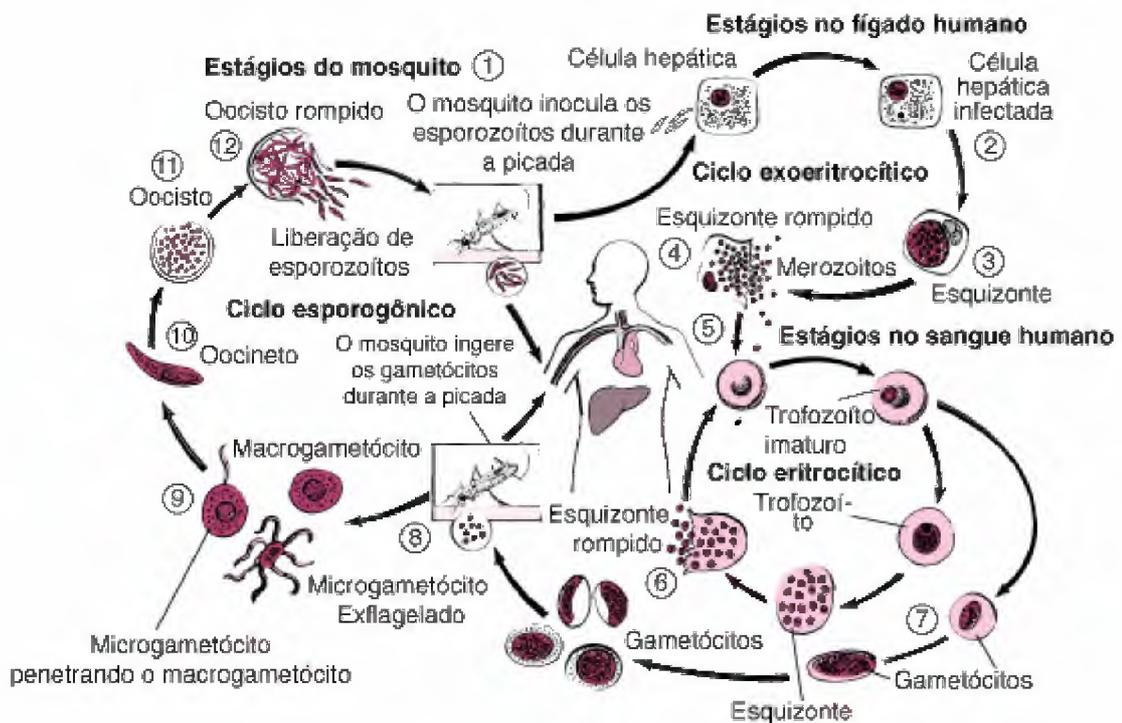


Figura 2 Mosquito do gênero *Anopheles* (FIOCRUZ, 2011)

1.1. Ciclo Biológico e Sintomas

A infecção pelo parasita acontece em etapas, seguindo o ciclo biológico dele (**figura 3**), isto é, primeiramente o *Plasmodium* é inoculado, na forma de esporozoítos, pelo vetor. Os esporozoítos em circulação na corrente sanguínea tem como alvo as células hepáticas, onde iniciam seu processo de replicação dando origem aos chamados esquizontes. Infecções por *P. vivax* e *P. ovale* podem gerar parasitos dormentes, os chamados hipnozoítos, sendo estes os responsáveis por recaídas da doença. Após um período variável de aproximadamente uma semana para o *P. falciparum* e *P. vivax* e de duas para o *P. malariae*, os esquizontes são rompidos, liberando merozoítos para a corrente sanguínea. Estes, por sua vez, têm como alvo os eritrócitos, onde rapidamente se proliferam, dando origem aos sintomas clássicos da malária. Na fase eritrocítica, os merozoítos dão origem aos trofozoítos que se apresentam primeiro em estágio anelar e que, posteriormente, evoluem para a fase madura, gerando novos esquizontes que se rompem e liberam novos merozoítos. Alguns parasitos, nessa etapa eritrocítica, se convertem em formas sexuadas, os gametócitos, quando estes são ingeridos pelos mosquitos *Anopheles* dá-se início ao processo de replicação sexuada do parasita, onde o microgametócito (gameta masculino) penetra o macrogametócito (gameta feminino) gerando zigotos. Os zigotos evoluem para oocinetos, que são formas móveis e

alongadas, estes invadem a parede do intestino do inseto, onde se desenvolvem em oocistos. Quando os oocistos se rompem eles dão origem a novos esporozoítos que chegam as glândulas salivares, possibilitando novas infecções. A fase eritrocítica varia conforme o tipo de *Plasmodium*, ocorrendo a cada 48 horas nas infecções por *P. vivax* e *P. falciparum* e a cada 72 horas nas infecções por *P. malariae*, este sendo o motivo de as febres altas da doença se mostrarem em um regime intermitente. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; BIAMONTE, 2013; CDC, 2020).



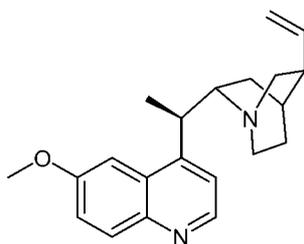
Fonte: CDC – Centers for Disease Control and Prevention, 2020 – Adaptado

Figura 3 Ciclo de vida do parasita

Os sintomas da malária se dão comumente por meio de febre alta, calafrios, tremores, sudoreses e cefaleias, sendo que estes podem ocorrer de forma cíclica. Algumas pessoas ainda apresentam manifestações diversas como náuseas, vômitos, cansaço e falta de apetite. As complicações da malária, resultado do não tratamento e causadas principalmente pelo *Plasmodium falciparum*, podem levar o paciente a quadros de alteração de consciência, coma, convulsões e até mesmo a morte. (FIOCRUZ, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

1.2. Fármacos Antimaláricos

Um dos primeiros fármacos utilizados no combate à malária foi a quinina (1). Utilizada por povos indígenas sul-americanos, a casca da *Cinchona*, foi empregada inicialmente por missionários jesuítas, no século XVII, como um tratamento para a febre. Em 1820, os químicos Pierre Joseph Pelletier e Joseph Bienaime Caventou, estudando a casca da *Cinchona*, identificaram a quinina (1), um alcalóide, como a responsável pelo efeito desejado. Após a descoberta a quinina (1) teve seu uso largamente difundido e até meados do século XX, sendo o principal medicamento utilizado no combate à malária. Sua utilização só foi diminuída em função do surgimento de cepas de *P. falciparum* resistentes e da toxicidade, pois o uso, mesmo em doses padrões, leva a quadros de quininismo, causando efeitos adversos como cefaleia, náuseas, deficiência auditiva, entre outros. (TAYLOR, 2004; FRANÇA, 2008).

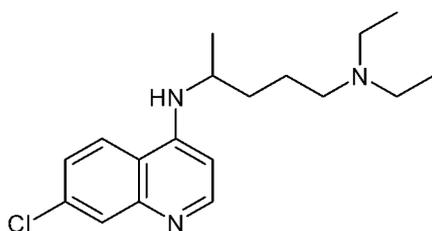


Quinina
(1)

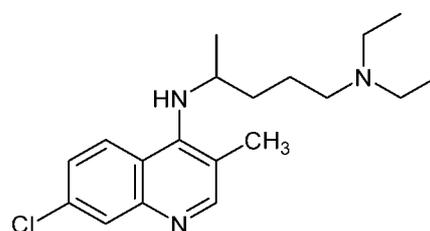
O desenvolvimento e a busca por fármacos antimaláricos se intensificaram com a primeira e segunda guerras mundiais, pois muitos dos combatentes que iam para os campos de batalha acabavam sendo internados em hospitais por conta da malária. Na primeira guerra mundial houve uma paralisação por cerca de 3 anos dos exércitos britânico, francês e alemão devido a proliferação da doença. Nesse período quase 80% dos 120 mil franceses foram hospitalizados com malária. (FRANÇA, 2008)

Em 1934, Hans Andersag, um químico alemão que trabalhava na Bayer, descobriu e patenteou duas moléculas, a *resoquin* (2) e um derivado dela, o *sontoquin* (3). Posteriormente a *resoquin* (2) foi rebatizada, adquirindo o nome de cloroquina (2). Os estudos clínicos comprovaram a eficácia de ambos contra a

malária, porém a cloroquina (**2**) apresentou propriedades superiores no que diz respeito a eliminação rápida dos parasitas e uma duração de proteção mais longa, assim o *sontochin* (**3**) acabou sendo deixado de lado. A análise estrutural das duas moléculas revelou que ambas possuíam uma base em comum, a 4-aminoquinolina, sendo essa a estrutura indicada como a responsável pelo efeito terapêutico, isso resultou em um interesse crescente pela classe de compostos quinolínicos, resultando na posterior síntese de outros antimaláricos. (FRANÇA, 2008; SÁ, 2011; POU, 2012)



Cloroquina
(2)

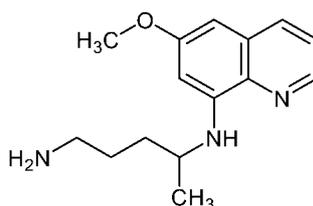


Sontochin
(3)

A cloroquina (**2**) se tornou o fármaco mais utilizado no combate à malária e na profilaxia, agindo como um agente esquizonticida, atuava rapidamente e apresentava poucos efeitos colaterais, porém o surgimento de cepas de *P. falciparum* resistentes acabou por dificultar o tratamento da doença a partir deste fármaco. De forma geral o tratamento a partir da cloroquina (**2**) é bem tolerado, porém o uso continuado ou exacerbado pode provocar efeitos adversos e até mesmo resultar em fatalidades. A margem de segurança, no que diz respeito a toxicidade deste fármaco, é pequena, visto que os efeitos tóxicos começam a surgir com doses pouco superiores as doses recomendadas, sendo que uma dose de 20 mg/kg já é considerada tóxica e caso, além disso uma dose de 5g de cloroquina em um adulto já pode levar o paciente a óbito. As reações à superdosagem aparecem rapidamente através de distúrbios na visão, parada cardíaca, sonolência, convulsões, entre outros. (TAYLOR, 2004; FRANÇA, 2008; POU, 2012)

Um outro fármaco antimalárico foi desenvolvido, por pesquisadores norte-americanos, poucos anos depois da cloroquina (**2**), a primaquina (**4**), uma 8-

aminoquinolina que se mostrou útil no combate à malária, porém devido a uma maior eficiência e a menos efeitos colaterais, o uso da cloroquina (2) permaneceu até o aparecimento de cepas resistentes. A primaquina (4) atua, principalmente, contra os esquizontes no fígado e os hipnozoítos, assim ela é utilizada para se alcançar uma cura total da doença, evitando posteriores recaídas. (TAYLOR, 2004; SÁ, 2011)

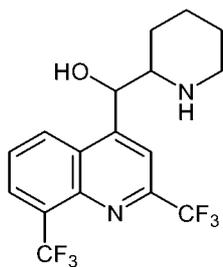


Primaquina
(4)

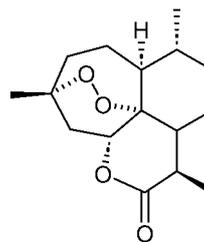
Por conta de sua toxicidade a primaquina (4) apresenta alguns efeitos colaterais incômodos de forma que ela não deve ser utilizada por alguns grupos específicos. Dentre os possíveis efeitos adversos causados por esse fármaco, a toxicidade gastrointestinal é a mais comum, provocando dores abdominais e cólicas, esse efeito, porém, pode ser diminuído ao ingerir o medicamento com algum alimento. Apesar de mais raro e necessitar de uma dose alta ou contínua, um outro efeito preocupante é a metaemoglobinemia, pois a primaquina (4) converte a hemoglobina (Hb) em meta-hemoglobina (metHb), estado no qual o ferro do grupo hemo está oxidado em Fe³⁺, não conseguindo se ligar a molécula de oxigênio e, conseqüentemente, não conseguindo carrear oxigênio para o corpo. A metaemoglobinemia, caso persista sem tratamento adequado, pode evoluir à cianose. Em indivíduos com deficiência de G6PD (glicose-6-fosfato desidrogenase) pode-se observar, também, um quadro de hemólise agravado pela medicação, acentuando a metaemoglobinemia, portanto para esses casos e durante a gravidez – por poder causar metaemoglobinemia e hemólise no feto – a primaquina (4) é contraindicada. (MANSOURI, 1993; TAYLOR, 2004).

Um outro fármaco quinolínico descoberto na década de 70 e utilizado contra as cepas resistentes de *P. falciparum* foi a mefloquina (5). Requerendo menos de um décimo da dose de quinina necessária para o tratamento de malária, a mefloquina (5) foi largamente empregada tanto no tratamento quanto na profilaxia da

doença. Porém o surgimento de protozoários resistentes, a grande toxicidade e a descoberta da artemisinina (6) foram fatores que influenciaram a diminuição progressiva do uso desse fármaco. (FRANÇA, 2008; SÁ, 2011)



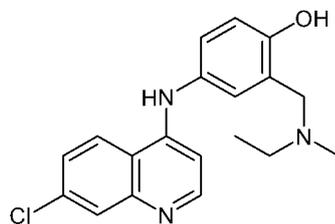
Mefloquina
(5)



Artemisinina
(6)

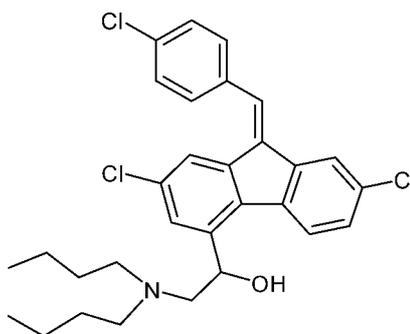
Atuando nos estágios assexuados da malária, a mefloquina (5) gera no paciente uma série de efeitos adversos que dificultam ou até mesmo impossibilitam o tratamento. O vômito logo ao ingerir o medicamento é um efeito comum e um dos problemas que comprometem o tratamento, além disso são relatados dores gastrointestinais, epilepsias, distúrbios neurológicos, tonturas, entre outros. Esses efeitos fazem com que a mefloquina (5) não seja recomendada para o tratamento da malária, porém ela ainda é usada em doses menores e em conjunto com outros antimaláricos (TAYLOR, 2004; FRANÇA 2008; DARDÉ, 2018)

Um outro medicamento quinolínico que foi utilizado nos casos de *Plasmodium* resistentes a cloroquina foi a amodiaquina (7). Porém por ser efetiva somente contra cepas pouco resistentes a cloroquina (2), se mostrando ineficaz contra as muito resistentes e apresentar uma elevada toxicidade, principalmente quando usada por longos períodos, como em profilaxia, esse fármaco acabou por cair em desuso. Dentre os efeitos colaterais causados pela amodiaquina (7) pode-se citar: vômito, coceira, tremores intensos, excesso de salivação, disartria e, em casos mais graves, danos fatais no fígado e na medula óssea. (TAYLOR, 2004; FRANÇA, 2008)



Amodiaquina
(7)

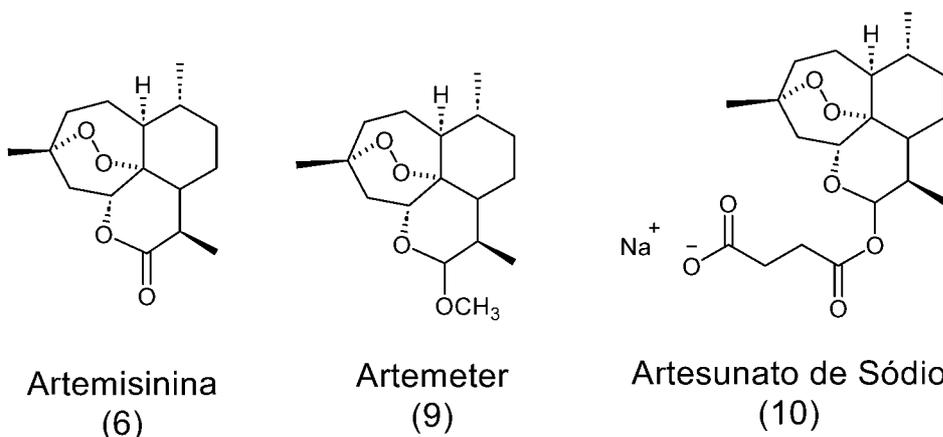
A Lumefantrina (**8**) é um fármaco utilizado em conjunto com a artemisinina para os casos de infecção por *P. falciparum*. Sintetizada na China, em 1977, esse composto dispõe de dois enantiômeros, a (+)-lumefantrina e (-)-lumefantrina, porém ambos os isômeros, assim como sua mistura racêmica, possuem uma alta atividade antimalárica. A lumefantrina (**8**) também se destaca no que diz respeito a toxicidade, pois os efeitos adversos relatados são, no geral, leves como tosse, diarreia, vômito e anemia. (PINHEIRO, 2013)



Lumefantrina
(8)

A artemisinina (**6**), uma lactona sesquiterpenica encontrada nas folhas da *Artemisia annua*. É um fármaco antimalárico da classe dos endoperóxidos. Seu uso data de 340 a.C. onde era usada no tratamento de febres na China. O composto foi isolado pela primeira vez em 1972 por um grupo de pesquisadores chineses. A artemisinina (**6**) demonstrou uma grande atividade frente a malária, o que acabou por levar a um crescente interesse a essa classe de compostos que culminou na

síntese de diversos análogos e derivados, como o artemeter (9) e o artesunato de sódio (10). (FRANÇA, 2008; GRAEBIN, 2009; SÁ 2011)



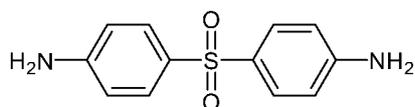
Devido ao fato de os derivados da artemisinina (6) serem bem tolerados, provocando poucos ou nenhum efeito adverso e se mostrarem muito eficazes no combate as cepas resistentes de *Plasmodium*, eles passaram a ser utilizados como o medicamento principal para o tratamento da doença, estabelecendo-se, posteriormente, o protocolo ACT – *artemisinin combined therapies* – que é recomendado e reconhecido pela Organização Mundial da Saúde como sendo o tratamento mais efetivo para a malária até então. (TAYLOR, 2004; WHO, 2018)

A artemisinina (6) e seus derivados, por possuírem uma baixa meia-vida, não são utilizados como monoterapias, mas são associados a outros compostos que possuem uma meia-vida mais longa de forma a evitar o surgimento de cepas resistentes. (DARDÉ, 2018).

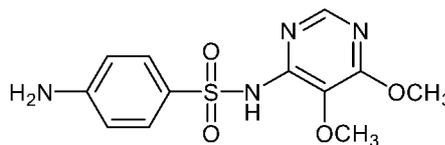
Uma outra classe de fármacos utilizados no combate à malária são os antifolatos. Podendo atuar como equizonticidas sanguíneos, os antagonistas do folato apresentam uma série de complicações quanto a sua toxicidade, porém podem ser utilizados para diversas outras doenças, como, por exemplo, o câncer. (DELFINO, 2002; TAYLOR, 2004; FRANÇA, 2008)

Os antifolatos são divididos em dois grandes grupos, a depender de seu mecanismo de ação. Os antifolatos do tipo 1 são constituídos por sulfonas e

sulfonamidas e, por possuírem semelhanças estruturais ao ácido *para*-aminobenzóico (PABA) competem com este pelo sítio ativo da enzima diidropteroato sintase (DHPS) que é precursora do diidrofolato (ácido di-hidrofólico, DHF), necessário para a síntese de ácidos nucleicos. As moléculas deste tipo mais usadas e *conhecidas* são a dapsona (**11**) e a sulfadoxina (**12**). (DELFINO, 2002; FRANÇA, 2008)

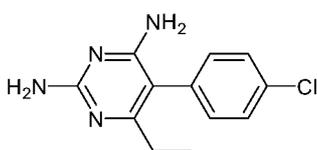


Dapsona
(11)

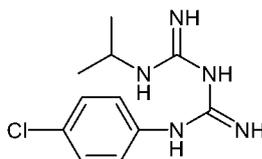


Sulfadoxina
(12)

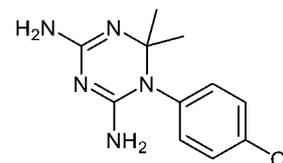
Os antifolatos do tipo 2 possuem estrutura semelhante ao anel pteridínico do diidrofolato, competindo, diretamente, pelo sítio ativo da diidrofolato redutase (DHFR), onde atuam como inibidoras. As principais moléculas desse grupo são a pirimetamina (**13**) e o proguanil (**14**), este último sendo um pró-fármaco que é metabolicamente ciclizado a cicloguanil (**15**). (DELFINO, 2002; FRANÇA, 2008).



Pirimetamina
(13)



Proguanil
(14)



Cicloguanil
(15)

Os antifolatos são utilizados, na maior parte das vezes, como uma associação entre a pirimetamina (**13**) e a sulfadoxina (**12**). Eles possuem uma boa absorção por parte do organismo humano, mas a eliminação desses compostos é demorada, portanto o tratamento, geralmente, requer somente uma dose. A toxicidade é o principal problema dos antifolatos, sendo que diversos efeitos adversos foram

relatados, dentre eles se encontram eritema multiforme, síndrome de Stevens Johnson, granuloma hepático, hepatite, além de outros que acometem o sistema vascular e respiratório. Por conta dos graves efeitos adversos os antifolatos não são recomendados como medicamentos profiláticos. (DELFINO, 2002; TAYLOR, 2004).

1.3. Diagnóstico e Tratamento

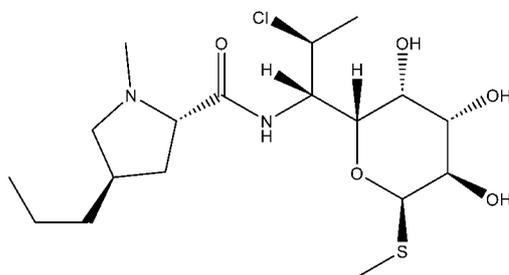
O diagnóstico da doença, para os casos de suspeita de malária, pode ser feito tanto por meio de exames parasitológicos por microscopia quanto por testes rápidos de diagnóstico, sendo que os resultados deste último podem ser obtidos em 30 minutos ou menos. Cabe ressaltar a importância da realização dos testes o quanto antes, pois o diagnóstico tardio é um dos principais fatores que acarretam a morte por malária. (FIOCRUZ, 2013; WHO, 2020).

Dentre os métodos de diagnóstico conhecidos para a malária, três deles se destacam:

- O teste de gota espessa, sendo o melhor teste inicial possível, de baixo custo e fácil realização, ela se baseia na técnica de microscopia óptica para a identificação de parasitos, após a coloração com azul de metileno e Giemsa.
- O teste de esfregaço delgado, é o teste indicado para a identificação da espécie de parasita, ele consiste no espalhamento organizado do sangue sobre uma lâmina para posterior análise óptica (pode ou não ser corado), com o espalhamento do sangue torna-se mais fácil observar a morfologia do parasita, possibilitando sua identificação.
- O teste rápido é realizado a partir de tiras de nitrocelulose contendo o anticorpo para o parasito em específico. Este teste não é indicado e somente é usado quando há a impossibilidade de se recorrer aos outros, pois apesar de possuir uma sensibilidade alta, de 95%, quando comparada ao teste da gota espessa, o resultado obtido não determina a densidade parasitária e pode ter, como resultado, um falso positivo, proveniente de antígenos ainda presentes após o tratamento. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005, 2020).

O tratamento deve ser iniciado somente após a confirmação parasitológica, sendo admitido tratamento baseado nos sintomas somente mediante a impossibilidade de diagnóstico. O tratamento normalmente utilizado é baseado na

associação entre artemisinina (6) e seus derivados, com outros compostos, ele também varia conforme o tipo de *Plasmodium*, a gravidade da doença, a idade do paciente, o peso e, no caso de mulheres, se estas estão grávidas. Para infecções de *P. vivax* e *P. ovale* o tratamento é feito com uma combinação de primaquina (4) e cloroquina (2), sendo que gestantes e crianças com menos de 6 meses não podem ser tratadas com primaquina (4), nesses casos, e em pacientes infectados por *P. malariae*, o tratamento é feito somente com cloroquina (2). Nos casos de infecção por *P. falciparum* o tratamento se dá pela associação de artemeter (9) + lumefantrina (7) e primaquina (4) para pacientes em geral e quinina (1) e clindamicina (16) para gestantes e crianças menores de 6 meses. Existem algumas outras associações medicamentosas utilizadas no combate à malária caso haja necessidade de uma segunda escolha, como, por exemplo, artesunato (10) + mefloquina (5) para o tratamento de *P. falciparum*. (Ministério da Saúde, 2010; WHO, 2020).



Clindamicina
(16)

Medicamentos antimaláricos também podem ser utilizados na quimioprofilaxia de forma a prevenir o contágio, porém devido a resistência adquirida pelo *P. falciparum* a antimaláricos em algumas regiões, por conta da toxicidade e custo elevado de novas drogas, esse tipo de tratamento não é utilizado de forma coletiva, mas apenas em casos especiais, como em viagens para áreas endêmicas, ou como forma preventiva para grávidas que residem em áreas de risco moderado ou alto. (FIOCRUZ, 2013; WHO, 2020).

Apesar da existência de tratamentos para a malária, o melhor e mais efetivo modo de prevenir e controlar a transmissão é através do controle do vetor. Para o controle do vetor podem ser adotadas tanto medidas individuais – como o uso de mosquiteiros (impregnados ou não com inseticidas), uso de roupas longas que

protejam braços e pernas, telas em portas e janelas, repelentes, entre outros cuidados – quanto coletivos – como a eliminação de criadouros, obras de saneamento, aterros, controle de vegetação aquática, entre outros. Uma outra estratégia que pode ser utilizada é a partir do uso de inseticidas de forma a reduzir o contato entre o *Anopheles* e os humanos, porém desde 2010 diversos países reportam a resistência do mosquito a pelo menos 1 de 4 inseticidas usados normalmente, além de, em alguns locais, o inseto apresentar resistência a todos os principais inseticidas, assim o uso de mosquiteiros se mostra mais seguro e eficaz. (WHO, 2020; FIOCRUZ, 2013).

1.4. Novos Alvos e Fármacos em Desenvolvimento

Devido ao constante surgimento de cepas resistentes aos tratamentos utilizados no combate à malária, a grande transmissão e alta mortalidade, se faz necessário entender completamente o mecanismo de ação dos atuais fármacos, bem como o mecanismo de resistência do parasita, de forma a possibilitar o desenvolvimento de novas estratégias visando alvos biológicos específicos. (BELETE, 2020).

Na última década houve uma evolução no processo de identificação, dosagem e avaliação de novos fármacos, porém o método de triagem fenotípica ainda domina, aliado, cada vez mais, com técnicas de varredura genômica e molecular. (ASHLEY, 2018).

Com a decodificação do genoma do *P. falciparum* novos potenciais alvos biológicos foram descobertos, dentre os quais pode-se citar: a biossíntese de metabólitos cruciais, o transporte membranar, o sistema de sinalização e os processos de degradação da hemoglobina. (BELETE, 2020)

As enzimas proteases do *Plasmodium* atuam, por meio da hidrólise, na quebra das ligações peptídicas das proteínas da hemoglobina. Elas são essenciais para a sobrevivência, replicação e desenvolvimento do parasita, de forma que se tornam um alvo promissor para o desenvolvimento de novos antimaláricos. (ASHLEY, 2018; BELETE, 2020).

As fosfoinosítídeos lipídicos quinases (PIKs) são enzimas que desencadeiam uma série de reações celulares através da fosforilação de lipídios. A proliferação, sobrevivência, tráfego e sinalização intracelular dependem dessas enzimas. Dentre essas enzimas, a fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K) e a fosfoinosítídeo 4-quinase (PI4K) são as mais largamente estudadas, sendo o alvo ideal dessa classe para o desenvolvimento de novos fármacos. (ASHLEY, 2018; BELETE, 2020).

Sendo responsáveis pelo controle e aquisição de metabólitos, eletrólitos e nutrientes, os transportadores especializados do *Plasmodium* são um alvo biológico de interesse. Por conta de mecanismos de ação e estruturas diversificadas é possível a abordagem por diferentes compostos que não possuam similaridades químicas, o que amplia as possibilidades e diminui a probabilidade de surgimento de resistência cruzada futuramente. Dentre os transportadores de interesse pode-se citar: os transportadores de açúcares; de lactato; de colina; as P-ATPases; as V-ATPases; e as aquoporinas 3. (BELETE, 2020).

Alguns outros novos alvos biológicos visados no desenvolvimento de novos fármacos são a Diidroorotato desidrogenase – enzima que auxilia na produção de nucleotídeos –; a biossíntese de isoprenóides – necessários tanto para a modificação pós-traducional das proteínas, quanto para a replicação assexuada do *Plasmodium* –; a farnesiltransferase; e o fator de alongação 2 do *Plasmodium falciparum*. Outro alvo de interesse se encontra no processo de infecção das hemácias por merozoítos, através dos processos de acoplamento e fixação nos eritrócitos, nesse caso agentes polissacarídeos antiaderentes têm se mostrado como promissores inibidores dessa invasão. (ASHLEY, 2018; BELETE, 2020).

No que diz respeito ao desenvolvimento de novos fármacos, diversos fatores devem ser levados em conta, nesse sentido um antimalárico ideal deverá ser um inibidor potente do parasita, ser de curta administração ou de dose única, ter um bom perfil de segurança, ser acessível, bem tolerado, principalmente por crianças e mulheres grávidas e ter uma baixa inclinação a desenvolver resistência. Também é desejável uma série de fármacos com perfis químicos diferentes, visto que a similaridade química pode acabar por gerar uma resistência cruzada nos compostos. (ASHLEY, 2018; PADMA, 2023).

Dentre as estratégias planejadas para superar o constante aparecimento de cepas resistentes aos tratamentos desenvolvidos, incluindo o de uso atual – o tratamento por ACT –, uma delas em andamento é a substituição de uma terapia medicamentosa de combinação dupla, isto é, utilizando dois antimaláricos – derivados de artemisinina juntamente com outro fármaco –, para uma terapia medicamentosa de combinação tripla, onde os derivados da artemisinina seriam utilizados com dois outros medicamentos, gerando um tratamento seguro, bem tolerado, altamente eficaz e com uma grande barreira para o surgimento de resistências. (ASHLEY, 2018; BELETE, 2020; PADMA, 2023).

Alguns compostos se encontram em fase de testes clínicos e são demonstrados na Tabela 1.

| Nome do Composto | Compania | Fase | Mecanismo de Ação |
|--|---|-------------|--|
| KAE609 (cipargamin) | Novartis | 2a | Inibidor do canal iônico da Na ⁺ -TPase |
| M5717 (DDD498) | Merck, KGaA, Darmstadt | 1 | Inibidor do fator de alongação 2 do <i>P. falciparum</i> |
| Albitiazolium (SAR9727) | CNRS/Universit y of Montpellier/ Sanofi | 2 | Inibidor do transporte de colina no parasita |
| SJ733 | St Jude/Eisai (Rutgers) | 1 | Atua na enzima transportadora P-ATPase. |
| KAF156(Ganapla cide)/ lumefantrine | Novartis | 2b | Mecanismo de ação desconhecido |
| DSM265 | Takeda (Univ.of Texas Southwestern | 2a | Inibidor da enzima Diidroorotato desidrogenase |
| Methylene Blue | University of Heidelberg | 2 | Previne a polimerização do grupamento heme ao inibir a glutationala redutase do <i>P. falciparum</i> |
| Sevuparin (DF02) | Dilaforette- Karolinska Institute | 2 | Anti-adesivo derivado de polissacarídeo. Bloqueia a invasão e sequestro por merozoítos |

| | | | |
|---|---|-----------|---|
| P218 | Medicines for Malaria Venture | 1 | PfDHFR inhibitor |
| MMV048 | Univ. of Cape Town | 2a | Inhibiting the parasite enzyme phosphoinositol 4-kinase enzyme |
| MMV390048 | University of Cape Town | 2a | Inibidor de fosfoinosítido 4-quinase (PI4K) |
| Artefenomel (oz439) + Piperaquine OZ277+ Piperaquine | Medicines for Malaria Venture | 3b 2–3 | Endoperóxido sintético Inibe a ATPase de cálcio do retículo endoplasmático sarcoplasmático codificado por Pf |
| AQ 13 | Tulane University and University of Bamako | 2 | Mecanismo de ação desconhecido |
| Fosmidomycin + piperaquine | Medicines for Malaria Venture and Jomaa Pharma GmbH | 2a 2b | Via do Deoxi-D-Xilulose Fosfato (DOXP) |

Notes: Phase 2a studies focus on monotherapy, whereas Phase 2b studies investigate combination therapy.

Fonte: Adaptado de Belete (2020)

Tabela 1 Compostos em fase de testes frente a *P. falciparum*

1.5. A Malária no Brasil

A região Amazônica, que comporta os estados do Acre; Amazonas; Amapá; Mato Grosso; Pará; Rondônia; Roraima e Tocantins, abrange mais de 800 municípios e é considerada uma área endêmica, chegando a concentrar 99,9% dos casos autóctones de malária. Fora da região Amazônica, mais de 80% dos casos são importados dos Estados pertencentes as áreas endêmicas ou de outros países, porém existe transmissão residual de malária em Estados da região extra-amazônica, principalmente em áreas de Mata Atlântica (**figura 4**) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

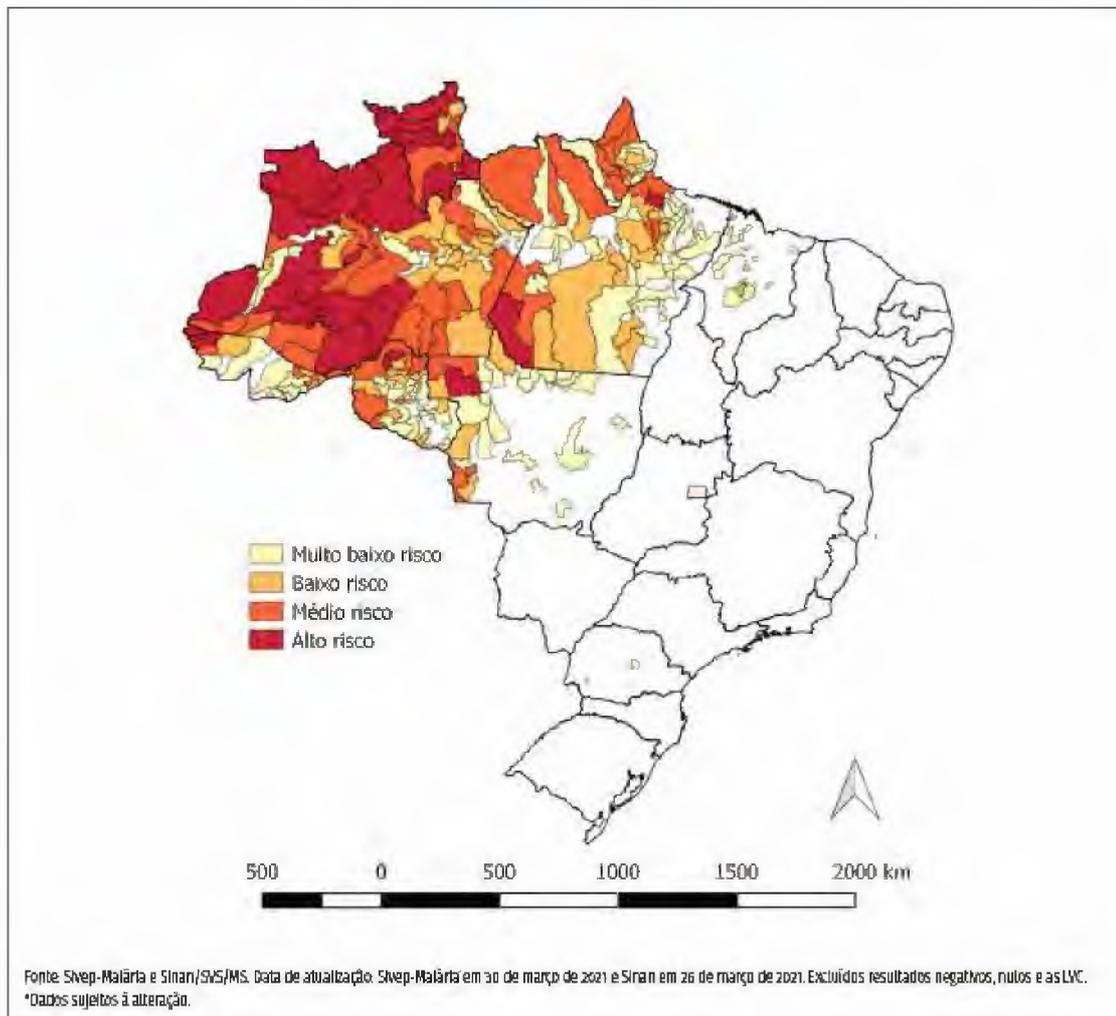


Figura 4 Mapa de risco de malária (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2021).

Há diversos fatores que levam a região amazônica ser uma região endêmica, pois o ambiente quente e úmido na maior parte do ano e a presença abundante de corpos hídricos propiciam a existência do vetor, além disso há um grande número de infectados na região que, sendo alvos dos mosquitos, acabam por espalhar a doença. (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2020)

Em 2021, segundo dados preliminares, foram registrados 139.211 casos da doença no país, sendo 137.857 casos autóctones, desses, 83,0% foram por *P. vivax*, enquanto 17,0% foram por *P. falciparum* e malária mista. Em comparação com o ano de 2020, quando foram notificados 145.205 casos, houve uma redução de 4,1% (**figura 5**) (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2022).

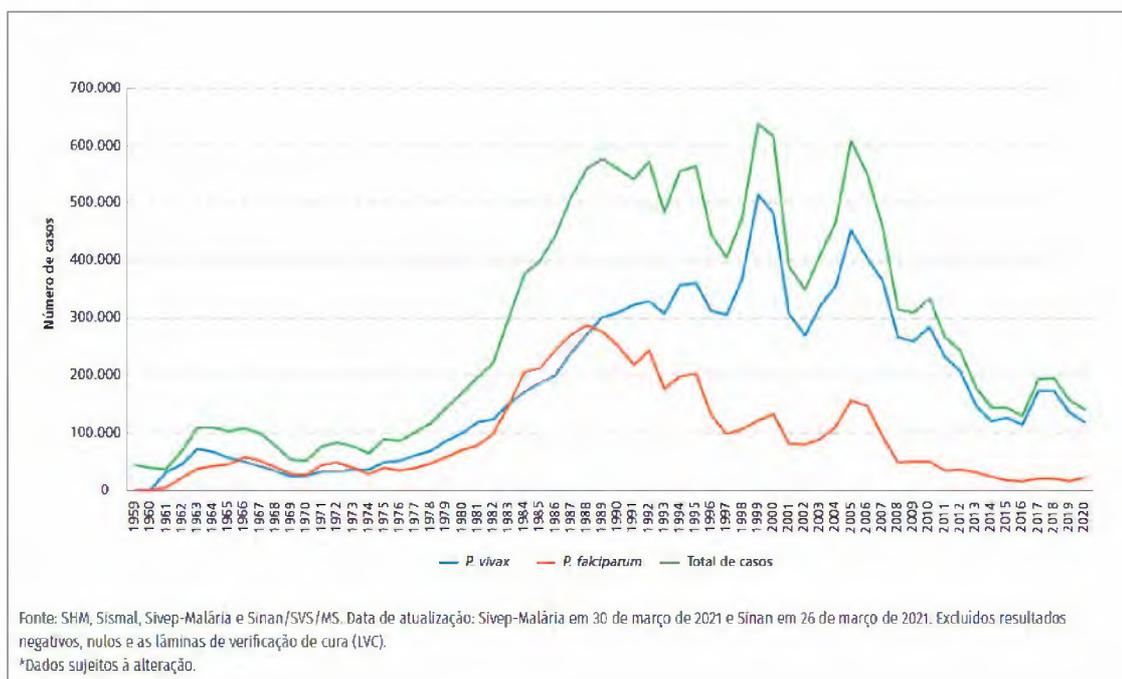


Figura 5 Casos notificados de malária, segundo a espécie (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA DA SAÚDE, 2021)

Um fator preocupante no que diz respeito ao tratamento de malária no Brasil é a demora pela suspeição dos casos nas regiões extra-amazônicas, atrasando o início do tratamento e, conseqüentemente, propiciando o agravamento do quadro, o que acaba por levar a uma letalidade de 2,04%, enquanto que, na região Amazônica, onde a suspeição é mais rápida, a letalidade é de aproximadamente 0,02%, isto é, ao se comparar as duas regiões vê-se um aumento da letalidade de cerca de 123 vezes por parte da região extra-amazônica. (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2020).

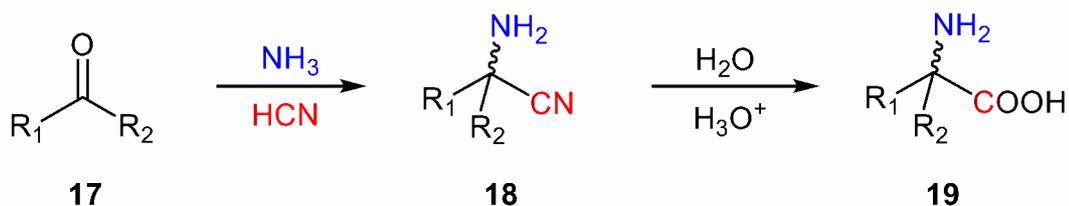
2. REAÇÕES MULTICOMPONENTES

Reações Multicomponentes são reações caracterizadas pela adição de três ou mais reagentes em um tubo de reação de forma a permitir que estes se combinem entre si de modo *one-pot*, isto é, toda a reação acontece dentro de um mesmo reator, o que acaba por gerar uma série de vantagens, como: um menor número de etapas, se comparada à síntese linear; menor número de etapas de purificação, visto que não há necessidade de isolar os intermediários; facilidade de reprodução; possibilidade de se gerar uma rápida biblioteca de compostos;

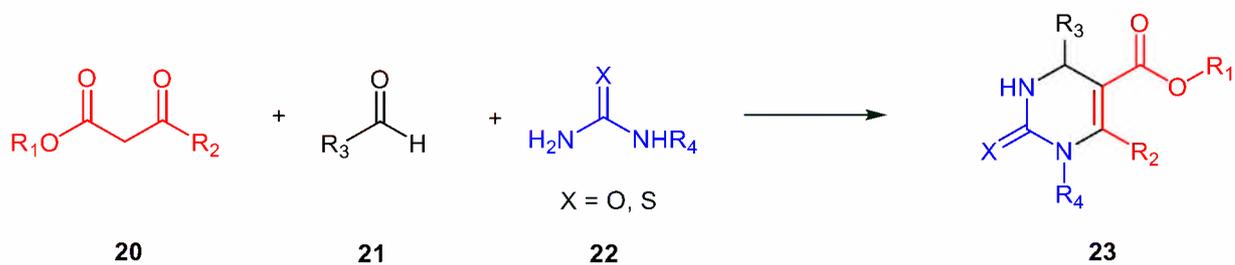
incorporação da maior parte dos átomos de carbono utilizados como reagentes iniciais ao produto final, gerando uma maior economia atômica; possibilidade de se gerar tanto compostos relativamente simples quanto estruturas altamente complexas. (GRAEBIN, 2019).

O desenvolvimento das reações multicomponentes data, na literatura, de 1850, com a reação de Strecker (**Esquema 1**), dada pela mistura inicial de acetaldéido (**17**; $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$), amônia e cianeto de hidrogênio, obtendo, como produto, uma aminonitrila (**18**) que, depois de hidrolisada, se transformava em alanina (**19**; $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$), um aminoácido. A reação de Strecker se mostrou muito efetiva para se produzir α -aminoácidos em laboratório e em escala global. (GRAEBIN, 2019).

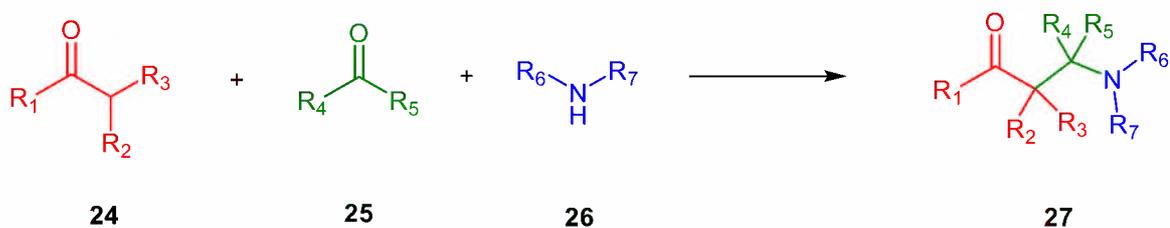
Após as descobertas de Strecker diversas outras reações foram relatadas, entre elas estão Biginelli (1893) (**esquema 2**); Mannich (1912) (**esquema 3**); Passerini (1921) (**esquema 4**); Ugi (1959) (**esquema 5**); Hantzsch (1882) (**esquema 6**), entre outros. (GRAEBIN, 2019).



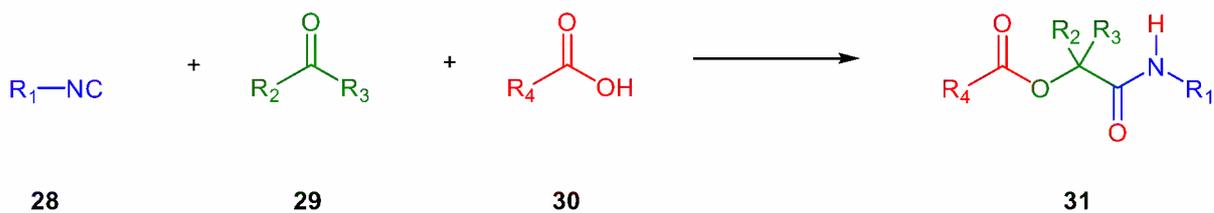
Esquema 1 Metodologia proposta por Strecker



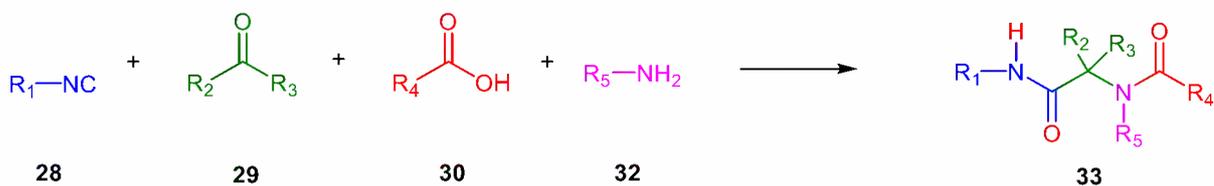
Esquema 2 Metodologia proposta por Biginelli



Esquema 3 Metodologia proposta por Mannich

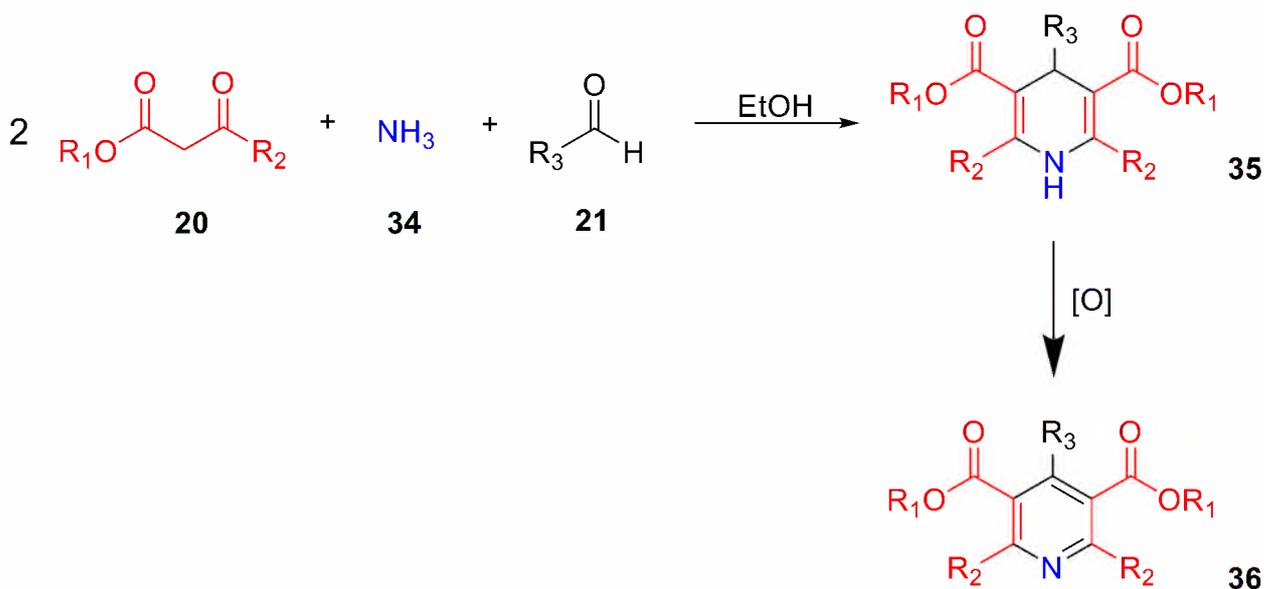


Esquema 4 Metodologia proposta por Passerini



Esquema 5 Metodologia proposta por Ugi

A reação de Hantzsch original, descrita em 1882, consiste na reação de condensação entre 2 equivalentes molares de acetoacetato de etila (**20**; $R_1 = \text{Et}$; $R_2 = \text{CH}_3$), amônia (**34**) e acetaldeído (**21**; $R_3 = \text{CH}_3$), levando a formação de uma 1,4-dihidropiridina simetricamente substituída (**35**). Essas dihidropiridinas frequentemente sofrem oxidação espontânea, na presença de oxigênio atmosférico, à piridinas simetricamente substituídas (**36**). Um mecanismo geral para a reação é mostrado no esquema 6. (GREBIN, 2019)



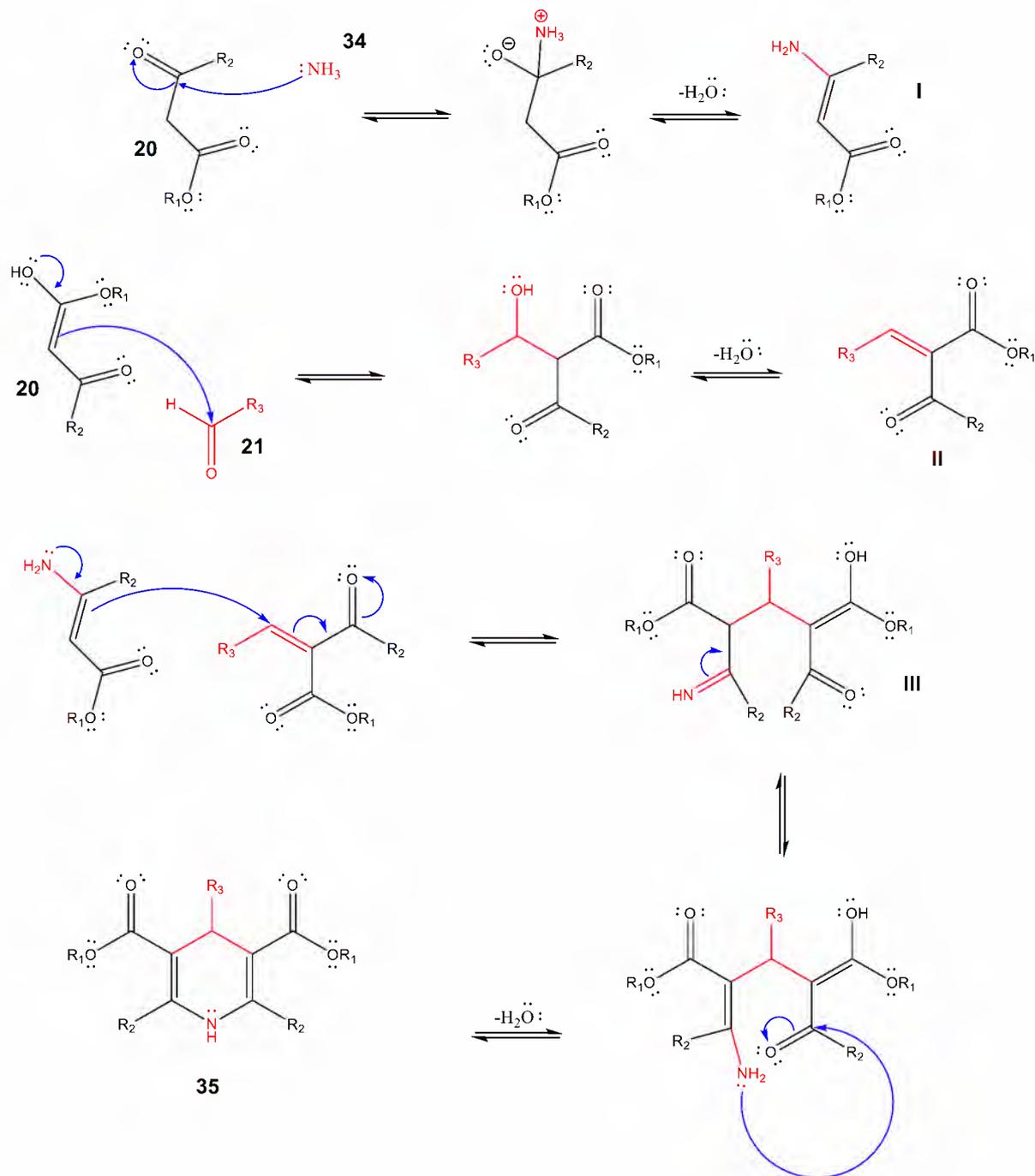
Esquema 6 Metodologia proposta por Hantzsch

Com a modificação dos protocolos a reação de Hantzsch se tornou mais sofisticada, permitindo a criação de dihidropiridinas assimétricas, além de se perceber um caráter enantioselectivo em reações onde foi utilizado um catalisador quiral. (GRAEBIN, 2019).

A possibilidade da inserção de diversos grupamentos alquil, aril ou heteroaril como substituintes dos grupamentos R_1/R_2 (**esquema 6**), além da viabilidade de substituição no grupamento R_3 do aldeído e de utilização de aminas primárias fazem com que seja possível a síntese de uma variedade de dihidropiridinas e piridinas. Além disso diversas moléculas desta classe de compostos se mostraram, na literatura, com uma boa variedade de atividades biológicas.

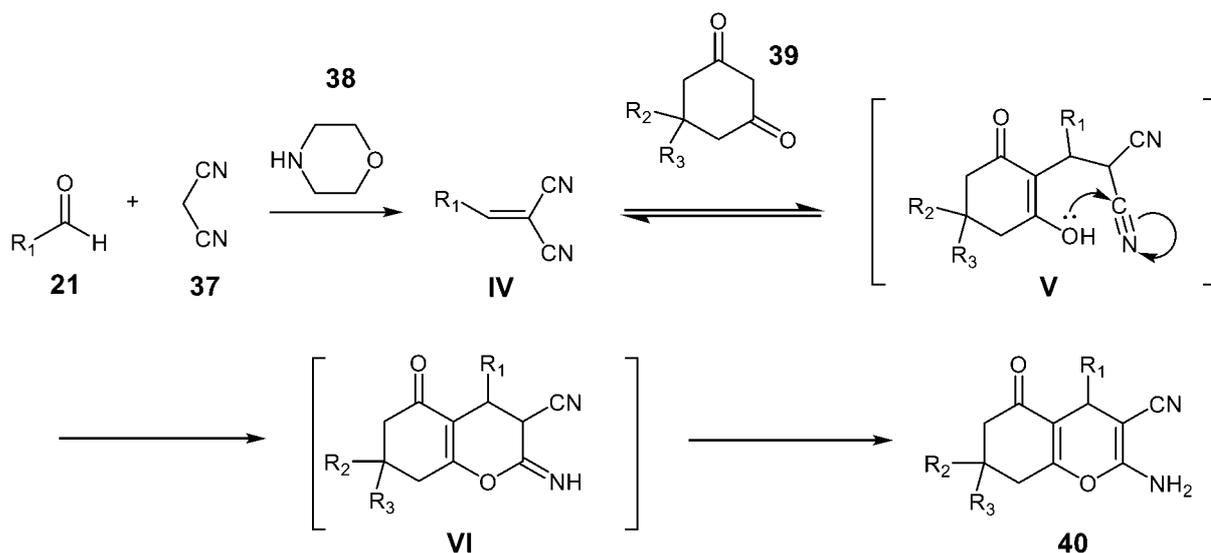
O mecanismo da reação clássica de Hantzsch (**esquema 7**) se inicia por meio de uma reação de condensação entre o acetoacetato de etila (**20**), um β -cetoester, e

a amônia (**35**), gerando como intermediário uma enamina (**I**). Uma condensação de Knoevenagel ocorre entre o acetoacetato de etila (**20**) e o acetaldeído (**21**), gerando o intermediário II. A condensação entre os intermediários I e II produz o intermediário III que, após um processo de ciclização, gera o produto final, uma dihidropiridina (**35**).



Esquema 7 Mecanismo da Reação de Hantzsch (GRAEBIN, 2019)

Dyachenko *et al.* (2006) propuseram uma condensação por reação multicomponente de aldeídos (**21**) com malononitrila (**37**) e compostos 1,3-dicarbonílicos (**39**), utilizando morfolina (**38**) como catalisador, de forma a obter uma série de amino-piranos substituídos (**40**) (**Esquema 8**). Essas proposições demonstraram que através das reações multicomponentes é possível obter diversos compostos de interesse.



Esquema 8 Reação proposta por Dyachenko (2006)

A síntese proposta por Dyachenko (2006) foi otimizada, posteriormente, no que diz respeito a quantidade de catalisador utilizada. A partir de uma série de testes com a utilização dos mesmos reagentes, mas diferentes quantidades de catalisador, Rodrigues (2018) determinou que a quantidade de catalisador a ser utilizada para um maior custo-benefício seria de 0,25 mol em uma reação de 1:1:1

3. CROMENOS

Os cromenos são uma classe de compostos heterocíclicos que apresentam uma ampla diversidade de interações biológicas como anticancerígenos, anticonvulsivantes, antimicrobiano, anticolinesterase, antituberculose, anti-

inflamatório, analgésico, antidiabéticos, entre outras. (RAJ, 2020; CHAUDHARY 2022).

Sendo compostos por um anel benzênico fundido à um núcleo pirânico, os cromenos possuem um total de 9 carbonos em sua estrutura, sendo que 8 deles possuem hibridização do tipo sp^2 e um deles possui hibridização sp^3 . A depender de onde se encontra o carbono sp^3 , os cromenos podem ser categorizados como sendo 2H-cromenos, quando o carbono sp^3 se encontra na posição 2, ou 4H-cromenos, quando o carbono sp^3 se encontra na posição 4 (**Figura 6**). (COSTA, 2016; RAJ, 2020).

Os cromenos também servem como base para criação de diversos outros compostos de interesse, como as cumarinas (**41**), através de uma modificação nas moléculas de 2H-cromenos, e as flavonas (**42**), pela modificação dos 4H-cromenos. (COSTA, 2016).

