

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

Estudos com a xantona natural α -mangostina: planejamento, síntese de derivados, e avaliação de suas atividades antiparasitárias frente a amastigotas de *Trypanosoma cruzi*

Douglas Chaves de Alcântara Pinto

2022



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

**ESTUDOS COM A XANTONA NATURAL α -MANGOSTINA:
PLANEJAMENTO, SÍNTESE DE DERIVADOS, E AVALIAÇÃO DE
SUAS ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIAS FRENTE A
AMASTIGOTAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI***

DOUGLAS CHAVES DE ALCÂNTARA PINTO

Sob a orientação do Professor
Marco Edilson Freire de Lima

e co-orientação da Professora
Débora Decotè Ricardo de Lima

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química.

Seropédica, RJ
Outubro de 2022

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

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

P659e Pinto, Douglas Chaves de Alcântara, 1987-
ESTUDOS COM A XANTONA NATURAL ?-MANGOSTINA:
PLANEJAMENTO, SÍNTESE DE DERIVADOS, E AVALIAÇÃO DE
SUAS ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIAS FRENTE A AMÁSTIGOTAS
DE TRYPANOSOMA CRUZI / Douglas Chaves de Alcântara
Pinto. - Seropédica, 2022.
248 f.

Orientador: Marco Edilson Freire de Lima.
Coorientador: Débora Decotê Ricardo de Lima.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Química,
2022.

1. Doença de Chagas. 2. Garcinia mangostana. 3.
hibridação molecular. 4. quimioterapia
antiparasitária. I. Freire de Lima, Marco Edilson,
1965-, orient. II. Decotê Ricardo de Lima, Débora,
1965-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Química.
IV. Título.

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

DOUGLAS CHAVES DE ALCÂNTARA PINTO

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

TESE APROVADA EM 25/10/ 2022

Marco Edilson Freire de Lima
(Dr.) UFRRJ (Orientador)

Gustavo Henrique Goulart Trossini
(Dr.) USP

Fernando de Carvalho da Silva
(Dr.) UFF

Wanda Pereira Almeida
(Dr.^a) UNICAMP

Daniela Cosentino Gomes
(Dr.^a) UFRRJ



Emitido em 2022

TERMO Nº 1122/2022 - PPGQ (12.28.01.00.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 27/10/2022 10:35)

DANIELA COSENTINO GOMES
PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR
DBQ (11.39.00.24)
Matrícula: ###453#0

(Assinado digitalmente em 26/10/2022 16:47)

MARCO EDILSON FREIRE DE LIMA
PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR
DQO (11.39.00.23)
Matrícula: ###537#6

(Assinado digitalmente em 01/11/2022 06:48)

GUSTAVO HENRIQUE GOULART TROSSINI
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ######373-##

(Assinado digitalmente em 26/10/2022 15:33)

WANDA PEREIRA ALMEIDA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ######837-##

(Assinado digitalmente em 26/10/2022 13:55)

FERNANDO DE CARVALHO DA SILVA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ######197-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **1122**, ano: **2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **26/10/2022** e o código de verificação: **0d550627a4**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Deus por sua infinita misericórdia, pois no início de meu doutoramento fui diagnosticado com uma doença no coração, e estou completamente curado. Agradeço a minha esposa e companheira de todas as lutas, Mirian Cristina; aos meus pais, Maria Cristina e Dídimo de Alcântara, por me apoiarem incondicionalmente deste o início desta jornada; aos meus irmãos, Wallace e Patrik, e todas as pessoas que em algum momento me ajudaram de algum modo.

Meu agradecimento à professora Rosane Nora e seu grupo por toda ajuda e aconselhamentos, desde minha chegada no laboratório 48, LaQMed-LaQMel. Agradeço à amiga Joana D'arc pelo companheirismo e incentivos. Meus sinceros agradecimentos ao amigo Afonso Santine e ao casal de amigos Paulo Pitasse e Gabriela Alves, por estarem o tempo todo ao meu lado, ajudando, aconselhando, contribuindo sempre, são pessoas pelas quais eu tenho a maior consideração.

Agradeço muitíssimo ao meu orientador professor Marco Edilson Freire de Lima, pessoa boa e generosa, que sempre acredita no potencial dos alunos, pois confiou na minha capacidade, na minha evolução, acreditou em mim, e sempre me ajudou em todas as situações. Agradeço à Profa. Debora D. Ricardo, pelas discussões biológicas, que tanto acrescentaram à minha formação, e por disponibilizar a infraestrutura necessária à execução dos ensaios biológicos em seu laboratório no IV-UFRRJ.

Sem a ajuda de todas essas pessoas, tão importantes, tenho certeza de que não seria capaz de concluir esse trabalho de tese sozinho. Essa tese é dedicada a todos vocês. Muito obrigado, de coração.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química. Agradeço aos membros da banca por agregarem seus conhecimentos a esse trabalho. Agradeço a todos os técnicos e funcionários do IQ-UFRRJ. Agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por nos garantir ensino de excelência. Agradeço à **CAPES**, **CNPq** e **FAPERJ** pelos auxílios financeiros para a execução dos projetos em andamento em nosso grupo de pesquisa.

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

A humildade e o respeito pelo próximo é o segredo para o sucesso, mas não apenas na vida profissional. No final das contas, a evolução como ser humano é o maior dos conhecimentos que um homem pode adquirir e, é o que realmente importa. O respeito é a maior forma de amar alguém, e o amor, é o maior dos mandamentos que Deus nos deixou, pois no final de tudo, somos todos iguais perante a ele.

RESUMO

CHAVES-ALCÂNTARA-PINTO, Douglas. **Estudos com a xantona natural α -mangostina: planejamento, síntese de derivados, e avaliação de suas atividades antiparasitárias frente a amastigotas de *Trypanosoma cruzi*.** 2022, 248p. Tese (Doutorado em Química, Química Orgânica). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

A doença de Chagas ou tripanossomíase americana, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* é uma doença crônica que, até o momento, não há tratamento quimioterápico eficaz. Esta parasitose causa importantes impactos na saúde pública do Brasil, além de outros países das Américas e, atualmente, por conta de fluxos migratórios e alterações climáticas, tem sido recorrente o aparecimento da doença em regiões não endêmicas, é uma das doenças consideradas negligenciadas pela OMS. Este trabalho faz parte de uma linha de pesquisa que tem como objetivo o uso de produtos naturais abundantes e acessíveis no planejamento, síntese e avaliação biológica de novas moléculas com potencial aplicação na quimioterapia da doença de Chagas. Os resultados descritos nesta tese envolvem a extração, o planejamento, a síntese e a avaliação da atividade tripanocida de derivados diretos da xantona natural α -mangostina, isolada do pericarpo dos frutos de *Garcinia mangostana*, assim como híbridos moleculares contendo uma ponte do tipo 1,2,3-triazol, ligada aos sistemas nitroeterociclos 2-nitroimidazol e 5-nitroimidazol, com rendimento global para os derivados diretos entre 67-98%, e para os híbridos valores de rendimentos de 77-94%. Os derivados obtidos foram avaliados quanto às suas atividades tóxicas frente a amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) e células da linhagem LCC-MK2, os derivados diretos apresentaram valores de IC₅₀ entre 2,65-52,4 μ M, e para os derivados híbridos mais ativos os valores de atividades se encontram entre 2,1-3,2 μ M. O conjunto de resultados obtidos nesta tese demonstram o potencial da xantona natural no desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de Chagas.

Palavras-chave: Doença de Chagas, *Garcinia mangostana*, hibridação molecular, quimioterapia antiparasitária.

ABSTRACT

CHAVES-ALCÂNTARA-PINTO, Douglas. **Studies with the natural xanthone α -mangostine: design, synthesis of derivatives, and evaluation of their antiparasitic activities against *Trypanosoma cruzi* amastigotes.** 2022. 248p. Thesis (Doctorate in Chemistry, Organic Chemistry). Institute of Chemistry, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Chagas disease or American trypanosomiasis is a chronic infectious disease caused by the hemoflagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*, for which there is currently no effective chemotherapy treatment. This parasitic disease causes important impacts on public health in Brazil, in addition to other countries in Americas. Currently, due to migratory flows and climate changes, the appearance of the disease has been recurrent in non-endemic regions, it is one of the diseases considered as neglected by WHO. This work is part of a research line aiming the use of abundant and accessible natural products in the design, synthesis and biological evaluation of new molecules with potential application in the chemotherapy of Chagas disease. The results described in this thesis involve the extraction, the design, the synthesis and evaluation of the trypanocidal activity of direct derivatives of the natural xanthone α -mangostine, isolated from the pericarp of the fruits of *Garcinia mangostana*, as well as heterocyclic molecular hybrids with a 1,2,3-triazole bridge containing 2-nitroimidazole and 5-nitroimidazole nitroheterocycle systems, with an overall yield for the direct derivatives between 67-98%, and for the hybrids yield values of 77-94%. The derivatives obtained were evaluated for their toxic activities against *T. cruzi* amastigotes (Tulahuen C2C4 LacZ strain) and in the LCC-MK2 cell line, the direct derivatives showed IC₅₀ values between 2.65-52.4 μ M, and for the most active hybrid derivatives activity values are between 2.1-3.2 μ M. The set of results obtained in this thesis demonstrate the potential of natural α -mangostine in the development of new therapeutic alternatives for the treatment of Chagas disease.

Keywords: Chagas disease, *Garcinia mangostana*, molecular hybridization, antiparasitic chemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição de todos os fármacos inseridos no mercado farmacêutico, entre 1981 a 2019. (Adaptado de NEWMAN & CRAGG, 2020).....	2
Figura 2. Numeração dos átomos de carbono presentes no núcleo xantônico básico....	3
Figura 3. Representantes das classes das xantonas naturais.....	4
Figura 4. (A) Fruto de <i>Garcinia mangostana</i> , o mangostão (https://www.needpix.com/photo/887745/); (B) Cristais de α -mangostina, isolados em nosso laboratório; (C) Estrutura de seu principal componente, a xantona prenilada α -mangostina, isolada do pericarpo (de cor púrpura) dos frutos.	7
Figura 5. Gráfico de trabalhos publicados nos últimos 20 anos, envolvendo estudos com a xantona natural α -mangostina (https://clarivate.com/products/web-of-science/databases , 2022).....	9
Figura 6. Estrutura de ressonância da molécula de xantona (A); Forma zwitteriônica (B).	17
Figura 7. Síntese do derivado Tetra-hidro- α -mangostina (15) e seus análogos. (Adaptado de SUDTA et al., 2013).....	19
Figura 8. Derivado 3-(ciclopentiloxi)-6,8-di-hidroxi-2-metoxi-1,7-bis(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xantona (FKS9); Interação entre FKS9 e principal protease do SARS-CoV-2. (Adaptado de HIDAYA et al., 2021).....	22
Figura 9. Derivados da α -mangostina mais ativos obtidos no trabalho de Chi e colaboradores. (Adaptado de CHI et al., 2018).....	23
Figura 10. Xantonas preniladas ativas contra o <i>T. cruzi</i> e <i>T. brucei</i> (Adaptado de MBWAMBO et al., 2006).....	25
Figura 11. Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> , agente causador da doença de Chagas, mostrando as formas celulares presentes em hospedeiros vertebrado e invertebrado. Adaptado de <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html).....	26
Figura 12. Imagem do barbeiro, vetor da doença de Chagas. (http://www.fiocruz.br/ioc/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=215).....	27
Figura 13. Distribuição da doença de Chagas no mundo (WHO, 2018).....	29
Figura 14. Fármacos com atividade tripanocida, Nifurtimox e do Benznidazol.....	30
Figura 15. Estrutura molecular do híbrido metronidazol-1,2,3-triazol-eugenol.	31
Figura 16. Estrutura dos principais compostos avaliados <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> contra <i>T. cruzi</i> , incluindo o candidato a ensaio clínico avançado, AN15368. (Adaptado de PADILLA et al., 2022).....	33
Figura 17. Aparelhagem de Soxhlet.....	40
Figura 18. Análise HPLC para o extrato bruto de <i>G. mangostana</i>	41
Figura 19. Equipamento Isolera, ACI – <i>Accelerated Chromatographic Isolation</i>	42
Figura 20. LCMS-PDA (200–400 nm) da α -mangostina. Condições de análise: t = 0 min, 50% B; t = 5 min, 95% B; t = 12 min, 95% B; t = 13 min, 50% B.	45
Figura 21. Cromatograma de análise HPLC-DAD para o extrato bruto obtido a partir dos frutos secos de <i>G. mangostana</i>	147
Figura 22. Método clássico de purificação de α -mangostina.....	148
Figura 23. Metodologia otimizada de purificação de α -mangostina em sistema de cromatografia <i>Flash-Isolera</i>	149
Figura 24. Estruturas das xantonas naturais gartanina (1) e α -mangostina (2), isoladas de <i>G. mangostana</i> , com seus respectivos valores de IC ₅₀ , frente a amastigotas do <i>T. cruzi</i> (cepa Tulauhen- <i>LacZ</i>).	151

Figura 25. Derivados do tipo Mannich, mono-substituídos, sintetizados a partir da α -mangostina por Buravlev et al., 2018.....	163
Figura 26. Estudo computacional utilizando os métodos semi-empírico e Hartree-Fock para avaliação da regioseletividade nas reações de Mannich. Estrutura otimizada do produto natural α -mangostina (A), mapa potencial de densidade eletrônica (B), tabela contendo os métodos usados e valores das cargas eletrostáticas e Mulliken (C).....	165
Figura 27. Mecanismo de formação das bases de Mannich.	167
Figura 28. Formação de metabólitos nitroso e <i>N</i> -aril-hidroxilamina, que por ação enzimática origina-se o composto reduzido 2-aminoimidazol ou há formação do íon nitrênio, que sofre di-hidroxilação levando a formação de um intermediário que estabelece equilíbrio gerando uma molécula de glioxal e um derivado guanidínico. (Adaptado de SUETH-SANTIAGO et al., 2017).....	171
Figura 29. Formação dos híbridos da piperina contendo o sistema 1,2,4-triazol (Adaptado de FRANKLIM et al., 2013).	173
Figura 30. Derivados contendo em suas estruturas o sistema 1,2,4-triazol ativos contra amastigotas de <i>T. cruzi</i> . (Adaptado de PAPADOPOULOU et al., 2013).	174
Figura 31. Fármacos aprovados e potenciais candidatos contendo em suas estruturas o sistema 1,2,3-triazol.....	188
Figura 32. Conjugação mediada, via reação <i>Click</i> , de uma sapogenina antiviral, não específica, com um inibidor de fusão do HIV. (Adaptado de WANG et al., 2014).....	189
Figura 33. Gráfico de viabilidade percentual média (n = 3) após o tratamento com α -mangostina (Mgt) e híbridos <i>mono</i> -substituídos. Viabilidade de amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen C2C4 LacZ) (barras sólidas), determinada pela clivagem enzimática de CPRG. Viabilidade de células hospedeiras LLC-MK2 (barras quadriculadas), determinada pelo método MTT. * = P < 0,05.	203
Figura 34. Gráfico de viabilidade percentual média (n = 3) após o tratamento com α -mangostina (Mgt) e híbridos <i>bis</i> -substituídos. Viabilidade de amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen C2C4 LacZ) (barras sólidas), determinada pela clivagem enzimática de CPRG. Viabilidade de células hospedeiras LLC-MK2 (barras quadriculadas), determinada pelo método MTT. * = P < 0,05.	203

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Via biossintética para formação de xantonas (Adaptado de WEZEMAN, BRÄSE & MASTERS, 2015).	11
Esquema 2. Mecanismo de acoplamento regioseletivo para 2,3',4,6-tetraidroxibenzofenona.	12
Esquema 3. Abordagem descrita por Nishiyama e colaboradores para a síntese total da α -mangostina.	14
Esquema 4. Abordagem de Wang para a síntese de α - e β -mangostina.	15
Esquema 5. Esquema de acoplamento reacional para os híbridos (6 - 9). (Adaptado de PELOZO et al., 2021).	32
Esquema 6. Reação de hidrogenação catalítica da α -mangostina, síntese do derivado 3.	48
Esquema 7. Reação de <i>O</i> -alquilação da α -mangostina: síntese dos derivados 4a e 4b.	52
Esquema 8. Reação de formação do derivado cíclico da α -mangostina 5.	59
Esquema 9. Reação de formação do derivado tetacíclico cromeno 5 da α -mangostina.	63
Esquema 10. Reação de acetilação da α -mangostina, preparação dos derivados α -mangostina-6- <i>O</i> -bis-acetato 7a e α -mangostina-3,6- <i>O</i> -tri-acetato 7b.	67
Esquema 11. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados 8a e 8b.	74
Esquema 12. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados 9a e 9b.	82
Esquema 13. Reação de formação do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina 10.	90
Esquema 14. Síntese do híbrido α -mangostina-3- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol 11.	93
Esquema 15. Reação de formação dos intermediários 3,6-bromoetoxi- α -mangostina 12.	97
Esquema 16. Formação do derivado α -mangostina-bis-3,6- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol 13.	100
Esquema 17. Reação de formação do intermediário 14.	104
Esquema 18. Formação do híbrido α -mangostina-6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol 15.	109
Esquema 19. Síntese do híbrido α -mangostina-bis-3,6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol 16.	113
Esquema 20. Formação dos intermediários <i>N</i> -etil-azida-2-nitroimidazol e <i>N</i> -etil-azida-azida-5-nitroimidazol.	117
Esquema 21. Reação de formação dos intermediários α -mangostina- <i>O</i> -propargílicos 19 e 20.	118
Esquema 22. Reação de formação do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 21.	125
Esquema 23. Reação de formação do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 22.	129
Esquema 24. Formação do derivado α -mangostina-1,2,3-triazol-5-nitroimidazol 23.	134
Esquema 25. Reação de formação do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 24.	138
Esquema 26. Hidrogenação catalítica da α -mangostina, obtenção do derivado (3).	152
Esquema 27. Reação de alquilação da α -mangostina, síntese do derivado (4a) e (4b).	153
Esquema 28. Reação de ciclização ácido catalisada da α -mangostina, síntese do derivado cromona (5).	154
Esquema 29. Proposta mecanística para a formação do derivado tetracíclico cromona (5).	156
Esquema 30. Reação de ciclização da α -mangostina, síntese do derivado (6).	157

Esquema 31. Proposta mecanística para a formação do cromeno 6 pelo uso de DDQ (HUANG et al., 2013; ALSHARIF et al., 2021).....	158
Esquema 32. Reação de acetilação da α -mangostina, síntese dos derivados (7a) e (7b).	159
Esquema 33. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados (8a) e (8b).	166
Esquema 34. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados (9a) e (9b).	169
Esquema 35. Formação do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (10).	174
Esquema 36. Síntese do derivado α -mangostina-6-etil-2-nitroimidazol (11).	175
Esquema 37. Preparação do intermediário 3,6- <i>bis</i> -bromoetoxi- α -mangostina (12)..	176
Esquema 38. Síntese do derivado α -mangostina-3,6- <i>O-bis</i> -etil-2-nitroimidazol (13).177	
Esquema 39. Formação do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (14).	178
Esquema 40. Síntese do derivado α -mangostina-6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol (15).	180
Esquema 41. Síntese do derivado α -mangostina-3,6- <i>O-bis</i> -etil-5-nitroimidazol (16).181	
Esquema 42. Formação dos intermediários azida-2-nitroimidazol (17) e azida-5-nitroimidazol (18).	182
Esquema 43. Mecanismo de formação das azidas (17) e (18).....	183
Esquema 44. Preparação dos intermediários α -mangostina <i>mono</i> e <i>bis-O</i> -propargil (19) e (20).	184
Esquema 45. Síntese de 1,2,3-triazóis via cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos terminais (CuAAC).	186
Esquema 46. Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol)-2-nitroimidazol (21).	189
Esquema 47. Representação simplificada das etapas de formação de ligações C–N na reação de acetiletos de cobre(I) com azidas orgânicas.	191
Esquema 48. A - Mecanismo de formação do sistema 1,2,3-triazol via CuAAC, baseado no envolvimento de complexos de Cu(I) mononuclear. (Adaptado de HEIN & FOKIN, 2010). B - Mecanismo da reação CuAAC baseado nos complexos dinucleares (Adaptado de WORRELL et al., 2013.	194
Esquema 49. Síntese do híbrido α -mangostina-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (22).	195
Esquema 50. Síntese do híbrido α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (23).	196
Esquema 51. Síntese do híbrido α -mangostina-3,6- <i>bis</i> -(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (24).	197

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para gartanina 1	44
Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para <i>α</i> -mangostina 2	47
Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado tetra-hidro- <i>α</i> -mangostina 3	51
Tabela 4. Deslocamento químico de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado 6,7-dimetoxi <i>α</i> -mangostina 4a	55
Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado 3,6,7-trimetoxi <i>α</i> -mangostina 4b	58
Tabela 6. Deslocamento químico de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado tetracíclico 3-isomangostina 5	62
Tabela 7. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C observados para o derivado tetracíclico cromeno da <i>α</i> -mangostina 6	66
Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-3,6- <i>O</i> -bis-acetato 7a	70
Tabela 9. Deslocamento químico de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-1,3,6- <i>O</i> -triacetato 7b	73
Tabela 10. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado C-4-morfolinametil- <i>α</i> -mangostina 8a	77
Tabela 11. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado C-4,5-bis-morfolinametil- <i>α</i> -mangostina 8b	81
Tabela 12. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado C-4-tiomorfolinametil- <i>α</i> -mangostina 9a	86
Tabela 13. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado C-4,5-bis-tiomorfolinametil- <i>α</i> -mangostina 9b	89
Tabela 14. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado 6-bromoetoxi- <i>α</i> -mangostina 10	92
Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o híbrido <i>α</i> -mangostina- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol 11	96
Tabela 16. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o intermediário bis-alquilado 3,6-bromoetoxi- <i>α</i> -mangostina 12	99
Tabela 17. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o híbrido <i>α</i> -mangostina-bis-3,6- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol 13	103
Tabela 18. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o metronidazol... 106	106
Tabela 19. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol 14	108
Tabela 20. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado híbrido <i>α</i> -mangostina-6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol 15	112
Tabela 21. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o híbrido 16	116
Tabela 22. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-6- <i>O</i> -propargil 19	121
Tabela 23. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-bis-3,6- <i>O</i> -propargil 20	123
Tabela 24. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 21	128
Tabela 25. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 22	133
Tabela 26. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado <i>α</i> -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 23	137

Tabela 27. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para o derivado α -mangostina- <i>bis</i> -3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol 24	141
Tabela 28. Métodos, rendimentos e tempo para cada processo de purificação.	149
Tabela 29. Atividades dos derivados (3 – 7b) de α -mangostina 2 contra amastigotas de <i>T. cruzi</i> , e suas respectivas citotoxicidades frente à célula hospedeira LLC-MK2.	201
Tabela 30. Viabilidade percentual dos derivados (8a - 9b) de α -mangostina 2 , relativo ao controle não tratado.	202
Tabela 31. Valores médios com desvios padrão de viabilidade celular, após o tratamento a 10 μ M com híbridos <i>mono</i> -substituídos (11, 15, 21, 23) e <i>bis</i> -substituídos (13, 16, 22, 24) relativa aos controles não-tratados de amastigotas de <i>T. cruzi</i> e de células LLC-MK2.	204
Tabela 32. Valores médios de CI ₅₀ observados após o tratamento de amastigotas intracelulares de <i>T. cruzi</i> e de células LLC-MK2 para os derivados híbridos nitroimidazólicos de α -mangostina, e seus respectivos índices de seletividade (IS). ..	205

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro RMN ¹ H da gartanina 1 em CDCl ₃ a 500 MHz.....	42
Espectro 2. Espectro de RMN ¹³ C da gartanina 1 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	43
Espectro 3. Espectro de massas para o produto natural gartanina 1	43
Espectro 4. LRMS(ESI+) espectro de massas da α -mangostina 2	45
Espectro 5. Espectro RMN ¹ H de α -mangostina 2 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	46
Espectro 6. Espectro de RMN ¹³ C de α -mangostina 2 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	47
Espectro 7. Espectro RMN ¹ H do derivado 3 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	49
Espectro 8. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 3 em CDCl ₃ a 125 MHz.	50
Espectro 9. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado 3	50
Espectro 10. Espectro RMN ¹ H do derivado 4a , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	53
Espectro 11. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 4a , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	54
Espectro 12. Espectro de massas de massas (EM) (ESI-) para o derivado 4a	54
Espectro 13. Espectro RMN ¹ H do derivado 4b , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	56
Espectro 14. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 4b , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	57
Espectro 15. Espectro de massas (EM) [M-1] para o derivado 4b	57
Espectro 16. Espectro RMN ¹ H do derivado 5 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	60
Espectro 17. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 5 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	61
Espectro 18. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado 5	61
Espectro 19. Espectro RMN ¹ H do derivado 6 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	64
Espectro 20. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 6 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	65
Espectro 21. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado 6	65
Espectro 22. Espectro RMN ¹ H do derivado 7a , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	68
Espectro 23. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 7a , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	69
Espectro 24. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado 7a	69
Espectro 25. Espectro RMN ¹ H do derivado 7b , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	71
Espectro 26. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 7b , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	72
Espectro 27. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado 7b	72
Espectro 28. Espectro RMN ¹ H do derivado 8a , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	75
Espectro 29. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 8a , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	76
Espectro 30. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado 8a	77
Espectro 31. Espectro RMN ¹ H do derivado 8b , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	79
Espectro 32. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 8b , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	80
Espectro 33. espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado 8b	81
Espectro 34. Espectro RMN ¹ H do derivado 9a , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	84
Espectro 35. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 9a , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	85
Espectro 36. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado 9a	85
Espectro 37. Espectro RMN ¹ H do derivado 9b , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	87
Espectro 38. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 9b , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	88
Espectro 39. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado 9b	88
Espectro 40. Espectro RMN ¹ H do intermediário 10 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	91
Espectro 41. Espectro de RMN ¹³ C do intermediário 10 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	92
Espectro 42. Espectro RMN ¹ H do híbrido 11 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 500 MHz.	94
Espectro 43. Espectro de RMN ¹³ C do híbrido 11 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 125 MHz.	95
Espectro 44. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado híbrido 11	95
Espectro 45. Espectro RMN ¹ H do derivado 12 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	98
Espectro 46. Espectro de RMN ¹³ C do derivado 12 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	99
Espectro 47. Espectro RMN ¹ H do híbrido 13 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	101
Espectro 48. Espectro de RMN ¹³ C do híbrido 13 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	102

Espectro 49.	Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado híbrido 13	102
Espectro 50.	Espectro RMN ¹ H para o metronidazol, em CDCl ₃ , a 500 MHz.	105
Espectro 51.	Espectro de RMN ¹³ C para o metronidazol, em CDCl ₃ , a 125 MHz.	105
Espectro 52.	Espectro RMN ¹ H do intermediário 14 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 500 MHz.	107
Espectro 53.	Espectro de RMN ¹³ C do intermediário 14 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 125 MHz.	108
Espectro 54.	Espectro RMN ¹ H do híbrido 15 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	110
Espectro 55.	Espectro de RMN ¹³ C do híbrido 15 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	111
Espectro 56.	espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 15	111
Espectro 57.	Espectro RMN ¹ H do híbrido 16 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.....	114
Espectro 58.	Espectro de RMN ¹³ C do híbrido 16 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.....	115
Espectro 59.	Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 16	115
Espectro 60.	Espectro RMN ¹ H do derivado 19 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	119
Espectro 61.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 19 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	120
Espectro 62.	Espectro RMN ¹ H do derivado 20 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	122
Espectro 63.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 20 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	123
Espectro 64.	Espectro RMN ¹ H do derivado 21 , em CDCl ₃ /MeOD, a 500 MHz.....	126
Espectro 65.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 21 em CDCl ₃ /MeOD, a 125 MHz. .	127
Espectro 66.	Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 21	128
Espectro 67.	Espectro RMN ¹ H do derivado 22 , em CDCl ₃ , a 500 MHz.	131
Espectro 68.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 22 , em CDCl ₃ , a 125 MHz.	132
Espectro 69.	Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 22	132
Espectro 70.	Espectro RMN ¹ H do derivado 23 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 500 MHz.	135
Espectro 71.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 23 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 125 MHz.	136
Espectro 72.	Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 23	136
Espectro 73.	Espectro RMN ¹ H do derivado 24 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 500 MHz.....	139
Espectro 74.	Espectro de RMN ¹³ C do derivado 24 , em DMSO- <i>d</i> ₆ , a 125 MHz.	140
Espectro 75.	Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido 24	140

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

CCD = Cromatografia em camada delgada
CCDA = Cromatografia em camada delgada analítica
CI₅₀ = Concentrao Inibitória de 50%
CLAE = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPRG = Do inglês: *Chlorophenol red β -D-galactopyranoside*
CuAAC = Do inglês: *Copper-catalysed azide-alkyne cycloaddition*
d = duplete
m = mutliplete
dd = duplo duplete
DC = Doença de Chagas
DDQ = 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DCM = Diclorometano
DMAP = 4-dimetilamino-piridina
DMEM = Do inglês: *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*
DMF = *N, N*-Dimetilformamida
DMSO = Dimetilsulfóxido
DTN's = Doenças Tropicais Negligenciadas
ESI = Espectrometria de Massa com ionizao por Eletronspray
UV = Ultra-violeta
J = constante de acoplamento
M⁺ = on Molecular
MTT = (4,5-dimetil-2-{(E)-[(Z)-fenil(2-fenilhidrazinilideno)metil]diazetil}-1,3-tiazol
m/z = razão massa-carga
NTR = Enzima nitroredutases
PBS = Do inglês: *Phosphate buffer solution*
P.F. = Ponto de fusão
ppm = parte por milhão
RMN ¹ H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
SAR = Do inglês: *Structure-activity relationship*
SFB = Soro Fetal Bovino
TEA = Trietilamina
δ = deslocamento químico
λ = comprimento de onda
s = simpleto
t = tripleto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Importância dos produtos naturais em química medicinal.....	1
1.2 Características e classificação química das xantonas.....	2
1.3 A xantona prenilada α -mangostina e suas atividades biológicas.....	6
1.4 Biossíntese de xantonas.....	10
1.5 Síntese total da α -mangostina.....	13
1.6 Modificações estruturais sobre o produto natural α -mangostina.....	16
1.7 A doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase americana	25
1.7.1 Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma cruzi</i> e transmissão	26
1.7.2 Fases clínicas e impacto global da doença de Chagas	27
1.7.3 Quimioterapia da doença de Chagas	29
1.8 Modificação estrutural – Estratégia de hibridação molecular.....	30
1.9 Avanços recentes e relevantes na quimioterapia da doença de Chagas	32
2 JUSTIFICATIVAS	35
3 OBJETIVOS	36
3.1 Objetivos gerais.....	36
3.2 Objetivos específicos	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas.....	38
4.2 Nas análises, síntese e purificações.....	39
4.3 Outros equipamentos.....	39
4.4 Extração e purificação do produto natural α -mangostina	40
4.5 Síntese dos derivados do produto natural α -mangostina	48
4.6 Síntese do derivado reduzido tetra-hidroxi- α -mangostina (3).....	48
4.7 Síntese dos derivados α -mangostina- <i>O</i> -alquil mono e <i>bis</i> -alquilados (4a) e (4b)	52
4.8 Reações de ciclização da prenila em C2–Preparação dos derivados tetracíclicos (5) e (6)	59
4.8.1 Síntese do derivado tetracíclico cromona, 3-isomangostina 5.....	59
4.8.2 Síntese do derivado cromeno da α -mangostina 6	63
4.9 Reações de acetilação da α -mangotina	67
4.9.1 Síntese dos derivados acetilados (7a) e (7b)	67
4.10 Síntese dos derivados da α -mangostina via reação de Mannich.....	74
4.10.1 Síntese dos derivados morfolinametil- α -mangostina (8a) e (8b)	74
4.10.2 Síntese dos derivados tiomorfolinametil- α -mangostina (9a) e (9b)	82
4.11 Síntese dos híbridos de α -mangostina com 2-nitroimidazóis	90
4.11.1 Síntese do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (10).....	90

4.11.2	Síntese do híbrido <i>a</i> -mangostina-3- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol (11).....	93
4.11.3	Síntese do intermediário <i>a</i> -mangostina-3,6- <i>O</i> -alquil-Br (12).....	97
4.11.4	Síntese do híbrido <i>a</i> -mangostina- <i>bis</i> -3,6- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol (13)	100
4.11.5	Síntese dos híbridos α -mangostina-5-nitroimidazóis	104
4.11.6	Síntese do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (14).....	104
4.12	Síntese dos híbridos α -mangostina-5-nitroimidazóis	109
4.12.1	Síntese do híbrido <i>a</i> -mangostina-6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol) (15).....	109
4.12.2	Síntese do híbrido <i>a</i> -mangostina- <i>bis</i> -3,6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol (16).....	113
4.13	Preparação dos intermediários nitroimidazol- <i>N</i> -etil-azida (17) e (18)	117
4.13.1	Síntese dos intermediários α -mangostina- <i>O</i> -propargílicos (19) e (20)	118
4.13.2	Síntese dos derivados híbridos: α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (21); e α -mangostina- <i>bis</i> -3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (22)	125
4.13.3	Reações via <i>Cooper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition</i> (CuAAC).....	125
4.13.4	Síntese do derivado <i>a</i> -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (21)...	125
4.13.5	Síntese do derivado α -mangostina- <i>bis</i> -3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (22)	129
4.13.6	Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (23)..	134
4.13.7	Síntese do derivado α -mangostina- <i>bis</i> -3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (24)	138
4.14	Avaliação da atividade biológica	142
4.14.1	Parasitas	142
4.14.2	Linhagem celular LLC-MK2 (ATCC).....	142
4.14.3	Soluções estoques das amostras	143
4.14.4	Citotoxicidade frente células LLC-MK2 (ATCC)	143
4.14.5	Atividade tripanocida frente a amastigotas (Tulahuen C2C4 LacZ)	144
4.14.6	Análise estatística de dados	144
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	146
5.1	Isolamento e Purificação de α -mangostina dos frutos de <i>G. mangostana</i>	146
5.2	Planejamento sintético e modificações estruturais sobre a α -mangostina.....	150
5.2.1	Síntese do derivado reduzido de α -mangostina (3)	152
5.2.2	Síntese dos derivados α -mangostina- <i>O</i> -alquil mono e <i>bis</i> -alquilados, (4a) e (4b)	153
5.2.3	Síntese do derivado cíclico 3-isomangostina (5)	154
5.2.4	Síntese do derivado cíclico, do tipo cromeno (6).....	157
5.2.5	Síntese dos derivados acetilados α -mangostina (7a) e (7b).....	159
5.3	Síntese dos derivados aminometilados da α -mangostina, via reação multicomponente de Mannich	162
5.3.1	Síntese dos derivados morfolinametil- α -mangostina (8a) e (8b)	166

5.3.2	Síntese dos derivados tiomorfolinametil- α -mangostina (9a) e (9b)	169
5.4	Planejamento da síntese dos derivados híbridos de α -mangostina, possuindo os sistemas nitroimidazólicos e 1,2,3-triazólicos	170
5.4.1	Síntese do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (10)	174
5.4.2	Síntese do derivado α -mangostina-6-etil-2-nitroimidazol (11)	175
5.4.3	Síntese do intermediário 3,6-bromoetoxi- α -mangostina (12).....	176
5.4.4	Síntese do derivado α -mangostina-3,6- <i>O</i> -etil-2-nitroimidazol (13)	177
5.4.5	Síntese do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (14).....	178
5.4.6	Síntese do derivado híbrido α -mangostina-6- <i>O</i> -etil-5-nitroimidazol (15) ..	180
5.4.7	Síntese do derivado α -mangostina-3,6- <i>O</i> -bis-etil-5-nitroimidazol (16).....	181
5.4.8	Preparação dos intermediários azida (17) e (18).....	182
5.4.9	Síntese dos intermediários α -mangostina- <i>O</i> -propargil (19) e (20).....	184
5.4.10	Síntese dos derivados α -mangostina-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) e α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) via <i>Cooper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition</i> (CuAAC).....	185
5.4.11	Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (21) ..	189
5.4.12	Síntese do derivado α -mangostina-3,6- <i>bis</i> -(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (22)	195
5.4.13	Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (23) ..	196
5.4.14	Síntese do derivado α -mangostina-3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (24)	197
5.5	Atividade biológica anti- <i>T. cruzi</i>	199
5.5.1	Atividade dos derivados diretos de α -mangostina contra o <i>T. cruzi</i>	199
5.5.2	Atividade dos derivados híbridos de α -mangostina contra o <i>T. cruzi</i>	202
6	CONCLUSÕES	207
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	209
8	ANEXO	223
8.1	Artigos publicados durante a execução do doutorado.....	223

1 INTRODUÇÃO

1.1 Importância dos produtos naturais em química medicinal

Os produtos naturais (PNs) são reconhecidos historicamente por sua grande importância e contribuição na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, sendo uma fonte extremamente relevante para a busca de novas alternativas terapêuticas, na prevenção e no tratamento de diversos tipos de enfermidades. PNs têm como principais características elevadas diversidade e complexidade estruturais, agregando grandes vantagens ao processo de descoberta de novas substâncias potencialmente bioativas (ATANASOV et al., 2015). Para suprir as funções biológicas essenciais durante o processo evolutivo, os PNs passaram por otimização de suas estruturas, permitindo o controle dos mais diversos mecanismos de defesa endógenos, bem como propiciando mecanismos de competição com outros organismos. Isto explicaria a grande relevância nos estudos e a aplicação destas substâncias para o tratamento de doenças infecciosas e do câncer. A sua longa utilização na medicina tradicional, por diferentes povos pertencentes a culturas distintas, é uma fonte de informações valiosas sobre o perfil de eficácia e segurança dos produtos de origem natural. Além disso, os efeitos tóxicos a longo prazo observados para muitos fármacos de origem sintética, devido principalmente ao seu uso em maior escala, despertaram crescente interesse por PNs oriundos de plantas (OBOLSKIY et al., 2009; NEWMAN & CRAGG 2016; EUGENIO-PÉRES & PEDRAZA-CHAVERRI 2017).

Outro ponto relevante é que os produtos químicos de origem natural, mesmo aqueles de origem vegetal, que são os mais estudados, ainda estão longe de serem investigados de forma exaustiva (DAVID et al., 2015). Geralmente, as substâncias naturais apresentam massa molecular elevada, maior número de átomos de Carbono sp^3 e átomos de Oxigênio, e um menor número de átomos de Nitrogênio e Halogênios. Devido às suas características estruturais, os PNs possuem, em geral, maior número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, um ponto de grande relevância para as interações destes com os diferentes tipos de receptores biológicos. Além disso, os produtos de origem natural, normalmente, detêm um menor coeficiente de partição, o que poderia refletir em uma maior hidrofobicidade. Eles podem ainda apresentar maior

rigidez molecular, em relação aos compostos de origem sintética (LAWSON et al., 2018). Essas características e circunstâncias revitalizaram o interesse dos pesquisadores na descoberta de medicamentos com base em produtos obtidos de fontes naturais. O trabalho realizado por Newman e Cragg ressalta a relevância que os PNs representam, dentre todos os fármacos que foram introduzidos no mercado farmacêutico no período de 1981 a 2019. Destes, aproximadamente 65% tiveram a participação dos PNs na sua gênese, seja de forma direta ou indireta (**Figura 1**) (NEWMAN & CRAGG, 2020). Para o aproveitamento mais racional de todo esse potencial, é de fundamental importância a adoção de uma abordagem interdisciplinar: aliar o conhecimento etnofarmacológico a outras importantes áreas do conhecimento, como a botânica, a fitoquímica, a química computacional, as estratégias biotecnológicas e sintéticas, além de testes farmacológicos, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*. O trabalho coordenado entre estas diferentes áreas é crucial para o sucesso das pesquisas na área da química medicinal de produtos naturais (NICOLAOU et al., 2014).

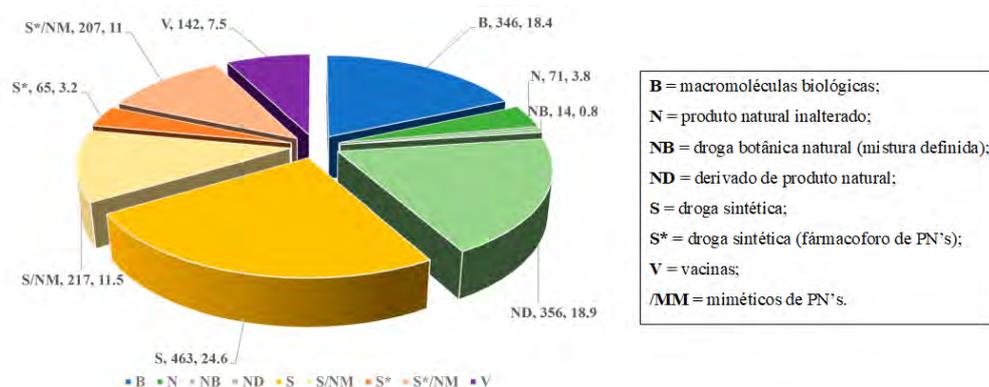


Figura 1. Distribuição de todos os fármacos inseridos no mercado farmacêutico, entre 1981 a 2019. (Adaptado de NEWMAN & CRAGG, 2020).

1.2 Características e classificação química das xantonas

As xantonas são estruturas de origem natural, presentes como metabólitos secundários em famílias de plantas superiores, mas também em fungos, líquens e bactérias (MASTERS & BRÄSE, 2012). Entre as plantas superiores, as xantonas são

encontradas em um número limitado de famílias, como a Glusiaceae ou Guttifrae, Moraceae, Polygalaceae e Gentianaceae. Em sua maioria, estes produtos de origem natural se apresentam como compostos poli-hidroxilados, sendo também encontrados na forma de éteres mono ou polimetílicos, e glicosilados (VIEIRA & KIJJOA, 2005). As características estruturais dos compostos desta classe, aliadas ao seu alto potencial como agentes terapêuticos, tem despertado grande interesse na área da Química Medicinal, com ênfase tanto na área dos produtos de origem natural, como também de derivados sintéticos (PINTO et al., 2021). Neste contexto, as xantonas são consideradas estruturas privilegiadas (DESIMONE et al., 2004), sendo capazes de interagir com múltiplos alvos moleculares e, assim, desencadeando a ação farmacológica pretendida. Seu esqueleto base, o sistema xantônico (**Figura 2**), pode apresentar substituintes diversos, dando origem a diferentes tipos de xantonas, de acordo com a via biossintética ou proposta sintética para obtenção dessas substâncias, as quais, apresentam uma variada gama de atividades biológicas já descritas na literatura (BENNETT & LEE, 1989; VIEIRA & KIJJOA, 2005; WEZEMAN & MASTERS, 2016).



Figura 2. Numeração dos átomos de carbono presentes no núcleo xantônico básico.

A classe das xantonas abrange uma importante série de heterociclos oxigenados, bastante estudados quimicamente, sendo classificadas e subdivididas de acordo com a natureza de seus substituintes. As xantonas podem ser classificadas em seis grandes grupos: xantonas oxigenadas simples, xantonas glicosiladas, xantonas preniladas, xantolignóides, *bis*-xantonas e xantonas miscelâneas (ou que não se enquadram em nenhuma das classes anteriores) (VIEIRA & KIJJOA, 2005). Adicionalmente, dentro das xantonas isoladas de espécies de *Garcinia*, temos as chamadas xantonas enjauladas (do inglês: *caged xanthonnes*). Na (**Figura 3**), estão representados exemplos de cada uma das classes de xantonas supracitadas, que foram descritas quanto à sua atividade biológica.

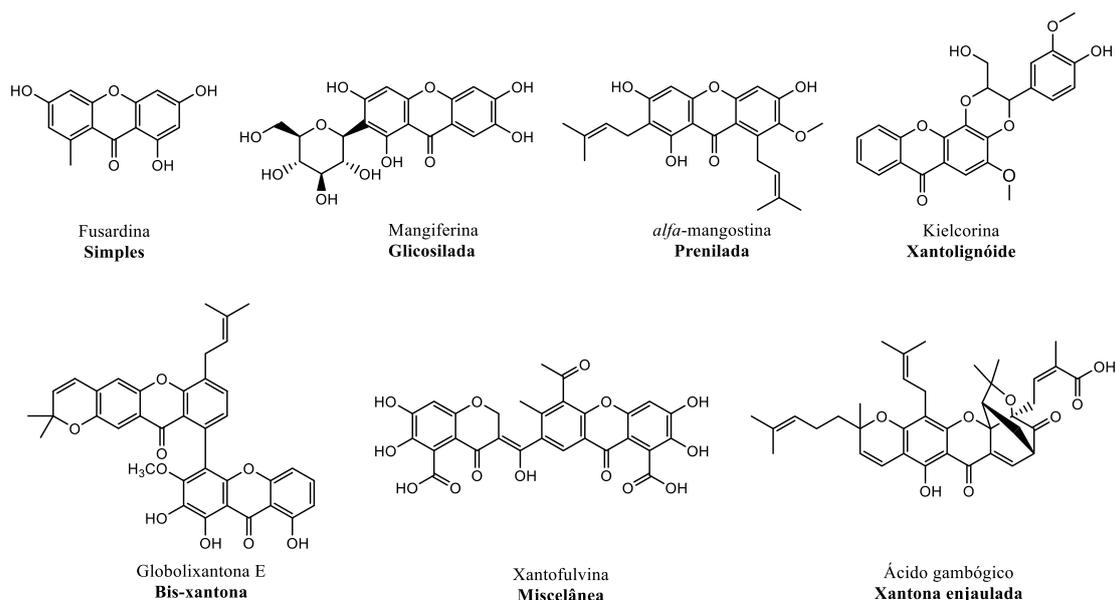


Figura 3. Representantes das classes das xantonas naturais.

A metilxantona fusarindina, uma representante das xantonas classificadas como simples, é obtida a partir de uma cepa de *Penicillium sp.* isolada de *Murraya paniculata*, possui atividade antibacteriana. Xantonas simples podem apresentar funcionalidades como hidroxila, metoxila, metila, dentre outras; e tem sido isolada, tanto de plantas, quanto de fungos. Na grande maioria das vezes as xantonas metiladas são mais frequentes em fungos e líquens, ao passo que as hidroxiladas e metoxiladas estão presentes com mais frequência em plantas (PASTRE et al., 2007).

A classe das xantonas glicosiladas, está dividida em dois grupos: xantonas *O*-glicosiladas e xantonas *C*-glicosiladas. A maioria se apresenta na forma tetra oxigenada e as famílias Gentianaceae e Polygalaceae são algumas das fontes principais para obtenção desses tipos estruturais de xantonas (PERES et al., 2000). Um exemplo de xantona *C*-glicosilada, é a mangiferina (**Figura 3**), assim como seu isômero isomangiferina e homomangiferina, largamente encontradas em angiospermas e pteridófitas. A mangiferina foi isolada pela primeira vez das cascas do tronco, folhas e frutos de *Mangifera indica L* (Anacardiaceae), onde é encontrada em abundância (BHATIA et al., 1967). A existência de um substituinte *C*-glicosídeo presente no núcleo da molécula pode em algumas situações promover interações moderadas com transportadores presentes na membrana das células, podendo, desta forma, contribuir para o aumento de sua absorção no meio biológico, elevando sua biodisponibilidade (ANDREU et al., 2010).

Uma outra classe estrutural de xantonas, também bastante estudada, é a classe das xantonas preniladas, que são caracterizadas por apresentar em sua estrutura um substituinte lipofílico com cinco átomos de carbonos, a prenila. Um composto alvo de várias investigações nos últimos anos, e que representa bem essa classe de xantonas, é a α -mangostina, isolada dos frutos de *Garcinia mangostana* Linn (BALUNAS et al., 2008).

As *bis*-xantonas são originadas quando dois núcleos xantônicos se unem formando dímeros. Estruturalmente, esses compostos são os mais complexos dentre os constituintes das xantonas naturais, sendo mais frequentemente isolados a partir de fungos e líquens e menos comuns em espécies de plantas. A globulixantona E é um dos poucos exemplares provenientes de uma planta, essa *bis*-xantona foi isolada da raiz de *Symphonia globulifera*, uma árvore encontrada em florestas africanas e América Latina. No Brasil, esta planta é encontrada na floresta amazônica, onde é popularmente conhecida como Ananim, cujo extrato é utilizado como tônico. Estudos *in vitro* mostraram que globulixantona E é ativa contra bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Vibrio anguillarum* (Gram-positivas), mas inativa contra *Escherichia coli* (Gram-negativa) (NKENGFACK et al., 2002).

Os xantolignóides são uma classe de compostos que apresentam um lignóide, grupo fenilpropânico, ligado ao seu núcleo. Em muitas rotas biossintéticas esse grupo fenilpropânico se liga ao anel xantônico intermediado pelo álcool coniferil. Um importante exemplar desta classe, chamado de kielcorina, pode ser isolado da planta *Kielmeyera variabilis* e possui atividade anti-inflamatória *in vitro* (PINHEIRO et al., 2003).

Na classe das miscelâneas estão as xantonas que geralmente são obtidas a partir de fungos, como por exemplo a xantofulvina, isolada de *Penicillium sp.* (KUMAGAI et al., 2003). Essa xantona possui propriedades inibitórias interessantes contra semaforinas, proteínas que atuam como reguladoras durante o desenvolvimento neural do sistema nervoso central e periférico. A expressão de semaforinas em mamíferos, ocasionada por algum tipo de lesão neural, pode resultar em perda da capacidade de regeneração dos axônios dos neurônios (PASTERKAMP et al., 1999).

O gênero *Garcinia* contém xantonas enjauladas (do inglês: *caged xanthonones*), que ocorrem principalmente em algumas espécies, como *G. morella*, *G. hanburyi*, *G. bracteata*, *G. gaudichaudii* e *G. scortechinii*. Todas estas espécies são amplamente distribuídas no Sudeste Asiático (REN et al., 2010). As xantonas enjauladas apresentam uma característica incomum em sua estrutura, com a formação de uma “gaiola” tricíclica

sobre o anel C. Além disso, as substituições no anel A e oxidações periféricas podem gerar uma gama de substâncias naturais potencialmente ativas. Esse núcleo enjaulado está associado a um variado perfil de bioatividade, como efeitos antiviral e antibacteriano, por exemplo. O ácido gambógico (**Figura 3**), um dos representantes desta família, tem seus efeitos antiproliferativos, contra linhagens de células tumorais, descritos na literatura (HUANG et al., 2015). O ácido gambógico foi, inclusive, avaliado na China em ensaios clínicos para o tratamento de alguns tipos de cânceres, como o de pulmão, de cólon e de rins. Outro dado relevante e descrito em diversos estudos, é o fato de que as xantonas enjauladas apresentam baixos efeitos de citotoxicidade, o que representa um ponto favorável à sua aplicabilidade em Química Medicinal (KE et al., 2017; FERNANDES et al., 2019).

1.3 A xantona prenilada α -mangostina e suas atividades biológicas

Garcinia mangostana Linn é uma planta pertencente ao gênero *Guttifera*, syn. família Clusiaceae, que contém árvores frutíferas bem conhecidas, com cerca de 35 gêneros e até 800 espécies, sendo boa parte de seus frutos comestíveis (NAYIK & GULL, 2020). A α -mangostina pode ser obtida a partir de *Garcinia mangostana* Linn., sendo extraída das cascas de seus frutos, conhecidos como mangostão (**Figura 4-A**). Já foram isoladas pelo menos 68 xantonas a partir de *G. mangostana*. Na realidade, as xantonas preniladas são os principais compostos presentes na fruta, possuindo um variado perfil de atividade biológica. Dentre estas xantonas, destaca-se a α -mangostina (**Figura 4-C**), que é o seu componente majoritário, e devido a isso, um dos mais estudados. A planta é nativa do sudeste asiático, de regiões como Tailândia, Malásia, Filipinas, Sri Lanka e Indonésia, tendo se adaptado muito bem às condições de cultivo no Brasil. O primeiro isolamento da α -mangostina foi reportado por Schmid, em 1885 (SCHMID, 1885). Nesse trabalho surgiu, pela primeira vez, o termo “xantona”, derivado da palavra *xanthos* (que no grego significa amarelo), fazendo referência à coloração amarela intensa exibida por este produto natural (**Figura 4-B**).



Figura 4. (A) Fruto de *Garcinia mangostana*, o mangostão (<https://www.needpix.com/photo/887745/>); (B) Cristais de α -mangostina, isolados em nosso laboratório; (C) Estrutura de seu principal componente, a xantona prenilada α -mangostina, isolada do pericarpo (de cor púrpura) dos frutos.

Vários produtos podem ser obtidos e comercializados a partir da polpa do fruto mangostão e de seu pericarpo, o que demonstra o seu grande potencial de aproveitamento. Desse modo, desperta-se cada vez mais o interesse das indústrias alimentícias e de suplementos, sendo o mangostão detentor de um enorme e crescente potencial comercial (DE MELLO et al., 2021). Segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*) estima-se que a soma da produção de resíduos agroindustriais com as perdas, que ocorrem durante todo o ciclo de abastecimento da cadeia alimentar, esteja entre 25 e 30% do total produzido. Porém, é sabido que muitos dos subprodutos gerados na indústria alimentícia ainda contém quantidades apreciáveis de nutrientes, minerais, vitaminas, fibras, além de uma série de substâncias com propriedades bioativas essenciais à saúde (FAO, 2019; LEYVA-LÓPEZ et al., 2020). Nesse contexto, o mangostão, cada vez mais conhecido por suas qualidades peculiares, tem ganhado destaque e reconhecimento internacional. O fruto é exportado para muitos países desenvolvidos, justamente por se caracterizar como uma fonte extremamente rica em nutrientes e substâncias bioativas, com potencial para combate e prevenção contra envelhecimento precoce e doenças degenerativas, como Alzheimer, câncer e arteriosclerose (YANG et al., 2021). Os países que lideram a produção mundial de mangostão são Índia, Indonésia e China. Dados recentes demonstram que a Índia é responsável por cerca de 45,89% da produção global do fruto, tendo produzido, aproximadamente, 25,6 milhões de toneladas de mangostão em 2019.

O Brasil, como o oitavo produtor mundial do fruto, contribuiu com 3,58% da produção mundial em 2020, o que equivale a cerca de 2 milhões de toneladas (TRIGDE, 2021). A introdução da *G. mangostana* no Brasil é recente, tendo ocorrido em 1935, na Bahia e, em 1942 no Pará. Atualmente a *G. mangostana* é cultivada, principalmente, nesses dois Estados e, em menor escala, nos Estados do Espírito Santo e São Paulo (DO SACRAMENTO et al., 2007).

O mangostão é conhecido como a “rainha das frutas”, devido ao seus inigualáveis sabor e aroma. Os frutos possuem coloração púrpura-avermelhado, contrastando com uma polpa branca, suculenta e saborosa (JUNG et al., 2006). O pericarpo do fruto é bastante utilizado na medicina tradicional Ayurvédica, empregado no tratamento de doenças, como infecções dermatológicas, dores abdominais, diarreias, disenterias, úlcera crônica, e na cicatrização de feridas. Atualmente, o extrato do fruto é comercializado como alimento ou bebida, e até mesmo utilizado como suplemento antidiabético. Cabe ainda destacar o interesse crescente observado nos últimos anos na pesquisa relacionada à α -mangostina, seja na investigação de suas atividades biológicas, ou ainda no planejamento, síntese e avaliação de novos derivados (AIZAT et al., 2019; PINTO et al., 2021).