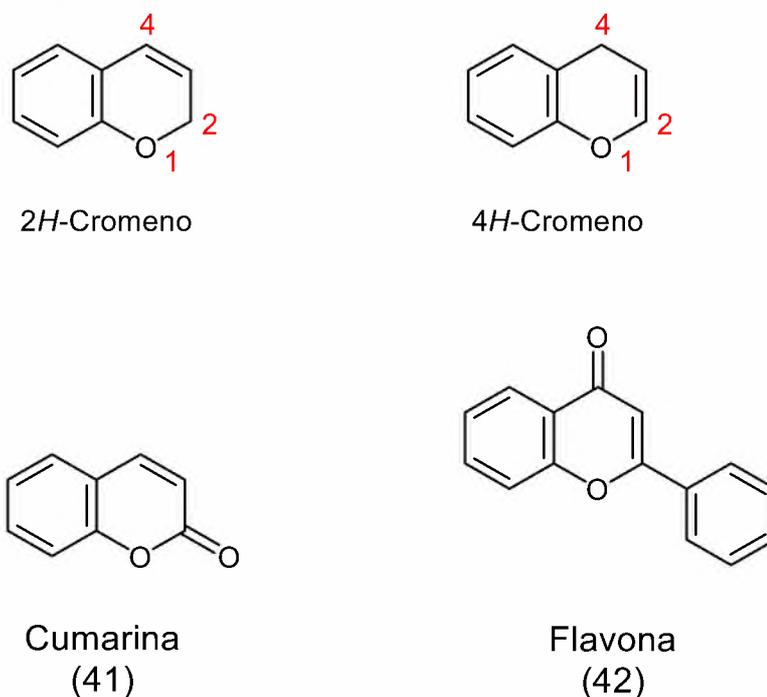


Figura 6 2H e 4H-Cromenos, Cumarina e Flavona

Diversos cromenos e derivados podem ser encontrados na natureza, a exemplo disso tem-se a vitamina E (**Figura 7**) um derivado de cromeno, possuidor

de atividade antioxidante. Dentre outras fontes naturais de cromenos, os 2H-cromenos podem ser encontrados e isolados a partir do óleo essencial da *Calyptanthes tricona* – popularmente conhecida como guaburiti – em duas formas distintas, possuindo atividades antifúngicas, 5,7-dimetoxi-2-metil-2H-cromeno e 5,7-dimetoxi-2,8-dimetil-2H-cromeno (Figura 8), já os 4H-cromenos podem ser encontrados a partir das flores da *Wisteria sinensis* – popularmente conhecida como glicínia – na forma de 7-hidroxi-6-metoxi-4H-cromeno (Figura 9), estrutura esta que confere um odor característico à flor. (CHAUDHARY, 2022; MADHURENDRA 2022).

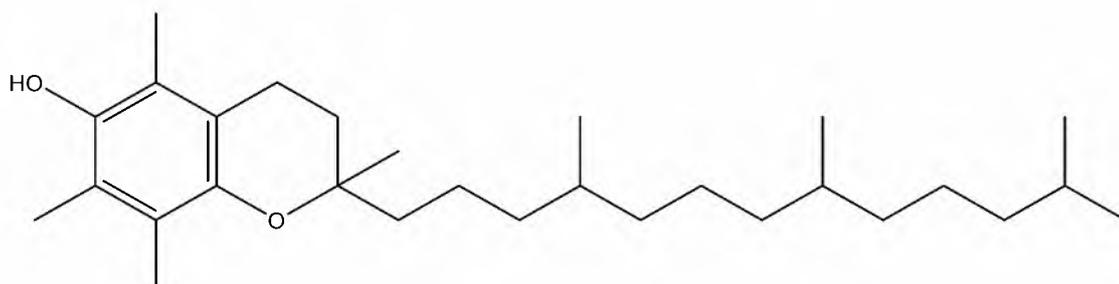
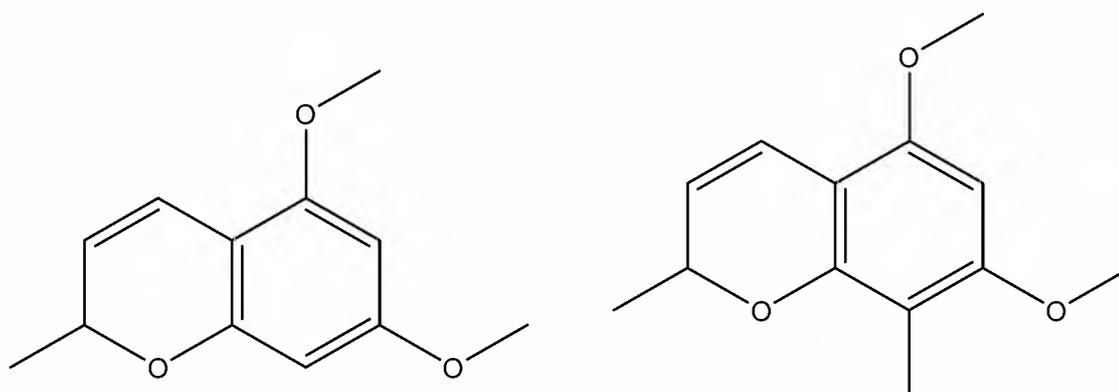


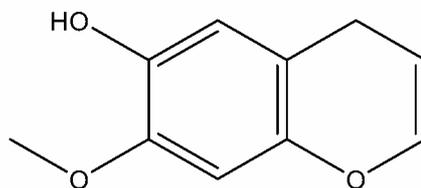
Figura 7 Estrutura Química da Vitamina E



5,7-demetoxi-2-metil-2H-cromeno

5,7-dimetoxi-2,8-dimetil-2H-cromeno

Figura 8 Cromenos isolados da *Calyptanthes tricona*



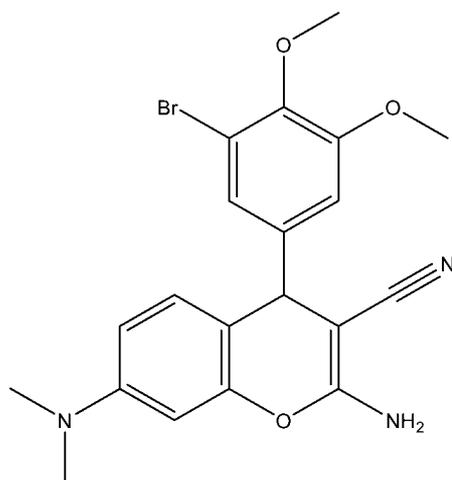
7-hidroxi-6-metoxi-4H-cromeno

Figura 9 Cromeno isolado da *Wisteria sinensis*

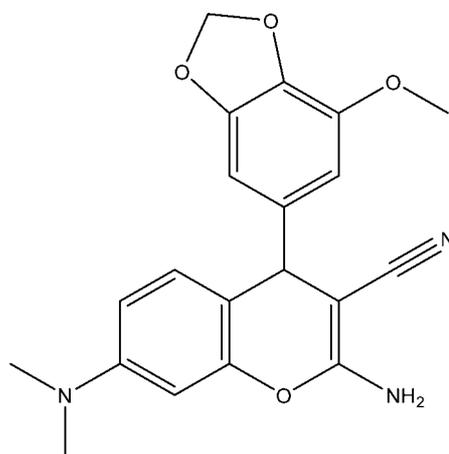
A síntese de cromenos vem evoluindo bastante nas últimas décadas, permitindo, através de técnicas mais sofisticadas, a obtenção de uma gama maior dessa classe de compostos. Madhurendra *et al.* (2022) listaram diferentes estratégias para a síntese dessas moléculas, dentre elas pode-se destacar a síntese via reações multicomponentes com o auxílio de micro-ondas, gerando produtos com rendimentos excelentes – todos acima de 80% –; a síntese com a utilização de óxido de ferro III como um nanocatalizador obtendo, sob condições otimizadas, um rendimento de 75%; a síntese *one-pot* utilizando aminoácidos como l-prolina, ácido aspártico e ácido glutâmico como catalizadores, gerando rendimentos variáveis que vão de 30 a 93%. Diversas outras reações e estratégias foram desenvolvidas, porém a síntese via reação multicomponente continua sendo o método mais utilizado.

Estudos da relação estrutura-atividade dos cromenos demonstraram que os grupamentos 4-aryl, 3-ciano e 2-amino são essenciais para a atividade citotóxica dessas moléculas, além disso a atividade farmacológica é aumentada caso haja a substituição do hidrogênio na posição 7 por um grupamento doador de elétrons, enquanto a mesma substituição por um grupamento capaz de promover a retirada de elétrons diminui a atividade farmacológica. (CHAUDHARY, 2022).

Dentre as possíveis aplicações dos cromenos, destaca-se a atividade anticâncer, atuando, dentre outras maneiras, como um inibidor da polimerização da tubulina, através da deformação dos dímeros α e β , formadores dos microtúbulos. Os derivados de 4-aryl-4H-cromenos têm se mostrado como uma nova classe desses inibidores. Os compostos 2-amino-4-(3-bromo-4,5-dimetoxifenil)-7-(dimetilamino)-4H-cromeno-3-carbonitrila e 2-amino-7-(dimetilamino)-4-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-4H-cromeno-3-carbonitrila (**Figura 10**) demonstraram uma potencial atividade anticâncer. (CHAUDHARY, 2022)



2-amino-4-(3-bromo-4,5-dimetoxifenil)-7-(dimetilamino)-4H-cromeno-3-carbonitrila

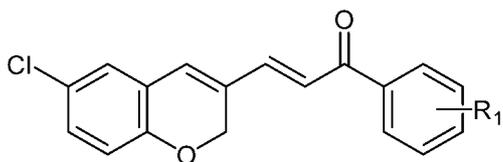


2-amino-7-(dimetilamino)-4-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-4H-cromeno-3-carbonitrila

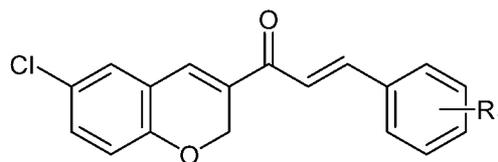
Figura 10 Cromenos com potencial anticâncer

Uma série de cromenos sintetizados, na literatura, foram submetidos a testes contra diversos tipos de patógenos, sendo obtidos resultados promissores, com baixa toxicidade. Nos cromenos **43** e **44** foi verificada uma atividade anti-leishmania quando utilizadas concentrações menores do que 3 μM *in vitro*, além disso, nas concentrações testadas, essas moléculas não apresentaram efeitos tóxicos. A respeito do efeito contra o *Plasmodium falciparum*, alguns 2H-cromenos se destacaram, em especial os derivados da molécula **45**, onde foram obtidos valores

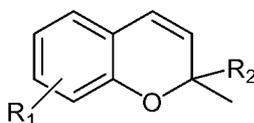
inibitórios menores que 5 μM , o que torna esses compostos promissores. Contudo a disponibilidade por via oral dessas substâncias foi analisada, onde foram obtidos resultados precários devido as propriedades ADME (absorção, distribuição, metabolização, excreção) dessas moléculas se mostrarem ruins. (COSTA, 2016)



43: $R_1 = \text{F, Cl, OMe}$



44: $R_1 = \text{Br, Me, OMe}$



45: $R_1 = \text{OH, CHO, COMe, etc}$
 $R_2 = \text{Me, prenil}$

Figura 11 2H-cromenos com atividade antiparasitária (COSTA, 2016)

4. TRABALHOS ANTERIORES DO GRUPO

Em trabalhos anteriores, Rogerio e colaboradores sintetizaram dihidropirimidinonas (DHPMs) via reação de Biginelli, obtendo um total de 30 moléculas. Estas DHPMs tiveram suas atividades e citotoxicidades avaliadas *in vitro*, dessas, três moléculas apresentaram uma boa combinação entre atividade antiplasmodial e toxicidade, apresentando resultados promissores (**figura 13**), sendo levadas em conta para a elaboração deste trabalho. (ROGÉRIO, 2018)

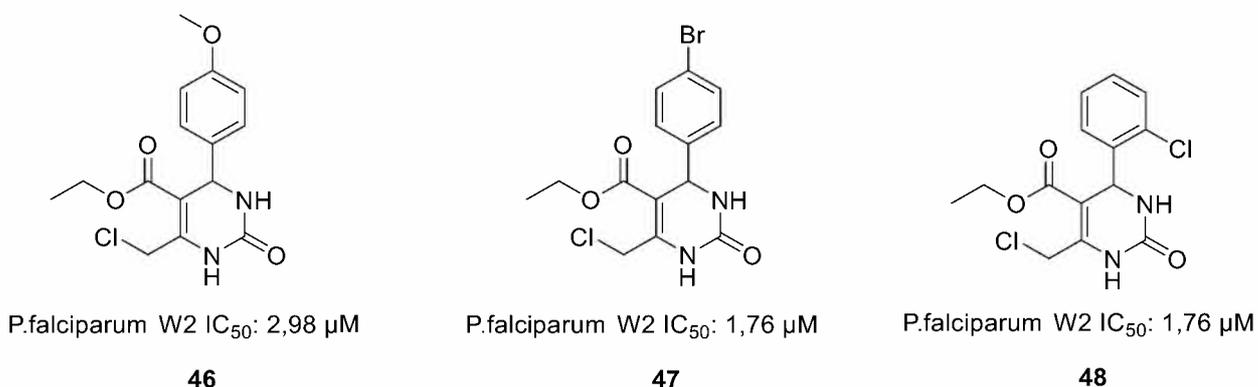


Figura 12 Compostos promissores sintetizados anteriormente (ROGERIO, 2018)

5. RETROSSÍNTESE

Uma análise retrossintética dos compostos desejados (**figura 13**) leva a uma busca mais criteriosa e eficiente dos reagentes necessários, propiciando a reação a ocorrer por meio das vias já teorizadas.

Dessa forma, tendo em vista os grupos obtidos, o planejamento se deu de forma que para os piranos/cromenos **49** e **51** as quebras realizadas resultaram em moléculas relativamente simples. Para o **49** têm-se um grupamento 1,3-dicarbonílico **50**, um aldeído **21** e malononitrila **37**. Para os produtos derivados de **51**, a partir das quebras das ligações obteve-se, também, um aldeído **21** e malononitrila **37**, porém o composto 1,3-dicarbonílico **50** foi substituído por α -naftol **52**.

Para o planejamento das quinolinas/piridinas, as quebras foram feitas da mesma forma, assim, a partir dos produtos desejados **53** e **55** foi possível observar uma série de reagentes passíveis de serem utilizados. No caso do produto **53**, como reagentes é possível empregar um grupamento 1,3-dicarbonílico **50**, um aldeído **21**, malononitrila **37** e uma amina primária **54**. Para o produto **55** utiliza-se o equivalente nitrogenado do α -naftol, a α -naftilamina **56**, além do aldeído **21** e da malononitrila **37**.

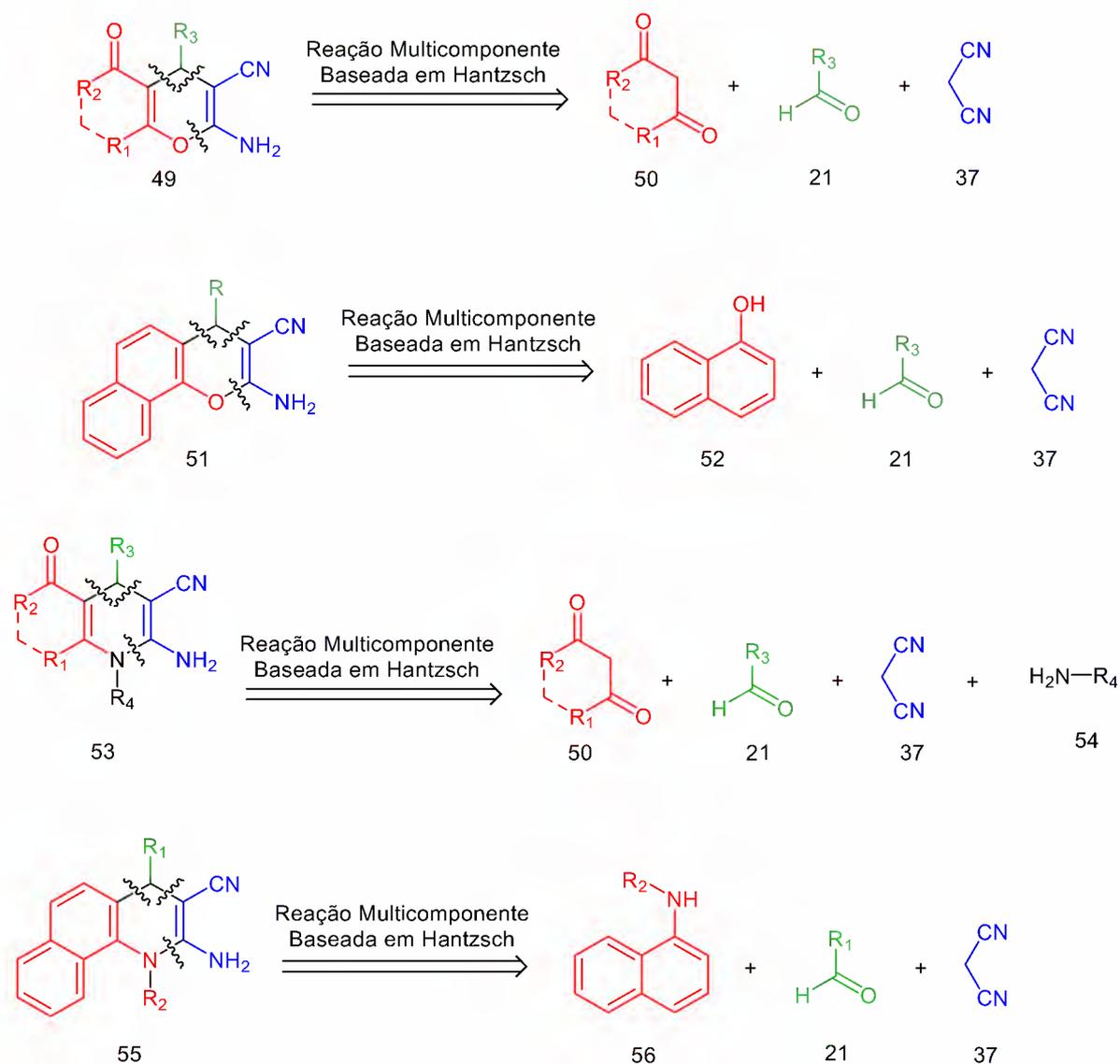


Figura 13 Retrossíntese dos Produtos Desejados

6. OBJETIVOS GERAIS

Tem-se como objetivo deste trabalho o planejamento, a síntese, a análise espectroscópica e avaliação da atividade *in vitro* de quatro coleções seletas de cromenos (**Figura 14**) obtidos através de reação multicomponente de Hantzsch modificada a fim de desenvolver novos protótipos de fármacos, com boas propriedades ADME e baixa toxicidade, a serem utilizados no tratamento a malária. O relato de compostos com boa atividade antiparasitária similares estruturalmente aos propostos permite concluir que é possível alcançar uma boa atividade por meio dessas sínteses (COSTA, 2016; ROGERIO, 2018).

6.1. Objetivos Específicos

São objetivos específicos deste projeto:

- O planejamento e síntese de uma coleção seleta de aminopiranos e aminocromenos (coleções A e B, **Figura 14**) a partir de um protocolo modificado da reação de Hantzsch;
- O planejamento e síntese de uma coleção discreta de aminopiridinas e aminoquinolinas (C e D, **Figura 14**) a partir da reação modificada de Hantzsch com o uso de aminas primárias;
- A avaliação da atividade anti-*P. falciparum* dos compostos obtidos;
- A partir dos resultados obtidos em (c), a construção de uma relação estrutura-atividade anti-*P. falciparum*.

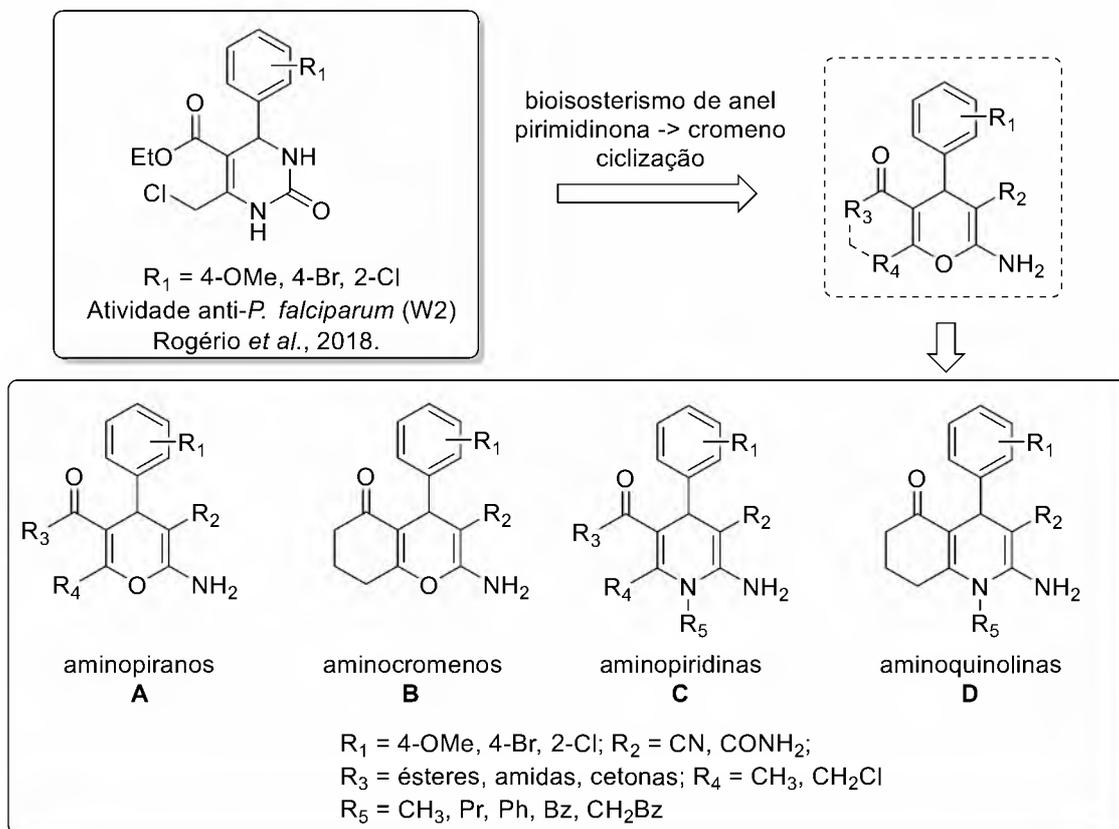


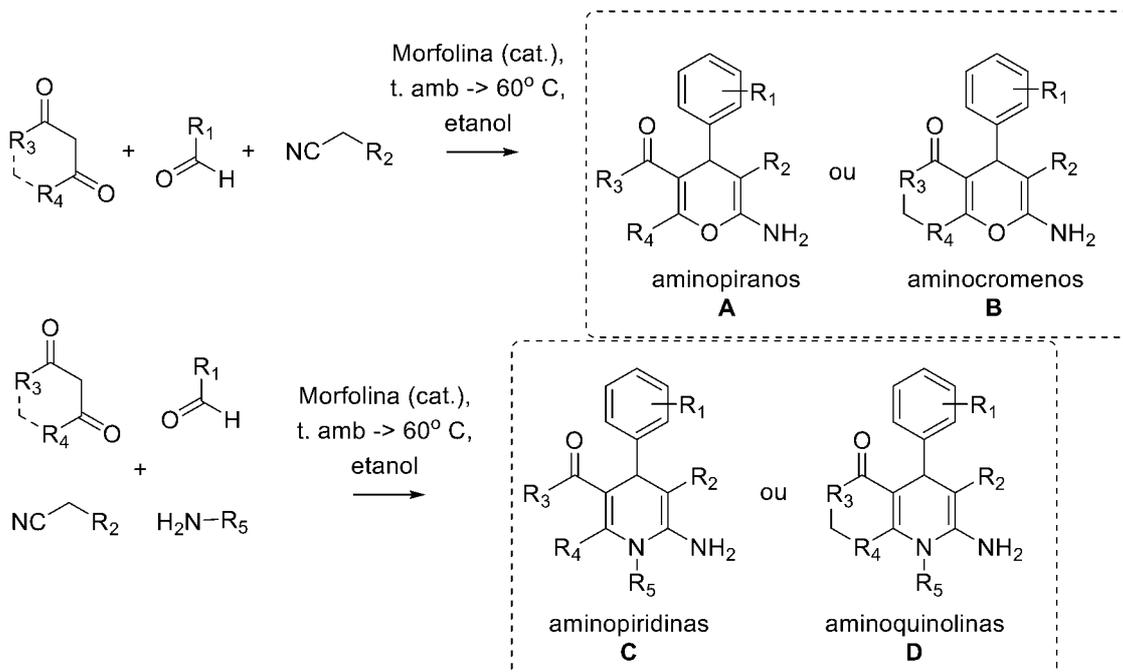
Figura 14 Coleções de compostos planejados A-D

7. MATERIAIS E METODOS

Todas as etapas de síntese e purificação foram realizadas no Laboratório de Diversidade Molecular e Química Medicinal (LaDMol-QM), coordenado pelo dr Arthur Eugen Kümmerle, localizado no Instituto de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

7.1. Síntese dos Compostos Propostos

As reações multicomponentes foram realizadas em tubos de reação com tampas rosqueáveis em chapa de aquecimento com agitação, utilizando bloco e sensor de temperatura. Para as sínteses das coleções A e B o protocolo de Dyachenko (2006) foi proposto, onde os produtos serão obtidos através da reação de um composto 1,3-dicarbonílico, malononitrila e um aldeído, além de morfolina como catalisador e etanol como solvente (**Esquema 5**). Já para as coleções de compostos C e D o protocolo proposto é o mesmo do anterior, porém com a adição de amins primárias ao meio reacional (**Esquema 5**). Em todas as coleções, os substituintes oriundos do aldeído foram os mesmos já obtidos nas hidropirimidinonas bioativas descritas anteriormente pelo grupo de pesquisa. (DYACHENKO, 2006; ROGERIO, 2018).



Esquema 9 Sínteses propostas

7.2. Ensaio Biológico

A verificação da atividade anti-*P. falciparum* foi realizada no Centro de Pesquisa, Diagnóstico e Treinamento em Malária (CPD-Mal) da Fundação Oswaldo Cruz – coordenado pelo dr. Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro –, conforme protocolo já estabelecido pelo Centro em projeto de cooperação envolvendo o grupo de pesquisa (ROGÉRIO, 2018) empregando a cepa sensível à cloroquina – NF54 – do protozoário.

7.3. Ponto de Fusão

O ponto de fusão de todas as moléculas foi aferido utilizando-se medidor de ponto de fusão MEL-TEMP II Laboratory Devices USA.

7.4. Elucidação Estrutural

As análises de RMN de ¹H foram realizadas em aparelhos Bruker Avance-500 e Bruker Avance-400, operando a 500 MHz e 400 MHz, respectivamente, situado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no Instituto de Química. As amostras

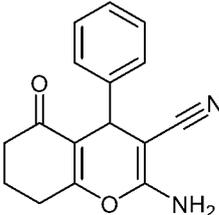
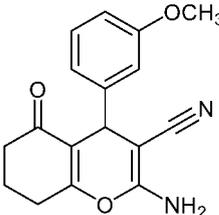
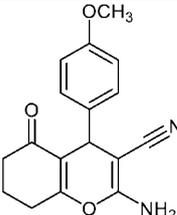
foram dissolvidas em DMSO ou CDCl_3 , conforme a solubilidade de cada composto. Utilizou-se como padrão o TMS.

Os espectros de referentes às análises de RMN de ^{13}C foram obtidos a 125 MHz, no aparelho Bruker Avance-500 e 100 MHz no aparelho Bruker Avance-400, situado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no Instituto de Química. As amostras foram dissolvidas em DMSO- d_6 ou CDCl_3 conforme a solubilidade de cada composto. Utilizou-se como padrão o TMS.

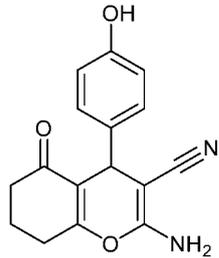
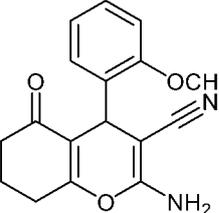
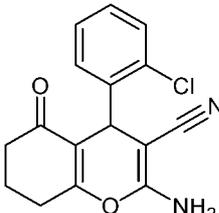
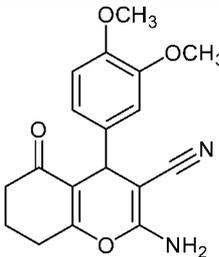
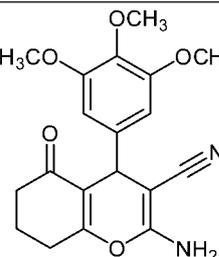
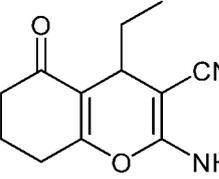
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

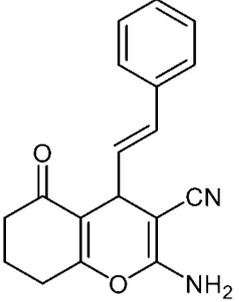
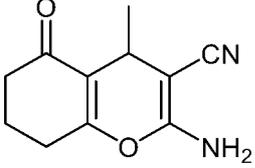
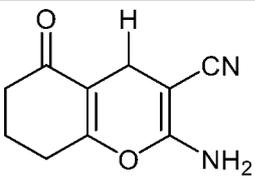
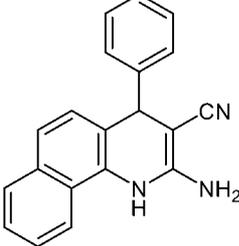
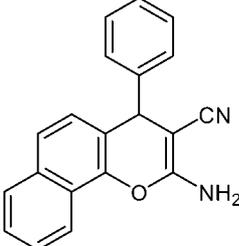
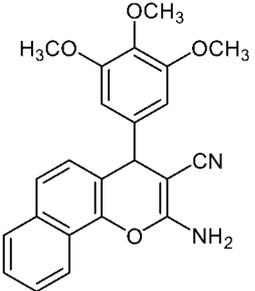
8.1. Reação Multicomponente

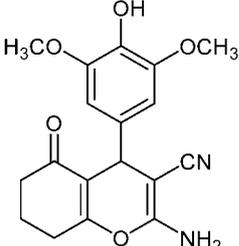
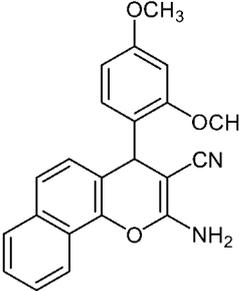
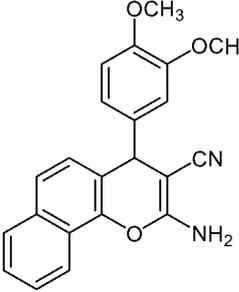
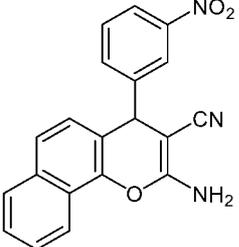
A partir da metodologia empregada (DYACHENKO, 2006), foi possível obter 28 produtos distintos. Na tabela abaixo estão descritos as estruturas, códigos, pontos de fusão, massas moleculares, rendimentos e grau de pureza obtidos.

| Código | Estrutura | Massa Molar (g/mol) | PF (°C) | Rendimento (%) | Pureza (%) |
|-----------|---|------------------------|------------|-------------------|---------------|
| MCR 04 |  | 266,30 | 212 | 67,0 | 97,3 |
| MCR 06 |  | 296,32 | 210 | 42,9 | 98,3 |
| MCR 07 |  | 296,32 | 206 | 39,6 | 100 |

| | | | | | |
|-----------|--|--------|-------------|------|------|
| MCR 08 | | 345,19 | 260 | 43,6 | 98,3 |
| MCR 09 | | 345,19 | 270 | 29,0 | 100 |
| MCR 10 | | 300,74 | 234 | 68,0 | 98,3 |
| MCR 11 | | 300,74 | 240 | 89,7 | 38,4 |
| MCR 12 | | 312,32 | 230- 240 | 64,5 | 100 |
| MCR 13 | | 326,35 | 232- 240 | 12,0 | 100 |
| MCR 14 | | 298,29 | - | - | - |

| | | | | | |
|-----------|---|--------|-------------|------|-----|
| MCR 15 |  | 282,29 | 235 | 79,9 | 100 |
| MCR 16 |  | 296,32 | 199- 204 | 67,9 | 100 |
| MCR 17 |  | 300,74 | 200 | 64,7 | 100 |
| MCR 18 |  | 326,35 | 200 | 47,8 | 100 |
| MCR 19 |  | 356,37 | 220 | 75,6 | 100 |
| MCR 20 |  | 218,25 | 197- 205 | 26,2 | 100 |

| | | | | | |
|-----------|---|--------|-----|------|------|
| MCR 21 |  | 292,33 | 170 | 16,5 | 99,3 |
| MCR 22 |  | 204,22 | 198 | 2,7 | 100 |
| MCR 23 |  | 190,07 | - | - | - |
| MCR 24 |  | 297,36 | - | - | - |
| MCR 25 |  | 298,34 | 218 | 69,4 | 100 |
| MCR 26 |  | 388,42 | 200 | 81,4 | 96,3 |

| | | | | | |
|-----------|---|--------|-----|------|------|
| MCR 27 |  | 342,35 | 225 | 86,2 | 100 |
| MCR 28 |  | 374,39 | 220 | 18,6 | 72,9 |
| MCR 29 |  | 358,39 | 200 | 36,4 | 98,3 |
| MCR 30 |  | 358,39 | 185 | 61,3 | 97,0 |
| MCR 31 |  | 343,34 | 210 | 78,1 | 100 |

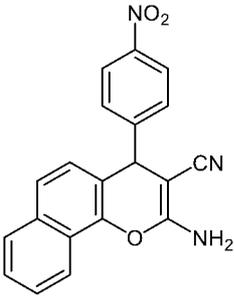
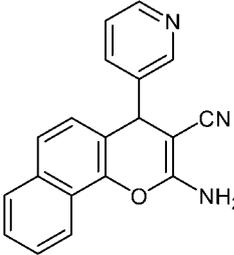
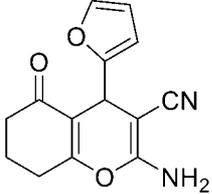
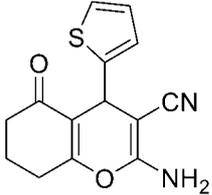
| | | | | | |
|-----------|---|--------|-----|------|-----|
| MCR 32 |  | 343,34 | 230 | 67,8 | 100 |
| MCR 33 |  | 299,33 | 195 | 62,0 | 100 |
| MCR 34 |  | 256,26 | - | 28,5 | 100 |
| MCR 35 |  | 272,32 | - | 56,6 | 100 |

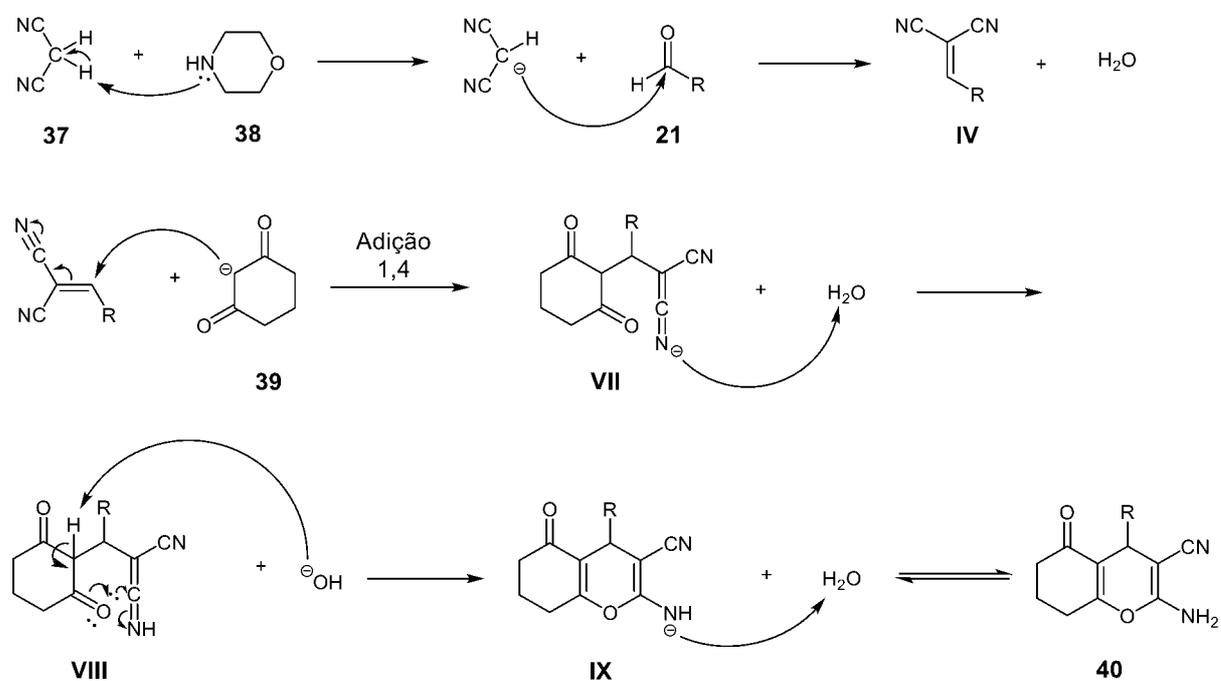
Tabela 2 Lista de Moléculas Sintetizadas

Os rendimentos obtidos dos produtos variam de 2 a 89%. As diferenças de rendimento, bem como a impossibilidade de síntese de algumas das moléculas planejadas podem ser justificadas por conta de propriedades dos reagentes utilizados, porém, da mesma forma como ocorreu com Rogério e colaboradores, não é possível precisar a diferença apresentada. (ROGERIO, 2018)

As sínteses foram realizadas seguindo dois protocolos diferentes de forma a se obter as estruturas desejadas.

8.2. Metodologia A

Esta metodologia foi utilizada para a obtenção dos compostos da coleção B (**esquema 9**), isto é, de aminocromenos. Consiste na adição de 1 mmol um composto 1,3-dicarbonílico (**39**), 1 mmol de um aldeído (**21**) e 1 mmol de malononitrila (**37**) à um tubo de reação contendo 2 mL de etanol. Após 5 minutos de agitação para a homogeneização da solução foi adicionado 0,25 mmol de morfolina (**38**), que atua como catalizador. As reações foram mantidas sob agitação por mais 30 minutos, sendo posteriormente postas em descanso por 24 horas para a precipitação total. Os precipitados foram recolhidos, recristalizados em etanol, verificados por CCD e técnicas espectroscópicas. Esse procedimento experimental foi demonstrado Dyachenko (2006). O mecanismo proposto é demonstrado no Esquema 6.

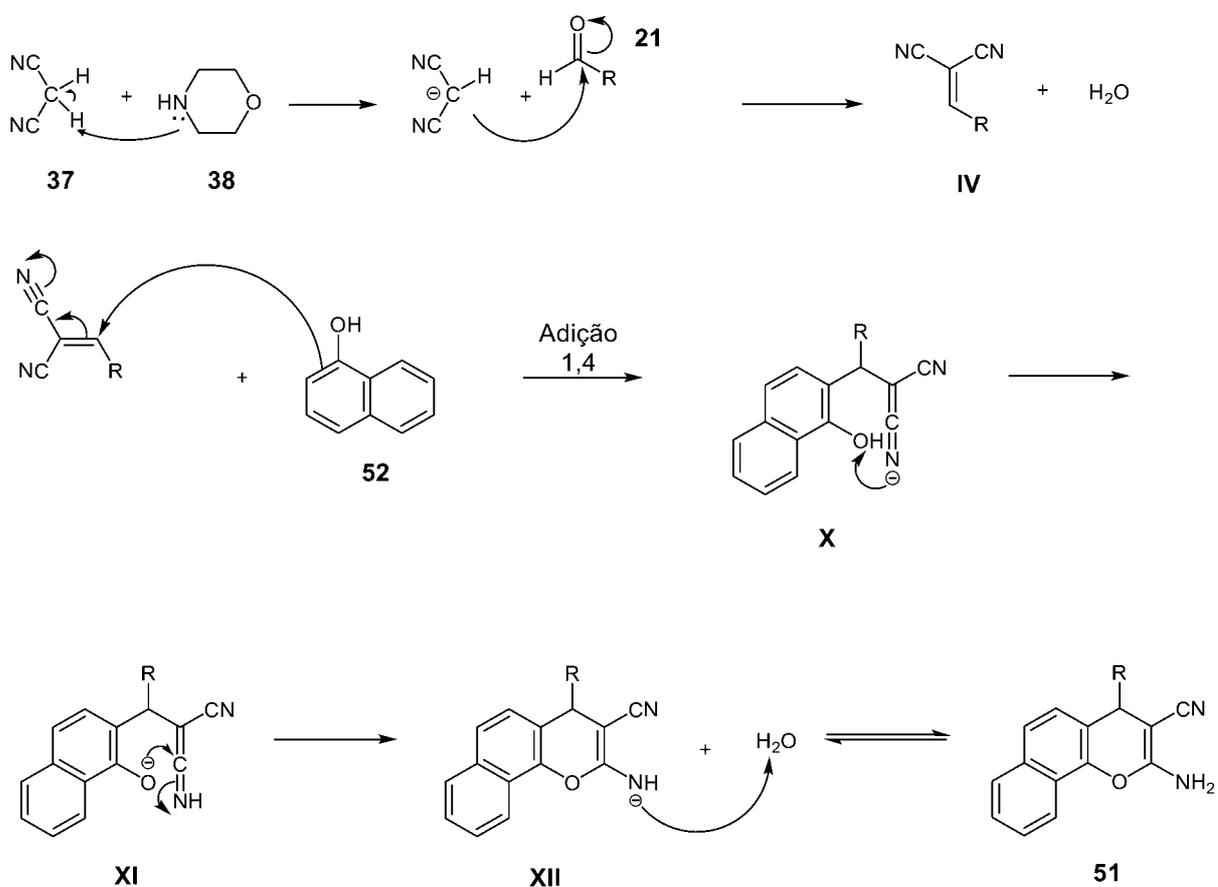


Esquema 10 Mecanismo de reação para a metodologia A

8.3. Metodologia B

Esta metodologia foi empregada para a obtenção de uma série de benzoaminocromenos de interesse. Consiste na adição de 1 mmol de naftol (**52**), 1 mmol de malononitrila (**37**) e 1 mmol de um aldeído (**21**) à um tubo de reação contendo 2 mL de etanol. As soluções foram submetidas à agitação em placa sob a temperatura

de 75°C, após 5 minutos de agitação adicionou-se 1 mmol de morfolina (**38**). As soluções ficaram sob agitação e aquecimento durante 4 horas. Passado esse tempo, as soluções foram deixadas em descanso na bancada por 24 horas, para completa precipitação. Os precipitados foram filtrados, recristalizados em etanol, verificados por CCD e técnicas espectroscópicas. O provável mecanismo para esta reação segue descrito no esquema abaixo.



Esquema 11 Mecanismo de reação para a metodologia B

8.4. Elucidação Estrutural

Todos os produtos obtidos foram identificados através de análise de IV, ^1H RMN e ^{13}C RMN. Somente o produto MCR 04 será discutido por completo, tendo em vista que os demais produtos possuem estruturas e resultados semelhantes e, portanto, apenas os sinais característicos de cada estrutura serão ressaltados.

8.4.1. Molécula MCR 04

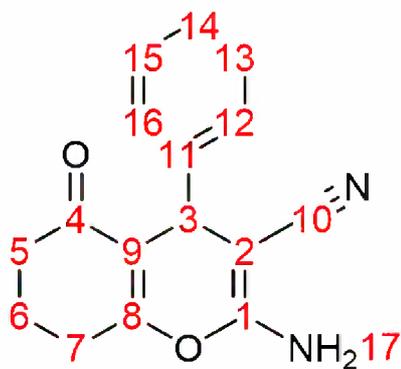


Figura 15 MCR 04

8.4.2. IV

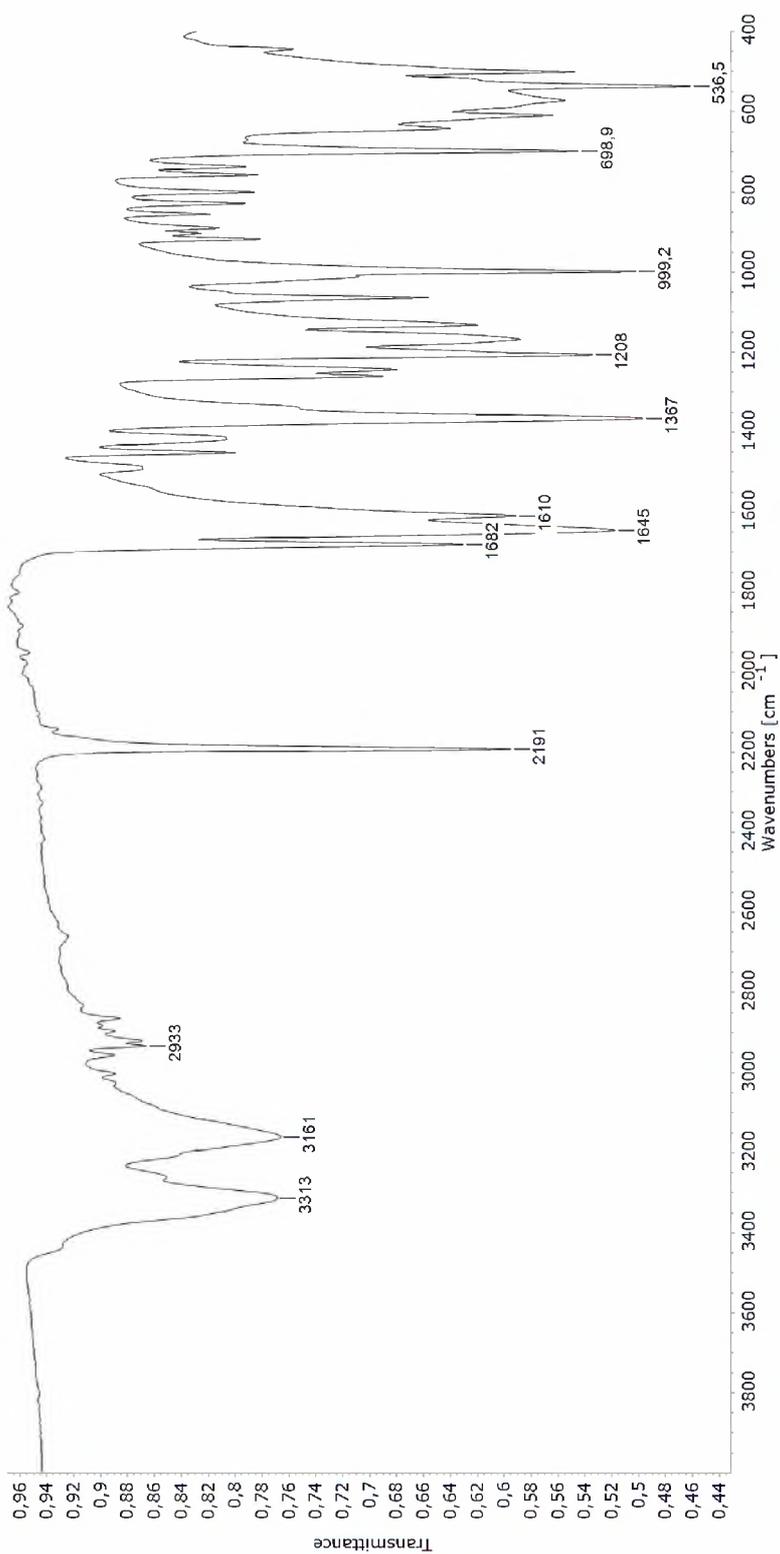


Figura 16 Espectro IV

A amina, presente na posição 17 da molécula, possui, no espectro de infravermelho, duas bandas características de estiramento, presentes em 3161 cm^{-1} e 3313 cm^{-1} . A banda em 1682 cm^{-1} também confirma a presença do grupamento amina, sendo a banda característica de dobramento NH_2 .

Na região de 2191 cm^{-1} têm-se uma banda característica do grupamento CN.

Na região de carbonilas há uma banda intensa em 1645 cm^{-1} pertencente a cetona presente na posição 4 da molécula.

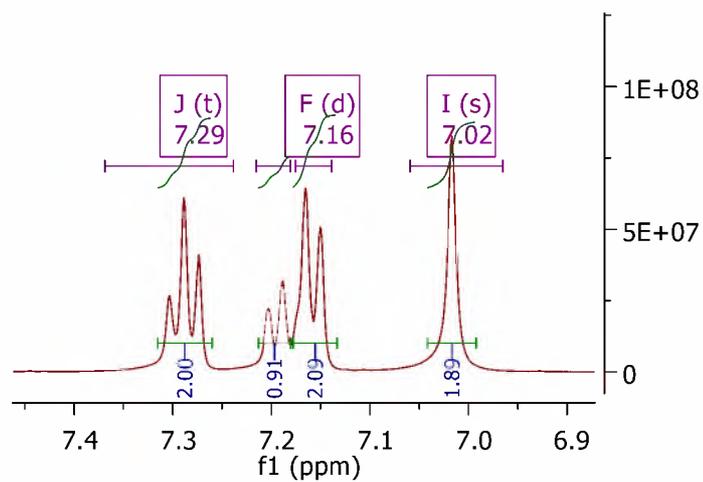
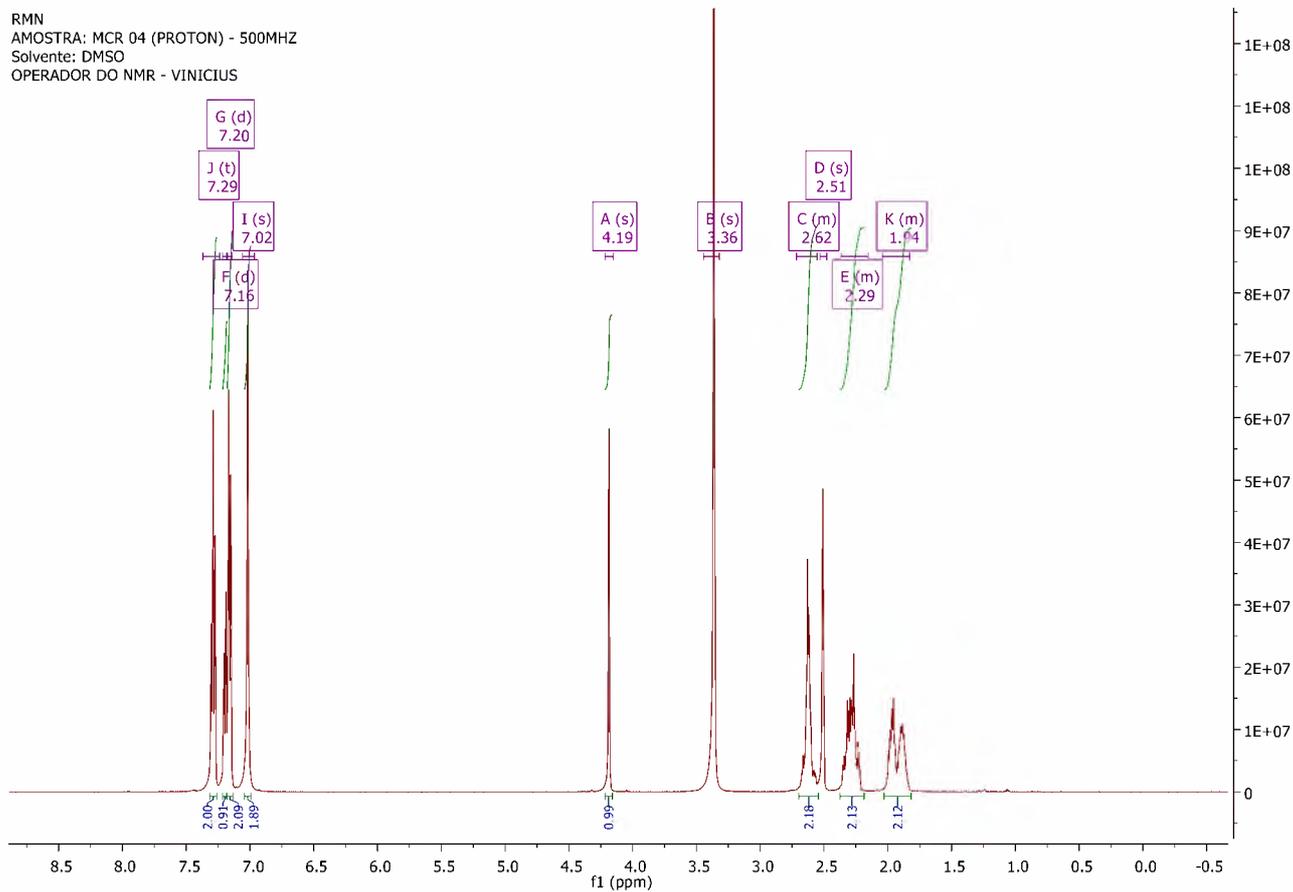
A banda em 1610 cm^{-1} indica a presença de aromático, porém devido a diversas bandas entre as regiões de 700 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} é impossível a caracterização do aromático apenas por IV.

8.4.3. RMN ^1H

| Posição do H | $\delta\ ^1\text{H}$ (ppm)/ multiplicidade |
|--------------|--|
| 3 | 4,19 – simpleto / 1H |
| 5 | 2,29 – multipeto / 2H |
| 6 | 1,94 – multipeto / 2H |
| 7 | 2,62 – multipeto / 2H |
| 12 e 16 | 7,16 – dubleto / 2H (J = 7.5 Hz) |
| 13 e 15 | 7,29 – triplete / 2H (J = 7.5 Hz) |
| 14 | 7,20 – dubleto / 1H (J = 7.2 Hz) |
| 17 | 7,02 – simpleto / 2H |

Tabela 3 Dados de RMN ^1H para a molécula MCR 04

RMN
AMOSTRA: MCR 04 (PROTON) - 500MHZ
Solvente: DMSO
OPERADOR DO NMR - VINICIUS



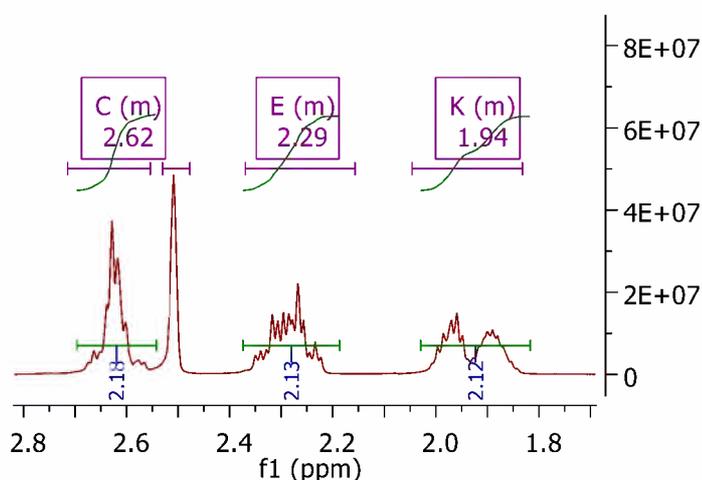


Figura 17 Espectro de RMN de ^1H com expansões da molécula MCR 04

O primeiro sinal do espectro, em 1,94 ppm, é um multipletto integrado para 2H, pertencente aos hidrogênios na posição 6, que acoplam com os hidrogênios em 5, que aparecem em 2,29 ppm como um multipletto integrado para 2H, e em 7, que aparecem em 2,62 ppm também como um multipletto integrado para 2H. Esses acoplamentos também são visíveis no espectro de COSY, onde o sinal em 1,94 interage tanto com o 2,29 quanto com o 2,62. O espectro de HSQC revela, também, que o hidrogênio em 2,29 está ligado ao carbono em 36,78, isto é, o carbono de número 5, enquanto o hidrogênio em 2,62 está ligado ao carbono em 26,92.

O sinal em 4,19 ppm, sendo um singletto integrado para 1H, pertence ao hidrogênio em 3, cujo deslocamento é aumento devido a proximidade das insaturações presentes no anel pirânico e do anel aromático, além disso o acoplamento com o carbono CH em 35,89 dado pelo espectro de HSQC é um outro fator que contribui para a confirmação.

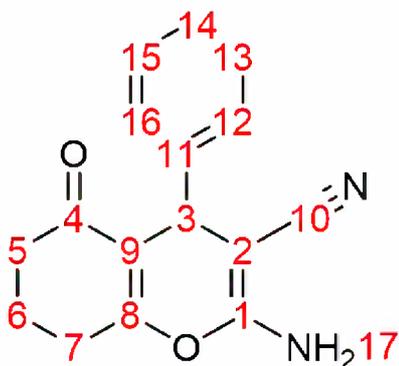
O singletto que aparece em 7,02 ppm com integração para 2H se refere aos hidrogênios ligados ao nitrogênio, na posição 17. Esse sinal se encontra com um deslocamento mais alto do que em aminas alifáticas devido ao fato de o carbono no qual o nitrogênio se encontra ligado, na posição 1, está ligado a um oxigênio e possui uma insaturação, sendo que esses dois fatores contribuem para um aumento no deslocamento químico.

Em 7,16 ppm há um dubleto integrado para dois hidrogênios. Uma análise da molécula mostra que os hidrogênios responsáveis por esse sinal são os aromáticos na posição 12 e 16, isto ocorre devido a simetria no anel aromático, onde os dois apresentam o mesmo sinal.

O dubleto que aparece em 7,20 ppm, com integração para 1H, é referente ao hidrogênio em 14. A presença de um dubleto e não um tripleto é justificada pelo fato de os hidrogênios vicinais serem simétricos.

Em 7,29 ppm, um tripleto integrado para 2H é referente aos hidrogênios 13 e 15. O sinal do solvente (DMSO) é visto como um singlete em 2,51 ppm e um singlete em 3,36 ppm.

8.4.4. RMN ¹³C



| Posição do C | Deslocamento (ppm) |
|--------------|--------------------|
| 1 | 158,93 |
| 2 | 58,63 |
| 3 | 35,89 |
| 4 | 196,35 |
| 5 | 36,78 |
| 6 | 20,27 |
| 7 | 26,92 |
| 8 | 164,97 |

| | |
|----|--------|
| 9 | 114,23 |
| 10 | 120,26 |
| 11 | 145,26 |
| 12 | 128,81 |
| 13 | 127,59 |
| 14 | 127,00 |
| 15 | 127,59 |
| 16 | 128,81 |

Tabela 4 Dados de RMN ^{13}C da molécula MCR 04

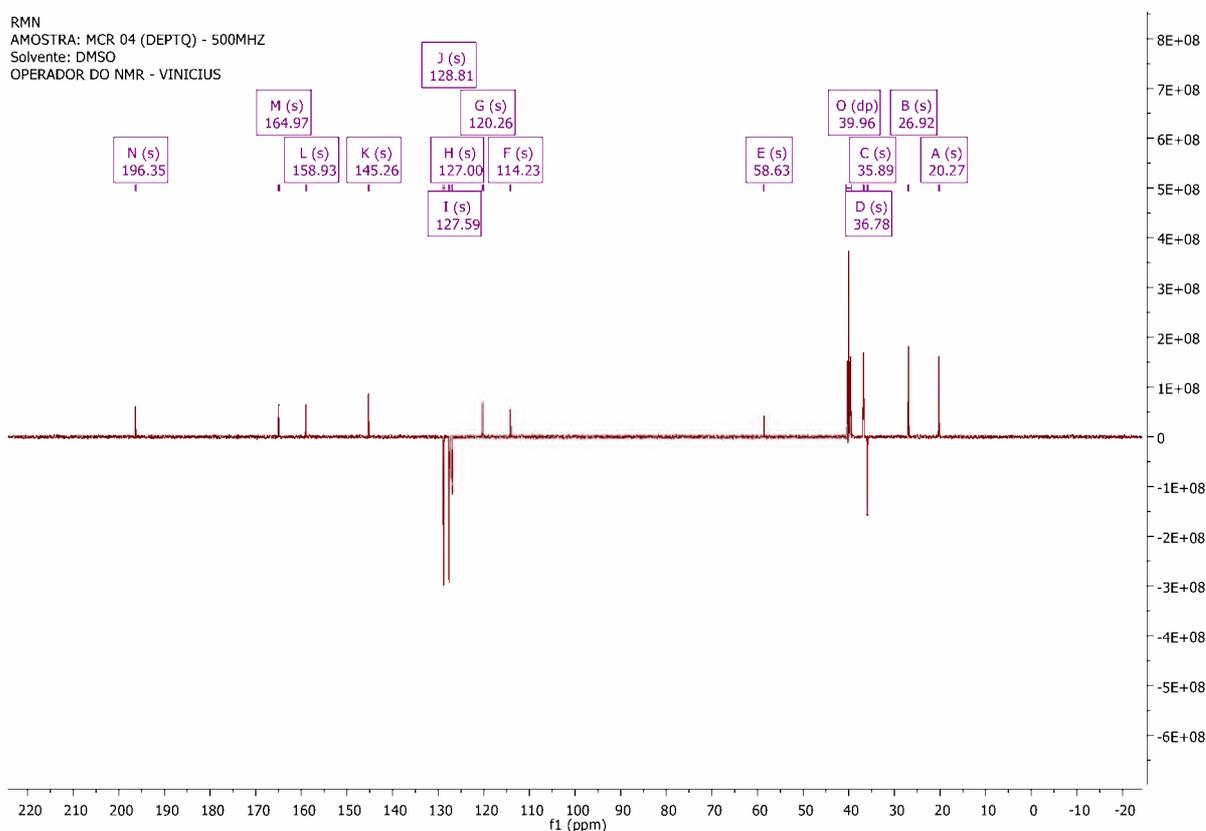


Figura 18 Espectro de RMN ^{13}C da molécula MCR 04

Além do experimento de RMN ^1H , também foi utilizado, para a identificação das moléculas obtidas, o experimento de RMN ^{13}C com o DEPT Q, onde é possível

verificar os tipos de carbonos nos espectros, isto é, os primários e terciários estão voltados para baixo, enquanto os secundários e quaternários estão voltados para cima.

O primeiro sinal a aparecer, em 20,27, referente a um CH₂, pertence ao carbono de número 6, essa informação é reafirmada ao se observar o HSQC, onde pode-se ver que os hidrogênios de menor sinal estão ligados a este carbono.

O sinal em 26,92, referente a um CH₂, pertence ao carbono 7 que, sendo vizinho a uma insaturação e a um CO, tem o seu deslocamento químico aumentado, além disso o experimento de HSQC revela que este carbono está diretamente ligado ao hidrogênio em 2,62.

Em 35,89 têm-se um sinal referente a um CH, sendo este o único sinal de CH fora da região dos aromáticos ele se refere ao carbono 3. Além disso pode-se observar, no HSQC, que este carbono está diretamente ligado ao hidrogênio em 4,19, ou seja, ao hidrogênio 3.

Em 36,78 têm-se um sinal referente a um CH₂, sendo este o carbono 5. Este sinal possui um deslocamento um pouco maior que os anteriores por estar diretamente ligado a uma carbonila. No HSQC pode-se observar que o hidrogênio diretamente ligado a este carbono é o que se encontra em 2,29.

O sinal em 58, 63, referente a um C (quaternário ou sem estar ligado a H), pertence ao carbono 2. Este fato é evidenciado através da análise do espectro de HMBC onde, ao analisar os acoplamentos a longa distância, pode-se observar um acoplamento deste carbono com o hidrogênio em 7,02 a uma distância de 3 ligações.

Em 114,23, um sinal referente a um C, pertence ao carbono 9, além do deslocamento químico próprio de uma insaturação vizinha a carbonila, o espectro de HMBC revela um acoplamento de longa distância com o hidrogênio em 2,62, isto é, o hidrogênio em 7 por uma distância de 3 ligações.

O sinal de 120,26, referente a um C, pertence ao carbono 10. Essa afirmação é evidenciada no fato de estar ligado triplamente a um nitrogênio, fator este que

aumenta grandemente o deslocamento químico, além de possuir apenas uma correlação a no HMBC com o hidrogênio em 3.

Os sinais em 127,00; 127,59 e 128,81, todos referentes a CH, são sinais característicos de aromáticos, sendo pertencentes aos carbonos 14; 13 e 15; 12 e 16, respectivamente.

O sinal em 145,26, referente a um C, ainda na região dos aromáticos, pertence ao carbono 11. Uma informação complementar a essa afirmativa se dá pela análise do HMBC, onde é possível observar um acoplamento a longa distância deste carbono com o hidrogênio em 7,29, referentes aos hidrogênios 13 e 15 do anel aromático, estando a uma distância de 3 ligações.

Em 158,93, referente a um C, pertence ao carbono 1 que possuindo uma insaturação e estando ligado a átomos mais eletronegativos – oxigênio e nitrogênio – tem seu deslocamento químico aumentado. Além disso o espectro de HMBC revela acoplamentos a longa distância com o hidrogênio em 3 e com os hidrogênios em 17.

O último sinal do espectro, em 196,35, referente a um C, pertence ao carbono 4. Seu deslocamento é o maior por ser uma carbonila, sendo este o deslocamento característico dela.

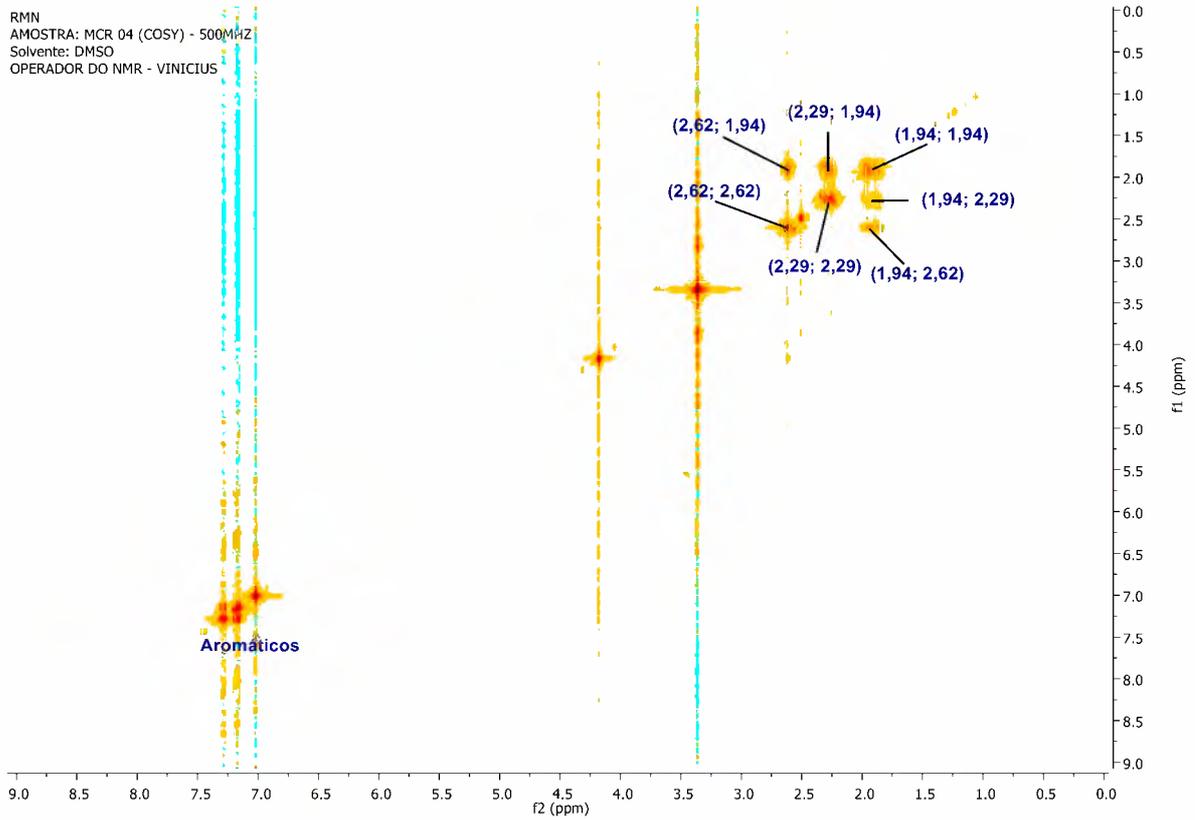


Figura 19 Espectro de COSY da Molécula MCR 04

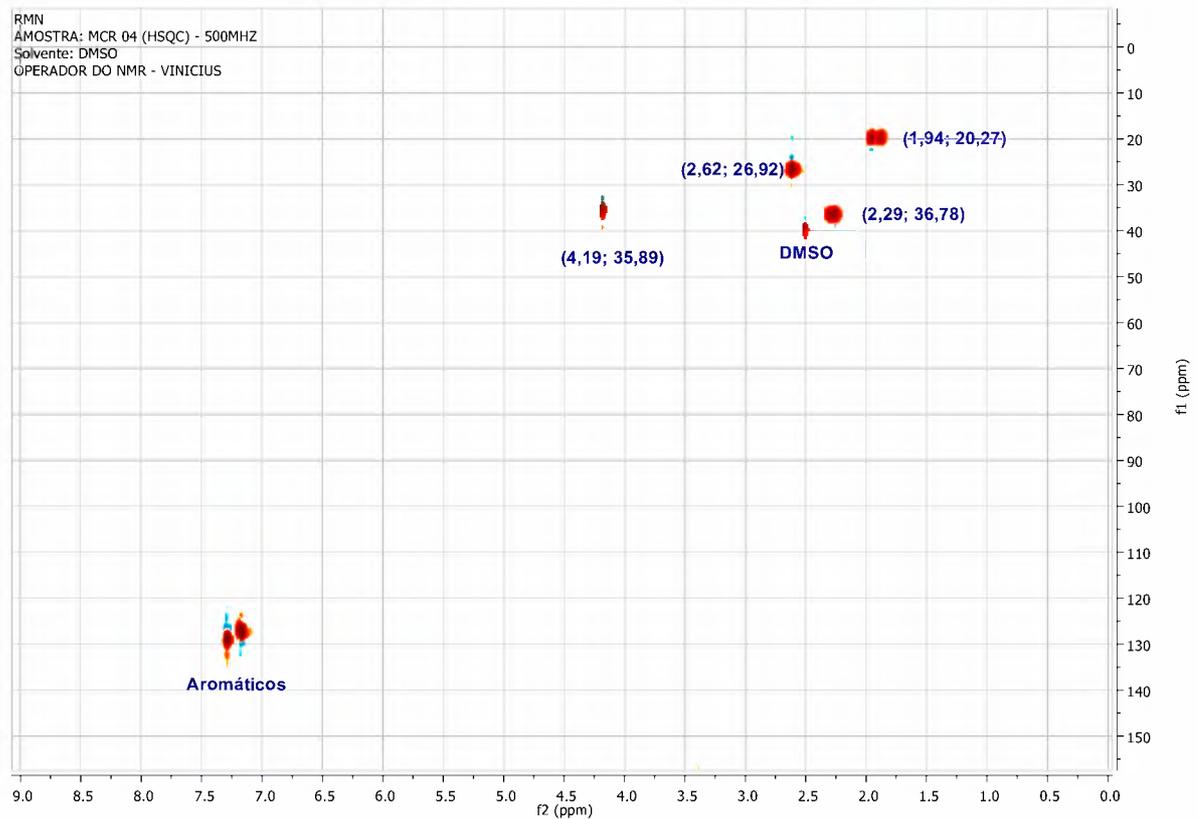


Figura 20 Espectro de HSQC da Molécula MCR 04

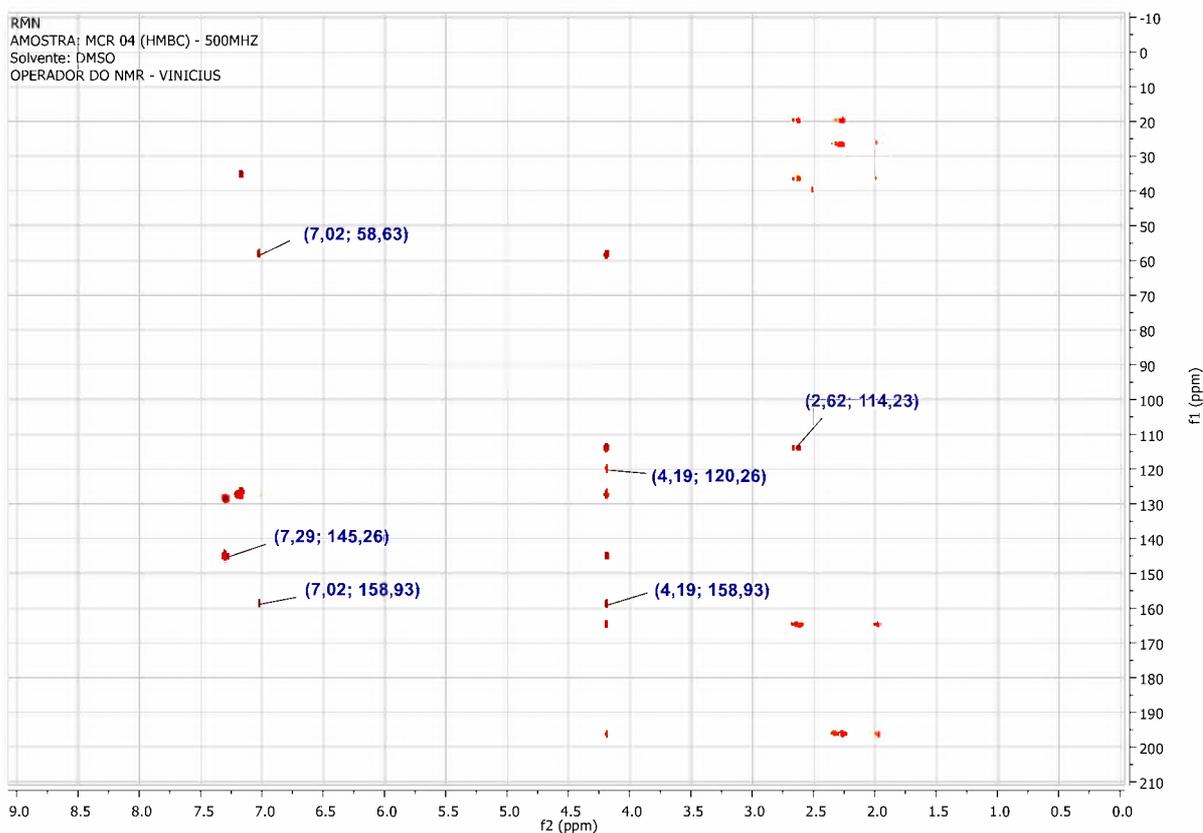


Figura 21 Espectro de HMBC da Molécula MCR 04

8.5. Análises Espectroscópicas

MCR 04:

^1H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.02 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.36 (s, 5H), 2.71 – 2.55 (m, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.37 – 2.16 (m, 2H), 2.05 – 1.83 (m, 2H).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.35 (s), 164.97 (s), 158.93 (s), 145.26 (s), 128.81 (s), 127.59 (s), 127.00 (s), 120.26 (s), 114.23 (s), 58.63 (s), 36.78 (s), 35.89 (s), 26.92 (s), 20.27 (s).

MCR 06:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.21 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.77 (dd, $J = 8.1, 2.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.71 – 2.53 (m, 2H), 2.37 – 2.22 (m, 2H), 2.03 – 1.81 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.31, 164.99, 159.68, 158.99, 146.79, 129.90, 120.19, 119.75, 114.15, 113.78, 111.86, 58.59, 55.39, 36.80, 35.78, 26.92, 20.29.

MCR 07:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.07 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.97 (s, 2H), 6.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.14 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.69 – 2.55 (m, 2H), 2.35 – 2.18 (m, 2H), 2.03 – 1.80 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.34, 164.59, 158.86, 158.38, 137.38, 128.67, 120.34, 114.54, 114.14, 58.86, 55.47, 36.81, 35.07, 26.91, 20.28.

MCR 08:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.27 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.11 (s, 2H), 4.22 (s, 1H), 2.63 (q, $J = 17.9$ Hz, 2H), 2.30 (q, $J = 16.9$ Hz, 2H), 2.01 – 1.83 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.40, 165.34, 158.98, 148.01, 131.10, 130.36, 129.98, 126.86, 122.05, 120.04, 113.57, 57.95, 36.73, 35.72, 26.94, 20.21.

MCR 09:

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) = 7.44 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.42 (s, 1H), 2.71 – 2.52 (m, 2H), 2.47 – 2.30 (m, 2H), 2.16 – 1.94 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) = 131.71, 129.40, 36.75, 35.06, 27.00, 20.09.

MCR 10:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.33 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 – 7.22 (m, 1H), 7.19 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.11 (s, 2H), 4.22 (s, 1H), 2.79 – 2.54 (m, 2H), 2.42 – 2.18 (m, 2H), 2.07 – 1.80 (m, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) = 196.38, 165.34, 158.98, 147.75, 133.37, 130.75, 127.48, 127.07, 126.46, 120.02, 113.57, 57.97, 36.73, 35.74, 26.94, 20.21.

MCR 11:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.35 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (s, 2H), 4.20 (s, 1H), 2.70 – 2.53 (m, 2H), 2.40 – 2.15 (m, 2H), 2.06 – 1.72 (m, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) = 196.34, 165.11, 158.92, 144.27, 131.55, 129.57, 128.74, 120.07, 113.82, 58.13, 40.48, 40.31, 40.15, 39.98, 39.81, 39.64, 39.48, 36.75, 35.46, 26.94, 20.23.

MCR 12:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.83 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.52 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.70 – 2.53 (m, 2H), 2.38 – 2.21 (m, 2H), 2.02 – 1.80 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.40, 164.57, 158.85, 147.65, 145.70, 136.29, 120.43, 119.67, 115.81, 114.55, 111.97, 58.99, 56.05, 36.87, 35.24, 26.93, 20.32.

MCR 13:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.51 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.42 (dd, *J* = 8.4, 2.3 Hz, 1H), 4.43 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.66 – 2.54 (m, 2H), 2.34 – 2.17 (m, 2H), 2.02 – 1.82 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.21, 165.24, 159.63, 159.25, 158.17, 129.19, 125.44, 120.40, 113.67, 105.38, 99.24, 58.32, 56.18, 55.56, 36.90, 29.70, 26.96, 20.43.

MCR 15:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 9.26 (s, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 6.66 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.08 (s, 1H), 2.67 – 2.53 (m, 2H), 2.37 – 2.18 (m, 2H), 2.03 – 1.78 (m, *J* = 21.4, 19.0, 13.3, 5.7 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.34, 164.46, 158.84, 156.45, 135.69, 128.59, 120.42, 115.45, 114.73, 59.08, 36.84, 35.01, 26.91, 20.28.

MCR 16:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.19 – 7.12 (m, 1H), 6.97 (dd, *J* = 12.7, 5.0 Hz, 2H), 6.85 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H), 4.54 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.68 – 2.54 (m, 2H), 2.35 – 2.17 (m, 2H), 2.03 – 1.83 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.24, 165.54, 159.36, 157.22, 133.00, 128.53, 128.17, 120.95, 120.29, 113.54, 112.05, 58.01, 56.14, 36.86, 30.02, 26.96, 20.41

MCR 17:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.41 – 7.32 (m, 1H), 7.26 (tt, *J* = 11.4, 5.7 Hz, 1H), 7.20 (ddd, *J* = 9.0, 6.1, 1.7 Hz, 2H), 7.04 (s, 2H), 4.71 (s, 1H), 2.73 – 2.54 (m, 2H), 2.37 – 2.14 (m, 2H), 2.05 – 1.83 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.18, 165.57, 159.00, 142.23, 132.55, 130.29, 129.81, 128.60, 128.00, 119.75, 113.34, 57.27, 36.76, 33.12, 26.94, 20.30.

MCR 18:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 6.97 (s, 2H), 6.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.65 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.72 (d, *J* = 4.8 Hz, 6H), 2.69 – 2.53 (m, 2H), 2.37 – 2.21 (m, 2H), 2.03 – 1.81 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.38, 164.69, 158.87, 148.89, 147.99, 137.82, 120.35, 119.42, 114.37, 112.32, 111.59, 58.78, 55.98, 55.91, 36.85, 35.32, 26.94, 20.32.

MCR 19:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.00 (s, 2H), 6.40 (s, 2H), 4.17 (s, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.63 (s, 3H), 2.73 – 2.54 (m, 2H), 2.33 (dd, $J = 16.2, 9.2$ Hz, 2H), 2.04 – 1.85 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.44, 165.13, 158.89, 153.19, 140.87, 136.59, 120.29, 113.86, 104.59, 60.36, 58.52, 56.26, 36.86, 35.86, 26.97, 20.34.

MCR 20:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 6.91 (s, 2H), 3.18 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 2.56 – 2.41 (m, 2H), 2.40 – 2.25 (m, 2H), 2.02 – 1.82 (m, 2H), 1.57 – 1.30 (m, 2H), 0.70 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.96, 165.73, 160.40, 120.62, 113.48, 55.18, 36.88, 30.55, 27.35, 26.87, 20.41, 8.92.

MCR 21:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 7.39 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.31 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.22 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.06 (s, 2H), 6.36 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 6.06 (dd, $J = 15.8, 7.4$ Hz, 1H), 3.82 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 2.54 (d, $J = 5.4$ Hz, 2H), 2.34 (dd, $J = 15.9, 8.9$ Hz, 2H), 2.03 – 1.84 (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.53, 164.86, 159.65, 136.97, 131.74, 129.55, 129.03, 127.87, 126.71, 120.36, 113.38, 57.28 – 54.61, 36.84, 33.32, 26.98, 20.27.

MCR 22:

¹H NMR (400 MHz, DMSO) = 6.90 (s, 2H), 3.10 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H), 2.53 – 2.47 (m, 2H), 2.37 – 2.30 (m, 2H), 2.03 – 1.81 (m, 2H), 1.08 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO) = 197.02 (s), 164.46 (s), 159.22 (s), 120.48 (s), 115.62 (s), 58.05 (s), 36.87 (s), 26.83 (s), 25.16 (s), 23.34 (s), 20.34 (s).

MCR 25:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.69 – 7.54 (m, 3H), 7.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.28 – 7.20 (m, 3H), 7.18 (s, 2H), 7.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.91 (s, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 160.64, 146.18, 143.20, 133.15, 129.18, 128.14, 127.40, 127.25, 127.16, 126.71, 124.37, 123.22, 121.17, 121.00, 118.42, 56.69, 41.37.

MCR 26:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.70 – 7.50 (m, 3H), 7.30 – 7.10 (m, 3H), 6.59 (s, 2H), 4.88 (s, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.63 (s, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 160.71, 153.48, 142.97, 141.76, 136.86, 133.18, 128.16, 127.23, 127.11, 126.67, 124.28, 123.21, 121.22, 121.04, 118.17, 105.41, 60.39, 56.33, 56.30, 41.56.

MCR 27:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.24 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.36 (s, 2H), 4.12 (s, 1H), 3.72 (s, 6H), 2.70 – 2.54 (m, 2H), 2.35 – 2.25 (m, 2H), 2.05 – 1.83 (m, *J* = 34.2, 13.4, 6.7 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 196.45, 164.75, 158.83, 148.25, 135.38, 134.89, 120.39, 114.27, 105.03, 58.90, 56.46, 36.90, 35.58, 26.96, 20.37.

MCR 28:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.32 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.87 (t, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.69 – 7.50 (m, 3H), 7.18 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.11 (s, 2H), 6.53 (s, 2H), 4.81 (s, 1H), 3.70 (s, 6H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 160.53, 148.51, 142.85, 136.22, 135.13, 133.10, 128.14, 127.14, 127.05, 126.76, 124.13, 123.21, 121.15, 121.09, 118.58, 105.74, 56.75, 56.47, 41.33.

MCR 29:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.09 (t, *J* = 10.9 Hz, 1H), 7.04 (s, 2H), 6.94 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.47 (dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 5.16 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.73 (s, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 161.09, 159.91, 157.81, 143.33, 133.02, 130.15, 128.08, 126.98, 126.36, 126.28, 124.17, 123.17, 121.14, 121.07, 118.88, 105.89, 99.14, 56.24, 56.01, 55.61, 34.40.

MCR 30:

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) = 8.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.64 – 7.49 (m, 3H), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (q, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.75 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) = 158.83, 149.30, 148.35, 143.18, 137.09, 133.30, 127.79, 126.76, 126.67, 126.25, 124.59, 123.21, 120.79, 120.45, 119.85, 117.29, 111.21, 61.53, 55.91, 41.06.

MCR 31:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.63 (tt, *J* = 15.0, 7.6 Hz, 4H), 7.34 (s, 2H), 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 160.87, 148.44, 148.32, 143.36, 135.07, 133.33, 130.97, 128.20, 127.50, 127.31, 126.41, 124.71, 123.19, 122.62, 122.50, 121.23, 120.69, 117.26, 56.49, 55.77, 40.69, 19.01.

MCR 32:

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) = 8.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H), 7.84 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.73 – 7.50 (m, 3H), 7.44 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.90 (s, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) = 159.47 – 158.96, 151.60 – 151.06, 143.62 – 143.18, 133.79 – 133.20, 129.03, 127.88, 127.26, 127.08, 125.57, 125.20, 124.28, 123.29 – 122.95, 120.79, 119.18, 115.68 – 115.42, 41.34.

MCR 33:

¹H NMR (500 MHz, DMSO) = 8.56 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.46 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.69 – 7.55 (m, 4H), 7.35 (dd, *J* = 7.8, 4.8 Hz, 1H), 7.28 (s, 2H), 7.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO) = 160.76, 149.23, 148.84, 143.39, 141.44, 135.90, 133.27, 128.19, 127.42, 127.26, 126.47, 124.62, 124.56, 123.19, 121.20, 120.77, 117.42, 55.81, 38.77.

9. ENSAIOS BIOLÓGICOS

Para a realização dos ensaios *in vitro* foi utilizada a cepa de *P. falciparum* NF54, sensível a cloroquina. As cepas foram cultivadas em eritrócitos humanos do tipo O⁺, RPMI 1640, plasma humano do tipo A⁺, glutamina e bicarbonato de sódio 7,5%.

A manutenção do cultivo foi realizada em dias intermitentes onde se fazia a verificação da parasitemia por microscopia ótica, trocava-se o meio de cultivo (RPMI 1640 contendo 10% plasma humano, 2% de glutamina e 7,5% de NaHCO₃), ajustando o hematócrito, e adicionava-se a mistura de gasosa com os gases oxigênio e carbônico, posteriormente a cultura era mantida, em estufa, a temperatura de 37 °C.

Para o ensaio *in vitro* todas as moléculas foram solubilizadas em DMSO, de forma a se alcançar a concentração desejada sem que se ultrapassasse o limite de 1% na placa de poços.

A cultura foi sincronizada com sorbitol e glicose, de forma a garantir a predominância da forma anel do parasita.

O ensaio na placa de 96 poços foi realizado em triplicata. Foram utilizados 2 µL de solução 5 mM das moléculas a serem testadas, respeitando o limite máximo de 1% de DMSO na placa. Foi utilizado um hematócrito de 1,5%, a parasitemia foi ajustada para 0,5% através do preparo de uma solução proveniente da cultura e de hemácias saudáveis. Cada poço teve, ao fim, um total de 200 µL de solução, completados com meio de cultivo, com uma concentração de 50 µM de cada composto. A placa foi submetida a uma temperatura de 37 °C e fornecimento de gás oxigênio e carbônico por 72 horas.

O controle positivo utilizado foi uma solução aquosa de cloroquina, de forma a se gerar poços com um volume total de 200 µL e concentração final de 50 µM. Os controles negativos utilizados tiveram poços com e sem DMSO.

Após o período de 72 horas a placa foi centrifugada, o sobrenadante foi retirado e, com a solução de hemácias foi aplicada uma solução com tampão fosfato salino (PBS) e SYTO 16 – sonda verde fluorescente que exibe fluorescência após se ligar permanentemente à ácidos nucleicos - em cada poço. A placa foi submetida a 37° C por 1 hora, para a incubação do SYTO 16. Em seguida a placa foi novamente centrifugada, o sobrenadante retirado e foram adicionados 200 µL de PBS em cada poço para a homogeneização. As alíquotas de cada poço foram, então, transferidas para tubos de citometria, nos quais foram adicionados PBS até que se completasse 300 µL. Os tubos foram enviados para a leitura em citômetro de fluxo, por meio do qual os resultados foram obtidos.

O citômetro de fluxo é um equipamento que permite a leitura de cada eritrócito individualmente, fornecendo dados de forma rápida e precisa. A suspensão celular a ser analisada é injetada no citômetro de fluxo passando, célula a célula, por uma câmara onde há um feixe de laser perpendicular ao fluxo. A partir da dispersão do feixe e sua posterior detecção é possível obter informações como a dimensão

celular, a granularidade e a morfologia. Os detectores do citômetro de fluxo também são capazes de diferenciar compostos intracelulares com fluorescência intrínseca ou que de alguma forma estão ligados a corantes fluorescentes. (SILVA, 2004).

As leituras feitas no citômetro de fluxo permitiram diferenciar as hemácias não parasitadas das hemácias parasitadas, visto que as últimas, por possuírem parasitas com DNA, foram afetadas pela fluorescência do SYTO 16 utilizado. A partir dos dados obtidos, foi determinado um *set point* de forma a definir a parasitemia com maior precisão, visando eliminar qualquer interferência de fundo.

O citômetro de fluxo fornece, como dados, a parasitemia de cada poço examinado, assim, por comparação com os controles positivo e negativo, é possível se obter um resultado quanto a efetividade da molécula utilizada.

Os dados obtidos foram analisados por meio do programa FlowJo (**figura 22**) e a análise estatística foi realizada no GraphPad Prism, onde os gráficos foram gerados (**figura 23**).

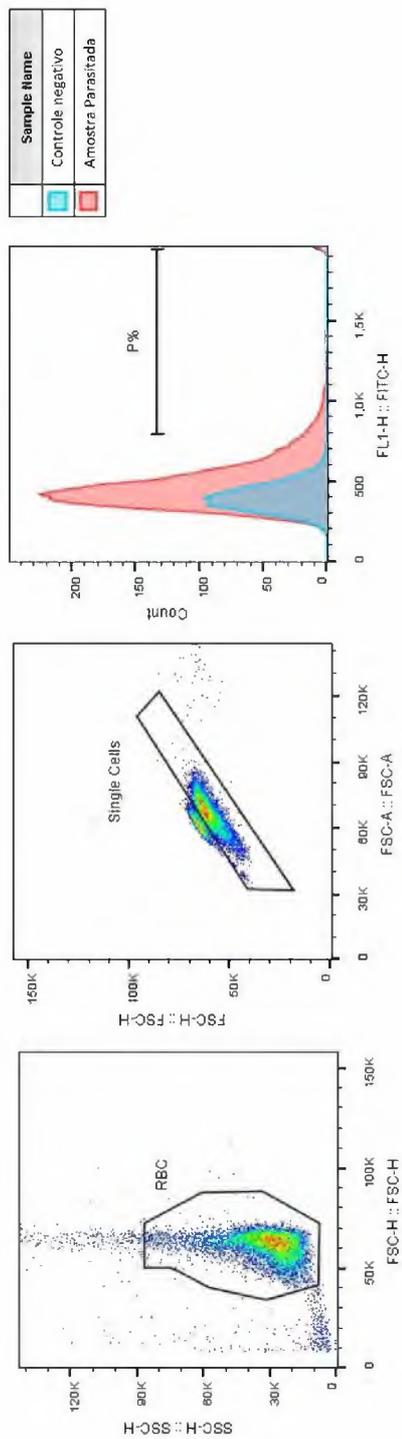


Figura 22 Estratégia de gate para a avaliação de parasitemia

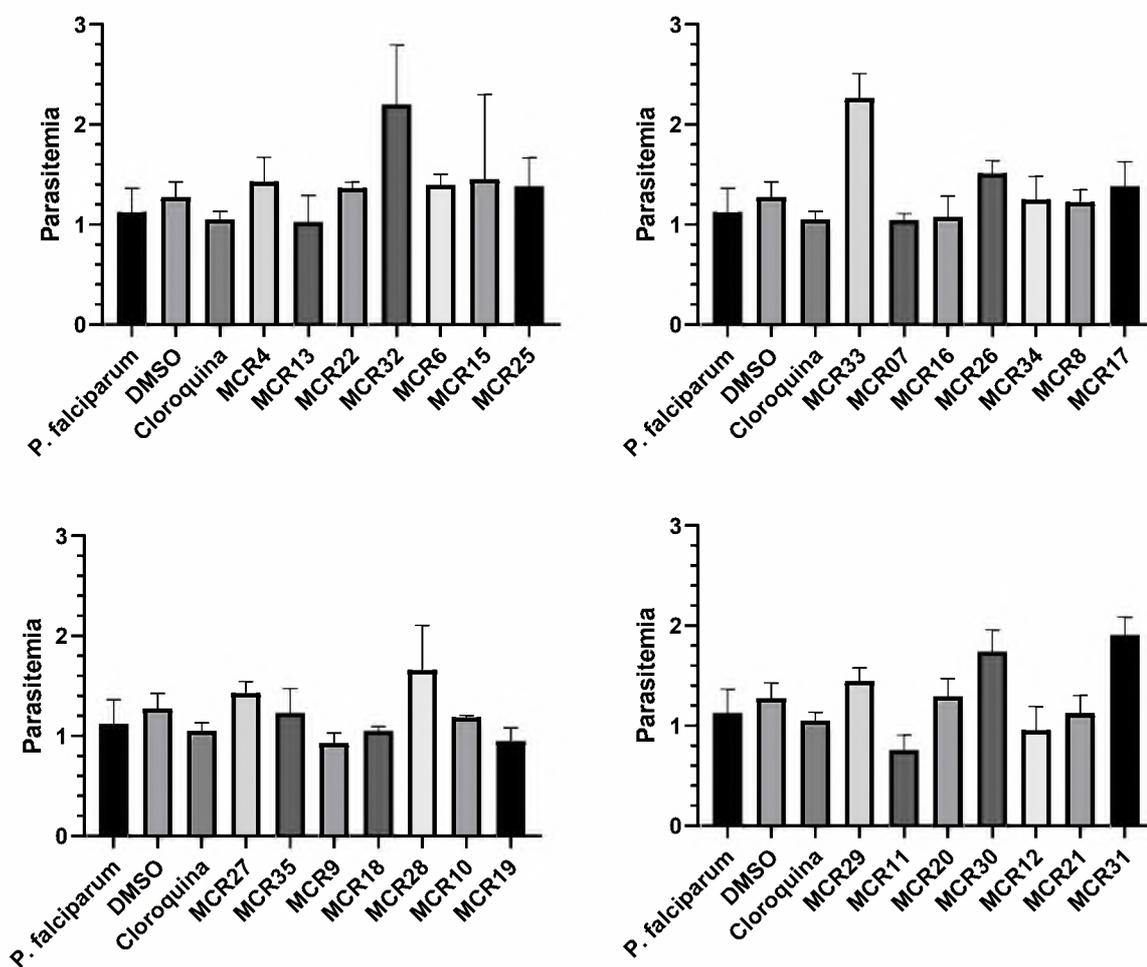


Figura 23 Resultados do Ensaio de Parasitemia

É possível notar, através da análise dos gráficos, que, ao fim das 72 horas do ensaio, a parasitemia nos poços controles negativos (meio de cultura e meio de cultura com DMSO) subiu para cerca de 1% (inicial: 0,5%), demonstrando que houve crescimento da parasitemia (embora nossa expectativa fosse de um crescimento maior). Não houve uma grande variação da parasitemia entre os poços contendo os compostos testados e os controles positivo (cloroquina) ou negativos (meio de cultura e meio de cultura com DMSO). O fato de a parasitemia nos poços com cloroquina (droga controle que devia matar os parasitas) ter sido semelhante às dos poços controle sem droga nos informa que o teste não funcionou a contento. Por isso, não foi possível chegar a uma conclusão clara e sólida, sendo necessários mais testes, bem como posteriores testes com diluições seriadas.

10. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir das metodologias utilizadas foi possível obter um total de 28 compostos a partir de uma rota relativamente simples, segura e acessível, possuindo uma grande variação no que diz respeito a diversificação estrutural das moléculas pela substituição dos radicais propostos. Os rendimentos, no geral, se mostraram satisfatórios, tendo em vista que a maior parte dos produtos obtidos possuíam mais de 60% de rendimento. Com apenas duas exceções (MCR 11 e MCR 28), os compostos obtidos mostraram uma pureza excelente, acima de 90%, sendo que, como método de purificação, foi empregada somente a recristalização com etanol, o que torna possível, mediante outros processos – como cromatografia -, a obtenção de produtos ainda mais puros. Há a possibilidade de síntese de outras moléculas mediante a mesma técnica empregada neste trabalho com o emprego de uma maior variedade de aldeídos, o que poderá levar a uma nova série de cromenos com possíveis atividades farmacológicas.

Não foi possível obter uma coleção ainda maior de compostos e resultados sólidos no que diz respeito as atividades anti-plasmodiais devido a série de percalços como a pandemia de COVID 19 e os problemas enfrentados nos ensaios, visto que foi preciso um longo tempo para a estabilização do cultivo das cepas NF54. Novos testes ainda são necessários para a geração de dados confiáveis. Ainda outros testes podem ser realizados, visto que ainda existe a necessidade de se verificar a citotoxicidade dos compostos sintetizados, este pode ser feito, por exemplo, através de um ensaio de hemólise. A depender dos resultados *in vitro* e do de toxicidade, testes *in vivo* também podem ser realizados para a confirmação da ação anti-plasmodial das moléculas obtidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHLEY, Elizabeth A., PHYO, Aung P. Drugs in Development for Malaria. **Drugs**, 78, 861–879 (2018). <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0911-9>

BIAMONTE, Marco A.; WANNER, Jutta; LE ROCH, Karine G. Recent advances in malaria drug discovery. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 10, p. 2829-2843, 2013.

BELETE, Tafere Mulaw. Recent Progress in the Development of New Antimalarial, Drugs with Novel Targets. **Drug Design, Development and Therapy**, (2020). 3875-3889, DOI: 10.2147/DDDT.S265602

CDC - Center for Disease Control and Prevention. **Malaria**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>>. Acesso em Mar. 2021.

CHAUDHARY Anurag, SINGH Kalpana, VERMA Nishant, KUMAR Sachin, KUMAR Deepak, SHARMA Prince P. "Chromenes - A Novel Class of Heterocyclic Compounds: Recent Advancements and Future Directions". **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. 2022; 22(21):2736-2751
doi: 10.2174/1389557522666220331161636. PMID: 35362382.

COSTA, Marta et al. Biological importance of structurally diversified chromenes. **European journal of medicinal chemistry**, v. 123, p. 487-507, 2016.

DARDÉ, Marie-Laure; FOUGERE, Édouard, and BUXERAUD, Jacques. "Les antipaludiques." **Actualités Pharmaceutiques** 57.581 (2018): 27-37.

DELFINO, Reinaldo T.; SANTOS-FILHO, Osvaldo A.; FIGUEROA-VILLAR, José D. Type 2 antifolates in the chemotherapy of falciparum malaria. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, p. 727-741, 2002.

DYACHENKO, V. D.; CHERNEGA, A. N. Aliphatic Aldehydes in Multicomponent Syntheses of 4-Alkyl Substituted Partially Hydrogenated Quinolines, Fused 4H-Pyrans, and 2-Amino-4-ethyl-5-methylbenzene-1,3-dicarbonitrile. **Russian Journal**

of **Organic Chemistry**, v. 42, n. 4. p. 567-576, 2006.

FRANÇA, Tanos CC, Marta G. dos Santos, and José D. Figueroa-Villar. "Malária: aspectos históricos e quimioterapia." **Química Nova** **31** (2008): 1271-1278.

GRAEBIN S. C., UCHOA D. F., BERNARDES S.C. L., CAMPO L. V., CARVALHO I. and EIFLER-LIMA L. V., Antiprotozoal Agents: An Overview. **Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry**. 2009; 8(4). <https://dx.doi.org/10.2174/187152109789760199>

GRAEBIN, Cedric S. et al. Multicomponent reactions for the synthesis of bioactive compounds: a review. **Current Organic Synthesis**, v. 16, n. 6, p. 855-899, 2019.

MADHURENDRA K. Katiyar, GOVIND Kumar Dhakad, SHIVANI, Sahil Arora, SRIKANT Bhagat, TARUNA Arora, RAJ Kumar, "Synthetic strategies and pharmacological activities of chromene and its derivatives: An overview", **Journal of Molecular Structure**, Volume 1263, 2022, 133012, ISSN 0022-2860, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133012>.

MANSOURI, Ali; LURIE, Aubrey A. Methemoglobinemia. **American journal of hematology**, v. 42, n. 1, p. 7-12, 1993.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ações de controle de endemias: malária: manual para agentes comunitários de saúde e agentes de controle de endemias** / Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Fundação Nacional de Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2002. ISBN 85-334-0555-3.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia prático de tratamento de malária no Brasil**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília – DF, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de diagnóstico laboratorial da malária**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005. ISBN 85-334-0974-5

MIOTO, Leide Daiana; GALHARDI, Ligia Carla Faccin, and AMARANTE, Marla Karine. "Aspectos parasitológicos e imunológicos da malária." *Biosaúde* **14.1** (2012): 42-55.

NOSTEN, François, and WHITE Nicholas J. "Artemisinin-based combination treatment of falciparum malaria." *Defining and Defeating the Intolerable Burden of Malaria III: Progress and Perspectives: Supplement to Volume 77 (6) of American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* (2007).

PADMA, T. V. "Can malaria researchers slow the spread of drug resistance?" *Nature*, 618, S26-S28 (2023). doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-023-02052-3>

PINHEIRO, Priscila de Nazaré Quaresma, et al. "Aspectos farmacológicos do antimalárico lumefantrina." *Revista Paraense de Medicina*. (2013).

POU, Sovitj et al. Sontochin as a guide to the development of drugs against chloroquine-resistant malaria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 56, n. 7, p. 3475-3480, 2012.

RAJ, Vinit; LEE, Jintae. 2H/4H-Chromenes—A versatile biologically attractive scaffold. *Frontiers in Chemistry*, v. 8, p. 623, 2020.

ROGERIO, K. et al. Reações multicomponentes: Um breve histórico ea versatilidade destas reações na síntese de moléculas bioativas. *Rev. Virtual Quim*, v. 8, p. 1934-1962, 2016.

ROGERIO, Kamilla Rodrigues et al. Synthesis and molecular modelling studies of pyrimidinones and pyrrolo [3, 4-d]-pyrimidinodiones as new antiplasmodial compounds. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 113, 2018.

SÁ, Ivone Manzali de. A resistência à cloroquina e a busca de antimalaricais entre as décadas de 1960 e 1980. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*. 2011, v. 18, n. 2, pp. 407-430. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0104-59702011000200008>>. Epub 29 Jul 2011. ISSN 1678-4758. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702011000200008>.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde, Brasil, **Boletim Epidemiológico**, número especial, Nov. 2020. Disponível em: <www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/03/boletim_especial_malaria_1dez20_final.pdf>.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde, Brasil, **Boletim Epidemiológico**, nº 15, vol. 52, Abr. 2021.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde, Brasil, **Boletim Epidemiológico**, volume 53, Maio 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria-1/boletins-epidemiologicos-de-malaria/boletim-epidemiologico-vol-53-no17-2022-panorama-epidemiologico-da-malaria-em-2021-buscando-o-caminho-para-a-eliminacao-da-malaria-no-brasil/view>>. Acesso em: 09 Jun. 2023.

SILVA, Teresa Lopes da et al. Citometria de fluxo: funcionalidade celular on-line em bioprocessos. **Boletim de Biotecnologia**, p. 32-40, 2004.

TAYLOR, W Robert J; WHITE, Nicholas J. "Antimalarial drug toxicity: a review." **Drug safety** vol. 27,1 (2004): 25-61. doi:10.2165/00002018-200427010-00003

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Artemisinin resistance and artemisinin-based combination therapy efficacy: status report*. No. WHO/CDS/GMP/2018.18. **World Health Organization**, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malaria**. Mar. 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>>. Acesso em: 09 Jun 2023.

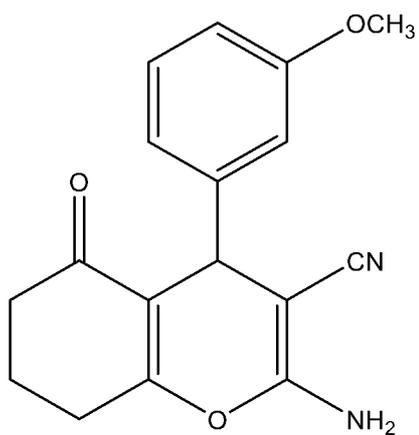
ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo I Molécula MCR 06..... | 87 |
| Anexo II HPLC da Molécula MCR 06..... | 88 |
| Anexo III Espectro de IV da Molécula MCR 06..... | 89 |
| Anexo IV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 06..... | 90 |
| Anexo V Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 06..... | 91 |
| Anexo VI Molécula MCR 07..... | 92 |
| Anexo VII HPLC da Molécula MCR 07..... | 93 |
| Anexo VIII Espectro de IV da Molécula MCR 07..... | 94 |
| Anexo IX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 07..... | 95 |
| Anexo X Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 07..... | 96 |
| Anexo XI Molécula MCR 08..... | 96 |
| Anexo XII HPLC da Molécula MCR 08..... | 97 |
| Anexo XIII Espectro de IV da Molécula MCR 08..... | 98 |
| Anexo XIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 08..... | 99 |
| Anexo XV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 08..... | 100 |
| Anexo XVI Molécula MCR 09..... | 101 |
| Anexo XVII HPLC da Molécula MCR 09..... | 102 |
| Anexo XVIII Espectro de IV da Molécula MCR 09..... | 103 |
| Anexo XIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 09..... | 104 |
| Anexo XX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 09..... | 105 |
| Anexo XXI Molécula MCR 10..... | 105 |
| Anexo XXII HPLC da Molécula MCR 10..... | 106 |
| Anexo XXIII Espectro de IV da Molécula MCR 10..... | 107 |
| Anexo XXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 10..... | 108 |
| Anexo XXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 10..... | 109 |
| Anexo XXVI Molécula MCR 11..... | 110 |
| Anexo XXVII HPLC da Molécula MCR 11..... | 111 |
| Anexo XXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 11..... | 112 |
| Anexo XXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 11..... | 113 |
| Anexo XXX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 11..... | 114 |
| Anexo XXXI Molécula MCR 12..... | 115 |
| Anexo XXXII HPLC da Molécula MCR 12..... | 116 |
| Anexo XXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 12..... | 117 |
| Anexo XXXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 12..... | 118 |
| Anexo XXXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 12..... | 119 |
| Anexo XXXVI Molécula MCR 13..... | 120 |
| Anexo XXXVII HPLC da Molécula MCR 13..... | 121 |
| Anexo XXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 13..... | 122 |
| Anexo XXXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 13..... | 123 |
| Anexo XL Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 13..... | 124 |
| Anexo XLI Molécula MCR 15..... | 125 |
| Anexo XLII HPLC da Molécula MCR 15..... | 126 |
| Anexo XLIII Espectro de IV da Molécula MCR 15..... | 127 |
| Anexo XLIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 15..... | 128 |
| Anexo XLV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 15..... | 129 |

| | |
|--|-----|
| Anexo XLVI Molécula MCR 16..... | 129 |
| Anexo XLVII HPLC da Molécula MCR 16 | 130 |
| Anexo XLVIII Espectro de IV da Molécula MCR 16..... | 131 |
| Anexo XLIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 16 | 132 |
| Anexo L Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 16 | 133 |
| Anexo LI Molécula MCR 17 | 133 |
| Anexo LII HPLC da Molécula MCR 17..... | 134 |
| Anexo LIII Espectro de IV da Molécula MCR 17 | 135 |
| Anexo LIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 17 | 136 |
| Anexo LV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 17 | 137 |
| Anexo LVI Molécula MCR 18 | 138 |
| Anexo LVII HPLC da Molécula MCR 18 | 139 |
| Anexo LVIII Espectro de IV da Molécula MCR 18 | 140 |
| Anexo LIX Espectro de RM ¹ H da Molécula MCR 18..... | 141 |
| Anexo LX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 18..... | 142 |
| Anexo LXI Molécula MCR 19 | 143 |
| Anexo LXII HPLC da Molécula MCR 19 | 144 |
| Anexo LXIII Espectro de IV da Molécula MCR 19 | 145 |
| Anexo LXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 19 | 146 |
| Anexo LXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 19 | 147 |
| Anexo LXVI Molécula MCR 20..... | 147 |
| Anexo LXVII HPLC da Molécula MCR 20 | 149 |
| Anexo LXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 20..... | 150 |
| Anexo LXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 20 | 151 |
| Anexo LXX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 20 | 152 |
| Anexo LXXI Molécula MCR 21 | 153 |
| Anexo LXXII HPLC da Molécula MCR 21 | 154 |
| Anexo LXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 21..... | 155 |
| Anexo LXXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 21..... | 156 |
| Anexo LXXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 21 | 157 |
| Anexo LXXVI Molécula MCR 22 | 157 |
| Anexo LXXVII HPLC da Molécula MCR 22..... | 158 |
| Anexo LXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 22 | 159 |
| Anexo LXXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 22..... | 160 |
| Anexo LXXX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 22 | 161 |
| Anexo LXXXI Molécula MCR 25 | 161 |
| Anexo LXXXII HPLC da Molécula MCR 25..... | 162 |
| Anexo LXXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 25..... | 163 |
| Anexo LXXXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 25..... | 164 |
| Anexo LXXXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 25..... | 165 |
| Anexo LXXXVI Molécula MCR 26 | 166 |
| Anexo LXXXVII HPLC da Molécula 26 | 167 |
| Anexo LXXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 26 | 168 |
| Anexo LXXXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 26..... | 169 |
| Anexo XC Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 26..... | 170 |
| Anexo XCI Molécula MCR 27 | 171 |
| Anexo XCII HPLC da Molécula MCR 27..... | 172 |
| Anexo XCIII Espectro de IV da Molécula MCR 27 | 173 |

| | |
|---|-----|
| Anexo XCIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 27 | 174 |
| Anexo XCV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 27 | 175 |
| Anexo XCVI Molécula MCR 28 | 176 |
| Anexo XCVII HPLC da Molécula MCR 28..... | 177 |
| Anexo XCVIII Espectro de IV da Molécula MCR 28 | 178 |
| Anexo XCIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 28..... | 179 |
| Anexo C Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 28 | 180 |
| Anexo CI Molécula MCR 29..... | 181 |
| Anexo CII HPLC da Molécula MCR 29 | 182 |
| Anexo CIII Espectro de IV da Molécula MCR 29..... | 183 |
| Anexo CIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 29..... | 184 |
| Anexo CV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 29 | 185 |
| Anexo CVI Molécula MCR 30 | 186 |
| Anexo CVII HPLC da Molécula MCR 30..... | 187 |
| Anexo CVIII Espectro de IV da Molécula MCR 30 | 188 |
| Anexo CIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 30..... | 189 |
| Anexo CX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 30 | 190 |
| Anexo CXI Molécula MCR 31 | 191 |
| Anexo CXII HPLC da Molécula MCR 31..... | 192 |
| Anexo CXIII Espectro de IV da Molécula MCR 31 | 193 |
| Anexo CXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 31 | 194 |
| Anexo CXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 31..... | 195 |
| Anexo CXVI Molécula MCR 32 | 196 |
| Anexo CXVII HPLC da Molécula MCR 32..... | 197 |
| Anexo CXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 32 | 198 |
| Anexo CXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 32 | 199 |
| Anexo CXX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 32..... | 200 |
| Anexo CXXI Molécula MCR 33 | 201 |
| Anexo CXXII HPLC da Molécula MCR 33..... | 202 |
| Anexo CXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 33 | 203 |
| Anexo CXXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 33 | 204 |
| Anexo CXXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 33..... | 205 |
| Anexo CXXVI Molécula MCR 34..... | 205 |
| Anexo CXXVII HPLC da Molécula MCR 34 | 206 |
| Anexo CXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 34..... | 207 |
| Anexo CXXIX Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 34 | 208 |
| Anexo CXXX Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 34 | 209 |
| Anexo CXXXI Molécula MCR 35..... | 209 |
| Anexo CXXXII HPLC da Molécula MCR 35 | 210 |
| Anexo CXXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 35..... | 211 |
| Anexo CXXXIV Espectro de RMN ¹ H da Molécula MCR 35..... | 212 |
| Anexo CXXXV Espectro de RMN ¹³ C da Molécula MCR 35 | 213 |

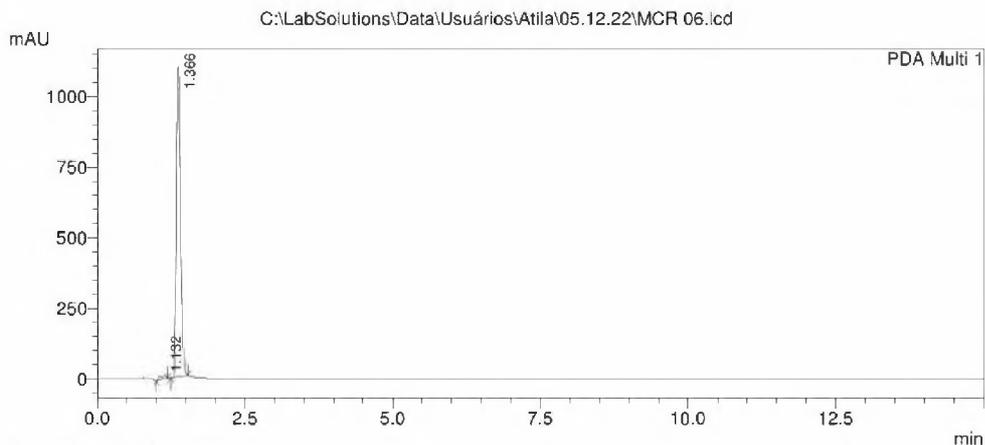
Anexo I Molécula MCR 06



Anexo II HPLC da Molécula MCR 06

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 06.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 20 µL
 Data File Name : MCR 06.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 15MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 08:12:54
 Data Processed : 6/12/2022 06:51:06



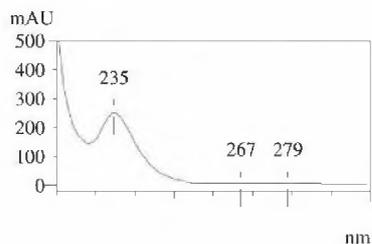
1 PDA Multi 1/254nm 4nm

PeakTable

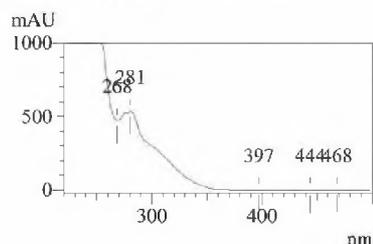
PDA Ch1 254nm 4nm

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.132 | 1.647 |
| 2 | 1.366 | 98.353 |
| Total | | 100.000 |

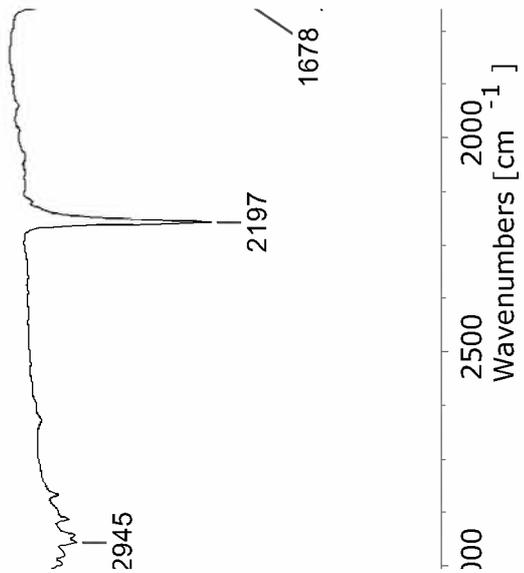
Retention Time : 1.132
Compound Name : RT1.132



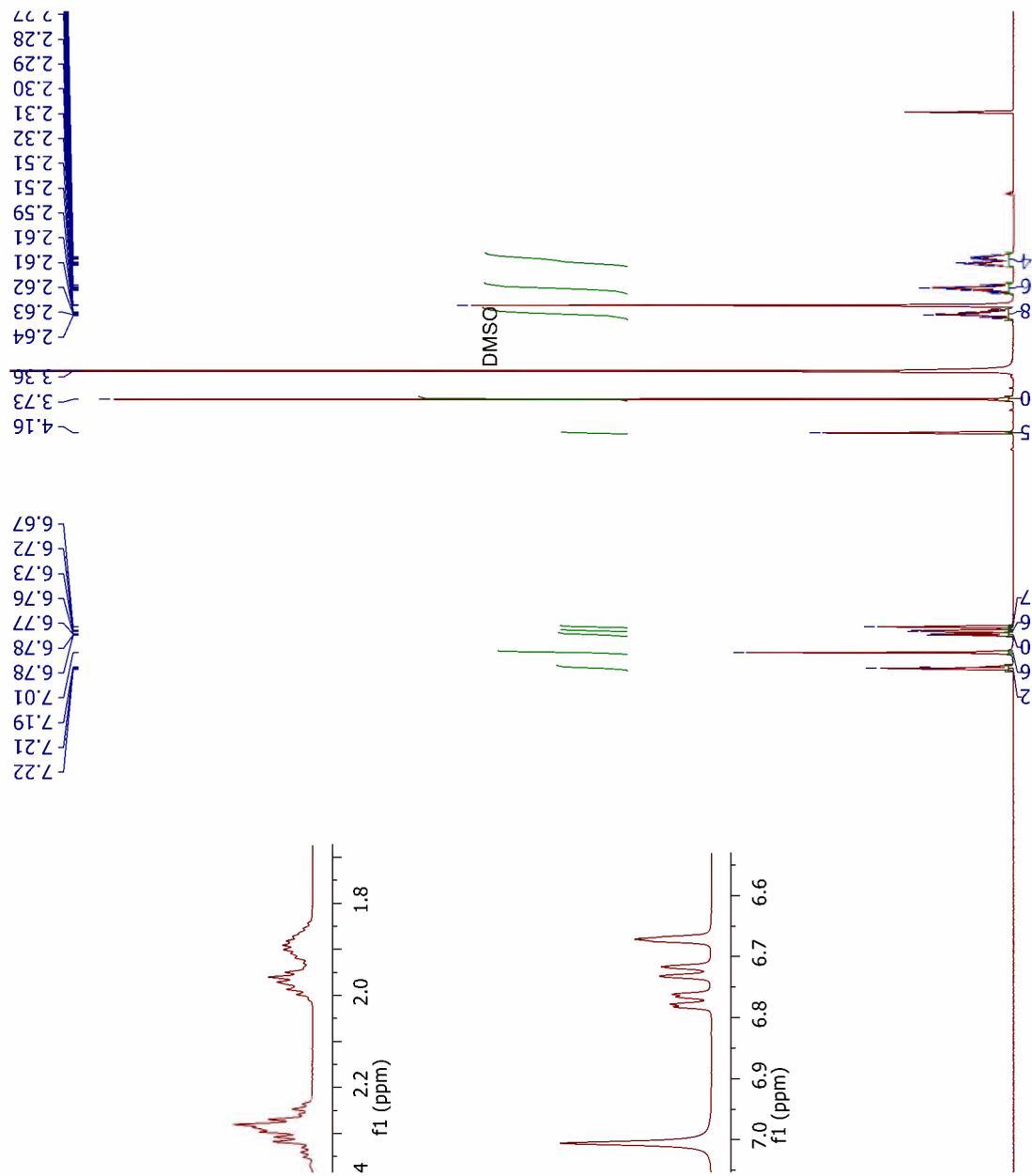
Retention Time : 1.366
Compound Name : RT1.366