A α -mangostina possui um amplo espectro de atividades biológicas, com grande número de trabalhos, descritos na literatura, demonstrando importantes perfis de atividades associados à xantona natural. Muitas evidências *in vitro* e *in vivo* revelaram que a α -mangostina é detentora de extensas propriedades farmacológicas, tais como: ação antialérgica, antioxidante, anti-inflamatória, imunomodulatória, anticâncer, antibacteriana, antifúngica, antiparasitária, antiviral, antiobesidade, bem como propriedades neuroprotetoras frente à doença de Alzheimer, além de propriedades hepatoprotetoras e cardioprotetoras (MOHAMED et al., 2014; AKAWA et al., 2021). Devido ao variado perfil de atividades biológicas, houve nos últimos anos um considerável aumento no interesse em pesquisas relacionadas à α -mangostina, seja no aprofundamento da investigação de suas atividades biológicas ou, ainda, na avaliação de novos derivados e análogos (**Figura 5**) (<https://clarivate.com/products/web-of-science/databases>, 2022). O crescente interesse despertado em diferentes grupos de pesquisa se dá justamente pelo fato desta substância natural ser de fácil isolamento, ocorrer em quantidades importantes no extrato bruto (cerca de 70%), além de apresentar uma versatilidade sintética e estrutural extremamente favorável ao planejamento e execução de variadas modificações sintéticas, o que permite, a princípio, modular o perfil

farmacocinético e farmacodinâmico das novas substâncias sintetizadas, que passam a ter o potencial de se tornarem novos candidatos a fármacos para diferentes aplicações (SANTOS et al., 2018; NIE et al., 2020).

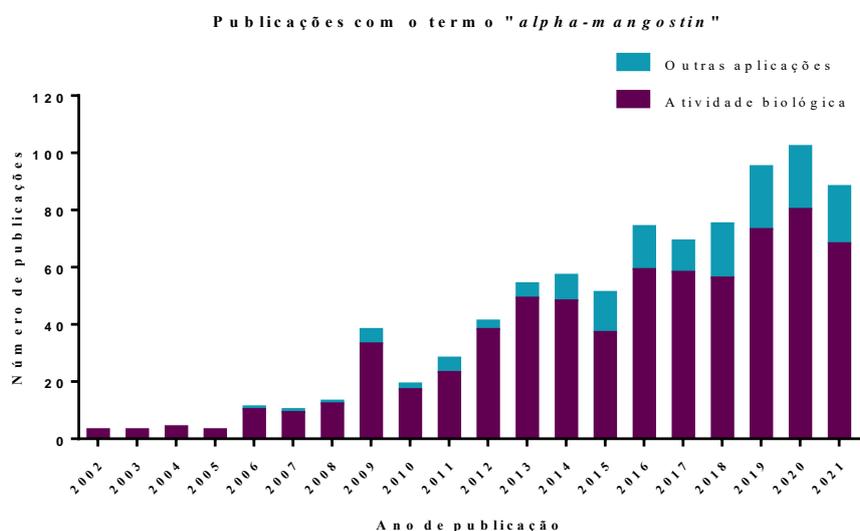


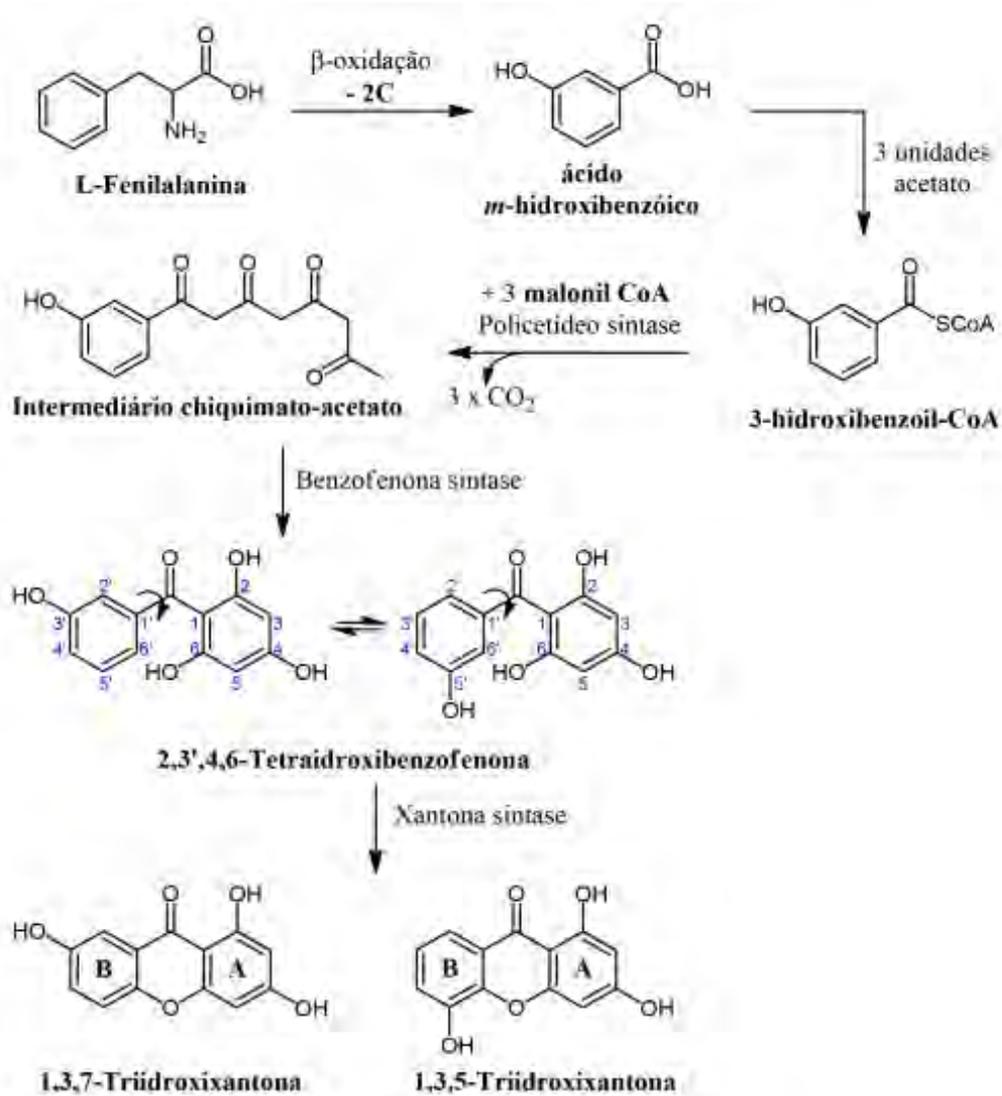
Figura 5. Gráfico de trabalhos publicados nos últimos 20 anos, envolvendo estudos com a xantona natural α -mangostina (<https://clarivate.com/products/web-of-science/databases>, 2022).

Os PNs são fontes históricas, tanto de matérias-primas como de inspiração para a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos (ATANASOV et al., 2021). Neste contexto, a xantona prenilada α -mangostina coloca-se como uma molécula extremamente promissora, devido ao seu perfil estrutural, à sua abundância e acessibilidade do material vegetal onde ocorre, além da facilidade de sua extração (CHAVAN, 2021). A α -mangostina apresenta uma grande variedade de atividades biológicas associadas a ela, estando em destaque neste trabalho o seu potencial como agente anti-infectivo, devido, principalmente, à demanda crescente de novas alternativas terapêuticas para o tratamento dos diferentes tipos de doenças infecciosas, tanto aquelas já existentes, quanto as infecções emergentes, que se colocam como verdadeiras ameaças à sobrevivência humana (PINTO et al. 2022). A família dos agentes anti-infectivos engloba os diferentes fármacos que possuem a capacidade de inibir, ou mesmo bloquear, a propagação de um determinado patógeno. Esta classe de fármacos pode também eliminar totalmente o agente etiológico presente no organismo hospedeiro. Dentro desta classe terapêutica encontramos os fármacos antivirais, os antiparasitários (antiprotozoários e anti-helmínticos), antibacterianos (incluindo os fármacos antituberculose), além dos fármacos antifúngicos (NOGRADY & WEAVER, 2005).

1.4 Biossíntese de xantonas

As rotas biossintéticas das xantonas têm sido estudadas desde a descoberta da presença destas substâncias em fontes naturais. A etapa fundamental na via biossintética de xantonas é a formação do próprio esqueleto tricíclico xantônico, os intermediários-chave podem ser poli-hidroxibenzenos (AIZAT et al., 2019). Um dos primeiros trabalhos investigativos, na elaboração de uma proposta de via biossintética para as xantonas, foi realizado por Fujita e Inoue, em 1980. Nesse estudo, os autores utilizaram como ferramenta a marcação com isótopo de carbono ^{14}C , vários compostos foram marcados e administrados às partes aéreas da planta *Anemarrhena asphodeloides* bunge (Liliaceae), que produz mangiferina. Nesse trabalho, a fenilalanina, o ácido *para*-cumárico, o ácido *para*-hidroxibenzoico e o ácido protocatecuico foram marcados isotopicamente. No entanto, apenas fenilalanina e o ácido *p*-cumárico demonstraram capacidade para se incorporarem no esqueleto xantônico. Este resultado sugeriu que esses dois compostos poderiam ser os precursores diretos para a biossíntese da mangiferina (FUJITA & INOUE, 1980).

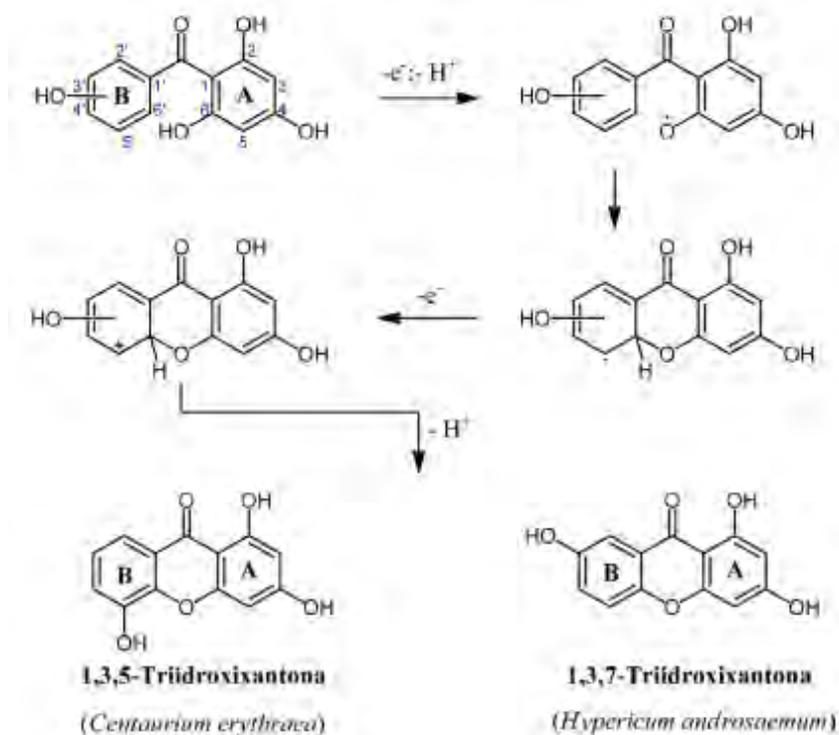
Desta forma, a fenilalanina, biossintetizada pela rota do chiquimato, perde dois átomos de carbono e sofre oxidação dando origem ao ácido *meta*-hidroxibenzoico. Este, ao reagir com três unidades de acetato, leva à formação do intermediário chiquimato-acetato que, por sua vez, cicliza e dá origem ao intermediário 2,3',4,6-tetra-hidroxibenzeno, precursor-chave na formação do esqueleto xantônico (**Esquema 1**). Experimentos realizados com *Gentiana lutea*, utilizando fenilalanina marcada com ^{14}C , forneceram xantonas contendo o marcador no anel B. Por outro lado, quando tratadas com acetato marcado com ^{14}C , foram produzidas xantonas nas quais o marcador estava presente no anel A. Assim, após as análises dos resultados obtidos, ficou evidente a capacidade de incorporação, confirmando a importância da contribuição desses precursores na biossíntese de xantonas (ATKINSON et al., 1968; GUPTA & LEWIS, 1971).



Esquema 1. Via biossintética para formação de xantonas (Adaptado de WEZEMAN, BRÄSE & MASTERS, 2015).

Para ocorrer a reação de ciclização, levando à formação completa do sistema xantônico a partir da benzofenona (2,3',4,6-tetraidroxibenzofenona), é necessário que uma reação de acoplamento oxidativo fenólico aconteça, que leva à formação do anel heterocíclico central das xantonas (PERES & NAGEM, 1997). Um dos primeiros estudos mecanísticos de ciclização deste anel foi realizado por Beerhus, em 1996. Neste trabalho foi utilizada uma linhagem celular de *Centaurium erythraea* (BEERHUES, 1996; 2011). Outro experimento importante foi realizado com *Hypericum androsaemum*, onde os genes responsáveis pela expressão da enzima bezofenona sintase foram clonados. Essa estratégia, empregando engenharia genética, permitiu que uma mutação específica ocorresse em uma cavidade do sítio ativo da proteína, originando a fenilpirona-sintase,

uma nova variante de poliketido-sintase (LIU et al., 2003; KLUNDT et al., 2009). As poliketido-sintases do tipo III estão intimamente envolvidas na construção de uma diversidade de PNs. Com a variação dos substratos iniciais é possível promover alterações no número de extensões nas cadeias desses compostos, bem como na forma e no modo de ciclização intramolecular que vai ocorrer (AUSTIN & NOEL, 2002). Os resultados desses estudos foram fundamentais para a compreensão e elucidação dos mecanismos de ciclização em sistemas xantônicos. Esse processo de ciclização ocorre, inicialmente, com a transferência de dois elétrons, seguida de desprotonação, produzindo assim, um radical fenóxido, que é estabilizado por ressonância. O radical fenóxido formado sofre ciclização, levando à formação do sistema xantônico, via um ataque eletrofilico. Em *C. erythraea* 2,3',4,6-tetrahidroxibenzofenona é acoplada via reação intramolecular, de forma regioseletiva, levando a formação de 1,3,5-triidroxixantona, enquanto em *H. androsaemum* 2,3',4,6-tetrahidroxibenzofenona é acoplada, dando origem a 1,3,7-triidroxixantona. Este acoplamento de fenol ocorre através de sítios ativos em posição *orto* para o grupo 3'-hidroxi em C-2' em *C. erythraea* e em posição *para* para o grupo 3'-hidroxi em C-6' em *H. androsaemum* (**Esquema 2**) (PETERS et al., 1997).



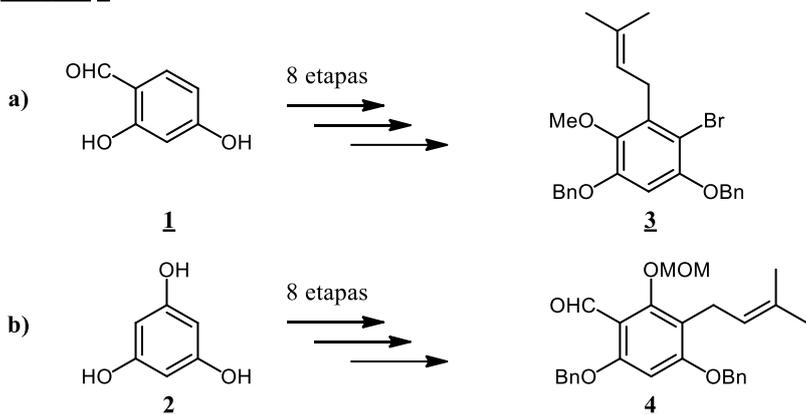
Esquema 2. Mecanismo de acoplamento regioseletivo para 2,3',4,6-tetrahidroxibenzofenona.

1.5 Síntese total da α -mangostina

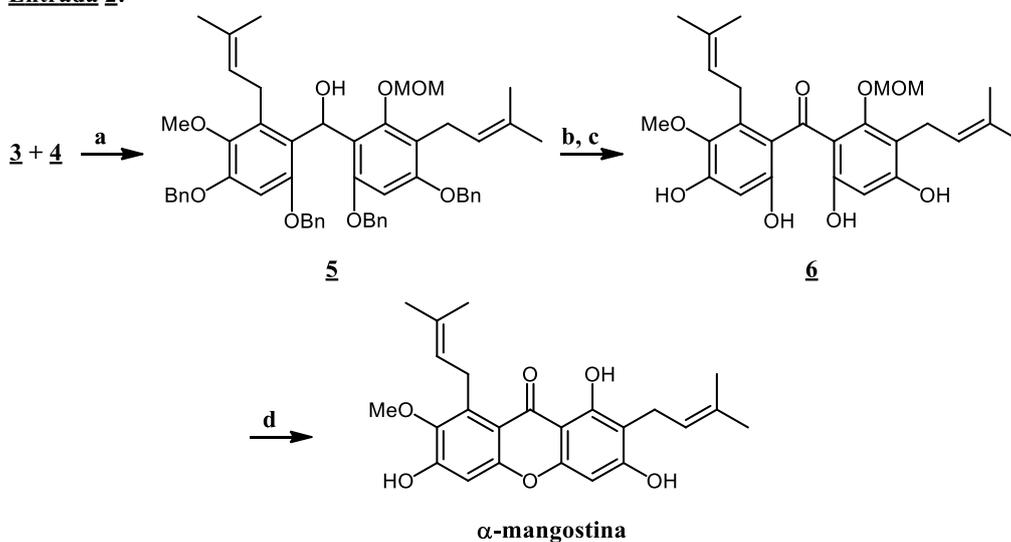
Apesar do extenso número de trabalhos disponíveis na literatura, envolvendo estudos das diversas atividades biológicas exibidas pela α -mangostina, são raros os trabalhos descrevendo rotas para a síntese total desta xantona natural. Este fato se deve, principalmente, à elevada acessibilidade do produto natural nas matrizes vegetais de onde o mesmo é extraído, além da facilidade da sua extração e purificação em quantidades adequadas aos ensaios. Cabe também ressaltar que a principal fonte de extração da α -mangostina, o pericarpo dos frutos do mangostão, é um material de descarte, se configurando assim como uma fonte de baixo custo, renovável e abundante.

O primeiro trabalho descrevendo a síntese total da α -mangostina foi realizado pelo grupo de Nishiyama e colaboradores, em 2002, através de uma estratégia convergente, tendo como precursores dois fragmentos aromáticos, o (2,4-diidroxibenzaldeído **1**, **Esquema 3, entrada 1a**) e o 1,3,5-triidroxibenzeno (floroglucinol, **2**, **Esquema 3, entrada 1b**). Os dois precursores foram submetidos, cada um deles, a uma sequência sintética de oito etapas, tendo sido transformados, respectivamente, nos intermediários **3** e **4**, adequadamente funcionalizados, para serem, posteriormente, unidos através da sequência convergente, mostrada no **Esquema 3 (entrada 2)**. O acoplamento dos fragmentos **3** e **4** foi realizado através da adição do ânion gerado pelo tratamento do brometo aromático com *n*-BuLi, o qual, uma vez formado, se adiciona à carbonila aldeídica presente em **3**. O álcool **5** (**Esquema 3, entrada 2**), após oxidação e desproteção das hidroxilas fenólicas benziladas, gerou a cetona intermediária **6**, a qual ciclizou, através do seu tratamento com PPh₃/CCl₄, em THF, gerando o anel heterocíclico central, característico do esqueleto xantônico. A desproteção da hidroxila fenólica, protegida na forma do éter metóxi-metílico (MOM), forneceu então a α -mangostina, em rendimento de 7,6% após as quatro etapas finais de síntese (IIKUBO et al., 2002).

Entrada 1:



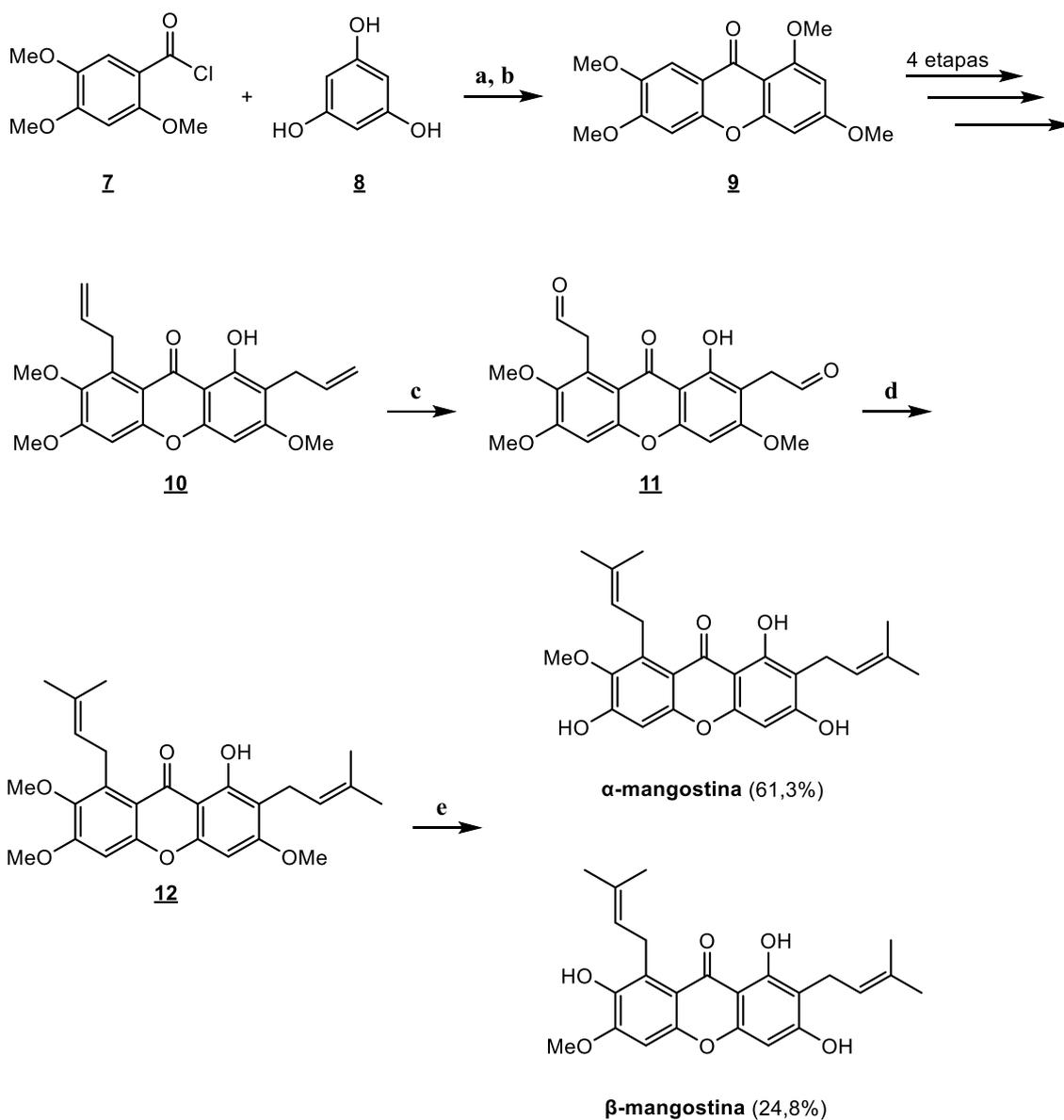
Entrada 2:



Condições reacionais: (a) *s*BuLi, THF, -78°C, 49%; (b) IBX, tolueno/DMSO (1/1), t.a., 76%; (c) Pd/C 10%, HCO₂NH₄, acetona, t.a., 63%; (d) PPh₃, CCl₄, THF, t.a.; então: sílica gel, 43%.

Esquema 3. Abordagem descrita por Nishiyama e colaboradores para a síntese total da α -mangostina.

Posteriormente, em 2013, Wang e colaboradores descreveram uma abordagem sintética mais concisa, baseada numa reação de acilação de Friedel-Crafts entre o cloreto do ácido 2,4,5-trimetóxi-benzóico (**7**) e o 1,3,5-trimetóxi-benzeno (**8**), mas que na etapa de introdução das duas prenilas se inspirou na abordagem original, descrita pelo grupo de Nishiyama (**Esquema 3**). Na abordagem de Wang, a α -mangostina foi obtida em mistura com a β -mangostina, numa proporção de 61,3% e 24,8%, respectivamente (XU et al., 2013) (**Esquema 4**).



Condições reacionais: (a) AlCl_3 , Et_2O , refluxo, 2 d, 70,6% (b) NaOH (1 M), metanol:água = 2:3, refluxo, 24 h, 87,3%; (c) $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaIO_4 , acetona:água:metanol = 3:1:1, t.a.; (d) THF, -10°C , então brometo de isopropiltrifenilfosfônio, 42,4% após 2 etapas (e) NaCN , DMSO, $190-200^\circ\text{C}$, 4 h, α -mangostina (61,3%), β -mangostina (24,8%).

Esquema 4. Abordagem de Wang para a síntese de α - e β -mangostina.

1.6 Modificações estruturais sobre o produto natural α -mangostina

Há descrito na literatura vários trabalhos relacionados a xantona α -mangostina, referentes às suas diversas atividades biológicas. Inclusive, alguns desses trabalhos demonstraram os efeitos de derivados e análogos deste produto natural em diversos modelos de estudos avaliados, tornando possível maior compreensão de tais efeitos em relação a estrutura-atividade para os modelos estudados. As xantonas são moléculas heterocíclica oxigenadas aromática, na qual o seu núcleo central, sistema xantônico, foi relatado pela primeira vez em 1982 (BISWAS & SEM, 1982). Devido aos avanços nas técnicas de elucidação de estruturas descobriu-se que o núcleo xantônico tem como característica ser essencialmente planar em virtude de seu sistema de anéis tricíclico fundidos com restrições à sua rotação livre, o que oferece maior rigidez a estrutura e contribui para a estabilidade. Para os produtos derivados de xantonas pequenas diferenças podem ser encontradas e, isto, irá depender do tipo de substituintes, bem como sua localização no sistema xantônico. Além disso, a natureza dos substituintes, por exemplo, os mais volumosos, podem resultar em leves torções no eixo longitudinal do sistema de anéis mediada por fatores estéricos. Do ponto de vista químico, apesar do núcleo de xantonas em um primeiro momento pareça bem simples, este pode apresentar um perfil de relação estrutura atividade bastante rico e, isto, resulta principalmente das formas de ressonância. Devido a presença dos átomos de oxigênio pertencentes ao sistema éter biarílico e ao grupo carbonil estarem envolvidos nessas formas de ressonância; o sistema de anéis planar, associado a uma forma zwitteriônica (**Figura 6**), reflete em uma solubilidade reduzida da xantona, esse fator pode ser contornado através da adição de substituintes (GALES, & DAMAS, 2005). Logo, as diferentes abordagens e estratégias sintéticas são fundamentais para a obtenção de novas substâncias bioativas.

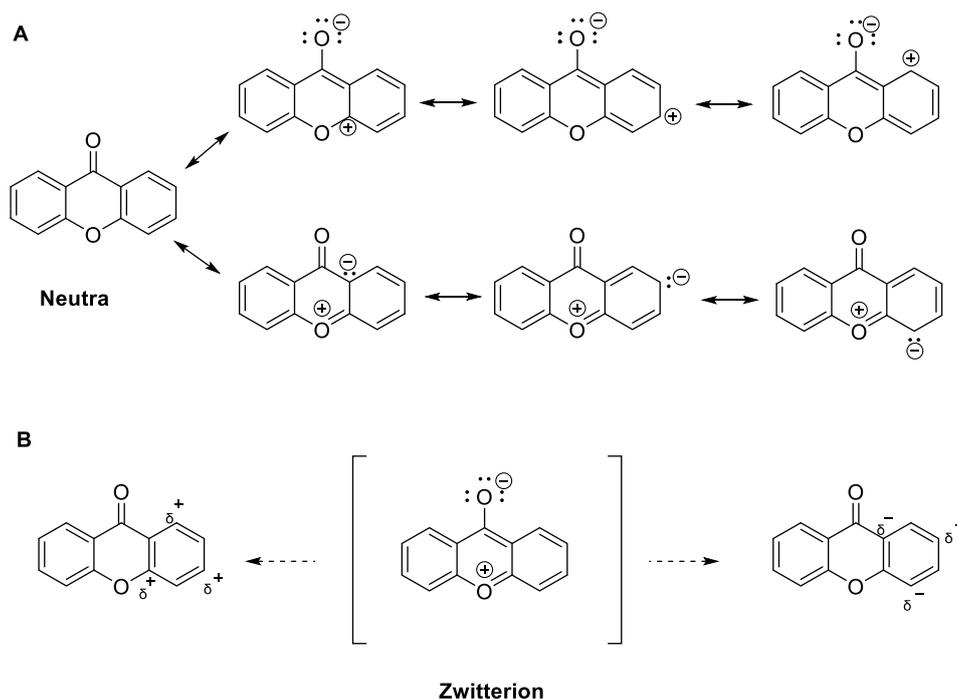


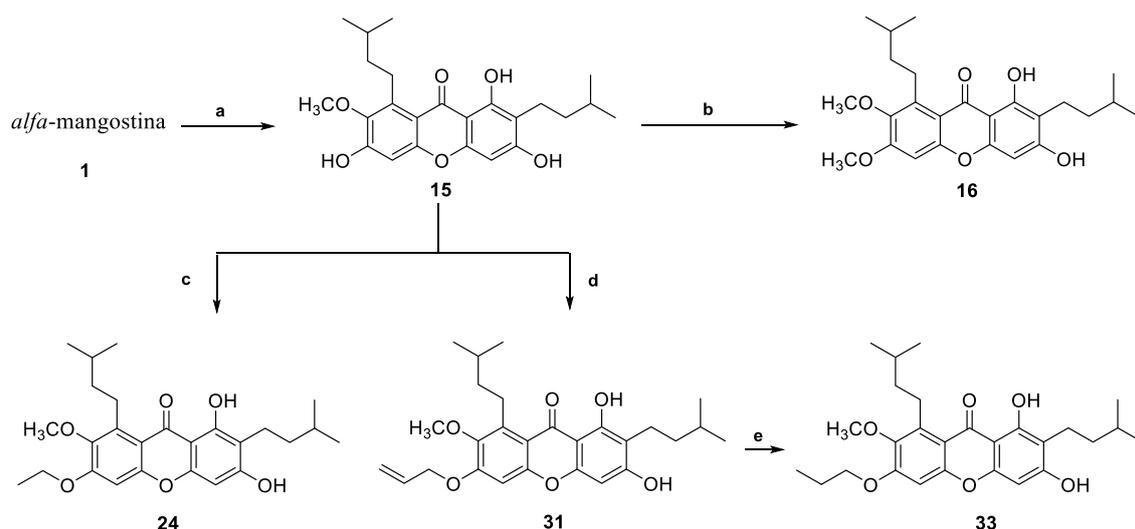
Figura 6. Estrutura de ressonância da molécula de xantona (**A**); Forma zwitteriônica (**B**).

Em 2014, Sudta e colaboradores realizaram uma série de modificações estruturais sobre a α -mangostina, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade potencial da mangostina e seus análogos frente ao *Mycobacterium tuberculosis* Multirresistente. O *M. tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose, doença infecciosa que afeta principalmente os pulmões, causando preocupações crescentes. A doença é uma das maiores causas de morte entre as doenças infecciosas, com um terço da população global infectada e 10,4 milhões de casos, com cerca de 1,74 milhões de mortes relatadas a cada ano (WHO, 2017). A terapia atual de regime prolongado envolve o uso, durante dois meses de tratamento de fase intensiva, com os antibióticos isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol; seguido por quatro meses de tratamento com isoniazida e rifampicina. Normalmente, necessita-se de um tempo maior para o tratamento da tuberculose multirresistente (GAZI et al., 2015). Este longo regime de tratamento, aliado ao uso de vários antibióticos de alto custo e de toxicidades consideráveis, são fatores que levam à interrupção precoce do tratamento, aumentando os riscos de surgimento de variantes de *M. tuberculosis* resistentes aos fármacos em uso (WHO, 2004).

Para compreensão dos requisitos estruturais e o desenvolvimento da atividade contra *M. tuberculosis* da α -mangostina e seus derivados, Sudta e seu grupo se concentraram em explorar as posições 1-, 3- e 6- nas porções hidroxila e a porção prenila

da α -mangostina. Desse modo, foram obtidos uma nova série de *O*-alquil éteres e *O*-acil análogos da α -mangostina e da Tetra-hidro- α -mangostin (**15**), a atividade antituberculose *in vitro* contra *M. tuberculosis* H37Ra foi realizada pelo ensaio de azul de Alamar, foram utilizados como controles positivos a canamicina, isoniazida e rifampicina. As evidências observadas, levou a conclusão de que os grupos -OCH₃ nas posições C-6 e C-7 juntamente com o 1-OH livre na estrutura do derivado (**15**), são fundamentais para a alta atividade antituberculose, com isso, o foco foi explorar variações dos éteres alquílicos e grupos éster em C-3 e C-6 sobre o derivado (**15**) (**Figura 7**). Como esperado, o derivado 6,7-dimetilado (**16**) que possui uma metoxila adicional, quando comparado com (**15**), apresentou maior atividade no valor de MIC (0,78 μ g mL⁻¹ ou 1,82 μ M) e foi cerca de 8 vezes mais potente que a α -mangostina (**1**) e cerca de 2,4 vezes mais potente que a canamicina (MIC 2,5 μ g mL⁻¹ ou 4,29 μ M). A importância da hidroxila livre na posição (3-OH) foi evidenciada pela perda completa de atividade nos derivados nos quais ela não estava presente.

De um total de 48 análogos sintetizados, os altamente ativos (**15**), (**16**), (**24**), (**31**) e (**33**) foram selecionados para suas avaliações de atividade contra a forma virulenta de *M. tuberculosis* H37Rv e as cepas clínicas multirresistentes (MDR). Os resultados observados mostraram que, os compostos (**15**), (**16**) e (**24**) mantiveram seus altos níveis de atividade (MICs 0,78 - 1,56 μ g mL⁻¹) contra o H37Rv, em contra partida, os análogos (**31**) e (**33**) apresentaram níveis atividade reduzidos com MICs de 1,56 - 3,12 μ g mL⁻¹. Entre os derivados avaliados, o composto (**16**) foi o análogo mais ativo e, também, manteve a alta atividade em isolados resistentes à isoniazida, rifampicina, etambutol e estreptomicina com faixa de MIC de 0,78–1,56 μ g mL⁻¹. Para os isolados resistentes a isoniazida, rifampicina, etambutol e as cepas resistentes à isoniazida e rifampicina o derivado (**16**) exibiu atividades em MICs na faixa de (0,78 - 3,12 e 1,56 - 3,12 μ g mL⁻¹), respectivamente. O análogo Tetra-hidro- α -mangostin (**15**) exibiu atividades comparáveis como seu derivado 6-*O*-etil (**24**) na faixa de MIC de (1,56 - 3,12 μ g mL⁻¹) enquanto os derivados 6-*O*-alil (**31**) e 6-*O*-propil (**33**) apresentaram MICs na ordem de (1,56 -6,25 μ g mL⁻¹) sendo 4 a 8 vezes menos ativos do que o éter metílico (**16**) (SUDTA et al., 2013).



Condições reacionais: H_2 , Pd/C (a); CH_3I , K_2CO_3 , DMF, t. a. (b); $(C_2H_5)_2SO_4$, K_2CO_3 , DMF, t. a. (c); C_3H_5Br , K_2CO_3 , DMF, t. a., (d); H_2 , Pd/C, MeOH (e).

Figura 7. Síntese do derivado Tetra-hidro- α -mangostina (15) e seus análogos. (Adaptado de SUDTA et al., 2013).

Dentre as diversas atividades biológicas que a α -mangostina apresenta podemos destacar seu potencial e de seus derivados frente ao vírus SARS-CoV-2. A emergência viral global atual causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2), patógeno que atinge o sistema respiratório primário em humanos, surgiu em meados de dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, China continental, sendo este o causador da doença denominada COVID-19. O SARS-CoV-2 se propagou mundialmente, atingindo todos os países, com mais de 430 milhões de casos confirmados de COVID-19, e 5,9 milhões de mortes associadas à doença em março de 2022 (<http://who.sprinklr.com>). A transmissão do SARS-CoV-2 ocorre de pessoa a pessoa, através de gotículas das vias respiratórias, contato próximo com indivíduos infectados, por via oral e contato com o aerossol de pessoas portadoras do vírus, sendo a transmissão aérea a principal rota de disseminação. Em virtude da rápida propagação e natureza da transmissão, a COVID-19 foi declarada pela OMS como emergência de saúde pública de interesse internacional (DOS SANTOS, 2020). As proteases virais, que desempenham papel fundamental durante o processo de produção das proteínas necessárias à replicação viral, fazem basicamente o corte, ou *priming*, na etapa final da síntese proteica. Desta forma, estas proteases se apresentam como um alvo de estudos bastante promissor, uma vez que compostos ativos sobre estas

enzimas seriam mais seletivos, pois possuiriam ação direta sobre o vírus (DRAG & SALVESEN, 2010). Jin e colaboradores, em 2020, conseguiram obter a estrutura cristalina da principal protease do vírus SARS-CoV-2, a M^{pro}, que foi depositada no *Protein Data Bank* (PDB ID: 6LU7). Esta é a única estrutura 3D de domínio público do vírus, estando organizada em forma de um dímero com duas subunidades idênticas, que juntas formam dois sítios ativos. Essa descoberta foi essencial, uma vez que essa protease se configura como um alvo altamente promissor na busca por moléculas com potencial clínico, que sejam capazes de inibir a clivagem de poliproteínas virais, impedindo a replicação do vírus, bloqueando assim a disseminação da infecção (JIN et al., 2020).

A xantona natural α -mangostina foi descrita quanto à sua atividade contra protease do vírus HIV, que possui um nível de similaridade genômica bastante elevado em comparação com a M^{pro} do SARS-CoV-2 (ELEFTHERIOU et al., 2020). Assim, há a possibilidade de que α -mangostina possa ter atividade contra o vírus causador da COVID-19. Xantonas são substâncias polifenólicas e as características estruturais de compostos desta classe estão diretamente relacionadas à sua afinidade de ligação em termos de energia livre (ΔG) com as proteínas alvo, devido à presença de múltiplos grupos hidroxila. Atualmente, os estudos computacionais desempenham um papel fundamental na busca por novas moléculas bioativas, representando uma importante ferramenta na área de química medicinal, sendo essencial para busca e desenvolvimento de múltiplos fármacos em potencial (BENDER et al., 2021).

Recentemente, Hidayat e colaboradores, em 2021 (HIDAYAT et al., 2021) realizaram o estudo *in silico* de α -mangostina, assim como de alguns de seus derivados, objetivando uma maior compreensão das suas atividades frente ao SARS-CoV-2. As modificações se concentram nas hidroxilas fenólicas e substituintes do anel aromático, átomos de carbono C1 e C6, para com isso, aumentar a afinidade para o sítio catalítico da protease M^{pro} (CHENG et al., 2013). Parâmetros de teóricos de absorção, HIA e Caco-2, foram calculados utilizando o programa Pre-ADMET 2.0. O valor de *Human Intestinal Absorption* (HIA), que reflete o grau de absorção da substância no intestino humano varia de 0% - 20% (baixo), 20% - 70% (moderado) e 70% - 100% (alto) (YAZDANIAN et al., 1998). Foram calculados para a α -mangostina e seus derivados valores de HIA na faixa de 90% a 99%, indicando um nível de absorção adequado pelo intestino. Já o modelo de predição de permeabilização de células Caco-2 *in vitro* é bastante empregado para estimativas da absorção de substâncias por via oral. Nesse modelo, os compostos são

categorizados em três grupos de absorção <4 (baixa), 4 - 70 (moderada), > 70 (alta) (SARGOLZAEI, 2021). Os valores de absorção da α -mangostina e seus derivados, estimadas para o modelo de células Caco-2, mostrou que a capacidade de penetrar a membrana celular está na categoria moderada (10,41 - 52,63). Os resultados de *docking* molecular à proteína M^{pro} de SARS-CoV-2 (PDB: 6LU7) da α -mangostina e seu derivado 3-(ciclopentiloxi)-6,8-di-hidroxi-2-metoxi-1,7-bis(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xantona (FKS9) foram comparados com o nelfinavir, um potencial inibidor de protease do coronavírus (LAKHERA et al., 2022). Nesse trabalho os quatro parâmetros ΔG , constante de inibição, ligação de hidrogênio e interações de Van der Waals, que determinam a afinidade das substâncias pelo sítio de interação na proteína, foram estudados. Valores de ΔG mais negativos, evidenciam que há maior estabilidade nas interações, aumentando a afinidade do conjugado ligante-proteína, consequentemente melhorando a atividade (Lipinski, 2004). O derivado FKS9 apresentou valor de ΔG de (-10,15 kcal/mol), inferior ao do nelfinavir (-9,74 kcal/mol) e da α -mangostina (-8,58 kcal/mol). Esse dado indica que as interações do derivado FKS9 com a M^{pro} são mais expressivas, em comparação com a α -mangostina e com o fármaco de referência, nelfinavir. Foi ainda avaliada a constante de inibição (K_i). Um menor valor de K_i indica uma menor quantidade, necessária para uma substância exercer a sua ação. O derivado FKS9 apresentou valor K_i de 36,45 μ M, que foi bem menor do que o do nelfinavir (72,09 μ M) e α -mangostina (511,49 μ M) (HIDAYAT et al., 2021).

O estudo de *docking* molecular foi importante para investigar o potencial de interação do ligante da substância com o sítio ativo da proteína alvo. No caso da M^{pro}, as interações mais relevantes ocorrem com os resíduos Cys145 e His41, presentes no domínio de ligação desta proteína. Considerando a possibilidade destas substâncias poderem interagir com esses resíduos, bloqueando assim a atividade catalítica dessa protease, a replicação viral seria interrompida. O derivado FKS9 apresentou, no modelo estudado, uma interação com a cavidade catalítica da M^{pro}, se associando à His41 por meio de ligação de hidrogênio, o que evidencia seu potencial na inibição da replicação de SARS-CoV-2 (**Figura 8**). Além disso, ao se considerar as regras de Lipinski, que estão associadas aos parâmetros de solubilidade e permeabilidade das substâncias no trato digestivo (Lipinski, 2004), as substâncias que detêm valores de logP que não estão de acordo com as regras (logP <5), provavelmente não apresentam o perfil de absorção e biodistribuição desejados *in vivo*. Assim, o derivado FKS9, apresentou valor calculado de logP = 6,04, mais adequado, quando comparado com a α -mangostina, que possui o

valor calculado de $\log P = 3,71$. Os dados obtidos demonstram que FKS9 pode ser investigado *in vitro* e, ainda, prevê-se que o mesmo possa ser administrado por via oral, tendo uma previsão de perfil de biodisponibilidade oral mais adequado. Nesse cenário, a α -mangostina, por ser uma molécula com alta versatilidade, acessível, e por apresentar diversas atividades descritas, inclusive antiviral, apresenta-se como uma molécula com grande potencial para a busca e desenvolvimento de novas substâncias ativas contra o coronavírus (HIDAYAT et al., 2021).

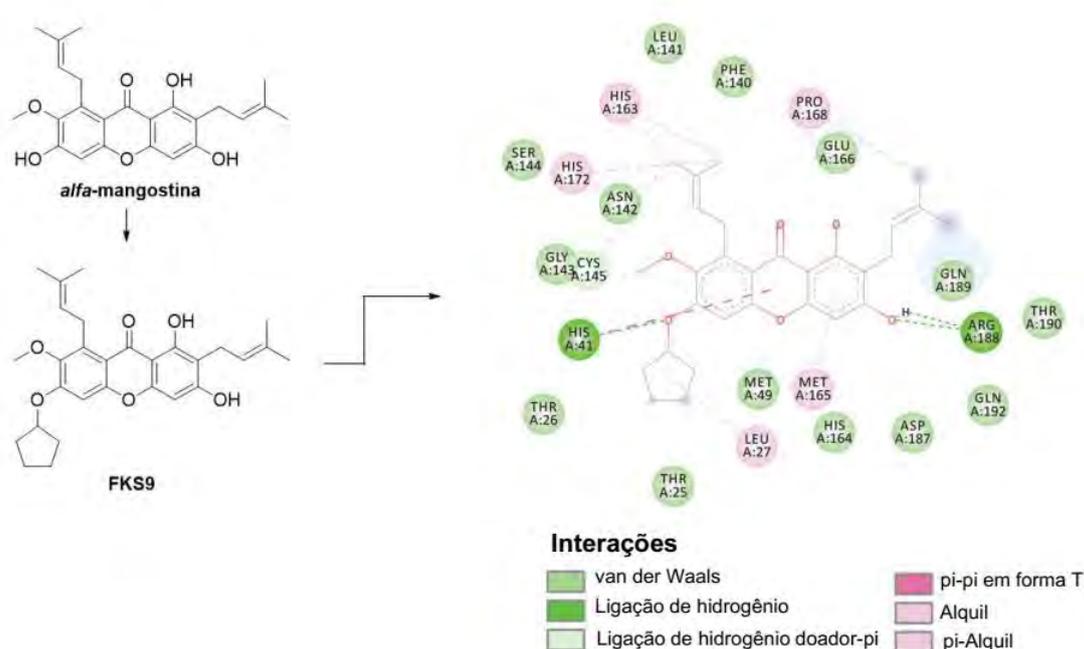


Figura 8. Derivado 3-(ciclopentiloxi)-6,8-di-hidroxi-2-metoxi-1,7-bis(3-metilbut-2-en-1-il)-9H-xantona (**FKS9**); Interação entre FKS9 e principal protease do SARS-CoV-2. (Adaptado de HIDAYA et al., 2021).

O trabalho realizado por Chi e colaboradores em 2018, no qual foi realizado uma série de modificações na estrutura da α -mangostina e, assim, obter maior entendimento em relação a estrutura atividade. Portanto, esse estudo avaliou o perfil de citotoxicidade dos análogos gerados sobre um painel de cinco linhagens de células de câncer humano (HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 e SW480) usando ensaios MTT. Muitos desses análogos foram ativos, tendo maior destaque os derivados **(1a)** e **(2h)** sendo os mais potentes frente a linhagem HL-60. O derivado **(3e)** foi mais ativo contra a linhagem SMMC-7221 e os compostos **(2e)** e **(2m)** foram os que tiveram redução na citotoxicidade,

no entanto, foi verificado o aumento na seletividade quando comparados a α -mangostina contra as linhas celulares HL-60 e SMMC-7221 (**Figura 9**).

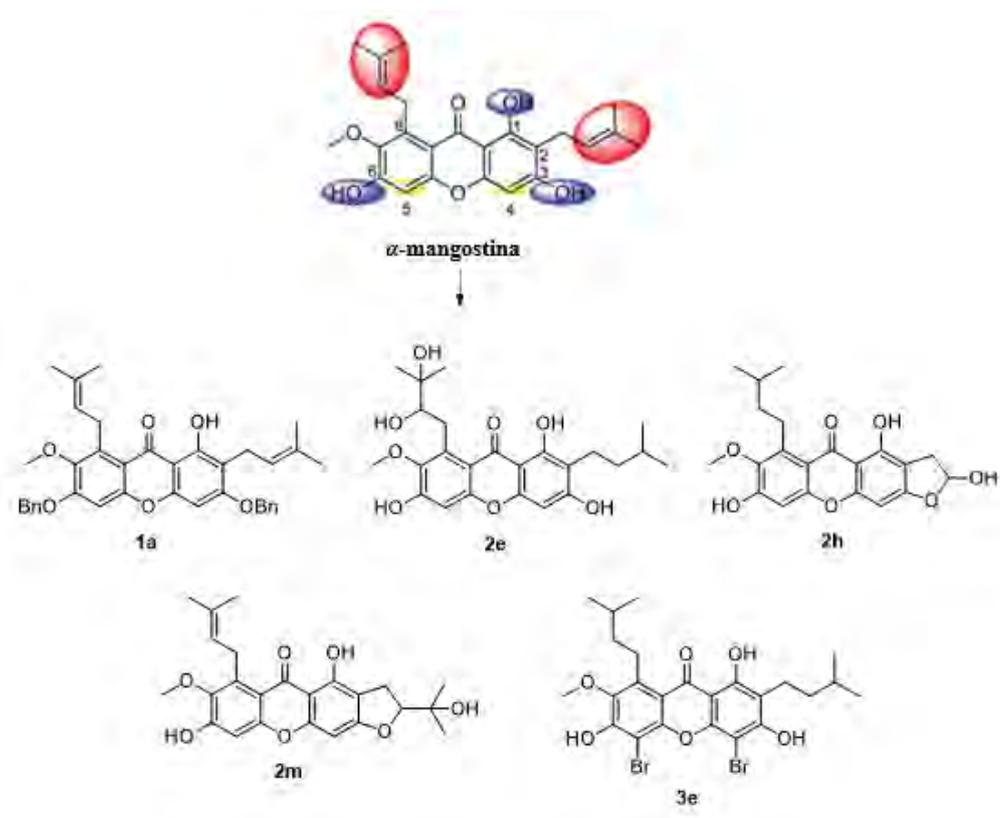


Figura 9. Derivados da α -mangostina mais ativos obtidos no trabalho de Chi e colaboradores. (Adaptado de CHI et al., 2018).

Diante dos dados observados, os autores relataram que as substituições das hidroxilas fenólicas OH nas posições C-3 e C-6 refletiram em perda total de atividade para alguns derivados sintetizados contra as linhagens testadas. Em contra partida, os produtos de acetilação mantiveram a atividade citotóxica e, particularmente, o composto (**1a**), apresentou citotoxicidade mais potente contra a linhagem HL-60 com valor de CI_{50} de $5.96 \pm 0.16 \mu\text{M}$, isto, demonstra que determinados grupos hidroxilas fenólicas são responsáveis por desempenharem efeitos que refletem aumentos ou manutenção da atividade. A oxidação sobre a prenila em posição C-8 ocasiona reduções drásticas no efeito citotóxico em todas as linhagens cancerígenas estudadas, a exemplo o composto (**2m**) apresentou fraca atividade com $CI_{50} > 40 \mu\text{M}$, evidenciando que o grupamento prenila em C-8 é fundamental para a citotoxicidade e a presença de um grupo OH em posição C-8 causa perda total da atividade citotóxica. Porém, foi verificado que o

composto **(2e)** configurou-se como uma exceção interessante, possuindo atividade antiproliferativa pronunciada contra células HL-60 com valor de CI_{50} de $18.65 \pm 0.23 \mu\text{M}$. A oxidação do grupo prenila em posição C-2, para alguns análogos resultou em atividade ligeiramente reduzida ou atividade comparativa, a exceção observada foi o composto **(2h)** que exibiu maior atividade contra as linhas HL-60 e SMMC-7221 com valores de CI_{50} de $6,90 \pm 0,55 \mu\text{M}$ e $6,92 \pm 0,55 \mu\text{M}$, respectivamente. Essas observações trazem evidências de que o número e a posição do grupo funcional OH em C-2 têm potência limitada na citotoxicidade e na seletividade. No caso do derivado **(3e)**, os dados revelam que a substituição por halogênio pode causar um efeito sutil na potência e seletividade, de modo que alguns produtos halogenados apresentaram melhor efeito na citotoxicidade, como é o caso do composto **(3e)** que foi três vezes mais ativo que o composto precursor com valor de CI_{50} de $3.98 \pm 0.63 \mu\text{M}$ para a linhagem SMMC-7721 (CHI et al., 2018).

Em 2013, Al-Massarani e colaboradores avaliaram a ação tripanocida da α -mangostina, tendo em vista que diferentes alvos moleculares já foram investigados, visando o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para a doença de Chagas (SUETH-SANTIAGO et al, 2017). Neste sentido, a diversidade estrutural das moléculas de fontes naturais coloca-se como uma característica atraente e promissora na busca por novos anti-chagásicos. Diante disso, os autores estudaram a atividade antitripanossômica *in vitro* de frações de diclorometano (DCM) e acetato de etila (EtOAc) obtidas do extrato etanólico do pericarpo seco do mangostão, bem como da α -mangostina isolada. Apesar da baixa seletividade *in vitro*, tanto as frações quanto o produto natural isolado foram ativos contra o *Trypanosoma cruzi* (cepa Tulahuen CL2): DCM, $CE_{50} = 7,6 \mu\text{g mL}^{-1}$; EtOAc, $CE_{50} = 34,6 \mu\text{g mL}^{-1}$; α -mangostina, $CE_{50} = 8,9 \mu\text{M}$ (AL-MASSARANI et al., 2013). Apesar de existir poucos trabalhos literatura sobre a ação de derivados diretos da α -mangostina frente ao *T. cruzi*, particularmente, sobre as formas amastigotas intracelulares, que são de maior relevância clínica. Pode se observar no trabalho realizado em 2006, por Mbwambo e colaboradores que as moléculas testadas se assemelha estruturalmente a xantona prenilada α -mangostina, inclusive, a estrutura 3 se parece com uma espécie de simplificação molecular da α -mangostina. Como resultados, as três xantonas preniladas trioxigenadas **(1)**, **(2)** e **(3)** testadas (**Figura 10**) todas foram ativas contra o *T. cruzi*, especialmente o composto **(3)** contra *T. brucei* ($IC_{50} 0,87 \mu\text{M}$) (MBWAMBO et al., 2006).

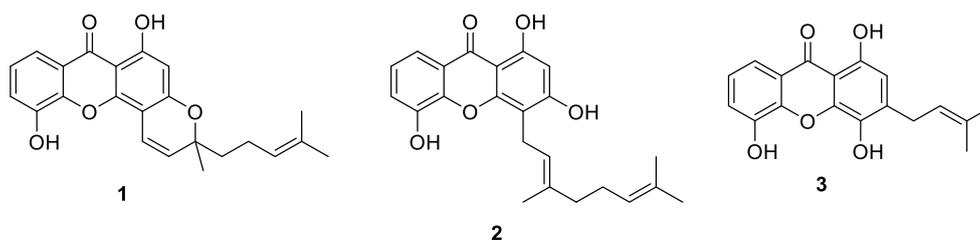


Figura 10. Xantonas preniladas ativas contra o *T. cruzi* e *T. brucei* (Adaptado de MBWAMBO et al., 2006).

1.7 A doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase americana

A doença de Chagas (DC), ou tripanossomíase americana, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatidae) é uma doença crônica que até o momento não conta com tratamento quimioterápico completamente eficaz e sem efeitos colaterais. Há mais de 100 anos a doença foi completamente elucidada pelo médico sanitariano e cientista brasileiro, Dr. Carlos Justiniano Ribeiro Chagas, em 1909, Chagas identificou o vetor transmissor, o agente etiológico e seu ciclo evolutivo, formas de transmissão e as manifestações clínicas (CHAGAS, 1909). A doença está entre as 20 doenças mais negligenciadas do mundo atingindo principalmente países em desenvolvimento, situados em regiões tropicais do globo, sendo as populações mais acometidas aquelas situadas em cidades rurais com saneamento básico precário. A DC é uma das doenças que integra a lista de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) da Organização Mundial da Saúde (HOTEZ, 2007), está intimamente relacionada com o subdesenvolvimento e a pobreza, o que torna crítica a situação de milhões de pacientes chagásicos (MOTA *et al.*, 2006). Logo, há grande desinteresse por parte dos governos e das indústrias farmacêuticas no apoio e incentivos ao desenvolvimento de novas terapias eficazes e seguras para o tratamento. (MOLYNEUX et al, 2021).

1.7.1 Ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi* e transmissão

O protozoário *T. cruzi* apresenta um ciclo de vida complexo (Figura 11), sendo capaz de infectar hospedeiros vertebrados e invertebrados, o parasito se encontra sob duas formas nos hospedeiros vertebrados a forma tripomastigota, flagelada e infectante; e a forma amastigota, que não possui flagelo livre e se replica no interior das células, (PAUCAR *et al.*, 2016).

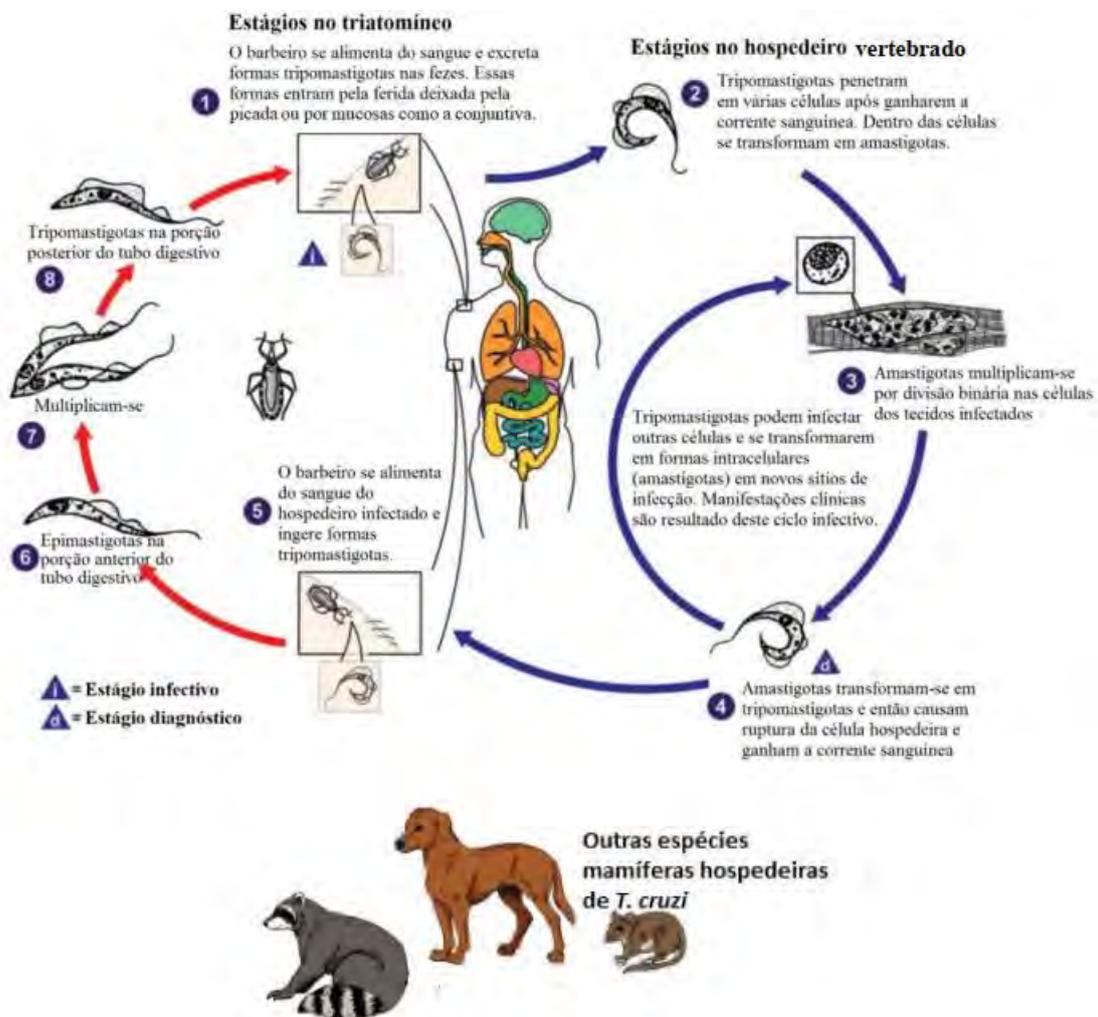


Figura 11. Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*, agente causador da doença de Chagas, mostrando as formas celulares presentes em hospedeiros vertebrado e invertebrado. Adaptado de *Centers for Disease Control and Prevention* (<http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>).

A transmissão da DC ao homem e a outros animais ocorre pelo inseto hematófago, o *Triatoma infestans* (Triatominae) (**Figura 12**), popularmente conhecido como barbeiro, que recebe esse nome por realizar sua picada no rosto, quando suas fezes e urina contaminadas com formas tripomastigota metacíclicas entram em contato com o orifício da picada durante o repasto sanguíneo realizado pelo inseto de hábito noturno. Existem outras formas habituais de transmissão da DC para o homem além da vetorial: a transfusional, que é a segunda via mais importante de propagação da doença em centros urbanos, a *trans*-placentária (congenita) e a transmissão pela via oral, que se dá pela ingestão de alimentos contaminados com formas viáveis do *T. cruzi*. Outras vias de transmissão, menos comuns, são a adquirida através de acidente laboratorial, quando há manipulação inadequada de material contaminado, e através do transplante de órgãos, quando o receptor recebe um órgão de um doador infectado pelo *T. cruzi*, particularmente coração e rins (COURA & CASTRO, 2002).

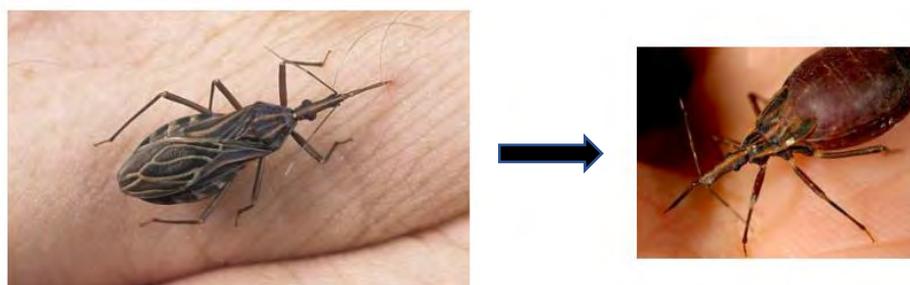


Figura 12. Imagem do barbeiro, vetor da doença de Chagas. (<http://www.fiocruz.br/ioc/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=215>).

1.7.2 Fases clínicas e impacto global da doença de Chagas

A doença de Chagas apresenta duas fases: Na fase aguda, após o período de incubação que geralmente se manifesta de forma assintomática (de 1 semana a 1 mês), podem ocorrer febre, enfartamento ganglionar, inchaço do fígado e do baço, e vermelhidão pelo corpo (às vezes com sinal de Romaña ou chagoma de inoculação). Mesmo que o hospedeiro não seja submetido a um tratamento, os sintomas ficam mais amenos e após algumas semanas ou meses desaparecem, podendo a doença não ser descoberta por anos ou até mesmo pelo resto da vida por muitos infectados (COURA &

CASTRO, 2002). A fase aguda pode evoluir, em cerca de 30-40% dos casos, para a fase crônica, que é a forma clínica mais importante da DC, pois leva a um comprometimento cardíaco grave, com o aparecimento de arritmias, diminuindo o bombeamento de sangue pelo coração, evoluindo para arritmias cardíacas fatais. Nesta fase, frequentemente, há o surgimento de uma miocardite crônica fibrosante, com grande hipertrofia de miocardiócitos. O coração aumenta bastante o tamanho ao ponto de comprometer seu funcionamento, tornando-o assim inviável. Além dessas manifestações, pode ocorrer o aumento do esôfago e do intestino grosso (STANAWAY & ROTH, 2015). Na América Latina onde a DC é endêmica, as estimativas apontam para um total de aproximadamente 5,7 milhões de pessoas nesta região estejam infectadas pelo *T. cruzi*, com o surgimento de 50 mil novos casos anuais com cerca de 14 mil mortes por ano (WHO, 2015; ECHEVERRÍA, 2020). Estes números, entretanto, representam uma fração de um quadro epidemiológico potencialmente mais grave. Já no Brasil, existem hoje aproximadamente dois milhões de pacientes crônicos portadores da doença de Chagas. Destes, seiscentos mil desenvolvem complicações cardíacas ou digestivas que matam cerca de cinco mil pessoas a cada ano. A forma crônica da DC causa deficiências significativas e tem alto impacto social e econômico, incluindo desemprego e diminuição da capacidade produtiva. Somente no Brasil, mais de US\$ 1,3 bilhões em salários e produtividade industrial foram perdidos devido a trabalhadores com DC (SORIANO-ARANDES *et al.*, 2016; HOUWELING *et al.*, 2016).

Apesar da DC ser uma parasitose endêmica de regiões tropicais, devido a fluxos migratórios ocorridos nas últimas décadas, há relatos da ocorrência da DC nos Estados Unidos, Canadá e em vários países da Europa (LEE *et al.*, 2013). As alterações climáticas podem propiciar meios favoráveis a adaptação de vetores em regiões não endêmicas e, de modo, causar o espalhamento da doença de Chagas (**Figura 13**) (DE SOUZA *et al.*, 2021).

doença de Chagas (DIAS *et al.*, 2009; SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2017). Nesta abordagem, a diversidade estrutural dos produtos naturais coloca-se como uma alternativa na busca por novos anti-chagásicos. Em nosso grupo de pesquisa a amida natural piperina, isolada de *Piper nigrum*, tem sido utilizada como precursora de novas moléculas com potencial atividade antichagásica (FERREIRA *et al.*, 2012; FRANKLIM *et al.*, 2013).

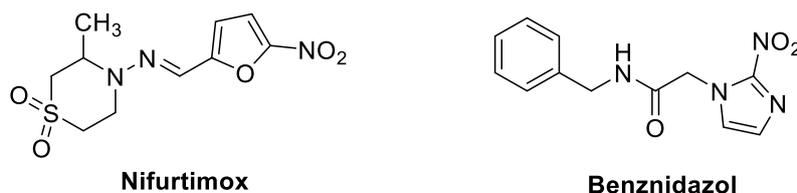


Figura 14. Fármacos com atividade tripanocida, Nifurtimox e do Benznidazol.

1.8 Modificação estrutural – Estratégia de hibridação molecular

Para o planejamento reacional de novos compostos potencialmente bioativos, a escolha de uma abordagem sintética se faz necessário. Em virtude dos fármacos utilizados no tratamento da DC não atingirem os resultados ideais, a busca por novas alternativas se torna cada vez mais primordial. Nesse contexto, a estratégia de hibridação molecular apresenta-se como uma importante ferramenta e bastante útil ao químico medicinal, quando se pensa no planejamento, desenho e alterações estruturais de ligantes e compostos protótipos, por isso, a hibridação molecular tem sido largamente utilizada.

Essa estratégia de planejamento consiste na união de características estruturais de dois compostos diferentes e bioativos em uma nova entidade química, assim, tem-se a formação de uma nova substância chamada de híbrido molecular, que poderá ser detentora de ambas atividades de seus precursores originais, este novo composto híbrido pode apresentar propriedades farmacológicas que pode vir a ser uma inovação terapêutica aplicada ao tratamento de determinadas fisiopatologias (BISHOP & SHAM, 2000). A dualidade característica da atividade desses compostos pode ser interessante para se ter os efeitos em inibidores de duas enzimas diferentes, por exemplo, e que possam estar relacionadas com uma mesma fisiopatologia onde, estes híbridos atuariam como um

duplo inibidor enzimático, ou poderiam funcionar como substância agonistas ou antagonistas de dois biorreceptores distintos, ou até mesmo atuar como um composto com propriedades inibidoras de uma determinada enzima e, simultaneamente, ser agonistas ou antagonistas de um determinado biorreceptor (WERMUTH, 1996; VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

Recentemente, Pelozo e colaboradores (2021) realizara através da hibridação molecular a síntese de um novo composto ligado por meio de um sistema triazólico, unindo tanto a porção do metronidazol quanto a unidade do eugenol formando o híbrido, o objetivo foi reunir as propriedades terapêuticas de ambos em uma nova molécula (**Figura 15**).

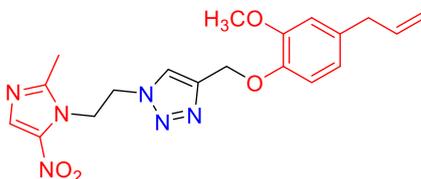
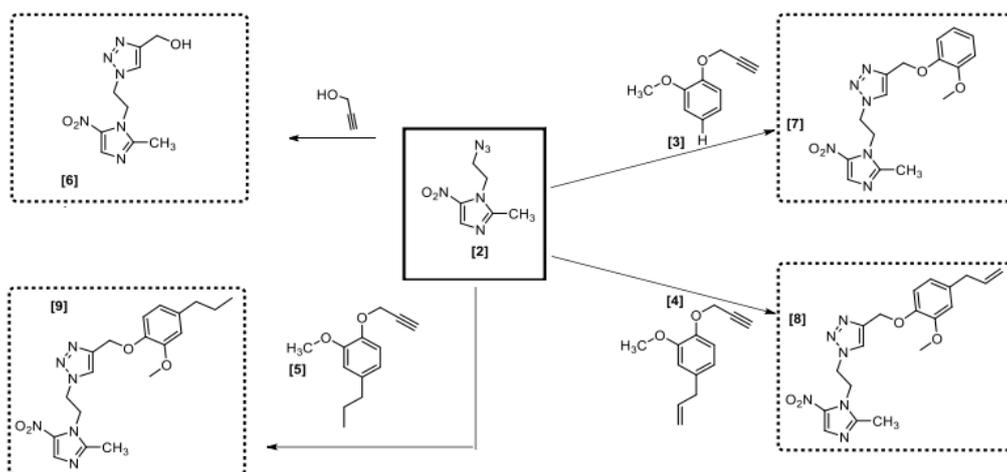


Figura 15. Estrutura molecular do híbrido metronidazol-1,2,3-triazol-eugenol.

As novas substâncias híbridas obtidas foram avaliadas quanto a sua ação frente ao *T. cruzi*, o resultado deste trabalho demonstrou que houve melhora no perfil de atividade antiparasitária dos híbridos gerados, sendo os compostos **(8)** e **(9)** mais ativos, apresentando atividade similar ao fármaco de referência, benznidazol. A partir dos resultados, ficou evidente que o metronidazol e o eugenol detêm atividade tripanossômica moderada contra a forma epimastigota de *T. cruzi*, com valores de CI_{50} de $191 \mu M \pm 8 \mu M$ e $161 \mu M \pm 7 \mu M$, respectivamente. O composto **(6)**, não apresentou atividade considerável, foi praticamente inativo com valor de CI_{50} de $602 \mu M \pm 23 \mu M$. Por outro lado, os híbridos **(7-9)** (**Esquema 5**) apresentaram melhor efeito na ação antiparasitária com valores de CI_{50} de $115 \mu M \pm 24,6 \mu M$, híbrido **7**; $52 \mu M \pm 14 \mu M$, híbrido **(8)** e $33 \mu M \pm 3 \mu M$ híbrido **(9)**. Foi constatado que o melhor resultado obtido foi para o composto híbrido **(9)** que apresentou atividade similar ao fármaco de controle benznidazol (valor CI_{50} de $29 \mu M \pm 5 \mu M$). Os autores concluíram que a inserção do grupamento triazol, utilizado como *linker* de acoplamento, para ligar o metronidazol a fenóis deu origem a híbridos promissores para uma nova classe de substâncias de interesse terapêutico para serem avaliadas em estudos futuros (PELOZO et al., 2021).



Condições reacionais: ascorbato de sódio, sulfato de Cu(II), *t*-butanol, 12h

Esquema 5. Esquema de acoplamento reacional para os híbridos (6 - 9). (Adaptado de PELOZO et al., 2021).

1.9 Avanços recentes e relevantes na quimioterapia da doença de Chagas

Focando em dados recentes para a quimioterapia da doença de Chagas, serão apresentados aqui os resultados extremamente promissores divulgados por Padilla e colaboradores (2022), que descreveram uma série de compostos da classe dos benzoxaboróis, com atividades tripanocidas em escala de concentração nanomolar contra amastigotas de *T. cruzi*. Os compostos descritos pelos autores, apesar de terem origem eminentemente sintética e serem estruturalmente distantes da xantona natural α -mangostina, na nossa opinião merecem ser mencionados, devido, principalmente, ao perfil de atividade apresentado e ainda pela abrangência e excelência do trabalho experimental realizado pelo grupo. Os resultados descritos demonstram que o primeiro composto avaliado pelos autores, a benzoxaborol-6-carboxamida (AN4169) (**Figura 16**) promoveu 100% de cura em camundongos infectados com *T. cruzi* (cepa Brasil). Porém, devido à baixa tolerabilidade apresentada nos ensaios *in vivo*, não houve maiores avanços com essa molécula. Contudo, esse derivado serviu como protótipo para a síntese de novos análogos, que foram também ativos contra *Trypanosoma congolense*, mantendo um perfil similar de atividade e potência frente ao *T. cruzi* nos ensaios *in vitro*, com valores de IC₅₀ em escala submicromolar. Os derivados otimizados apresentaram também uma boa

estabilidade metabólica nos ensaios frente à fração hepática S9 de camundongos. Dentre os derivados sintetizados, visando a otimização da atividade tripanocida, destacou-se um composto, o éster AN10443 (**Figura 16**), sobre o qual foi posteriormente realizada uma modificação adicional, com a homologação de uma metila em posição C-7 do anel benzoxaborol, obtendo-se o análogo *C*-metilado AN11735. Os autores observaram um drástico incremento na atividade *in vitro* contra *T. cruzi* para esse composto.

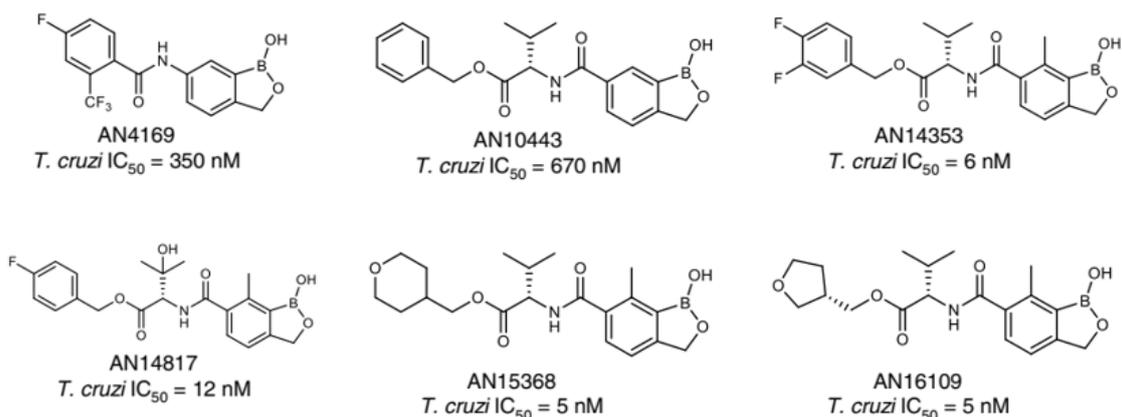


Figura 16. Estrutura dos principais compostos avaliados *in vitro* e *in vivo* contra *T. cruzi*, incluindo o candidato a ensaio clínico avançado, AN15368. (Adaptado de PADILLA et al., 2022).

Após a realização de um conjunto de otimizações estruturais, o composto AN14353 (**Figura 16**) emergiu como o composto líder na série planejada, para o qual se estabeleceu o protocolo de tratamento *in vivo* com uma dose oral única. Além disso, AN14353 apresentou potência elevada, rápida atividade tripanocida *in vivo* sobre uma variedade de isolados de *T. cruzi* de diferentes linhagens genéticas, sendo efetivo na dose de 25mg kg^{-1} , em protocolos de tratamento de 5, 13 e 40 dias, tanto sobre camundongos selvagens, quanto camundongos imundeficientes. Uma série adicional de derivados foram então planejados, contendo substituintes mais polares e não básicos, como éteres alifáticos e cíclicos. Após uma análise farmacocinética extensiva, e ensaios de estabilidade metabólica, emergiram três candidatos promissores: os derivados AN14817, AN15368 e AN16109. Com estes três compostos foram então realizados uma série de ensaios de cura parasitológica em modelo de infecção crônica experimental em camundongos, além de avaliações farmacológicas de segurança, com determinação dos seus perfis genotóxicos e toxicológicos detalhados. A observação criteriosa dos

resultados obtidos no painel de avaliações realizado pelos autores levou à escolha do composto AN15368 como candidato a ensaios pré-clínicos, sendo este então avaliado no tratamento da doença de Chagas em macacos rhesus (*Macaca mulatta*), infectados com *T. cruzi* por exposição natural. Como o tratamento padrão em humanos ocorre no período de 60 dias (TORRICO et al., 2018), os animais usados no experimento foram tratados e avaliados durante esse mesmo período. Com base em estudos farmacocinéticos em primatas foi estabelecida a dose de 30 mg kg⁻¹, de modo que fosse obtida uma alta taxa de cura, sem comprometimento da segurança na administração. Após exames exaustivos em amostras sanguíneas e de outros tecidos obtidos dos animais tratados, visando a detecção do DNA do parasito, e do monitoramento de longo prazo para anticorpos, os autores obtiveram evidências, em bases sólidas e de caráter conclusivo, sobre o elevado grau de eficácia medicamentosa do composto AN15368 (PADILLA et al., 2022). Este composto deverá agora caminhar para as fases de ensaios clínicos avançados, sendo assim um forte candidato a ser um novo fármaco antichagásico.

2 JUSTIFICATIVAS

Em virtude das limitações dos fármacos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas, assim como de seus severos efeitos colaterais, o que acaba por torna inviável suas aplicações de forma adequada na quimioterapia. Além disso, o risco potencial epidemiológico da doença de Chagas se torna cada vez mais elevado e tornará ainda mais crítica a situação de milhares de pessoas pelo mundo. A necessidade de investimentos e desenvolvimento de pesquisas em busca de novos compostos bioativos com ação tripanocida mais eficaz torna-se fundamental. A falta de incentivos pelas autoridades os obstáculos já existentes durante esse caminho de busca, torna essa tarefa um grande desafio para os diferentes grupos que trabalham na área da Química Medicinal. Nesse contexto, os produtos naturais que sejam abundantes e facilmente acessíveis, em especial, aqueles que apresentem atividade antiparasitária conhecida. Dessa forma, o produto natural, α -mangostina, coloca-se como uma importante fonte de matéria-prima. Além disso, fármacos antiparasitários e outras moléculas que possuam este perfil de atividade, também podem ser combinados através da estratégia sintética de hibridação molecular, gerando híbridos que potencialmente mantenham a atividade antiparasitária, com diminuição de efeitos secundários e/ou diminuição de mecanismos de resistência.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Durante a execução deste trabalho, o objetivo primeiro foi o estudo e a otimização do método de isolamento da xantona natural α -mangostina, em quantidades apreciáveis para a realização de uma série de modificações estruturais, obtendo derivados com potencial antiparasitário a ser avaliado frente ao agente etiológico da doença de Chagas, o protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*.

3.2 Objetivos específicos

- Obter quantidades adequadas de α -mangostina utilizando tanto a metodologia de extração convencional quanto métodos otimizados;
- Utilizar o arcabouço estrutural da xantona natural, bem como suas características químicas, para o planejamento e a síntese de novos derivados, fazendo uso das estratégias de modificação molecular da Química Medicinal, como a hibridação molecular;
- Realizar a elucidação estrutural através das técnicas convencionais de análises de todas as moléculas sintetizadas;
- Avaliar todas as substâncias obtidas frente a amastigotas do *Trypanosoma cruzi*, além de avaliar seus perfis de toxicidade frente às células hospedeiras. A escolha da avaliação contra a forma amastigota do parasita se deve ao fato desta ser a forma evolutiva de maior relevância clínica,

visto ser a forma intracelular, que em tecidos profundos e pouco vascularizados são responsáveis pela manutenção da infecção em humanos.

- De posse dos dados de atividade dos derivados de modificação estrutural, pretendemos avaliar, comparativamente com o precursor natural, os efeitos dessas mudanças estruturais sobre a ação tripanocida dos novos compostos. Este conjunto de resultados poderá subsidiar um estudo detalhado de SAR para a atividade tripanocida de *α*-mangostina e de seus derivados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas

Os espectros de ressonância magnética nuclear RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) tipo APT, foram obtidos em espectrômetros de marca Bruker, modelo Ultrashield Plus (PPGQ – UFRRJ). O tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como referência interna e os solventes, clorofórmio (CDCl_3), dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$) e metanol (CD_3OD), empregados para solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em partes por milhão (ppm), e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Os valores observados foram corrigidos em relação aos sinais dos solventes utilizados nas análises CHCl_3 (7,26 ppm para ^1H e 77,00 ppm para ^{13}C), DMSO (2,50 ppm para ^1H e 39,51 ppm para ^{13}C), MeOH (3,35 ppm para ^1H e 49,15 ppm para ^{13}C). As multiplicidades dos sinais foram expressas como simpleto (s), duplete (d), duplo-duplete (dd), tripleto (t), quarteto (q) e multiplete (m).

As análises por CLAE-DAD foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), da marca Shimadzu constituído por duas bombas série LC-20AT, detector de arranjo de diodos, série SPD-M20A, e injetor Rheodyne 7125i, com loop de 20 μL . O controle do equipamento e aquisição dos dados foi feito através do software LCSolution (Shimadzu). As análises foram realizadas em coluna analítica Kromasil de fase reversa C-18 (150 x 4,6 mm, 5 μm de partícula, AkzoNobel), mantida a 30°C. A fase móvel foi composta por um sistema binário composto por água contendo 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B). O monitoramento dos cromatogramas foi realizado medindo-se a absorção no UV com detector de arranjo de diodos (DAD) na faixa de 200 e 400 nm e espectrômetro de massas com método de ionização por *electrospray* no modo positivo (ESI+).

4.2 Nas análises, síntese e purificações

Para o monitoramento das reações por CCDA (Cromatografia de Camada Delgada Analítica) foram utilizadas cromato-folhas de sílica gel 60 F254 (camada de 0,2 mm), marca Merck.

Solventes utilizados: acetato de etila, acetona, dimetilformamida, tetraidrofurano, tolueno, clorofórmio, *n*-hexano, diclorometano, etanol e metanol, obtidos da Vetec e/ou Tédia Brazil. Os solventes dimetilformamida, tolueno, utilizados como solventes nas reações que necessitavam de meio anidro, foram previamente secos em peneira molecular.

Reagentes: ácido *p*-toluenossulfônico, hidrogênio, iodeto de metila, carbonato de potássio, bicarbonato de potássio, 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), anidrido acético, morfolina, tiomorfolina, solução de formaldeído (37%), cloreto de metanossuldonila, 2-nitroimidazol, 5-nitroimidazol, 1,2-dibromoetano, azida de sódio, brometo de propargila, ascorbato de sódio, sulfato de cobre penta-hidratado.

Os frutos de *Garcinia mangostana*, cujos pericarpos foram utilizados para a extração e o isolamento da xantona natural α -mangostina, foram obtidos no Mercado Municipal de São Paulo – São Paulo (SP).

4.3 Outros equipamentos

- Aparelho para medição de ponto de fusão, modelo PMF-II-Tecnopon;
- Evaporador rotatório RV10 Digital IKA, modelo Alfa Mare;
- Câmara de revelação CCDA da marca Entela, modelo 58 Handheld, equipada com lâmpada UV com comprimento de onda de 254 e 365 nm;
- Placas de aquecimento em cerâmica com agitação da marca IKA, modelo C-MAG HS7;
- Sonicador ultrassônico Eco-Sonics, modelo Q3.0/40;

- Equipamento Isolera, ACI – *Accelerated Chromatographic Isolation*, modelo Isolera Spektra ONE – Autec;
- Liofilizador de bancada, modelo Liofilizado L101;
- Agitador magnético Kasvi, modelo K40-3015.

4.4 Extração e purificação do produto natural *α*-mangostina

O pericarpo dos frutos de *G. mangostana* (440g) foram secos em estufa com circulação de ar a 45°C por 36h, gerando 210g de material vegetal seco, indicando a perda de 53% de água e demais componentes voláteis. As cascas secas foram então moídas em um liquidificador industrial, gerando um pó de coloração avermelhada. Dentre os solventes e métodos descritos na literatura para a extração de xantonas de *G. mangostana*, o acetato de etila e a maceração são os principais (GUO et al., 2016). Logo, optou-se pela utilização do acetato de etila como solvente extrator, realizando a comparação de quatro métodos diferentes de extração, quais sejam: extração por maceração; extração por Soxhlet; extração assistida por ultra-som, e extração assistida por micro-ondas (IKAN, 1991; AZWANIDA, 2015). Em cada caso foram pesados 10g do pó das cascas do mangostão, sendo que nas condições estudadas, o método que apresentou melhor resultado, em termos de massa de extrato obtido, foi a extração por aparelhagem de Soxhlet (**Figura 17**), que gerou 1,14g de um material viscoso, que cristalizou após repouso de 48h à temperatura ambiente.



Figura 17. Aparelhagem de Soxhlet.

Os perfis cromatográficos de todos os extratos foram comparáveis, indicando a presença majoritária de dois compostos (**Figura 18**), o composto natural gartanina, com tempo de retenção $t_R = 10,995$ min., com percentual entre 15-20%; e a α -mangostina, como componente principal presente no extrato, em $t_R = 14,242$ min., com elevado percentual na faixa de 60-70%. Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (CDCl_3) das duas xantonas majoritárias, após purificação, quando comparados com os dados disponíveis na literatura para os componentes principais de *G. mangostana* (AL-MASSARANI, 2013; XU et al, 2014), indicam a presença de duas substâncias polifenólicas, as xantonas gartanina **1** e, majoritariamente, a α -mangostina **2**.

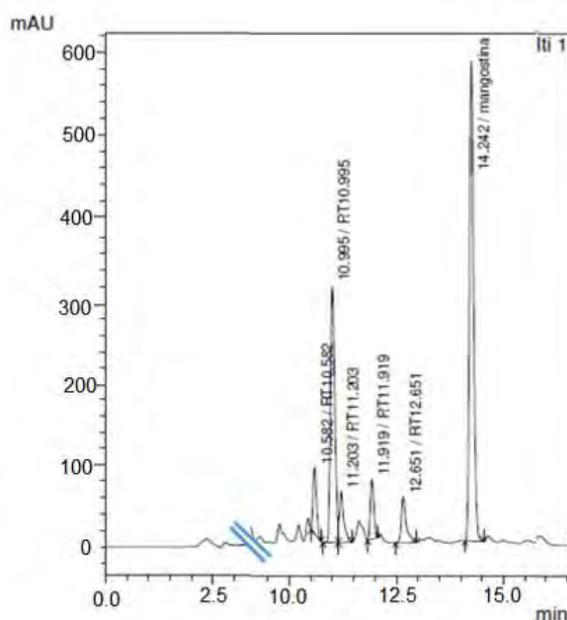


Figura 18. Análise HPLC para o extrato bruto de *G. mangostana*.

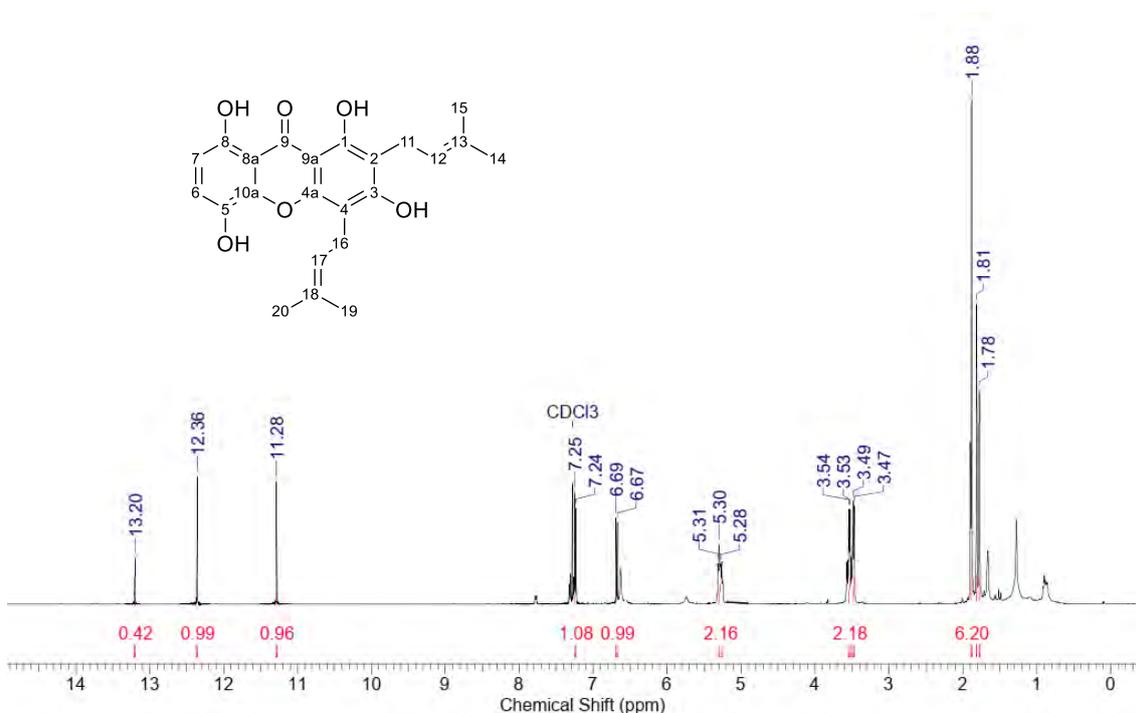
Para o isolamento e a purificação dos dois componentes majoritários do extrato bruto de *G. mangostana* foram realizadas duas metodologias: metodologia clássica, na qual cerca de 400mg do extrato bruto foi separado por cromatografia em coluna aberta *flash* utilizando sílica-gel 60 (70-230 mesh), tendo como gradiente a mistura *n*-hexano e acetato de etila (5:10:15:20:25:30), obtendo-se 252 mg do produto natural α -mangostina **2**, com elevada pureza e rendimento de 63%. Um segundo componente, a xantona gartanina, foi obtida em 15% de rendimento (60mg). Além disso, através da utilização do equipamento *Flash-isolera* (**Figura 19**), foi possível a otimização da metodologia de purificação, com a implementação da cromatografia sistematizada, a aplicabilidade e execução durante o procedimento apresentou como vantagens menor tempo de processamento e uso reduzido

de solventes, mantendo-se a mesma fase móvel para eluição, hexano e acetato de etila (5:10:15:20:25), sendo obtido 290 mg de α -mangostina **2** (rendimento 72,5%). A seguir se encontram os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos produtos naturais isolados: gartanina **1** (Espectros 1 e 2, Tabela 1), e seu espectro de massas ($\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_6$): m/z 395 [H - 1] (Espectro 3), e α -mangostina **2** (Espectros 4 e 5, Tabela 2).

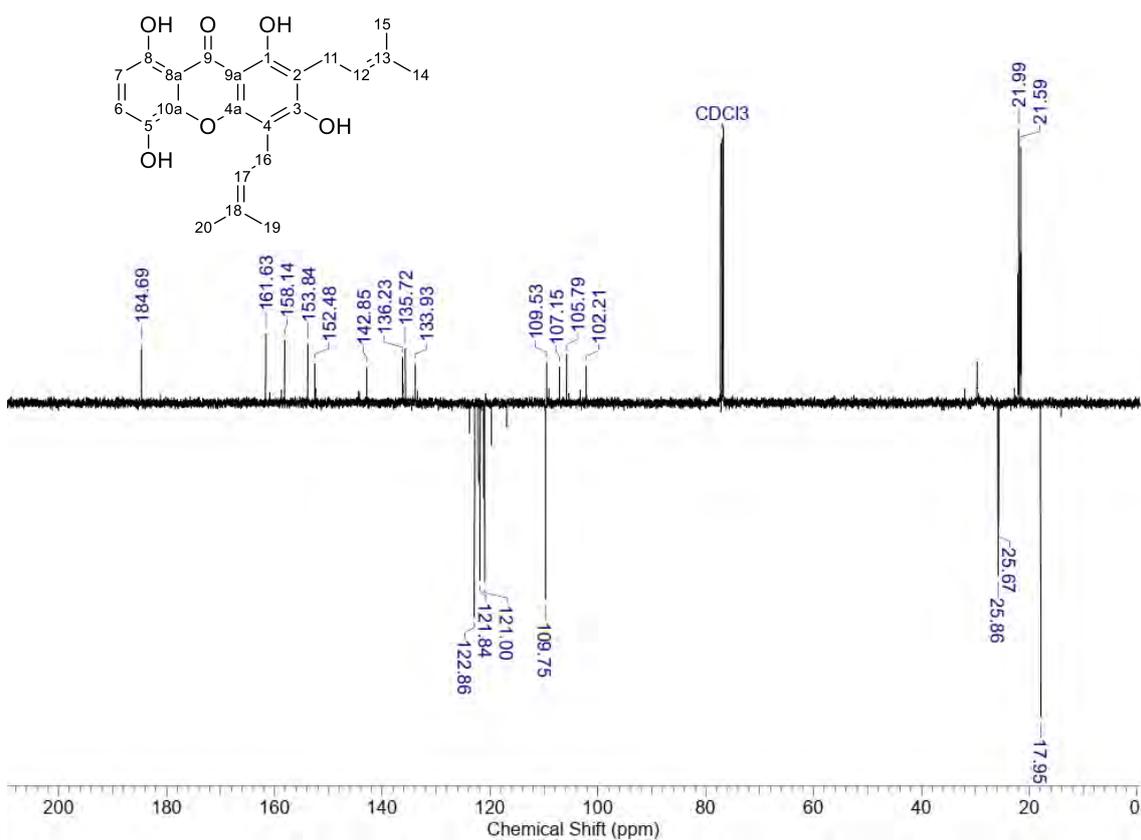


Figura 19. Equipamento Isolera, ACI – *Accelerated Chromatographic Isolation*.

Dados espectroscópicos de RMN: Xantona natural gartanina (1)

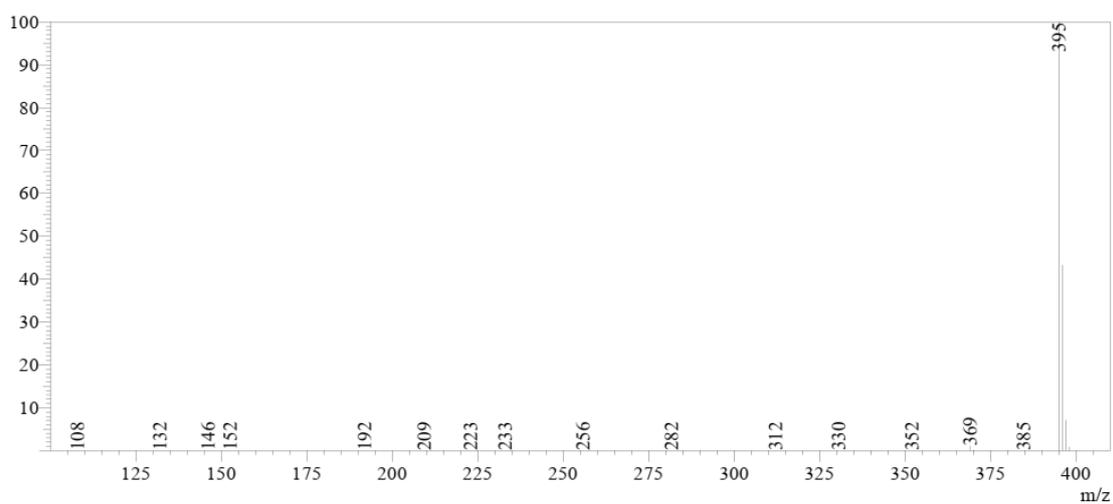


Espectro 1. Espectro RMN ^1H da gartanina **1** em CDCl_3 a 500 MHz.



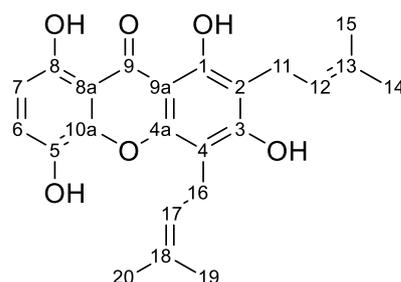
Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C da gartanina **1**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados espectro de massas (EM) (ESI-) da xantona natural gartanina (**1**): m/z calculado para $(\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_6)$: 396, massa observada $(\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_6 - 1\text{H})$: 395. **Espectro 3**



Espectro 3. Espectro de massas para o produto natural gartanina **1**.

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e RMN ¹³C para gartanina **1**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.20 (s, 1H)	158.14 (C)
2	---	109.53 (C)
3	---	161.63 (C)
4	---	105.79 (C)
4a	---	152.48 (C)
5	11.28 (s, 1H)	136.23 (C)
6	7.25 (d, J 8,5 Hz, 1H)	122.86 (CH)
7	6.69 (d, J 8,8 Hz, 1H)	109.75 (CH)
8	12.36 (s, 1H)	153.84 (C)
8a	---	107.15 (C)
9	---	184.69 (C)
9a	---	102.21 (C)
10a	---	142.85 (C)
11	3.49 (d, J 6,6 Hz, 2H)	21.99 (CH ₂)
12	5.28-5.31 (m, 1H)	121.00 (CH)
13	---	133.93 (C)
14	1.81 (s, 3H)	25.86 (CH ₃)
15	1.78 (s, 3H)	17.95 (CH ₃)
16	3.54 (d, J 7,2 Hz, 2H)	21.59 (CH ₂)
17	5.28-5.31 (m, 1H)	121.84 (CH)
18	---	135.72 (C)
19	1.88 (s, 3H)	17.95 (CH ₃)
20	1.88 (s, 3H)	25.67 (CH ₃)

A seguir, estão representadas as análises de LCMS-PDA, LRMS(ESI+) e os dados de ressonância magnética nuclear (RMN) para caracterização e elucidação estrutural do produto natural majoritário, isolado de *G. mangostana*, a xantona prenilada α -mangostina **2** (**Espectro 5** e **Espectro 6**). Na (**Figura 20**), é possível notar no cromatograma obtido por DAD (245 nm) um único pico majoritário ($t_R = 7,75$ min.), com pureza acima de 99%, PF: 180-181°C e perfil da curva UV condizente com o reportado na literatura para a α -mangostina (DE MELLO et al., 2021). A seguir, é mostrado o espectro de massas (ESI+) para o produto obtido, de modo que foi observado sinal de m/z 411, condizente com o

valor de m/z 411,2 calculado para $C_{24}H_{27}O_6^+$, referente ao íon pseudomolecular adicionado de um próton $[M+H]^+$.

Dados do Cromatograma CLAE-DAD: Produto natural α -mangostina (2).

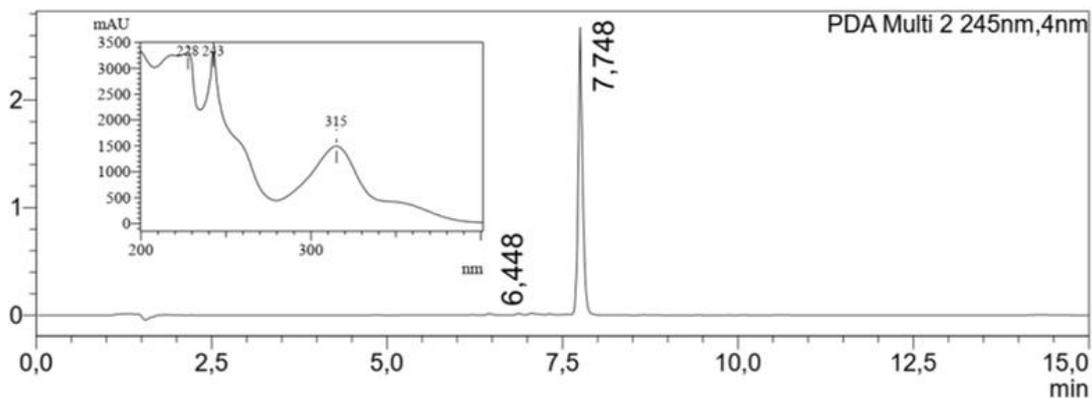
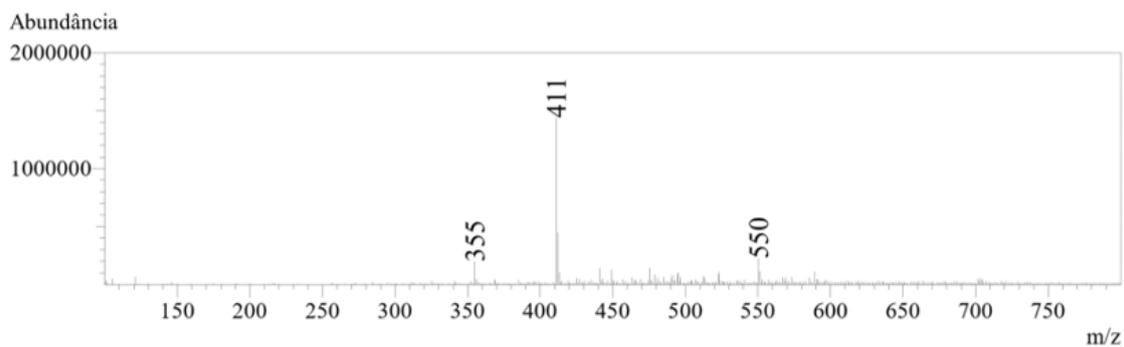


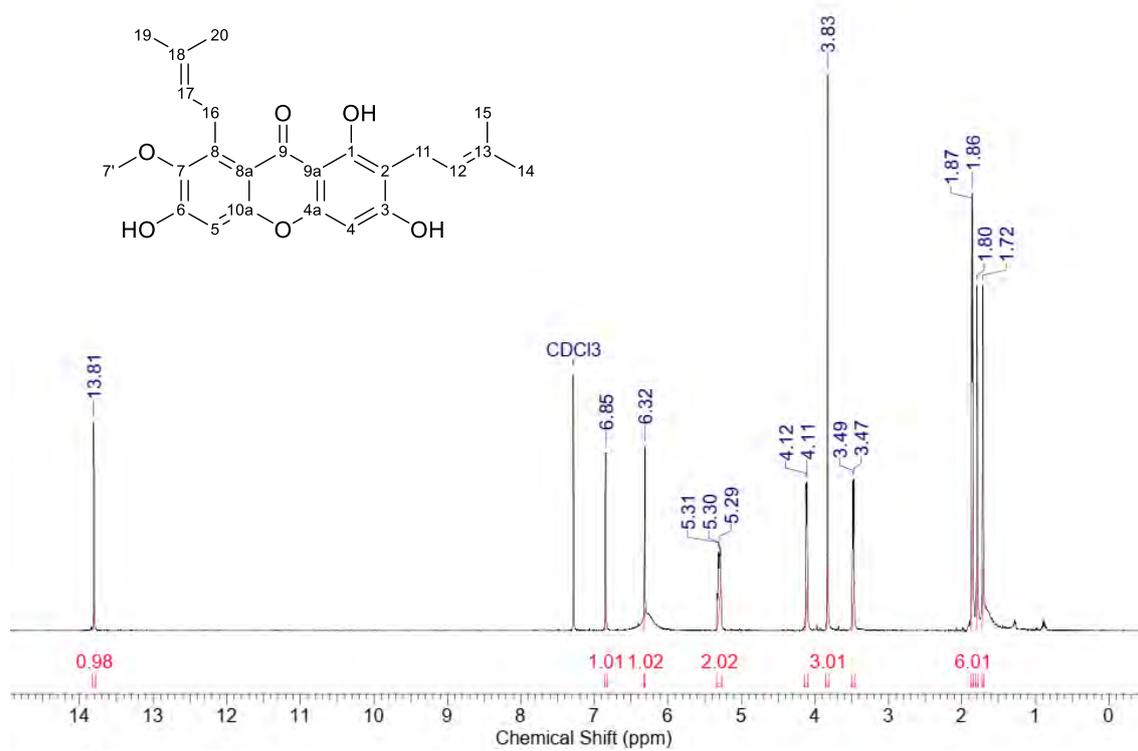
Figura 20. LCMS-PDA (200–400 nm) da α -mangostina. Condições de análise: $t = 0$ min, 50% B; $t = 5$ min, 95% B; $t = 12$ min, 95% B; $t = 13$ min, 50% B.

Dados espectro de massas (ESI+): Xantona natural α -mangostina (2).

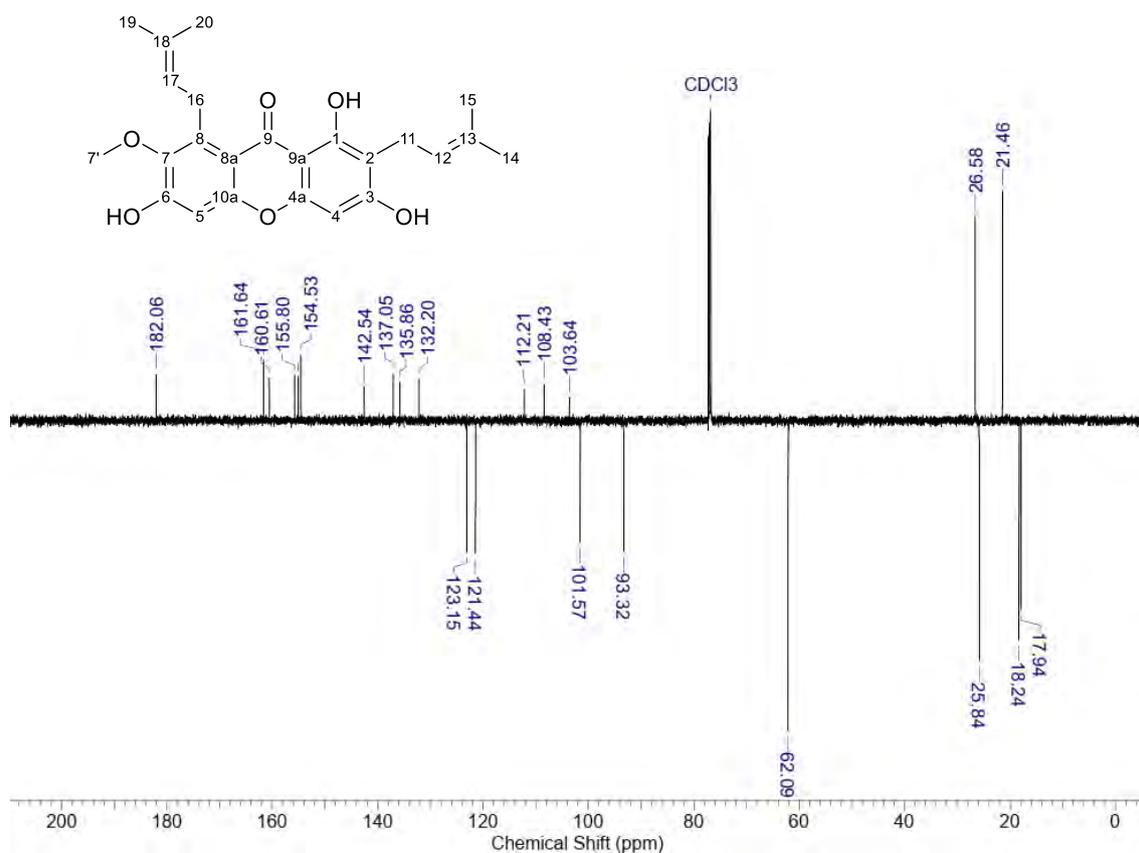


Espectro 4. LRMS(ESI+) espectro de massas da α -mangostina 2.

Dados espectroscópicos de RMN: Produto natural α -mangostina (2**).**

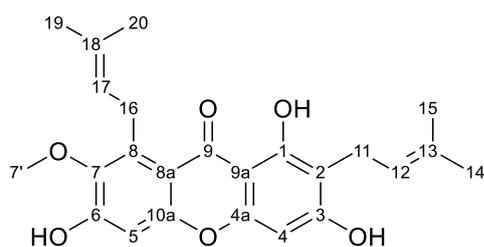


Espectro 5. Espectro RMN ^1H de α -mangostina **2**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



Espectro 6. Espectro de RMN ^{13}C de α -mangostina **2**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para α -mangostina **2**.

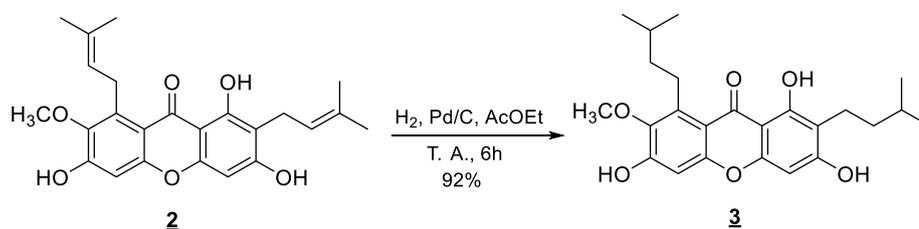


Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.81 (s, 1H)	160.61 (C)
2	---	108.43 (C)
3	---	161.64 (C)
4	6.32 (s, 1H)	93.32 (CH)
4a	---	154.53 (C)
5	6.85 (s, 1H)	101.57 (CH)
6	---	155.80 (C)
7	---	142.54 (C)
8	---	137.05 (C)

8a	---	112.21 (C)
9	---	182.06 (C)
9a	---	103.64 (C)
10a	---	155.08 (C)
11	3.49 (d, <i>J</i> 6,94 Hz, 2H)	21.46 (CH ₂)
12	5.29-5.31 (m, 1H)	121.44 (CH)
13	---	132.20 (C)
14	1.87 (s, 3H)	25.84 (CH ₃)
15	1.72 (s, 3H)	18.24 (CH ₃)
16	4.11 (d, <i>J</i> 5,99 Hz, 2H)	26.58 (CH ₂)
17	5.29-5.31 (m, 1H)	123.15 (CH)
18	---	135.86 (C)
19	1.80 (s, 3H)	17.94 (CH ₃)
20	1.86 (s, 3H)	25.87 (CH ₃)
7'	3.83 (s, 3H)	62.09 (CH ₃)

4.5 Síntese dos derivados do produto natural α -mangostina

4.6 Síntese do derivado reduzido tetra-hidroxi- α -mangostina (**3**)

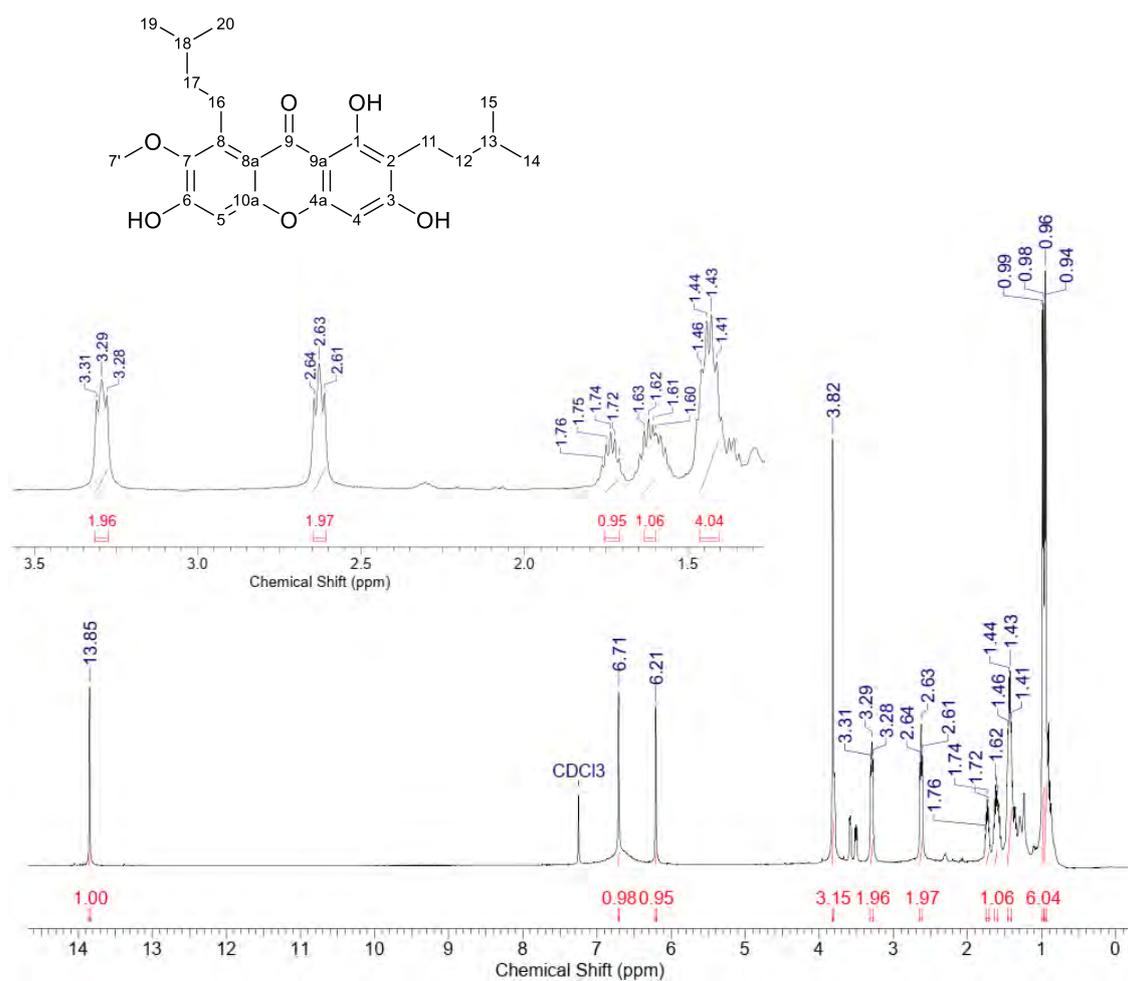


Esquema 6. Reação de hidrogenação catalítica da α -mangostina, síntese do derivado **3**.