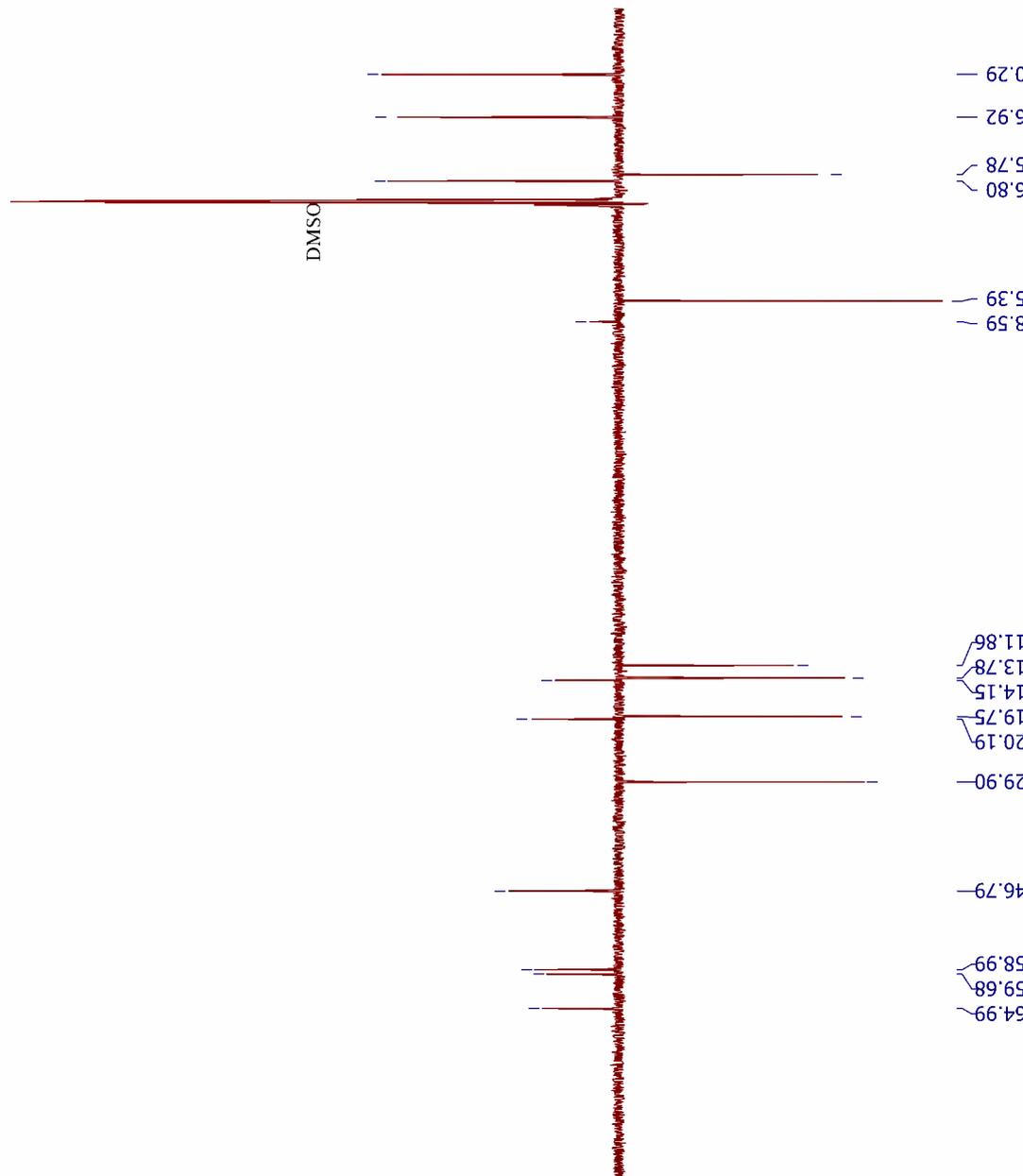
Anexo III Espectro de IV da Molécula MCR 06



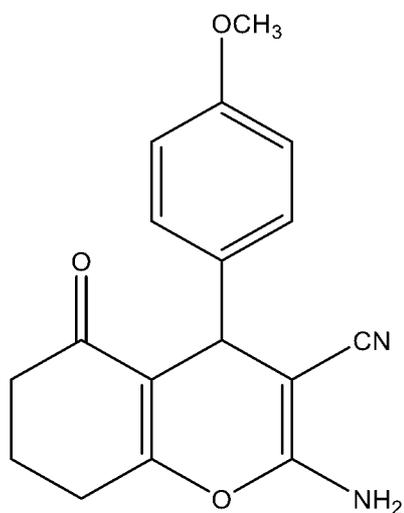
Anexo IV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 06



Anexo V Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 06



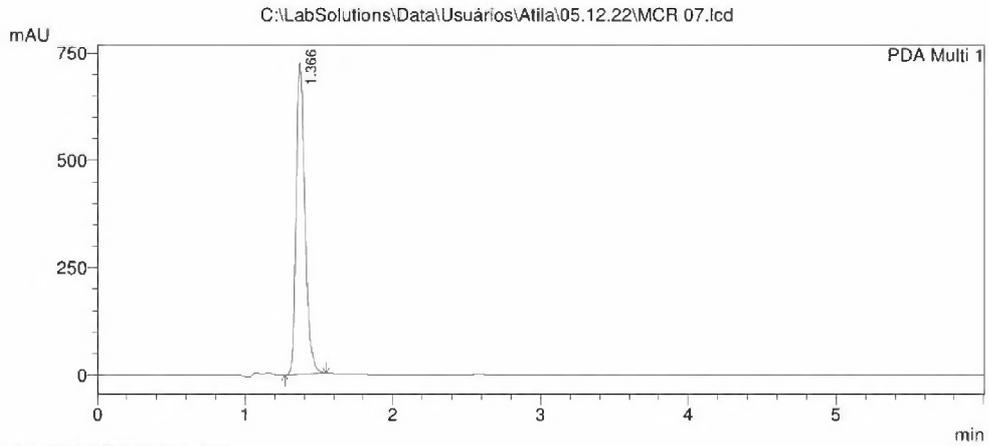
Anexo VI Molécula MCR 07



Anexo VII HPLC da Molécula MCR 07

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 07.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 07.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 06:47:01
 Data Processed : 6/12/2022 07:00:55

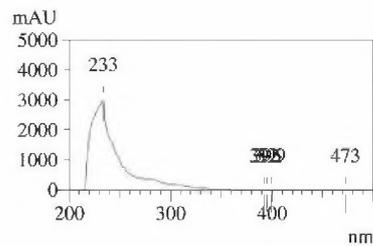


PeakTable

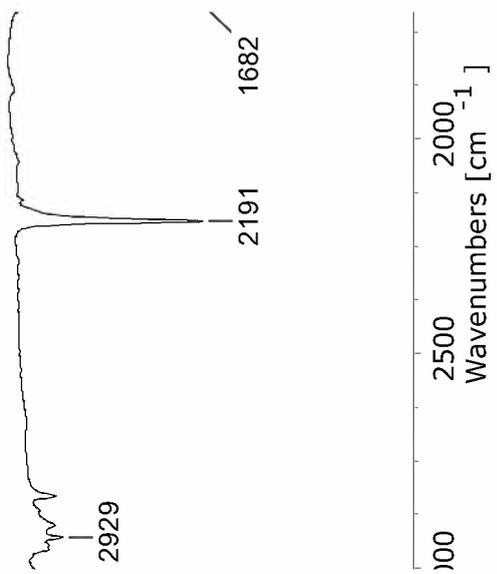
PDA Ch1 254nm 4nm

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.366 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

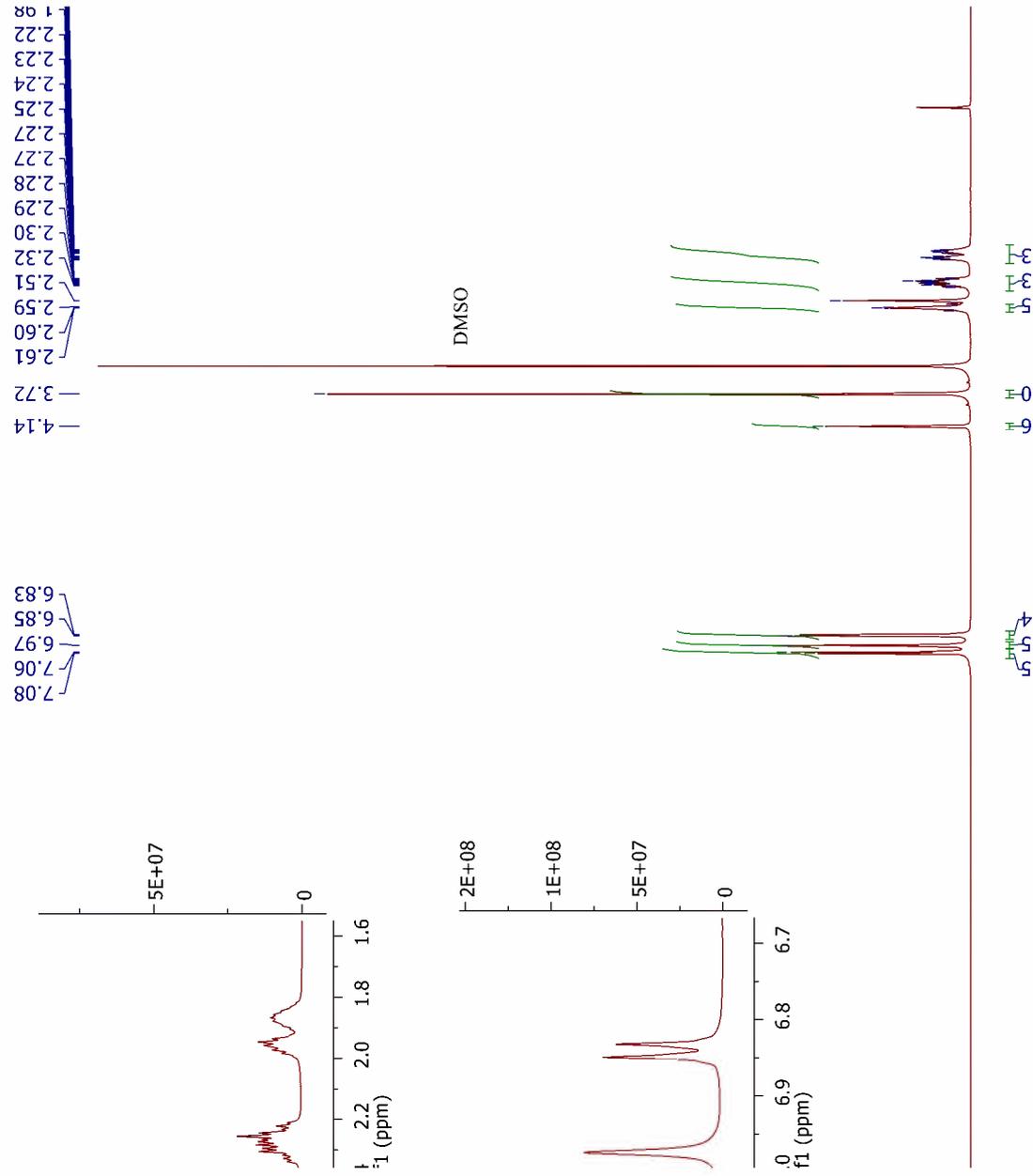
Retention Time : 1.366
 Compound Name : RT1.366



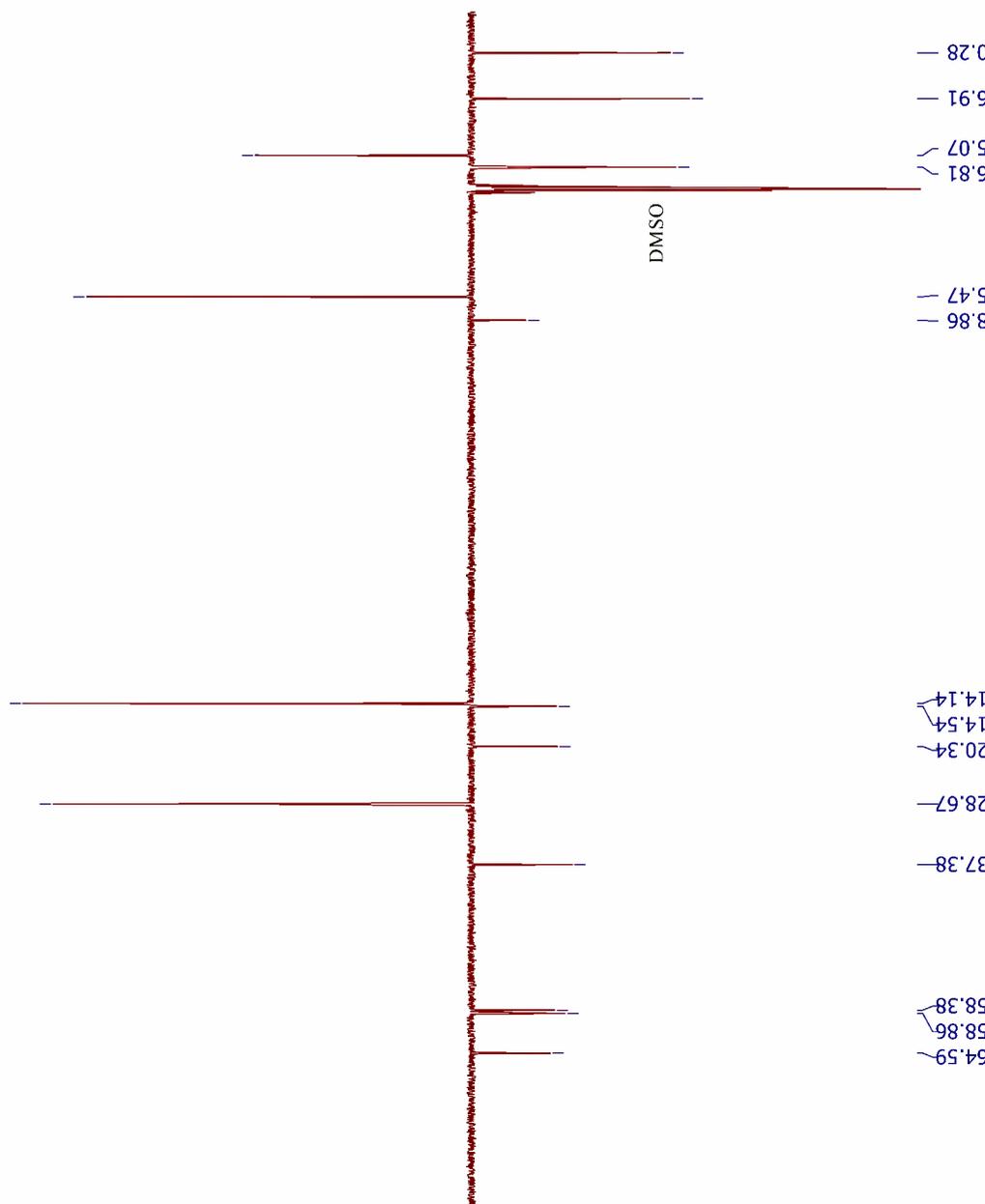
Anexo VIII Espectro de IV da Molécula MCR 07



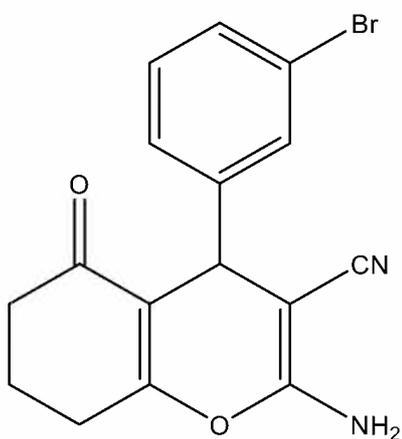
Anexo IX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 07



Anexo X Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 07



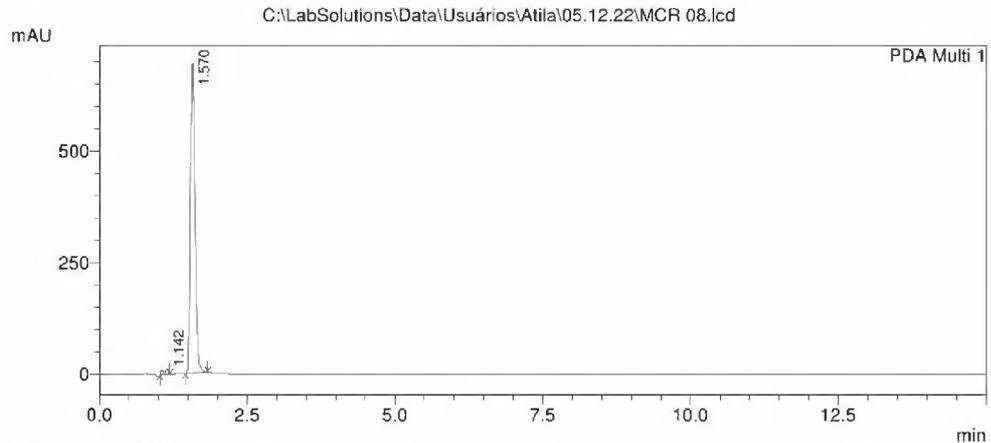
Anexo XI Molécula MCR 08



Anexo XII HPLC da Molécula MCR 08

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 08.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 20 uL
 Data File Name : MCR 08.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 15MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 08:45:44
 Data Processed : 6/12/2022 06:52:15

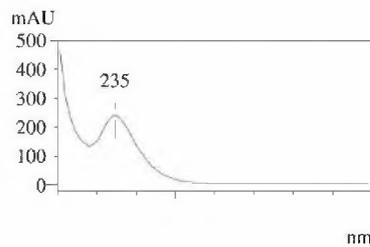


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

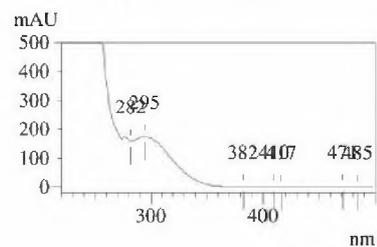
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.142 | 1.691 |
| 2 | 1.570 | 98.309 |
| Total | | 100.000 |

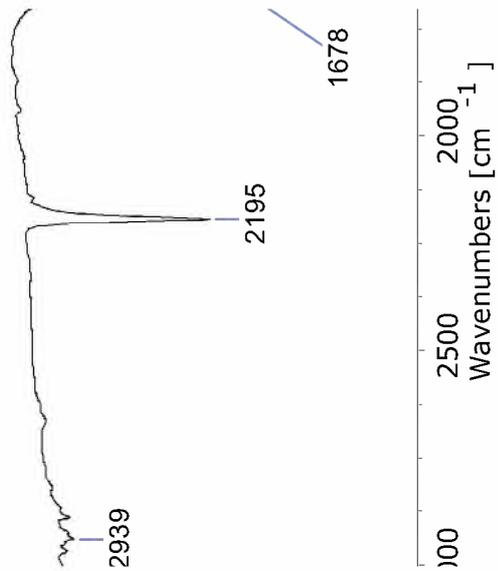
Retention Time : 1.142
Compound Name : RT1.142



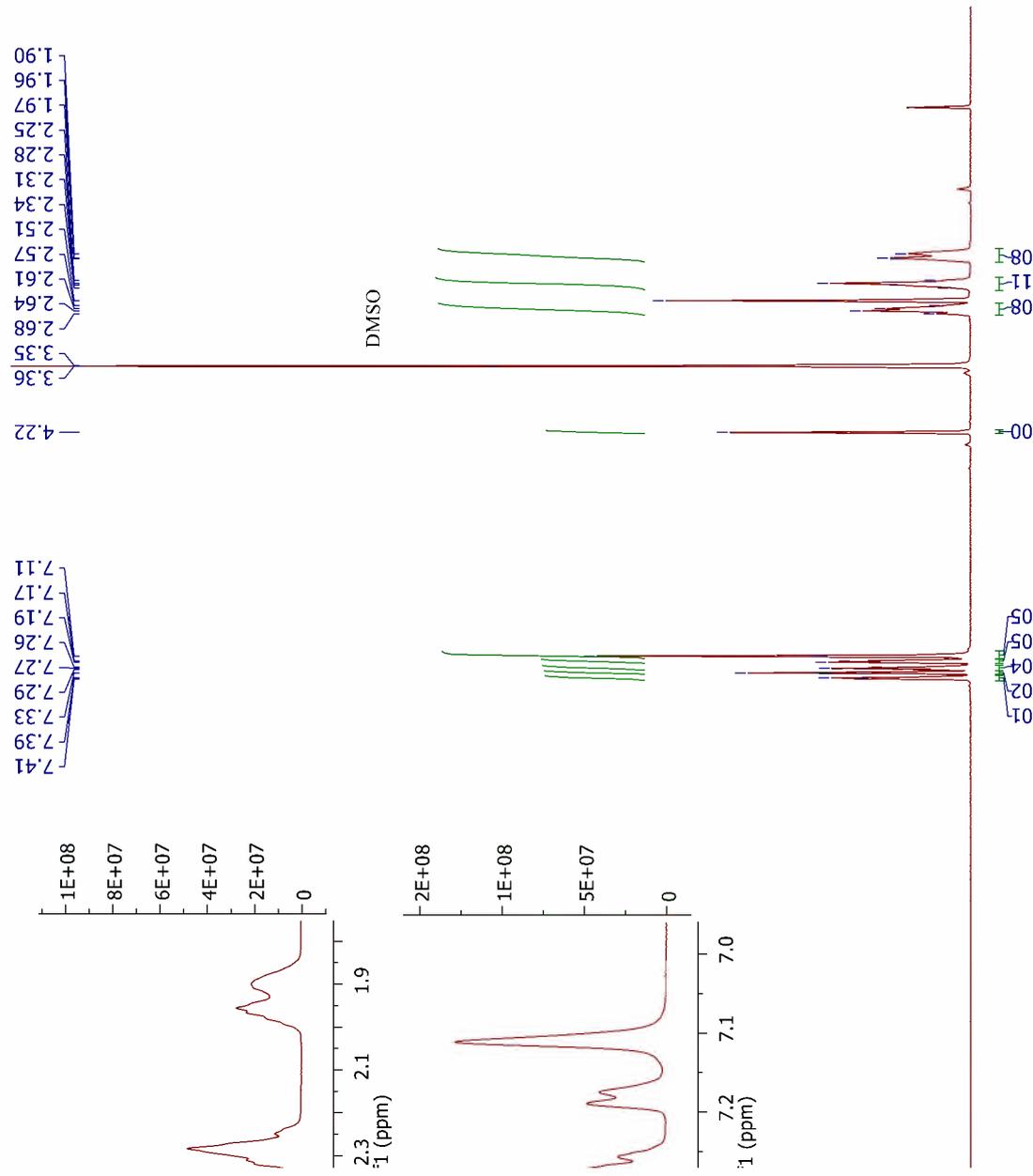
Retention Time : 1.570
Compound Name : RT1.570



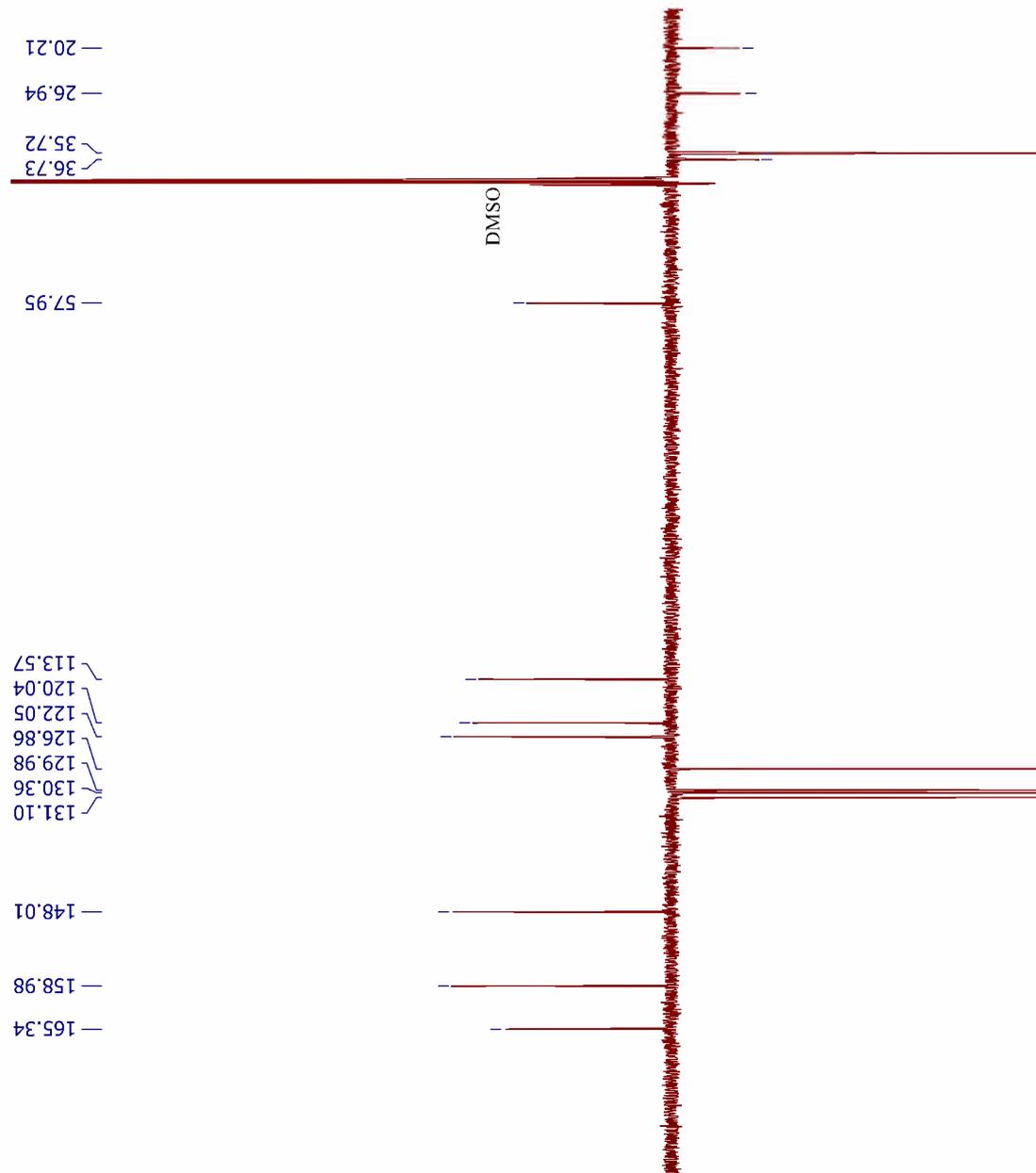
Anexo XIII Espectro de IV da Molécula MCR 08



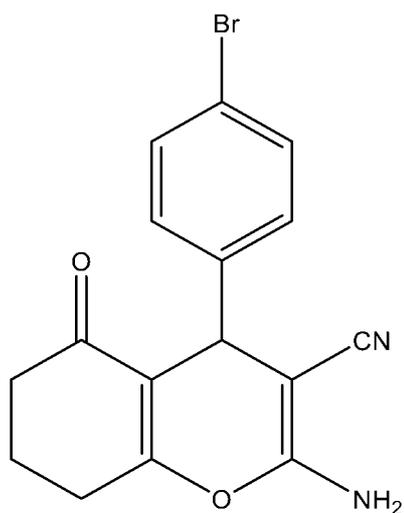
Anexo XIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 08



Anexo XV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 08



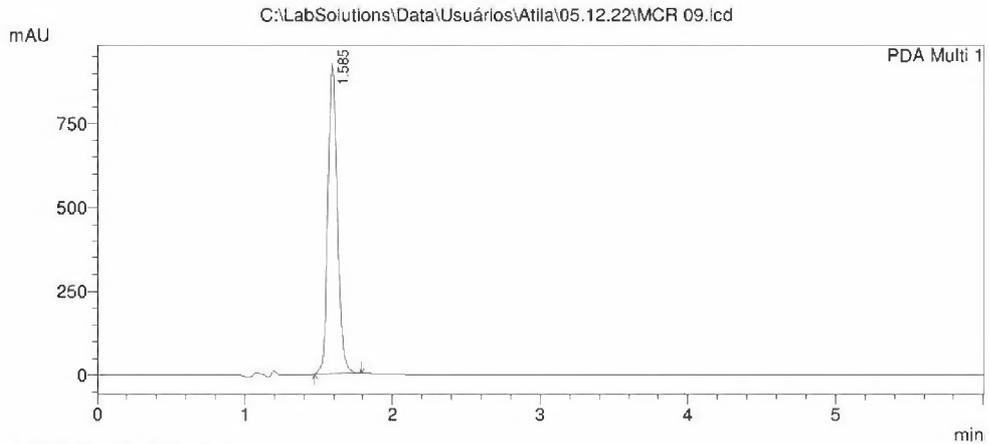
Anexo XVI Molécula MCR 09



Anexo XVII HPLC da Molécula MCR 09

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 09.lcd

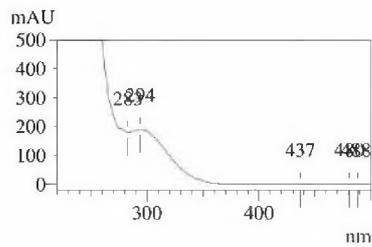
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 09.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%) - A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20uL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 06:54:21
 Data Processed : 6/12/2022 07:01:59



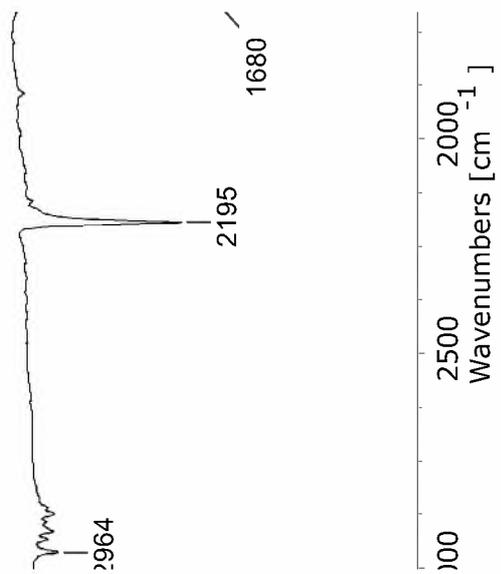
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.585 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

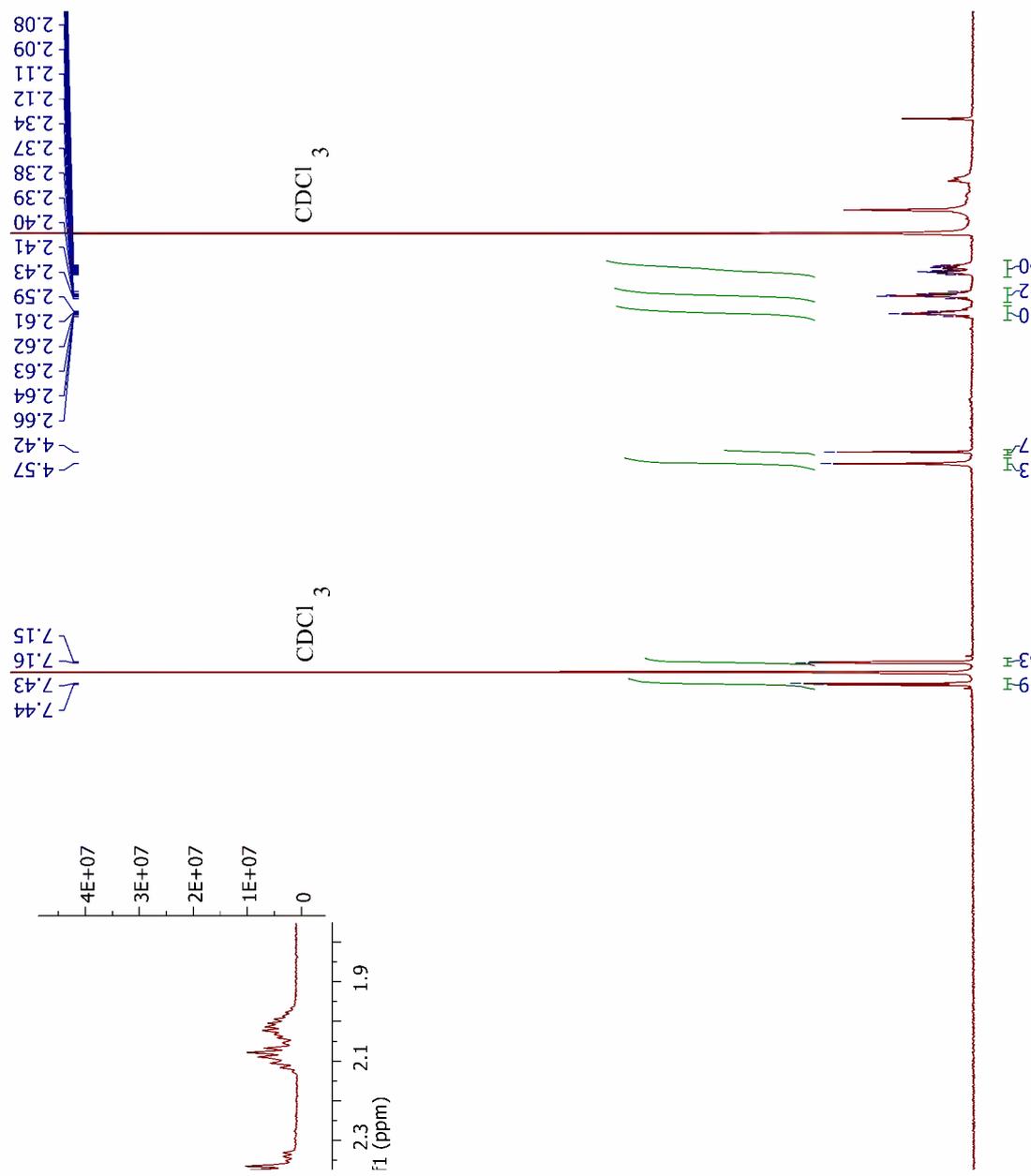
Retention Time : 1.585
 Compound Name : RT1.585



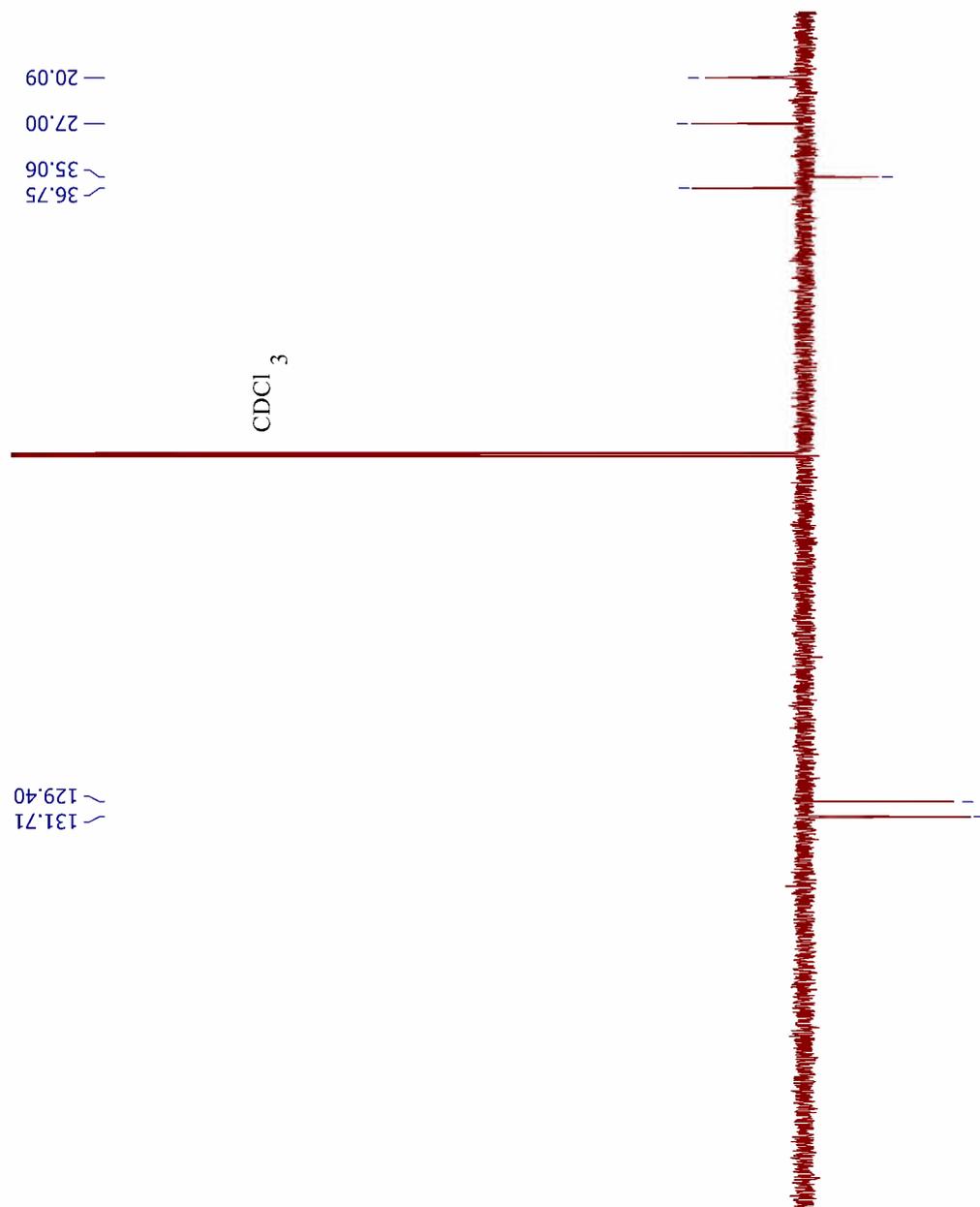
Anexo XVIII Espectro de IV da Molécula MCR 09



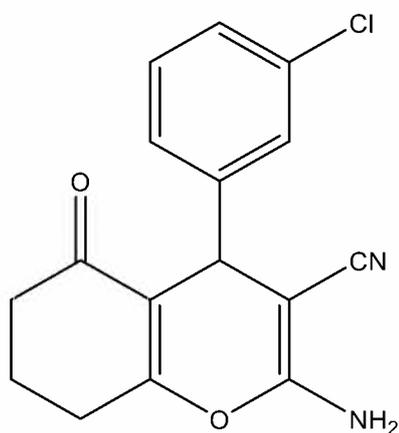
Anexo XIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 09



Anexo XX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 09



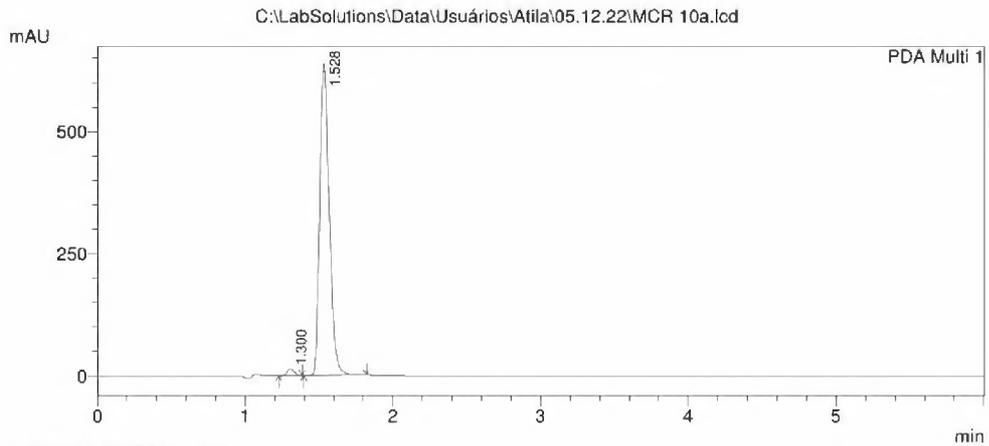
Anexo XXI Molécula MCR 10



Anexo XXII HPLC da Molécula MCR 10

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 10a.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 10a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:01:39
 Data Processed : 6/12/2022 07:08:53



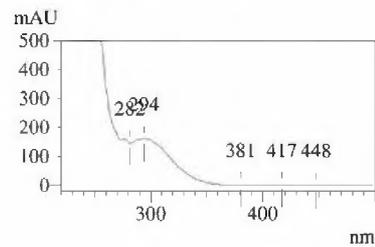
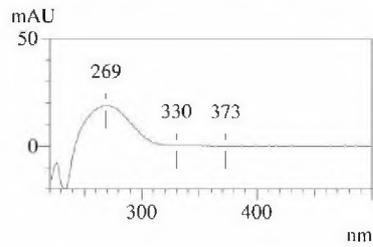
1 PDA Multi 1/254nm 4nm

PeakTable

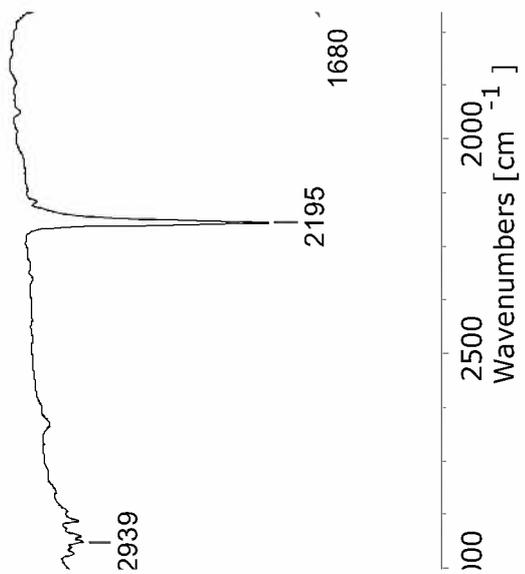
| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.300 | 1.603 |
| 2 | 1.528 | 98.397 |
| Total | | 100.000 |

Retention Time : 1.300
Compound Name : RT1.300

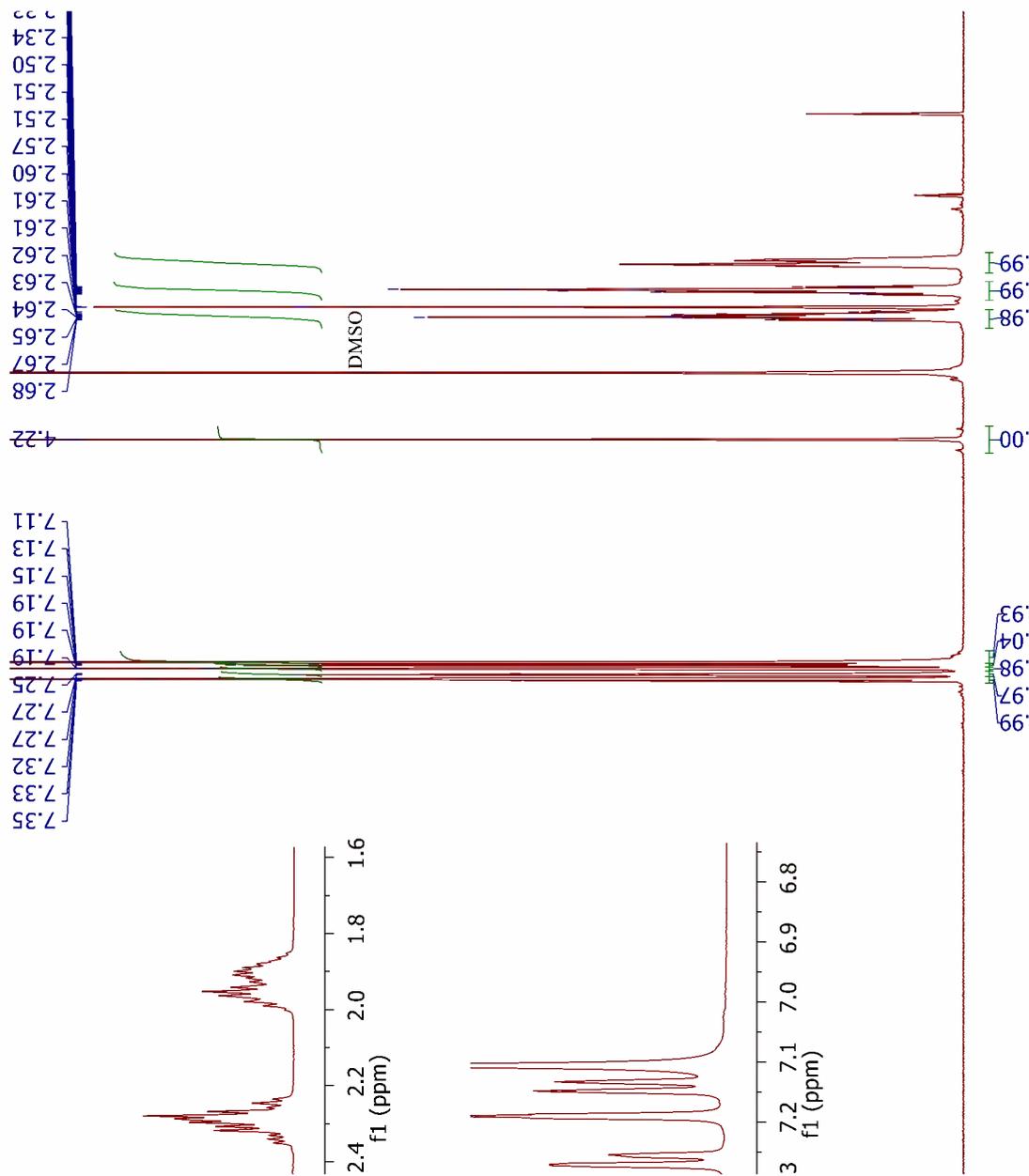
Retention Time : 1.528
Compound Name : RT1.528



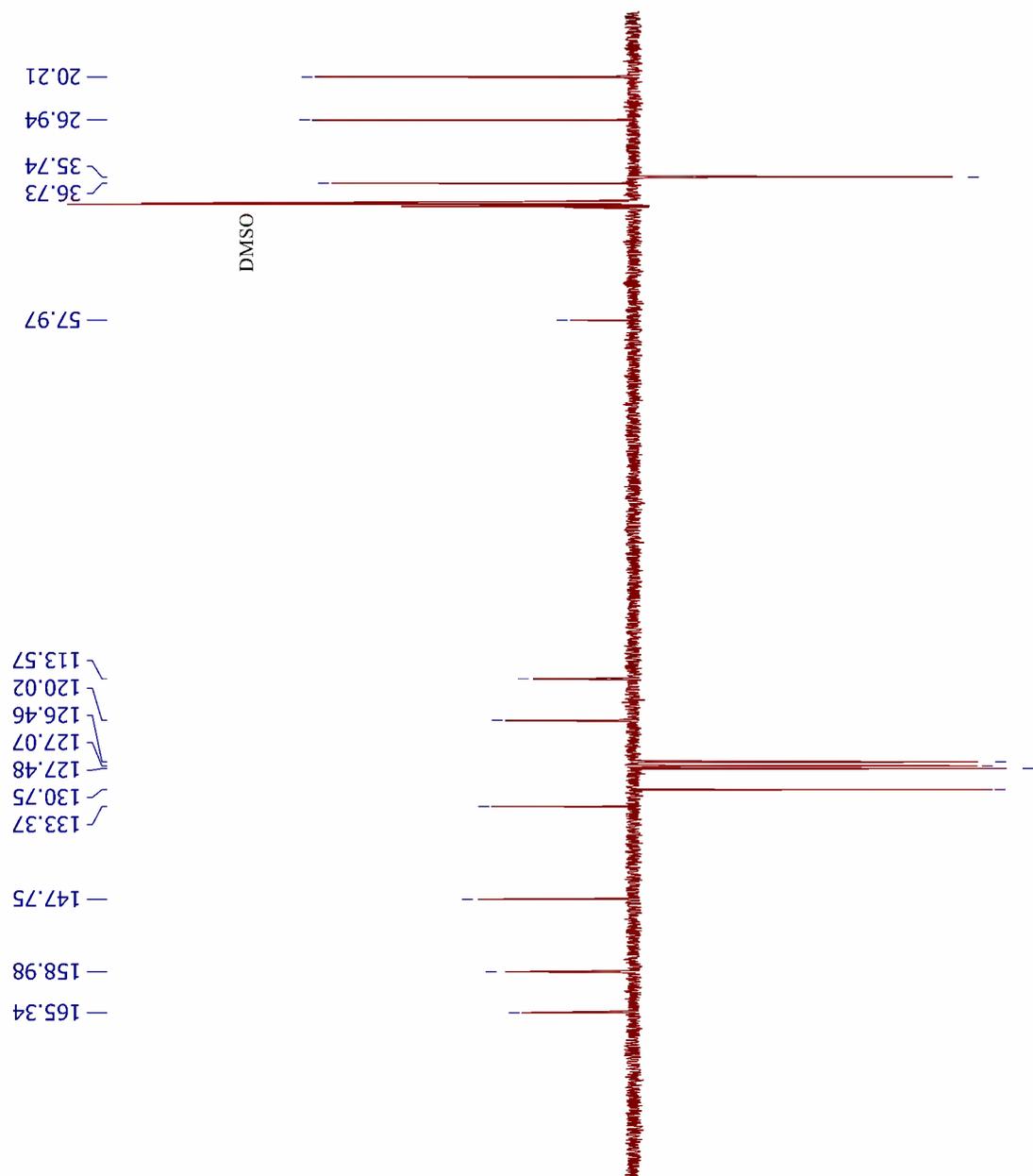
Anexo XXIII Espectro de IV da Molécula MCR 10



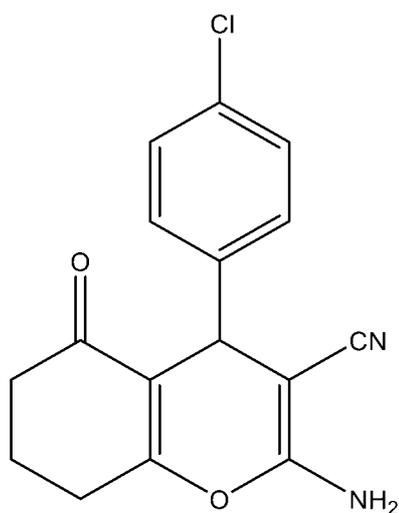
Anexo XXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 10



Anexo XXV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 10



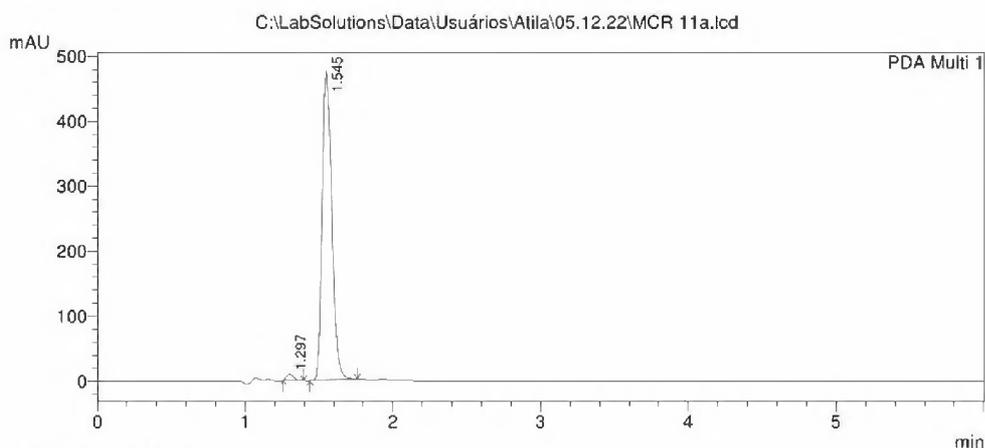
Anexo XXVI Molécula MCR 11



Anexo XXVII HPLC da Molécula MCR 11

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 11a.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 11a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20uL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:08:57
 Data Processed : 6/12/2022 08:23:03



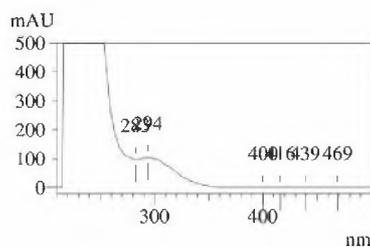
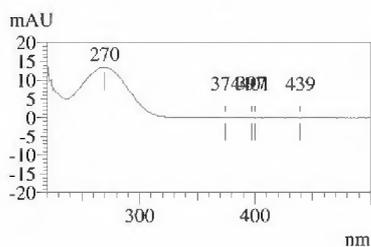
1 PDA Multi 1/254nm 4nm

PeakTable

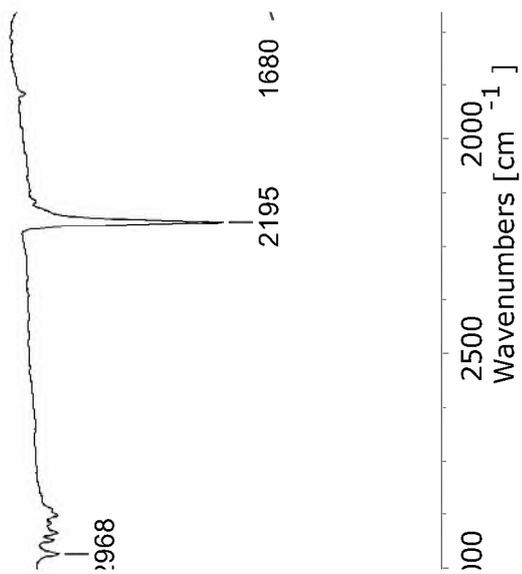
| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.297 | 1.535 |
| 2 | 1.545 | 98.465 |
| Total | | 100.000 |

Retention Time : 1.297
 Compound Name : RT1.297

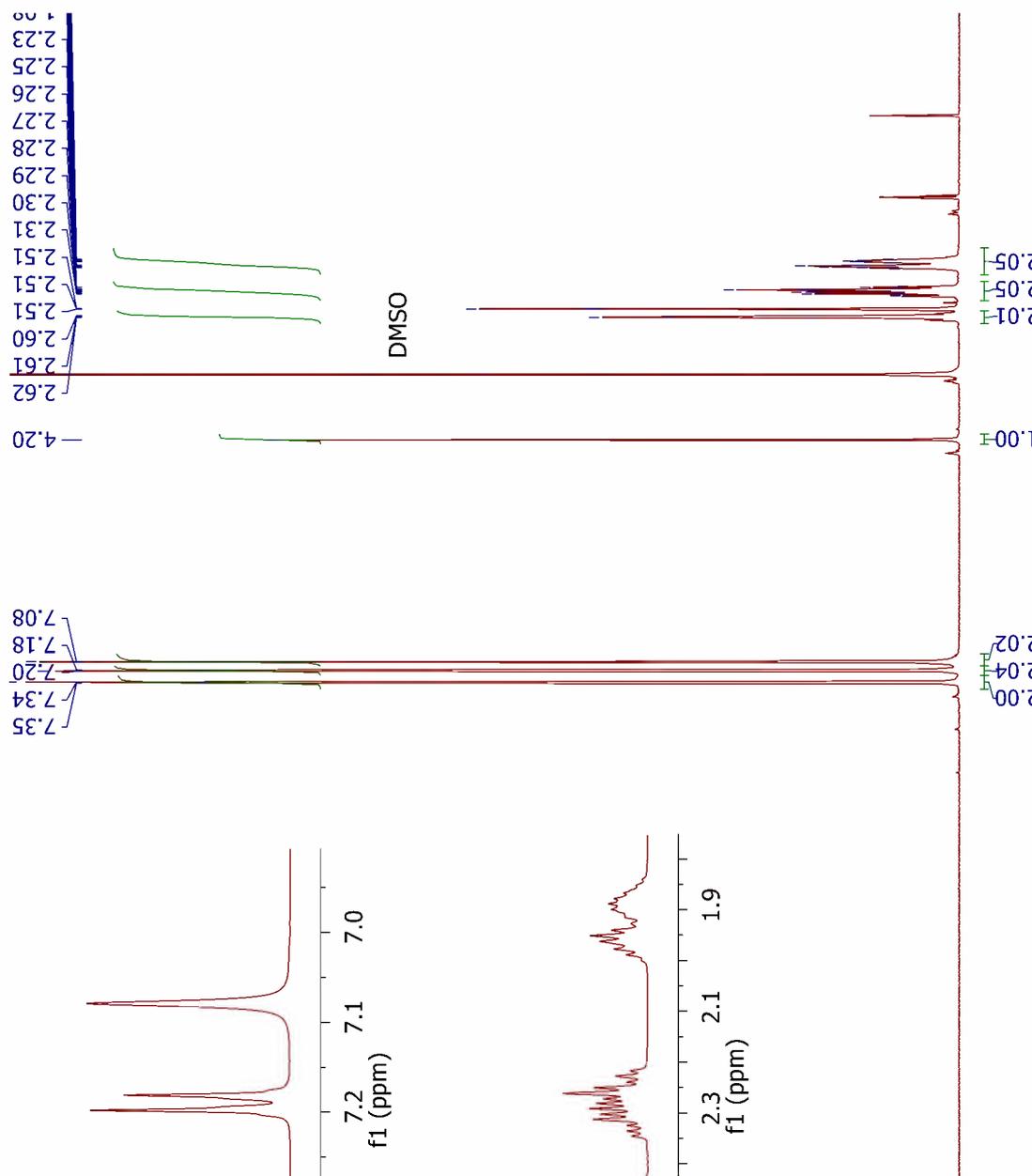
Retention Time : 1.545
 Compound Name : RT1.545