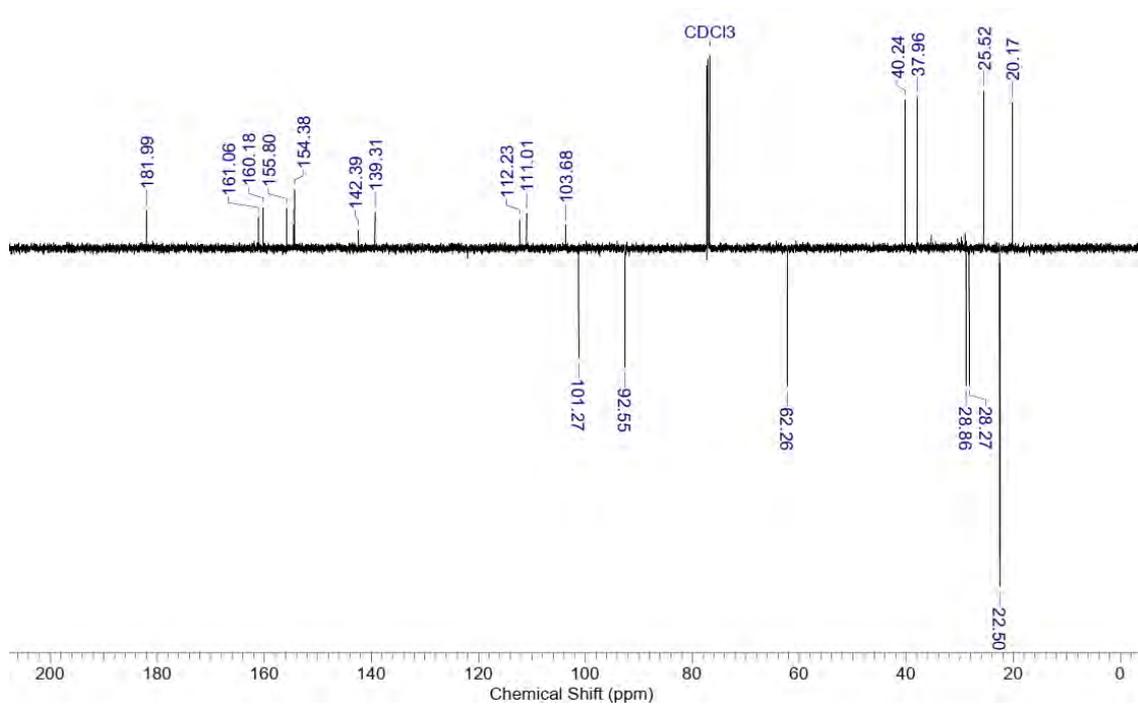
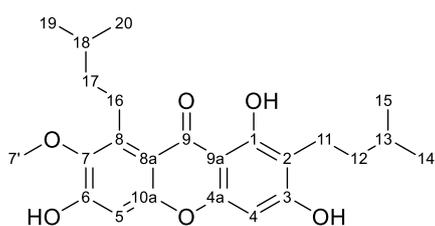
Em um balão de fundo redondo, equipado com uma barra de agitação magnética, foi feita uma solução de 0,1 g (0,24 mmol) de α -mangostina **2** em 8 mL de acetato de etila. Sobre essa mistura foi adicionado, cuidadosamente, Pd/C (10% m/m, 10 mg) formando uma suspensão inicial. Em seguida, o balão contendo a reação foi purgado com N₂ por 20 minutos, sob agitação, à temperatura ambiente com auxílio de bomba de vácuo. Após garantir que a atmosfera no interior do balão estivesse totalmente inerte, uma bexiga contendo H₂ foi utilizada para purgar a reação por 15 minutos adicionais, dessa forma, saturando a micro atmosfera do sistema reacional com H₂, seguida de agitação vigorosa, sob atmosfera de H₂, por 2 h. A reação foi monitorada por Cromatografia em Camada

Delgada Analítica (CCDA), contendo o sistema de solventes Hex/EtOAc (70:30) não sendo possível observar alteração significativa no Rf entre α -mangostina e o derivado saturado. Após 6h de reação, o meio reacional foi filtrado para outro balão, realizando assim a remoção do catalisador. Em seguida o solvente foi totalmente evaporado. Por fim, foram obtidos 0,092 g, 92% de rendimento do produto **3**, na forma de um óleo de cor castanha. Os dados de RMN obtidos (**Espectros 7, 8; Tabela 3**) são condizentes com a estrutura. No espectro de massas (**Espectro 9**), foi observada a massa para (C₂₄H₃₀O₆) m/z 413 [H – 1], esses dados se encontram de acordo com os disponíveis na literatura (CHI et al., 2018).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado tetra-hidro- α -mangostina (**3**).

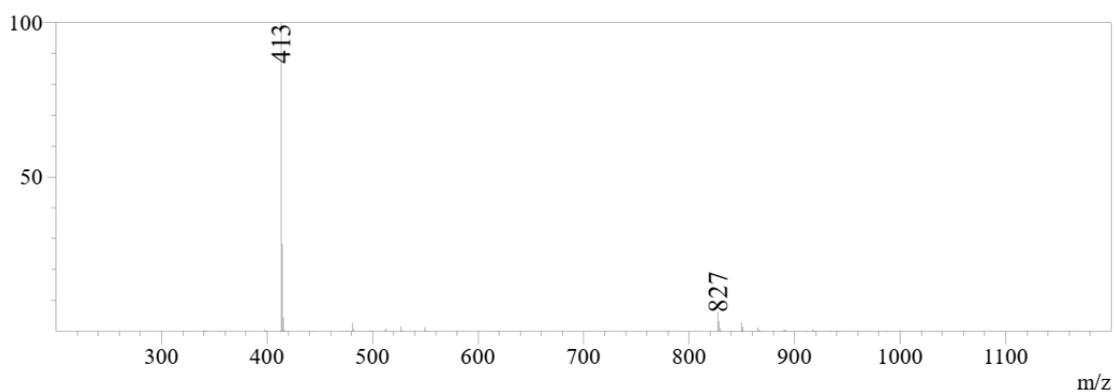


Espectro 7. Espectro RMN ¹H do derivado **3**, em CDCl₃, a 500 MHz.



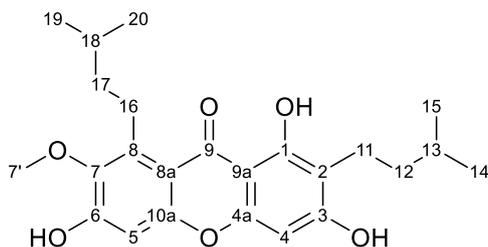
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **3** em CDCl_3 a 125 MHz.

Dados espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**3**): m/z calculado para ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$): 414, massa observada ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6 - 1\text{H}$): 413.



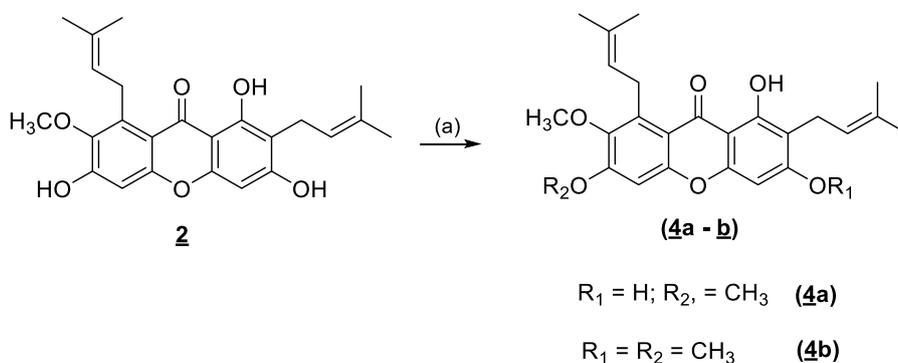
Espectro 9. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado **3**.

Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado tetra-hidro- α -mangostina **3**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.85 (s, 1H)	160.18 (C)
2	---	111.01 (C)
3	---	161.06 (C)
4	6.21 (s, 1H)	92.55 (CH)
4a	---	155.80 (C)
5	6.71 (s, 1H)	101.27 (CH)
6	---	154.57 (C)
7	---	142.39 (C)
8	---	139.31 (C)
8a	---	112.23 (C)
9	---	181.99 (C)
9a	---	103.68 (C)
10a	---	154.38 (C)
11	3.28-3.31 (m, 2H)	20.17 (CH ₂)
12	1.41-1.46 (m, 2H)	37.96 (CH ₂)
13	1.41-1.46 (m, 1H)	28.27 (CH)
14	0.94 (d, J 6.31 Hz, 3H)	22.50 (CH ₃)
15	0.96 (d, J 6.31 Hz, 3H)	22.50 (CH ₃)
16	2.61-2.64 (m, 2H)	25.52 (CH ₂)
17	1.60-1.76 (m, 2H)	40.24 (CH ₂)
18	1.41-1.46 (m, 1H)	28.86 (CH)
19	0.98 (d, J 6.31 Hz, 3H)	25.59 (CH ₃)
20	0.99 (d, J 6.31 Hz, 3H)	25.59 (CH ₃)
7'	3.82 (s, 3H)	62.26 (CH ₃)

4.7 Síntese dos derivados α -mangostina-*O*-alquil mono e *bis*-alquilados (**4a**) e (**4b**)



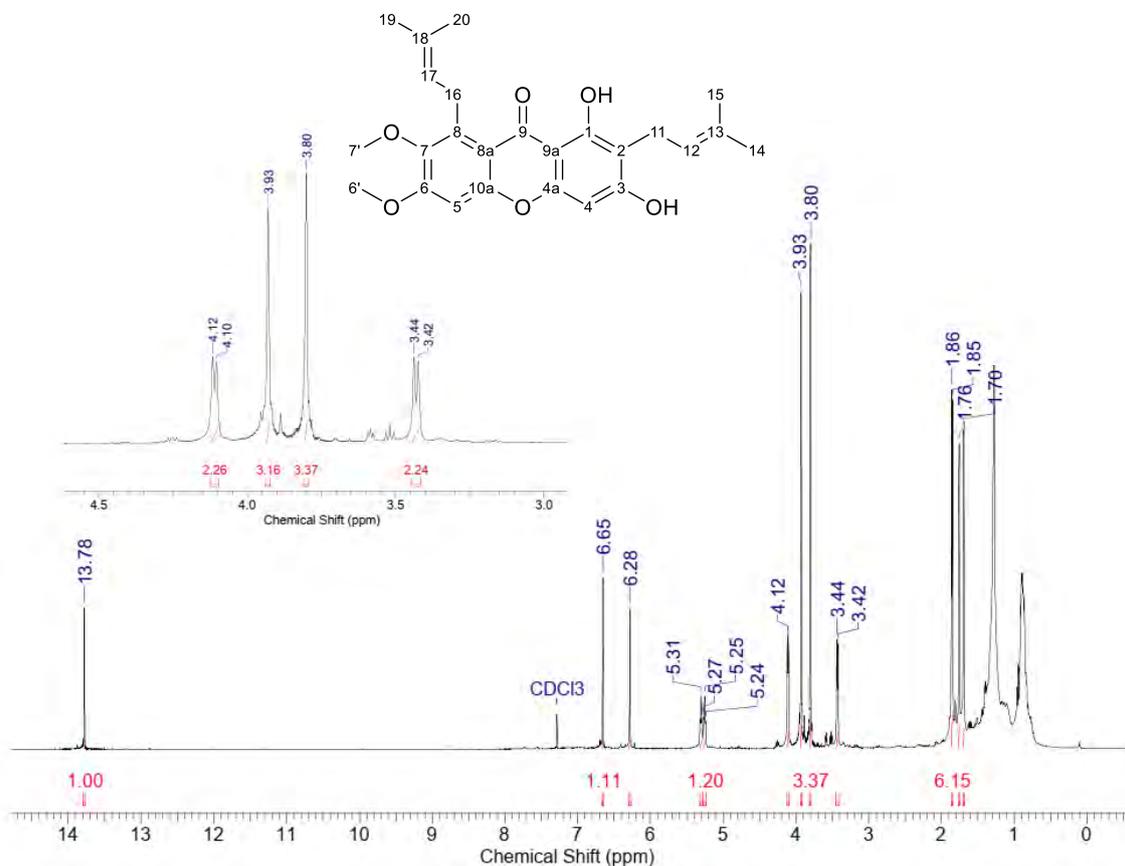
Esquema 7. Reação de *O*-alquilação da α -mangostina: síntese dos derivados **4a** e **4b**.

Para a síntese do derivado **4a**, 0,05 g da xantona natural, α -mangostina **2** (0,122 mmol), foi transferida para um balão de 10 mL e solubilizada em 3 mL de DMF anidro (seco sob peneira molecular de 4Å, ativada por 24h, em estufa mantida a 150°C). Sobre a solução obtida foi adicionado 0,017 g de K₂CO₃ anidro (0,122 mmol), e 0,017 g de CH₃I (0,122 mmol; 7,6 μ L).

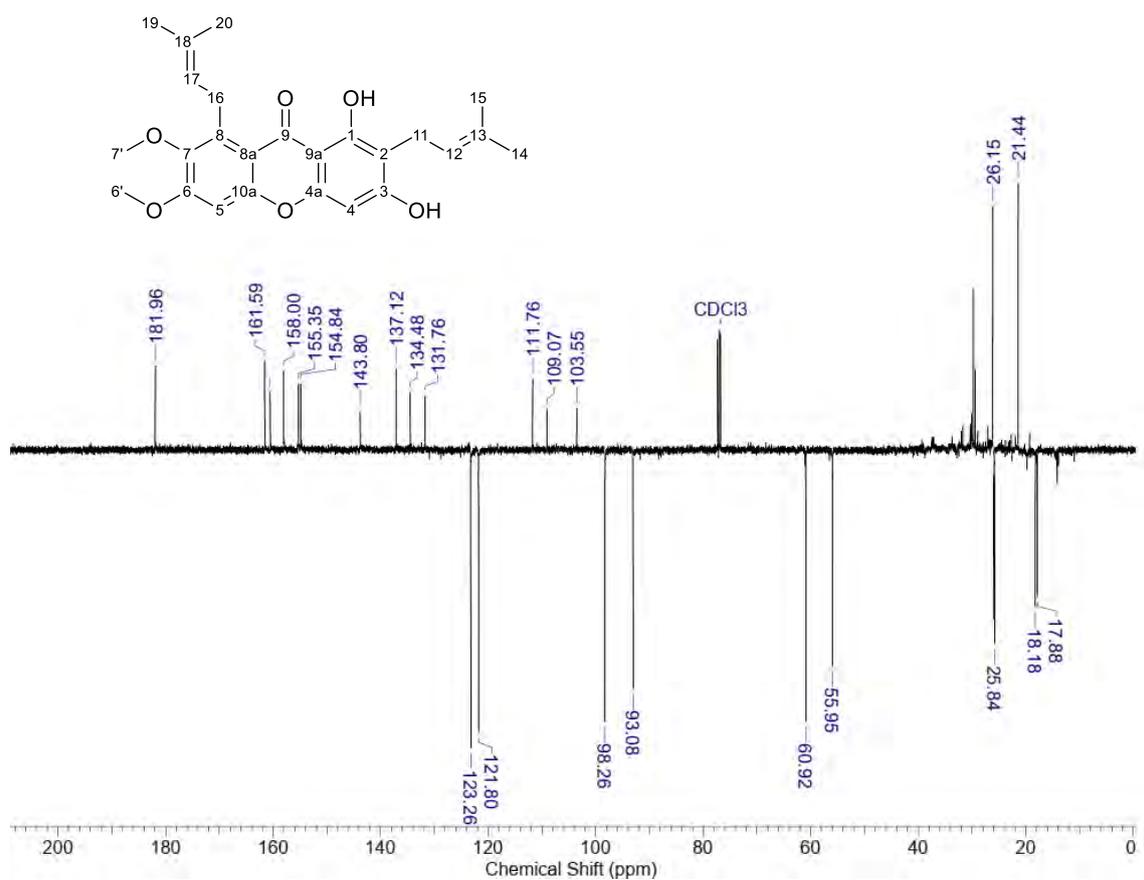
Para preparação do produto **4b**, trimetoxilado, 0,05 g de α -mangostina **2** (0,122 mmol) foram dissolvidas em 6 mL de DMF anidro, num balão de 10 mL. Sobre a solução obtida adicionou-se 0,049 g de K₂CO₃ anidro (0,366 mmol) e 0,050 g de CH₃I (0,366 mmol; 3 eqv.; 22 μ L). As duas reações foram monitoradas por CCDA (sílica-gel) com o eluente (Hex/EtOAc 80:20). Após detecção do término da reação, a mistura reacional foi concentrada e o resíduo obtido foi solubilizado em 20 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi particionada com 4 x 20 mL de H₂O, lavada com 10 mL de uma solução 10% de bissulfito de sódio, e por fim lavada com 10 mL de H₂O. Então, as fases orgânicas obtidas em cada reação foram secas sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado, fornecendo, seletivamente, os produtos (**4a** e **4b**), di e tri-metoxilados, respectivamente, como sólidos de coloração amarelo claro. A purificação dos produtos ocorreu por CCA, em coluna de vidro empacotada com sílica-gel. Utilizou-se como fase móvel a mistura Hex/EtOAc, em gradiente 99:1 a 95:5, com incremento de 1% EtOAc a cada 80 mL. Ao fim da purificação os produtos desejados foram obtidos, ambos, na forma de sólidos

amarelo-pálidos. Os derivados **(4a)** (0,039 g, 78% de rendimento, PF: 90-92°C) e **(4b)** (0,045 g, 85% de rendimento, PF: 89-93 °C) foram devidamente caracterizados através dos métodos convencionais de análise. Os dados de RMN foram obtidos para o derivado **(4a)** (**Espectros 10, 11; Tabela 4**), além de seu espectro de massas para (C₂₅H₂₈O₆): m/z 423 [H – 1] (**Espectro 12**); e para o derivado **(4b)** (**Espectros 13, 14; Tabela 5**), e espectro de massas (C₂₆H₃₀O₆): m/z 438 (**Espectro 15**). Todos os dados de caracterização estão em concordância com as estruturas propostas e com os dados disponíveis na literatura (NGUYEN et al., 2017; KHAW et al., 2020).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado *a*-mangostina-6,7-dimetoxi (**4a**).

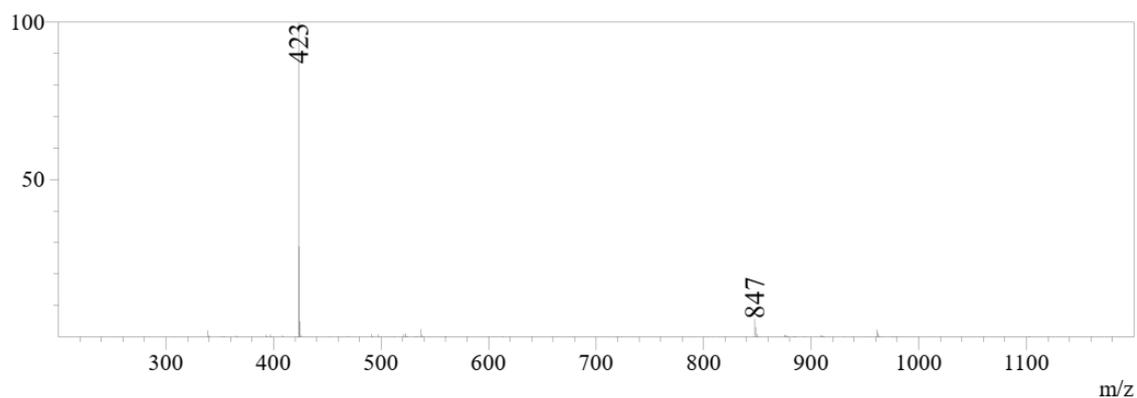


Espectro 10. Espectro RMN ¹H do derivado **4a**, em CDCl₃, a 500 MHz.



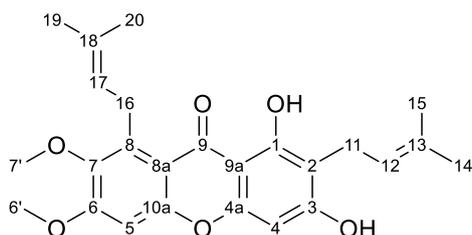
Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **4a**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**4a**): m/z calculado para ($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6$): 424, massa observada ($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6 - 1\text{H}$): 423.



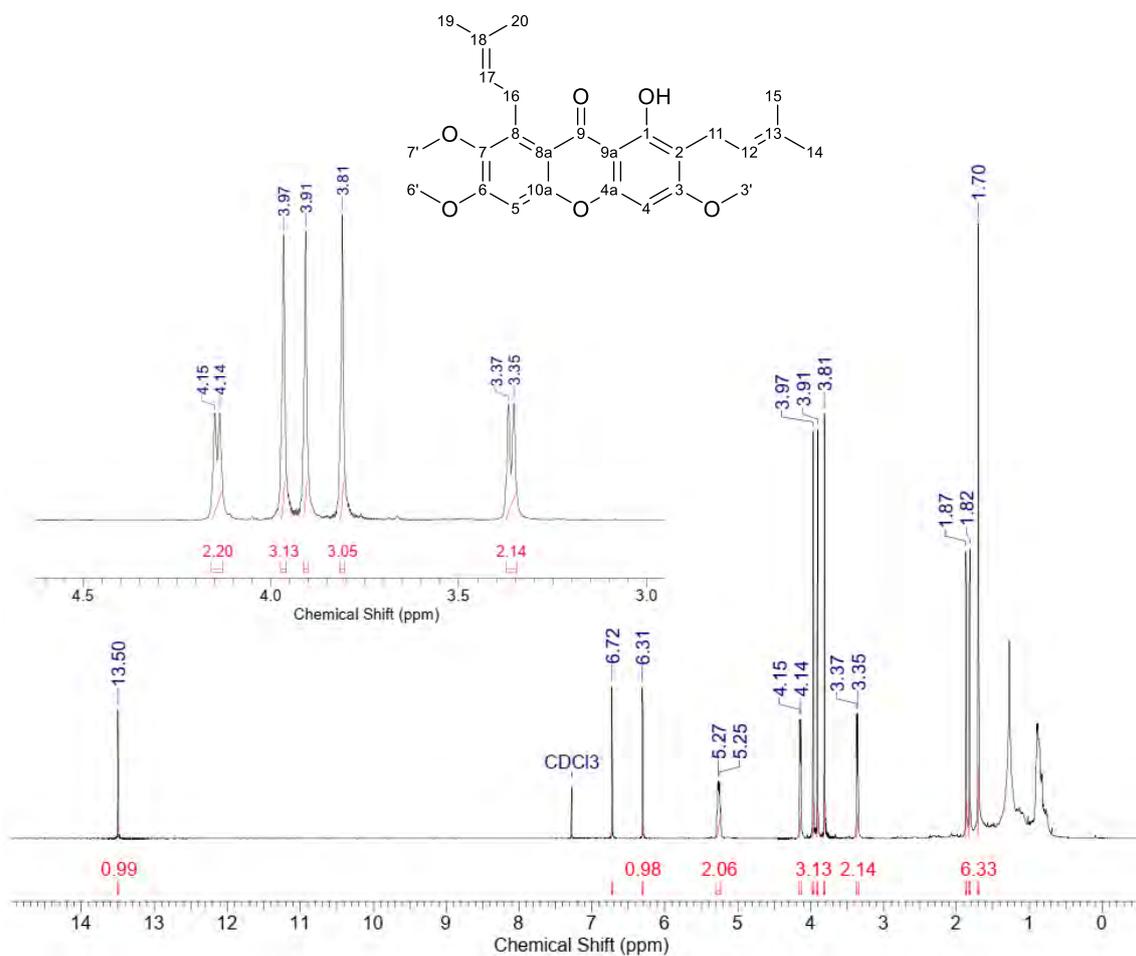
Espectro 12. Espectro de massas de massas (EM) (ESI-) para o derivado **4a**.

Tabela 4. Deslocamento químico de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado 6,7-dimetoxi α -mangostina **4a**.

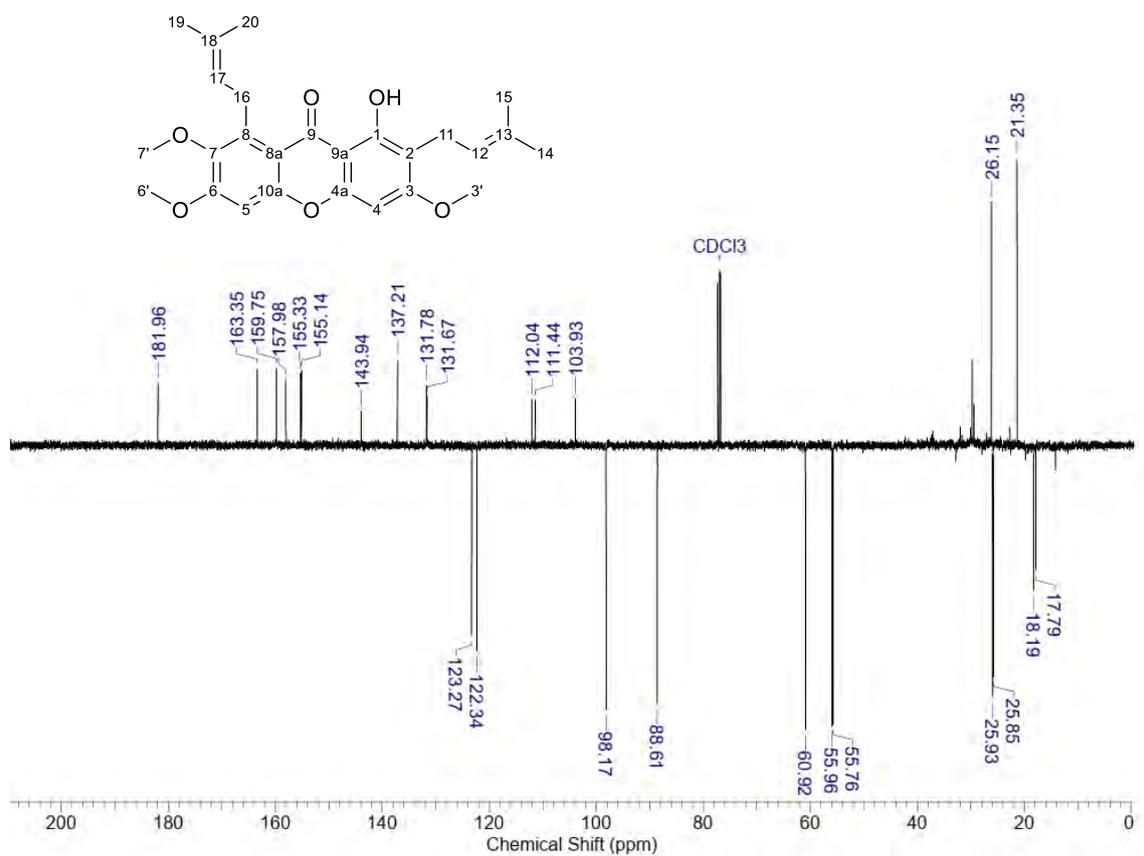


Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.78 (s, 1H)	160.53 (C)
2	---	109.07(C)
3	---	161.59 (C)
4	6.28 (s, 1H)	93.08 (CH)
4a	---	158.00 (C)
5	6.65 (s, 1H)	98.26 (CH)
6	---	155.35 (C)
7	---	154.84 (C)
8	---	137.12 (C)
8a	---	111.76 (C)
9	---	181.96 (C)
9a	---	103.55 (C)
10a	---	143.80 (C)
11	4.12 (d, J 6,3 Hz, 2H)	21.44 (CH ₂)
12	5.24-5.27 (t, J 6,1 Hz, 1H)	121.80 (CH)
13	---	131.76 (C)
14	1.70 (s, 3H)	18.18 (CH ₃)
15	1.86 (s, 3H)	17.88 (CH ₃)
16	3.44 (d, J 6,9 Hz, 2H)	26.15 (CH ₂)
17	5.29-5.32 (t, J 6,9 Hz, 1H)	123.26 (CH)
18	---	134.48 (C)
19	1.76 (s, 3H)	25.90 (CH ₃)
20	1.85 (s, 3H)	25.84 (CH ₃)
6'	3.93 (s, 3H)	55.95 (CH ₃)
7'	3.80 (s, 3H)	60.92 (CH ₃)

Dados espectroscópicos de RMN: derivado *α*-mangostina-3,6,7-trimetoxi (**4b**).

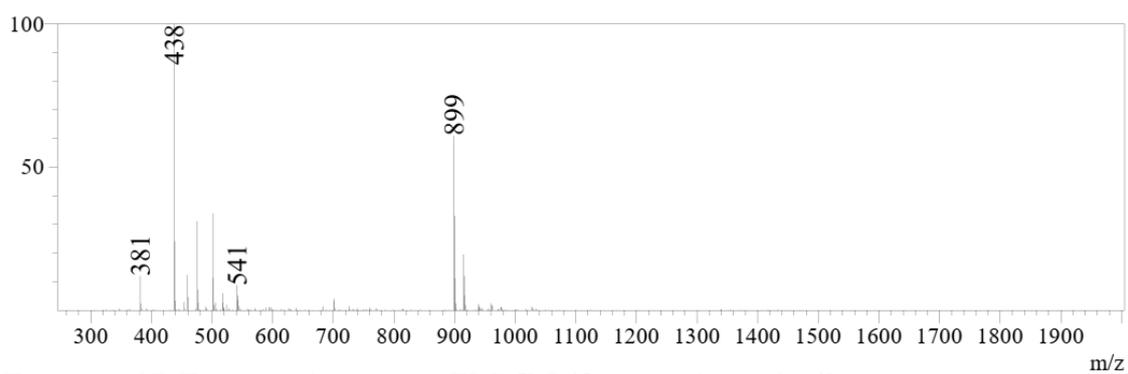


Espectro 13. Espectro RMN ¹H do derivado **4b**, em CDCl₃, a 500 MHz.



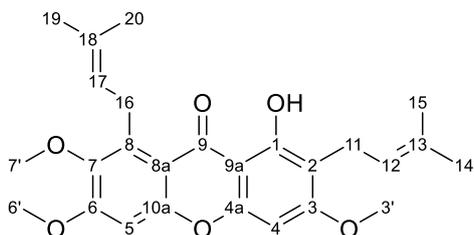
Espectro 14. Espectro de RMN ¹³C do derivado **4b**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**4b**): m/z calculada para (C₂₆H₃₀O₆): 438, massa observada (C₂₆H₃₀O₆): 438.



Espectro 15. Espectro de massas (EM) [M-1] para o derivado **4b**.

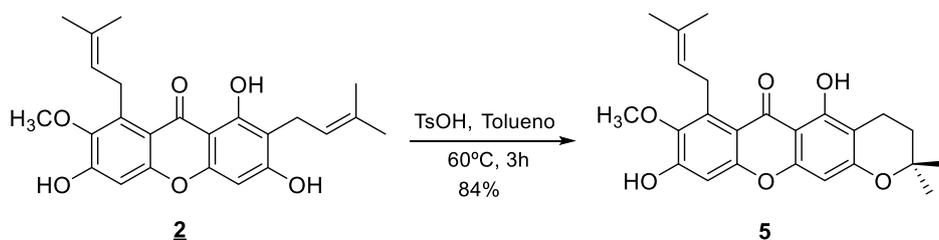
Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado 3,6,7-trimetoxi α -mangostina **4b**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.50 (s, 1H)	159.75 (C)
2	---	112.04 (C)
3	---	163.35 (C)
4	6.31 (s, 1H)	88.61 (CH)
4a	---	157.98 (C)
5	6.72 (s, 1H)	98.17 (CH)
6	---	155.33 (C)
7	---	155.14 (C)
8	---	137.21 (C)
8a	---	111.44 (C)
9	---	181.96 (C)
9a	---	103.93 (C)
10a	---	143.94 (C)
11	4.15 (d, J 6,6 Hz, 2H)	21.35 (CH ₂)
12	5.25-5.27 (m, 1H)	122.34 (CH)
13	---	131.78 (C)
14	1.70 (s, 3H)	18.19 (CH ₃)
15	1.70 (s, 3H)	17.79 (CH ₃)
16	3.37 (d, J 6,9 Hz, 2H)	26.15 (CH ₂)
17	5.25-5.27 (m, 1H)	123.27 (CH)
18	---	131.67 (C)
19	1.82 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
20	1.87 (s, 3H)	25.93 (CH ₃)
3'	3.97 (s, 3H)	55.76 (CH ₃)
6'	3.91 (s, 3H)	55.96 (CH ₃)
7'	3.81 (s, 3H)	60.92 (CH ₃)

4.8 Reações de ciclização da prenila em C2–Preparação dos derivados tetracíclicos (**5**) e (**6**)

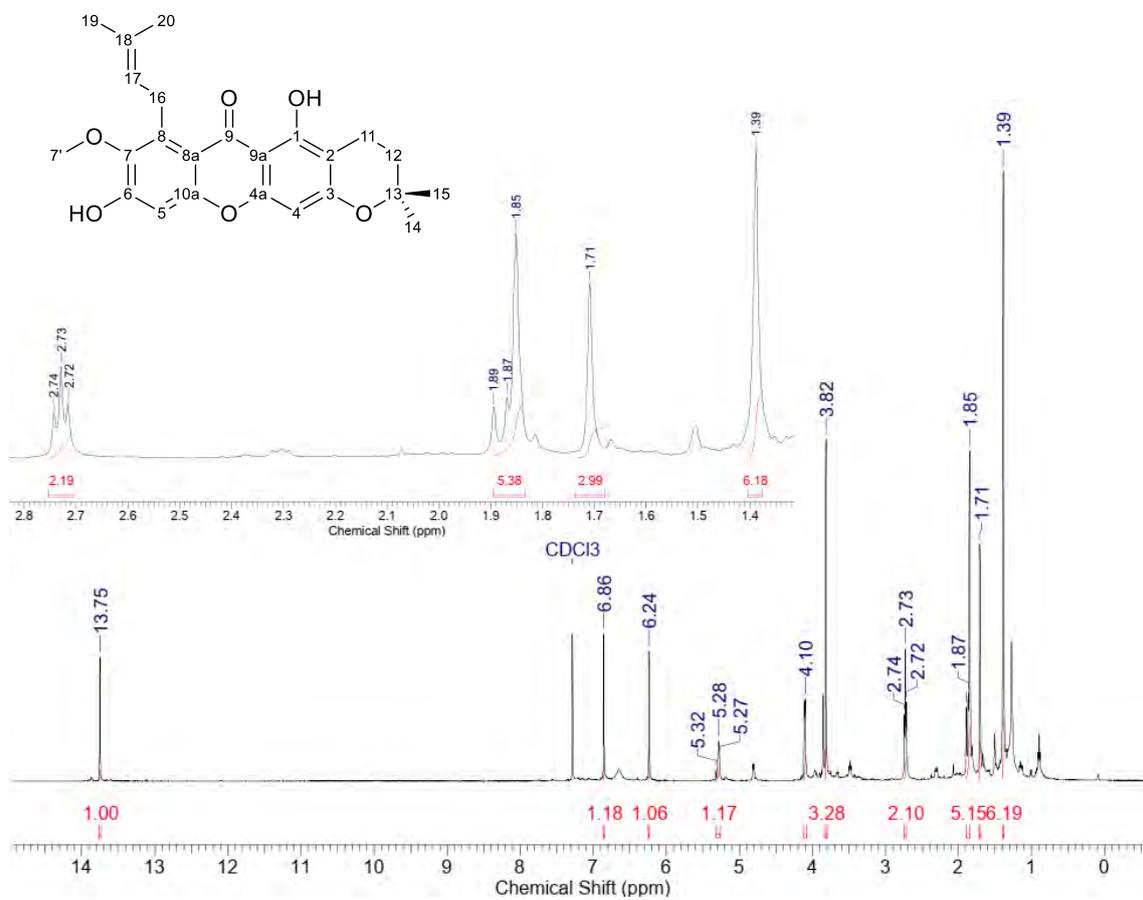
4.8.1 Síntese do derivado tetracíclico cromona, 3-isomangostina **5**



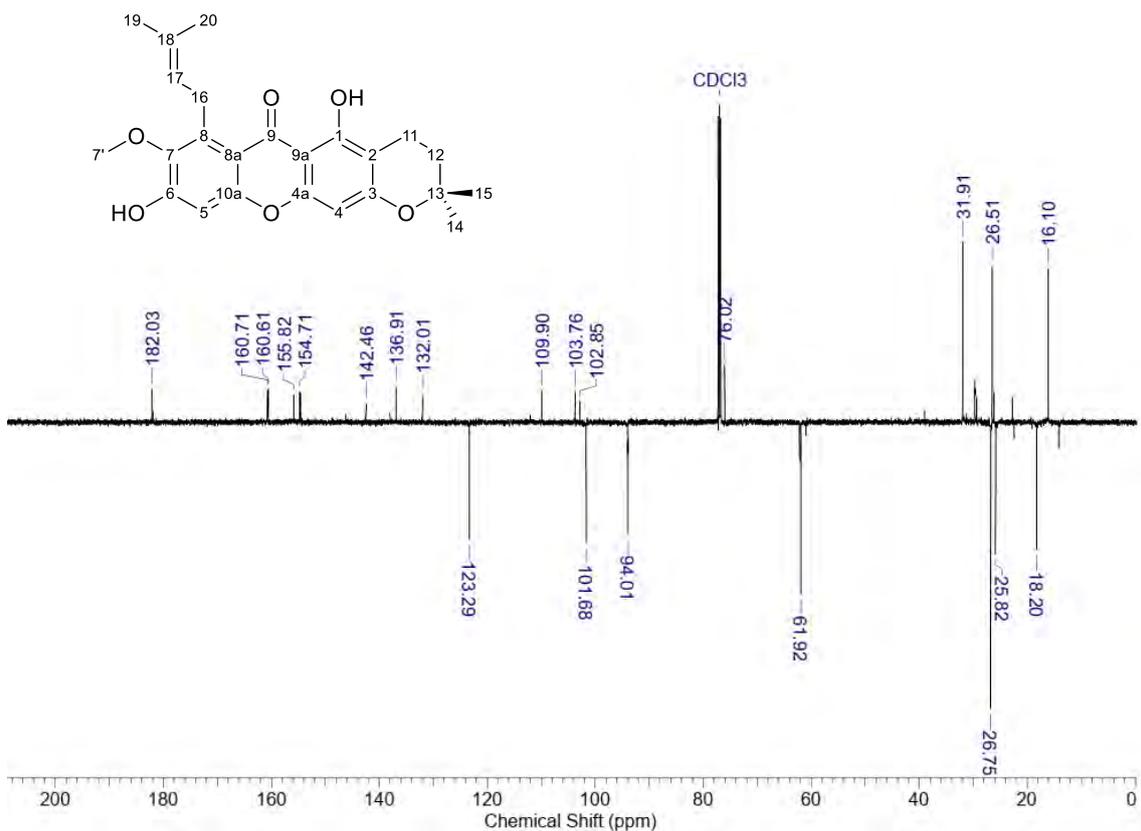
Esquema 8. Reação de formação do derivado cíclico da α -mangostina **5**.

Em um balão de 25 mL foi feita uma solução de 0,05 g (0,12 mmol) do produto natural, α -mangostina **2**, em 5 ml tolueno seco. Sobre essa solução, sob agitação, adicionou-se 5 mg de ácido *p*-toluenossulfônico (0,03 mmol). Em seguida, o sistema foi purgado com N₂ seco, garantindo a completa ausência de umidade e uma atmosfera inerte na micro-atmosfera do balão reacional. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, à temperatura de 60°C, sendo monitorada por CCDA a cada 30 minutos. Após 3h foi constatado o término da reação, sendo então realizado o isolamento do produto obtido. Primeiramente, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório, gerando um resíduo que foi solubilizado em 30 mL de CHCl₃ e lavado com 3 x 20 mL de H₂O. A fase orgânica obtida foi filtrada e seca, utilizando Na₂SO₄ anidro, e o solvente foi evaporado. O sólido obtido foi purificado em coluna CCA, empacotada com sílica-gel, tendo como eluente a mistura de solventes Hex/EtOAc, em gradiente (90:10; 85:15; 80:20; 75:25). Foi obtido 0,042 g (84%) do derivado 3-isomangostina **5**, na forma de um sólido amarelo, com PF: 153-154 °C. Os dados de RMN obtidos para o derivado (**5**) (**Espectros 16, 17; Tabela 6**), bem como a massa observada (C₂₅H₂₈O₅ + 1H): m/z 409 [H + 1] (**Espectro 18**), estão de acordo com a estrutura e com os dados já disponíveis na literatura (YATES & BHAT, 1970).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado cíclico 3-isomangostina (**5**).

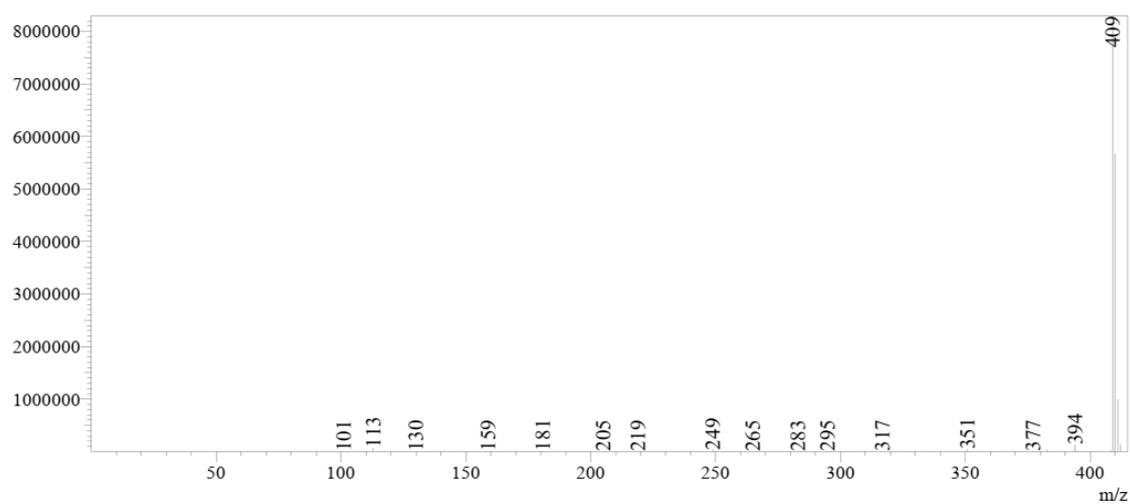


Espectro 16. Espectro RMN ¹H do derivado **5**, em CDCl₃, a 500 MHz.



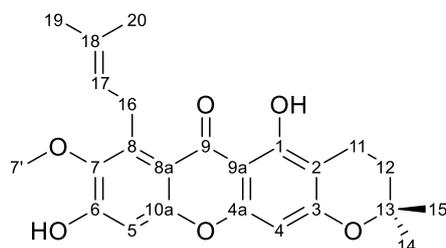
Espectro 17. Espectro de RMN ¹³C do derivado **5**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**5**): m/z calculada para (C₂₅H₂₈O₅): 408, massa observada (C₂₅H₂₈O₅ + 1H): 409.



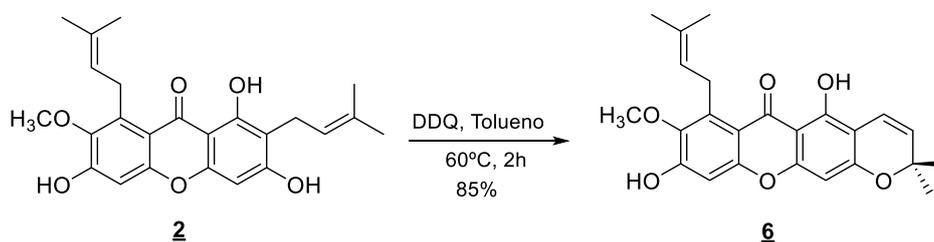
Espectro 18. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado **5**.

Tabela 6. Deslocamento químico de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado tetracíclico 3-isomangostina **5**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.75 (s, 1H)	160.61 (C)
2	---	102.85 (C)
3	---	160.71 (C)
4	6.24 (s, 1H)	94.01 (CH)
4a	---	155.82 (C)
5	6.86 (s, 1H)	101.68 (CH)
6	---	154.71 (C)
7	---	142.46 (C)
8	---	136.91 (C)
8a	---	109.90 (C)
9	---	182.03 (C)
9a	---	103.76 (C)
10a	---	154.60 (C)
11	2.72-2.74 (t, 6.8 2H)	16.10 (CH ₂)
12	1.89 (m, 2H)	31.91 (CH ₂)
13	---	76.02 (C)
14	1.39 (s, 3H)	26.75 (CH ₃)
15	1.39 (s, 3H)	26.75 (CH ₃)
16	4.10 (d, J 6,0 Hz, 2H)	26.51 (CH ₂)
17	5.28 (d, J 6,0 Hz, 1H)	123.29 (CH)
18	---	132.01 (C)
19	1.71 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
20	1.85 (s, 3H)	25.82 (CH ₃)
7'	3.82 (s, 3H)	61.92 (CH ₃)

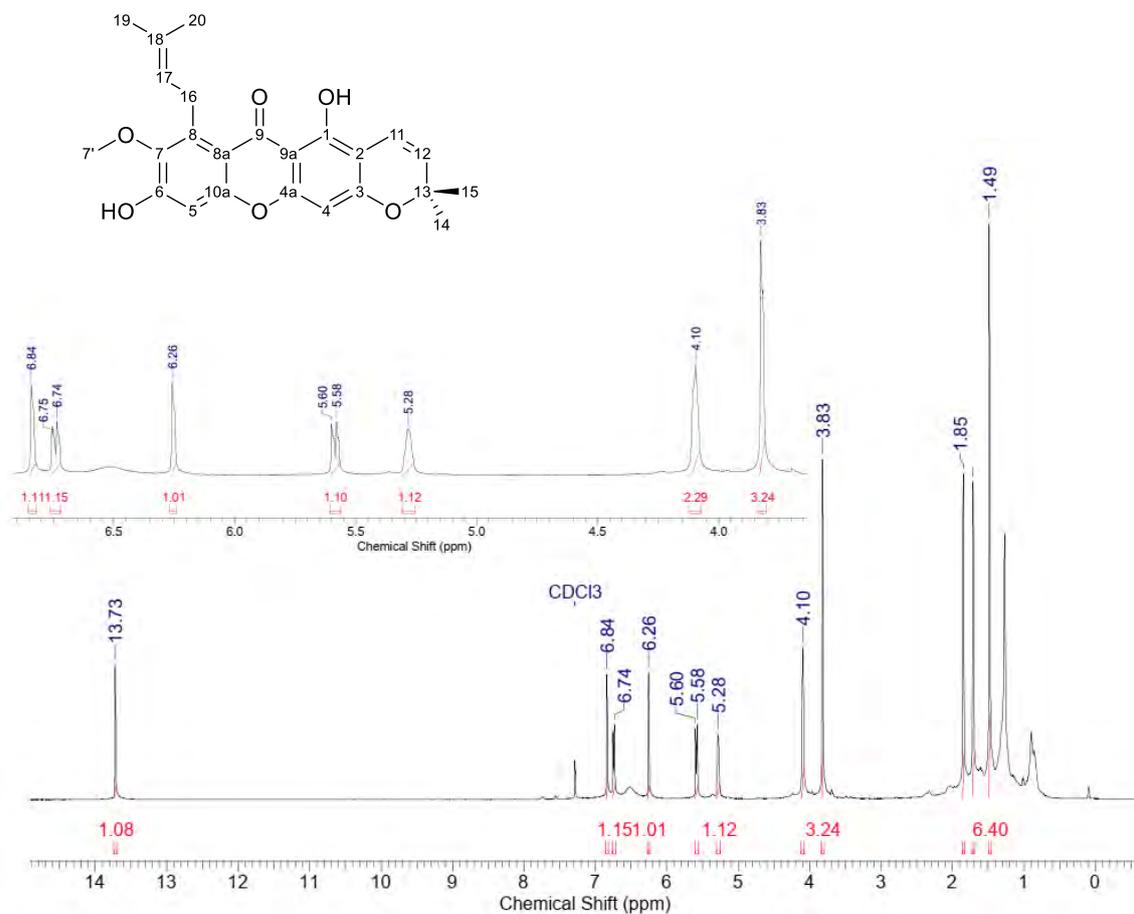
4.8.2 Síntese do derivado cromeno da α -mangostina **6**



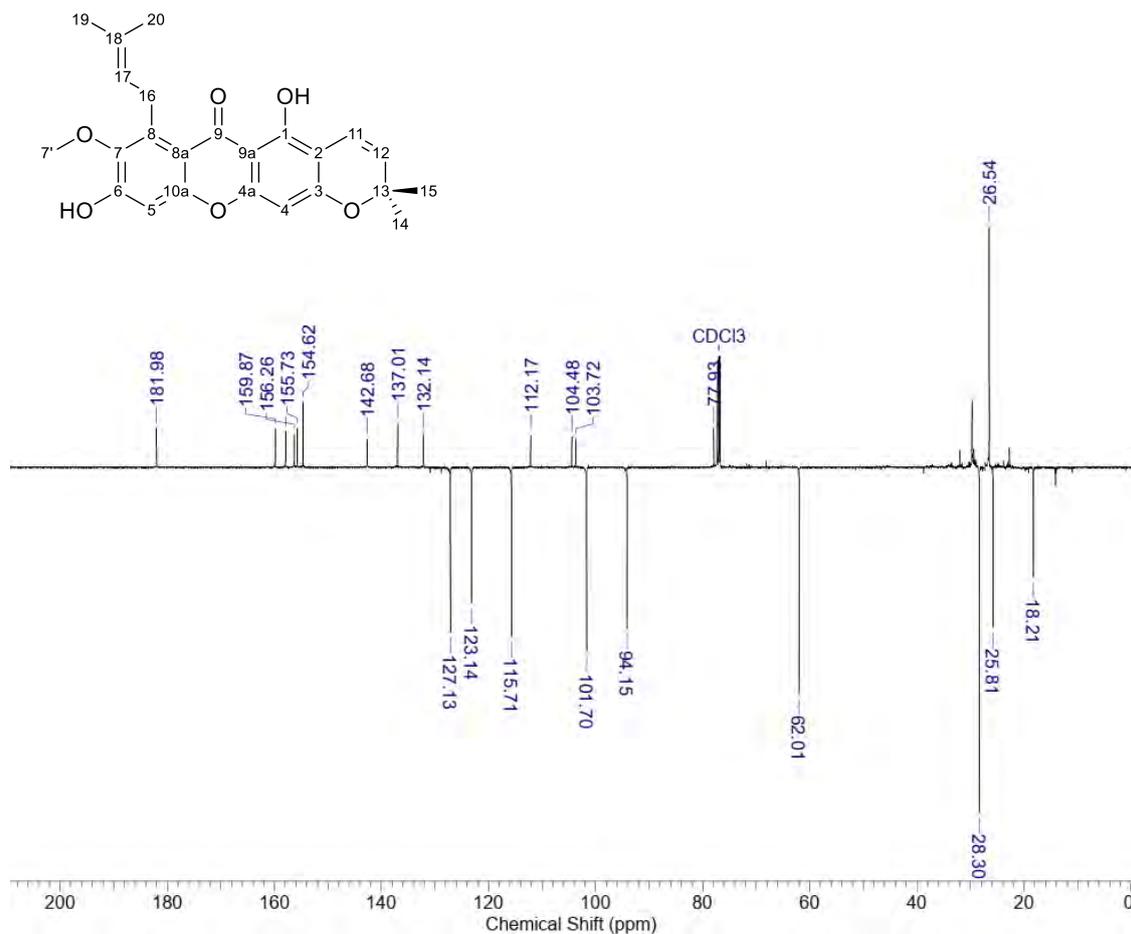
Esquema 9. Reação de formação do derivado tetacíclico cromeno **5** da α -mangostina.

Em um balão de fundo redondo, de 25 mL de capacidade, foram adicionados (0,05 g, 0,12 mmol) de α -mangostina **2**, (27 mg, 0,12 mmol) de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) em 5 mL de tolueno seco. O sistema reacional foi então purgado com N_2 e a reação, em seguida, transcorreu a 60°C, sendo acompanhada por CCDA a cada 30 minutos. Após 2h foi detectado o total consumo do produto de partida e a reação foi isolada. Inicialmente, o solvente foi removido em rota-vapor, à pressão reduzida. Em seguida, o resíduo obtido foi extraído com CH_2Cl_2 , sendo a fase orgânica lavada com 3 x 10 mL H_2O , filtrada e seca com Na_2SO_4 anidro. Após evaporado o solvente, o sólido obtido foi purificado por cromatografia em CCA, tendo como fase móvel Hex/EtOAc, em gradiente (85:15; 80:20; 75:25; 70:30). Ao fim do processo de purificação obteve-se 0,042 g (85%) do derivado **6** como um sólido amarelo com PF: 151-153 °C. O produto foi devidamente caracterizado através dos métodos convencionais de análises. Os dados de RMN (**Espectros 19, 20; Tabela 7**), bem como os dados do E.M., massa observada ($C_{25}H_{26}O_5$): m/z 407 [H + 1] (**Espectro 21**), estão de acordo com a estrutura e com os dados já disponíveis na literatura (DHARMARATNE et al., 2013).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado cíclico cromeno da α -mangostina (**6**).

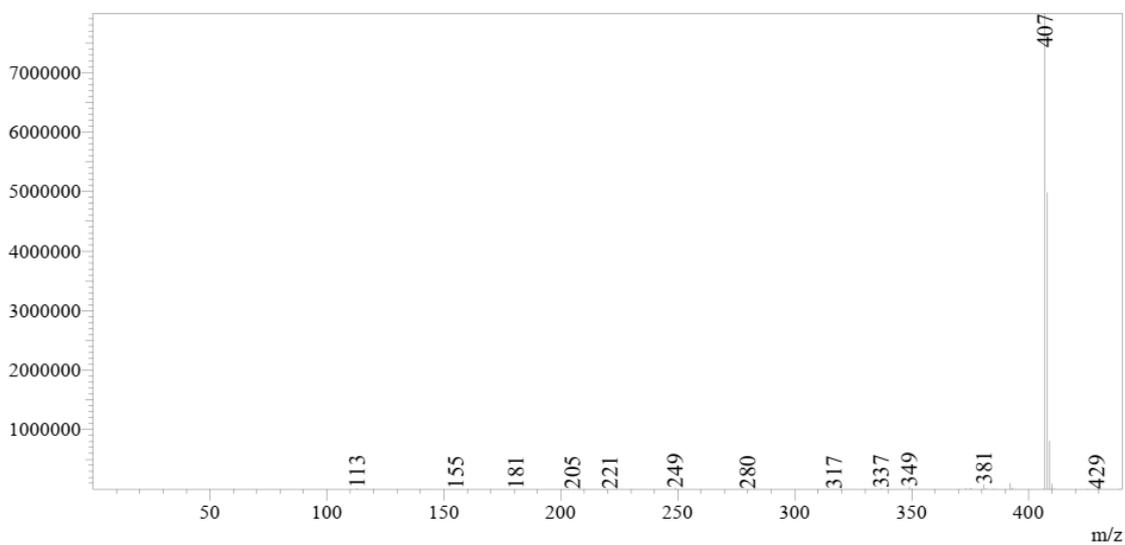


Espectro 19. Espectro RMN ^1H do derivado **6**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



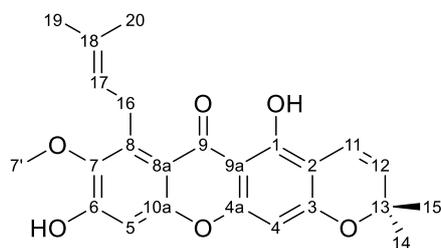
Espectro 20. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **6**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**6**): m/z calculada para ($\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_5$): 406, massa observada ($\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_5 + 1\text{H}$): 407.



Espectro 21. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado **6**.

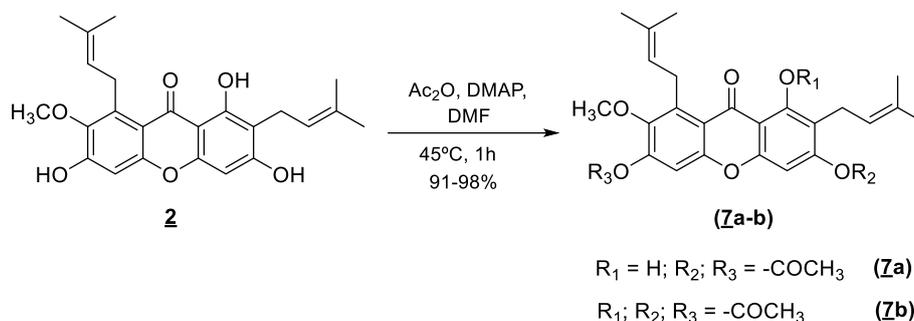
Tabela 7. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C observados para o derivado tetracíclico cromeno da α -mangostina **6**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.73 (s, 1H)	157.92 (C)
2	---	103.72 (C)
3	---	159.87 (C)
4	6.26 (s, 1H)	94.15 (CH)
4a	---	156.26 (C)
5	6.84 (s, 1H)	101.70 (CH)
6	---	155.73 (C)
7	---	142.68 (C)
8	---	137.01 (C)
8a	---	112.17 (C)
9	---	181.98 (C)
9a	---	104.48 (C)
10a	---	154.62 (C)
11	6.74 (d, J 10 Hz 1H)	115.71 (CH)
12	5.58 (d, J 9.7 Hz 1H)	127.13 (CH)
13	---	77.93 (C)
14	1.49 (s, 3H)	28.30 (CH ₃)
15	1.49 (s, 3H)	28.30 (CH ₃)
16	4.10 (s, 2H)	26.54 (CH ₂)
17	5.28 (s, 1H)	123.14 (CH)
18	---	132.14 (C)
19	1.72 (s, 3H)	18.21 (CH ₃)
20	1.85 (s, 3H)	25.81 (CH ₃)
7'	3.83 (s, 3H)	62.01 (CH ₃)

4.9 Reações de acetilação da α -mangostina

4.9.1 Síntese dos derivados acetilados (**7a**) e (**7b**)



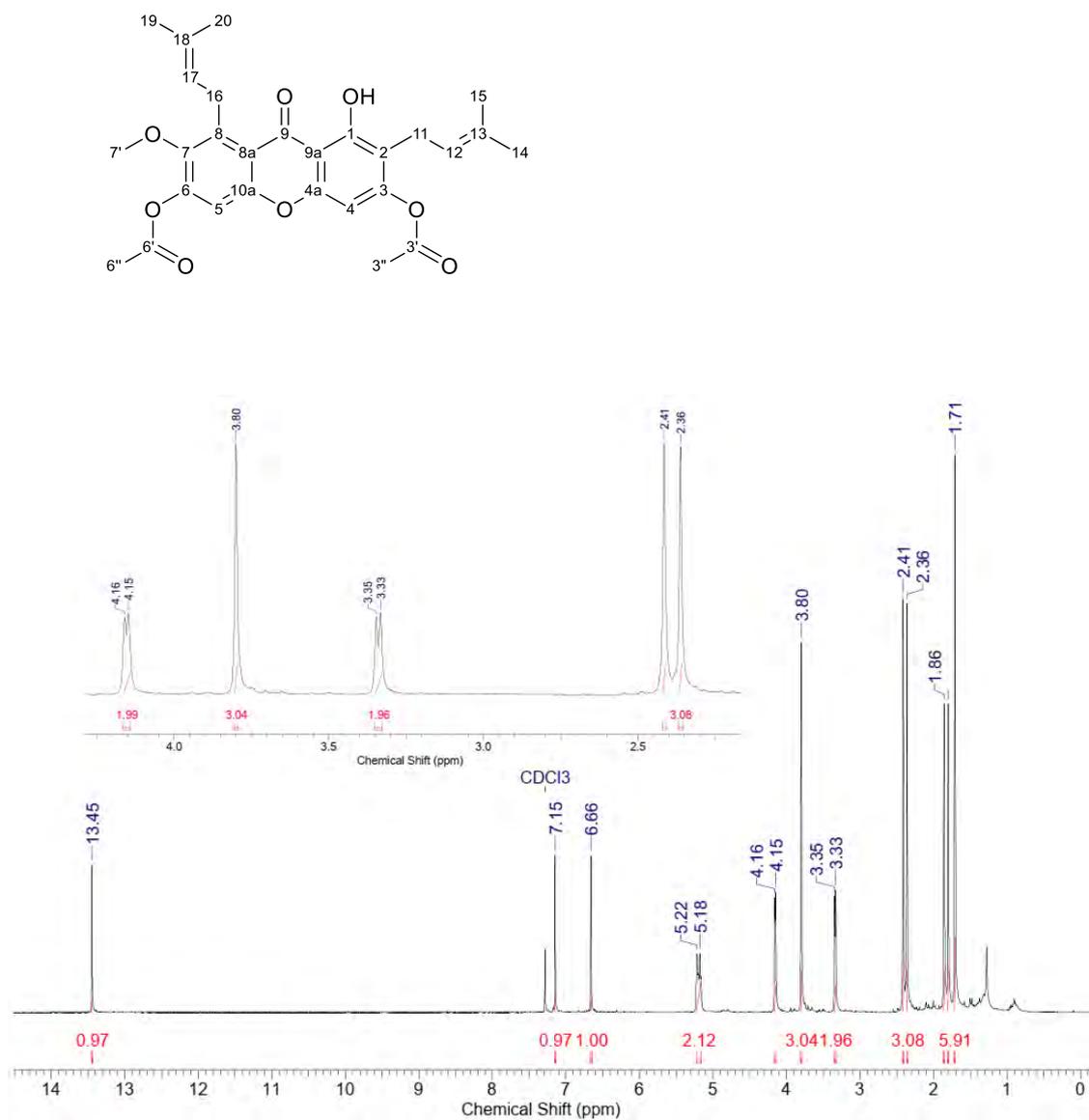
Esquema 10. Reação de acetilação da α -mangostina, preparação dos derivados α -mangostina-6-*O*-bis-acetato **7a** e α -mangostina-3,6-*O*-tri-acetato **7b**.

O produto natural α -mangostina **2**, (0,02 g, 0,048 mmol), anidrido acético Ac_2O (82 μL , 0,864 mmol) foram completamente dissolvidos em (3,0 mL) de DMF em um tubo de fundo redondo de 10 mL, isto, para formação do derivado **7a**, acetilado parcialmente. Já para a síntese do produto peracetilado **7b**, foi adicionado o catalisador DMAP (1,76 mg, 0,014mmol) mantendo-se as demais condições mencionadas anteriormente. Ambas as reações foram mantidas a 45°C , sob agitação, sendo monitoradas por CCDA, utilizando a mistura Hex/EtOAc (3:1) como eluente. Após o término das reações, foram adicionados ao meio reacional 20 mL de solução de NaCl 10% a frio, sendo realizada então a extração com acetato de etila (3 \times 20 mL). As fases orgânicas obtidas em cada reação, foram então lavadas, de forma sequencial, com soluções de NH_4Cl 10% (3 \times 20 mL), NaHCO_3 10% (3 \times 20 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, sendo, em seguida, os solventes evaporados, sob pressão reduzida, fornecendo os produtos acetilados (**7a** e **7b**, em cada caso) na forma de sólidos brancos.

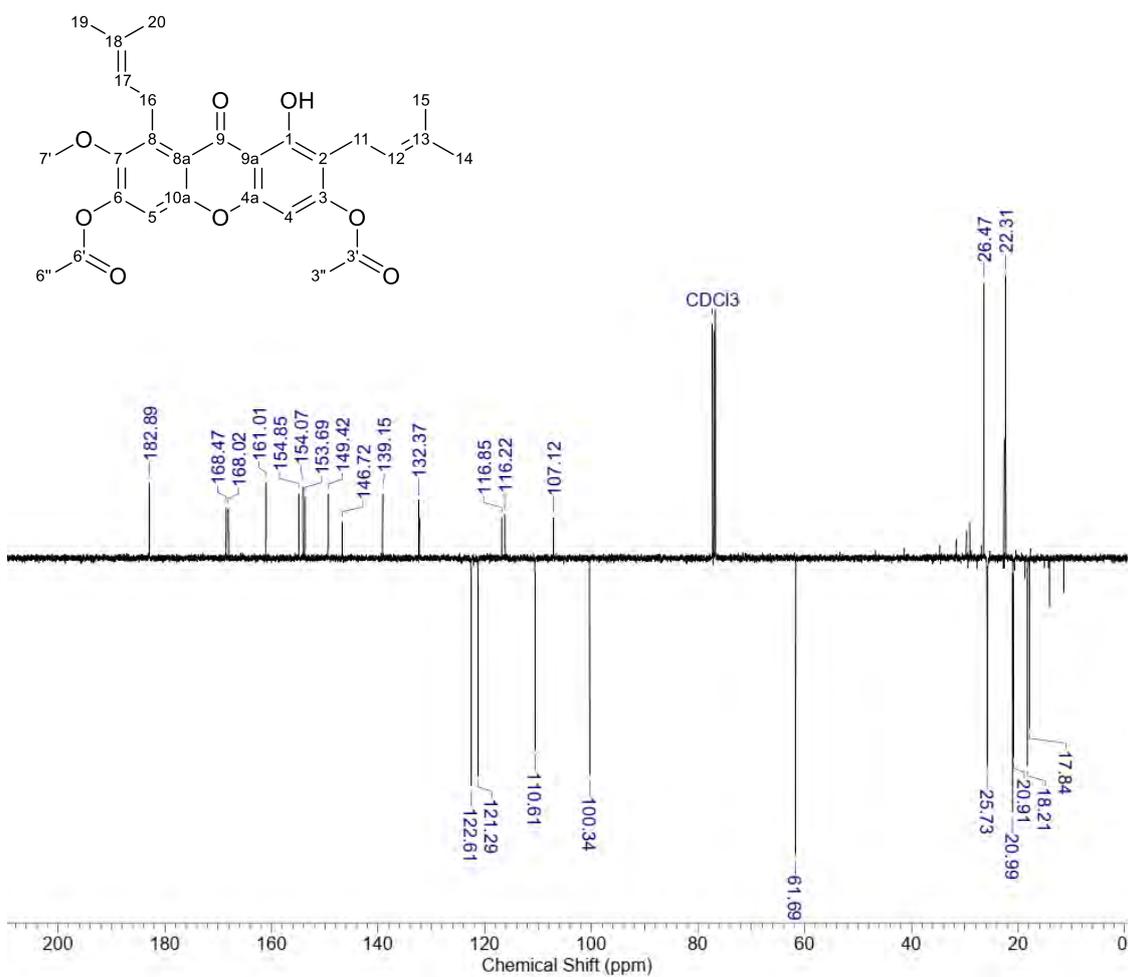
Foi obtido 0,021 g (91%) do derivado *bis*-acetilado **7a**, com PF: $131\text{-}135^\circ\text{C}$ (**Espectros 22, 23; Tabela 8**), massa verificada ($\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_8$): m/z 495 $[\text{H} + 1]$ (**Espectro 25**). O produto peracetilado **7b** foi obtido em 98% de rendimento (0,024g), apresentando PF: $112\text{-}114^\circ\text{C}$ (**Espectros 25, 26; Tabela 9**), dados de massa ($\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9$): m/z 537 $[\text{H} + 1]$ (**Espectro 27**). Os dois produtos de acetilação foram devidamente caracterizados e dados

observados estão de acordo com as estruturas e com os dados disponíveis na literatura (SUDTA et al., 2013).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-3,6-*O*-bis-acetato (**7a**).

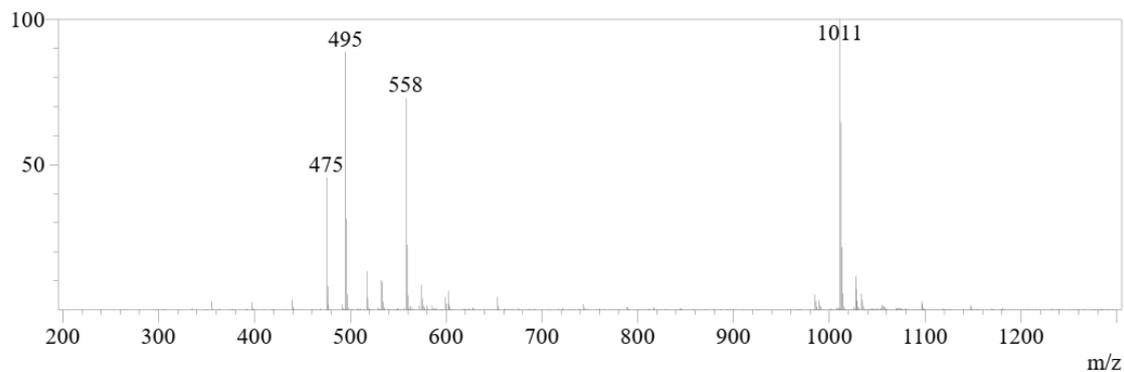


Espectro 22. Espectro RMN ¹H do derivado **7a**, em CDCl₃, a 500 MHz.



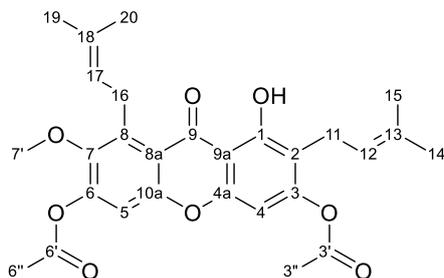
Espectro 23. Espectro de RMN ¹³C do derivado **7a**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**7a**): m/z calculada para (C₂₈H₃₀O₈): 494, massa observada (C₂₈H₃₀O₈ + 1H): 495.



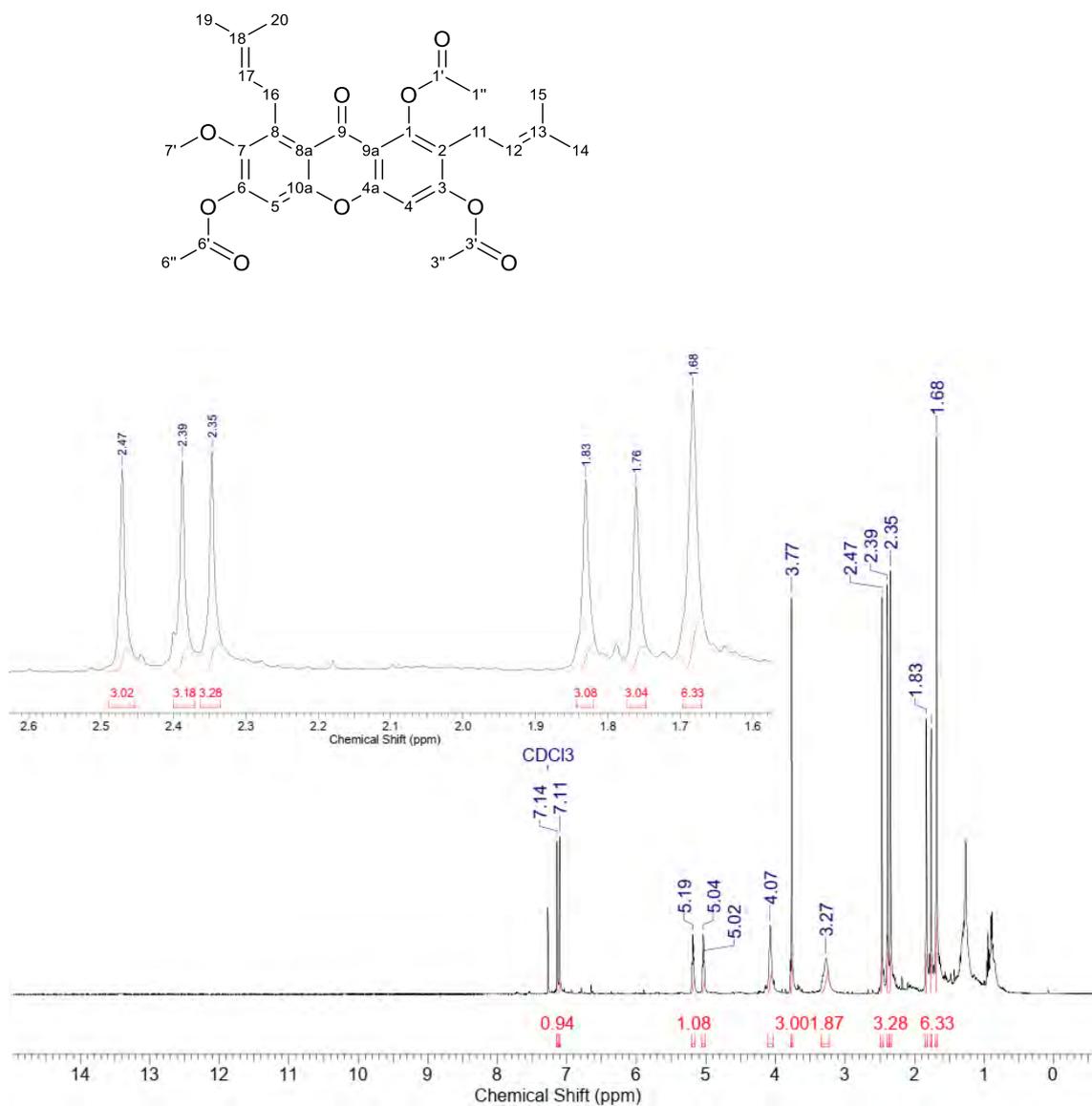
Espectro 24. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado **7a**.

Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-3,6-*O*-bis-acetato **7a**.

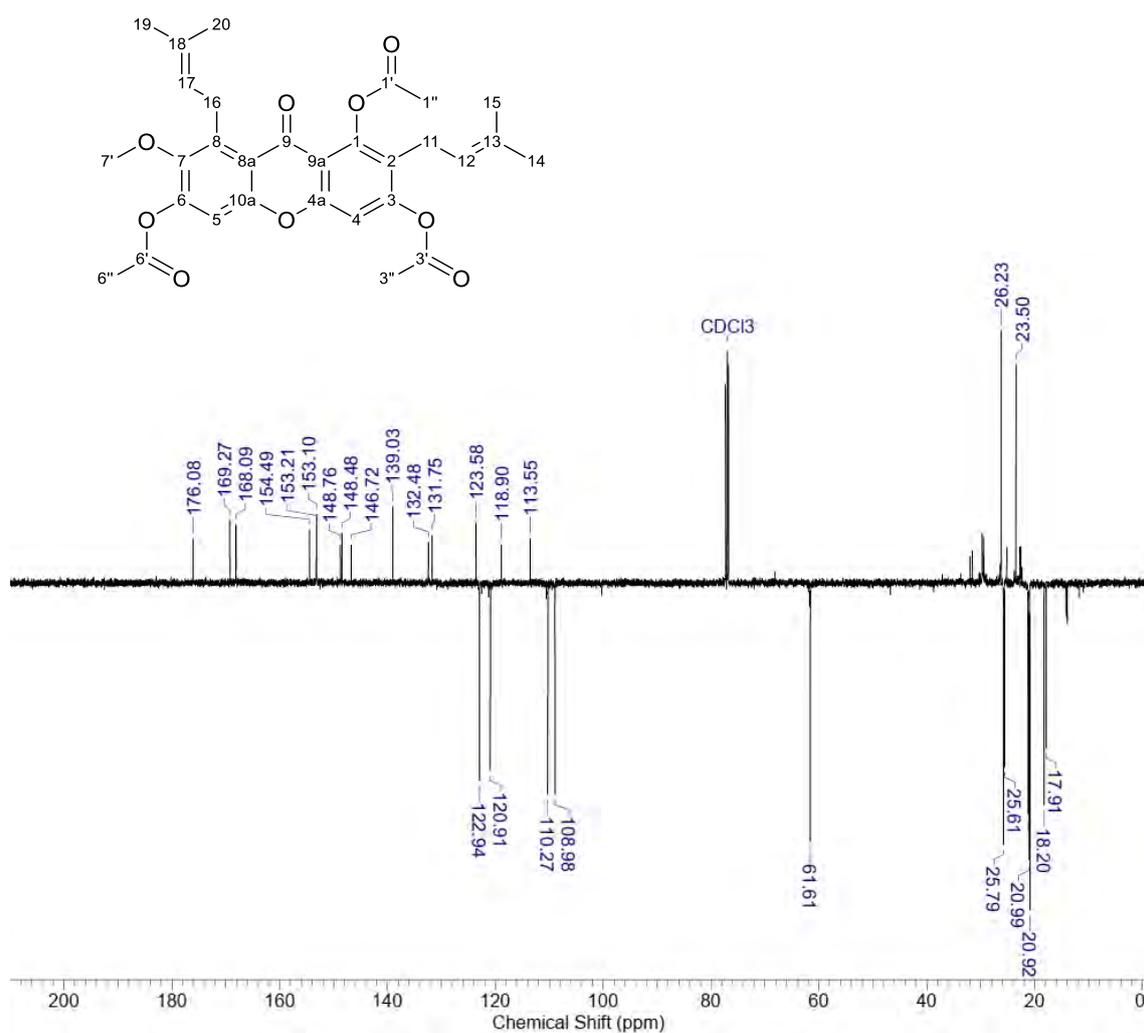


Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.45 (s, 1H)	161.01 (C)
2	---	116.85 (C)
3	---	149.42 (C)
4	6.66 (s, 1H)	100.34 (CH)
4a	---	146.72 (C)
5	7.15 (s, 1H)	110.61 (CH)
6	---	154.85 (C)
7	---	154.07 (C)
8	---	139.15 (C)
8a	---	116.22 (C)
9	---	182.89 (C)
9a	---	107.12 (C)
10a	---	153.69 (C)
11	3.33 (d, J 7.0 Hz, 2H)	22.31 (CH ₂)
12	5.18-5.22 (m, 1H)	121.29 (CH)
13	---	132.29 (C)
14	1.86 (s, 3H)	25.73 (CH ₃)
15	1.80 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
16	4.15 (d, J 6.0 Hz, 2H)	26.47 (CH ₂)
17	5.18-5.22 (m, 1H)	122.61 (CH)
18	---	132.37 (C)
19	1.71 (s, 3H)	17.84 (CH ₃)
20	1.71 (s, 3H)	18.21 (CH ₃)
7'	3.80 (s, 3H)	61.69 (CH ₃)
3'	---	168.02 (C)
6'	---	168.47 (C)
3''	2.36 (s, 3H)	20.91 (CH ₃)
6''	2.41 (s, 3H)	20.99 (CH ₃)

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-1,3,6-*O*-triacetato (7b**).**

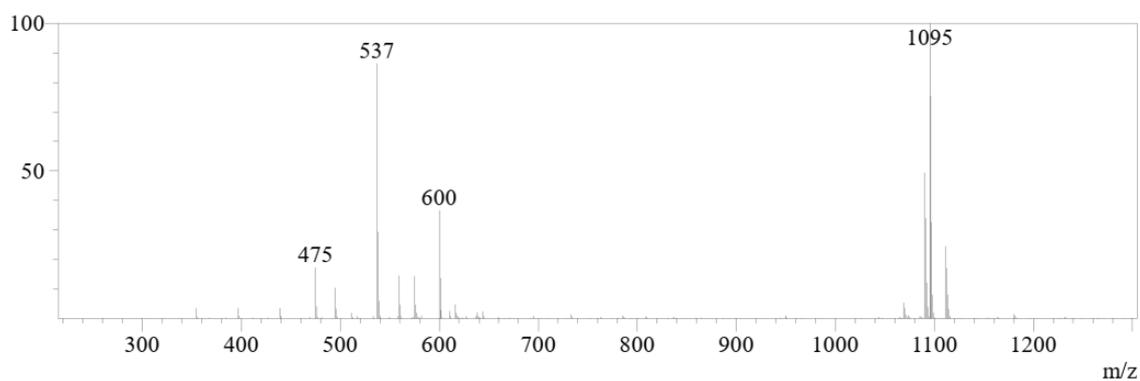


Espectro 25. Espectro RMN ^1H do derivado **7b**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



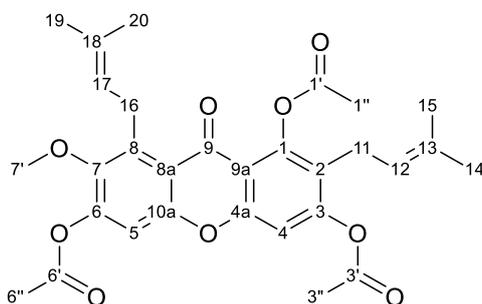
Espectro 26. Espectro de RMN ¹³C do derivado **7b**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**7b**): m/z calculada para (C₃₀H₃₂O₉): 536, massa observada (C₃₀H₃₂O₉ + 1H): 537.



Espectro 27. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado **7b**.

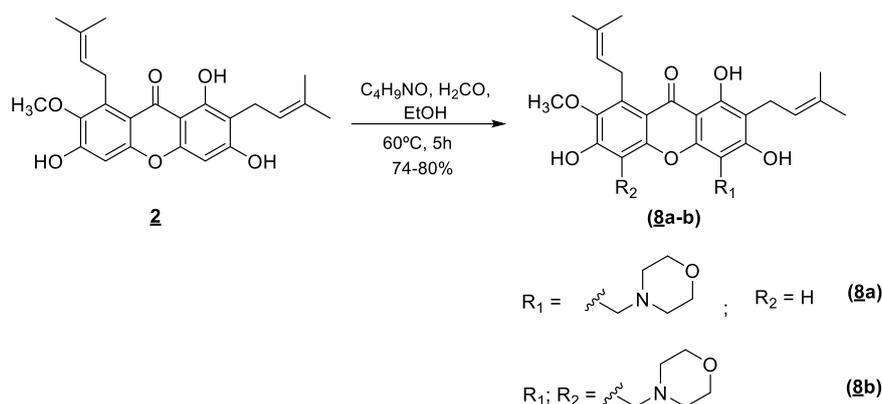
Tabela 9. Deslocamento químico de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-1,3,6-*O*-triacetato **7b**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	---	153.21 (C)
2	---	118.90 (C)
3	---	154.49 (C)
4	7.11 (s, 1H)	108.98 (CH)
4a	---	148.48 (C)
5	7.14 (s, 1H)	110.27 (CH)
6	---	153.10 (C)
7	---	148.76 (C)
8	---	139.03 (C)
8a	---	123.58 (C)
9	---	176.08 (C)
9a	---	113.55 (C)
10a	---	146.72 (C)
11	3.27 (s, 2H)	23.50 (CH ₂)
12	5.04 (t, J 6.78 Hz, 1H)	120.91 (CH)
13	---	131.75 (C)
14	1.68 (s, 3H)	25.61 (CH ₃)
15	1.68 (s, 3H)	25.79 (CH ₃)
16	4.07 (s, 2H)	26.23 (CH ₂)
17	5.19 (t, J 6.46 Hz, 1H)	122.94 (CH)
18	---	132.48 (C)
19	1.76 (s, 3H)	17.91 (CH ₃)
20	1.83 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
7'	3.77 (s, 3H)	61.61 (CH ₃)
1''	---	169.27 (C)
3''	---	168.09 (C)
6''	---	168.15 (C)
1'''	2.47 (s, 3H)	21.21 (CH ₃)
3'''	2.35 (s, 3H)	20.99 (CH ₃)
6'''	2.39 (s, 3H)	20.92 (CH ₃)

4.10 Síntese dos derivados da α -mangostina via reação de Mannich

4.10.1 Síntese dos derivados morfolinametil- α -mangostina (**8a**) e (**8b**)



Esquema 11. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados **8a** e **8b**.

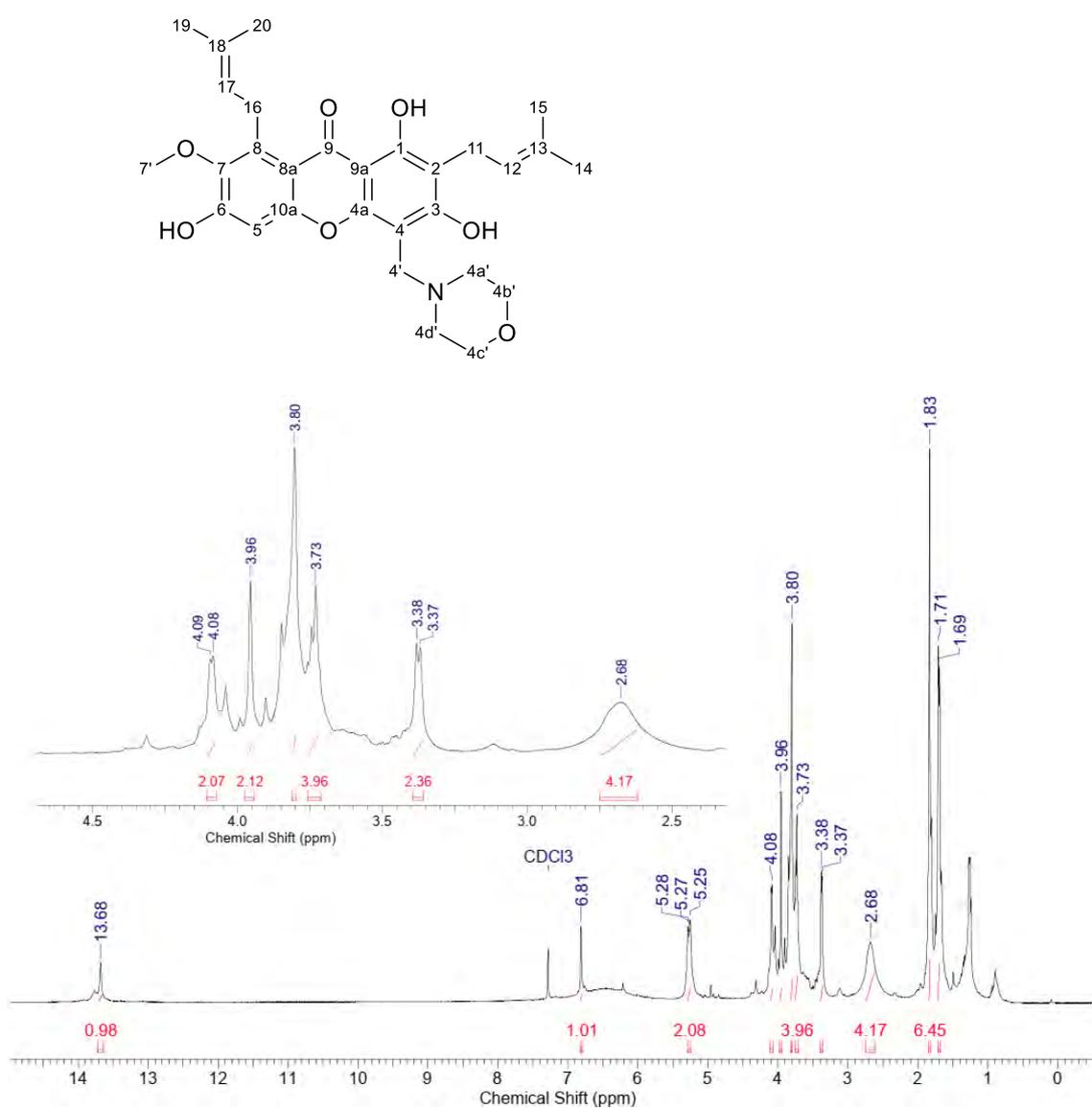
Em um balão de 10 mL foi feita uma suspensão de α -mangostina **2** (0.05 g, 0.12 mmol) em etanol (3,5 mL). Sobre essa suspensão foi adicionada morfolina C_4H_9NO (12 μL , 0.13 mmol, 1.1 eqv.) e formaldeído H_2CO (14 μL , 0.13 mmol). A reação ocorreu sob agitação constante à temperatura de $60^\circ C$, durante 5h, sendo monitorada por CCDA em sílica-gel com eluente Hex/EtOAc 75%. Após este período, o solvente foi evaporado, sendo feita uma partição com acetato de etila 20 mL, seguida de lavagens sequenciais com NH_4Cl 10% (3 x 10mL), bicarbonato de sódio $NaHCO_3$ 10% (3 x 10mL), solução saturada de $NaCl$ (1 x 10mL) e, por último, a fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e filtrada. Após remoção do solvente, o produto foi obtido na forma de um sólido de coloração amarelo pálido. A purificação foi realizada por cromatografia CCA, utilizando sílica-gel 60 (70-230 mesh), e tendo como eluente a mistura DCM-MeOH (99.5:0,5; 99:1; 98:2). Desse modo, foi possível obter 46 mg (74.2%) do aduto de Mannich de interesse, **8a**, PF: $92-94^\circ C$ (BURAVLEV et al., 2015).

Para a síntese do derivado **8b**, a metodologia de reação e sua purificação foram análogas, exceto para as quantidades dos reagentes adicionados que foram: morfolina C_4H_9NO (26 μL , 0.30 mmol, 2.5 eqv.), formaldeído H_2CO (30.0 μL , 0.30 mmol), também em 3.5 mL de etanol. Após purificação, foram obtidos 59 mg (80%) do produto **8b**, como

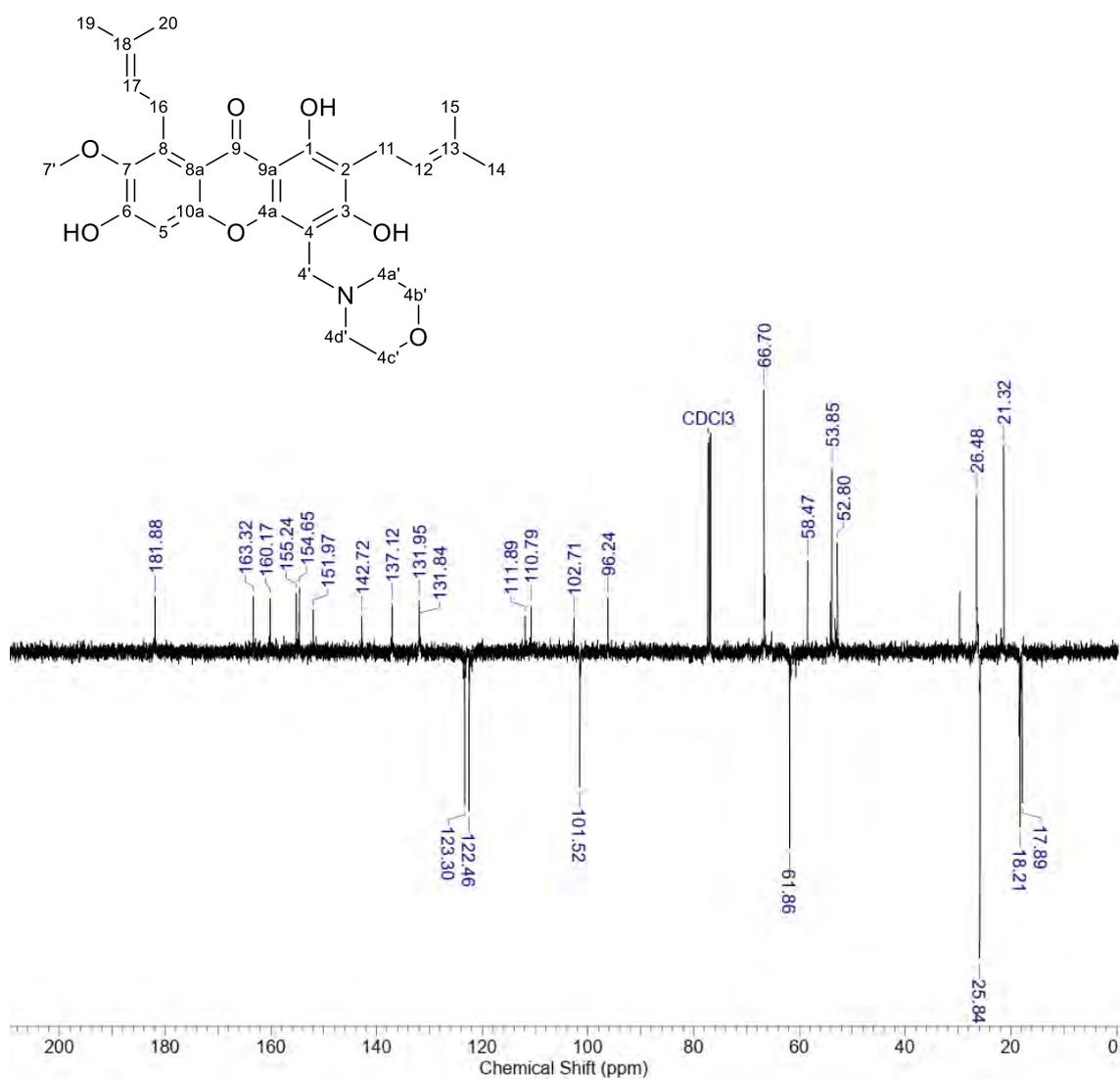
um sólido de coloração amarela, apresentando PF: 219-221 °C. Os dados físicos para caracterização dos compostos se encontram de acordo com os apresentados na literatura (BURAVLEV et al., 2018).

Dados pde RMN ara o derivado **8a** (Espectros 28, 29; Tabela 10); massa observada ($C_{29}H_{35}NO_7$): m/z 508 [H – 1] (Espectro 30); e para o derivado **8b** (Espectros 31, 32; Tabela 11); massa observada ($C_{34}H_{44}N_2O_8$): m/z 607 [H – 1] (Espectro 33).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado C-4-morfolinametil- α -mangostina (**8a**)

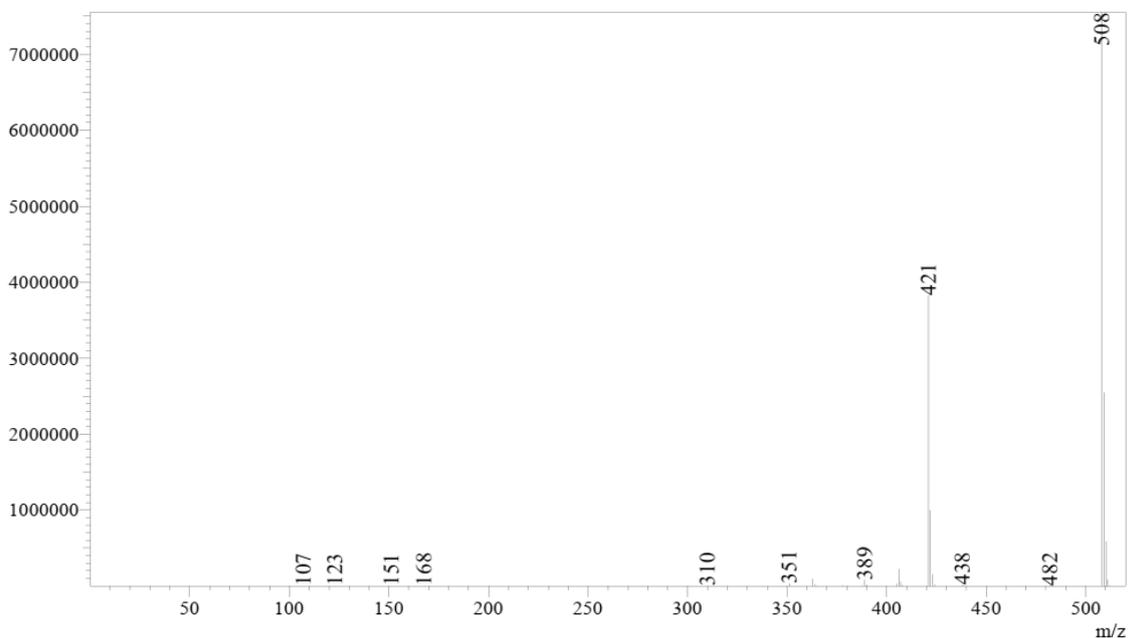


Espectro 28. Espectro RMN 1H do derivado **8a**, em $CDCl_3$, a 500 MHz.



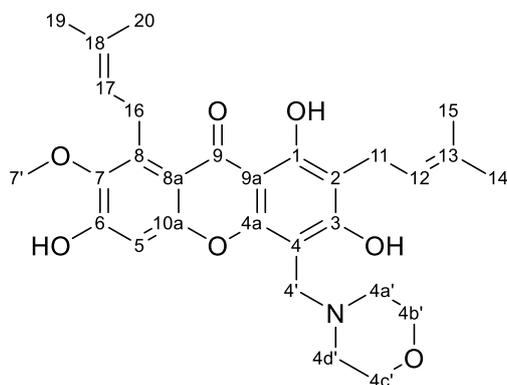
Espectro 29. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **8a**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**8a**): m/z calculada para (C₂₉H₃₅NO₇): 509, massa observada (C₂₉H₃₅NO₇ - 1H): 508.



Espectro 30. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado **8a**.

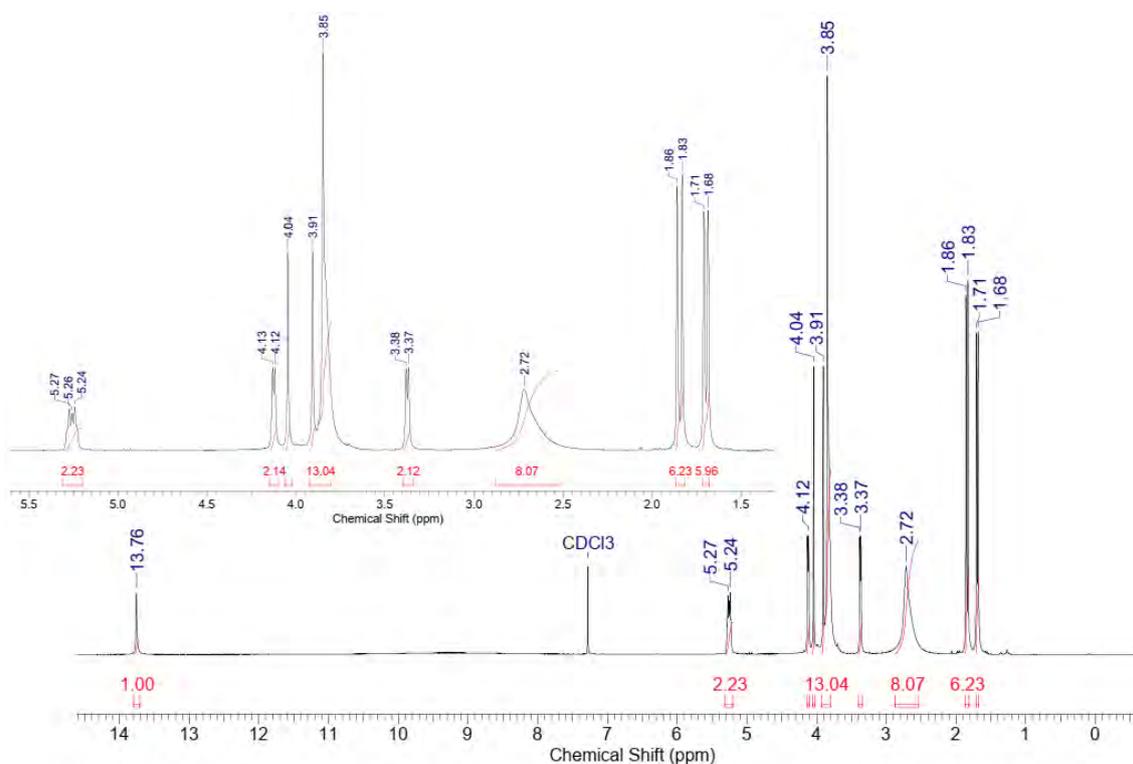
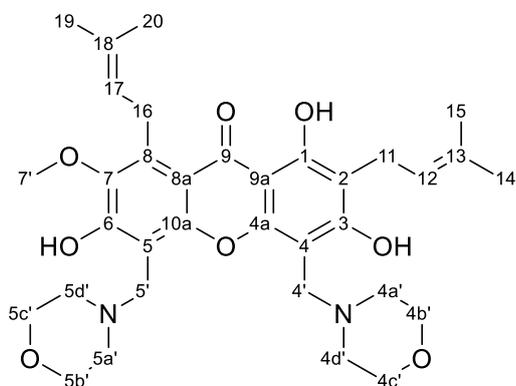
Tabela 10. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e RMN ¹³C para o derivado C-4-morfolinametil- α -mangostina **8a**.



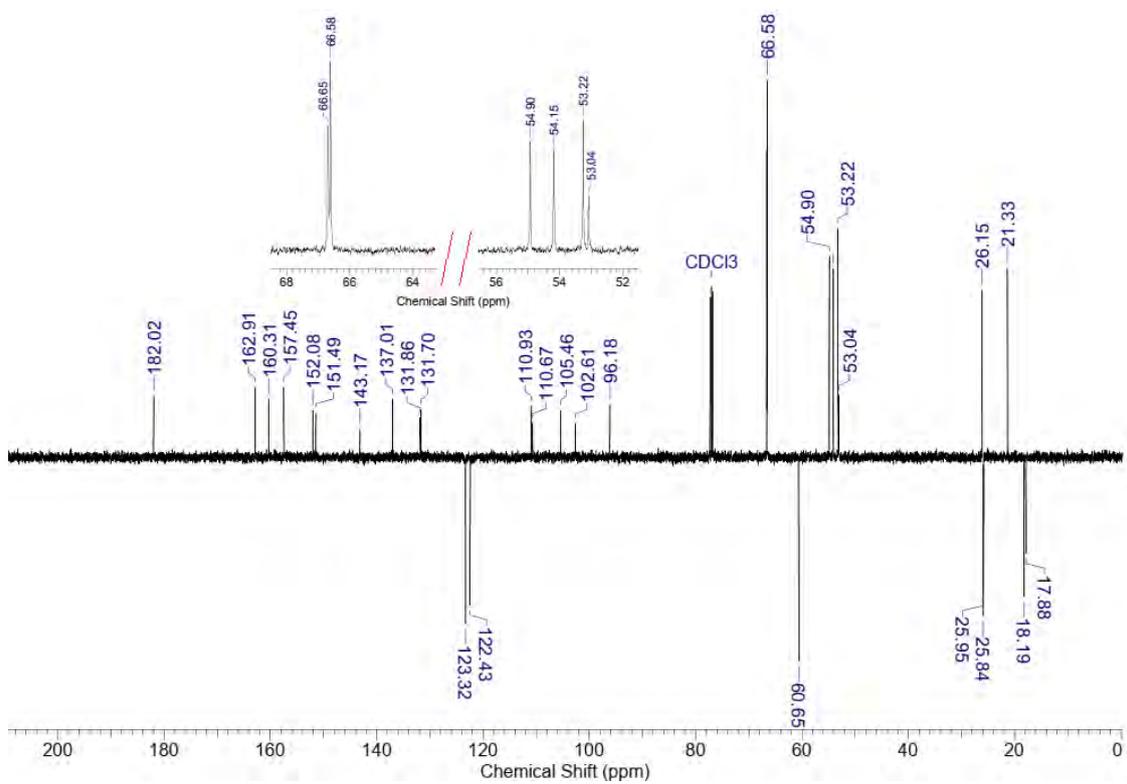
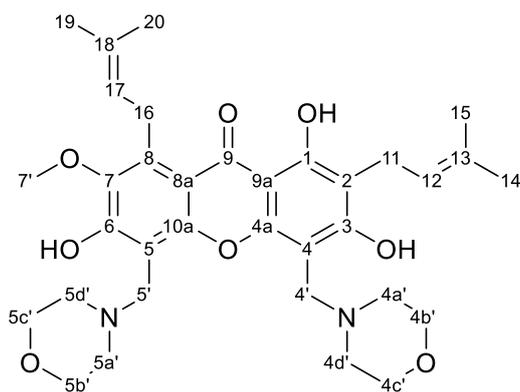
Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.68 (s, 1H)	163.32 (C)
2	---	110.79 (C)
3	---	160.17 (C)
4	---	96.24 (CH)
4a	---	154.64 (C)
5	6.81 (s, 1H)	101.52 (CH)
6	---	155.24 (C)
7	---	142.72 (C)
8	---	137.12 (C)

8a	---	111.89 (C)
9	---	181.88 (C)
9a	---	102.71 (C)
10a	---	151.97 (C)
11	3.38 (d, <i>J</i> 6,3 Hz, 2H)	21.32 (CH ₂)
12	5.25-5.28 (m, 1H)	122.46 (CH)
13	---	131.84 (C)
14	1.83 (s, 3H)	17.89 (CH ₃)
15	1.83 (s, 3H)	25.84 (CH ₃)
16	4.09 (d, <i>J</i> 5,0 Hz, 2H)	26.48 (CH ₂)
17	5.25-5.28 (m, 1H)	123.30 (CH)
18	---	131.95 (C)
19	1.71 (s, 3H)	18.21 (CH ₃)
20	1.69 (s, 3H)	25.84 (CH ₃)
7'	3.80 (s, 3H)	61.86 (CH ₃)
4'	3.96 (s, 2H)	52.80 (CH ₂)
4a'	2.68 (s, 2H)	58.47 (CH ₂)
4b'	3.73 (s, 2H)	66.70 (CH ₂)
4c'	3.73 (s, 2H)	66.70 (CH ₂)
4d'	2.68 (s, 2H)	53.85 (CH ₂)

Dados espectroscópicos de RMN: derivado C-4,5-*bis*-morfolinametil- α -mangostina (**8b**).

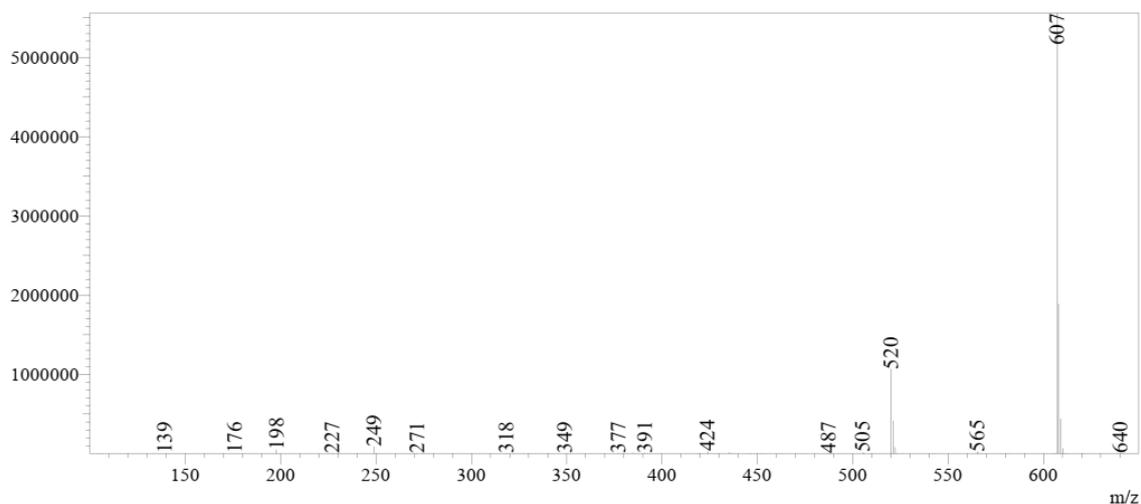


Espectro 31. Espectro RMN ^1H do derivado **8b**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



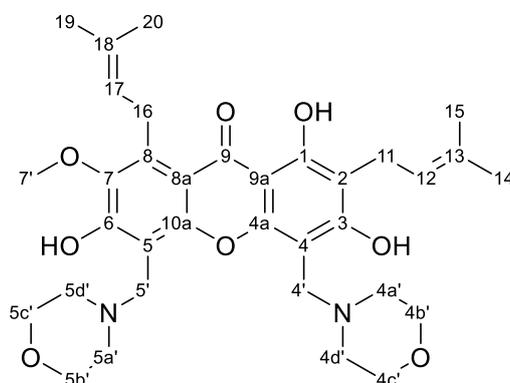
Espectro 32. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **8b**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**8b**): m/z calculada para (C₃₄H₄₄N₂O₈): 608, massa observada (C₃₄H₄₄N₂O₈ - 1H): 607.



Espectro 33. espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado **8b**.

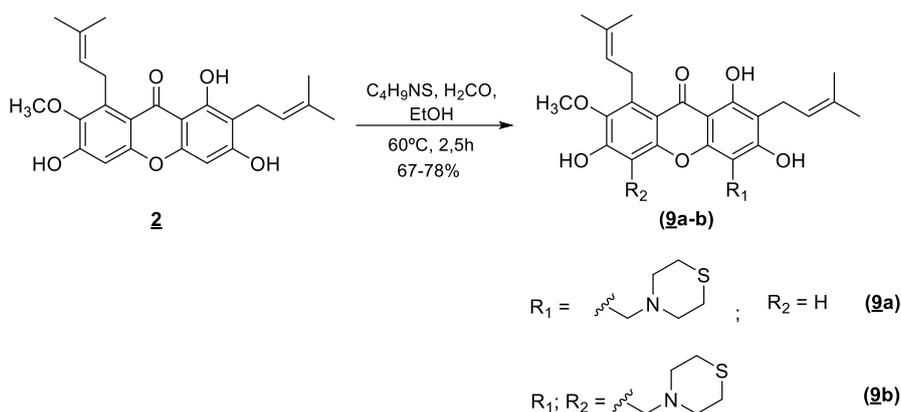
Tabela 11. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e RMN ¹³C para o derivado C-4,5-bis-morfolinametil- α -mangostina **8b**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.76 (s, 1H)	162.91 (C)
2	---	110.67 (C)
3	---	160.31 (C)
4	---	96.18 (C)
4a	---	152.08 (C)
5	---	105.46 (C)
6	---	157.45 (C)
7	---	143.17 (C)
8	---	137.01 (C)
8a	---	110.93 (C)
9	---	182.02 (C)
9a	---	102.61 (C)
10a	---	151.49 (C)

11	3.38 (d, <i>J</i> 6,6 Hz, 2H)	21.33 (CH ₂)
12	5.24-5.27 (m, 1H)	122.43 (CH)
13	---	131.70 (C)
14	1.83 (s, 3H)	17.88 (CH ₃)
15	1.86 (s, 3H)	25.84 (CH ₃)
16	4.13 (d, <i>J</i> 6,3 Hz, 2H)	26.15 (CH ₂)
17	5.24-5.27 (m, 1H)	123.32 (CH)
18	---	131.86 (C)
19	1.68 (s, 3H)	18.19 (CH ₃)
20	1.71 (s, 3H)	25.95 (CH ₃)
7'	3.85 (s, 3H)	60.65 (CH ₃)
4'	3.91 (s, 2H)	53.04 (CH ₂)
4a'	2.72 (s, 2H)	54.15 (CH ₂)
4b'	3.85 (s, 2H)	66.58 (CH ₂)
4c'	3.85 (s, 2H)	66.58 (CH ₂)
4d'	2.72 (s, 2H)	54.15 (CH ₂)
5'	4.04 (s, 2H)	53.22 (CH ₂)
5a'	2.72 (s, 2H)	54.90 (CH ₂)
5b'	3.85 (s, 2H)	66.65 (CH ₂)
5c'	3.85 (s, 2H)	66.65 (CH ₂)
5d'	2.72 (s, 2H)	54.90 (CH ₂)

4.10.2 Síntese dos derivados tiomorfolinametil- α -mangostina (**9a**) e (**9b**)

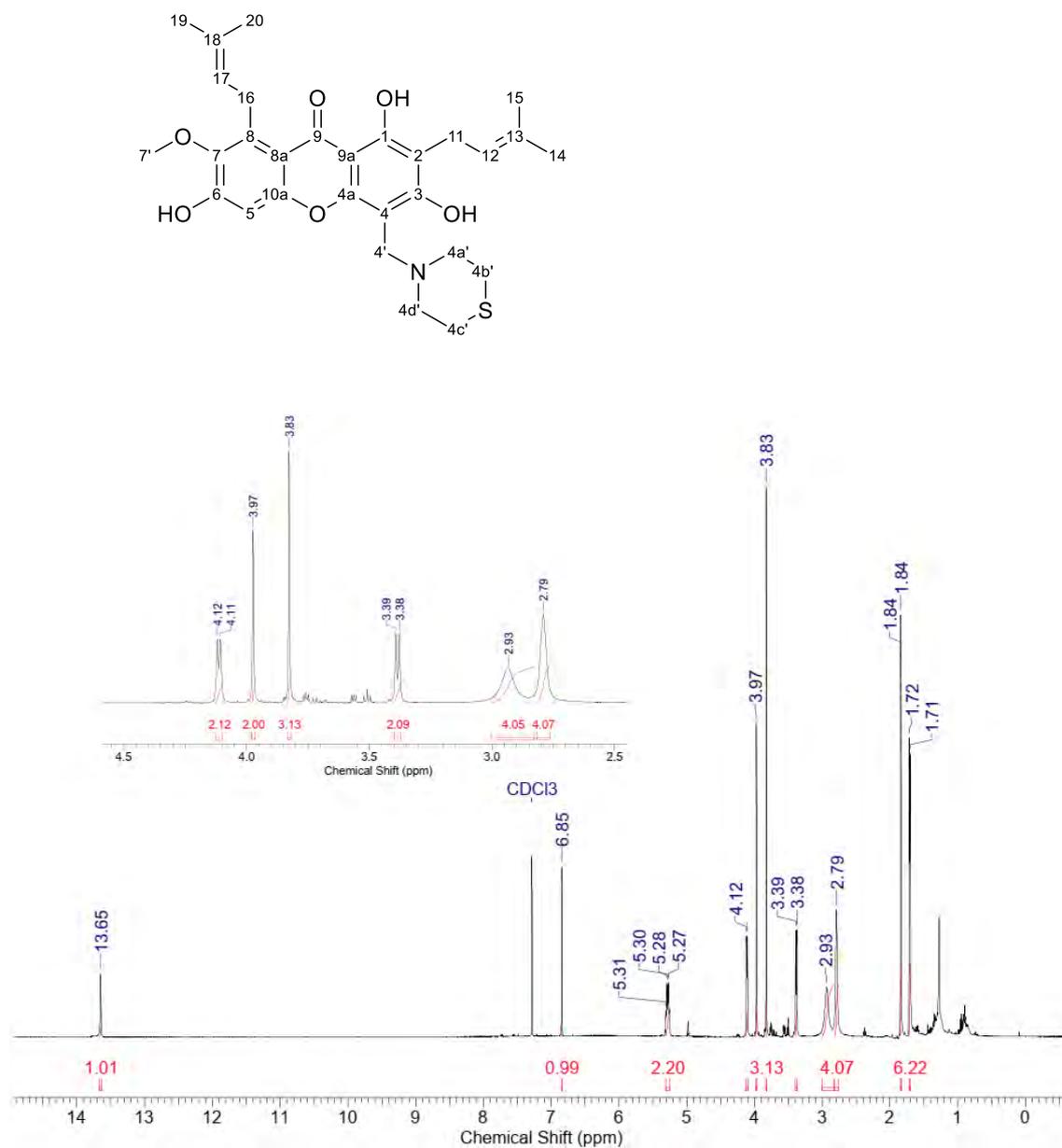


Esquema 12. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados **9a** e **9b**.