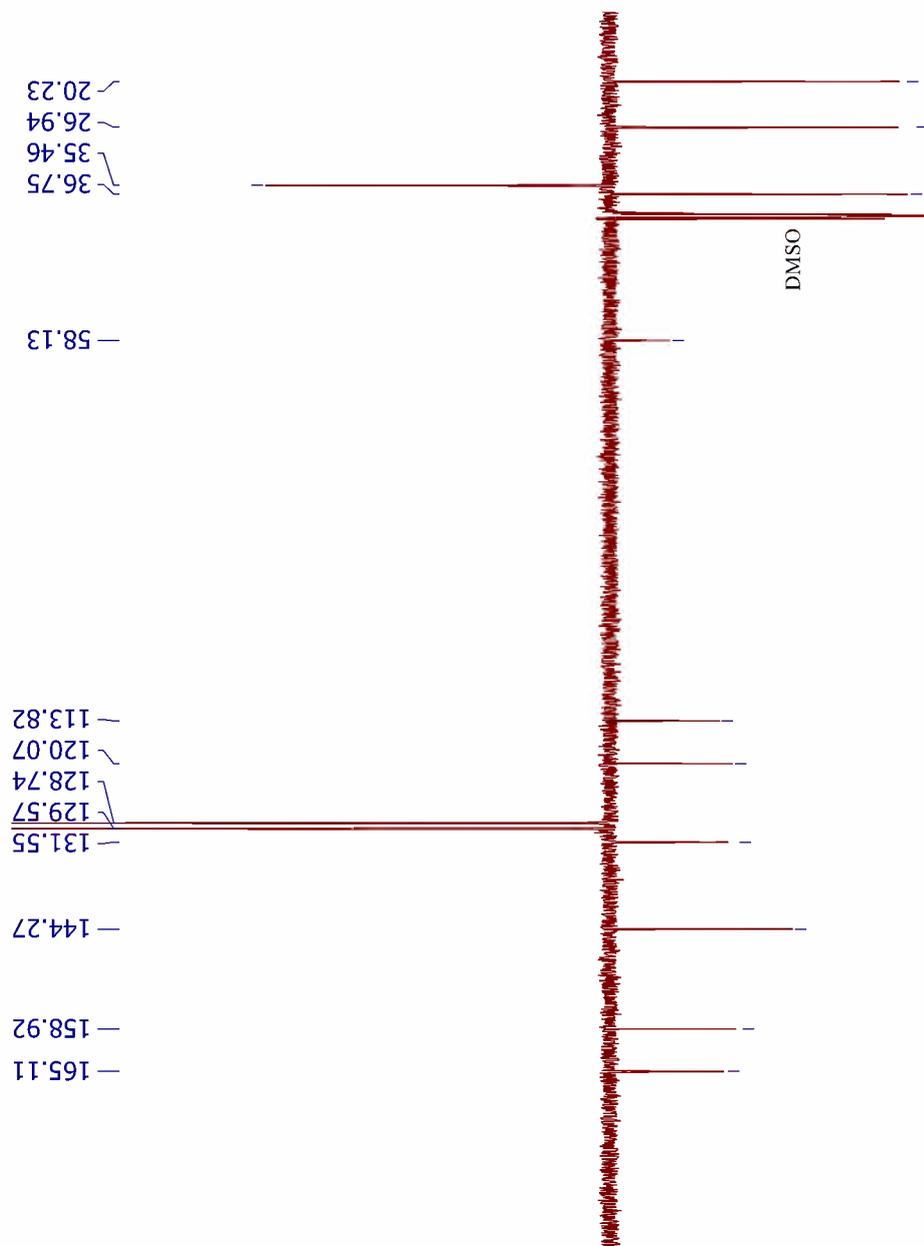
Anexo XXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 11



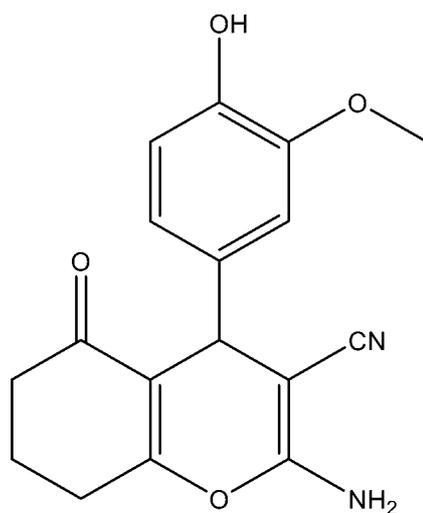
Anexo XXIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 11



Anexo XXX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 11



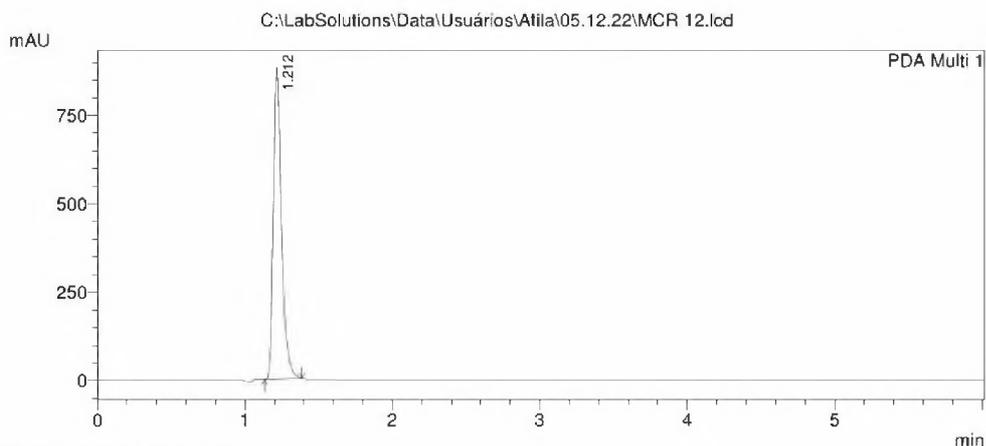
Anexo XXXI Molécula MCR 12



Anexo XXXII HPLC da Molécula MCR 12

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 12.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 12.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C-18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:29:30
 Data Processed : 6/12/2022 08:35:33

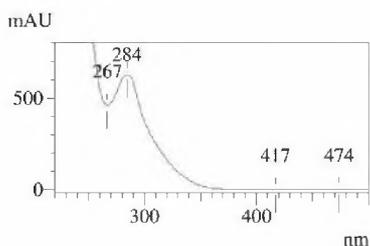


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

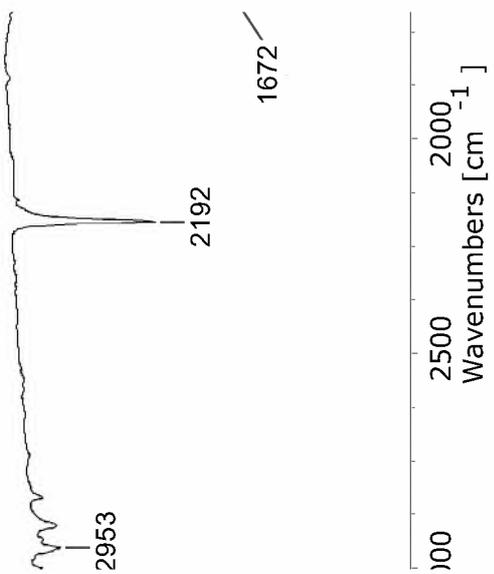
PeakTable

| PDA Ch1 254nm 4nm | | |
|-------------------|-----------|---------|
| Peak# | Ret. Time | Area % |
| 1 | 1.212 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

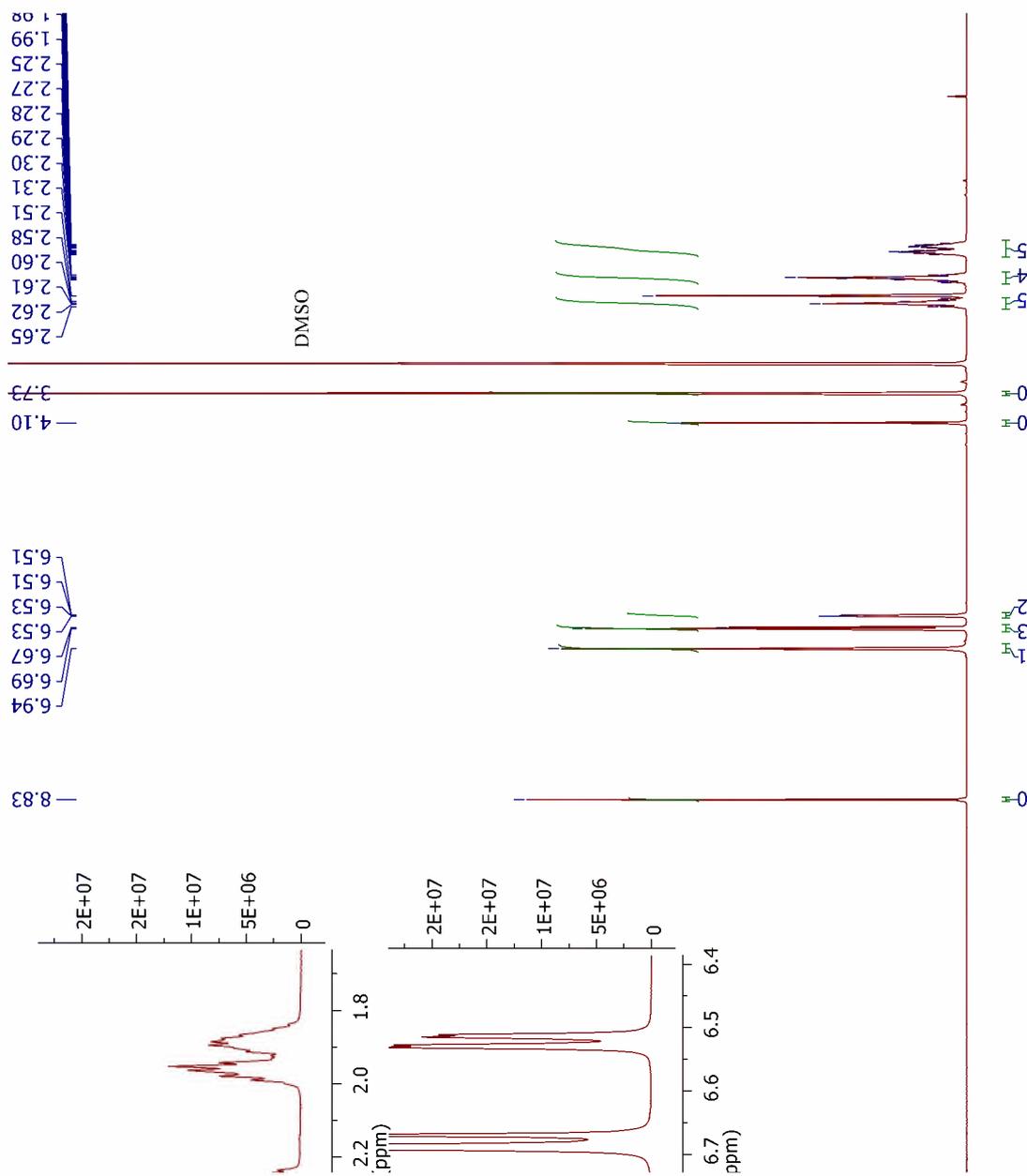
Retention Time : 1.212
 Compound Name : RT1.212



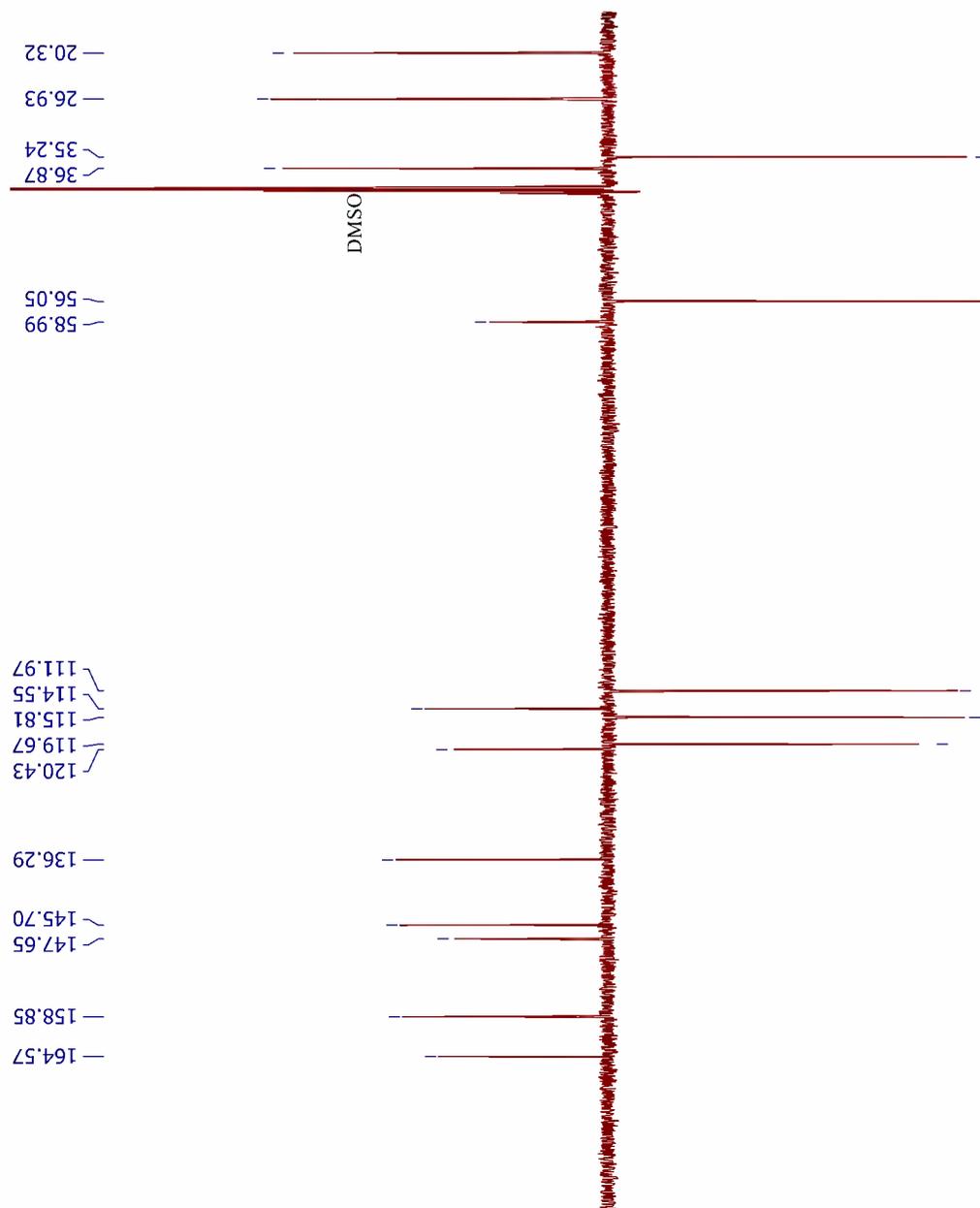
Anexo XXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 12



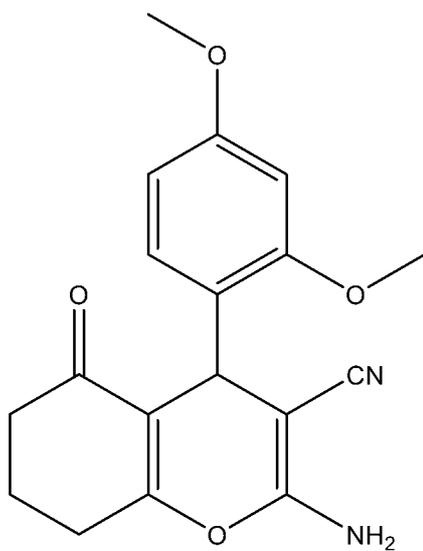
Anexo XXXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 12



Anexo XXXV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 12



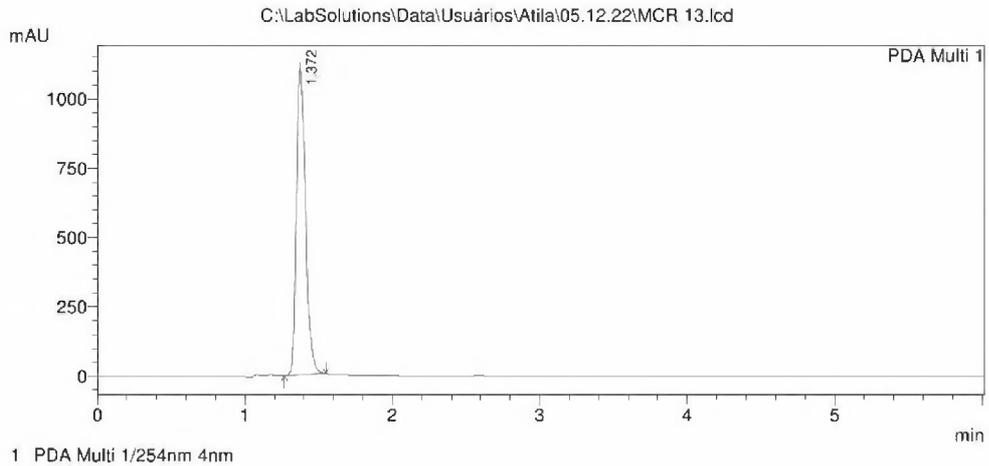
Anexo XXXVI Molécula MCR 13



Anexo XXXVII HPLC da Molécula MCR 13

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 13.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 13.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20uL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:36:51
 Data Processed : 6/12/2022 09:08:55

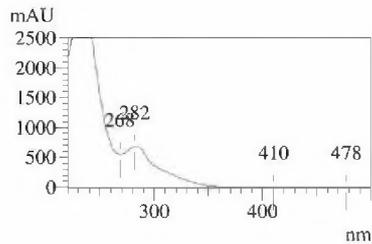


PeakTable

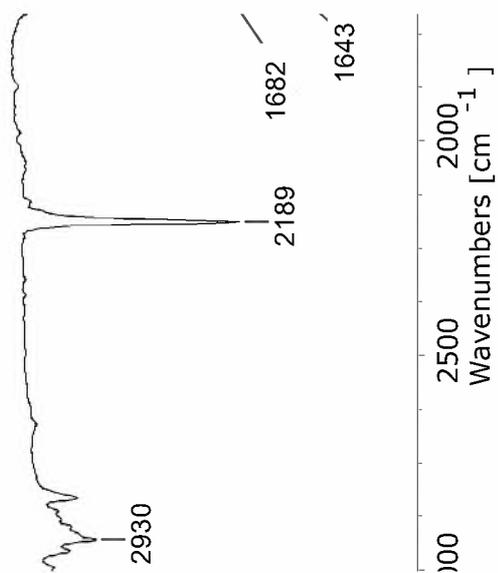
PDA Ch1 254nm 4nm

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.372 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

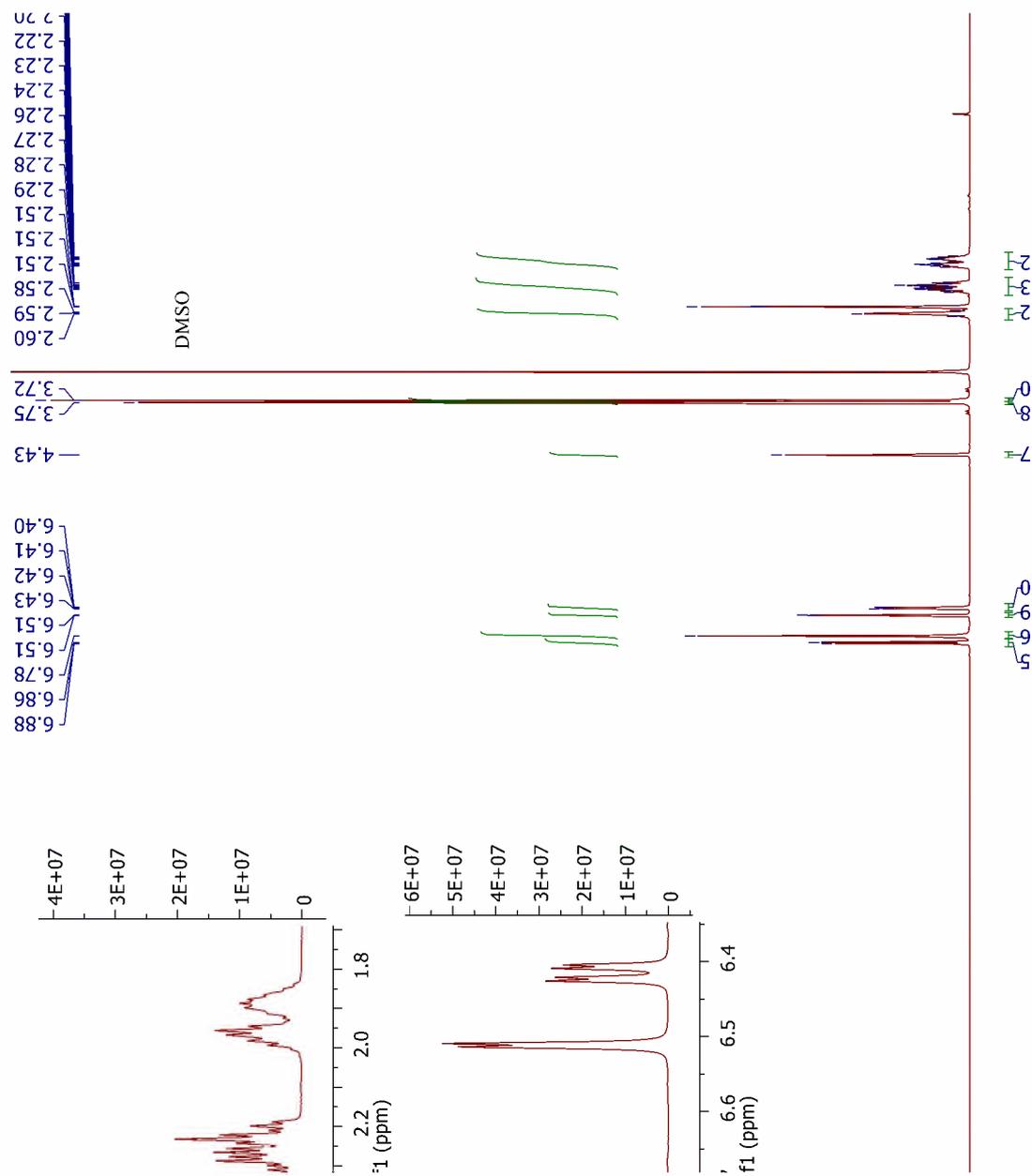
Retention Time : 1.372
 Compound Name : RT1.372



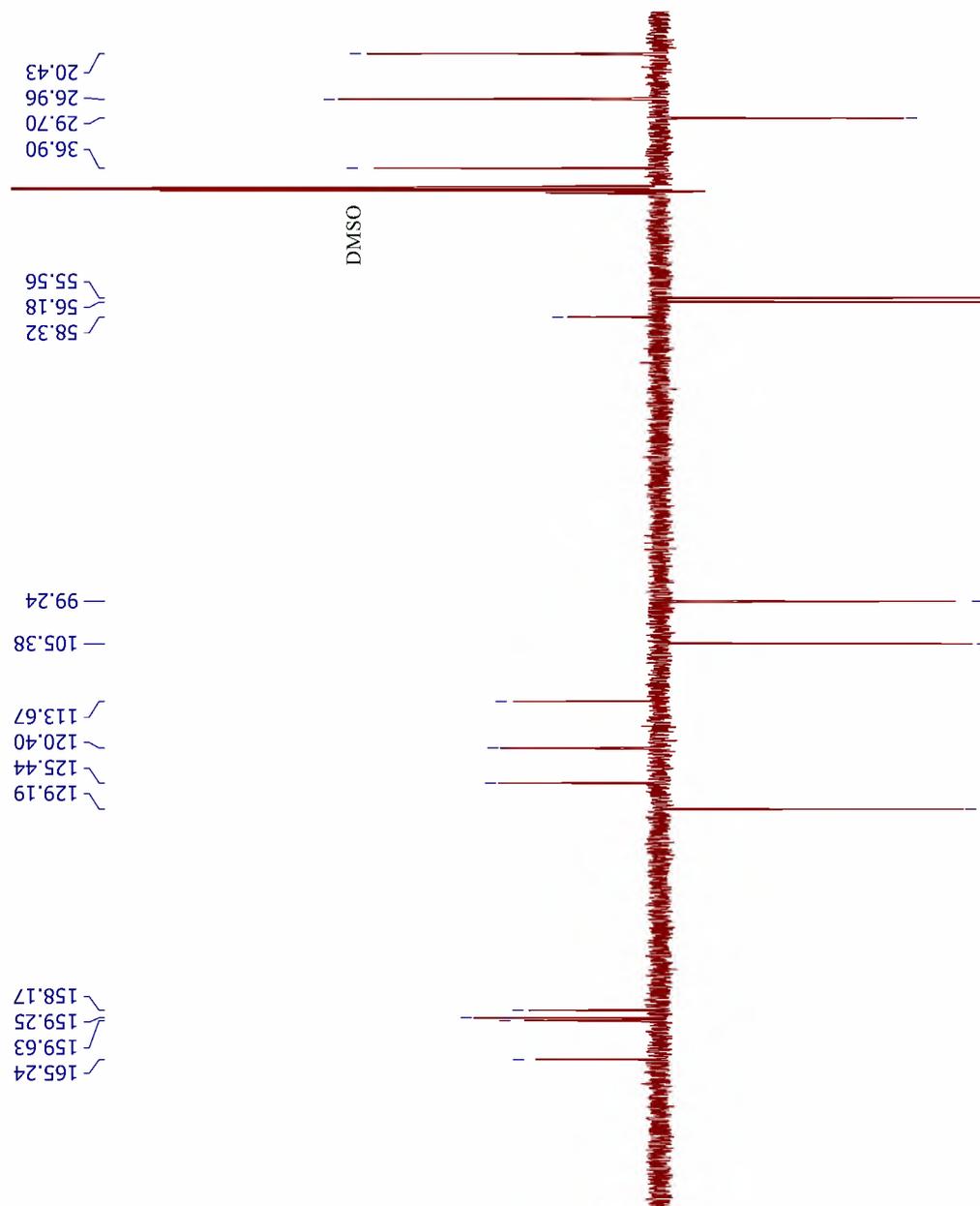
Anexo XXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 13



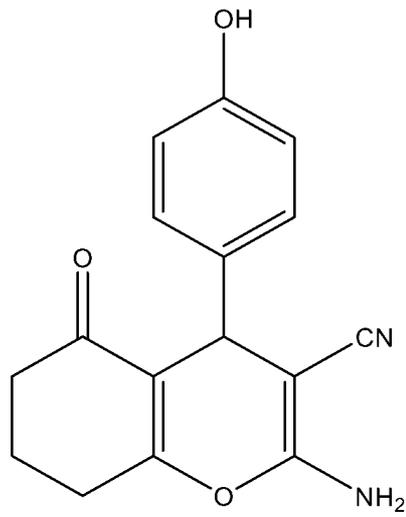
Anexo XXXIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 13



Anexo XL Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 13



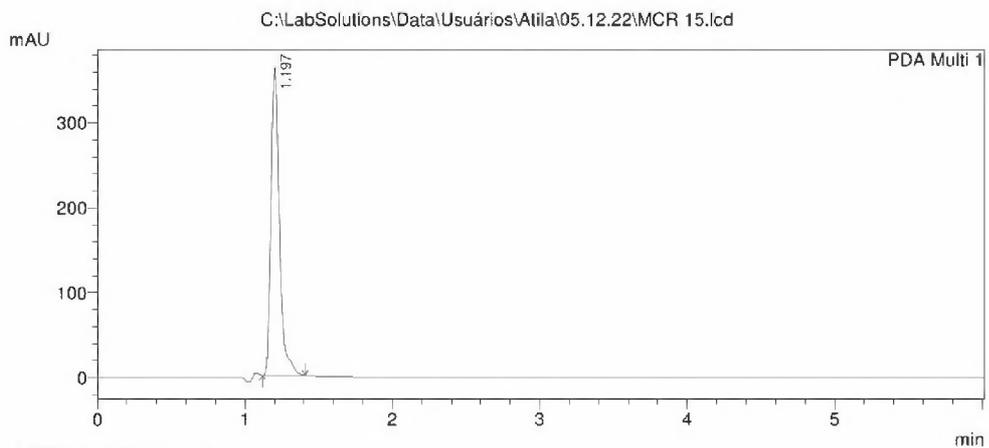
Anexo XLI Molécula MCR 15



Anexo XLII HPLC da Molécula MCR 15

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 15.lcd

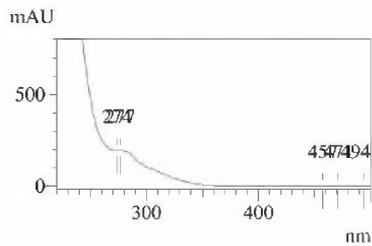
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 15.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:44:12
 Data Processed : 6/12/2022 09:10:17



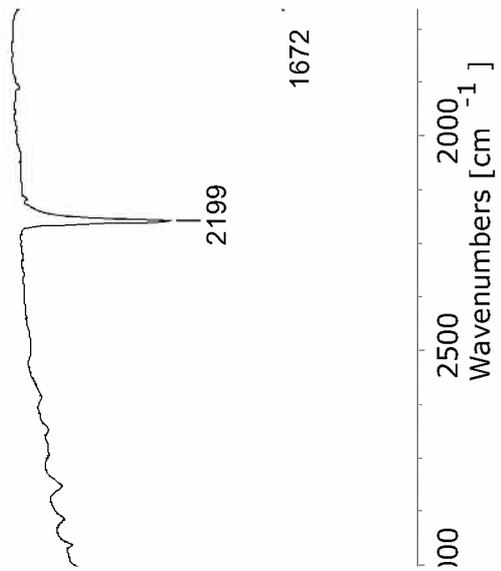
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.197 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

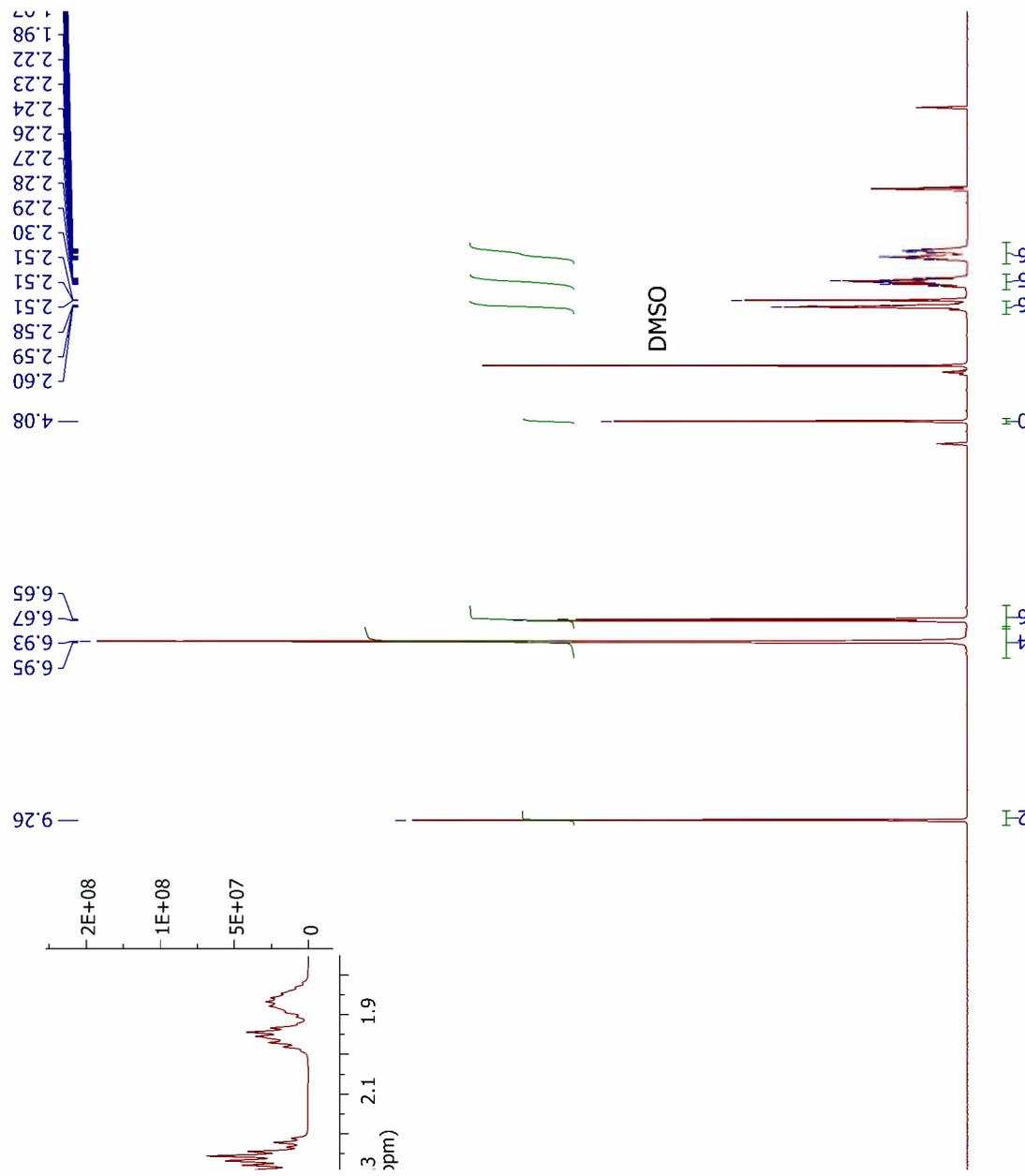
Retention Time : 1.197
 Compound Name : RT1.197



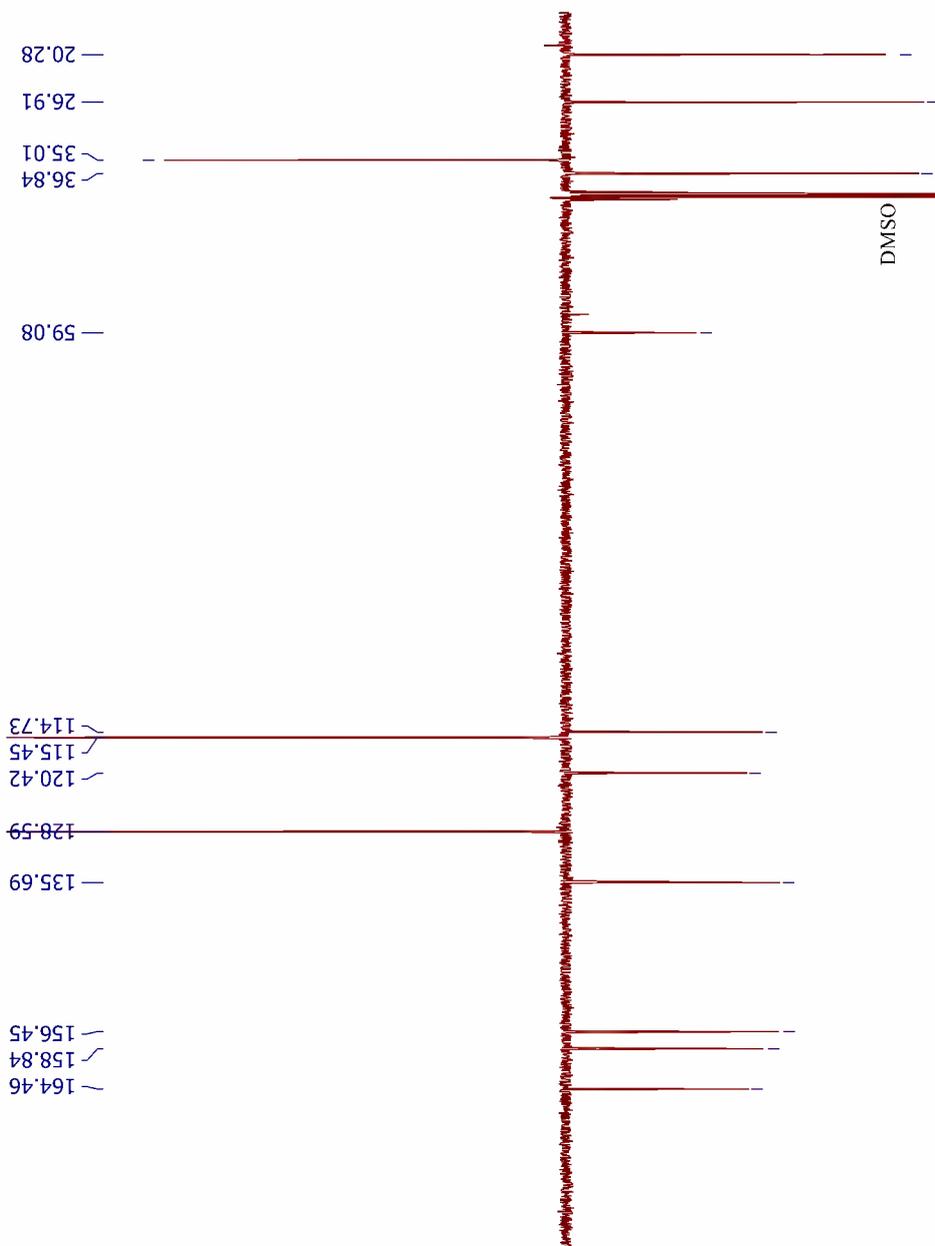
Anexo XLIII Espectro de IV da Molécula MCR 15



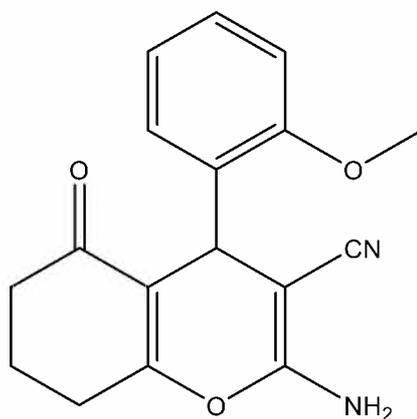
Anexo XLIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 15



Anexo XLV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 15



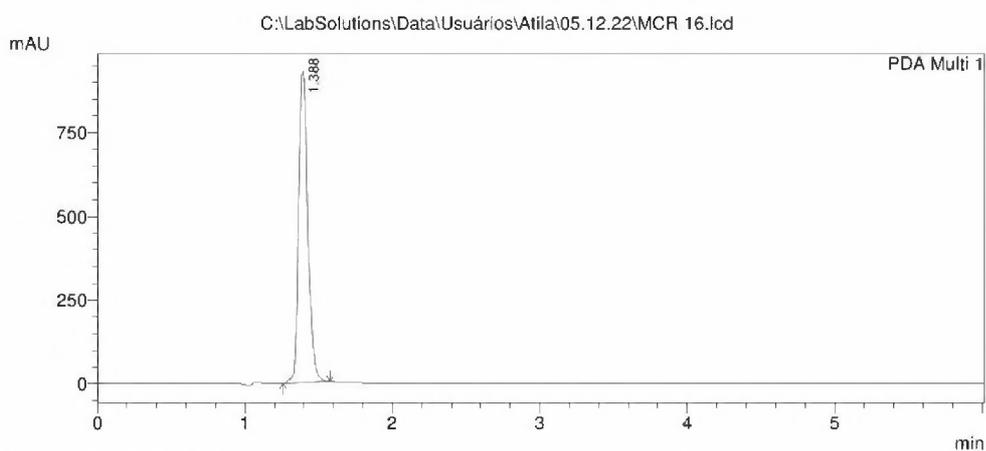
Anexo XLVI Molécula MCR 16



Anexo XLVII HPLC da Molécula MCR 16

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 16.lcd

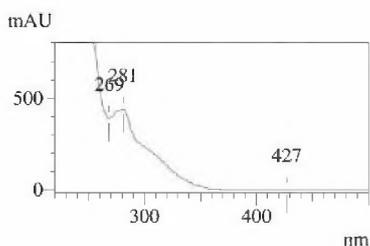
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 16.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C-18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:51:30
 Data Processed : 6/12/2022 09:11:51



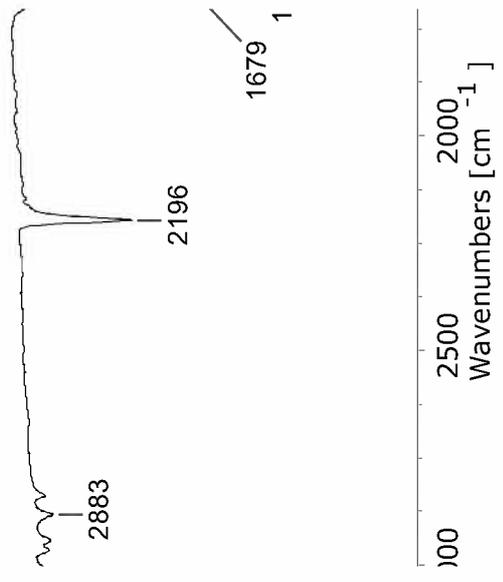
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.388 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

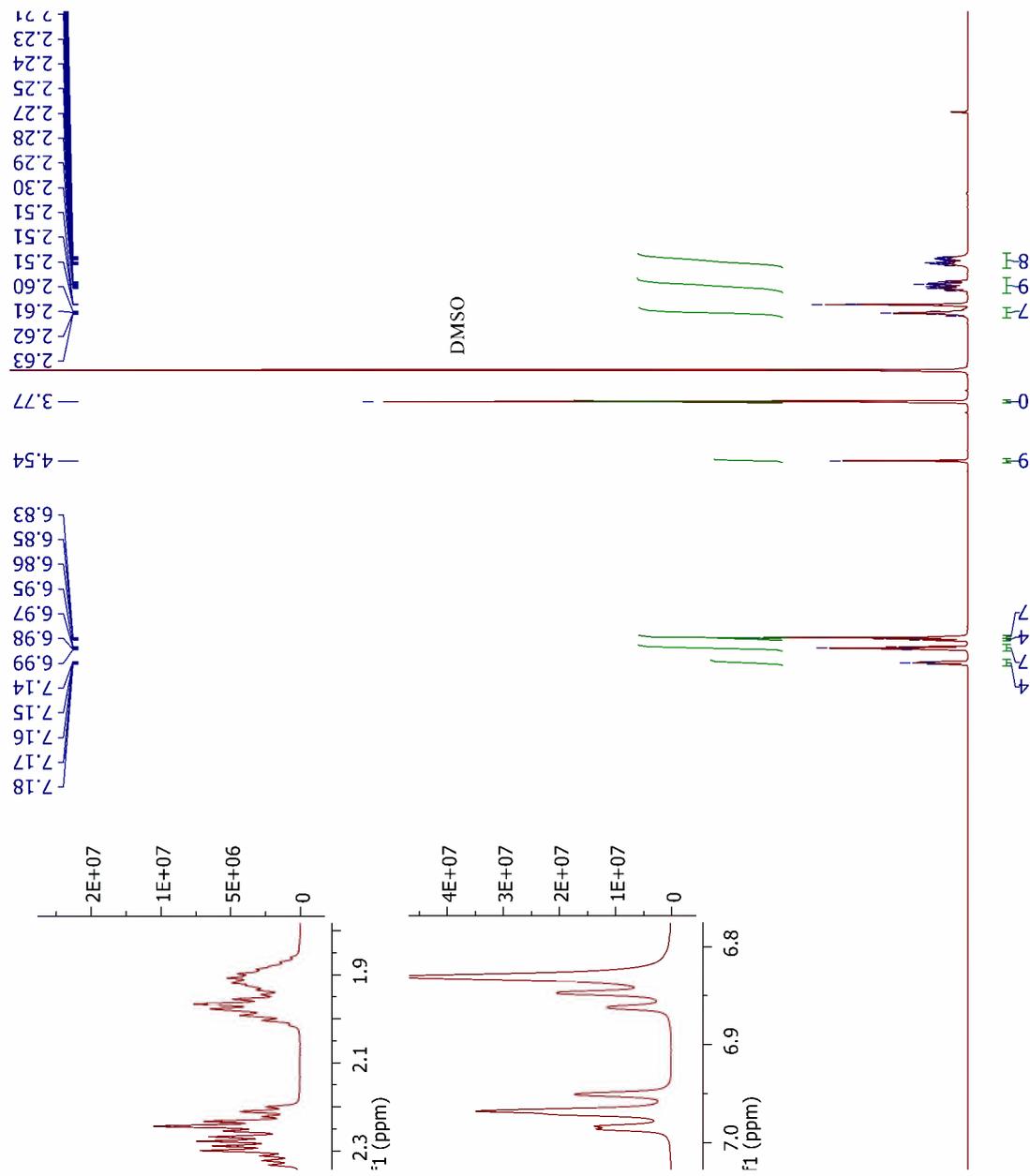
Retention Time : 1.388
 Compound Name : RT1.388



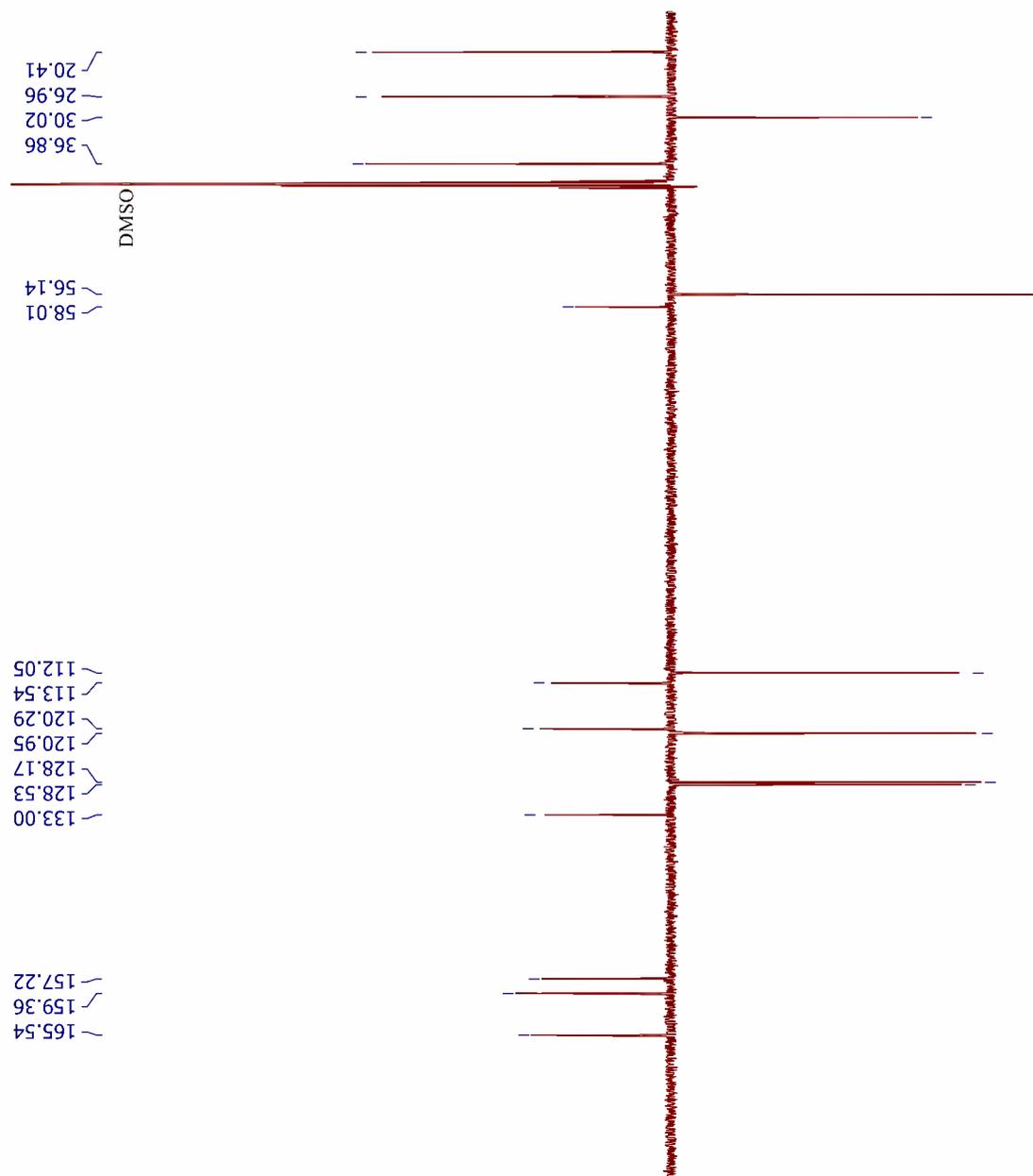
Anexo XLVIII Espectro de IV da Molécula MCR 16



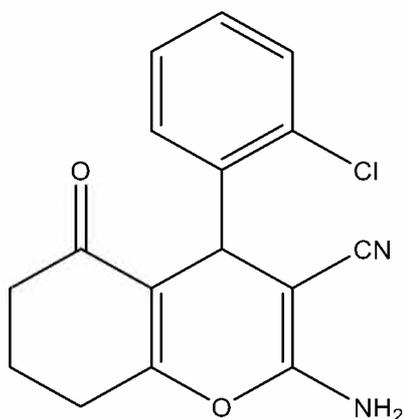
Anexo XLIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 16



Anexo L Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 16



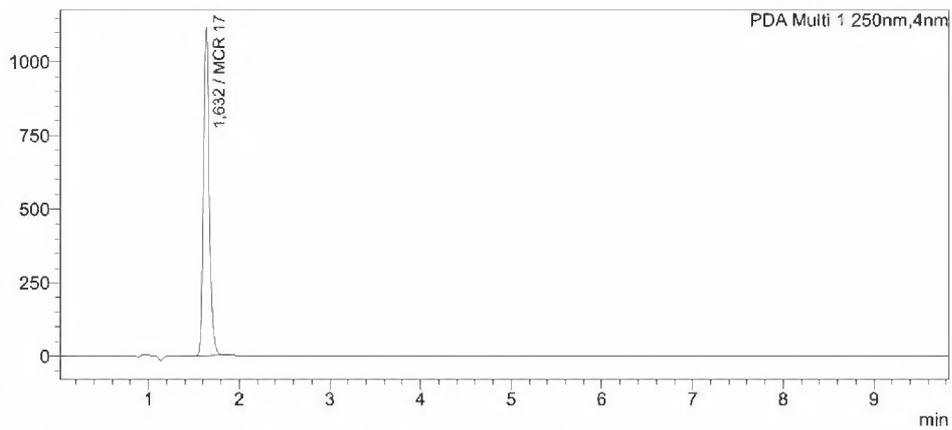
Anexo LI Molécula MCR 17



Anexo LII HPLC da Molécula MCR 17

Sample Name : MCR 17
 Data Filename : MCR 17a.lcd
 Method Filename : Metodo Sintese.lcm
 Injection Volume : 10 uL
 Date Acquired : 18/07/2023 10:13:49 Acquired by : ROSANE
 Date Processed : 18/07/2023 11:03:00
 HPLC Shimadzu LCMS 2020
 LC-20AD, SPD-M20A, CTO-20A, SIL-10AF-CBM-20A
 Metodo sINTESE
 Coluna Luna C18 (100mm x 4.6 mm x 5Um) -Phenomenex
 B:ACN- 1% (60%) :40% H2O (1 % AcOH)
 Fluxo 1.0 mL/min -Pressão 38kgf/cm2
 Forno 40C- PDA- 200-600nm
 Volume 10uL- 10min

mAU

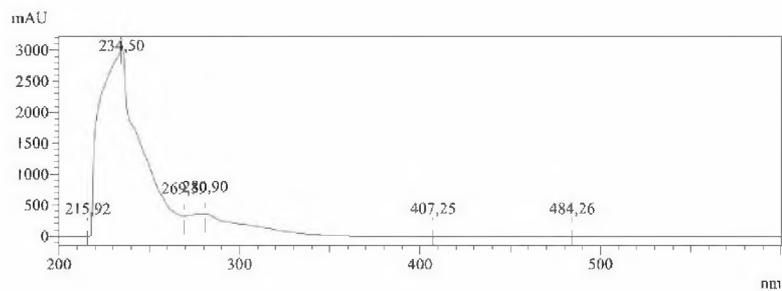


Peak Table

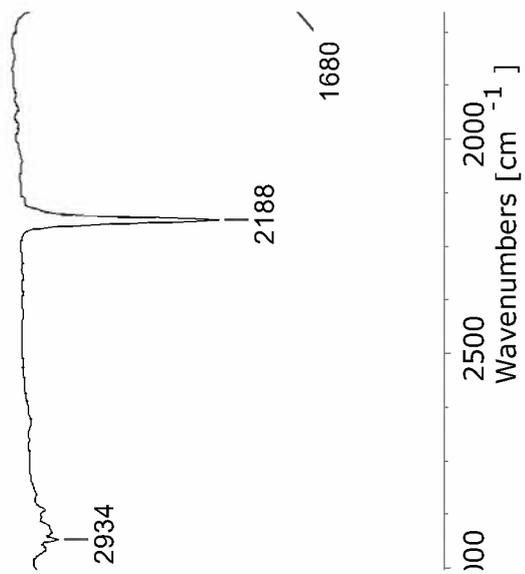
| Peak# | Ret. Time | Area | Height | Conc. | Name | Area% |
|-------|-----------|---------|---------|---------|--------|---------|
| 1 | 1.632 | 5161026 | 1112156 | 100,000 | MCR 17 | 100,000 |
| Total | | 5161026 | 1112156 | | | 100,000 |

UV Spectrum

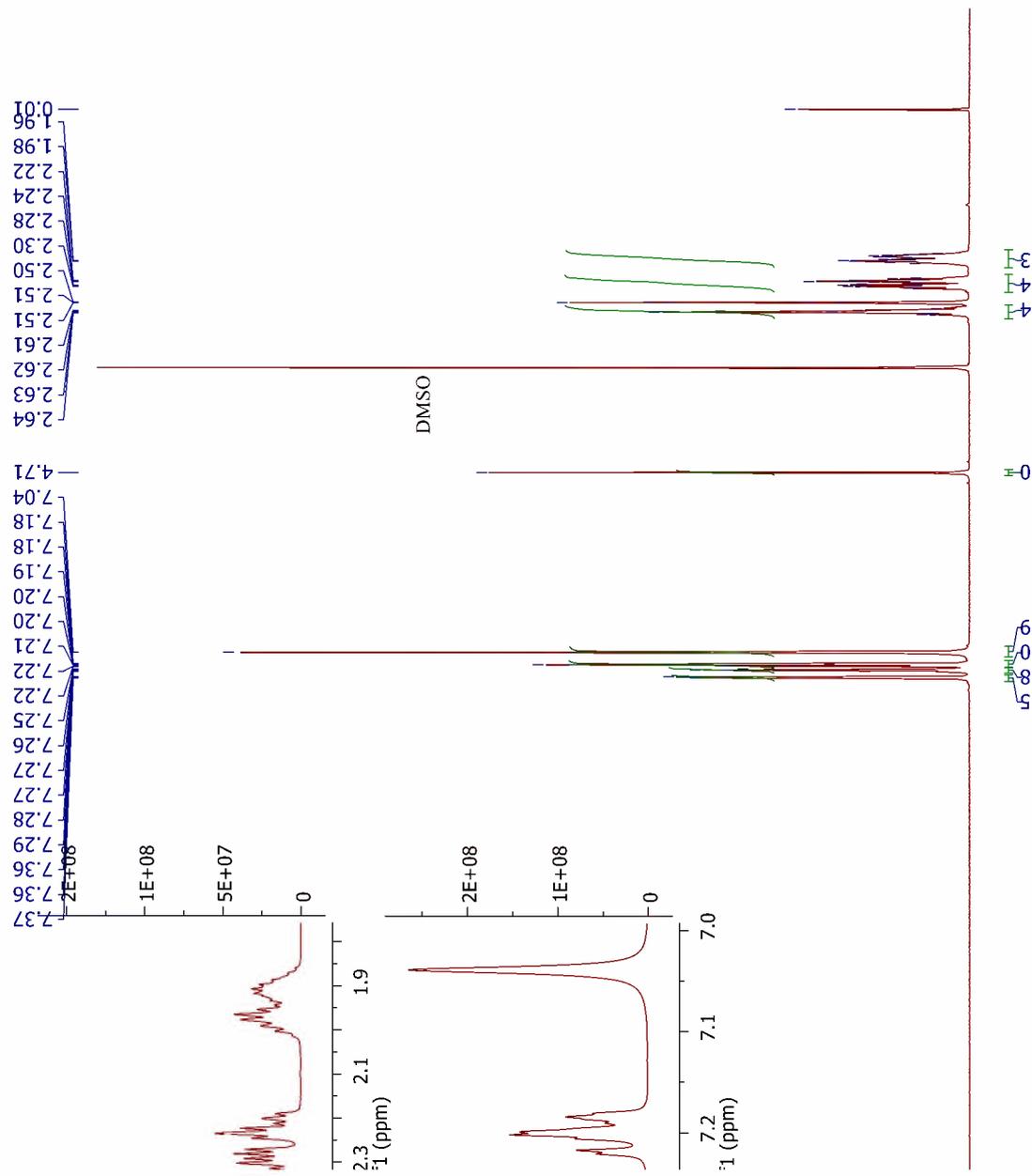
Retention Time : 1,632 min
 Compound Name : MCR 17



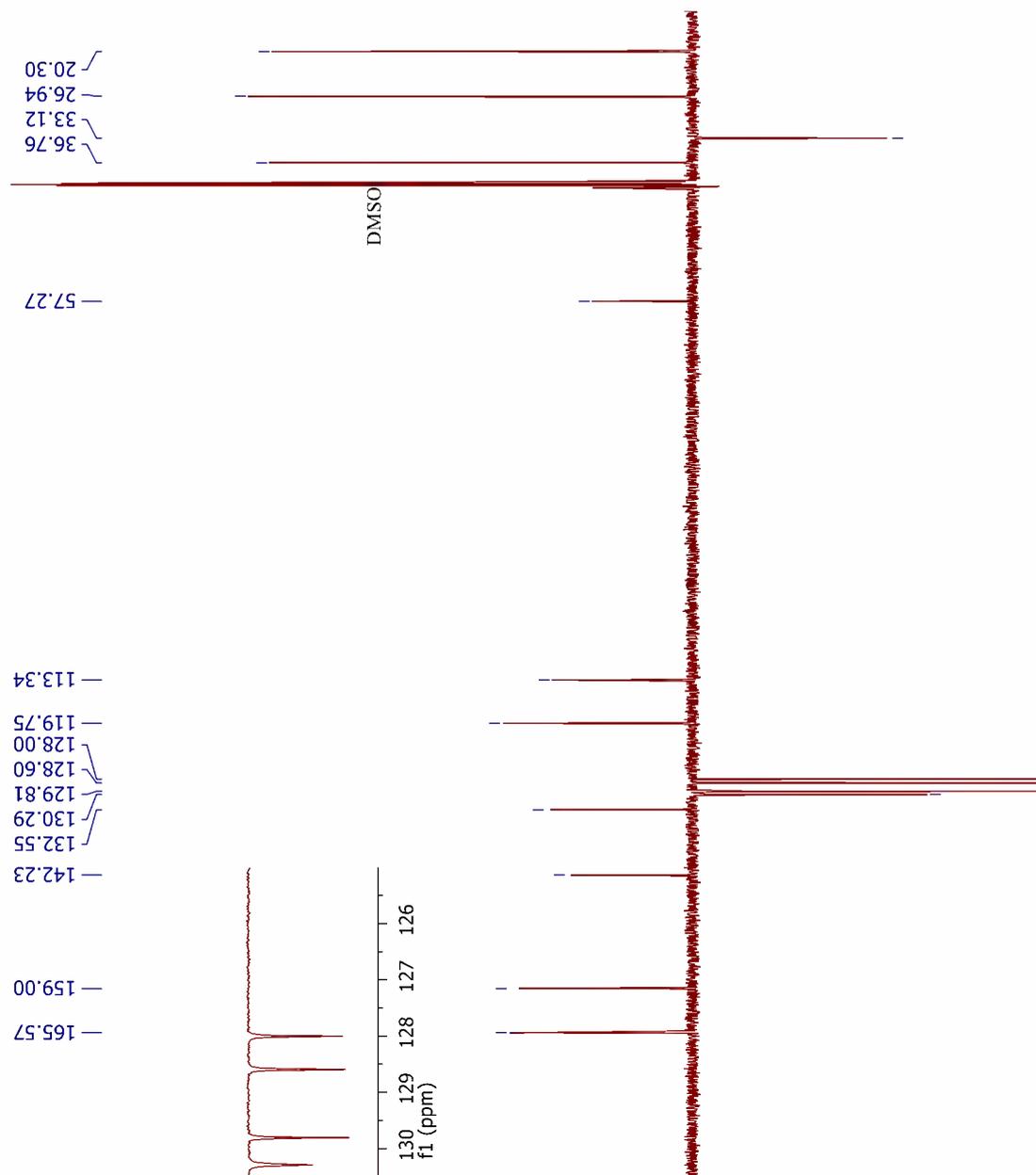
Anexo LIII Espectro de IV da Molécula MCR 17



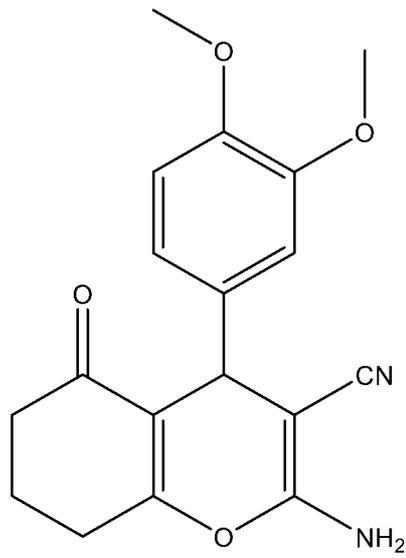
Anexo LIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 17



Anexo LV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 17



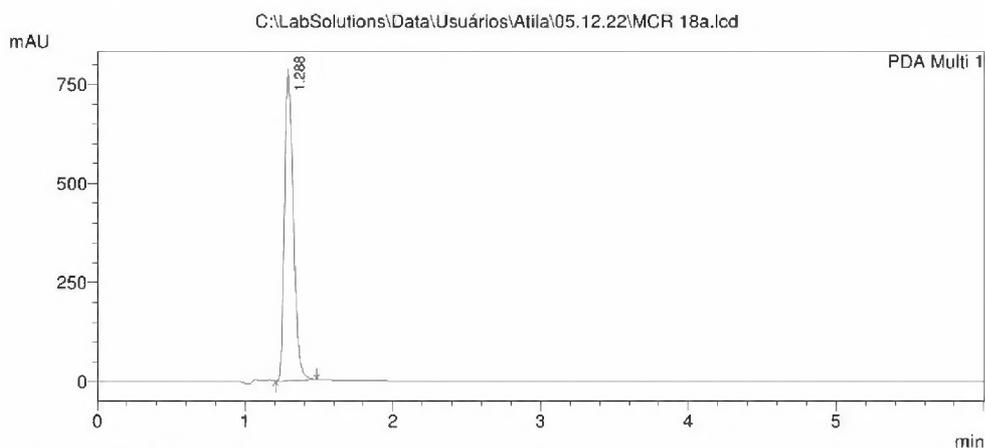
Anexo LVI Molécula MCR 18



Anexo LVII HPLC da Molécula MCR 18

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 18a.lcd

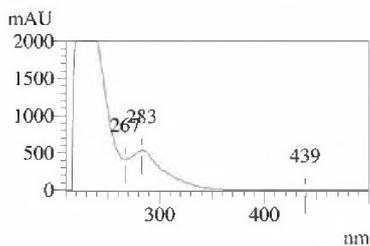
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 18a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:16:14
 Data Processed : 6/12/2022 08:19:15



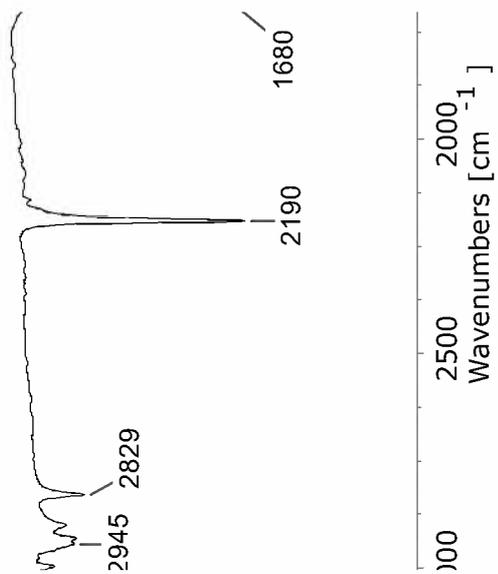
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.288 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

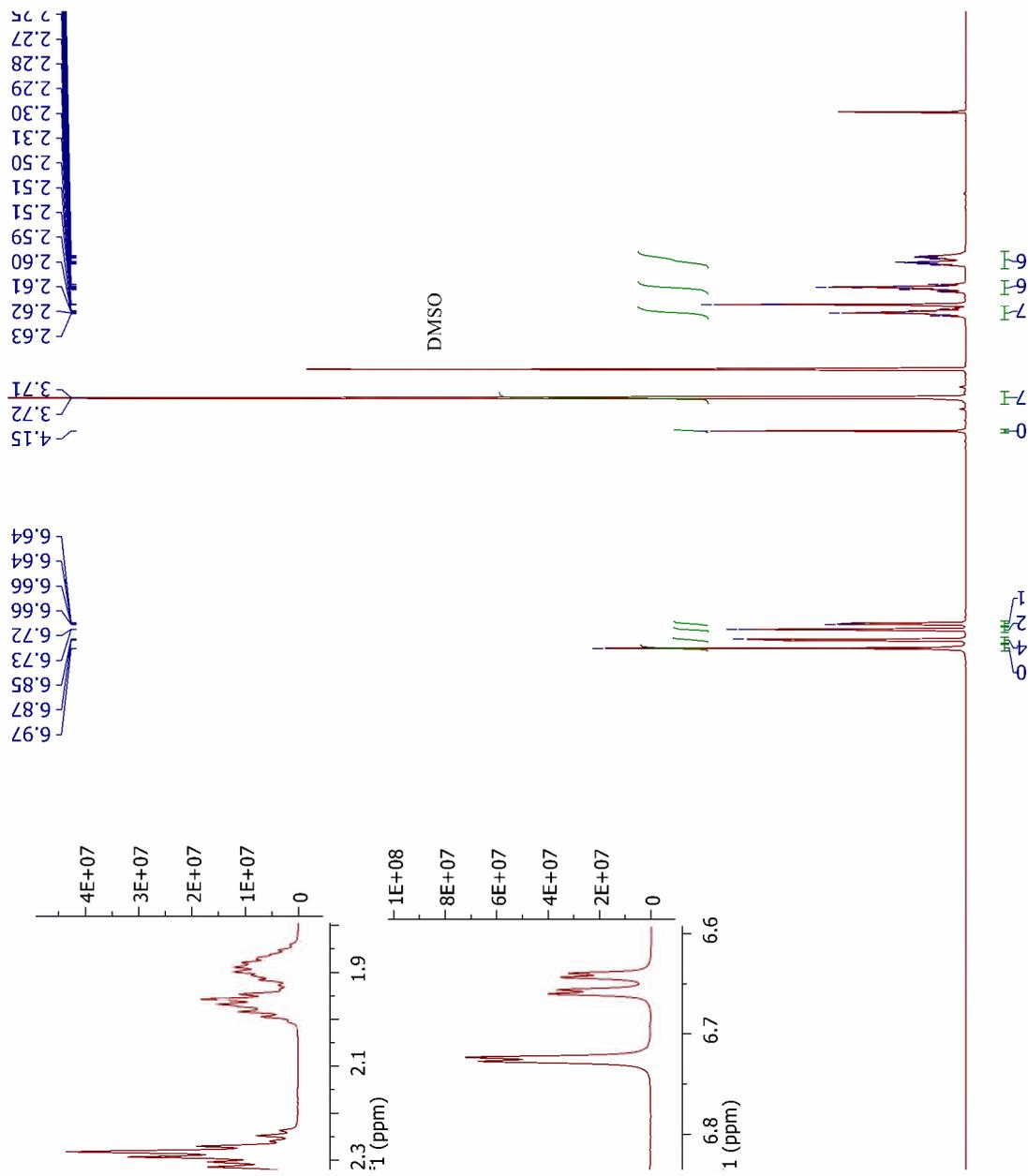
Retention Time : 1.288
 Compound Name : RT1.288



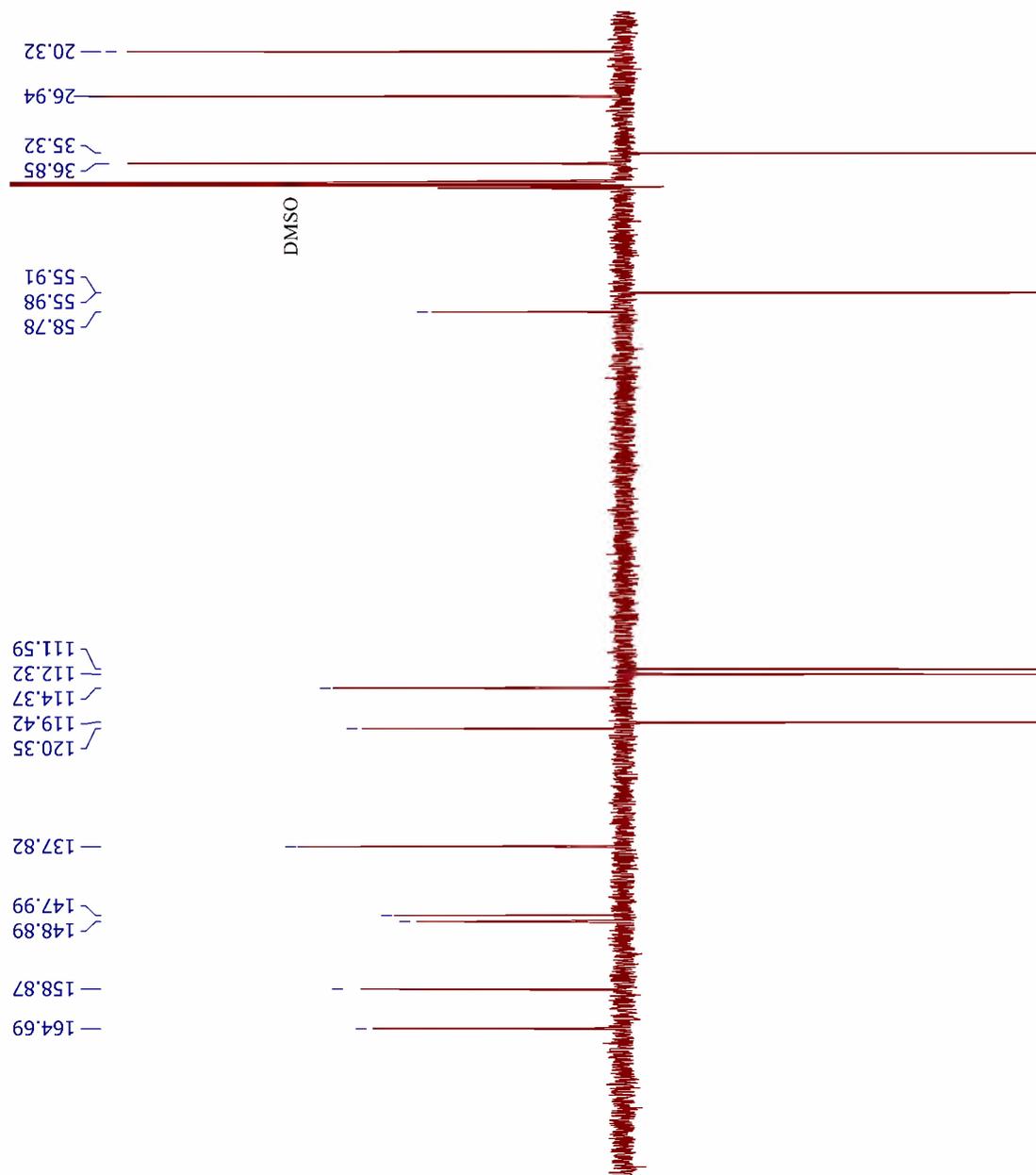
Anexo LVIII Espectro de IV da Molécula MCR 18



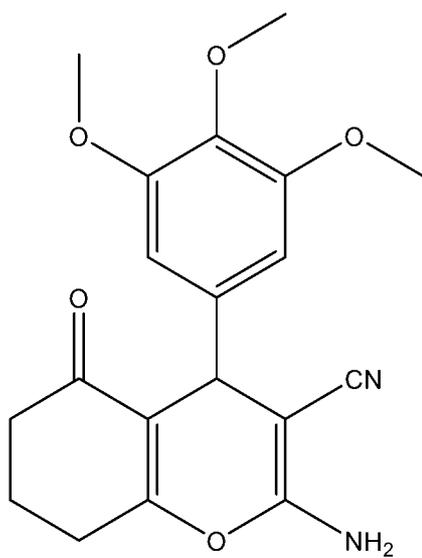
Anexo LIX Espectro de RM ¹H da Molécula MCR 18



Anexo LX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 18



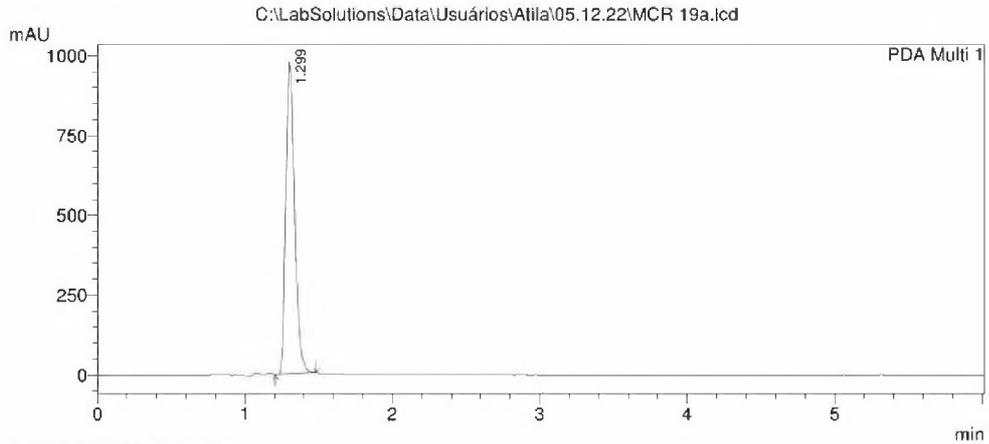
Anexo LXI Molécula MCR 19



Anexo LXII HPLC da Molécula MCR 19

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 19a.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 19a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:23:32
 Data Processed : 6/12/2022 08:10:26

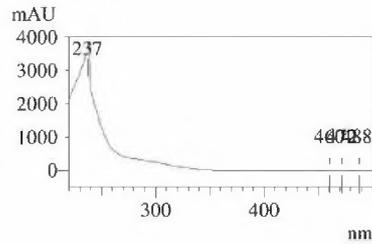


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

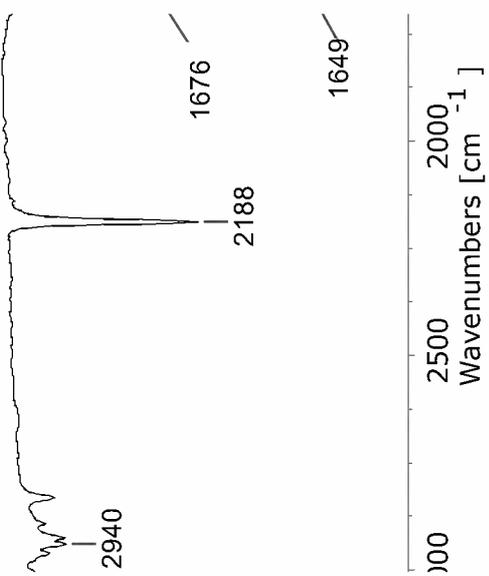
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.299 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

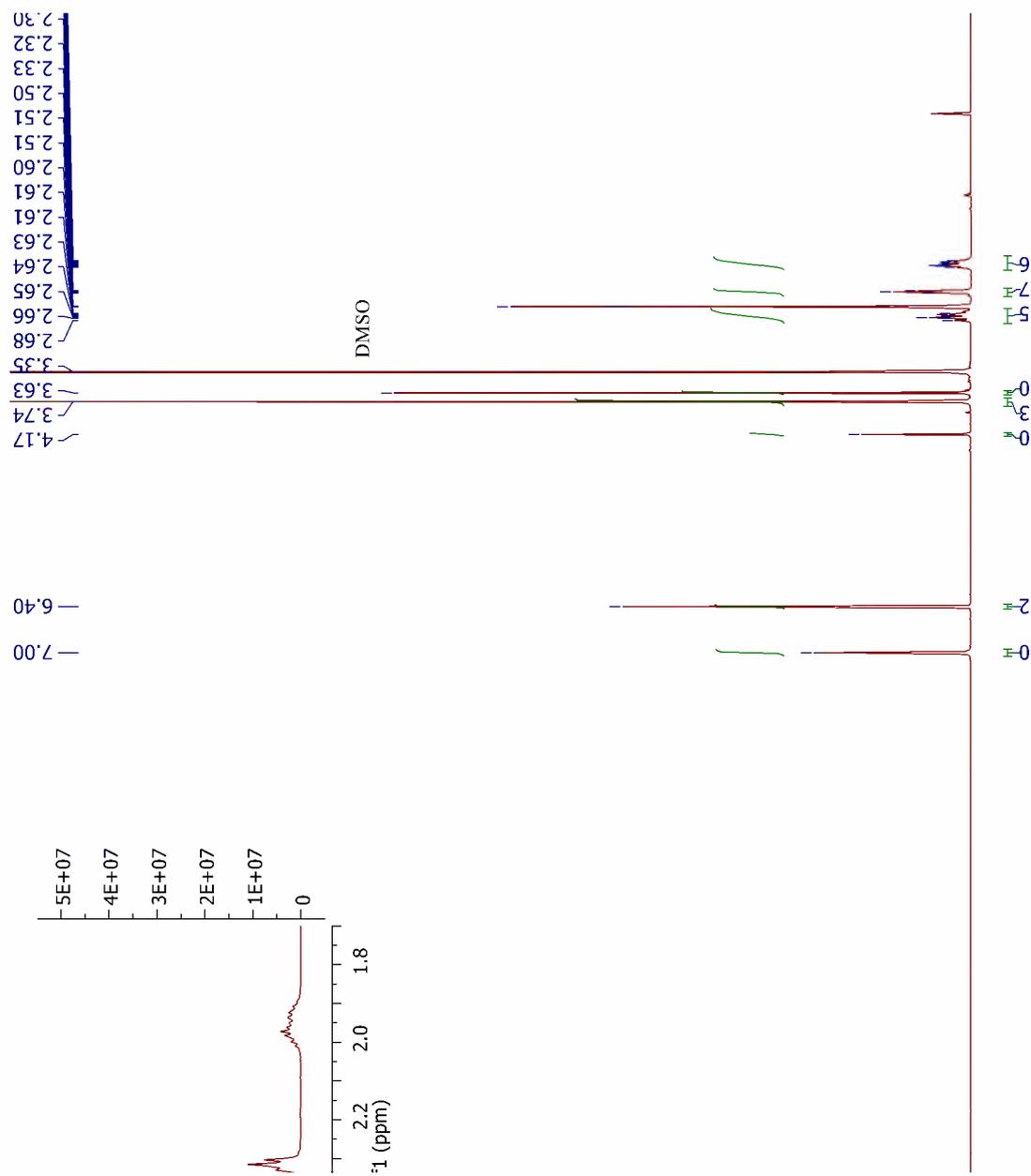
Retention Time : 1.299
Compound Name : RT1.299



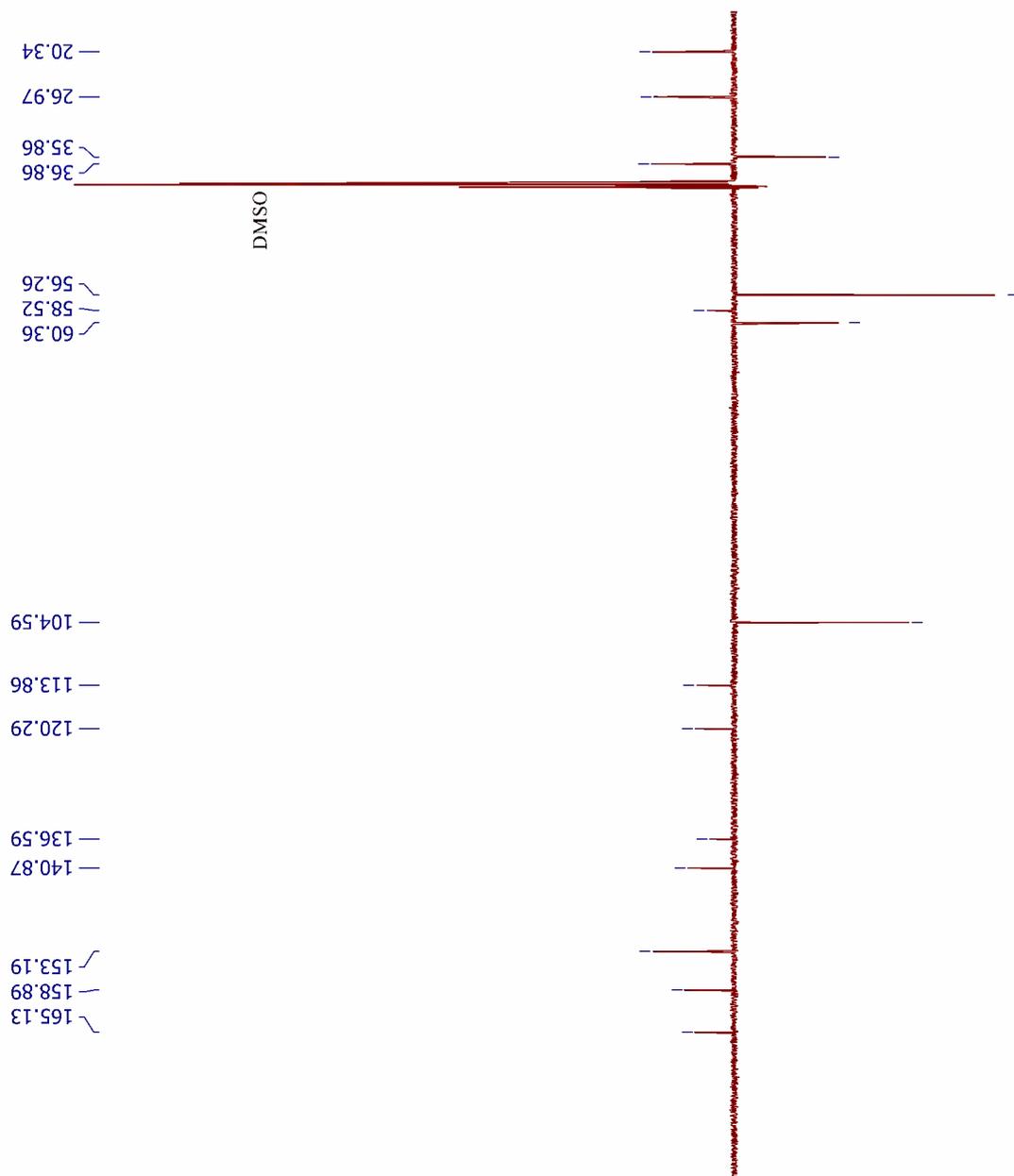
Anexo LXIII Espectro de IV da Molécula MCR 19



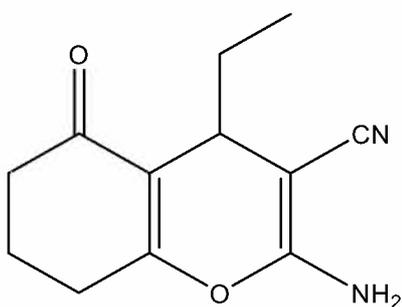
Anexo LXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 19



Anexo LXV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 19



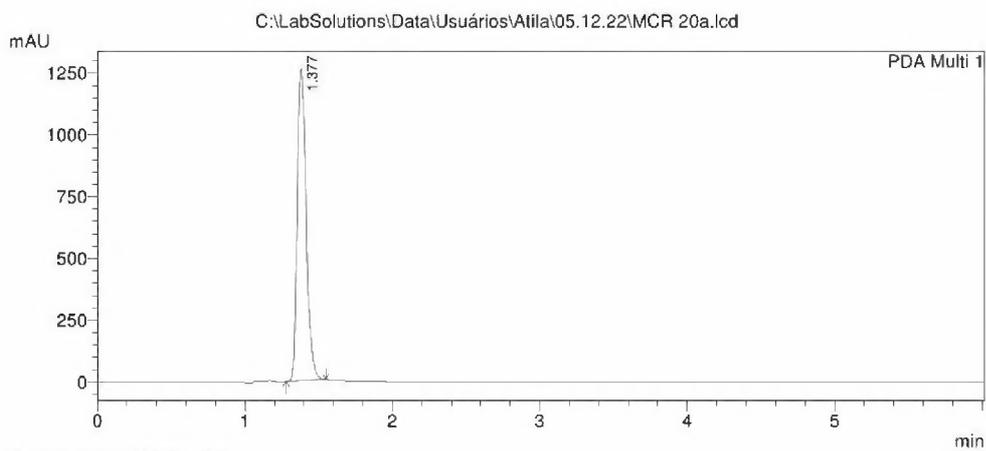
Anexo LXVI Molécula MCR 20



Anexo LXVII HPLC da Molécula MCR 20

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 20a.lcd

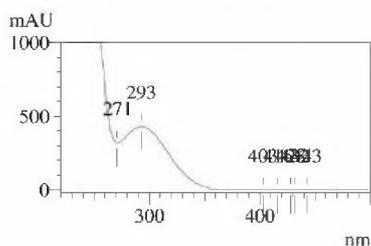
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 20a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:30:50
 Data Processed : 6/12/2022 07:36:53



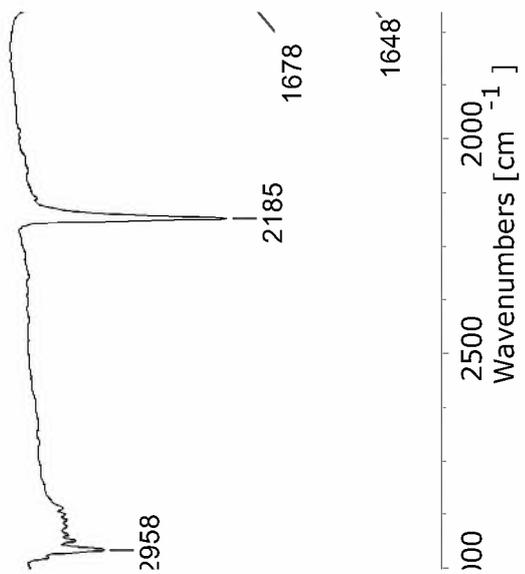
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.377 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

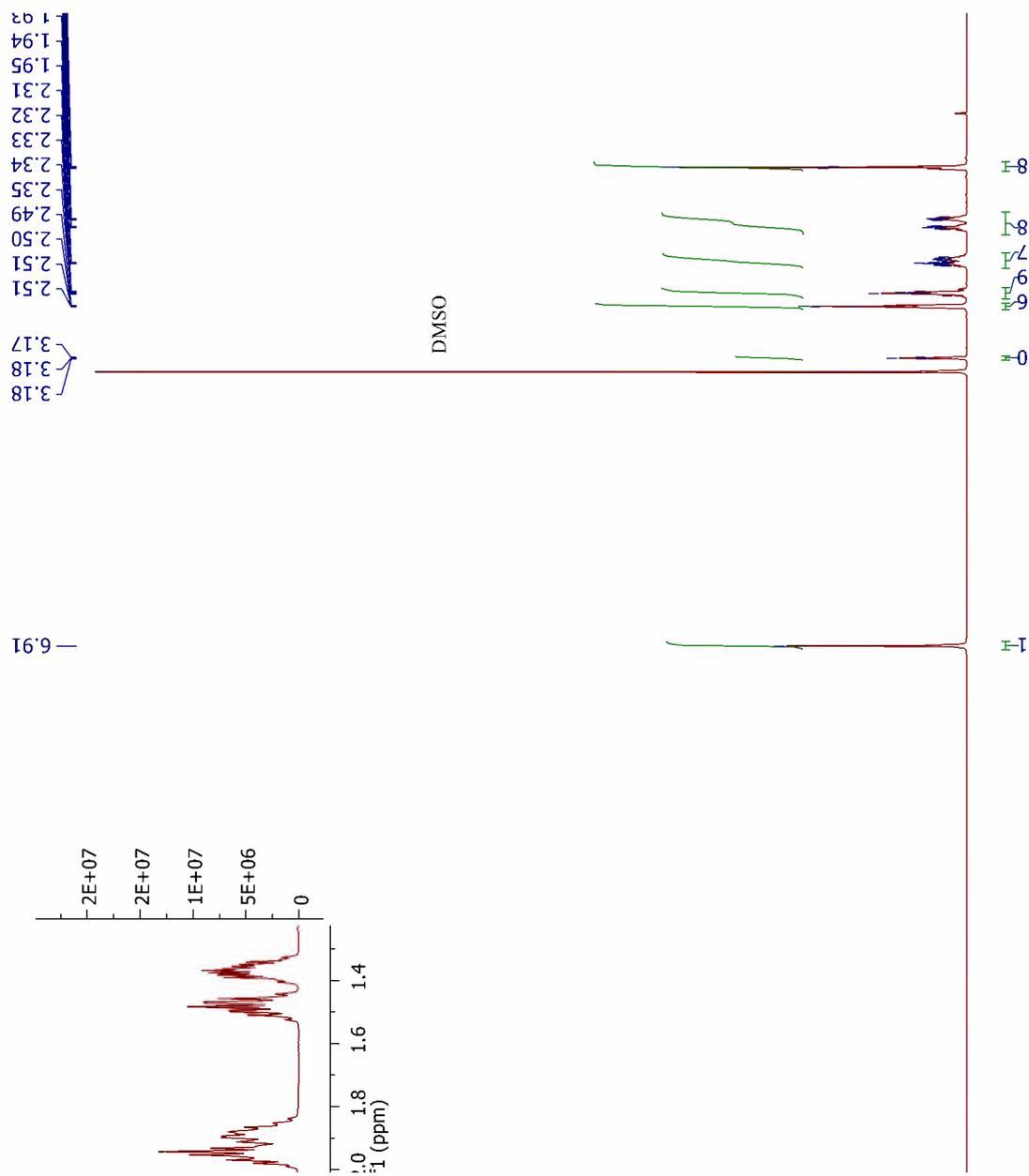
Retention Time : 1.377
 Compound Name : RT1.377



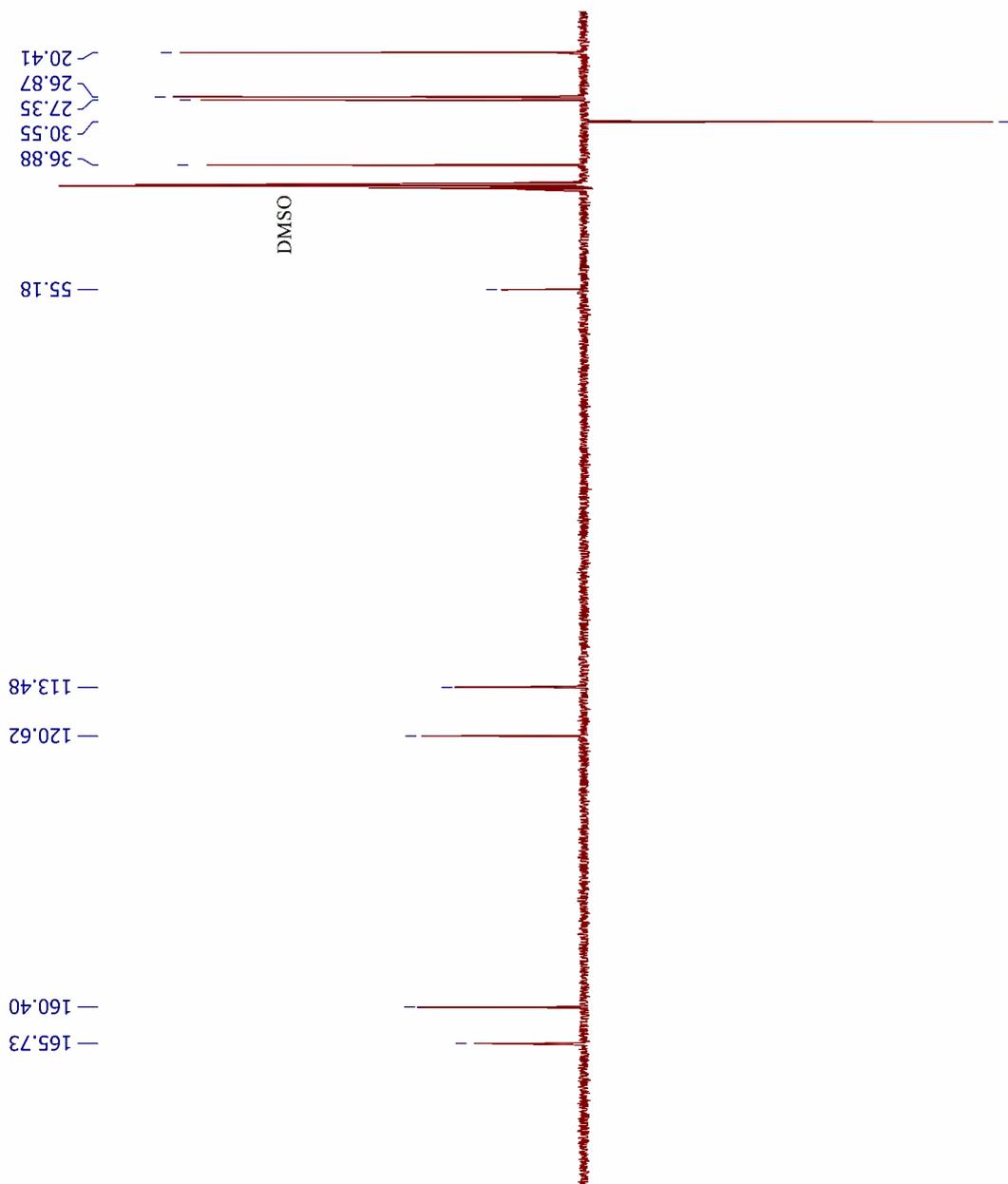
Anexo LXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 20



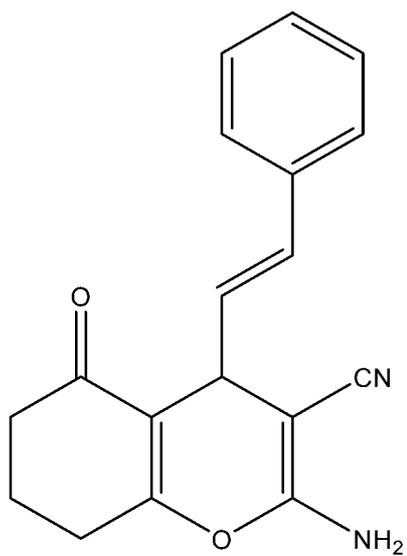
Anexo LXIX Espectro de RMN ^1H da Molécula MCR 20



Anexo LXX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 20



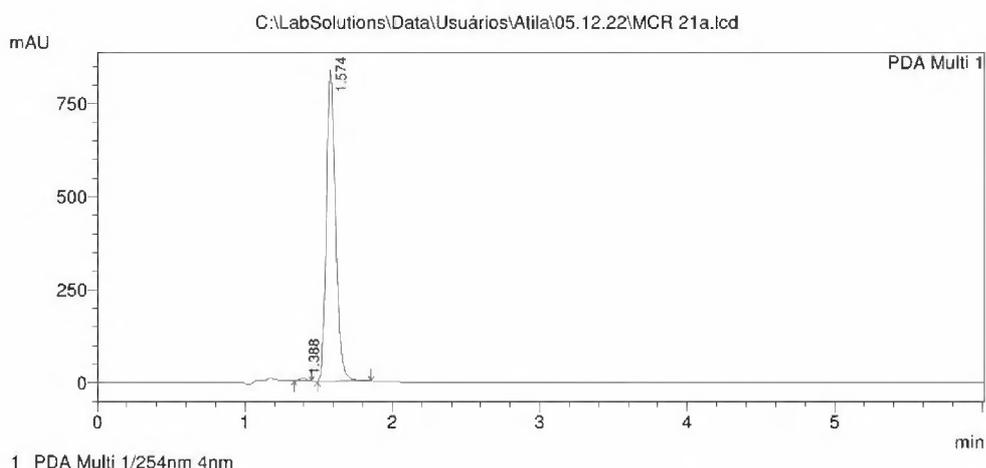
Anexo LXXI Molécula MCR 21



Anexo LXXII HPLC da Molécula MCR 21

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 21a.lcd

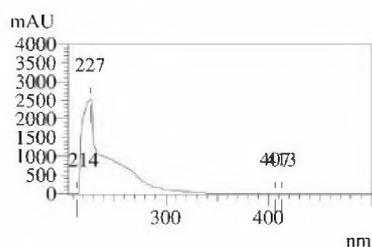
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 µL
 Data File Name : MCR 21a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:38:09
 Data Processed : 6/12/2022 08:13:16



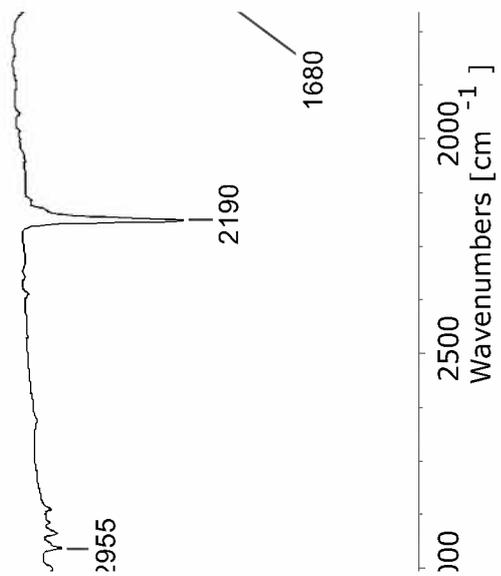
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.388 | 0.620 |
| 2 | 1.574 | 99.380 |
| Total | | 100.000 |

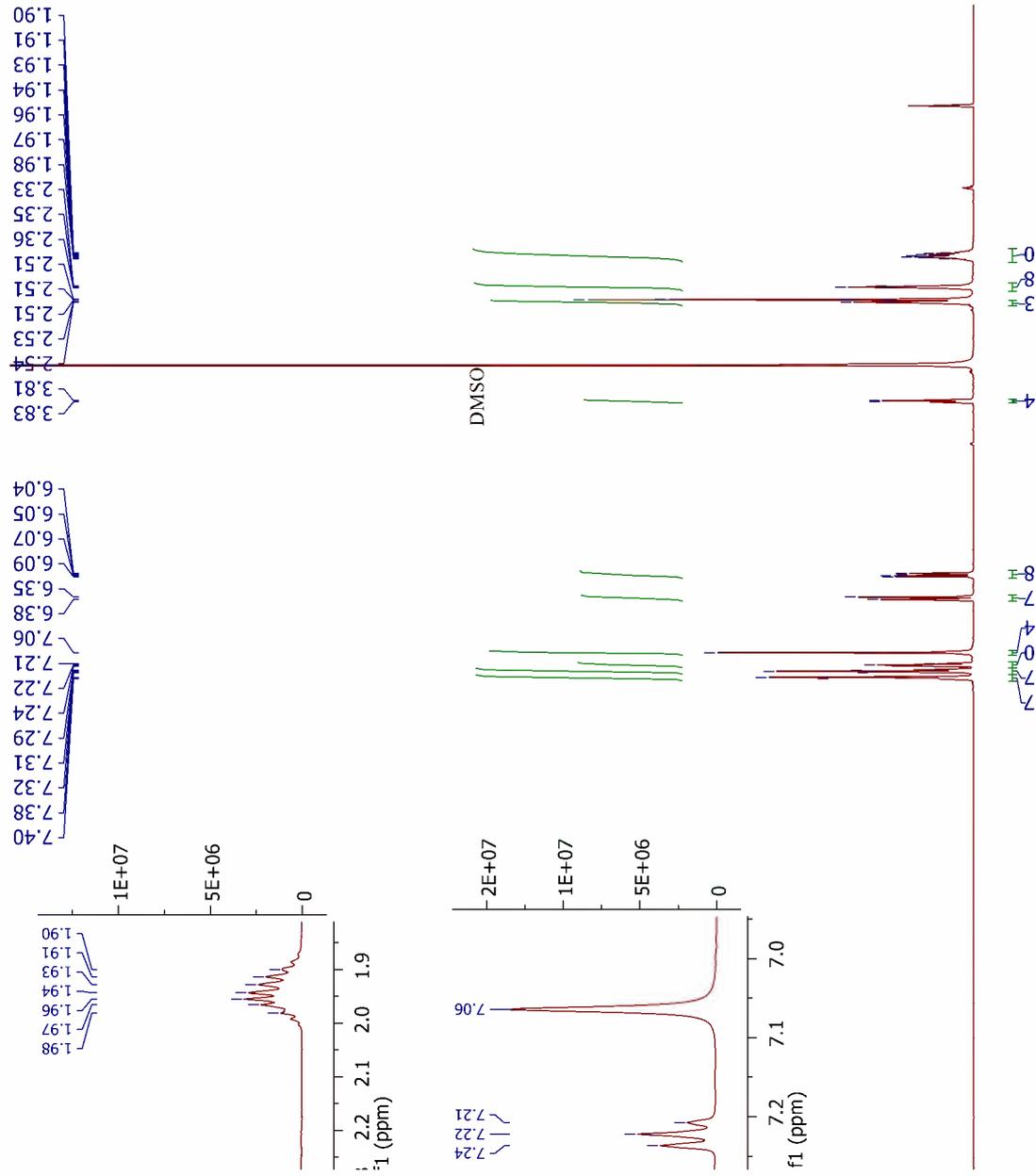
Retention Time : 1.574
 Compound Name : RT1.574



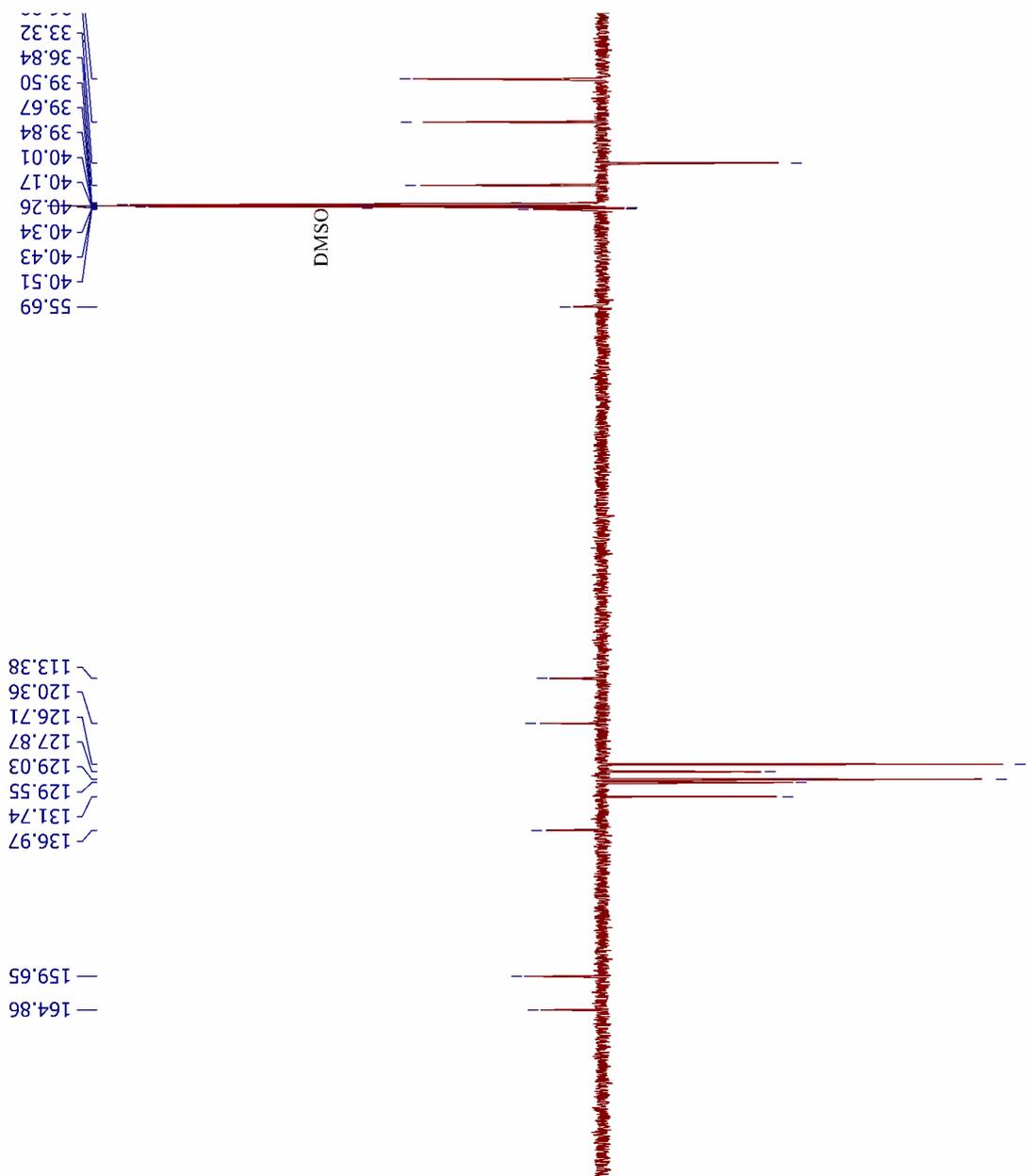
Anexo LXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 21



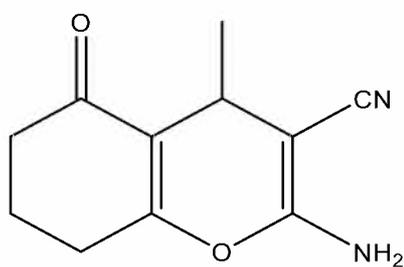
Anexo LXXIV Espectro de RMN ^1H da Molécula MCR 21



Anexo LXXV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 21



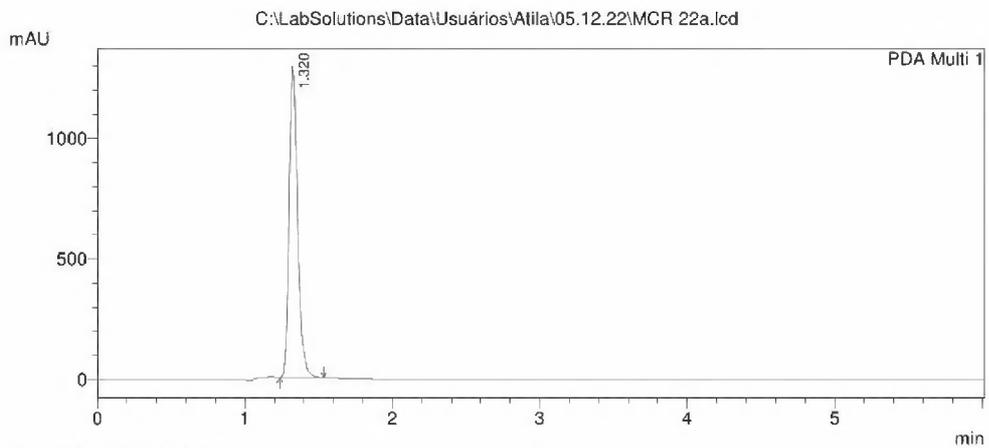
Anexo LXXVI Molécula MCR 22



Anexo LXXVII HPLC da Molécula MCR 22

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 22a.lcd

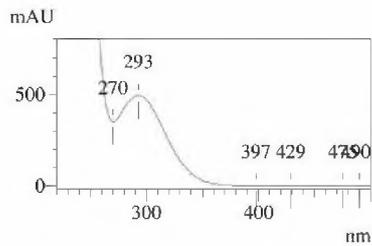
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 22a.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C-18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20uL- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 07:45:29
 Data Processed : 6/12/2022 08:14:53



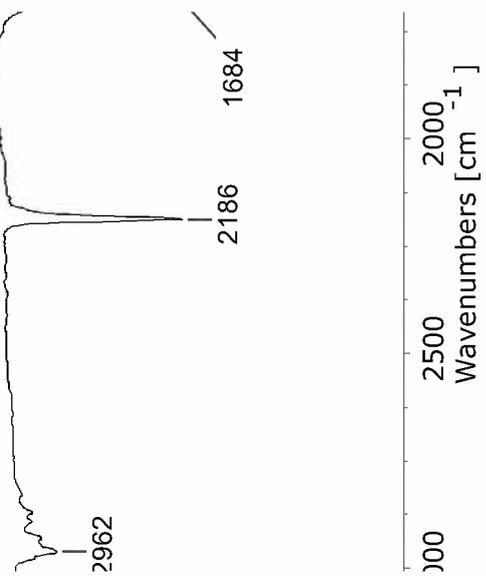
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.320 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

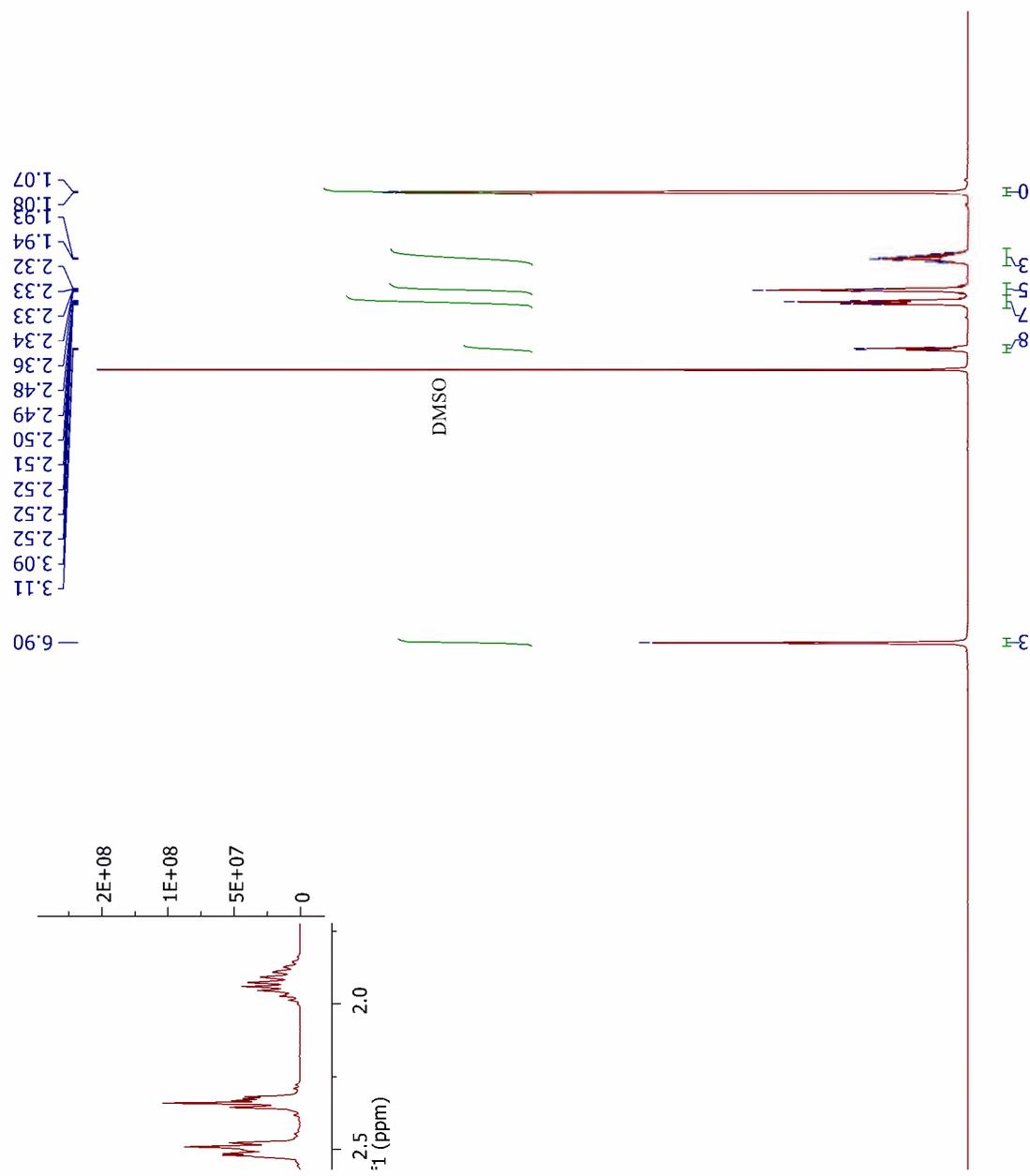
Retention Time : 1.320
 Compound Name : RT1.320



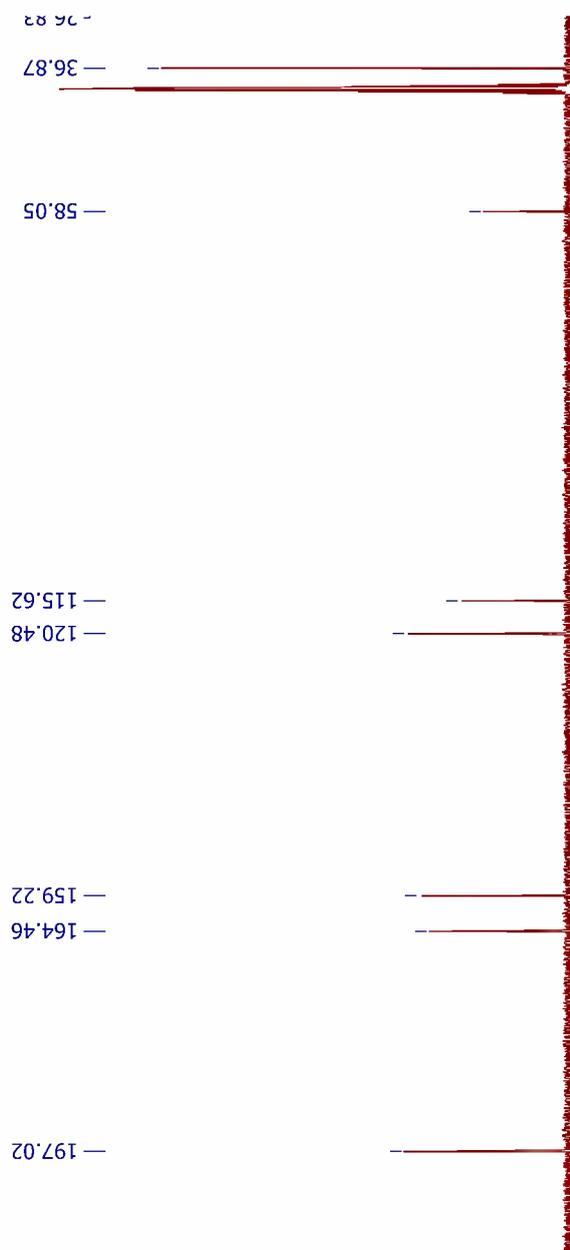
Anexo LXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 22



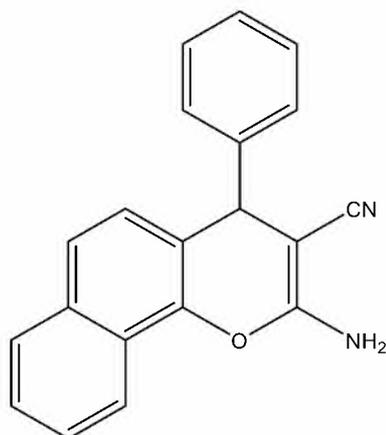
Anexo LXXIX Espectro de RMN ^1H da Molécula MCR 22



Anexo LXXX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 22



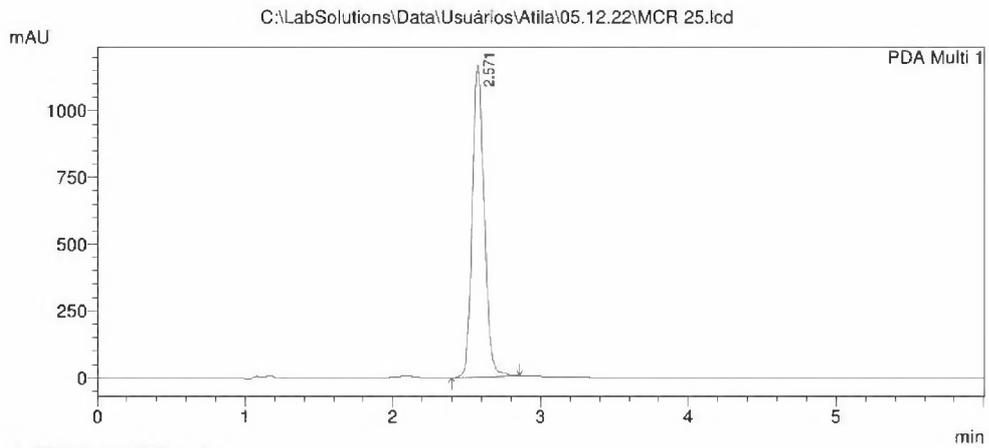
Anexo LXXXI Molécula MCR 25



Anexo LXXXII HPLC da Molécula MCR 25

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 25.lcd

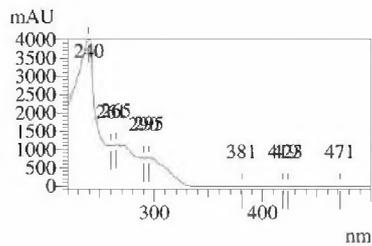
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 25.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:07:27
 Data Processed : 6/12/2022 08:16:33



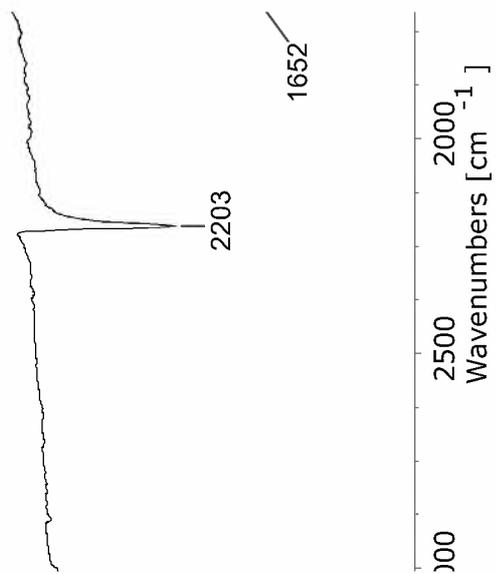
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 2.571 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