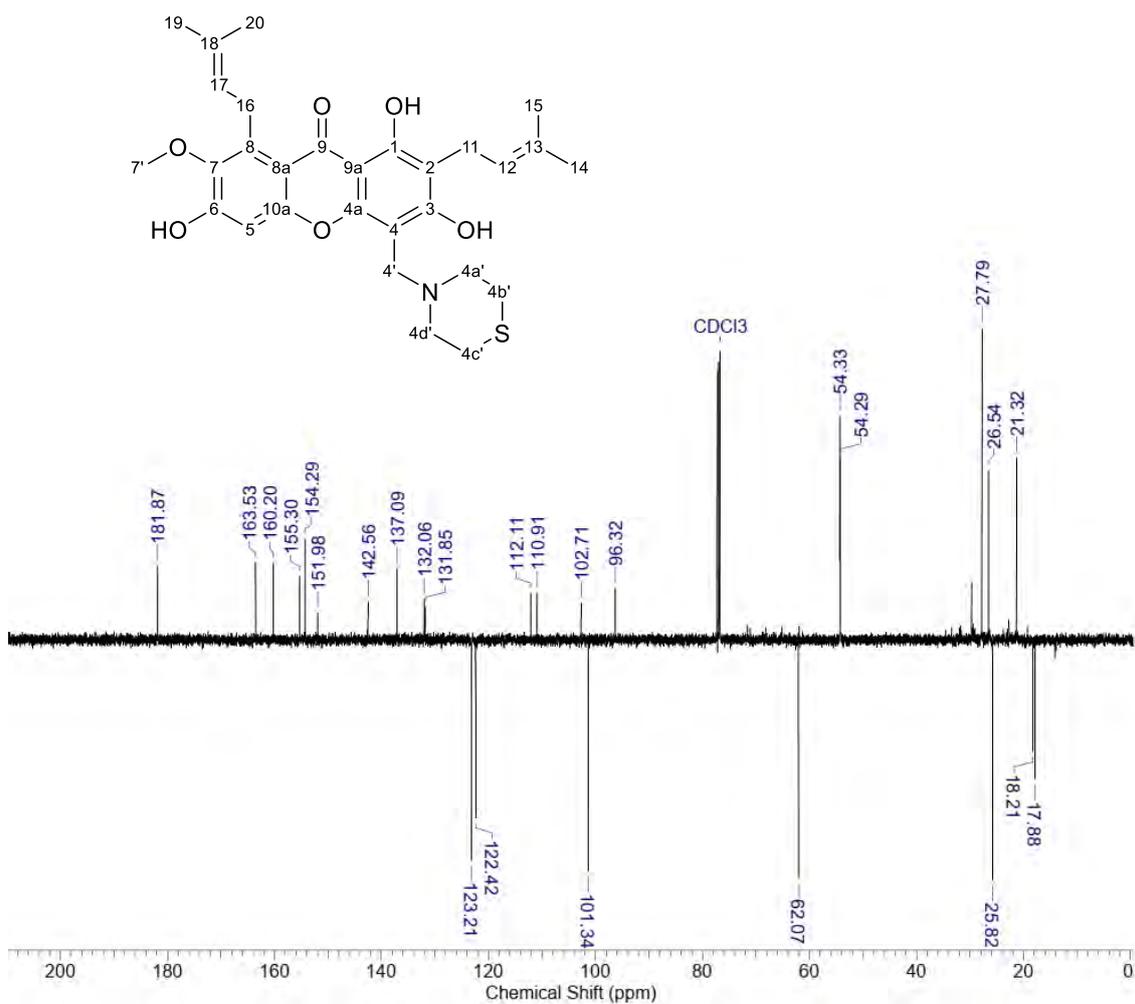
Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, foi adicionado 12 μL de tiomorfolina $\text{C}_4\text{H}_9\text{NS}$ (0,13 mmol, 1,1 eqv.) sobre uma suspensão de 0,05 g α -mangostina **2** (0,12 mmol) e 14 μL de formaldeído H_2CO (0,13 mmol) em 3,5 mL de etanol. A reação ocorreu à temperatura de 60 $^\circ\text{C}$ durante 8h, sendo monitorada por CCDA em sílica-gel,

com eluente Hex/EtOAc 75%. Ao fim da reação, o solvente foi evaporado e, em seguida, ocorreu a partição com acetato de etila 20 mL, seguida de lavagens com NH₄Cl 10% (3 x 10mL), bicarbonato de potássio NaHCO₃ 10% (3 x 10mL), solução saturada de NaCl (3 x 10mL) e, por último, a fase orgânica foi filtrada e seca utilizando Na₂SO₄ anidro. Após evaporação de todo solvente, o produto desejado foi obtido, em sua forma bruta, como um sólido amarelo. A purificação foi realizada por cromatografia CCA em sílica-gel 60 (70-230 mesh), tendo como eluente DCM-MeOH (99.5:0,5; 99:1; 98:2). Com isso, obteve-se 40 mg do derivado **9a** (67%), que apresentou PF: 97-99 °C. A síntese do derivado **9b**, transcorreu utilizando a mesma metodologia reacional e purificação, alterando-se apenas as quantidades equivalentes dos reagentes tiomorfolina C₄H₉NS (30 µL, 0.30 mmol, 2.5 eqv.); formaldeído H₂CO (30.0 µL, 0.30 mmol); e 3.5 mL de etanol. Foram obtidas 60,8 mg (78%) do produto **9b** na forma de um sólido amarelo, com PF: 188-192 °C. Os dados físicos para caracterização dos compostos se encontram de acordo com a literatura (BURAVLEV et al., 2018). Derivado **9a** (**Espectros 34, 35; Tabela 12**), massa observada (C₂₉H₃₅NO₆S): m/z 524 [H – 1] (**Espectro 36**); e para o derivado **9b** (**Espectros 37, 38; Tabela 13**), dados de massas (C₃₄H₄₄N₂O₆S₂ - 1H): m/z 639 [H – 1] (**Espectro 39**).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado C-4-tiomorfolinametil- α -mangostina (**9a**)

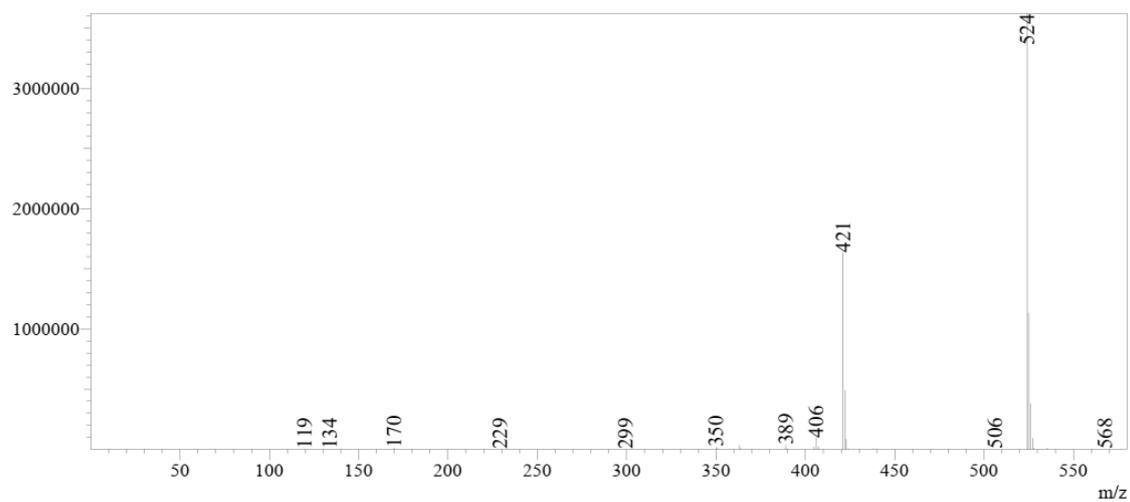


Espectro 34. Espectro RMN ^1H do derivado **9a**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



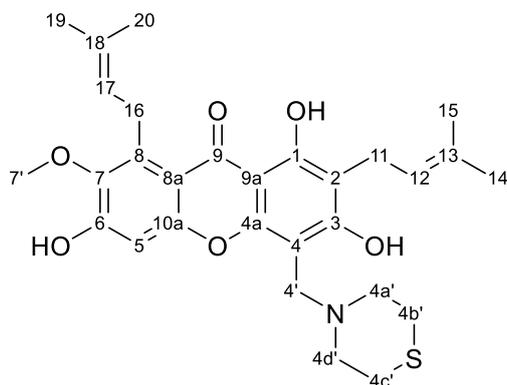
Espectro 35. Espectro de RMN ¹³C do derivado **9a**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**9a**): m/z calculada para (C₂₉H₃₅NO₆S): 525, massa observada (C₂₉H₃₅NO₆S - 1H): 524.



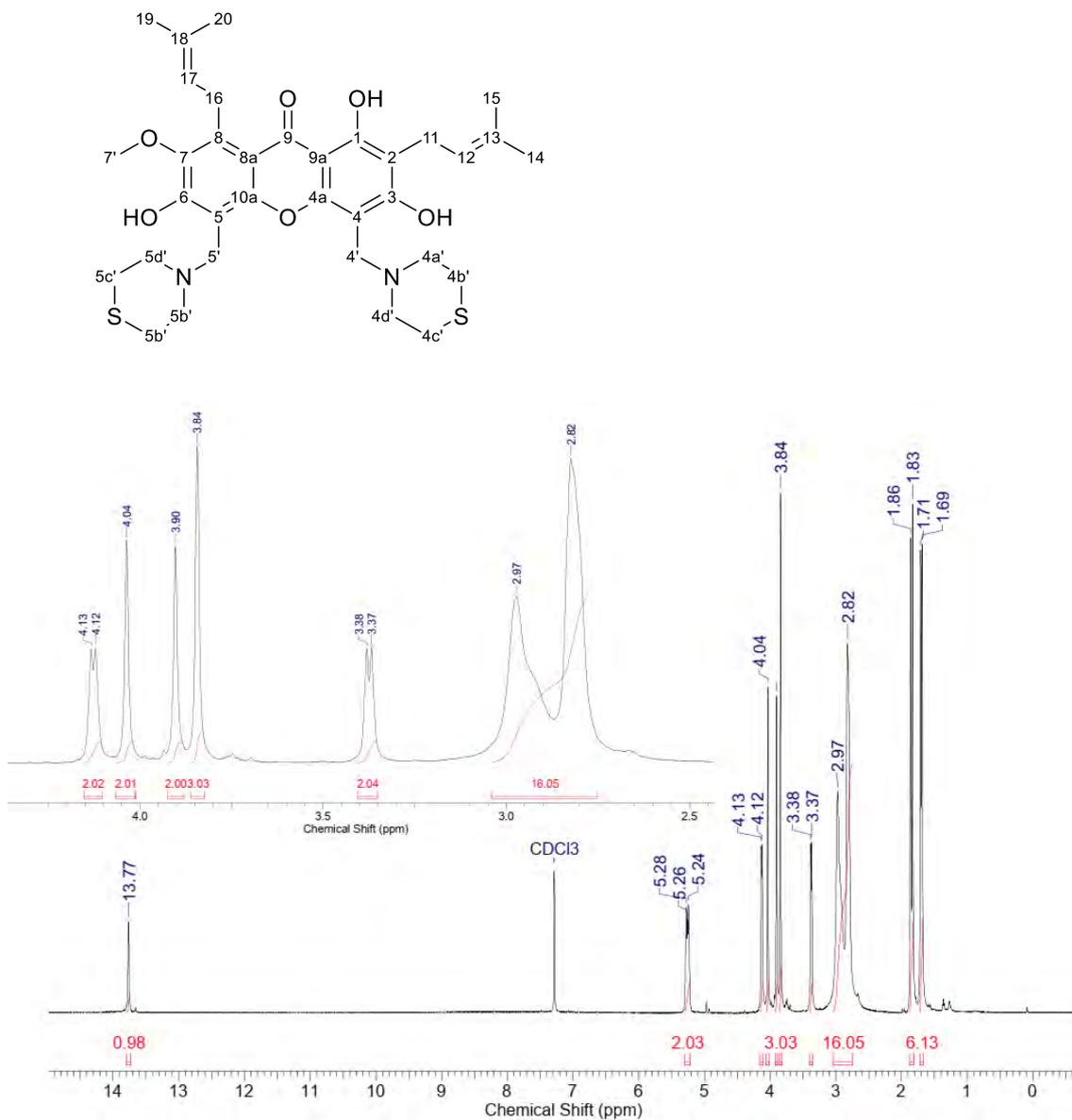
Espectro 36. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado **9a**.

Tabela 12. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado C-4-tiomorfolinametil- α -mangostina **9a**.

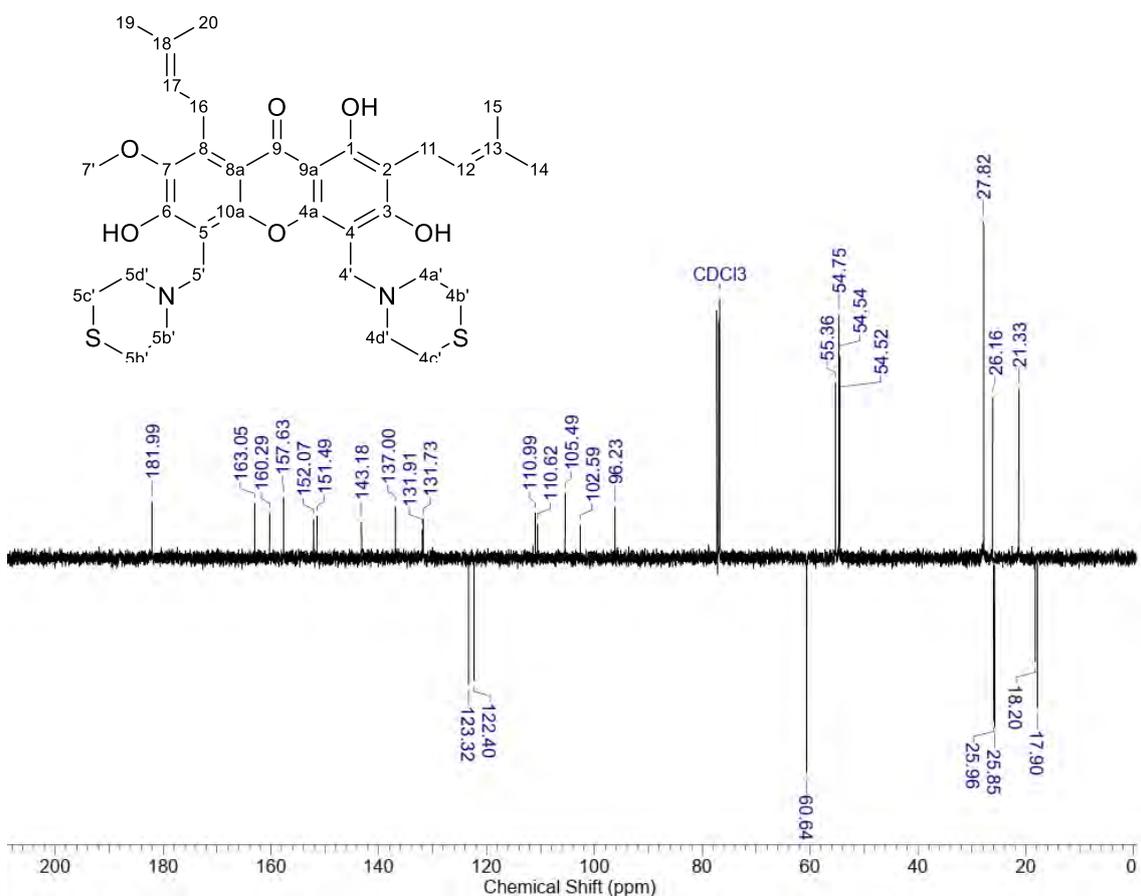


Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.65 (s, 1H)	160.20 (C)
2	---	110.91 (C)
3	---	163.53 (C)
4	---	96.32 (C)
4a	---	154.29 (C)
5	6.85 (s, 1H)	101.34 (CH)
6	---	155.30 (C)
7	---	142.56 (C)
8	---	137.09 (C)
8a	---	112.11 (C)
9	---	181.87 (C)
9a	---	102.71 (C)
10a	---	151.98 (C)
11	3.38 (d, J 6,9 Hz, 2H)	21.32 (CH ₂)
12	5.27-5.31 (m, 1H)	122.42 (CH)
13	---	131.85 (C)
14	1.84 (s, 3H)	17.88 (CH ₃)
15	1.71 (s, 3H)	25.83 (CH ₃)
16	4.12 (d, J 6,3 Hz, 2H)	26.54 (CH ₂)
17	5.27-5.31 (m, 1H)	123.21 (CH)
18	---	132.06 (C)
19	1.72 (s, 3H)	18.21 (CH ₃)
20	1.84 (s, 3H)	25.82 (CH ₃)
7'	3.83 (s, 3H)	62.07 (CH ₃)
4'	3.97 (s, 2H)	54.29 (CH ₂)
4a'	2.93 (s, 2H)	54.33 (CH ₂)
4b'	2.79 (s, 2H)	27.79 (CH ₂)
4c'	2.79 (s, 2H)	27.79 (CH ₂)
4d'	2.93 (s, 2H)	54.33 (CH ₂)

Dados espectroscópicos de RMN: derivado C-4,5-tiomorfolinametil- α -mangostina (**9b**).

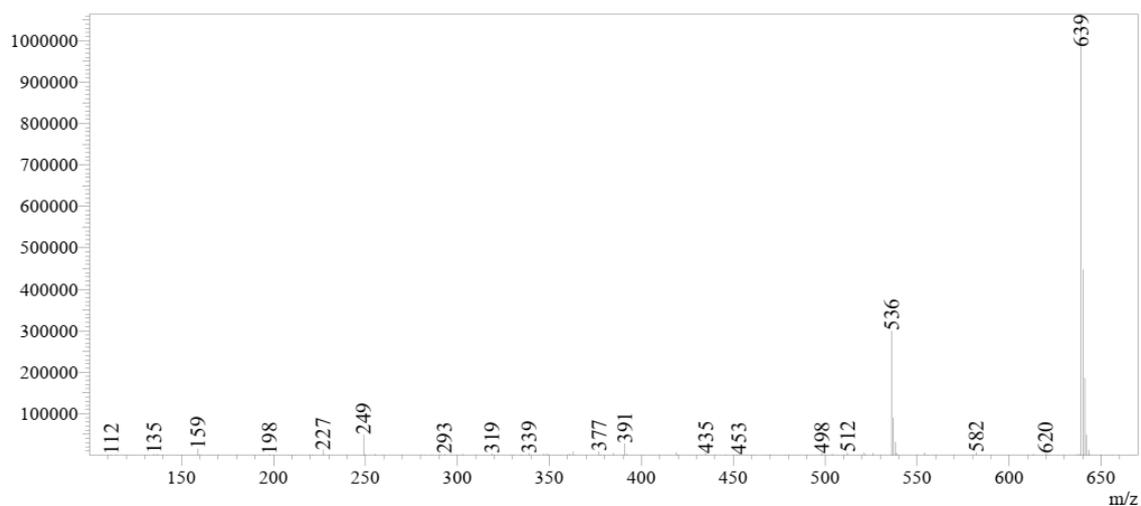


Espectro 37. Espectro RMN ^1H do derivado **9b**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



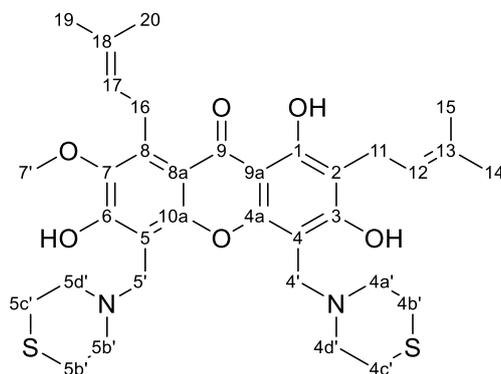
Espectro 38. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **9b**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**9b**): m/z calculada para ($\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$): 640, massa observada ($\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2 - 1\text{H}$): 639.



Espectro 39. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado **9b**.

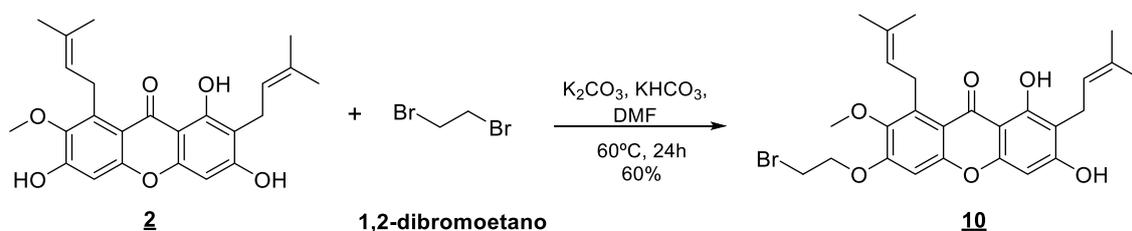
Tabela 13. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado C-4,5-bis-tiomorfolinametil- α -mangostina **9b**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.77 (s, 1H)	163.05 (C)
2	---	110.62 (C)
3	---	160.29 (C)
4	---	96.23 (C)
4a	---	152.07 (C)
5	---	105.49 (C)
6	---	157.63 (C)
7	---	143.18 (C)
8	---	137.00 (C)
8a	---	110.99 (C)
9	---	181.99 (C)
9a	---	102.59 (C)
10a	---	151.49 (C)
11	4.13 (d, J 6,0 Hz, 2H)	21.33 (CH ₂)
12	5.24-5.28 (m, 1H)	122.40 (CH)
13	---	131.91 (C)
14	1.83 (s, 3H)	17.90 (CH ₃)
15	1.86 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
16	3.38 (d, J 6,3 Hz, 2H)	26.16 (CH ₂)
17	5.24-5.28 (m, 1H)	123.32 (CH)
18	---	131.91 (C)
19	1.69 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
20	1.71 (s, 3H)	25.96 (CH ₃)
7'	3.84 (s, 3H)	60.64 (CH ₃)
4'	3.90 (s, 2H)	54.75 (CH ₂)
4a'	2.82 (s, 2H)	54.52 (CH ₂)
4b'	2.97 (s, 2H)	27.82 (CH ₂)
4c'	2.97 (s, 2H)	27.82 (CH ₂)
4d'	2.82 (s, 2H)	54.52 (CH ₂)
5'	4.04 (s, 2H)	55.36 (CH ₂)
5a'	2.82 (s, 2H)	54.54 (CH ₂)
5b'	2.97 (s, 2H)	27.82 (CH ₂)
5c'	2.97 (s, 2H)	27.82 (CH ₂)
5d'	2.82 (s, 2H)	54.54 (CH ₂)

4.11 Síntese dos híbridos de α -mangostina com 2-nitroimidazóis

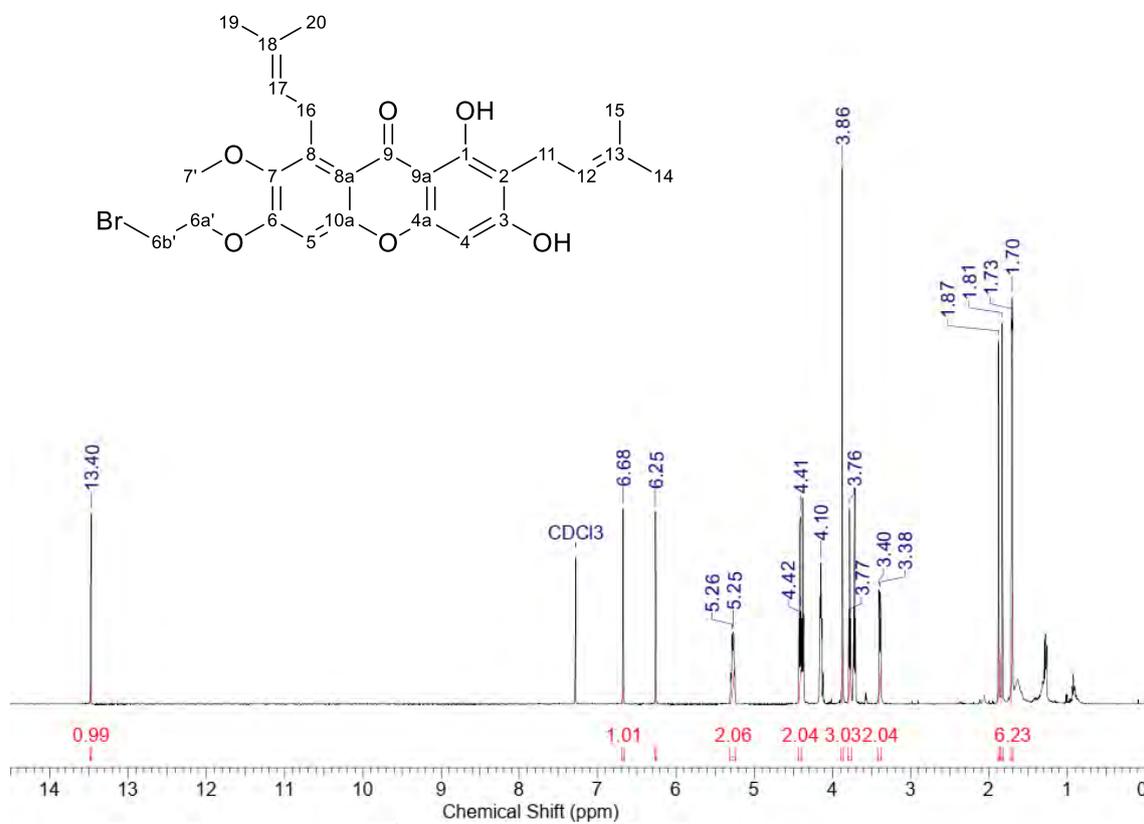
4.11.1 Síntese do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (**10**)



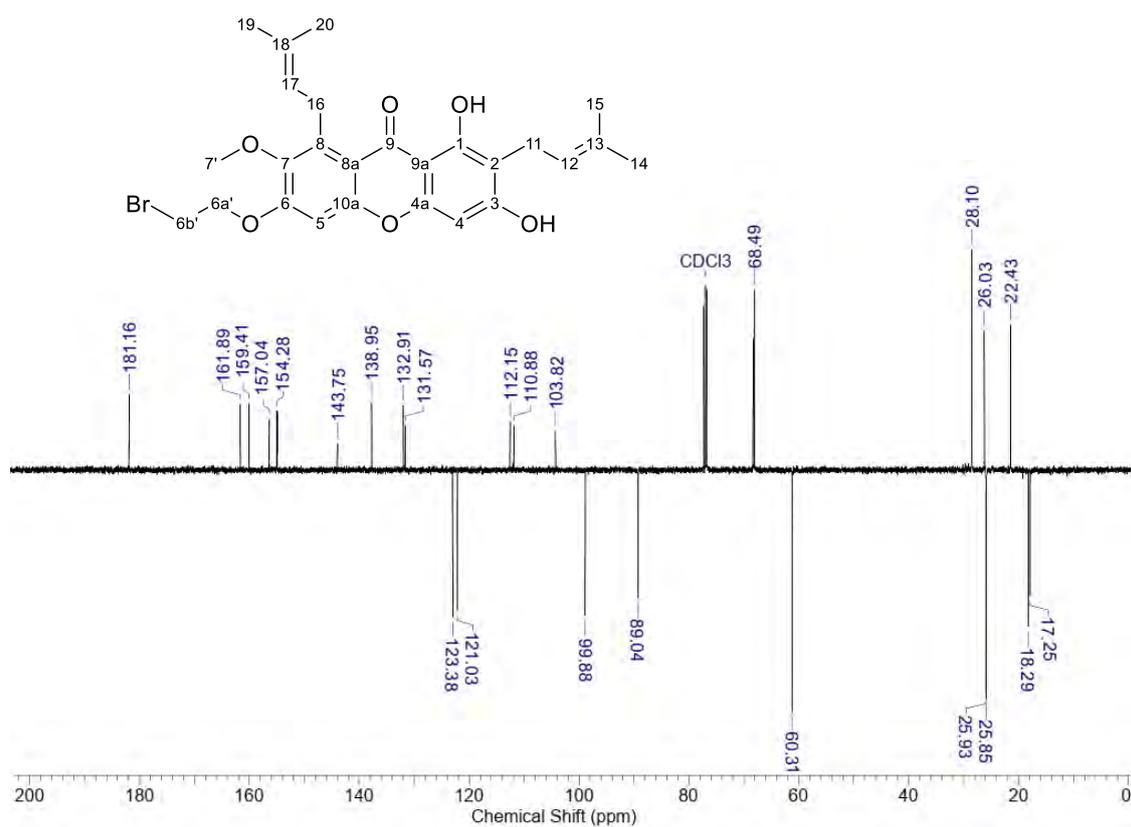
Esquema 13. Reação de formação do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina **10**.

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, foi adicionada a α -mangostina **2** (0,41 g, 1,0 mmol), (4,0 mmol, 342 μ L) de dibromoetano, 0,5 mmol de K₂CO₃, 0,5 mmol de KHCO₃, em 1,5 mL de DMF anidro. Em seguida, a mistura foi submetida a agitação magnética e mantida sob aquecimento a 60°C por 24h. A evolução da reação foi monitorada por CCDA. Ao final da reação, o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavagens com 6 \times 10 NaCl_(aq) 10%. A fase orgânica foi então seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. O intermediário bromoalquilado foi purificado por CCA, tendo como fase estacionária sílica-gel, e a mistura de DCM/MeOH como fase móvel, em gradiente de concentração de 0 a 10%. Assim, o intermediário mono-alquilado **10** foi obtido em 60% de rendimento, na forma de um sólido amorfo, de cor amarela clara, apresentou PF: 168-170°C. Os espectros de RMN obtidos estão de acordo com a estrutura **10** (Espectros **40**, **41**; Tabela **14**).

Dados espectroscópicos de RMN: intermediário do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (**10**).

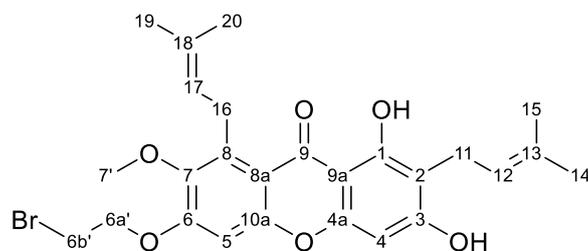


Espectro 40. Espectro RMN ^1H do intermediário **10**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



Espectro 41. Espectro de RMN ^{13}C do intermediário **10**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

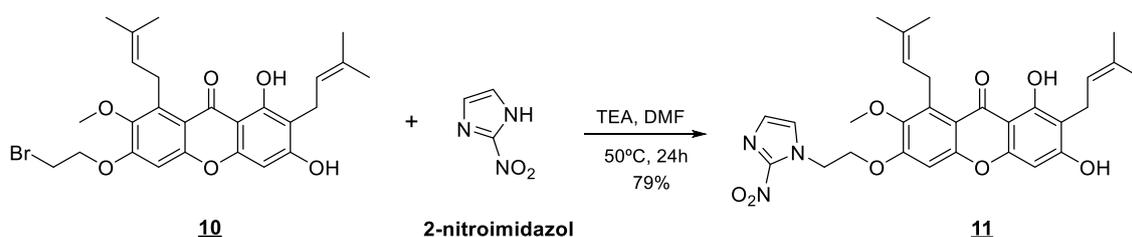
Tabela 14. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado 6-bromoetoxi- α -mangostina **10**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.40 (s, 1H)	159.41 (C)
2	---	110.88 (C)
3	---	161.89 (C)
4	6.25 (s, 1H)	89.04 (CH)
4a	---	154.30 (C)
5	6.68 (s, 1H)	99.88 (CH)
6	---	157.04 (C)
7	---	143.75 (C)
8	---	138.95 (C)
8a	---	112.15 (C)
9	---	181.16 (C)
9a	---	103.82 (C)

10a	---	154.28 (C)
11	3.40 (d, J 6,1 Hz, 2H)	22.43 (CH ₂)
12	5.25-5.26 (m, 1H)	121.03 (CH)
13	---	131.57 (C)
14	1.81 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
15	1.70 (s, 3H)	17.25 (CH ₃)
16	4.10 (d, J 5,7 Hz, 2H)	26.03 (CH ₂)
17	5.25-5.26 (m, 1H)	123.38 (CH)
18	---	132.91 (C)
19	1.73 (s, 3H)	18.29 (CH ₃)
20	1.87 (s, 3H)	25.93 (CH ₃)
7'	3.86 (s, 3H)	60.31 (CH ₃)
6a'	4.41 (t, J_1 16,21 Hz, J_2 6.01 Hz, 2H)	68.49 (CH ₂)
6b'	3.76 (t, J_1 5.7 Hz, 2H)	28.10 (CH ₂)

4.11.2 Síntese do híbrido α -mangostina-3-*O*-etil-2-nitroimidazol (**11**)



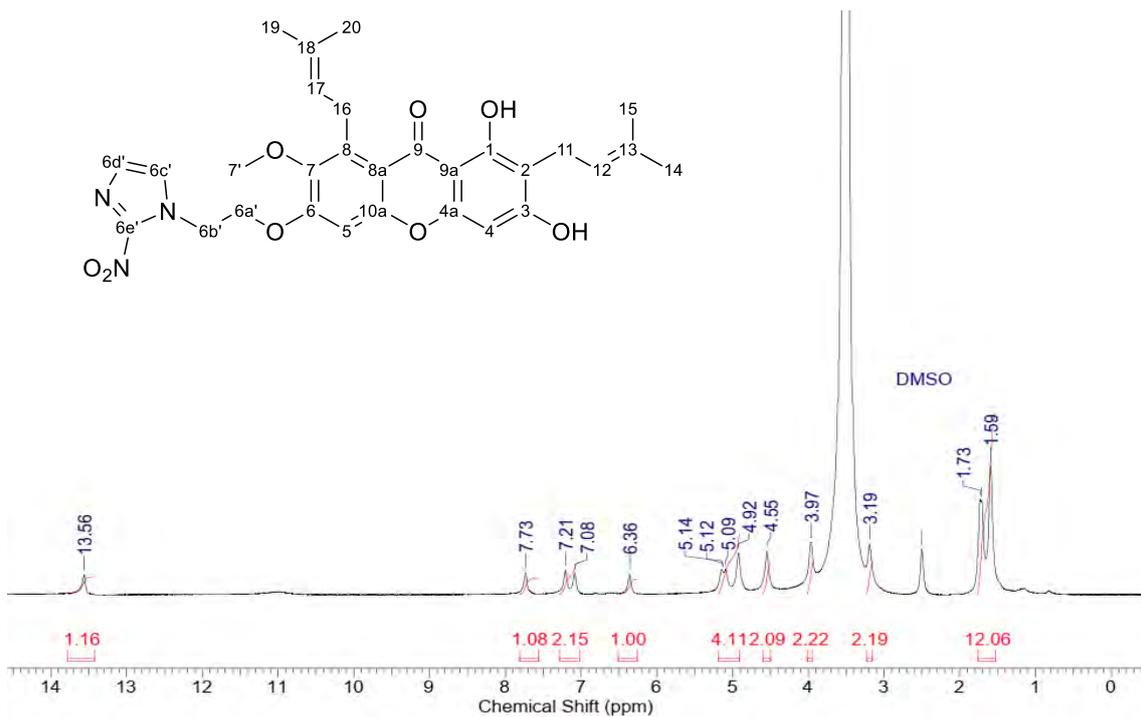
Esquema 14. Síntese do híbrido α -mangostina-3-*O*-etil-2-nitroimidazol **11**.

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, foram adicionados (0,517 g, 1,0 mmol) do intermediário bromoalquilado **10**, (0,565 g, 5 mmol) de 2-nitroimidazol, (15 mmol) de TEA, e (1,5 mL) de DMF anidro. Em seguida, a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 50°C por 24h, sendo monitorada por CCDA. Detectado o término da reação, o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com (3 × 20 mL) de Na₂CO_{3(aq)} 10%, (3 × 20 mL) de NH₄Cl_(aq) 10%, e (1 × 20 mL) de NaCl_(aq) 10%. A fase orgânica foi então seca em Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. O produto foi purificado por CCA, tendo como fase estacionária de sílica-gel e como fase móvel a mistura DCM/MeOH, em gradiente de concentração de 0 a 10%. O produto desejado, híbrido **11**, foi obtido na forma de um sólido amorfo de cor amarela clara em (0,433 g, 0,788 mmol, 79% de rendimento), tendo

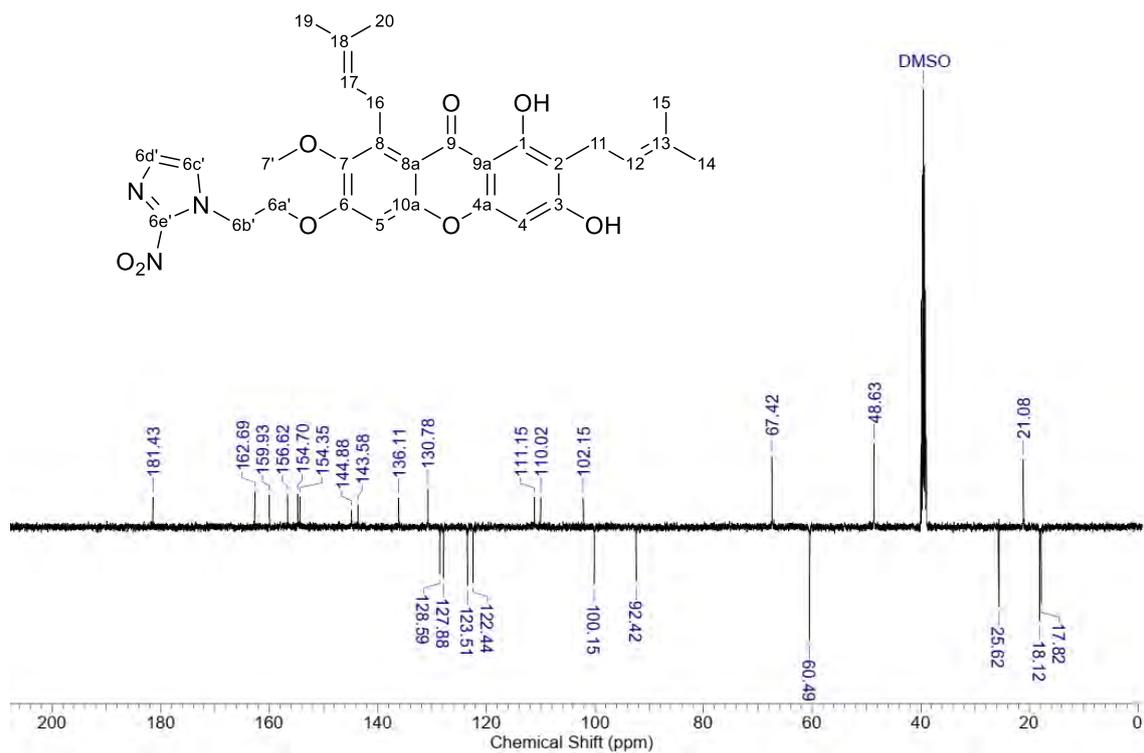
apresentado PF: 231-233°C. Os espectros de RMN obtidos (**Espectros 42, 43; Tabela 15**), e a massa observada ($C_{29}H_{31}N_3O_8$): m/z 548 [H – 1] (**Espectro 44**) estão de acordo com a estrutura proposta.

A seguir, encontram-se os dados para caracterização estrutural do híbrido **11**.

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-*O*-etil-2-nitroimidazol (**11**).

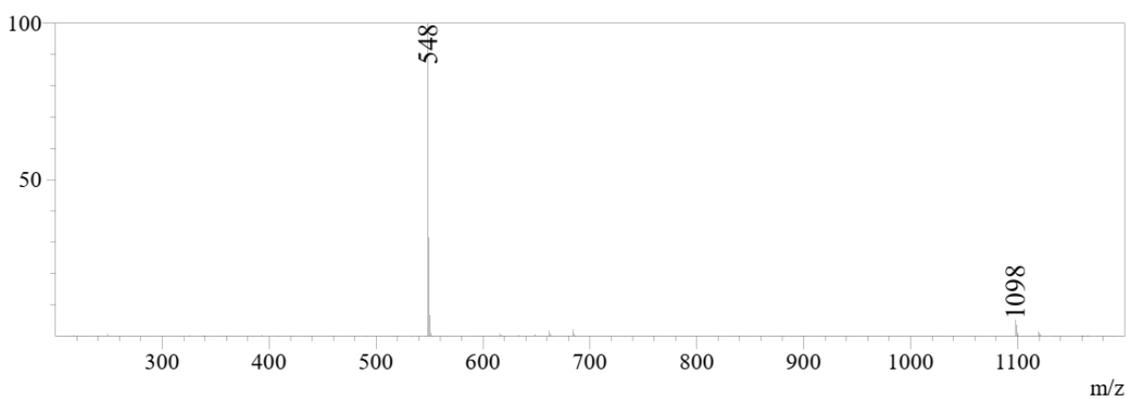


Espectro 42. Espectro RMN 1H do híbrido **11**, em DMSO- d_6 , a 500 MHz.



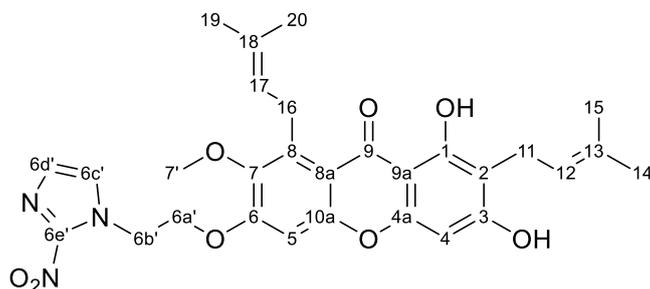
Espectro 43. Espectro de RMN ^{13}C do híbrido **11**, em $\text{DMSO-}d_6$, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado (**11**): m/z calculada para ($\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8$): 549, massa observada ($\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8 - 1\text{H}$): 548.



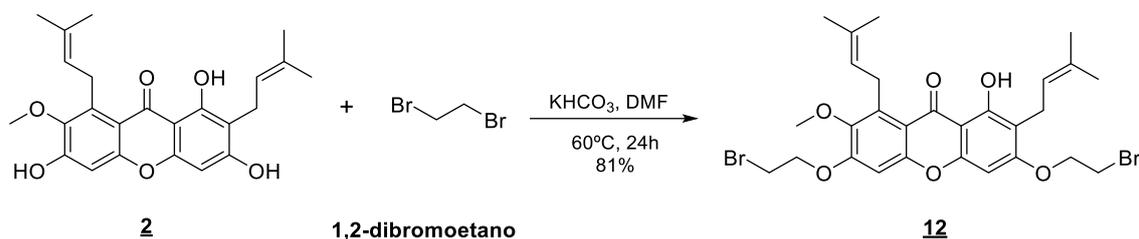
Espectro 44. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado híbrido **11**.

Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o híbrido α -mangostina-*O*-etil-2-nitroimidazol **11**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.56 (s, 1H)	159.93 (C)
2	---	110.02 (C)
3	---	162.69 (C)
4	6.36 (s, 1H)	92.42 (CH)
4a	---	154.70 (C)
5	7.73 (s, 1H)	100.15 (CH)
6	---	156.62 (C)
7	---	143.58 (C)
8	---	136.11 (C)
8a	---	111.15 (C)
9	---	181.43 (C)
9a	---	102.15 (C)
10a	---	154.35 (C)
11	3.19 (s, 2H)	21.08 (CH ₂)
12	5.09 – 5.14 (m, 1H)	122.44 (CH)
13	---	130.76 (C)
14	1.73 (s, 3H)	25.62 (CH ₃)
15	1.71 (s, 3H)	17.82 (CH ₃)
16	3.97 (s, 2H)	21.08 (CH ₂)
17	5.09 – 5.14 (m, 1H)	123.51 (CH)
18	---	130.78 (C)
19	1.59 (s, 3H)	18.12 (CH ₃)
20	1.72 (s, 3H)	25.69 (CH ₃)
7'	3.51 (s, 3H)	60.49 (CH ₃)
6a'	4.55 (s, 2H)	48.63 (CH ₂)
6b'	4.92 (s, 2H)	67.42 (CH ₂)
6c'	7.08 (d, 1H)	128.59 (CH)
6d'	7.21 (d, 1H)	127.88 (CH)
6e'	---	144.88 (C)

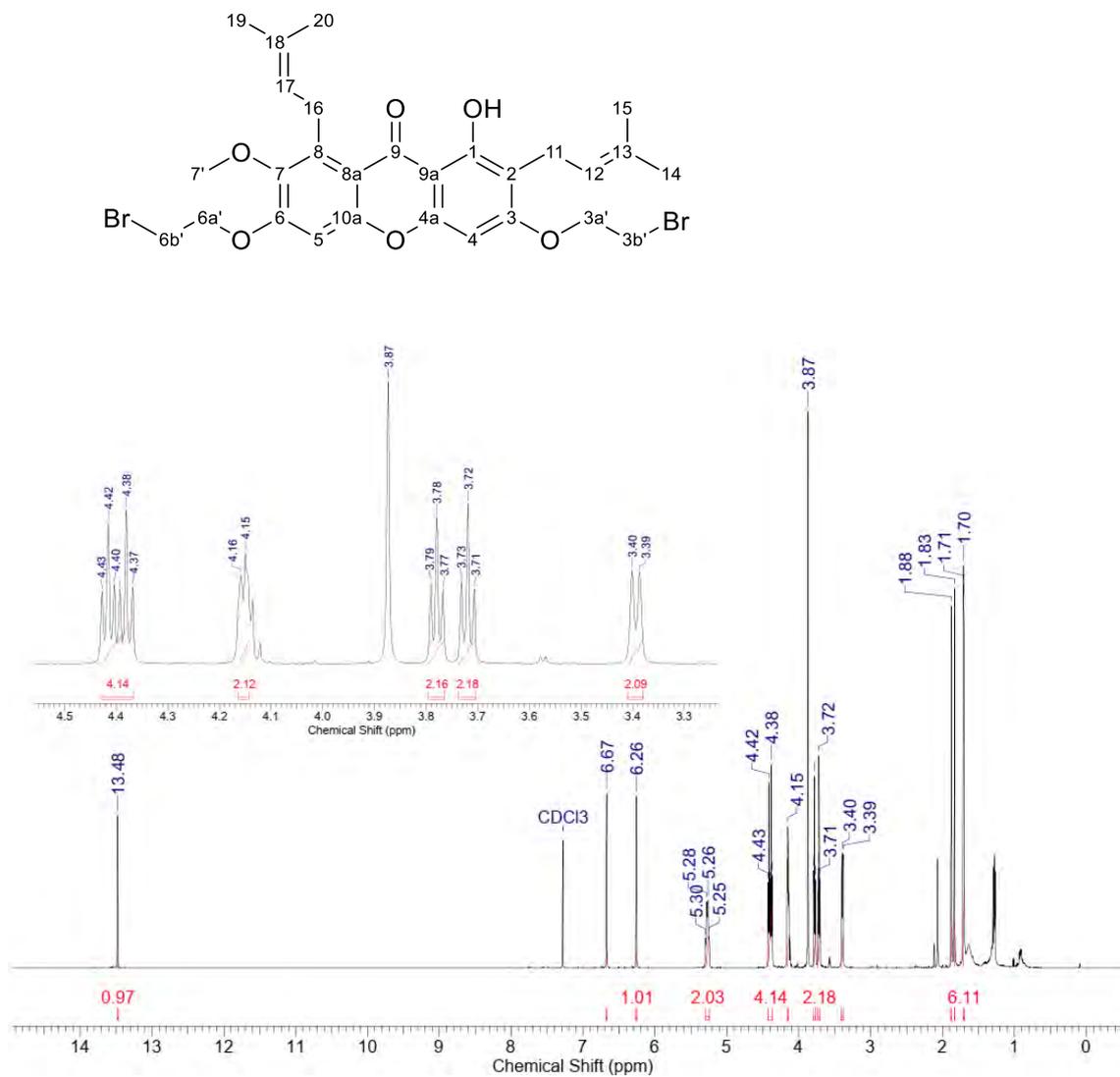
4.11.3 Síntese do intermediário α -mangostina-3,6-*O*-alquil-Br (**12**)



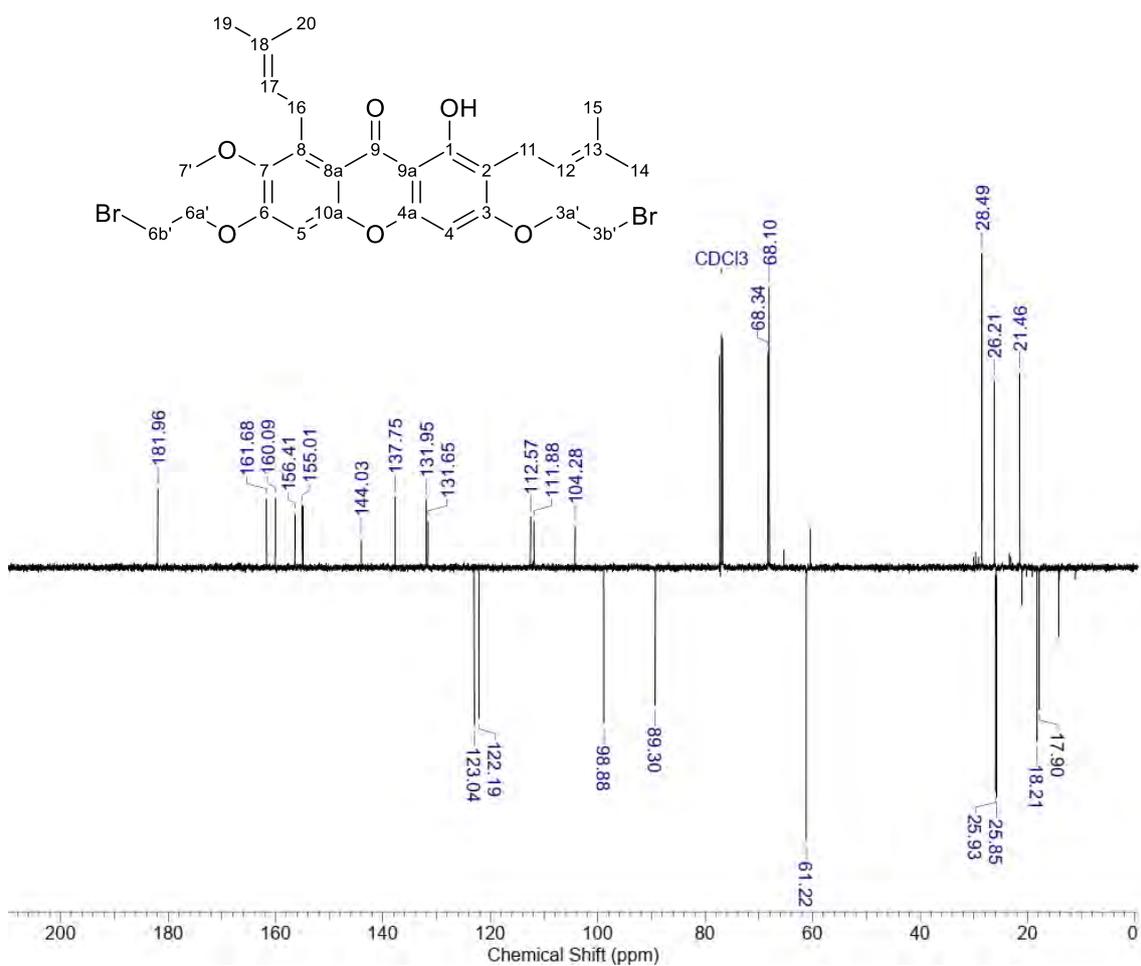
Esquema 15. Reação de formação dos intermediários 3,6-bromoetoxi- α -mangostina **12**.

Em um balão de fundo redondo de 10 mL de capacidade, adicionou-se 14,7 mg de α -mangostina **2** (0,06 g, 0,15 mmol) e 0,15 mmol de K_2CO_3 , os quais foram dissolvidos em 2,0 mL de DMF anidro. Em seguida, a mistura contida no balão foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 60°C . Após 10 minutos, adicionaram-se 101,4 μL (1,17 mmol, 8 eqv.) de 1,2-dibromoetano. A mistura reacional permaneceu sob agitação e aquecimento a 60°C por um período de 24h, sendo monitorada por CCDA. Após o término da reação o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc. A fase orgânica foi lavada com solução de NaCl 10% (6 x 20 mL). A fase orgânica obtida foi seca em Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente removido a pressão reduzida. Foi obtida 0,073 g (81%) do produto *bis*-alquilado **12**, após purificação por CCA em sílica-gel 60 (70-230 mesh), eluente DCM-MeOH (100:0; 99,5:0,5; 99:1; 98:2; 97:3). O produto apresentou PF: $147\text{-}149^\circ\text{C}$. Os espectros de RMN obtidos confirmam a estrutura do derivado **12** (**Espectros 45, 46; Tabela 16**) e estão de acordo com os disponíveis na literatura (JIANG et al., 2021).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado 3,6-bromoetoxi- α -mangostina (**12**).