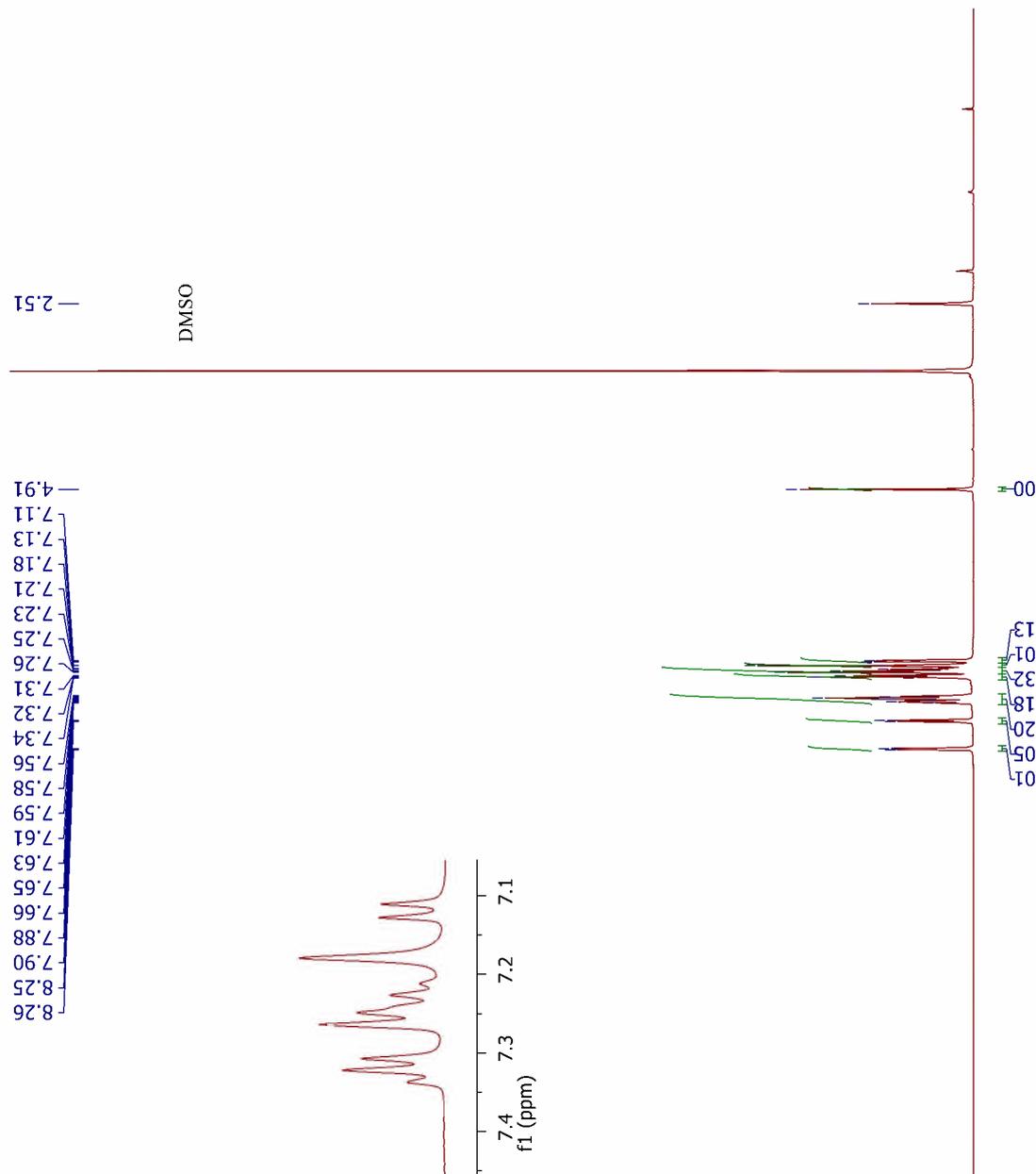
Retention Time : 2.571
 Compound Name : RT2.571



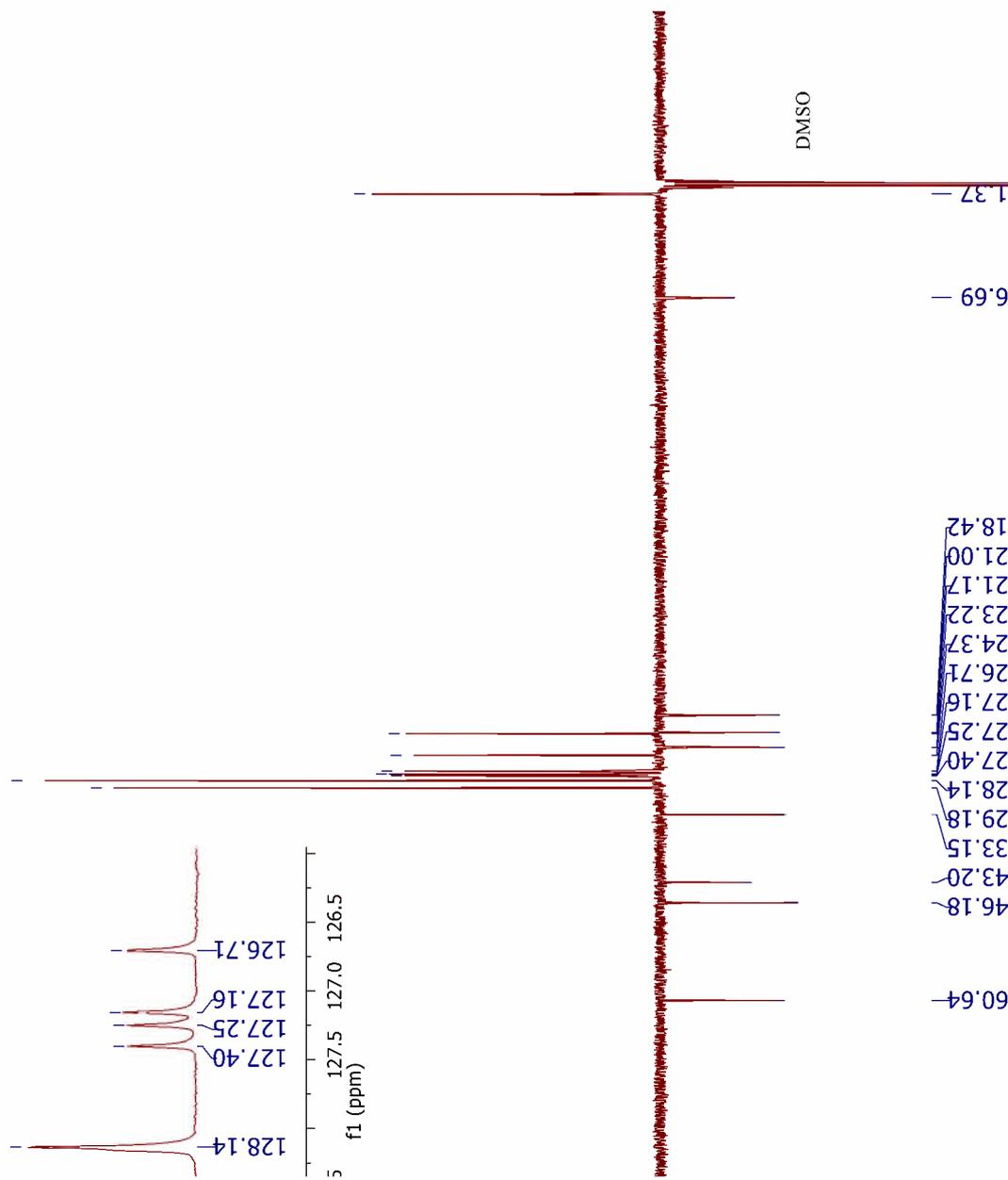
Anexo LXXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 25



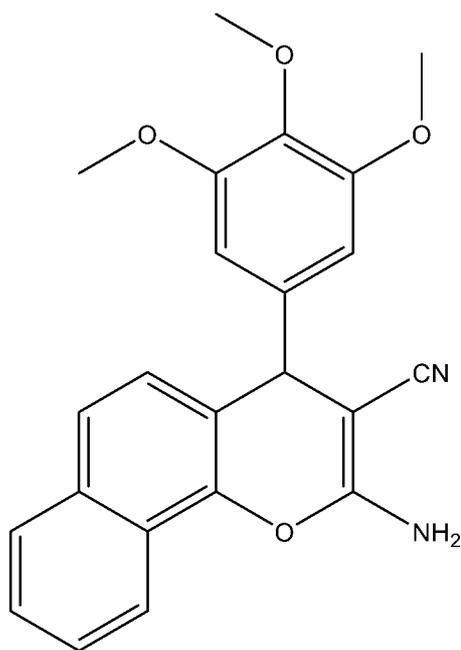
Anexo LXXXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 25



Anexo LXXXV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 25



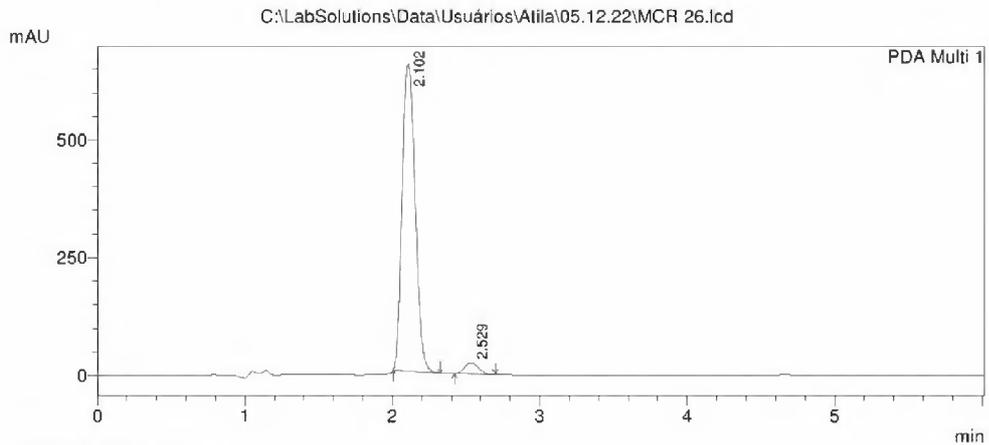
Anexo LXXXVI Molécula MCR 26



Anexo LXXXVII HPLC da Molécula 26

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 26.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 µL
 Data File Name : MCR 26.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 10:24:44
 Data Processed : 6/12/2022 06:56:32

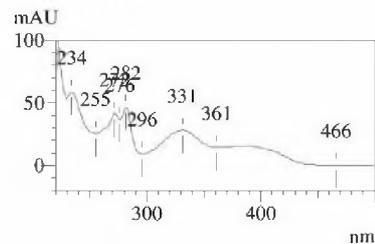
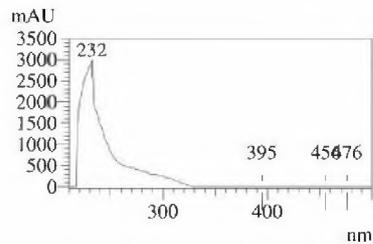


PeakTable

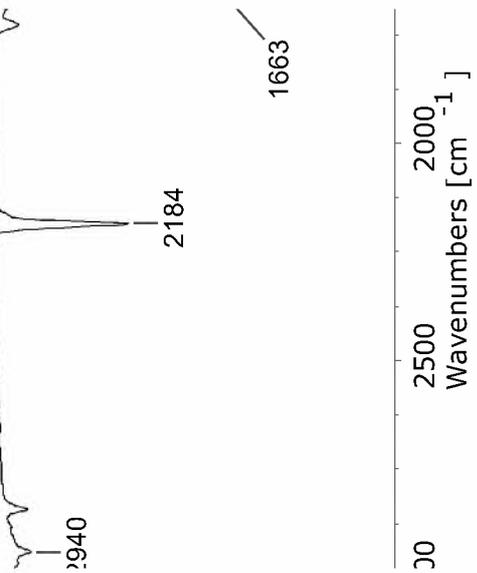
| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 2.102 | 96.355 |
| 2 | 2.529 | 3.645 |
| Total | | 100.000 |

Retention Time : 2.102
Compound Name : RT2.102

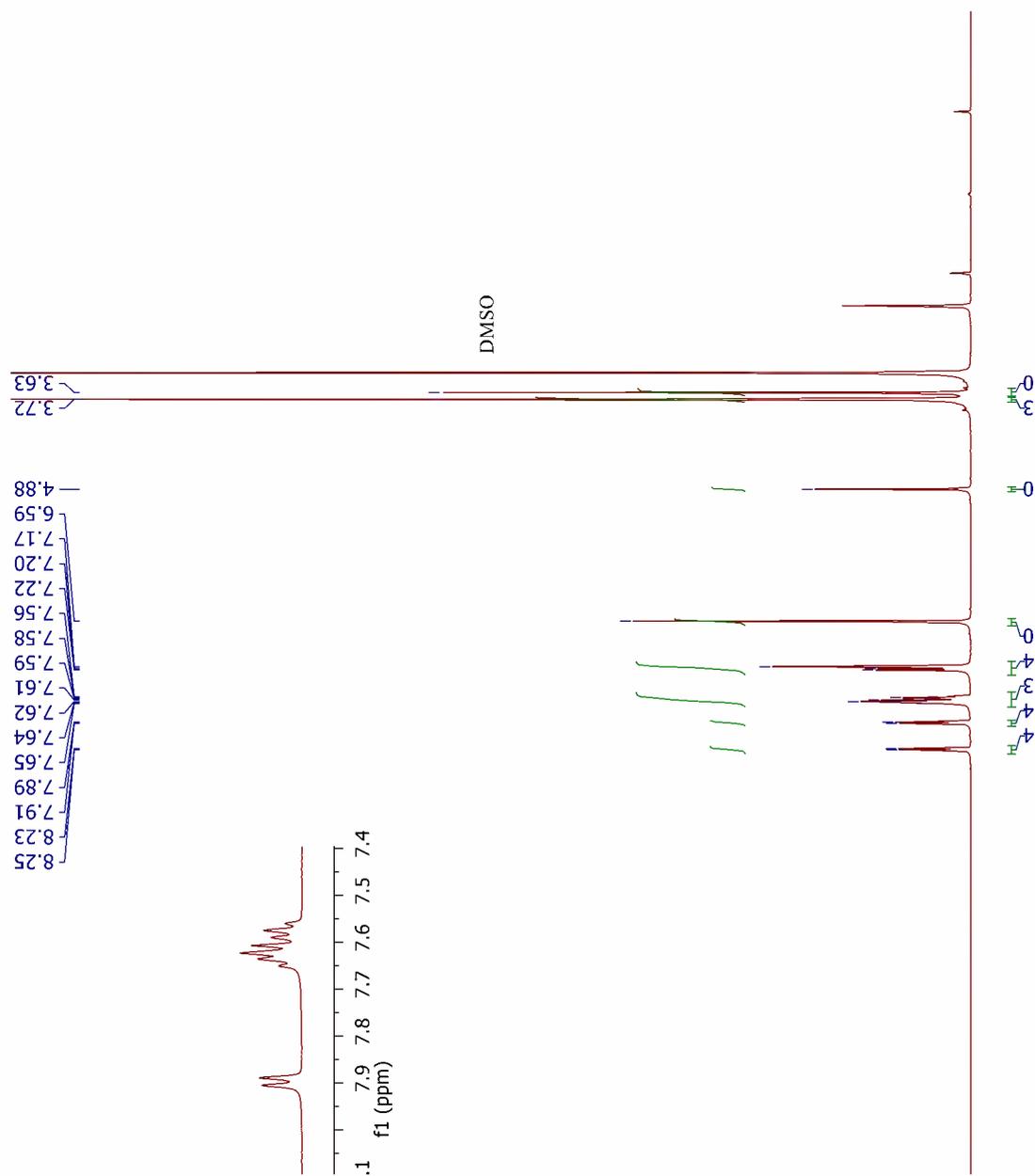
Retention Time : 2.529
Compound Name : RT2.529



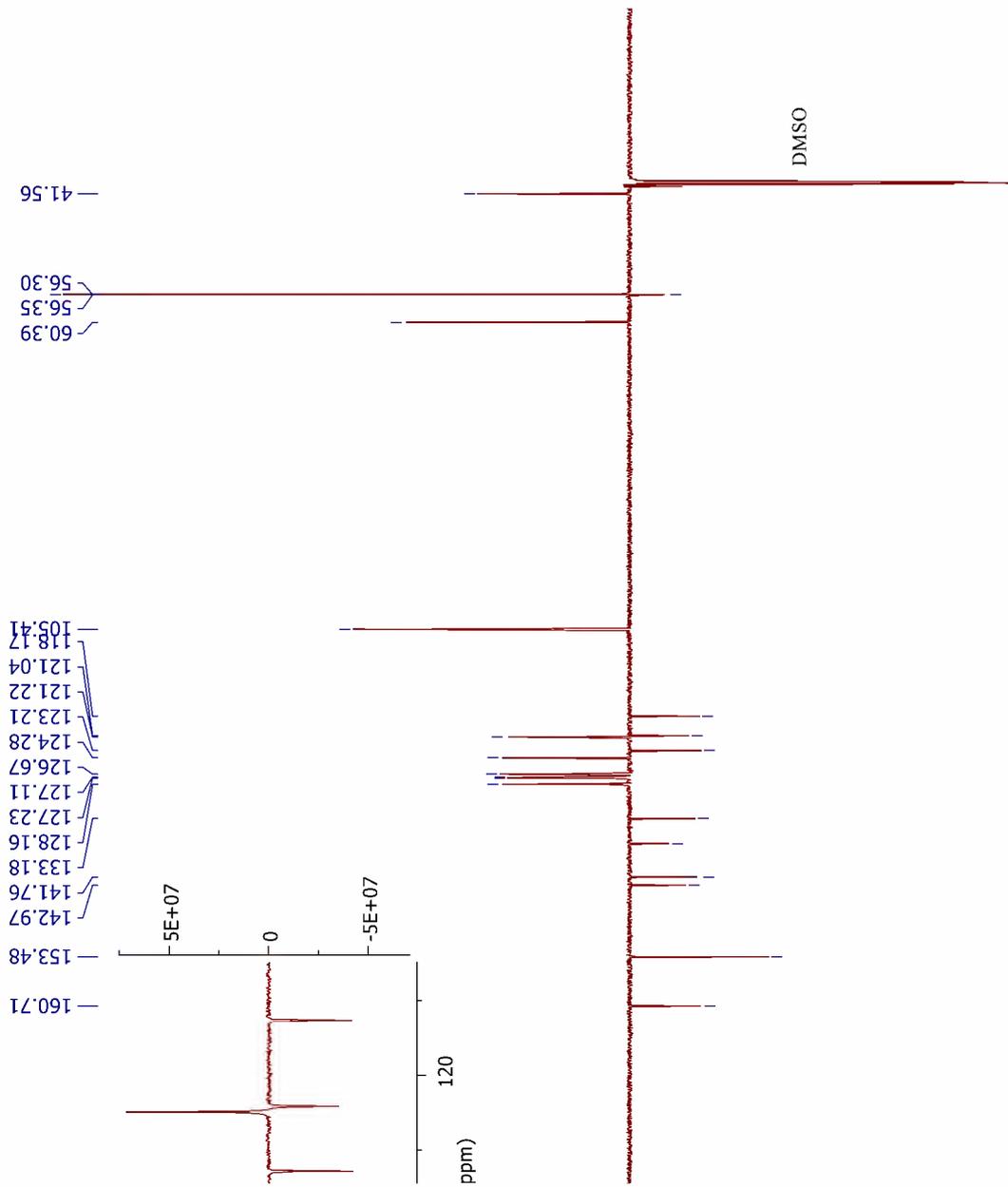
Anexo LXXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 26



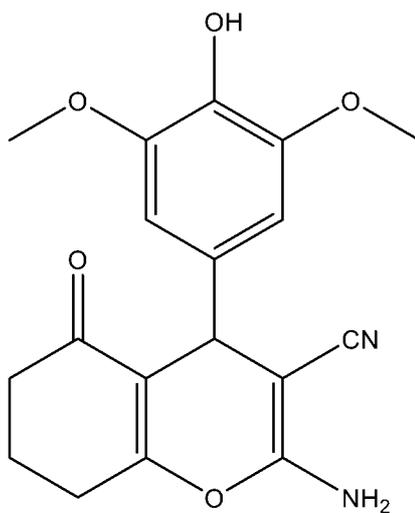
Anexo LXXXIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 26



Anexo XC Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 26



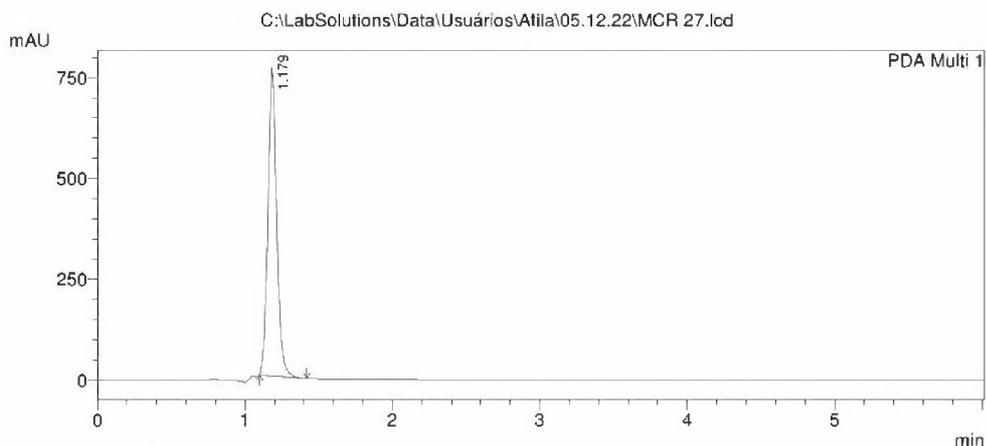
Anexo XCI Molécula MCR 27



Anexo XCII HPLC da Molécula MCR 27

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 27.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 µL
 Data File Name : MCR 27.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C-18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 10:32:08
 Data Processed : 6/12/2022 06:57:00

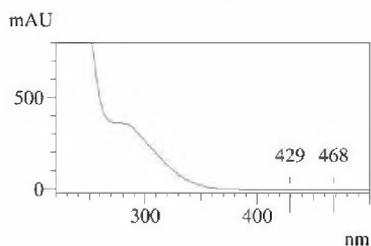


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

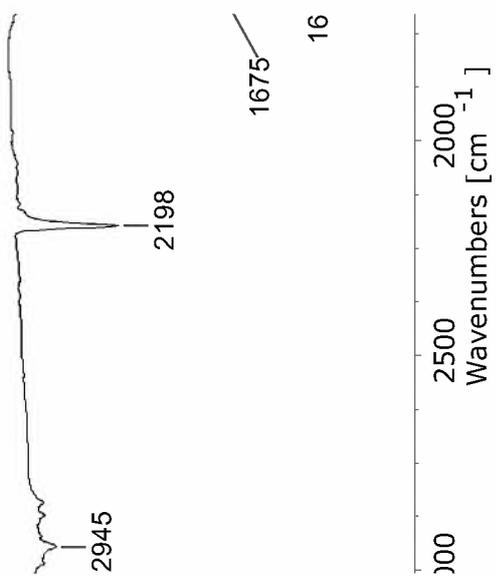
PeakTable

| PDA Ch1 254nm 4nm | | |
|-------------------|-----------|---------|
| Peak# | Ret. Time | Area % |
| 1 | 1.179 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

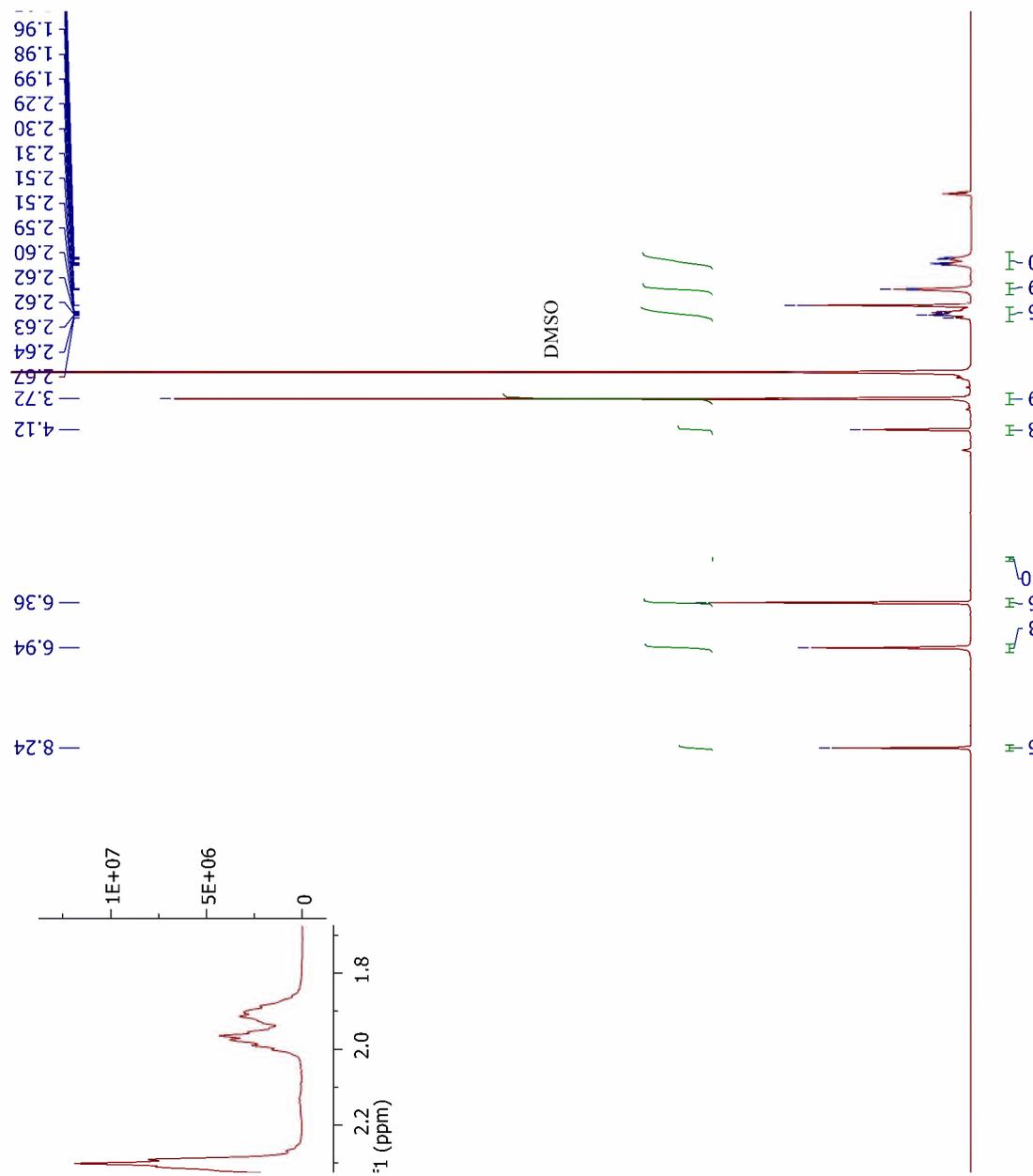
Retention Time : 1.179
 Compound Name : RT1.179



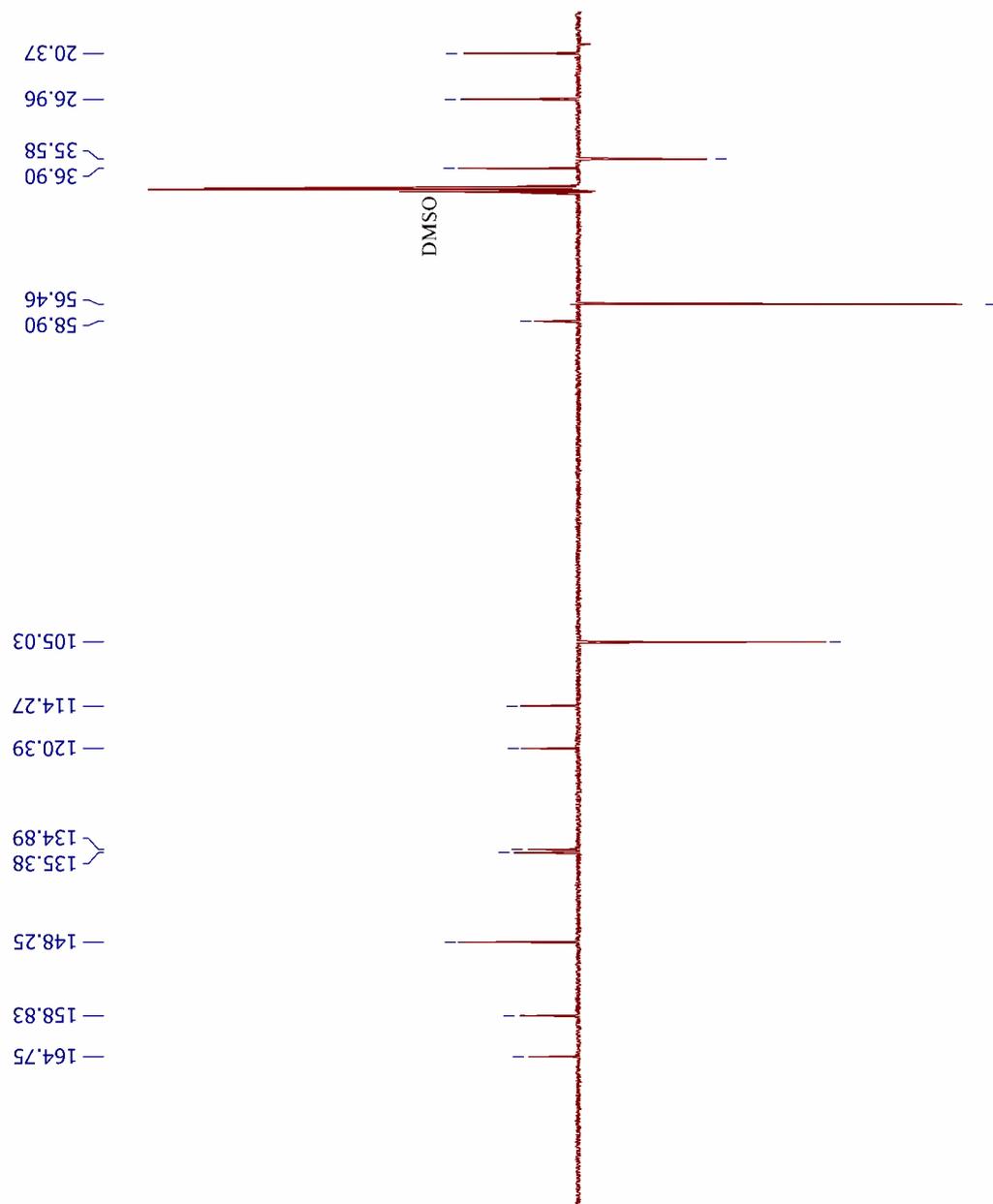
Anexo XCIII Espectro de IV da Molécula MCR 27



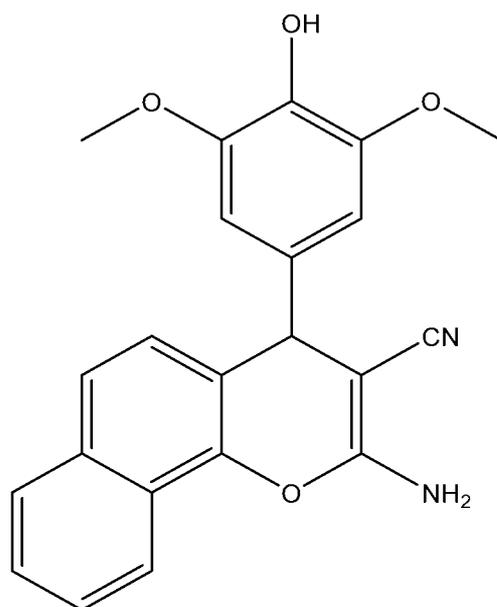
Anexo XCIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 27



Anexo XCV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 27



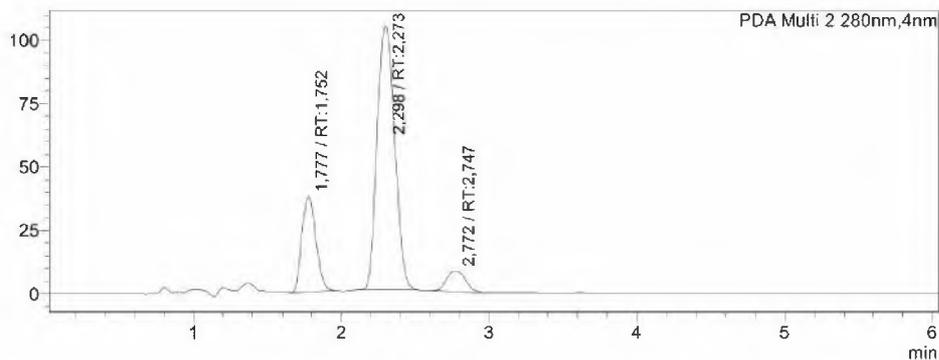
Anexo XCVI Molécula MCR 28



Anexo XCVII HPLC da Molécula MCR 28

Sample Name : MCR 28
 Data Filename : MCR 28a.lcd
 Method Filename : Metodo Sintese.lcm
 Injection Volume : 20 uL
 Date Acquired : 18/07/2023 10:26:30 Acquired by : ROSANE
 Date Processed : 18/07/2023 11:15:53
 HPLC Shimadzu LCMS 2020
 LC-20AD, SPD-M20A, CTO-20A, SIL-10AF-CBM-20A
 Metodo sINTESE
 Coluna Luna C18 (100mm x 4.6 mm x 5Um) -Phenomenex
 B:ACN- 1% (60%):40% H2O (1 % AcOH)
 Fluxo 1.0 mL/min -Pressão 38kgf/cm2
 Forno 40C- PDA- 200-600nm
 Volume 10uL- 10min

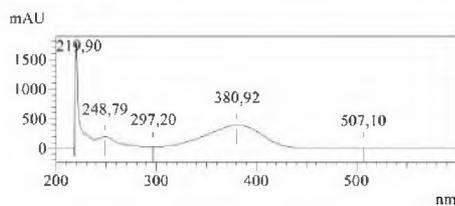
mAU



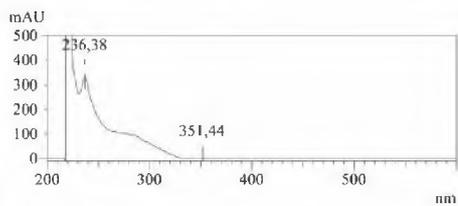
Peak Table

| Peak# | Ret. Time | Area | Height | Conc. | Name | Area% |
|-------|-----------|---------|--------|--------|----------|---------|
| 1 | 1.777 | 246441 | 37614 | 20.880 | RT:1.752 | 20.880 |
| 2 | 2.298 | 861394 | 104361 | 72.984 | RT:2.273 | 72.984 |
| 3 | 2.772 | 72413 | 8166 | 6.135 | RT:2.747 | 6.135 |
| Total | | 1180249 | 150141 | | | 100,000 |

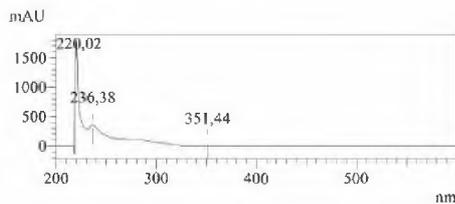
UV Spectrum
 Retention Time : 1,777 min
 Compound Name : RT:1,752



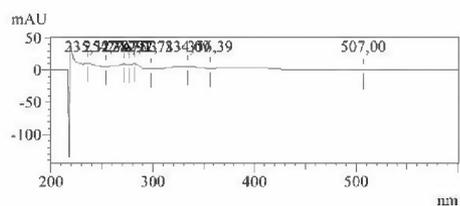
UV Spectrum
 Retention Time : 2,298 min
 Compound Name : RT:2,273



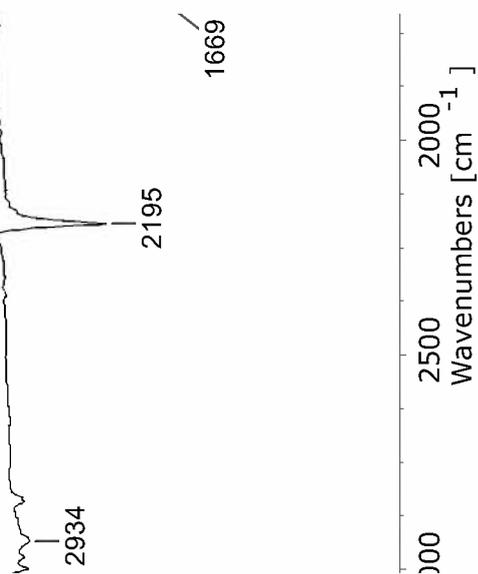
Retention Time : 2,298 min
 Compound Name : RT:2,273



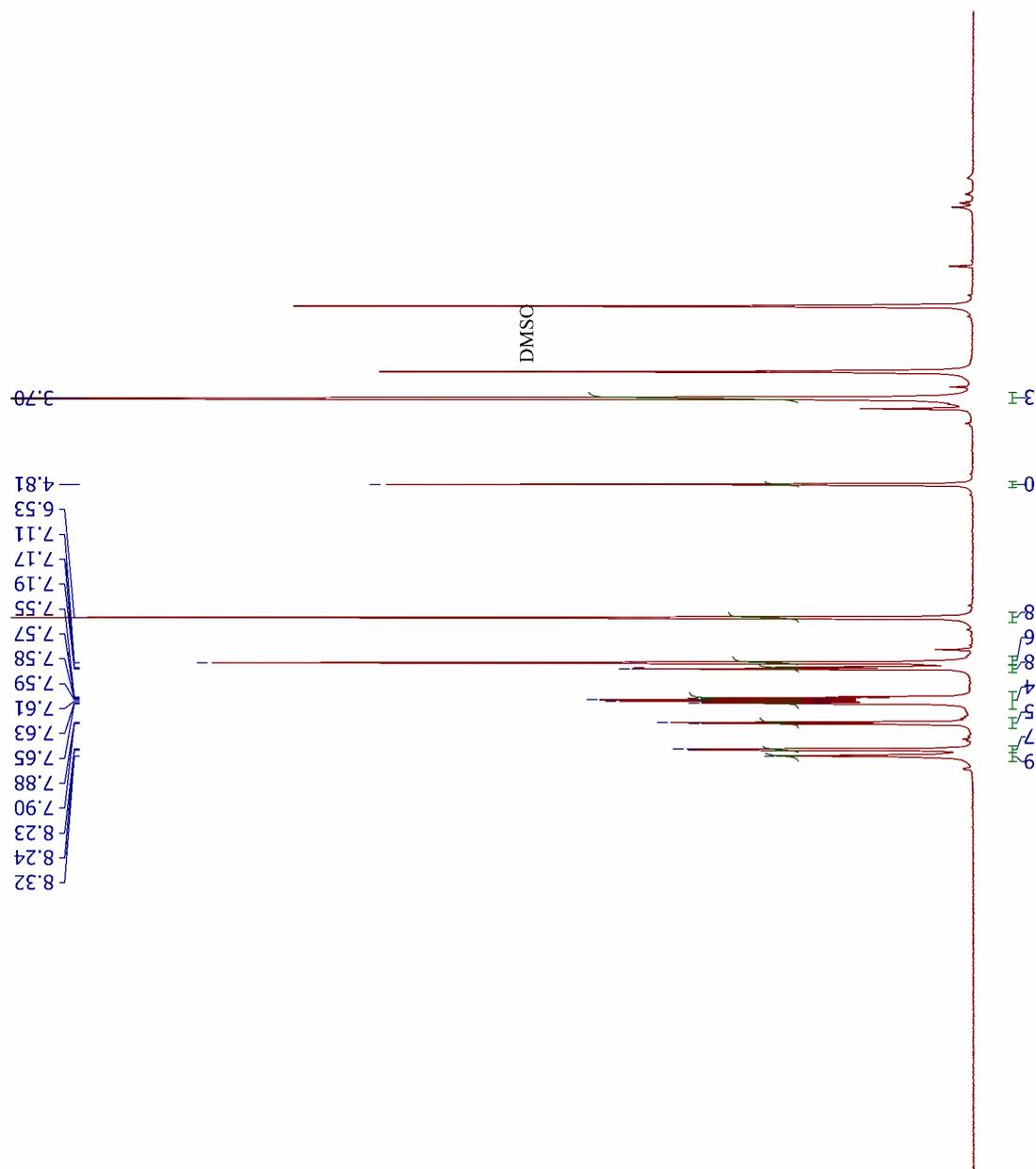
Retention Time : 2,772 min
Compound Name : RT:2,747



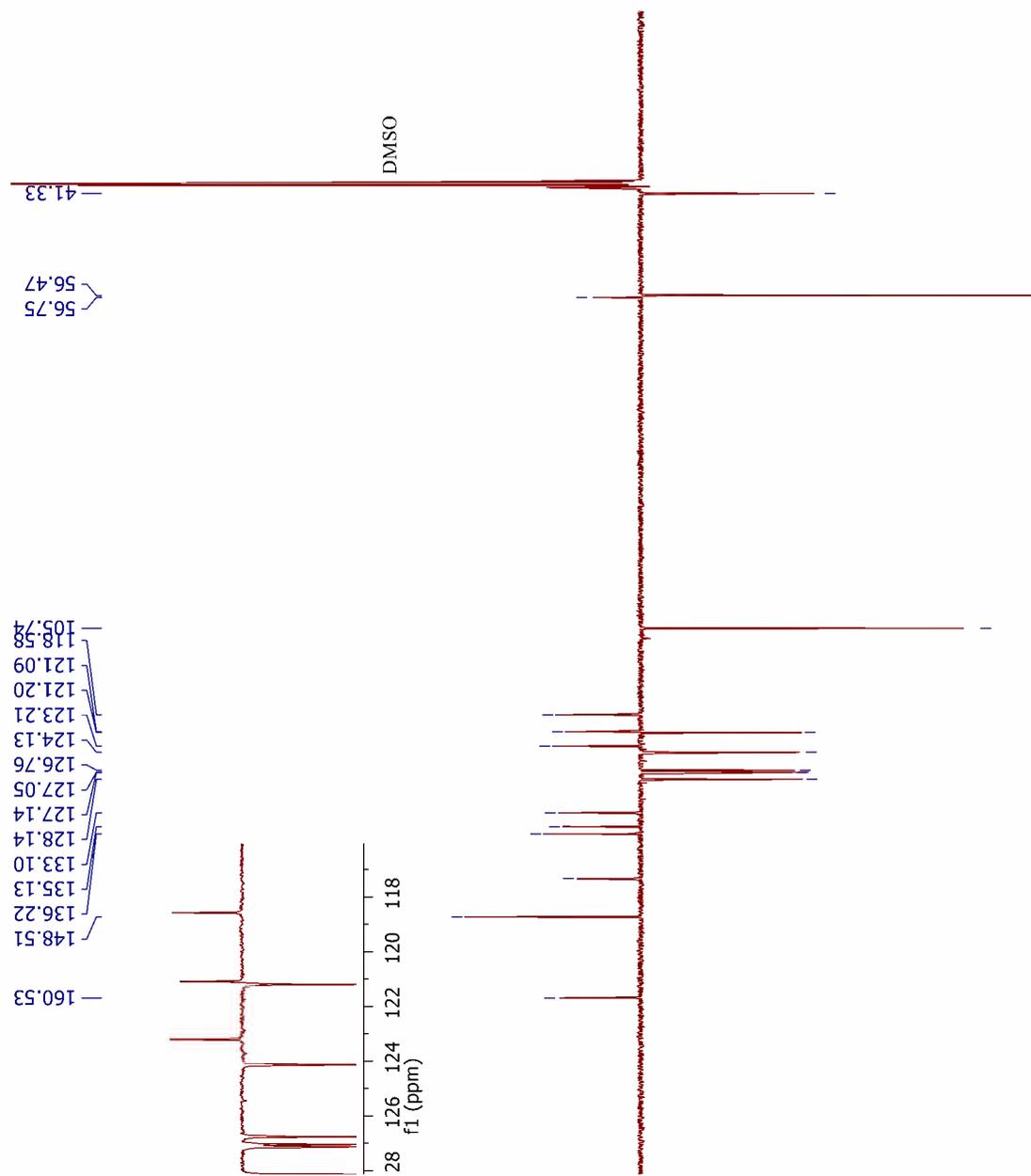
Anexo XCVIII Espectro de IV da Molécula MCR 28



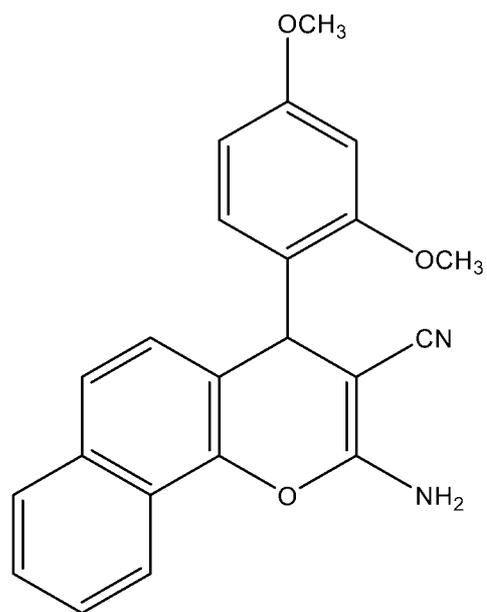
Anexo XCIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 28



Anexo C Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 28



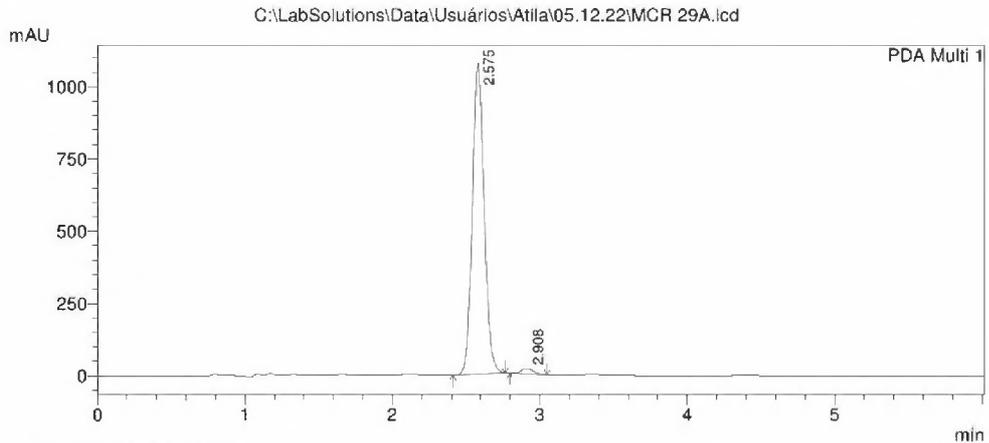
Anexo CI Molécula MCR 29



Anexo CII HPLC da Molécula MCR 29

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 29A.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 10 uL
 Data File Name : MCR 29A.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 6/12/2022 08:00:09
 Data Processed : 6/12/2022 08:18:03

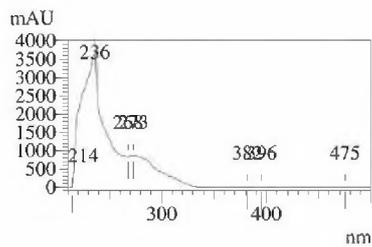


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

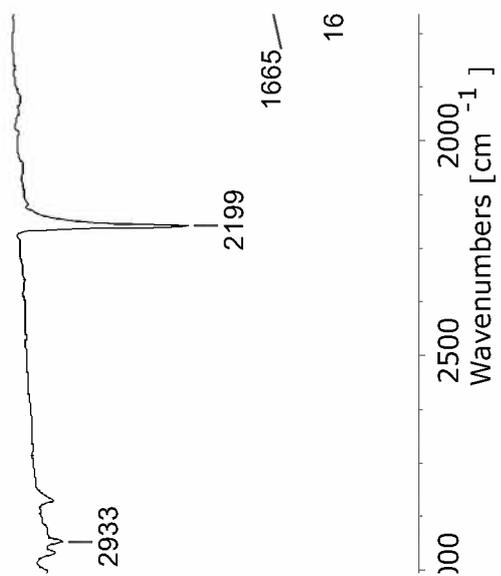
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 2.575 | 98.349 |
| 2 | 2.908 | 1.651 |
| Total | | 100.000 |

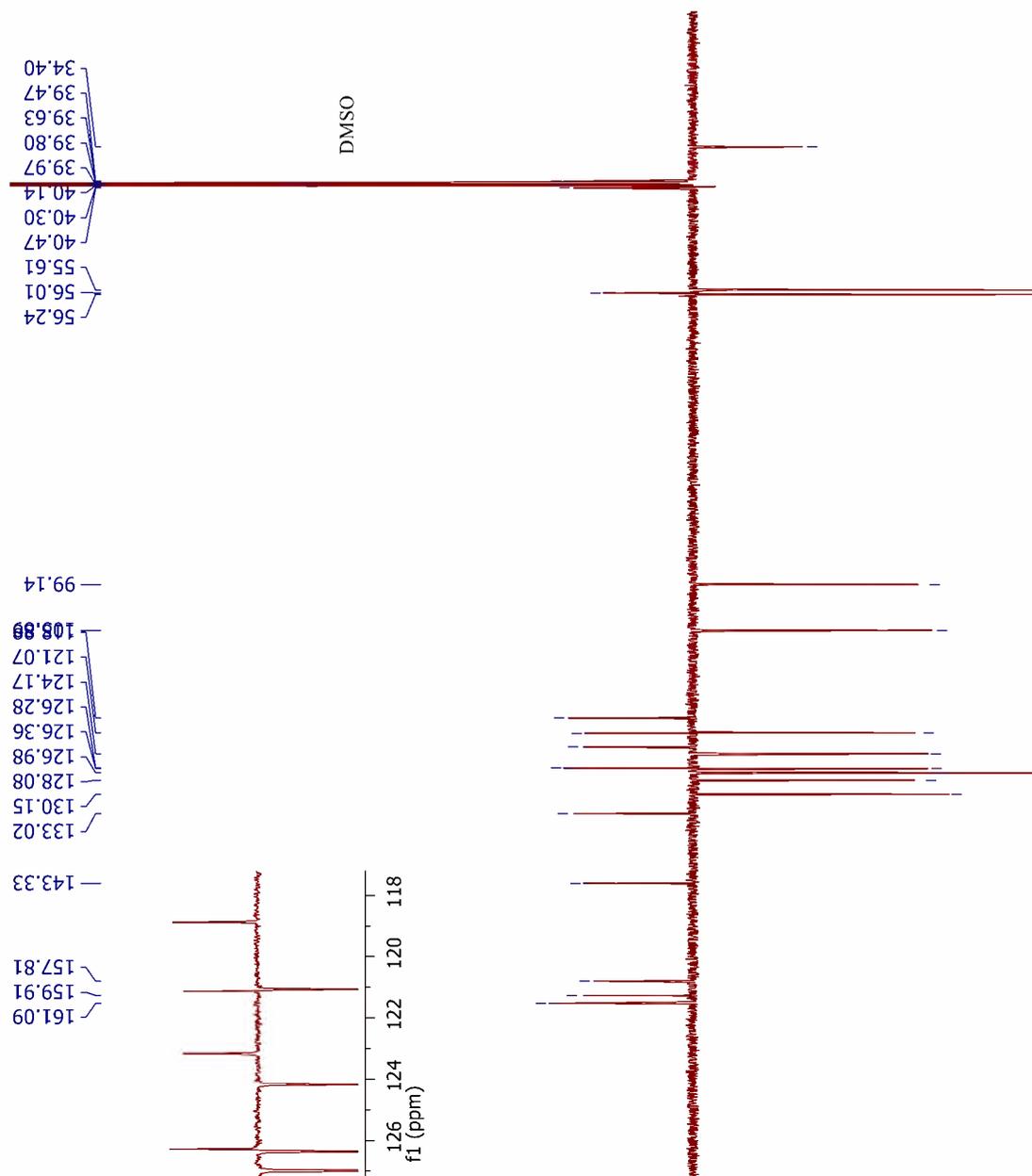
Retention Time : 2.575
 Compound Name : RT2.575



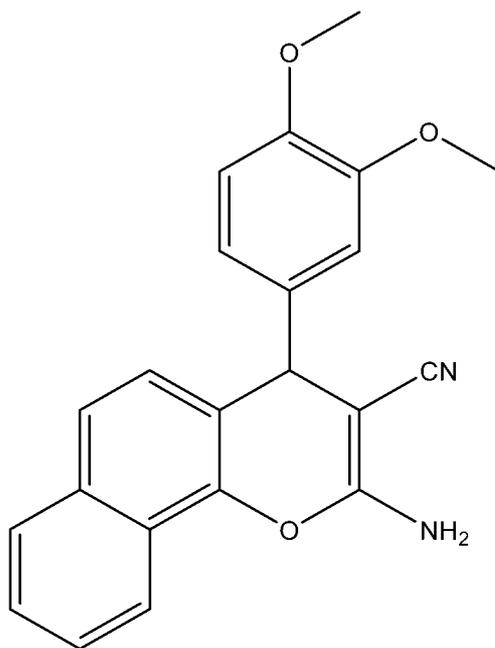
Anexo CIII Espectro de IV da Molécula MCR 29



Anexo CV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 29



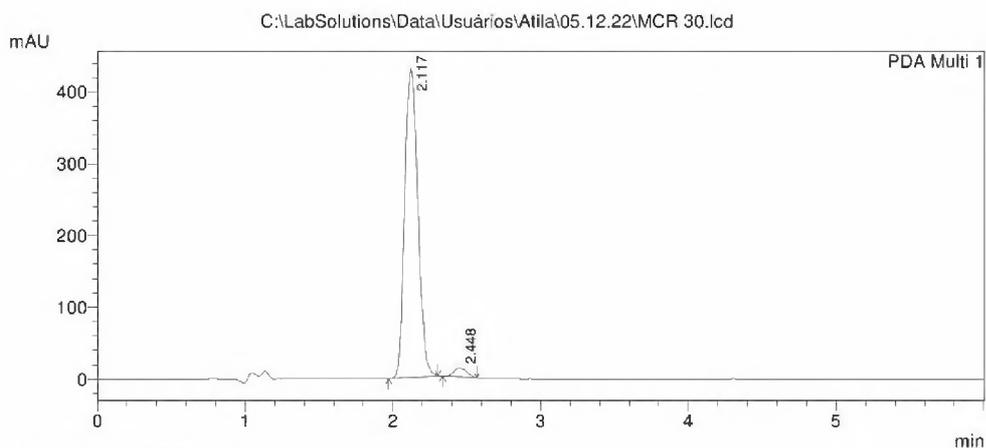
Anexo CVI Molécula MCR 30



Anexo CVII HPLC da Molécula MCR 30

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 30.lcd

Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 µL
 Data File Name : MCR 30.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 10:54:21
 Data Processed : 6/12/2022 06:58:38



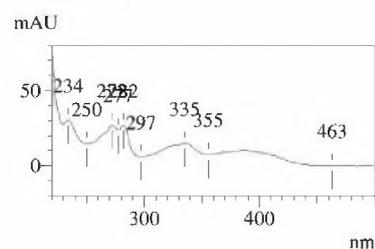
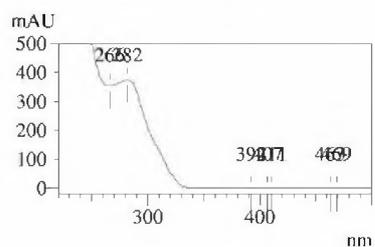
1 PDA Multi 1/254nm 4nm

PeakTable

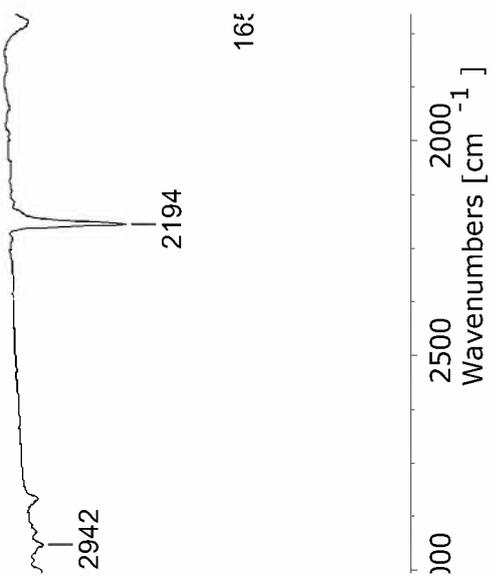
| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 2.117 | 97.070 |
| 2 | 2.448 | 2.930 |
| Total | | 100.000 |

Retention Time : 2.117
Compound Name : RT2.117

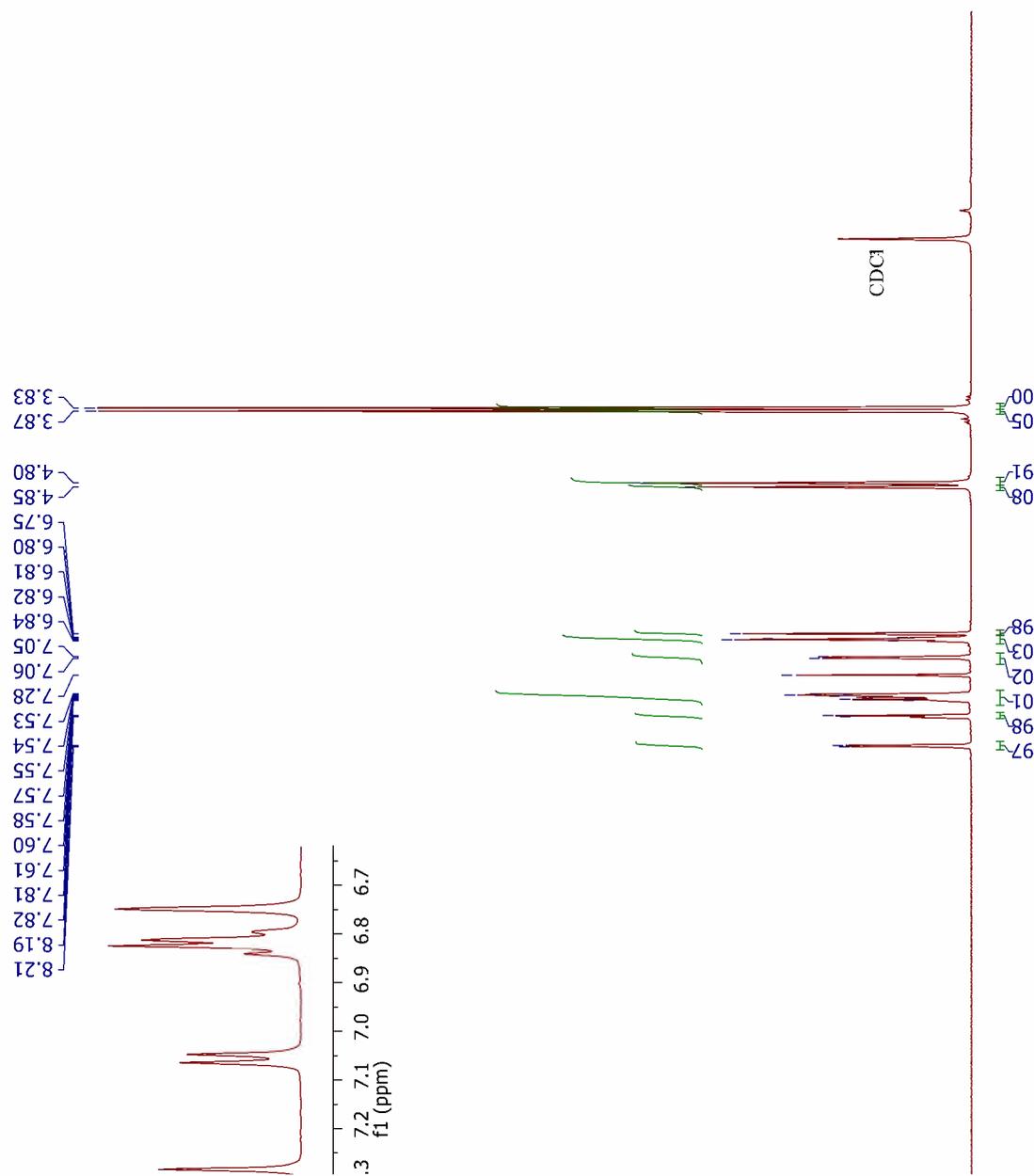
Retention Time : 2.448
Compound Name : RT2.448



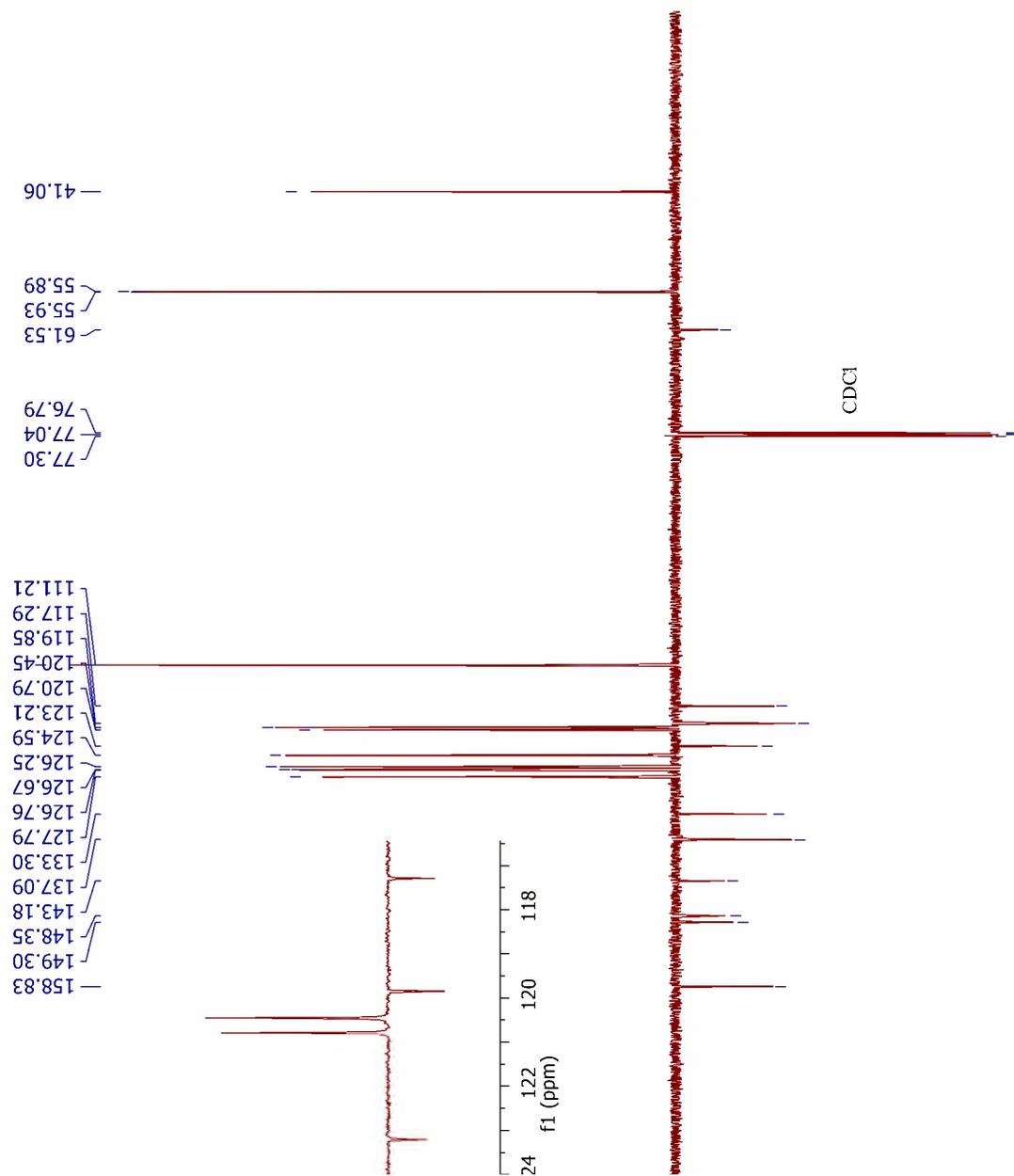
Anexo CVIII Espectro de IV da Molécula MCR 30



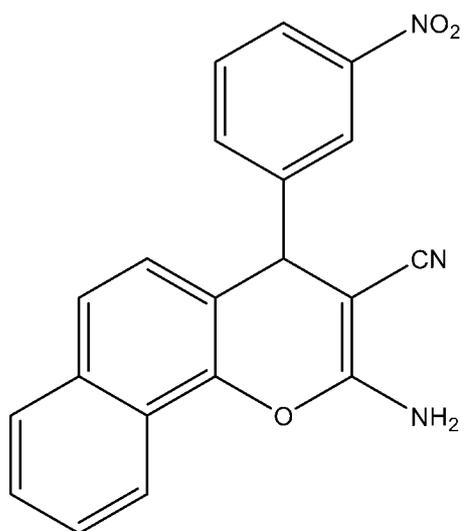
Anexo CIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 30



Anexo CX Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 30



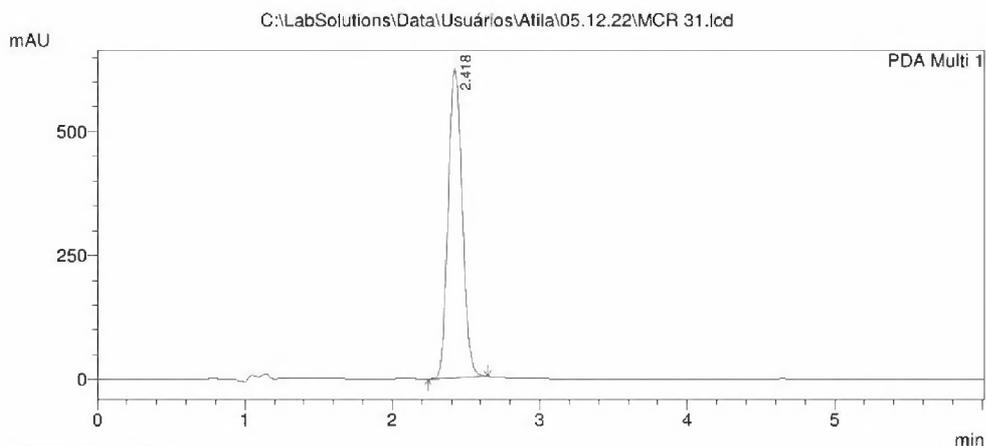
Anexo CXI Molécula MCR 31



Anexo CXII HPLC da Molécula MCR 31

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 31.lcd

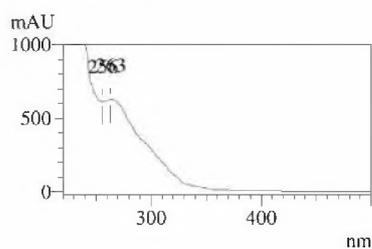
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 µL
 Data File Name : MCR 31.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 11:01:45
 Data Processed : 6/12/2022 06:59:03



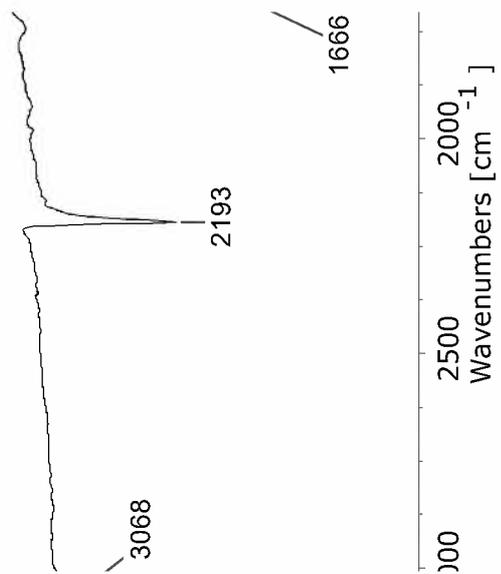
PeakTable

| PDA Ch1 254nm 4nm | | |
|-------------------|-----------|---------|
| Peak# | Ret. Time | Area % |
| 1 | 2.418 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

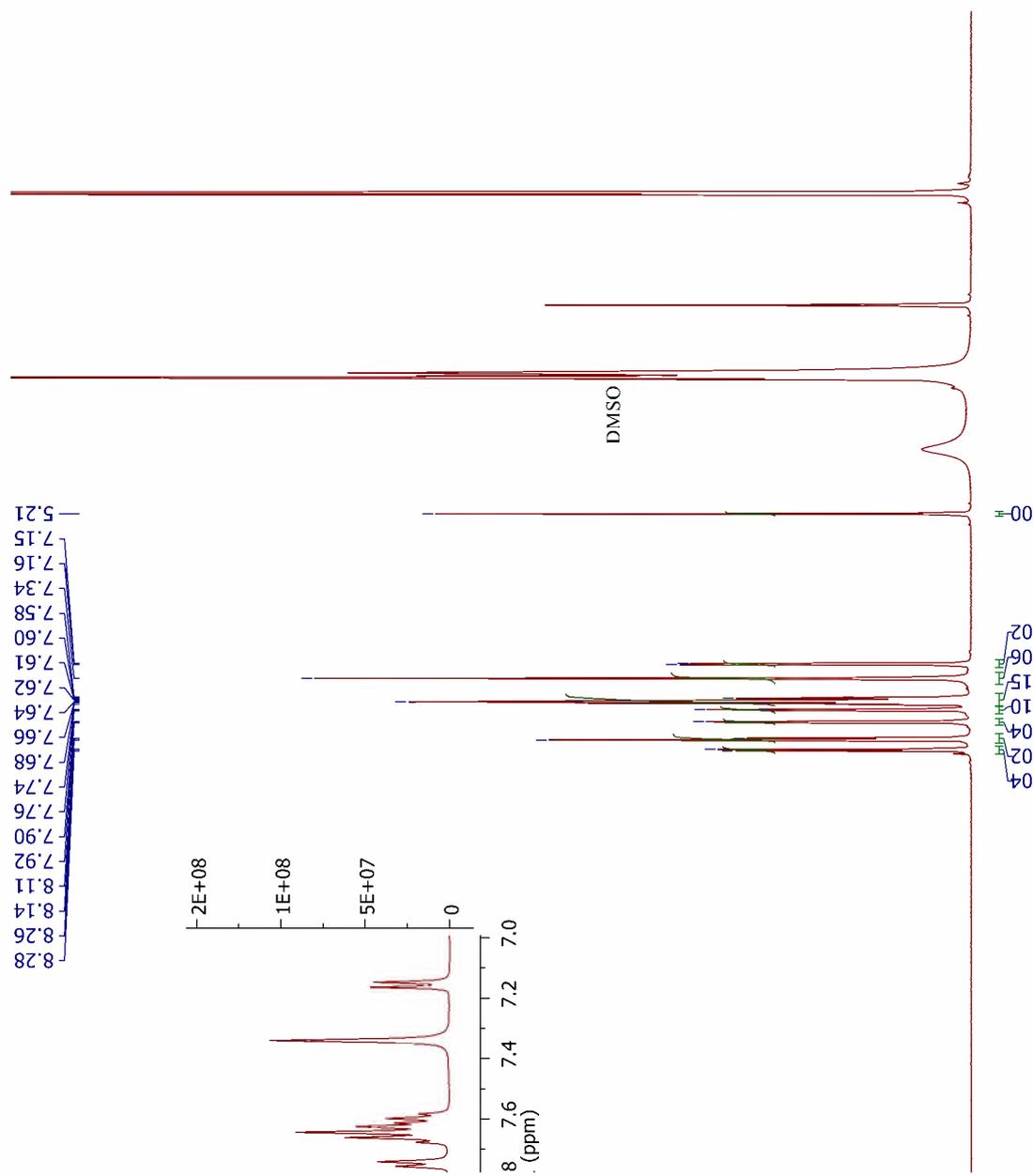
Retention Time : 2.418
 Compound Name : RT2.418



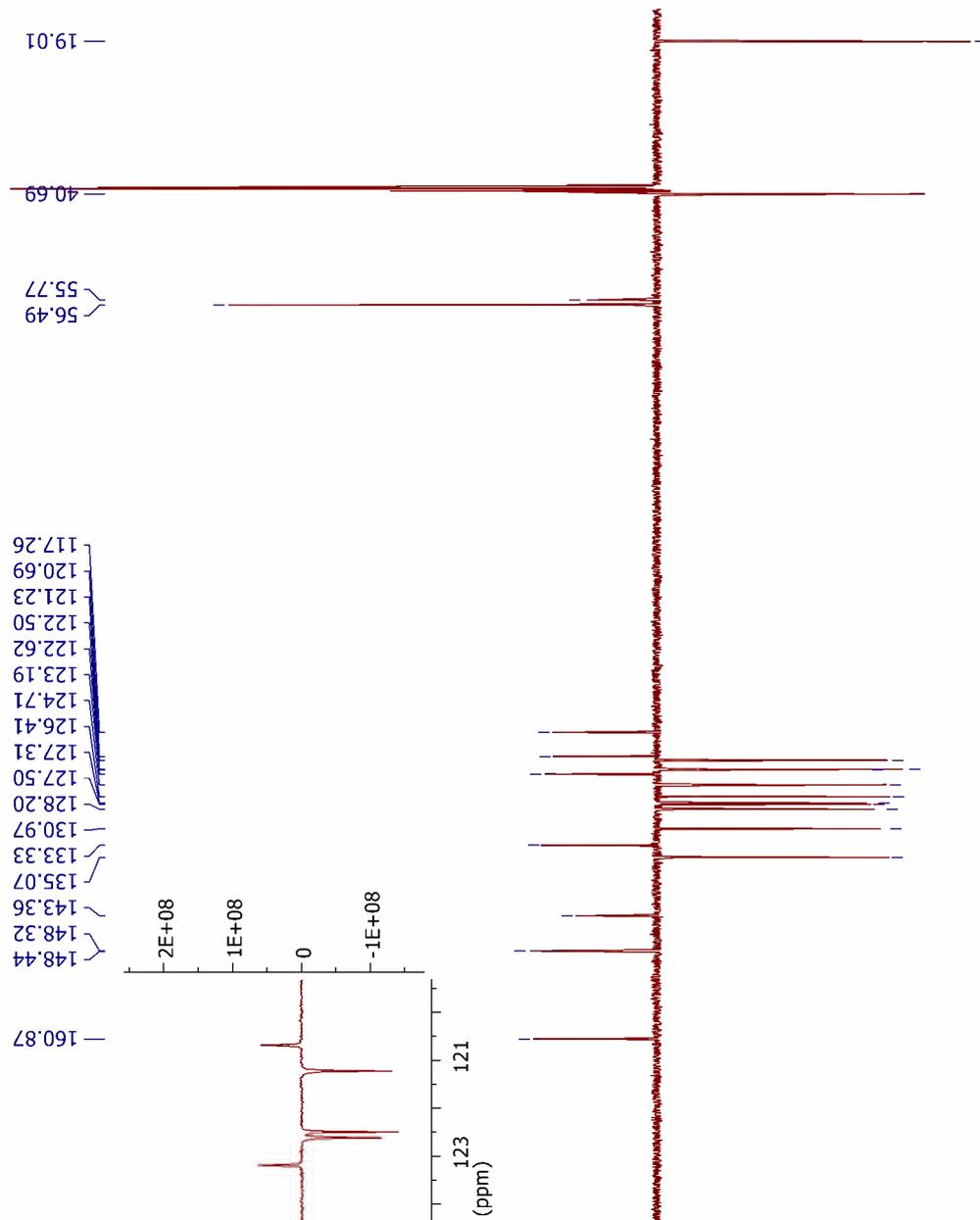
Anexo CXIII Espectro de IV da Molécula MCR 31



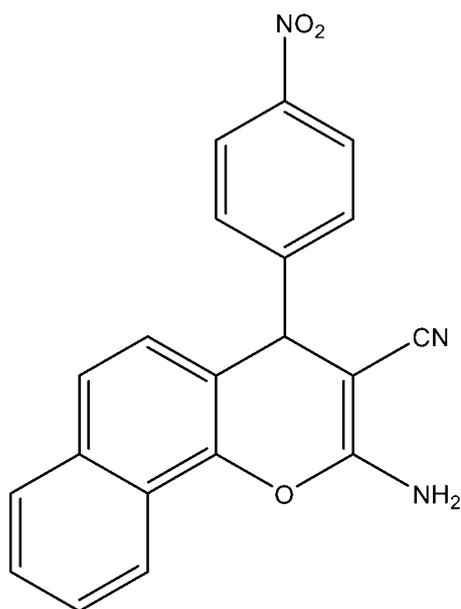
Anexo CXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 31



Anexo CXV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 31



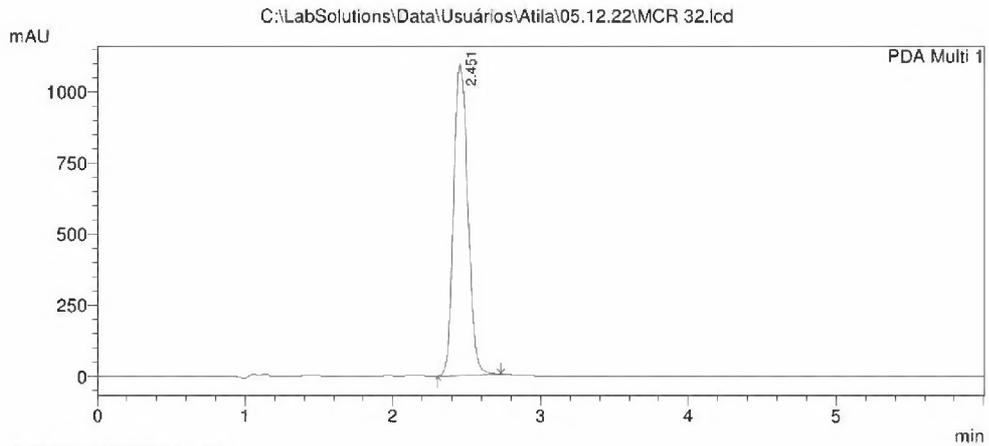
Anexo CXVI Molécula MCR 32



Anexo CXVII HPLC da Molécula MCR 32

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 32.lcd

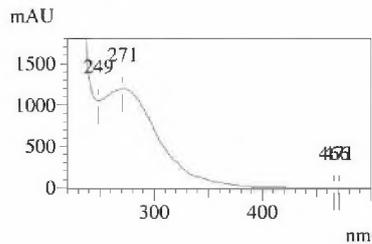
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 µL
 Data File Name : MCR 32.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5µm)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20µl- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 11:09:08
 Data Processed : 6/12/2022 06:59:31



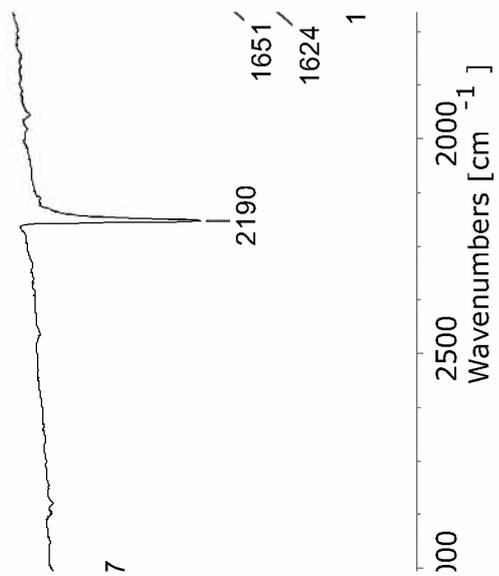
PeakTable

| PDA Ch1 254nm 4nm | | |
|-------------------|-----------|---------|
| Peak# | Ret. Time | Area % |
| 1 | 2.451 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

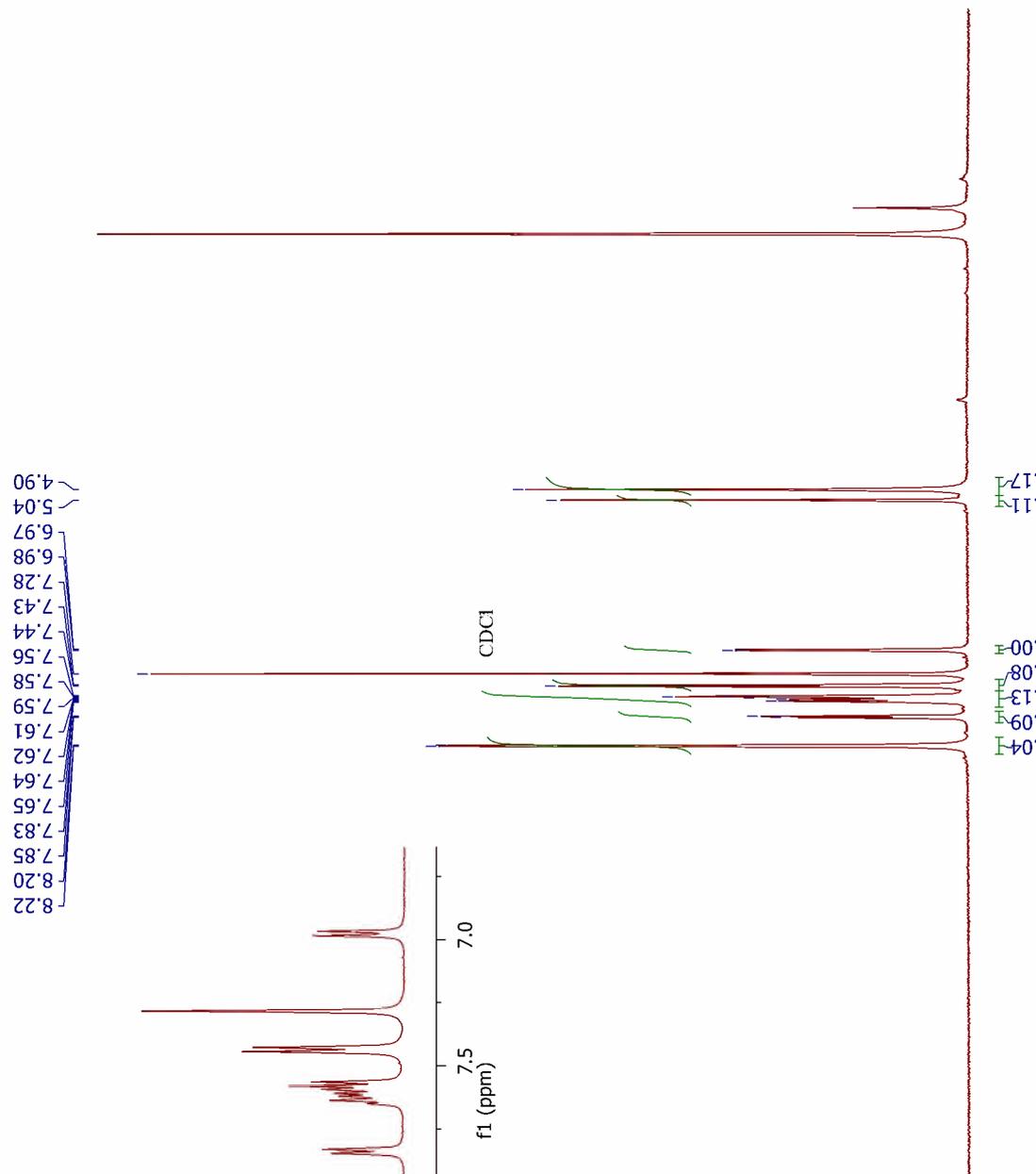
Retention Time : 2.451
 Compound Name : RT2.451



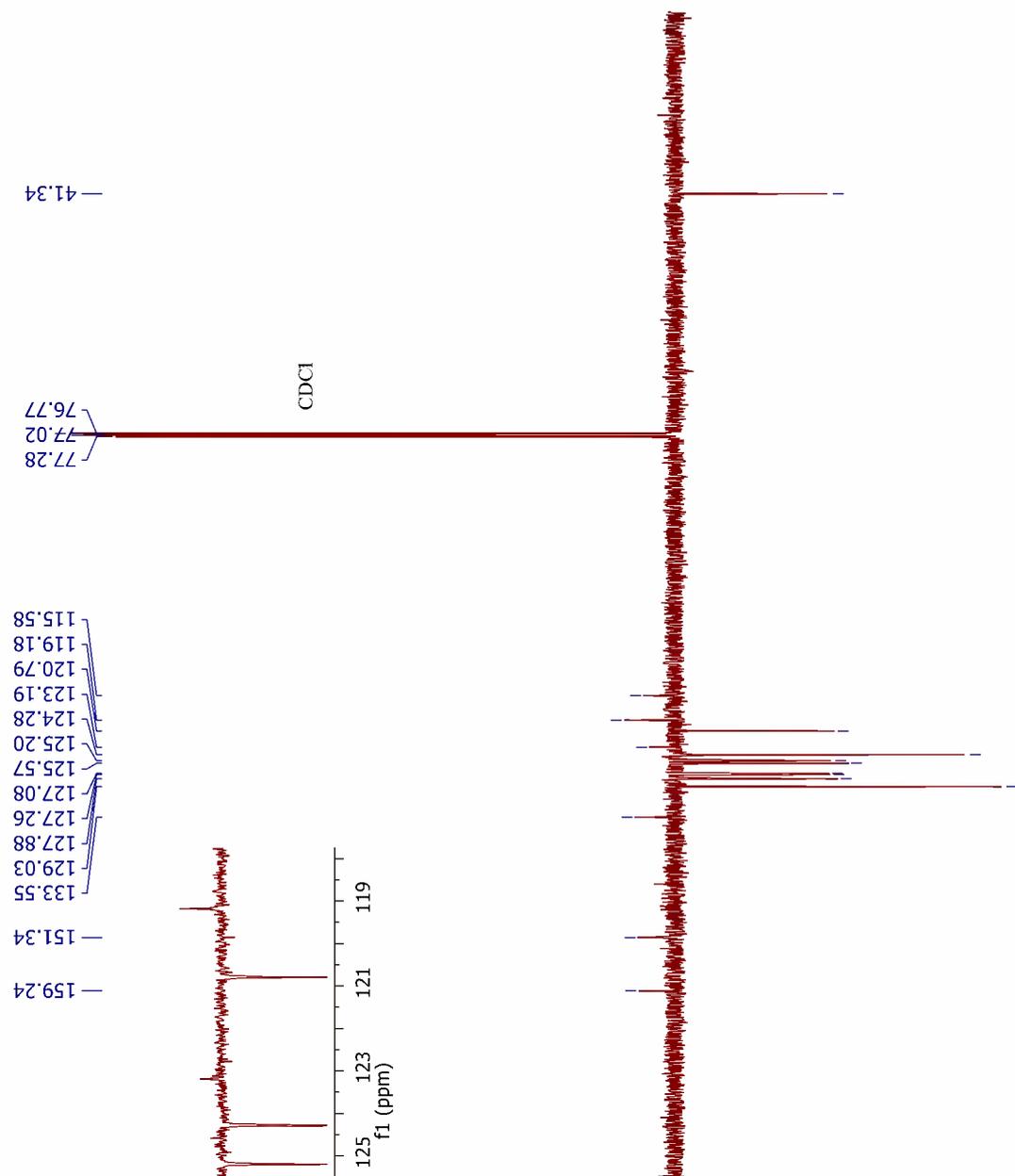
Anexo CXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 32



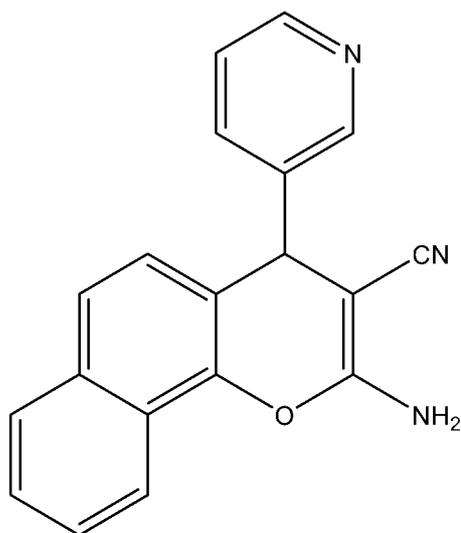
Anexo CXIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 32



Anexo CXX Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 32



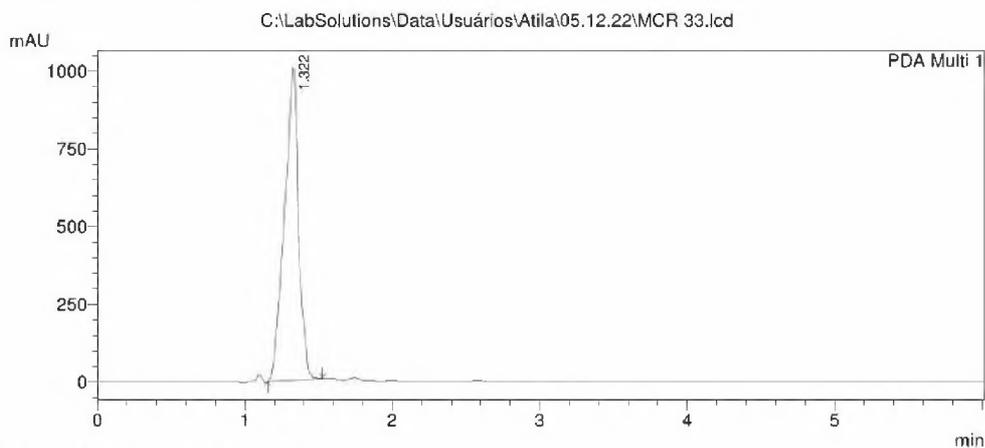
Anexo CXXI Molécula MCR 33



Anexo CXXII HPLC da Molécula MCR 33

C:\LabSolutions\Data\Usuários\Atila\05.12.22\MCR 33.lcd

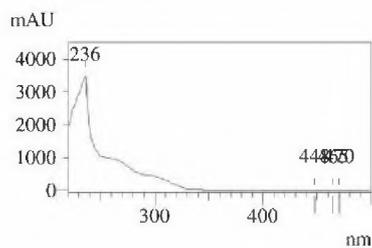
Acquired by : Rosane
 Injection Volume : 18 uL
 Data File Name : MCR 33.lcd
 Method File Name : Metodo Coleção MCR.lcm
 HPLC PROMINENCE Shimadzu LC-20AT, CBM-20A
 Detector PDA SPD-M20A, forno CTO-20A
 Coluna Luna C18 (10cm x4,6mm x5um)- Phenomex
 Método síntese
 Solvente: B:ACN (70%)- A: H2O:AcOH 1% (30%)
 Fluxo 1,0mL/min- Volume 20UI- pressão= 29kgf/c
 PDA=200-500nm
 TEMPO= 6MINUTOS
 Data Acquired : 5/12/2022 11:16:32
 Data Processed : 6/12/2022 07:00:06



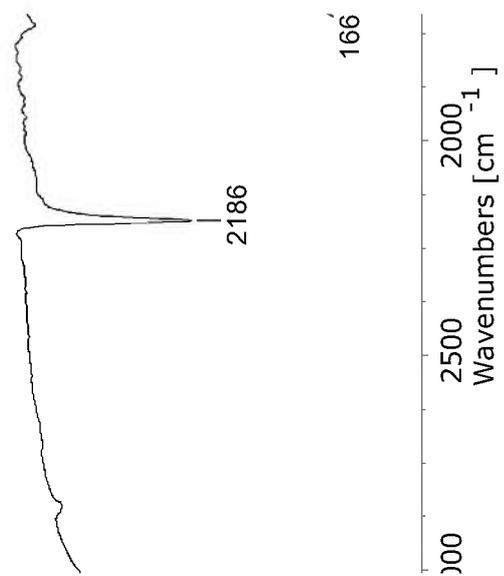
PeakTable

| Peak# | Ret. Time | Area % |
|-------|-----------|---------|
| 1 | 1.322 | 100.000 |
| Total | | 100.000 |

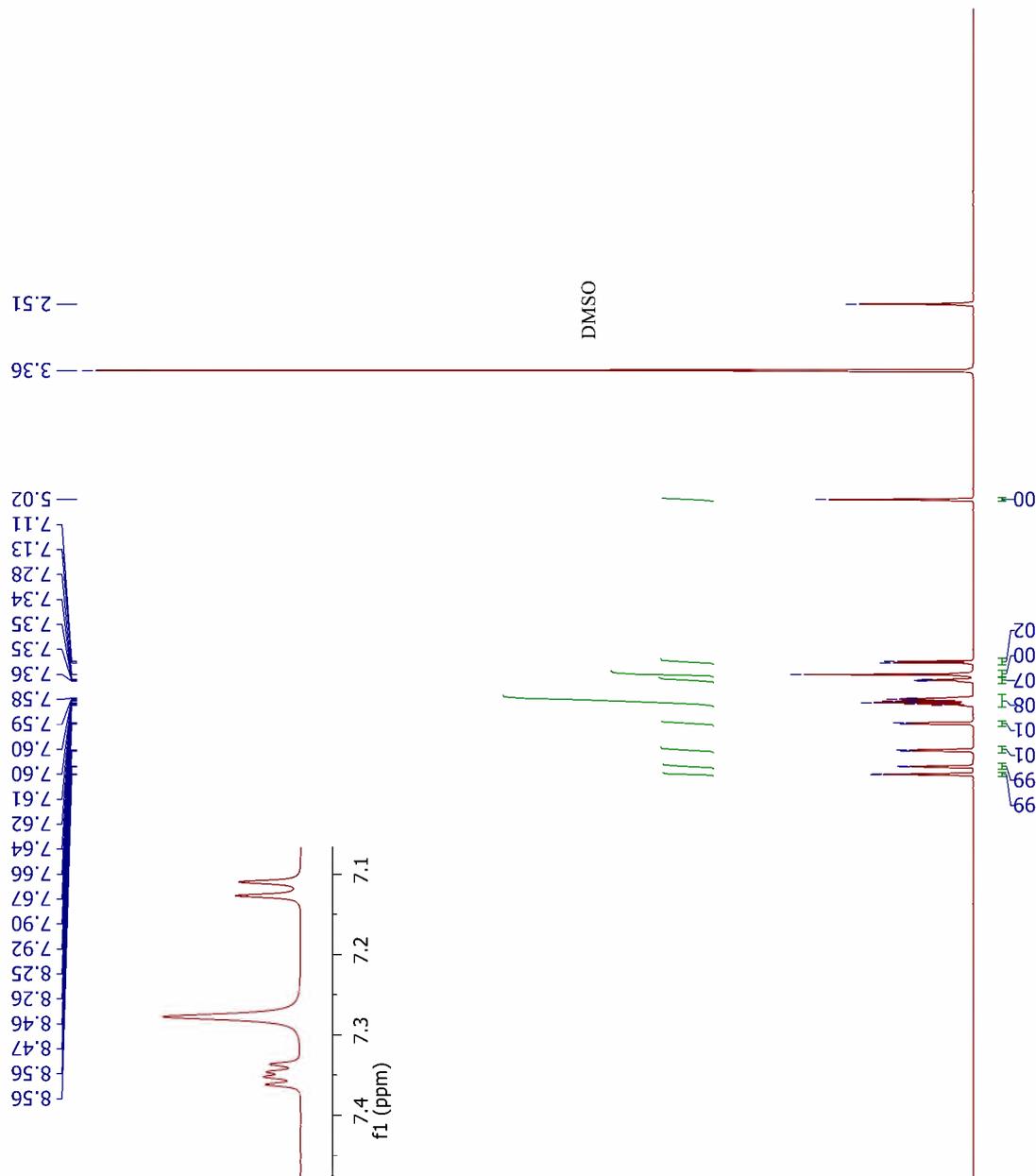
Retention Time : 1.322
 Compound Name : RT1.322



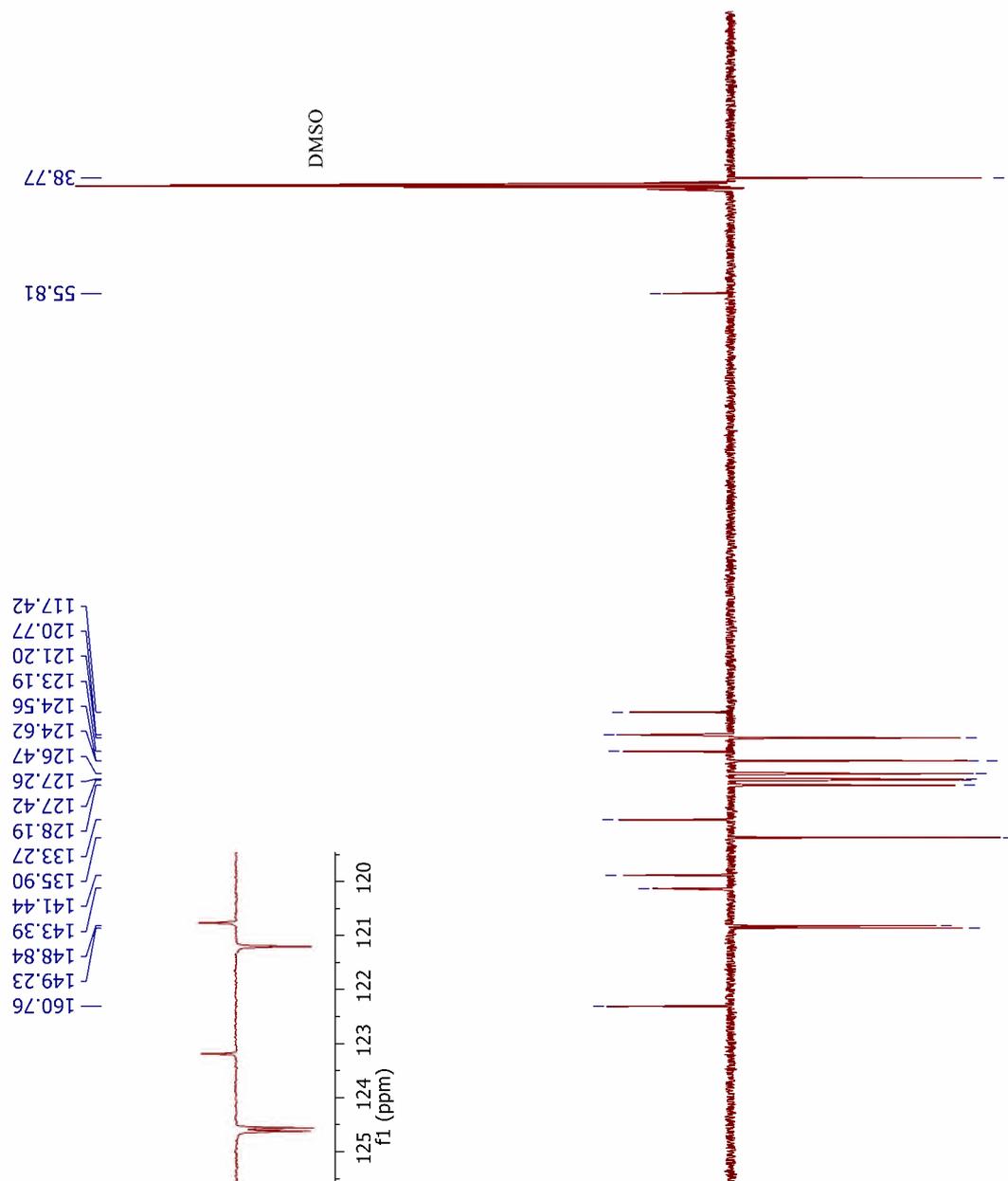
Anexo CXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 33



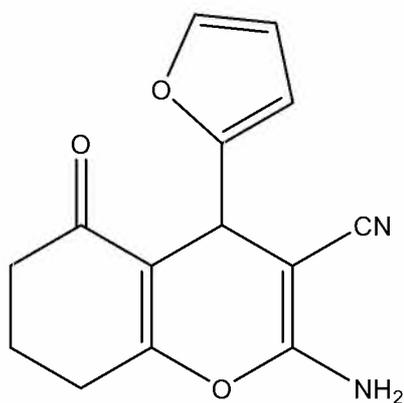
Anexo CXXIV Espectro de RMN ^1H da Molécula MCR 33



Anexo CXXV Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 33



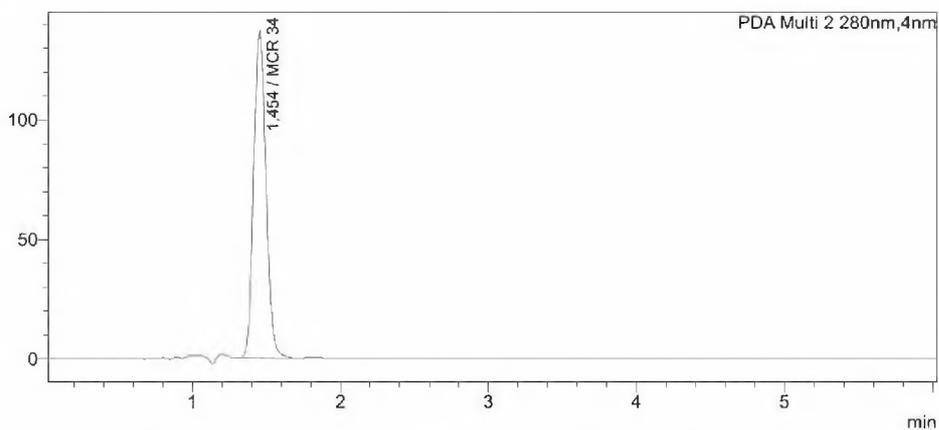
Anexo CXXVI Molécula MCR 34



Anexo CXXVII HPLC da Molécula MCR 34

Sample Name : MCR 34
 Data Filename : MCR 34a.lcd
 Method Filename : Metodo Síntese.lcm
 Injection Volume : 20 µL
 Date Acquired : 18/07/2023 10:34:00 Acquired by : ROSANE
 Date Processed : 18/07/2023 11:22:27
 HPLC Shimadzu LCMS 2020
 LC-20AD, SPD-M20A, CTO-20A, SIL-10AF-CBM-20A
 Metodo sINTESE
 Coluna Luna C18 (100mm x 4.6 mm x 5Um) -Phenomenex
 B:ACN- 1% (60%) :40% H2O (1 % AcOH)
 Fluxo 1.0 mL/min -Pressão 38kgf/cm2
 Forno 40C- PDA- 200-600nm
 Volume 10µL- 10min

mAU

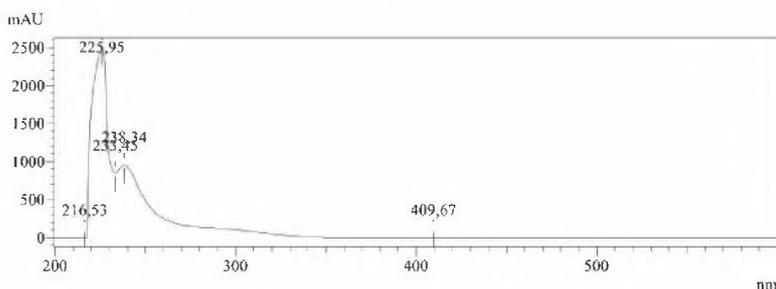


Peak Table

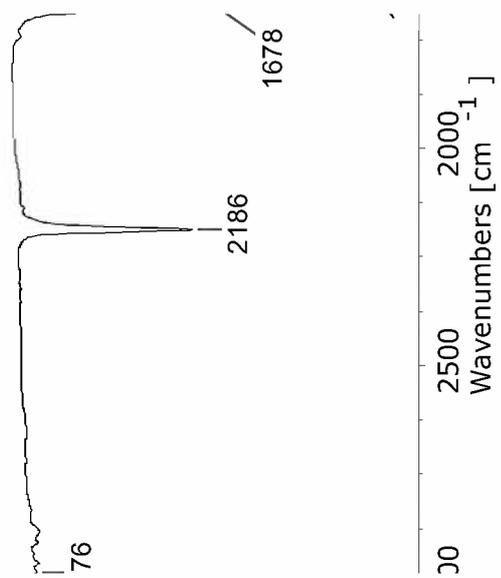
| Peak# | Ret. Time | Area | Height | Conc. | Name | Area% |
|-------|-----------|--------|--------|---------|--------|---------|
| 1 | 1.454 | 800159 | 136687 | 100,000 | MCR 34 | 100,000 |
| Total | | 800159 | 136687 | | | 100,000 |

UV Spectrum

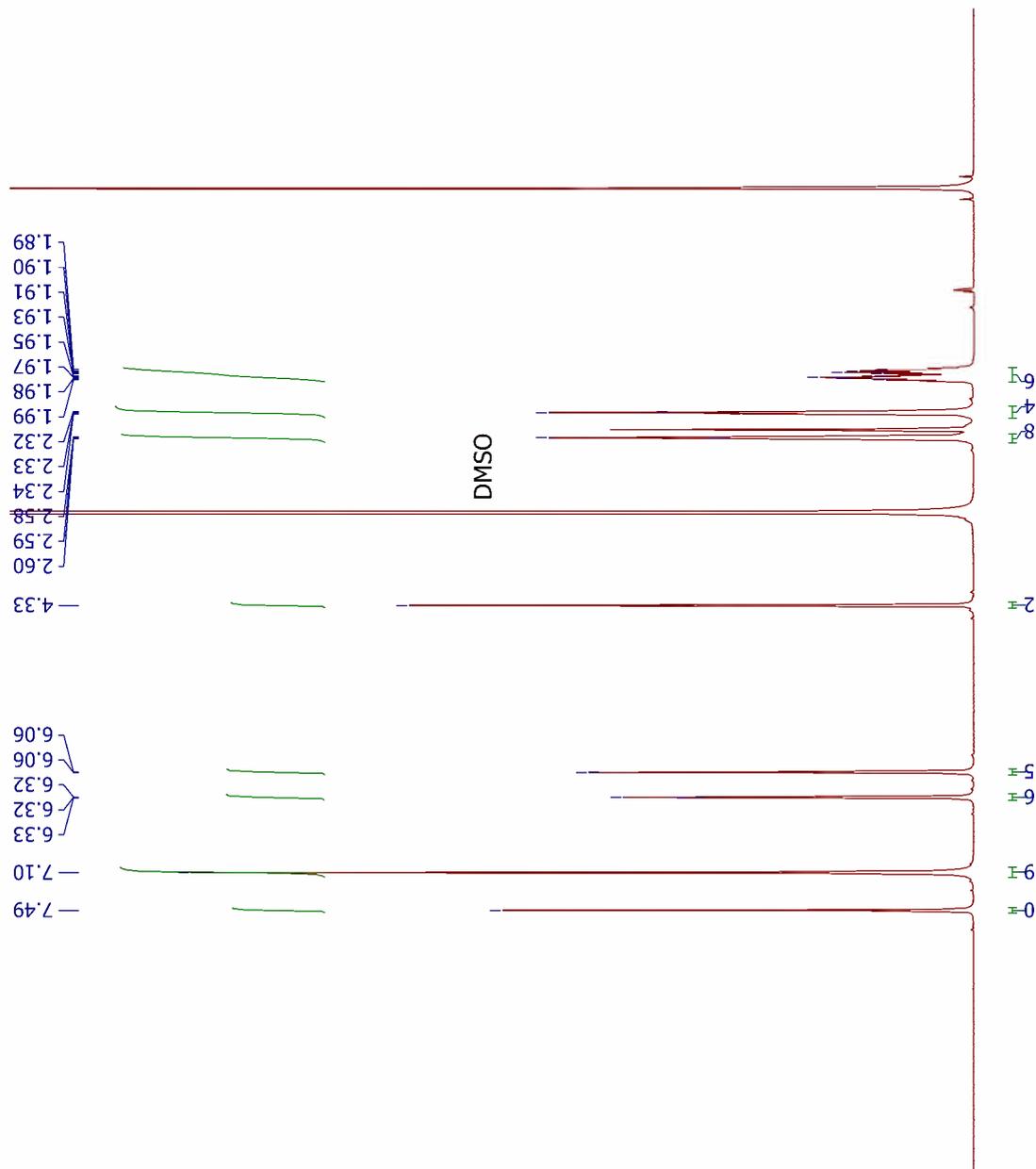
Retention Time : 1.454 min
 Compound Name : MCR 34



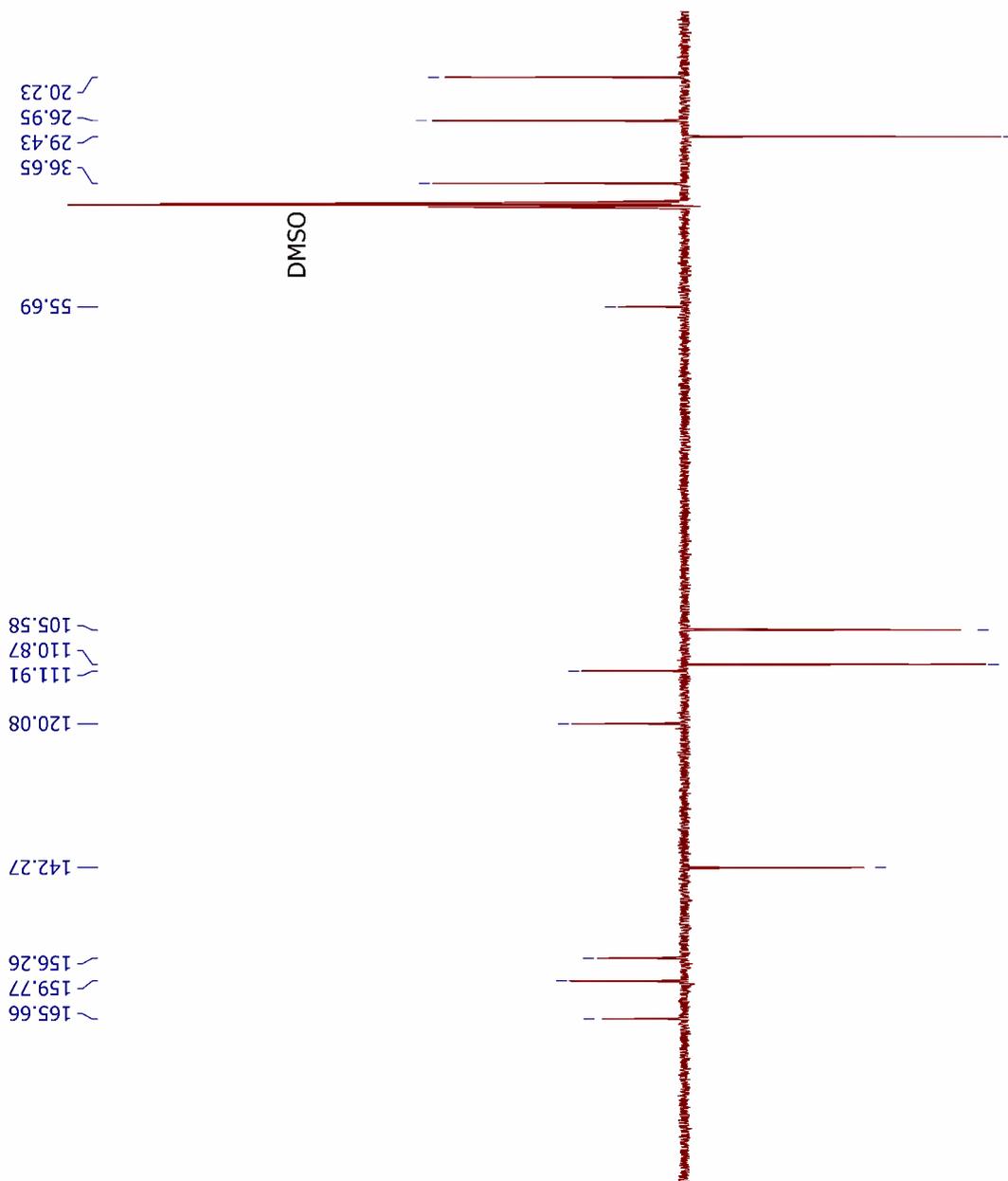
Anexo CXXVIII Espectro de IV da Molécula MCR 34



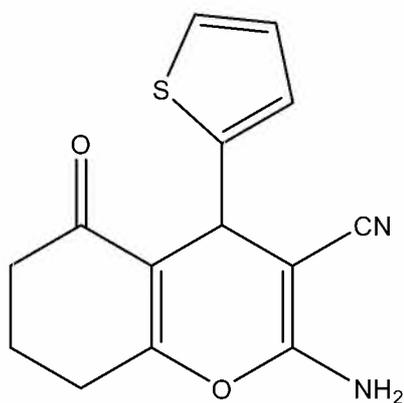
Anexo CXXIX Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 34



Anexo CXXX Espectro de RMN ¹³C da Molécula MCR 34



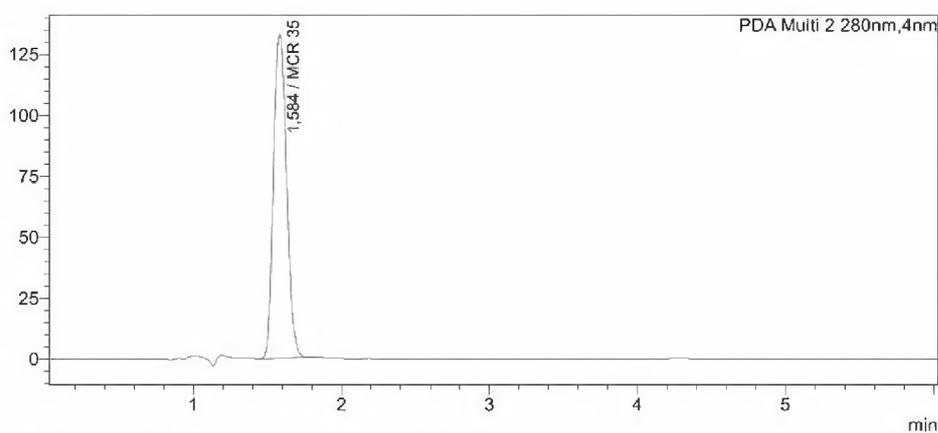
Anexo CXXXI Molécula MCR 35



Anexo CXXXII HPLC da Molécula MCR 35

Sample Name : MCR 35
 Data Filename : MCR 35a.lcd
 Method Filename : Metodo Sintese.lcm
 Injection Volume : 20 uL
 Date Acquired : 18/07/2023 10:41:30 Acquired by : ROSANE
 Date Processed : 18/07/2023 11:23:22
 HPLC Shimadzu LCMS 2020
 LC-20AD, SPD-M20A, CTO-20A, SIL-10AF-CBM-20A
 Metodo sINTESE
 Coluna Luna C18 (100mm x 4.6 mm x 5Um) -Phenomenex
 B:ACN- 1% (60%) :40% H2O (1 % AcOH)
 Fluxo 1.0 mL/min -Pressão 38kgf/cm2
 Forno 40C- PDA- 200-600nm
 Volume 10uL- 10min

mAU

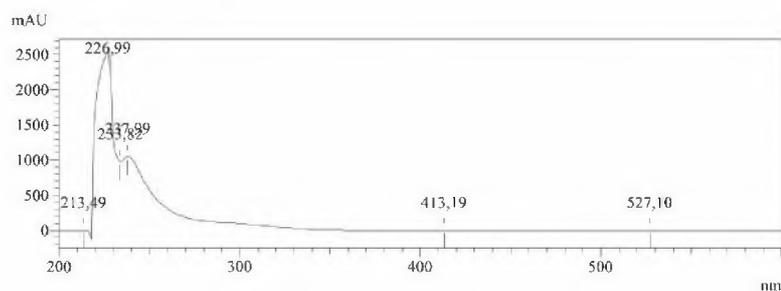


Peak Table

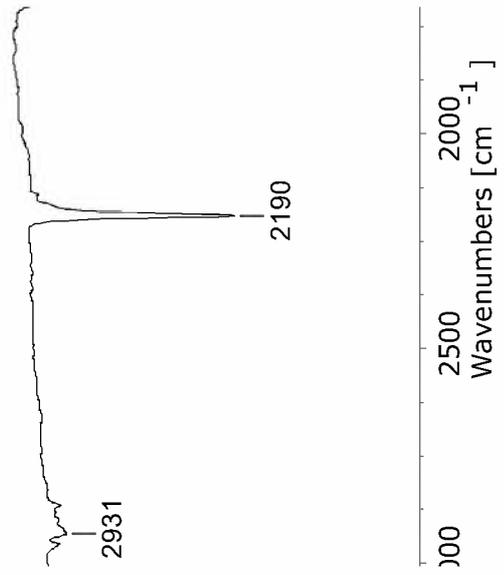
| Peak# | Ret. Time | Area | Height | Conc. | Name | Area% |
|-------|-----------|--------|--------|---------|--------|---------|
| 1 | 1.584 | 804707 | 132989 | 100,000 | MCR 35 | 100,000 |
| Total | | 804707 | 132989 | | | 100,000 |

UV Spectrum

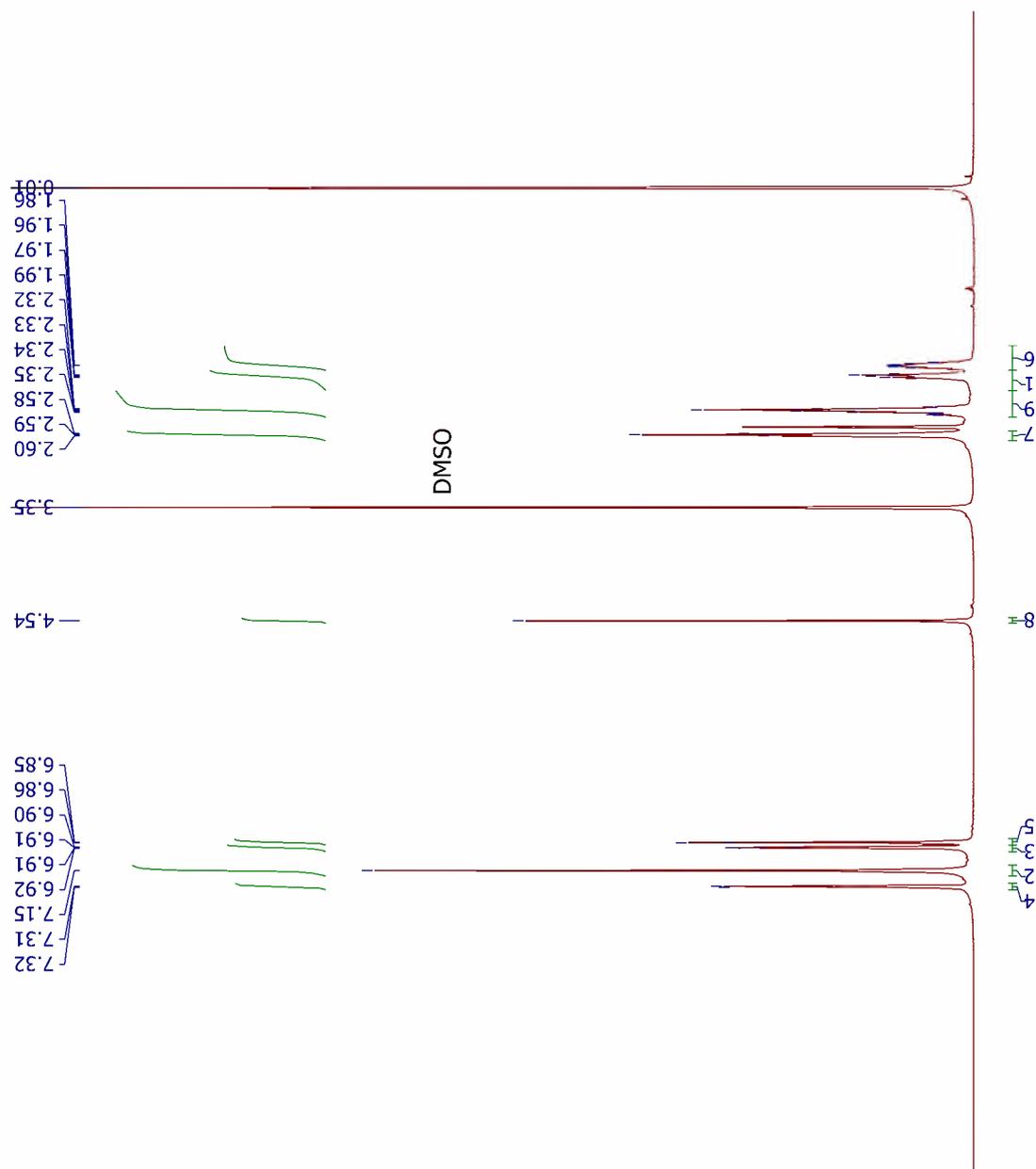
Retention Time : 1,584 min
 Compound Name : MCR 35



Anexo CXXXIII Espectro de IV da Molécula MCR 35



Anexo CXXXIV Espectro de RMN ¹H da Molécula MCR 35



Anexo CXXXV Espectro de RMN ^{13}C da Molécula MCR 35