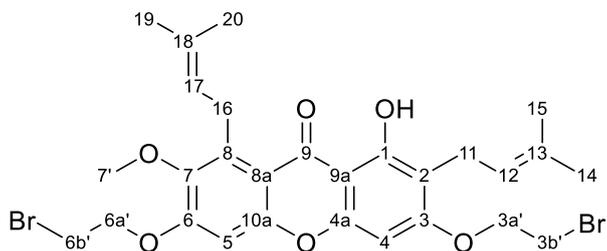


Espectro 45. Espectro RMN ^1H do derivado **12**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



Espectro 46. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **12**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

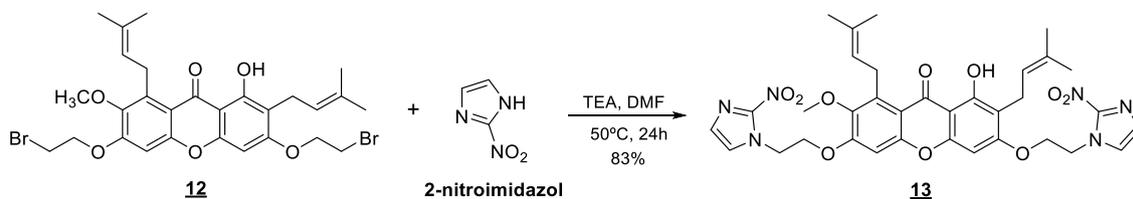
Tabela 16. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o intermediário *bis*-alquilado 3,6-bromoetoxi- α -mangostina **12**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.48 (s, 1H)	160.09 (C)
2	---	111.88 (C)
3	---	161.68 (C)
4	6.26 (s, 1H)	89.30 (CH)
4a	---	155.01 (C)
5	6.67 (s, 1H)	98.88 (CH)
6	---	156.41 (C)
7	---	144.03 (C)

8	---	137.75 (C)
8a	---	112.57 (C)
9	---	181.96 (C)
9a	---	104.28 (C)
10a	---	154.94 (C)
11	3.40 (d, J 7,2 Hz, 2H)	21.46 (CH ₂)
12	5.25-5.30 (m, 1H)	122.19 (CH)
13	---	131.65 (C)
14	1.83 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
15	1.70 (s, 3H)	17.90 (CH ₃)
16	4.15 (d, J 4,41 Hz, 2H)	26.21 (CH ₂)
17	5.25-5.30 (m, 1H)	123.04 (CH)
18	---	131.95 (C)
19	1.71 (s, 3H)	18.21 (CH ₃)
20	1.88 (s, 3H)	25.93 (CH ₃)
7'	3.87 (s, 3H)	61.22 (CH ₃)
3a'	4.38 (dt, J_1 17,42 Hz, J_2 6.11 Hz, 2H)	68.10 (CH ₂)
3b'	3.72 (t, J_1 6.15 Hz, 2H)	28.49 (CH ₂)
6a'	4.42 (dt, J_1 17,42 Hz, J_2 6.11 Hz, 2H)	68.34 (CH ₂)
6b'	3.78 (t, J_1 5.83 Hz, 2H)	28.54 (CH ₂)

4.11.4 Síntese do híbrido *a*-mangostina-*bis*-3,6-*O*-etil-2-nitroimidazol (**13**)



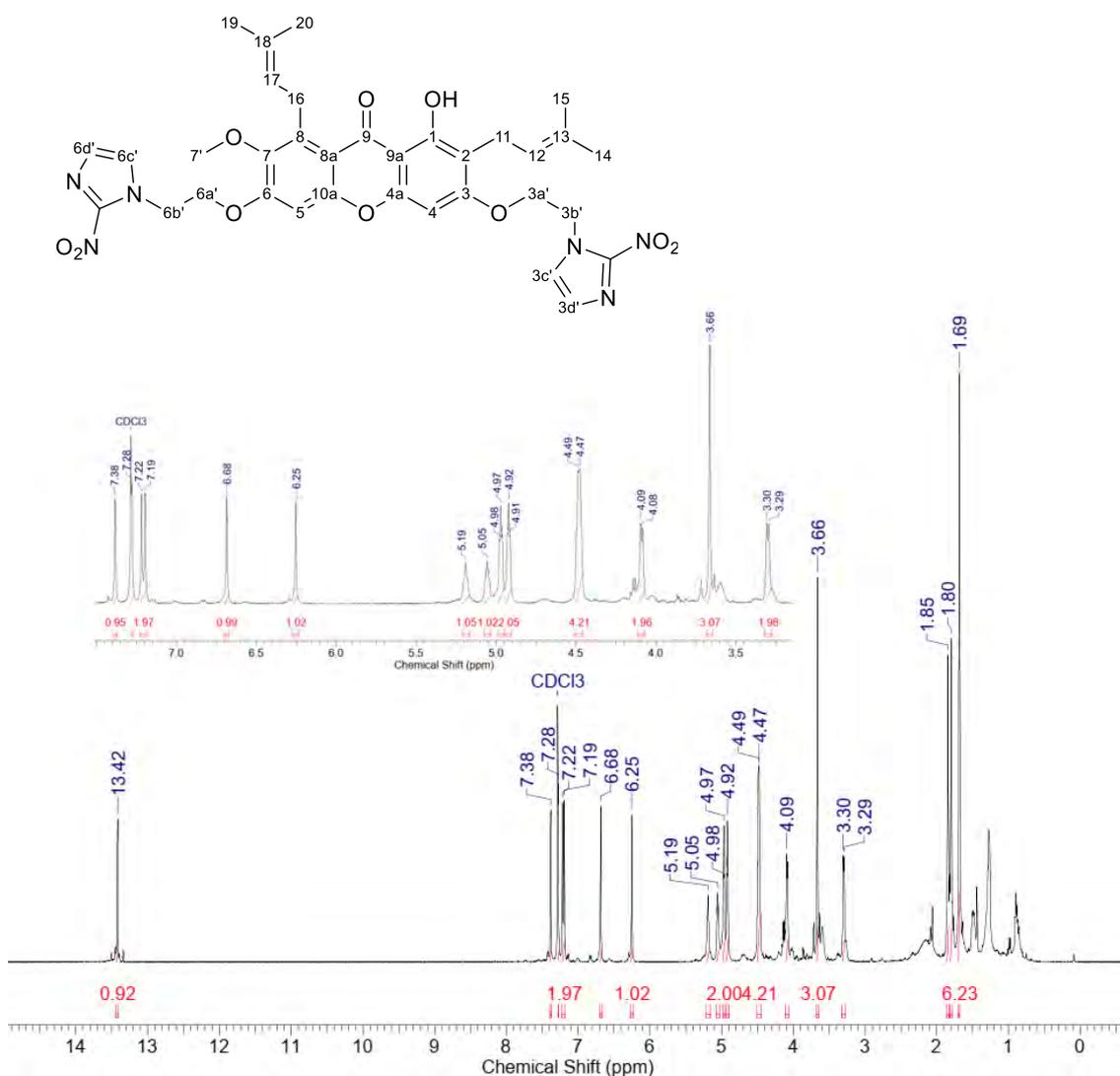
Esquema 16. Formação do derivado *a*-mangostina-*bis*-3,6-*O*-etil-2-nitroimidazol **13**.

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, foi adicionado 0,022g (0,036 mmol) do dibrometo **12**, juntamente com 0,04 g do reagente 2-nitroimidazol (0,36 mmol, 10 eqv.), 0,11 g de TEA (1,1 mmol, 30 eqv.), e 3,0 mL de DMF anidro. A mistura contida no balão foi mantida sob agitação constante e aquecimento a 50°C. A evolução da reação foi monitorada por CCDA, tendo como eluente (DCM/MeOH, 2%). Após 24h foi detectado o término da reação. O isolamento foi realizado com a remoção do solvente sob pressão reduzida, ocorrendo, em seguida, a solubilização do resíduo obtido em 20 mL de EtOAc, com posteriores lavagens em sequência: com solução de NaCl 10% (3 x 15 mL),

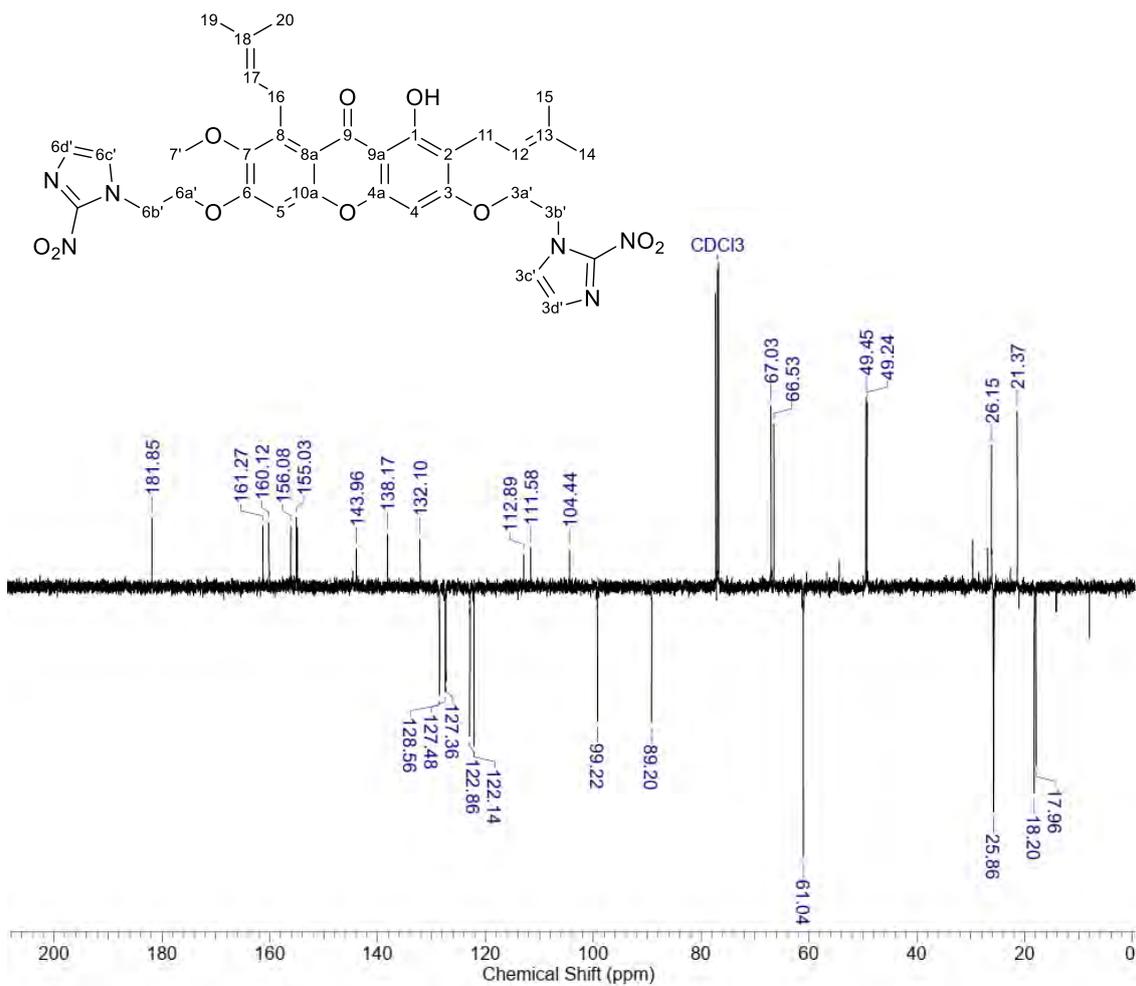
Na₂CO₃ 10% (3 x 15 mL), NH₄Cl 10% (3 x 15 mL), NaCl 10% (3 x 15 mL), por fim, a fase orgânica foi filtrada e seca sobre Na₂SO₄ e o solvente totalmente evaporado sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado por CCA, com fase estacionária de sílica-gel e fase móvel mistura de DCM/MeOH, em gradiente de concentração de 0 a 10%. Desse modo, foi obtido 0,02 g (83%) do híbrido **13**, na forma de um sólido branco com PF: 260-263°C. Os espectros de RMN (**Espectros 47, 48; Tabela 17**) e o espectro de massas (**Espectro 49**), no qual observa-se a massa (C₃₄H₃₆N₆O₁₀): m/z 687 [H – 1], confirmam a estrutura do derivado **13**.

A seguir, encontram-se os dados usados na caracterização estrutural do híbrido **13**.

Dados espectroscópicos de RMN: híbrido *α*-mangostina-3,6-*O*-etil-2-nitroimidazol (13**).**

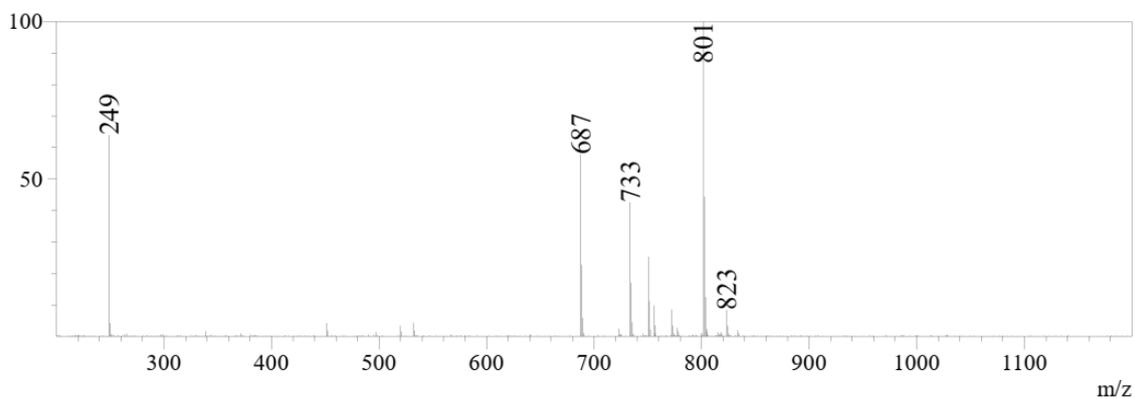


Espectro 47. Espectro RMN ¹H do híbrido **13**, em CDCl₃, a 500 MHz.



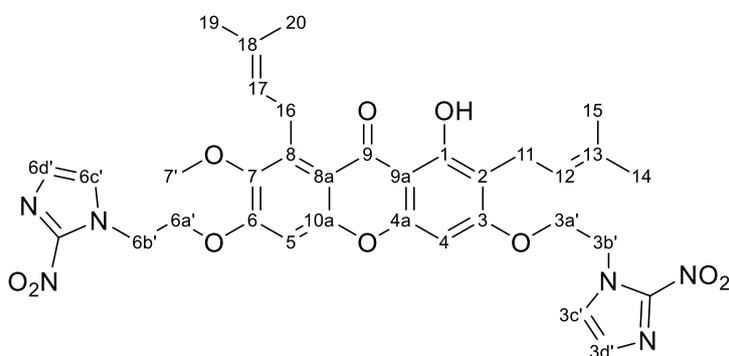
Espectro 48. Espectro de RMN ^{13}C do híbrido **13**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI-) obtido para o derivado (**13**): m/z calculada para ($\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10}$): 688, massa observada ($\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10} - 1\text{H}$): 687.



Espectro 49. Espectro de massas (EM) (ESI-) para o derivado híbrido **13**.

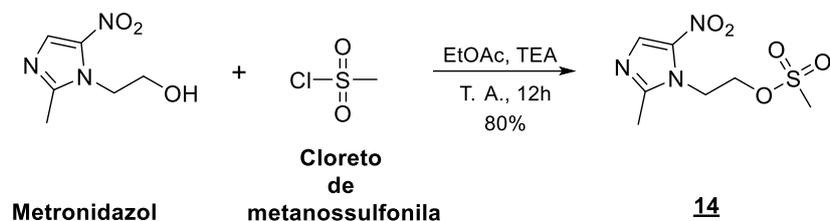
Tabela 17. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o híbrido *a*-mangostina-*bis*-3,6-*O*-etil-2-nitroimidazol **13**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.42 (s, 1H)	160.12 (C)
2	---	111.58 (C)
3	---	161.27 (C)
4	6.25 (s, 1H)	89.20 (CH)
4a	---	155.03 (C)
5	6.68 (s, 1H)	99.22 (CH)
6	---	156.08 (C)
7	---	143.96 (C)
8	---	138.17 (C)
8a	---	112.89 (C)
9	---	181.85 (C)
9a	---	104.44 (C)
10a	---	154.94 (C)
11	3.30 (d, J 6,3 Hz, 2H)	21.37 (CH ₂)
12	5.19 (s, 1H)	122.14 (CH)
13	---	132.10 (C)
14	1.80 (s, 3H)	25.71 (CH ₃)
15	1.69 (s, 3H)	17.96 (CH ₃)
16	4.09 (d, J 6,3 Hz, 2H)	26.15 (CH ₂)
17	5.05 (t, J 5,83 Hz, 1H)	122.86 (CH)
18	---	132.15 (C)
19	1.69 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
20	1.85 (s, 3H)	25.86 (CH ₃)
7'	3.66 (s, 3H)	61.04 (CH ₃)
3a'	4.92 (m, 2H)	49.24 (CH ₂)
3b'	4.49 (m, 2H)	66.53 (CH ₂)
3c'	7.19 (s, 1H)	127.36 (CH)
3d'	7.22 (s, 1H)	127.48 (CH)
6a'	4.97 (m, 2H)	49.45 (CH ₂)
6b'	4.49 (m, 2H)	67.03 (CH ₂)
6c'	7.38 (s, 1H)	128.48 (CH)
6d'	7.28 (s, 1H)	128.56 (CH)

4.11.5 Síntese dos híbridos α -mangostina-5-nitroimidazóis

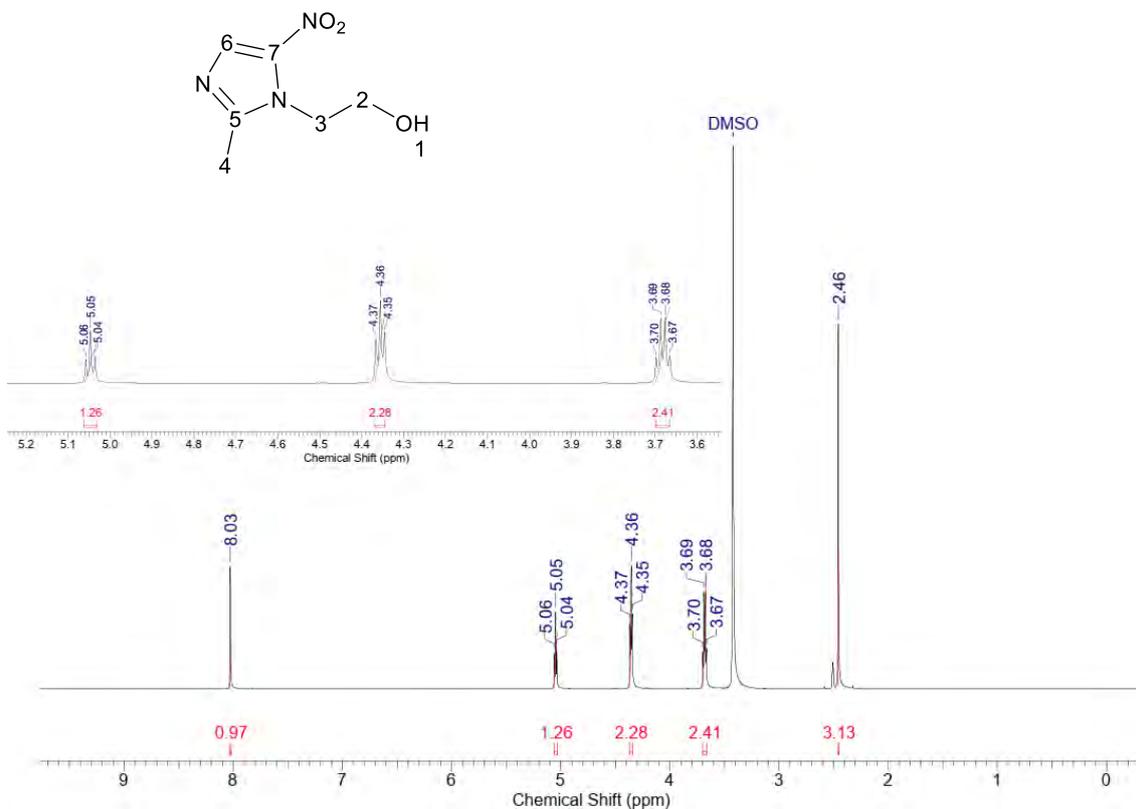
4.11.6 Síntese do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (14)



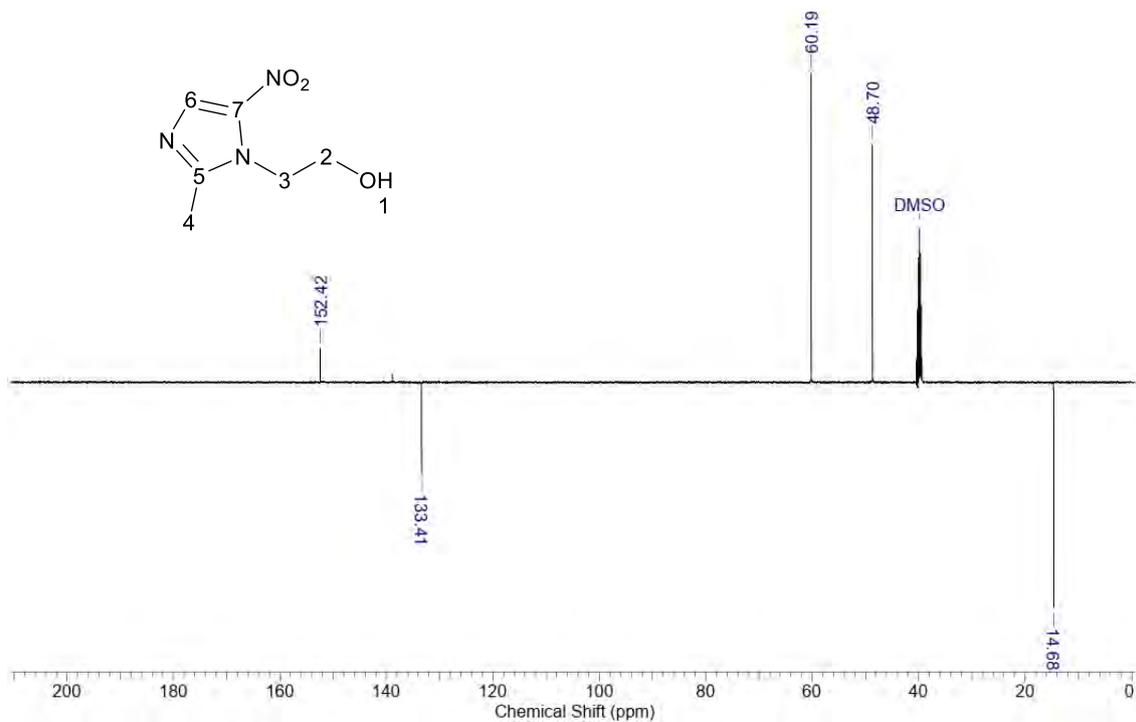
Esquema 17. Reação de formação do intermediário 14.

Para a síntese do eletrófilo 14, foi necessário realizar a extração do metronidazol dos comprimidos do medicamento comercial Flagyl®. Inicialmente, 400 mg foram triturados e transferidos para um bécher de 250 mL, contendo barra de agitação magnética. Em seguida, foram adicionados 50 mL de solução aquosa de HCl 10% sobre o material sólido obtido pós trituração. A suspensão formada foi mantida sob agitação constante, à temperatura ambiente, durante noventa minutos. Após esse tempo, realizou-se a filtração desta suspensão, para remoção de componentes insolúveis do comprimido. A solução ácida obtida, foi transferida para um outro bécher de 250 mL e mantida à baixa temperatura, a qual foi neutralizada com solução saturada de NaHCO₃, até pH neutro (6,5 - 7,5). Mediante a neutralização, foi possível observar a precipitação dos cristais de metronidazol, de coloração branca, em forma de agulhas. Os cristais formados foram secos em estufa a 50 °C, fornecendo 0,198 g do metronidazol (82%), que apresentou PF: 162-165°C (drugbank.ca). O produto foi devidamente caracterizado através de seu ponto de fusão e dos dados de RMN (**Espectros 50, 51; Tabela 18**).

Dados espectroscópicos de RMN: **metronidazol**.

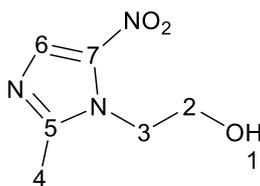


Espectro 50. Espectro RMN ^1H para o metronidazol, em CDCl_3 , a 500 MHz.



Espectro 51. Espectro de RMN ^{13}C para o metronidazol, em CDCl_3 , a 125 MHz.

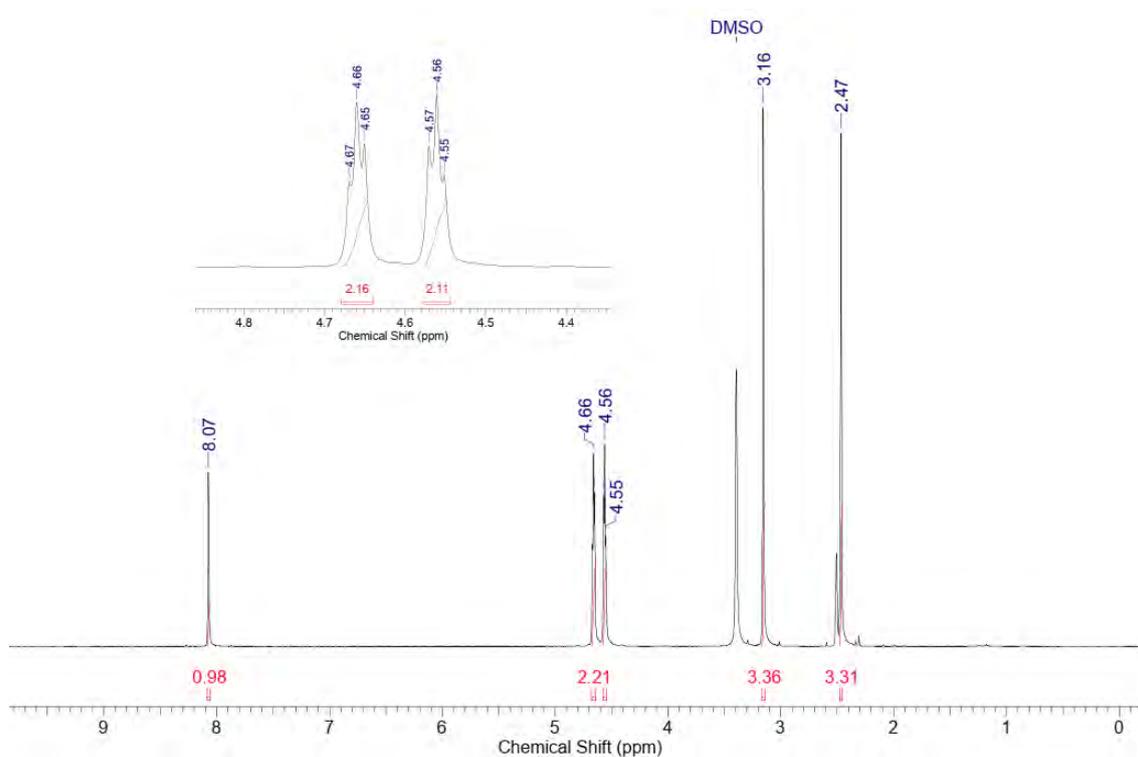
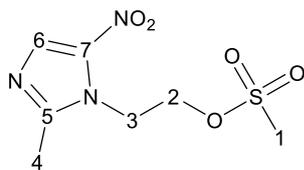
Tabela 18. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e RMN ¹³C para o metronidazol.



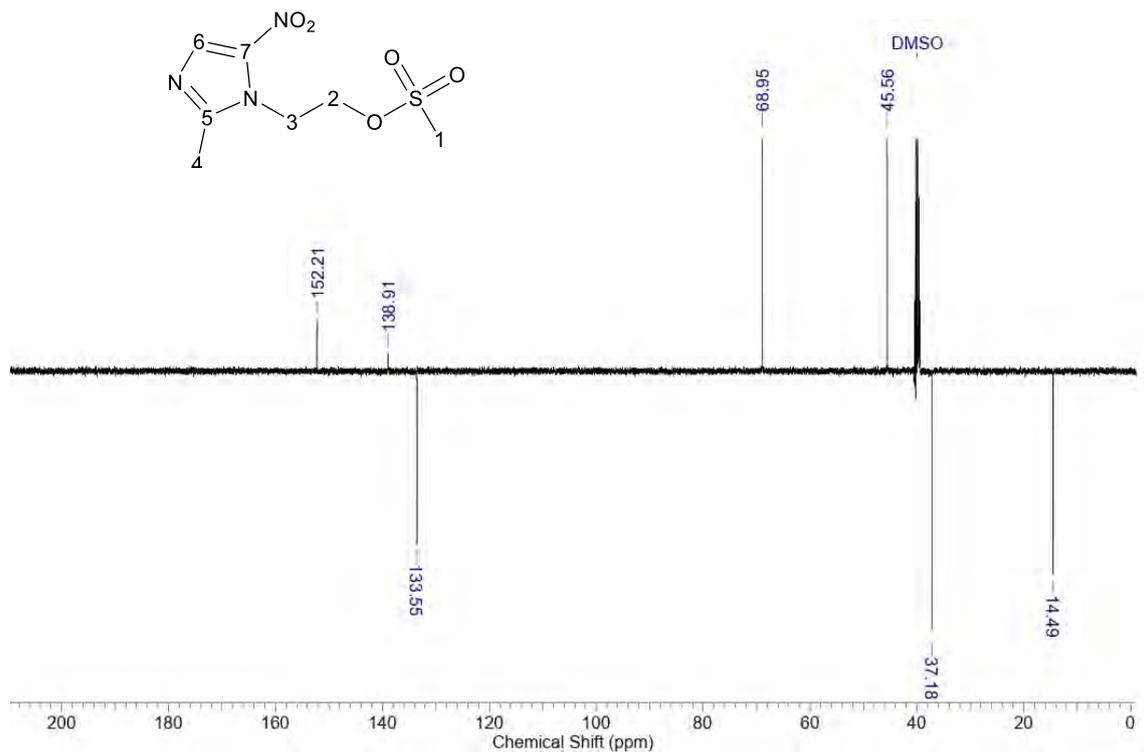
Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	5.05 (t, J 5.4 Hz, 1H)	---
2	3,69 (q, J 5.4 Hz, 2H)	48.70 (CH ₂)
3	4,36 (t, J 5.4 Hz, 2H)	60.19 (CH ₂)
4	2.46 (s, 3H)	14.68 (CH ₃)
5	---	138.84 (C)
6	8.03 (s, 1H)	133.41 (CH)
7	---	152.42 (C)

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, equipado com barra de agitação magnética e septo de borracha, mantido sob atmosfera de N₂, foi feita uma solução de 0,51 g (3,0 mmol) de metronidazol em 6 mL de diclorometano, previamente seco sob peneira molecular. Sobre a solução formada, foram adicionados 2.1 μL (15.3 mmol) de TEA seca, seguida da adição, lenta e cuidadosa, de 397 μL cloreto de metanossulfonila (5,1 mmol). Durante a adição houve o desprendimento de HCl, além da formação de precipitado branco do cloridrato de trietilamínio. A reação transcorreu por 12 h, sendo acompanhada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes DCM/MeOH 5%. Após ser detectado o fim da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador e o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com 3 \times 20 mL NH₄Cl_(aq) 10%, e 2 \times 20 mL NaCl_(aq) 10%. Ao final da partição, a fase orgânica foi seca sob Na₂SO₄ anidro, filtrada, sendo o solvente, em seguida, removido em rotaevaporador. O produto **14** foi obtido na forma de sólido amorfo de cor amarela clara (0,240 g, 80 % de rendimento), com PF: 163-165°C. O produto foi devidamente caracterizado através dos métodos físicos de análise orgânica (**Espectros 52, 53; Tabela 19**) (CROSSLAND & SERVIS, 1970).

Dados espectroscópicos de RMN: metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol 14.

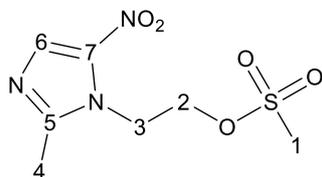


Espectro 52. Espectro RMN ^1H do intermediário 14, em $\text{DMSO-}d_6$, a 500 MHz.



Espectro 53. Espectro de RMN ^{13}C do intermediário **14**, em $\text{DMSO-}d_6$, a 125 MHz.

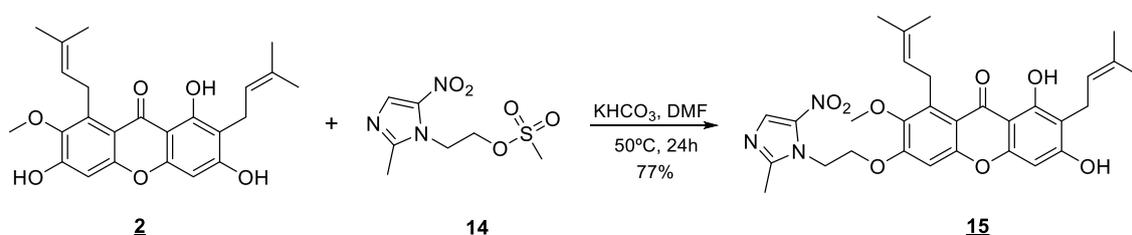
Tabela 19. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol **14**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3.16 (s, 3H)	37.18 (CH_3)
2	4,56 (t, J 4.7 Hz, 2H)	45.56 (CH_2)
3	4,66 (t, J 4.7 Hz, 2H)	68.95 (CH_2)
4	2.47 (s, 3H)	14.49 (CH_3)
5	---	138.91 (C)
6	8.07 (s, 1H)	133.55 (CH)
7	---	152.21 (C)

4.12 Síntese dos híbridos α -mangostina-5-nitroimidazóis

4.12.1 Síntese do híbrido α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol (**15**)

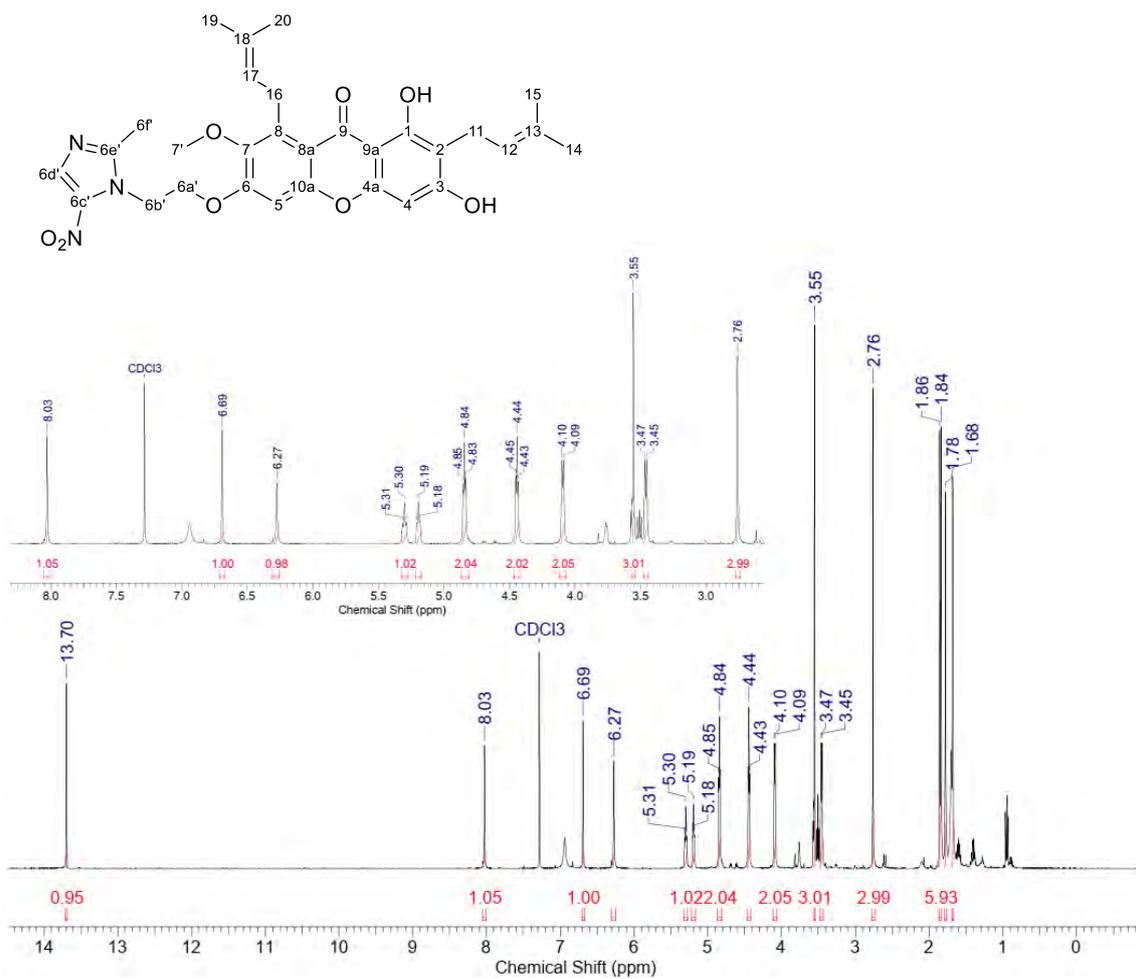


Esquema 18. Formação do híbrido α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol **15**.

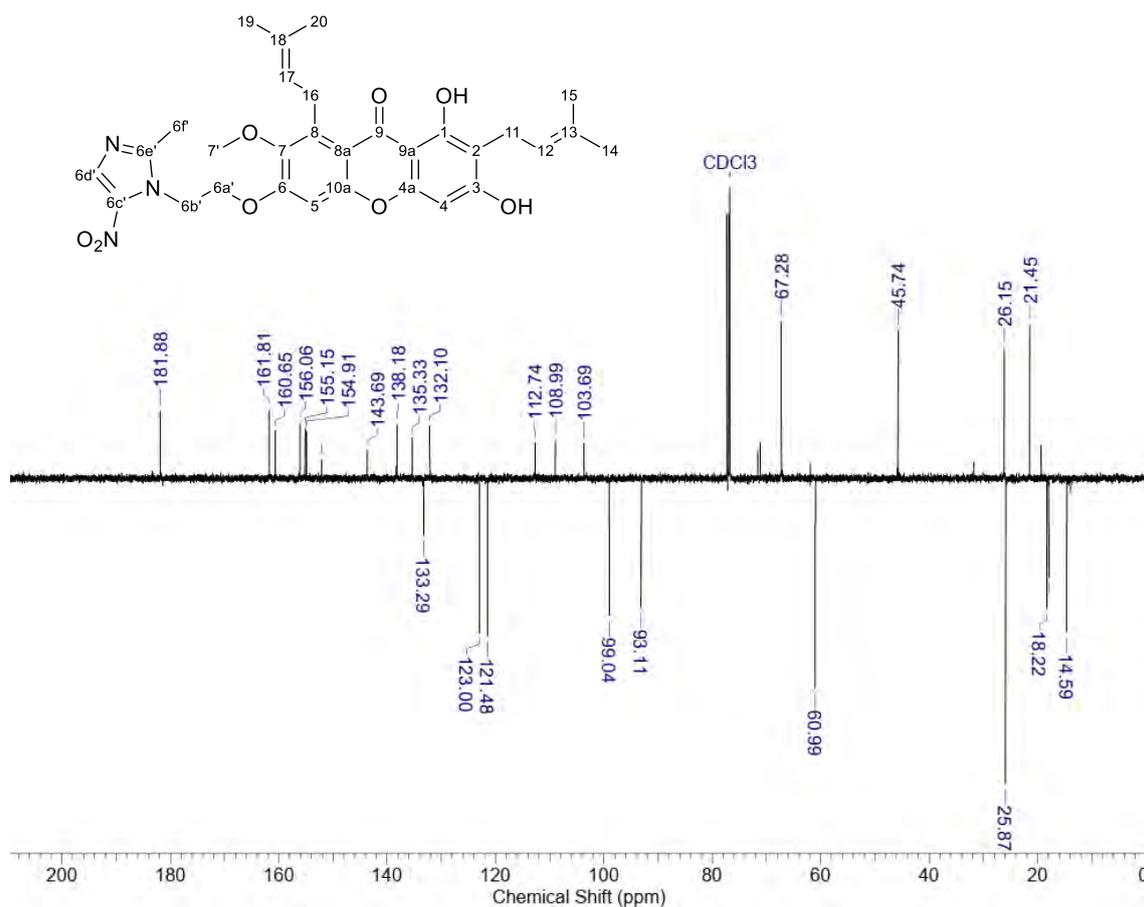
Em um balão de fundo redondo de 10 mL de capacidade foi adicionada 0,05g da xantona natural α -mangostina **2** (0,12 mmol), seguida de 0,121g do intermediário **14** (0,48 mmol, 4 eqv.), e 0,012g de KHCO_3 (0,12 mmol), dissolvidos em 2,0 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação, a 50°C , e acompanhada por CCD, utilizando como eluente DCM/MeOH 1%. O consumo do substrato e a formação do produto se deu após 24h, quando foi então realizado o isolamento da reação. Foram adicionados ao meio reacional 15 mL de EtOAc, seguido de 15 mL de solução de NaCl 10%. Foi feita a separação de fases, sendo que a fase aquosa obtida foi particionada com (2 x 10 mL) de EtOAc. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com (6 x 15 mL) de solução de NaCl 10%. A purificação do produto ocorreu por cromatografia em sílica-gel 60 (70-230 mesh), eluente Hex-EtOAc (90:10; 85:15; 80:20; 70:30; 65:35). Após a purificação, foram obtidas 0,052 g (77%) do híbrido **15** na forma de um sólido branco, que apresentou PF: $115\text{-}124^\circ\text{C}$.

A seguir, encontram-se os dados de RMN de ^1H e ^{13}C , que confirmam a estrutura do produto formado (**Espectros 54, 55; Tabela 20**). No espectro de massas (**Espectro 56**) temos o valor da massa observada ($\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8$): m/z 564 $[\text{H} + 1]$.

Dados espectroscópicos de RMN: híbrido α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol (**15**)

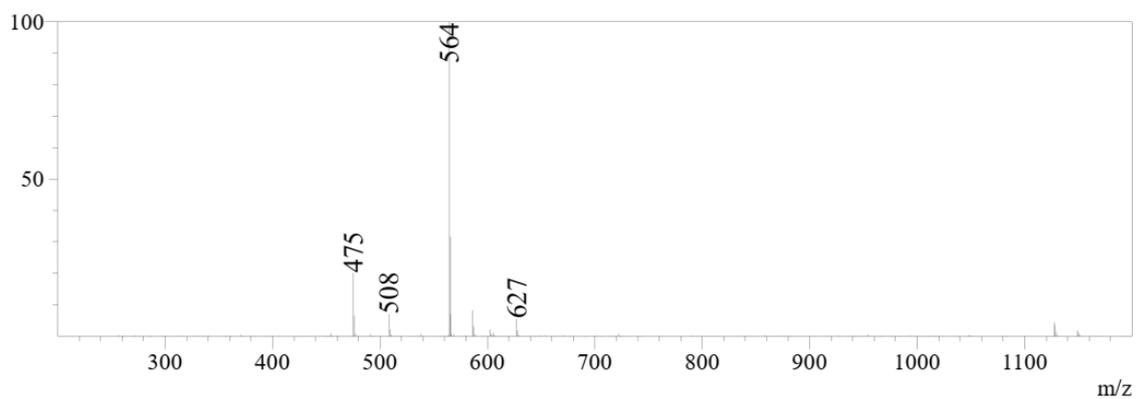


Espectro 54. Espectro RMN ^1H do híbrido **15**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



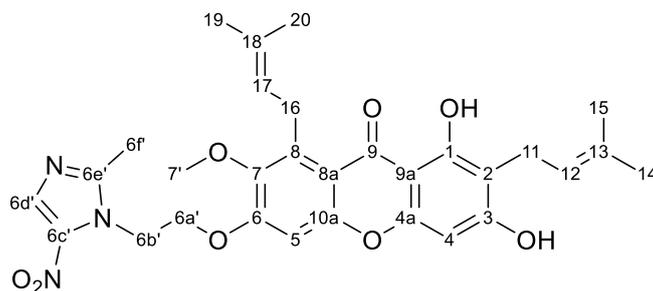
Espectro 55. Espectro de RMN ¹³C do híbrido **15**, em CDCl₃, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**15**): m/z calculada para (C₃₀H₃₃N₃O₈): 563, massa observada (C₃₀H₃₃N₃O₈ + 1H): 564.



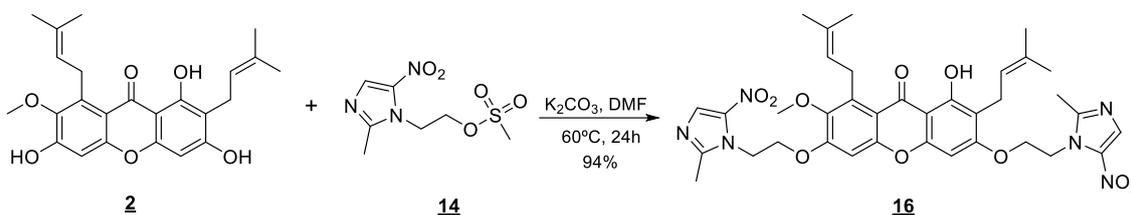
Espectro 56. espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **15**.

Tabela 20. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado híbrido α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol **15**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.70 (s, 1H)	160.65 (C)
2	---	108.99 (C)
3	---	161.81 (C)
4	6.27 (s, 1H)	93.11 (CH)
4a	---	154.91 (C)
5	6.69 (s, 1H)	99.04 (CH)
6	---	156.06 (C)
7	---	143.69 (C)
8	---	138.18 (C)
8a	---	112.74 (C)
9	---	181.88 (C)
9a	---	103.69 (C)
10a	---	155.15 (C)
11	3.47 (d, J 6,9 Hz, 2H)	21.45 (CH ₂)
12	5.30 (t, J 6,9 Hz, 1H)	121.48 (CH)
13	---	132.10 (C)
14	1.86 (s, 3H)	25.87 (CH ₃)
15	1.78 (s, 3H)	18.22 (CH ₃)
16	4.10 (d, J 6,3 Hz, 2H)	26.15 (CH ₂)
17	5.19 (t, J 6,3 Hz, 1H)	123.00 (CH)
18	---	135.33 (C)
19	1.68 (s, 3H)	17.93 (CH ₃)
20	1.84 (s, 3H)	25.87 (CH ₃)
7'	3.55 (s, 3H)	60.99 (CH ₃)
6a'	4.44 (t, J 4,5 Hz, 2H)	45.74 (CH ₂)
6b'	4.84 (t, J 4,5 Hz, 2H)	67.28 (CH ₂)
6c'	---	138.18 (C)
6d'	8.03 (s, 1H)	133.29 (CH)
6e'	---	152.07 (C)
6f'	2.76 (s, 3H)	14.59 (CH ₃)

4.12.2 Síntese do híbrido α -mangostina-*bis*-3,6-*O*-etil-5-nitroimidazol (**16**)

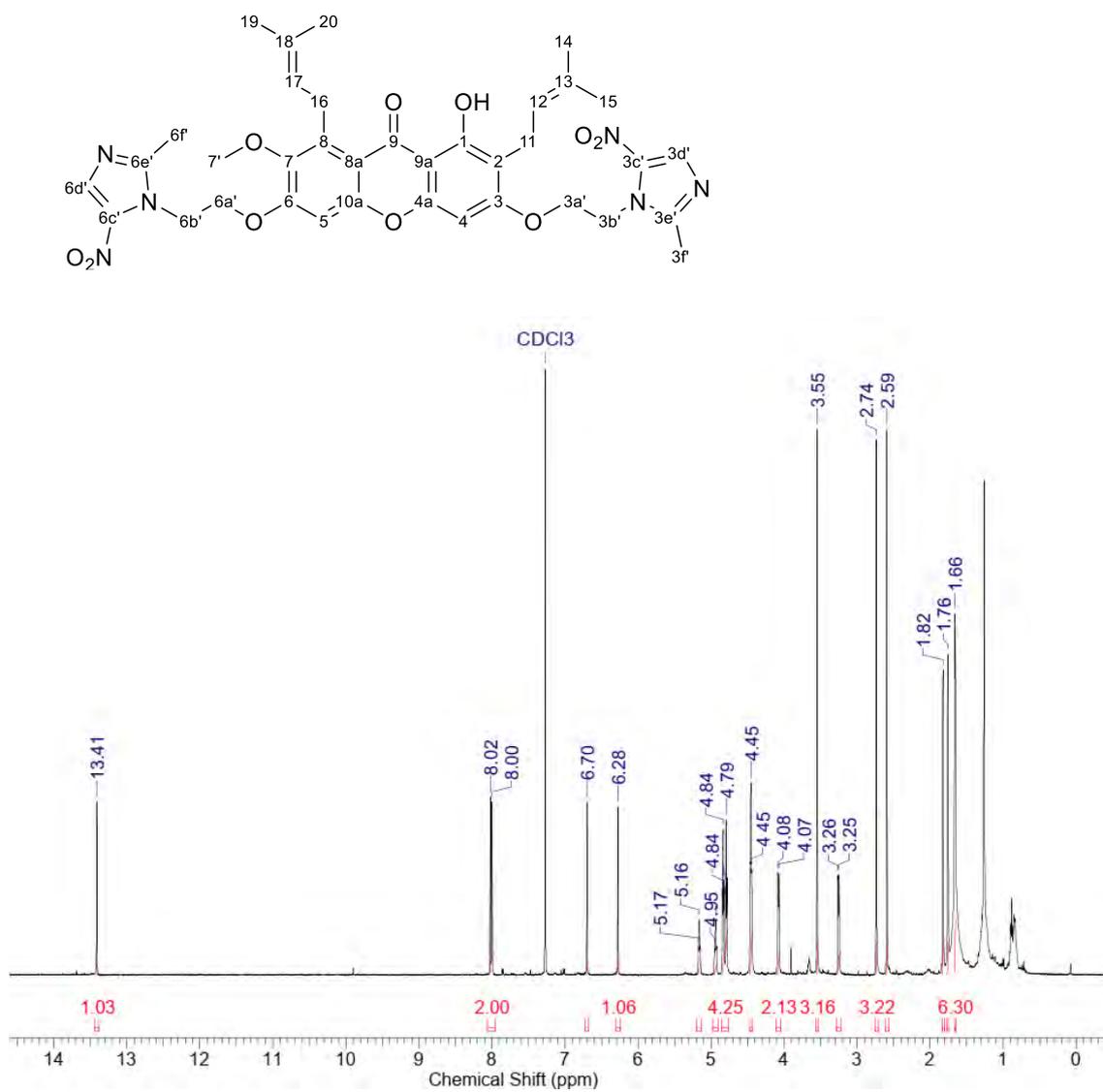


Esquema 19. Síntese do híbrido α -mangostina-*bis*-3,6-*O*-etil-5-nitroimidazol **16**.

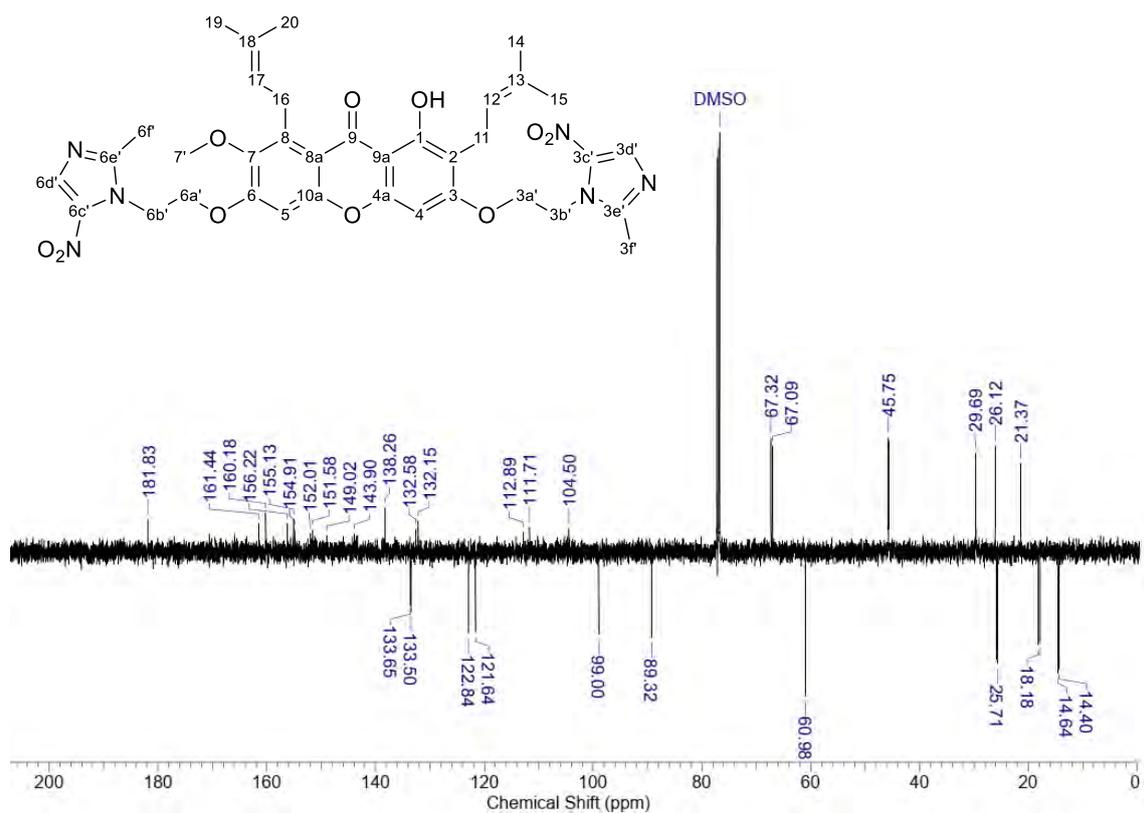
Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, foi adicionada 0,41 g de α -mangostina **2** (1,0 mmol), seguido de 0,620 g do intermediário **14** (2,5 mmol), e 0,276 g de K_2CO_3 (2,0 mmol), em 1,5 mL de DMF anidro. A reação foi mantida sob agitação constante à temperatura de $60^\circ C$. O monitoramento da evolução da reação foi feito por CCDA, utilizando como eluente a mistura DCM/MeOH 0,5%. Após 24h verificou-se a formação do produto desejado, procedendo-se o isolamento que foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com 6×20 mL de solução aquosa de $NaCl_{(aq)}$ 10%. A fase orgânica foi então seca em Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. O produto bruto obtido foi purificado por CCDP, tendo como fase estacionária sílica-gel e como fase móvel a mistura hexano/EtOAc, em gradiente de concentração de 40 a 75%. Após purificação, foi obtido 0,032 g (94%) do híbrido **16**, na forma de um sólido amarelo claro, o qual apresentou PF: $280-281^\circ C$.

Os dados de RMN para o derivado **16** se encontram descritos a seguir (**Espectros 57, 58; Tabela 21**). Os dados de massa observada massa ($C_{36}H_{40}N_6O_{10}$): m/z 717 [H + 1] encontram-se no **Espectro 59**.

Dados espectroscópicos de RMN: híbrido α -mangostina-*bis*-5-nitroimidazol (**16**).

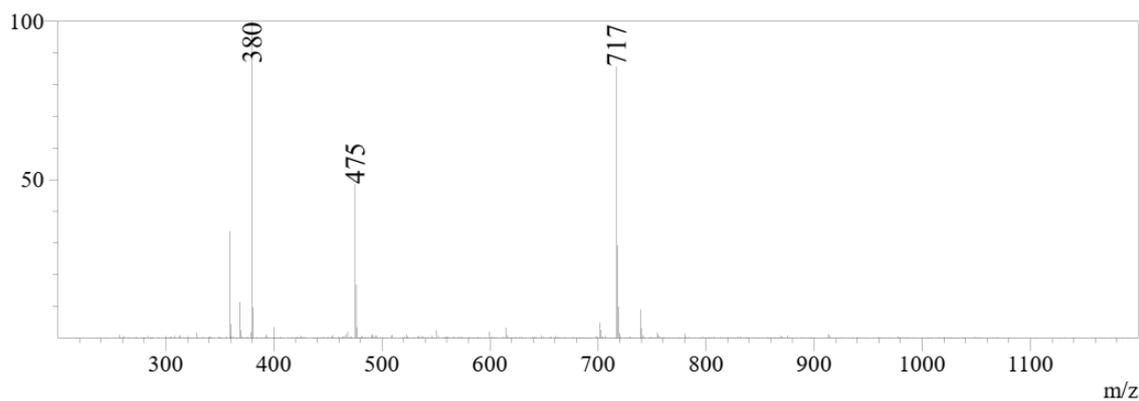


Espectro 57. Espectro RMN ^1H do híbrido **16**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



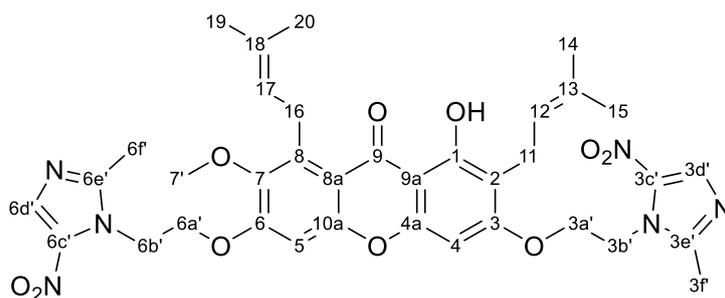
Espectro 58. Espectro de RMN ^{13}C do híbrido **16**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**16**): m/z calculada para ($\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_{10}$): 716, massa observada ($\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_{10} + 1\text{H}$): 717.



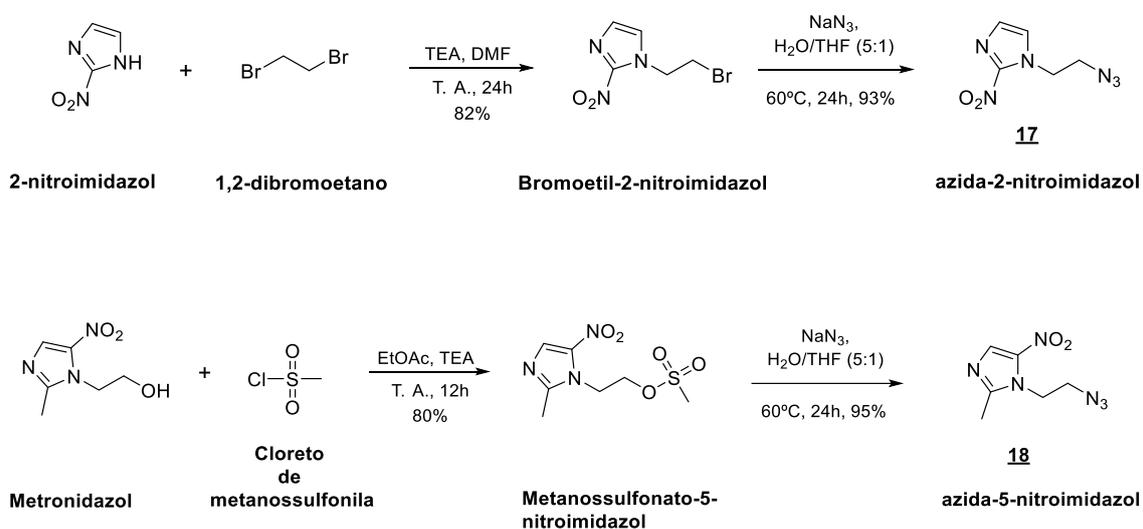
Espectro 59. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **16**.

Tabela 21. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o híbrido **16**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.41 (s, 1H)	160.18 (C)
2	---	111.71 (C)
3	---	161.44 (C)
4	6.28 (s, 1H)	89.32 (CH)
4a	---	149.02 (C)
5	6.70 (s, 1H)	99.00 (CH)
6	---	156.22 (C)
7	---	143.90 (C)
8	---	138.26 (C)
8a	---	112.89 (C)
9	---	181.83 (C)
9a	---	104.50 (C)
10a	---	155.13 (C)
11	3.26 (d, J 6,9 Hz, 2H)	21.37 (CH ₂)
12	5.16 (t, J 6,9 Hz, 1H)	121.64 (CH)
13	---	132.15 (C)
14	1.66 (s, 3H)	25.83 (CH ₃)
15	1.66 (s, 3H)	18.18 (CH ₃)
16	4.08 (d, J 6,2 Hz, 2H)	26.12 (CH ₂)
17	4.94 (t, J 6,2 Hz, 1H)	122.84 (CH)
18	---	132.58 (C)
19	1.76 (s, 3H)	17.89 (CH ₃)
20	1.82 (s, 3H)	25.71 (CH ₃)
7'	3.55 (s, 3H)	60.98 (CH ₃)
3a'	4.45 (t, J 4,0 Hz, 2H)	45.67 (CH ₂)
3b'	4.79 (t, J 4,0 Hz, 2H)	67.09 (CH ₂)
3c'	---	154.83 (C)
3d'	8.00 (s, 1H)	133.50 (CH)
3e'	---	151.58 (C)
3f'	2.59 (s, 3H)	14.40 (CH ₃)
6a'	4.45 (t, J 4,2 Hz, 2H)	45.75 (CH ₂)
6b'	4.84 (t, J 4,2 Hz, 2H)	67.32 (CH ₂)
6c'	---	154.91 (C)
6d'	8.02 (s, 1H)	133.65 (CH)
6e'	---	152.01 (C)
6f'	2.74 (s, 3H)	14.64 (CH ₃)

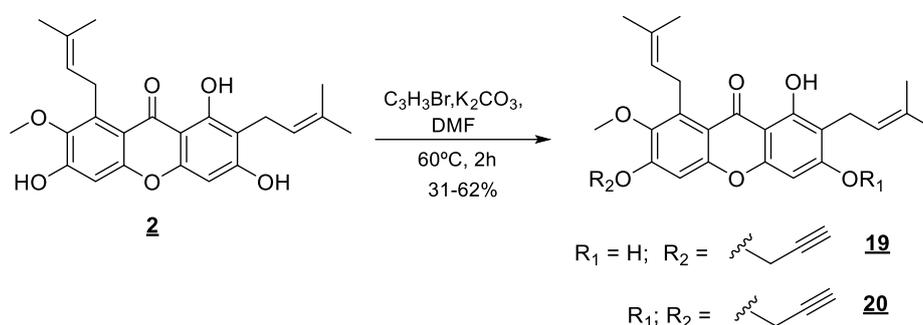
4.13 Preparação dos intermediários nitroimidazol-*N*-etil-azida (**17**) e (**18**)



Esquema 20. Formação dos intermediários *N*-etil-azida-2-nitroimidazol e *N*-etil-azida-azida-5-nitroimidazol.

Em um balão de fundo redondo de 10 mL de capacidade foram solubilizados 1,0 mmol de bromoetil-2-nitroimidazol, ou metanossulfonato-5-nitroimidazol, em 1 mL de tetrahydrofurano (THF). Em paralelo, em um tubo de ensaio (15 mL) foram solubilizados 3,0 mmol de azida de sódio (NaN₃) em 5 mL de água. A solução aquosa da azida foi, em seguida, adicionada gota a gota, sob agitação, à solução contendo os respectivos nitroimidazóis previamente solubilizados. Ao fim da adição, a reação foi submetida a aquecimento a 60°C por 24h, sendo monitorada por CCD. Após o término da reação foi realizada a remoção do solvente em rotaevaporador, e o isolamento do produto formado foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com 3 × 20 mL de NaCl_(aq) 10% m/v. A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. Os respectivos produtos foram obtidos na forma de óleos alaranjados, que foram purificados por cromatografia em coluna aberta (CCA), utilizando como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel uma mistura de hexano/EtOAc, em gradiente de concentração variando de 40 a 90%. Os respectivos produtos finais (**17** e **18**) foram obtidos na forma de sólidos amorfos de cor alaranjada: a azida-2-nitroimidazol **17** (0,069 g, 0,381 mmol, 93% rendimento), com PF: 55-58°C; e a azida-5-nitroimidazol **18** (0,186 g, 0,95 mmol, 95% rendimento), com PF: 122-124°C (AVULA et al., 2021).

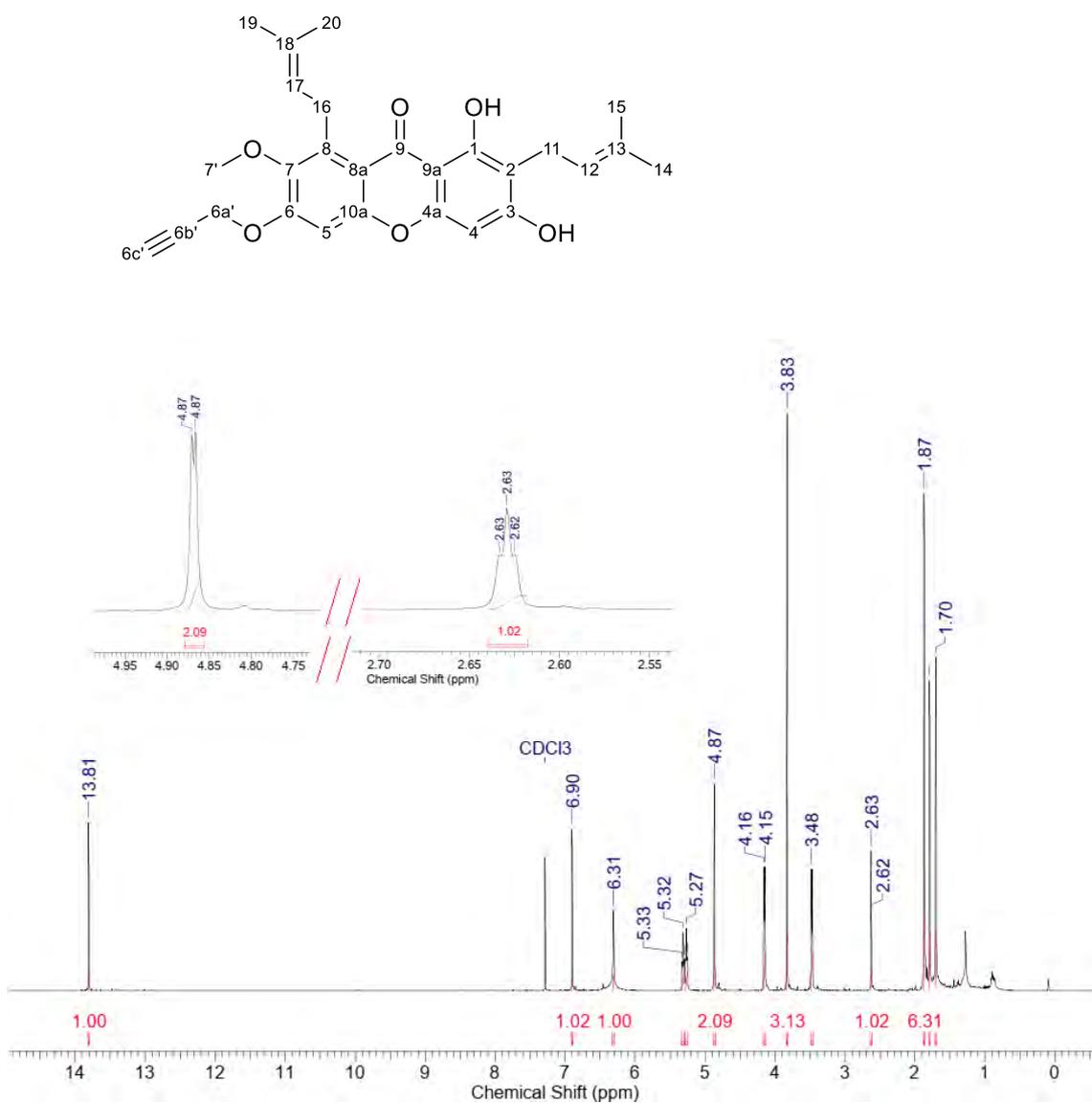
4.13.1 Síntese dos intermediários α -mangostina-*O*-propargílicos (**19**) e (**20**)



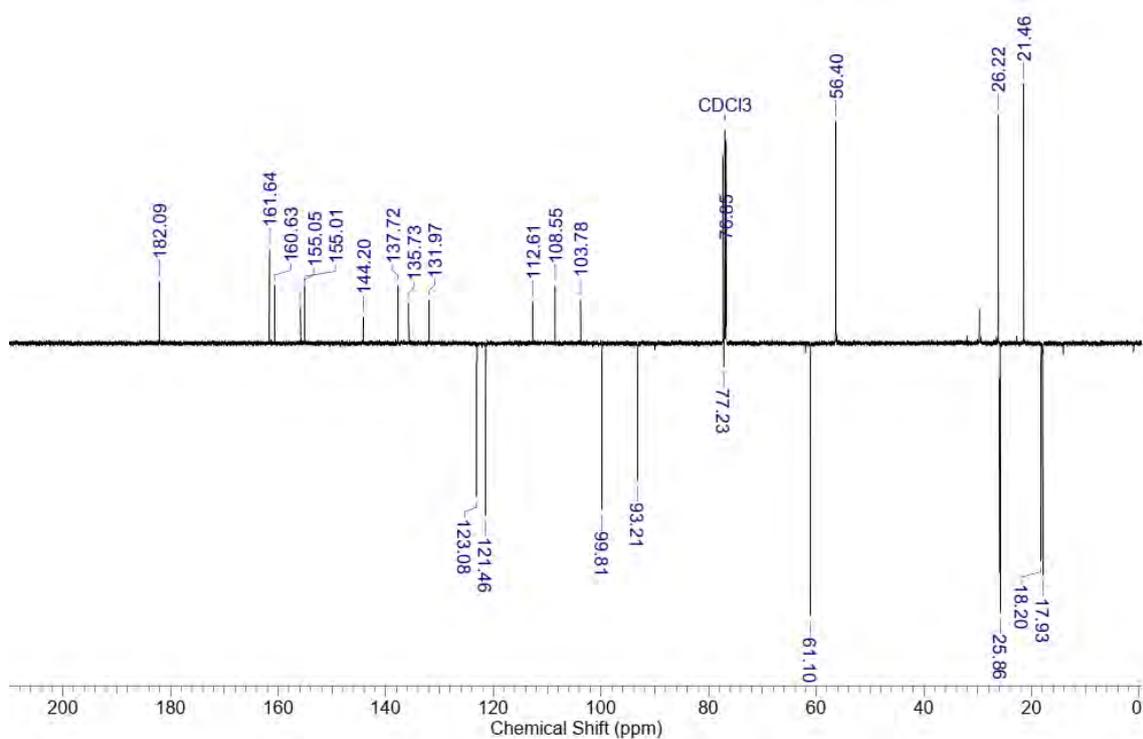
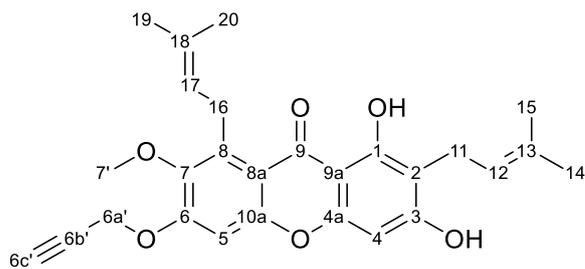
Esquema 21. Reação de formação dos intermediários α -mangostina-*O*-propargílicos **19** e **20**.

O produto natural α -mangostina (0,15 g, 0,365 mmol) foi adicionado a um balão de 10 mL de capacidade, seguido da adição de 4,0 mL de DMF anidro, K₂CO₃ anidro (0,05 g, 0,365 mmol), e brometo de propargila (0,043 g, 0,365 mmol, 39 μ L). A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, a 60°C, sendo acompanhada por CCDA, utilizando como eluente a mistura Hex/EtOAc (70:30). Após 2h, foi observado consumo total do produto de partida, com a formação de dois produtos. Sobre a mistura reacional foram adicionados 40 mL de H₂O, em seguida a fase aquosa foi extraída com 30 mL de EtOAc, sendo a fase orgânica então lavada com (2 x 20 mL) de H₂O. As fases aquosas obtidas foram novamente particionadas com (2 x 30 mL) EtOAc, visando a otimização do rendimento da obtenção dos derivados. As fases orgânicas reunidas foram secas sobre Na₂SO₄ anidro, filtrada, sendo o solvente evaporado sob pressão reduzida. O processo de purificação dos produtos ocorreu por cromatografia em coluna empacotada com sílica-gel, usando como fase móvel a mistura de solventes Hex/EtOAc (95:5; 90:10; 85:15; 80:20). Desse modo, os produtos pretendidos, **19** (0,051 g, 31,6% de rendimento, PF: 155-160°C) e **20** (0,109 g, 62% de rendimento, PF: 135-138°C), foram obtidos na forma de sólidos de coloração amarelo claro. Os produtos **19** e **20** foram devidamente caracterizados através dos métodos convencionais de análise (**Espectros 60, 61; Tabela 22; e Espectros 62, 63; Tabela 23**). Os dados de RMN utilizados na caracterização estrutural dos produtos **19** e **20** estão em total concordância com os já disponíveis na literatura (TAI et al., 2021).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-6-*O*-propargil (**19**)

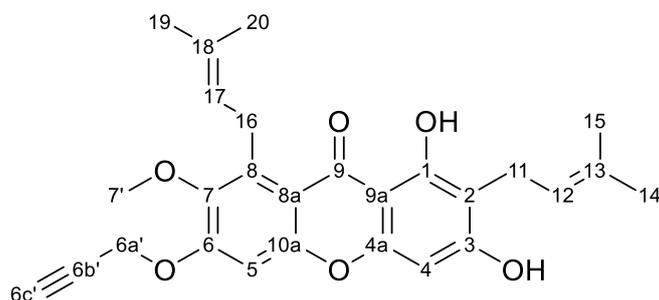


Espectro 60. Espectro RMN ^1H do derivado **19**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



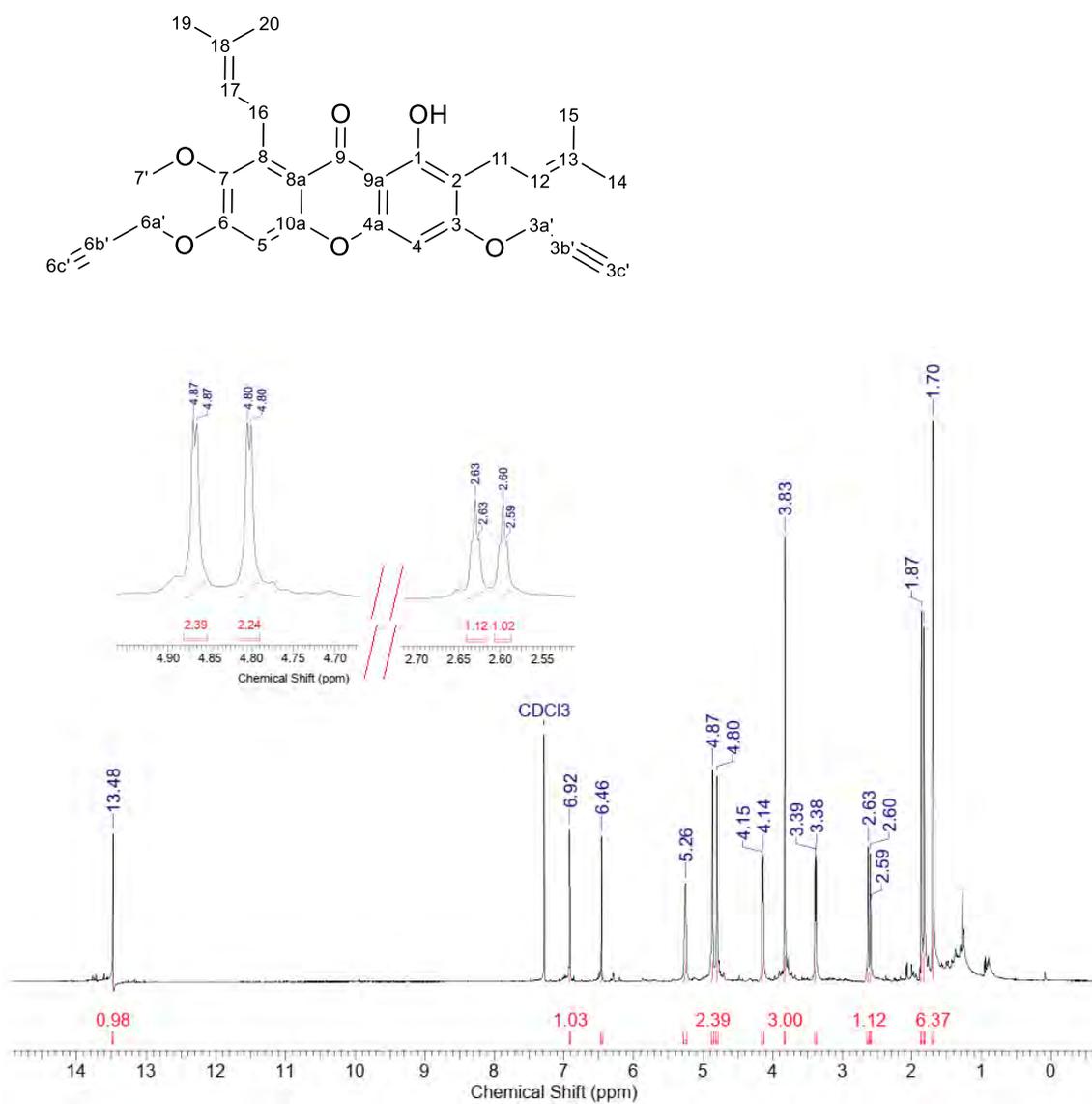
Espectro 61. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **19**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Tabela 22. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-6-*O*-propargil **19**.

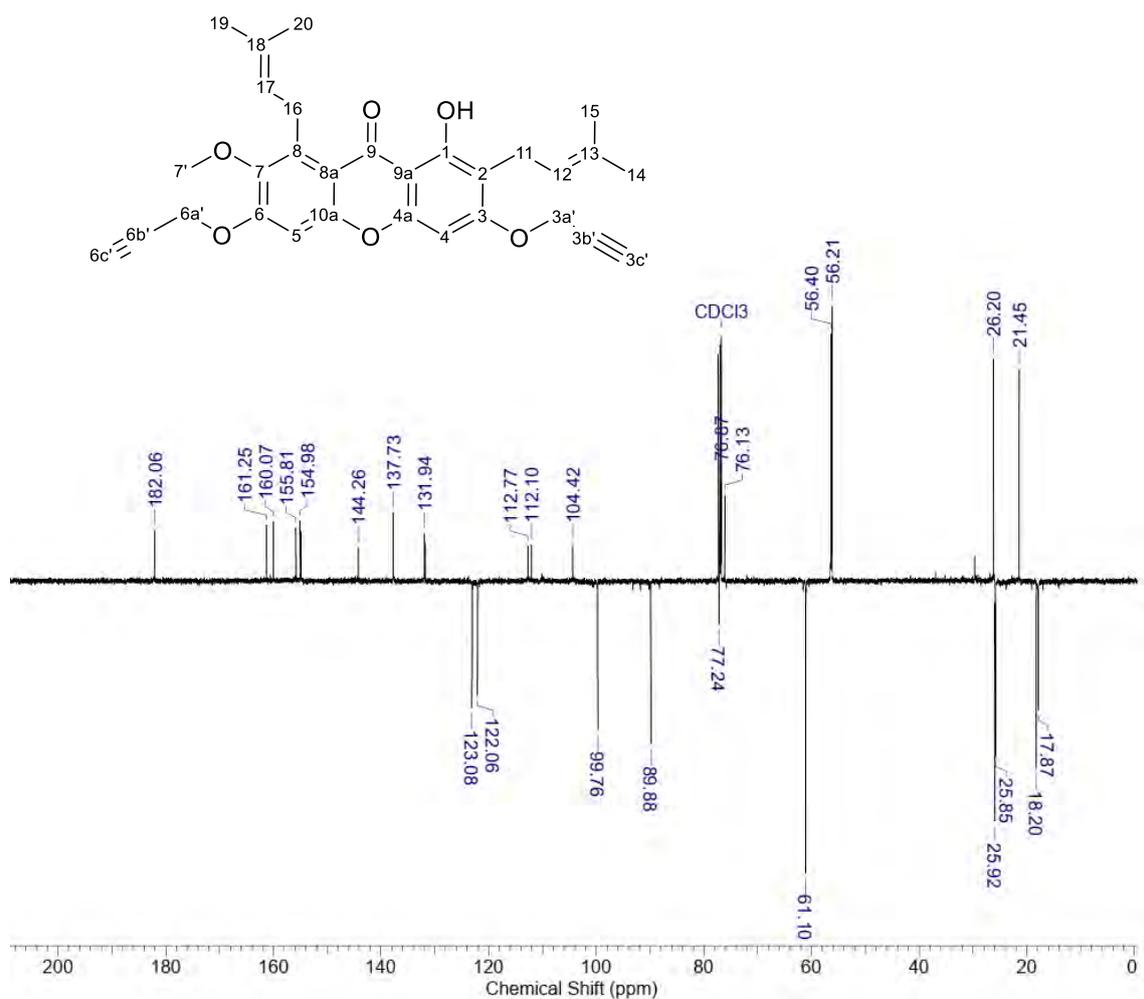


Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.81 (s, 1H)	160.63 (C)
2	---	108.55 (C)
3	---	161.64 (C)
4	6.31 (s, 1H)	93.21 (CH)
4a	---	155.05 (C)
5	6.90 (s, 1H)	99.81 (CH)
6	---	155.82 (C)
7	---	144.20 (C)
8	---	137.72 (C)
8a	---	112.61 (C)
9	---	182.09 (C)
9a	---	103.78 (C)
10a	---	155.01 (C)
11	3.48 (d, J 6,9 Hz, 2H)	21.46 (CH ₂)
12	5.32 (t, J 7,0 Hz, 1H)	121.46 (CH)
13	---	131.97 (C)
14	1.87 (s, 3H)	25.86 (CH ₃)
15	1.70 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
16	4.15 (d, J 6,3 Hz, 2H)	26.22 (CH ₂)
17	5.27 (t, J 6,5 Hz, 1H)	123.08 (CH)
18	---	135.73 (C)
19	1.79 (s, 3H)	17.93 (CH ₃)
20	1.87 (s, 3H)	25.92 (CH ₃)
7'	3.83 (s, 3H)	61.10 (CH ₃)
6a'	4.87 (d, J 1,9 Hz, 2H)	56.40 (CH ₂)
6b'	---	76.85 (C)
6c'	2.63 (t, J 2,0 Hz, 1H)	77.23 (CH)

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-bis-3,6-O-propargil (**20**).

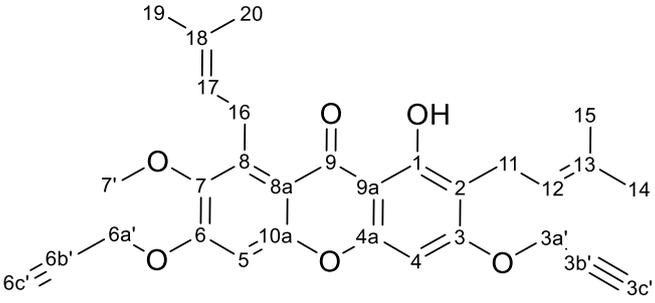


Espectro 62. Espectro RMN ^1H do derivado **20**, em CDCl_3 , a 500 MHz.



Espectro 63. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **20**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Tabela 23. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-*bis*-3,6-*O*-propargil **20**.



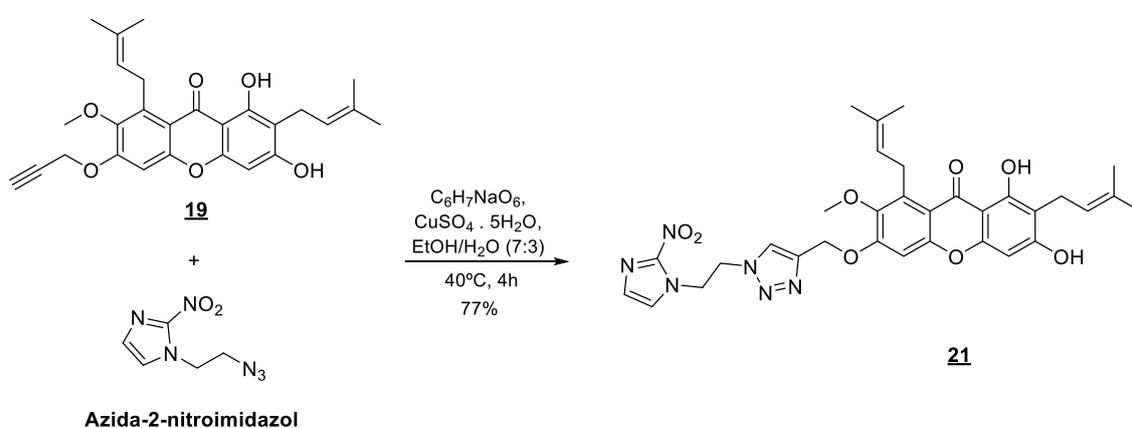
Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.48 (s, 1H)	160.07 (C)
2	---	112.10 (C)
3	---	161.25 (C)
4	6.46 (s, 1H)	89.88 (CH)
4a	---	154.98 (C)

5	6.92 (s, 1H)	99.76 (CH)
6	---	155.81 (C)
7	---	144.26 (C)
8	---	137.73 (C)
8a	---	112.77 (C)
9	---	182.06 (C)
9a	---	104.42 (C)
10a	---	154.88 (C)
11	3.39 (d, <i>J</i> 7,2 Hz, 2H)	21.45 (CH ₂)
12	5.26 (s, 1H)	122.06 (CH)
13	---	131.83 (C)
14	1.87 (s, 3H)	25.85 (CH ₃)
15	1.70 (s, 3H)	18.20 (CH ₃)
16	4.15 (d, <i>J</i> 6,31 Hz, 2H)	26.20 (CH ₂)
17	5.26 (s, 1H)	123.08 (CH)
18	---	131.94 (C)
19	1.70 (s, 3H)	17.87 (CH ₃)
20	1.83 (s, 3H)	25.92 (CH ₃)
7'	3.83 (s, 3H)	61.10 (CH ₃)
3a'	4.80 (d, <i>J</i> 1,89 Hz, 2H)	56.21 (CH ₂)
3b'	---	76.13 (C)
3c'	2.60 (t, <i>J</i> 2,05 Hz, 1H)	77.24 (CH)
6a'	4.87 (d, <i>J</i> 2,21 Hz, 2H)	56.40 (CH ₂)
6b'	---	76.87 (C)
6c'	2.63 (s, 1H)	77.24 (CH)

4.13.2 Síntese dos derivados híbridos: α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (21); e α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (22)

4.13.3 Reações via *Cooper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition* (CuAAC)

4.13.4 Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (21)



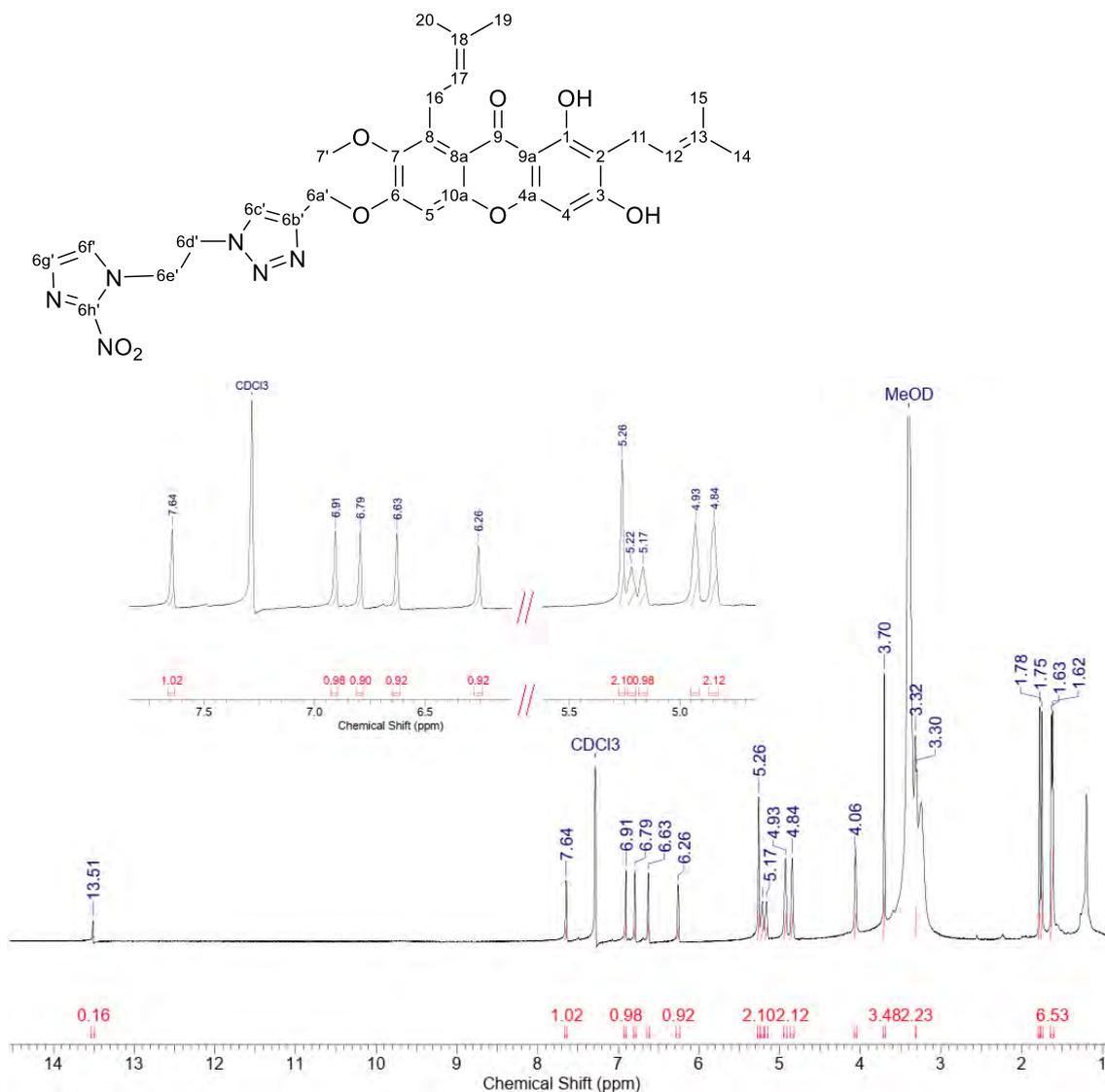
Esquema 22. Reação de formação do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) 21.

Num balão de 10 mL de capacidade foi feita uma solução de 0,025 g (0,056 mmol) do intermediário 19, juntamente com 0,01 g da azida-2-nitroimidazol (0,056 mmol). Num tubo de 5 mL de capacidade foi preparada uma solução de ascorbato de sódio $C_6H_7NaO_6$ (0,003 g, 0,017 mmol) em 250 μ L de mistura EtOH/ H_2O (7:3). Num terceiro frasco de 5 mL foi realizado o preparo da solução de sulfato de cobre $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, (0,0028 g, 0,011 mmol), solubilizado em 250 μ L da mistura EtOH/ H_2O (7:3). Ao balão reacional, contendo o intermediário 19 e a azida-2-nitroimidazol, primeiramente foram transferidos 250 μ L da solução de ascorbato de sódio. Em seguida adicionou-se a solução de sulfato de cobre. Após a adição de todos os reagentes, necessários ao acoplamento, a reação foi avolumada para 2,0 mL com EtOH/ H_2O (7:3), garantindo assim homogeneidade do meio. A reação transcorreu à temperatura ambiente, sob agitação constante, tendo sido monitorada por CCDA, tendo como eluente DCM/MeOH (95:5). Após o período de 24h foi observada a formação do produto. O solvente foi então evaporado e, em seguida, foi feita a adição de

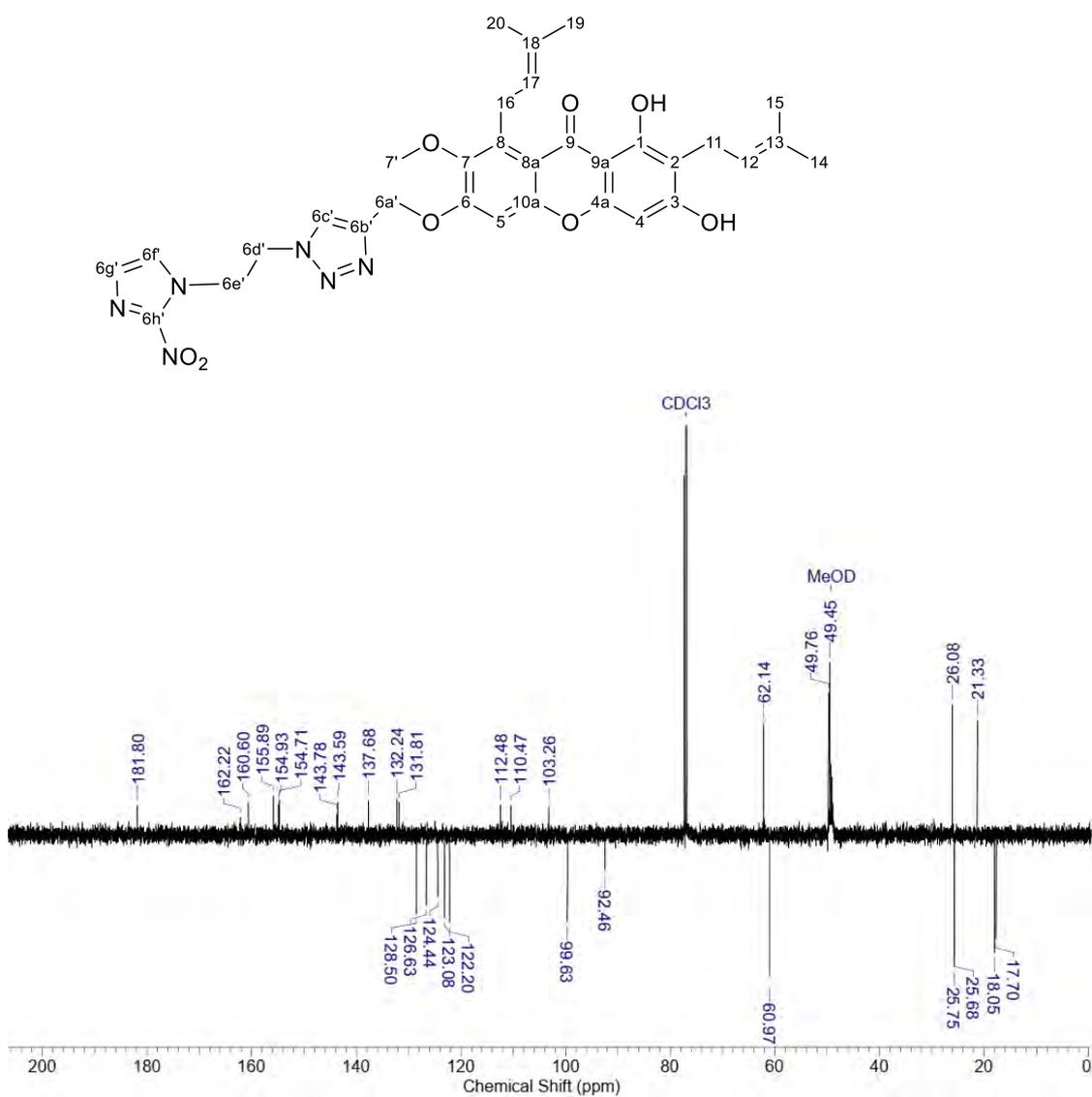
2,0 mL de H₂O, esta mistura contendo a reação e água foi colocada em gelo por 30 minutos. Após esse tempo fez-se a filtração do sólido formado, onde os cristais foram lavados com 3 x 10 mL de H₂O. A purificação do produto foi feita por CCDP, utilizando como eluente DCM/MeOH (95:5), sendo necessário eluir 3 vezes e, assim, foi possível boa separação e obtenção do derivado **21** como um sólido amarelo (0,027 g, 77% de rendimento) e PF: 215-218 °C.

A seguir, encontram-se os dados de RMN utilizados na caracterização do produto **21** (**Espectros 64, 65; Tabela 24**). Os dados para a massa observada (C₃₂H₃₄N₆O₈): m/z 631 [H + 1] são mostradas no **Espectro 66**.

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**21**)

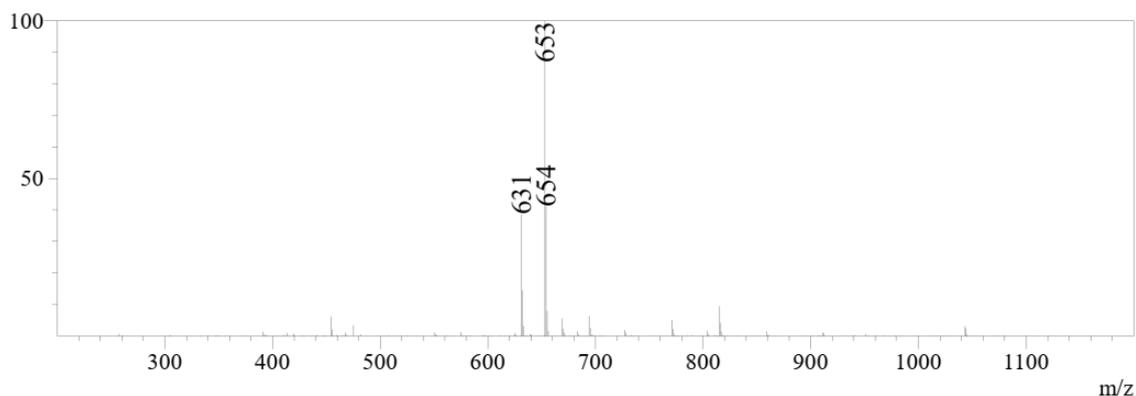


Espectro 64. Espectro RMN ¹H do derivado **21**, em CDCl₃/MeOD, a 500 MHz.



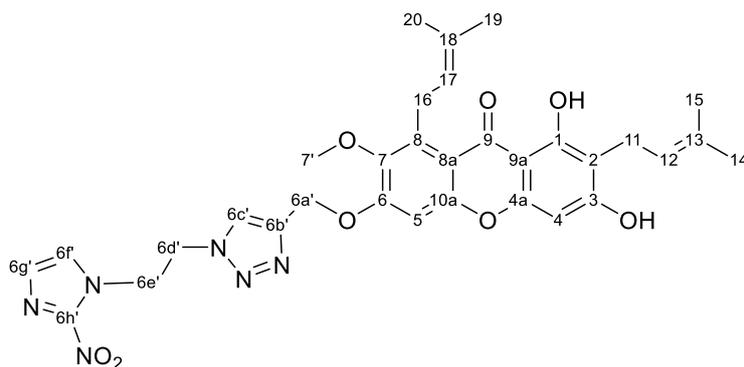
Espectro 65. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **21** em $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$, a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado **(21)**: m/z calculada para (C₃₂H₃₄N₆O₈): 630, massa observada (C₃₂H₃₄N₆O₈ + 1H): 631.



Espectro 66. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **21**.

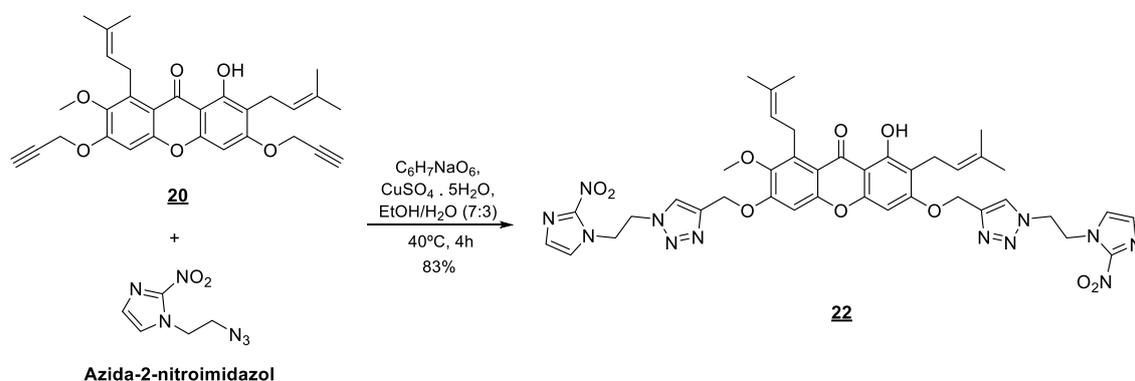
Tabela 24. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e RMN ¹³C para o derivado α-mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **21**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.51 (s, 1H)	160.60 (C)
2	---	110.47 (C)
3	---	162.22 (C)
4	6.26 (s, 1H)	92.46 (CH)
4a	---	154.69 (C)
5	6.63 (s, 1H)	99.63 (CH)
6	---	155.89 (C)
7	---	143.78 (C)
8	---	137.68 (C)
8a	---	112.48 (C)
9	---	181.80 (C)
9a	---	103.26 (C)
10a	---	154.71 (C)
11	4.06 (s, 2H)	21.33 (CH ₂)
12	5.17 (s, 1H)	122.20 (CH)
13	---	131.81 (C)

14	1.62 (s, 3H)	25.68 (CH ₃)
15	1.75 (s, 3H)	18.05 (CH ₃)
16	3.32 (s, 2H)	26.08 (CH ₂)
17	5.22 (s, 1H)	123.08 (CH)
18	---	132.24 (C)
19	1.63 (s, 3H)	17.70 (CH ₃)
20	1.78 (s, 3H)	25.75 (CH ₃)
7'	3.70 (s, 3H)	60.97 (CH ₃)
6a'	5.26 (s, 2H)	62.14 (CH ₂)
6b'	---	154.93 (C)
6c'	7.64 (s, 1H)	124.44 (CH)
6d'	4.84 (s, 2H)	49.45 (CH ₂)
6e'	4.93 (s, 2H)	49.76 (CH ₂)
6f'	6.79 (s, 1H)	128.50 (CH)
6g'	6.91 (s, 1H)	126.63 (CH)
6h'	---	143.59 (C)

4.13.5 Síntese do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**22**)

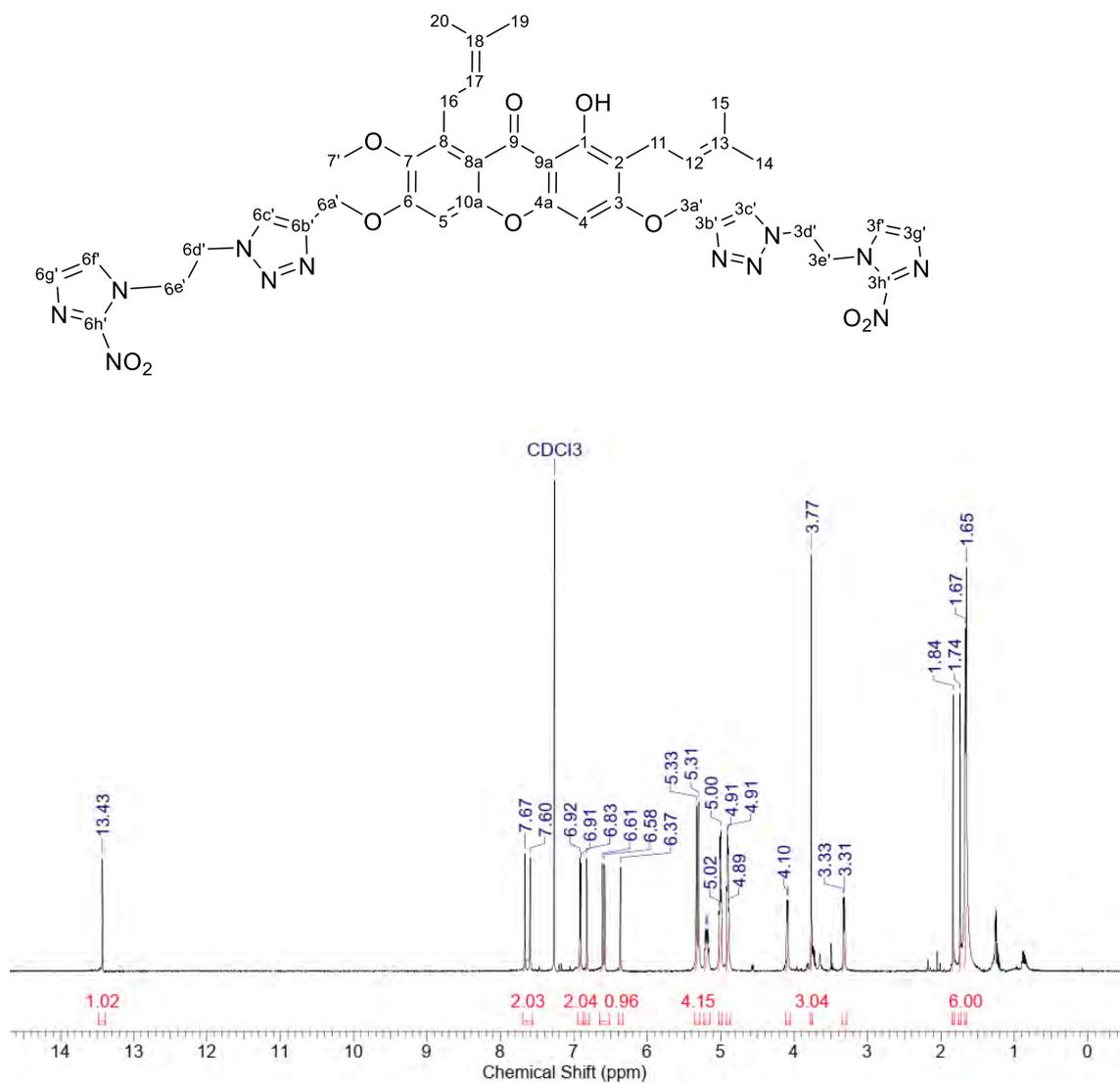


Esquema 23. Reação de formação do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **22**.

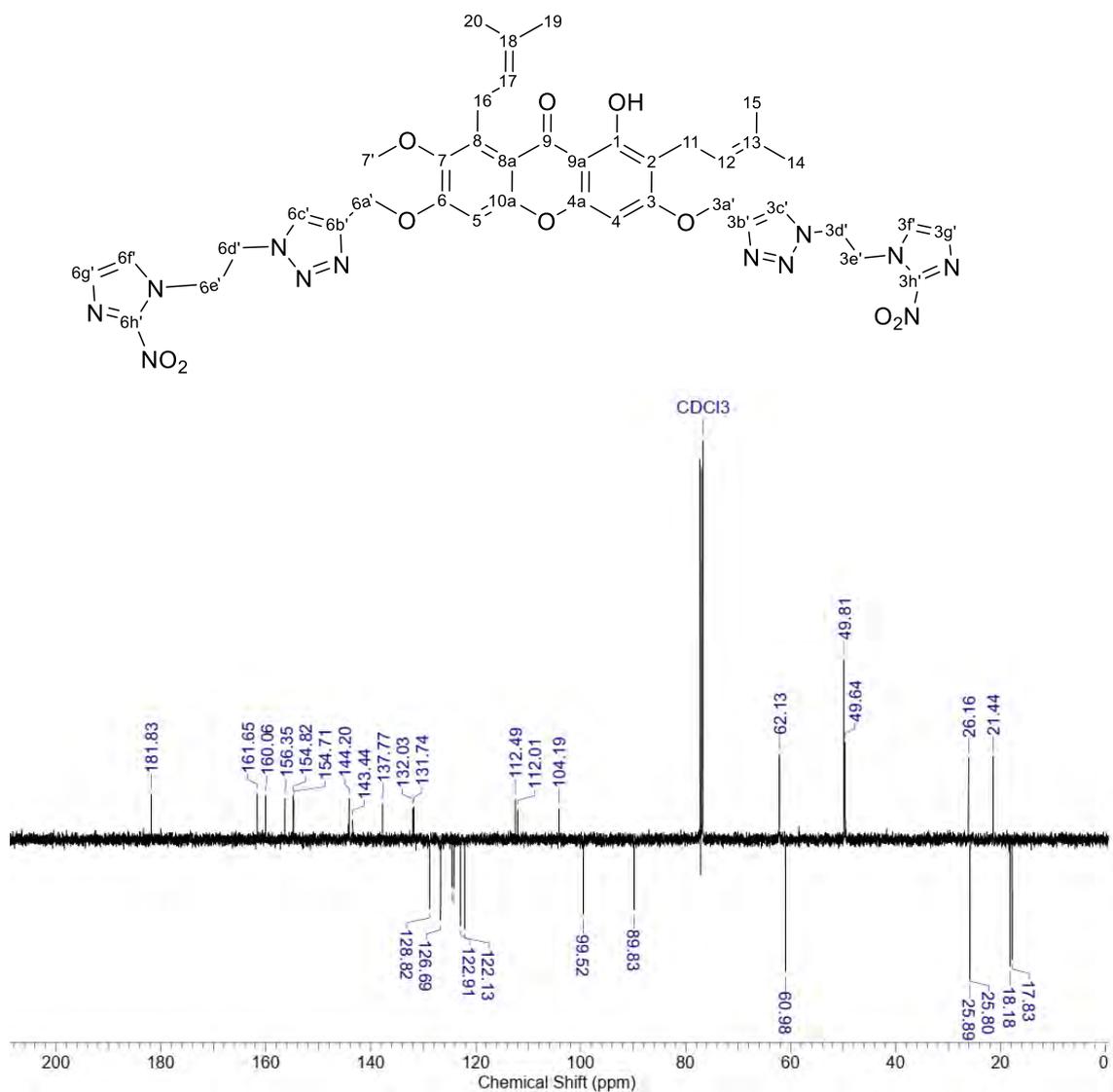
Num balão de 10 mL De capacidade foi feita uma solução de 0,180 g (1,0 mmol) do intermediário **20** e 0,357g (2,0 mmol) da azida-2-nitroimidazol em 5 mL de uma mistura etanol/água, 1:2. Em dois tubos à parte foram feitas, separadamente, soluções de ascorbato de sódio $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$ (0,106 g, 0,6 mmol) e sulfato de cobre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, (0,102 g, 0,4 mmol), em 0,5 mL de mistura etanol/água 2:1. Após a adição de todos os reagentes ao meio reacional, a mistura resultante foi submetida à agitação magnética à

temperatura ambiente por 24h, sendo monitorada por CCDA. Detectado o fim da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador e o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com 3×20 mL de $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ 10%. A fase orgânica foi então seca em Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. O produto foi purificado por CCA, tendo como fase estacionária sílica-gel e fase móvel a mistura de DCM/MeOH, em gradiente de concentração de 0 a 10%. Após purificação, foi obtido 0,296g (94%) do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **22**, na forma de um sólido amarelado, que apresentou PF: 113-114°C. A seguir, se encontram os dados de RMN (**Espectros 67, 68; Tabela 25**), e os dados para a massa observada ($\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{10}$): m/z 851 [H + 1] para o híbrido **22** (**Espectro 69**).

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**22**).

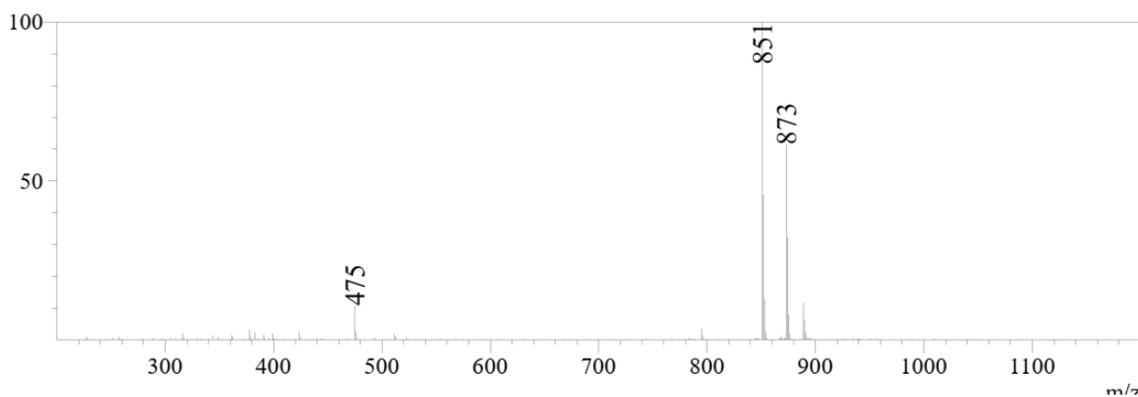


Espectro 67. Espectro RMN ¹H do derivado **22**, em CDCl₃, a 500 MHz.



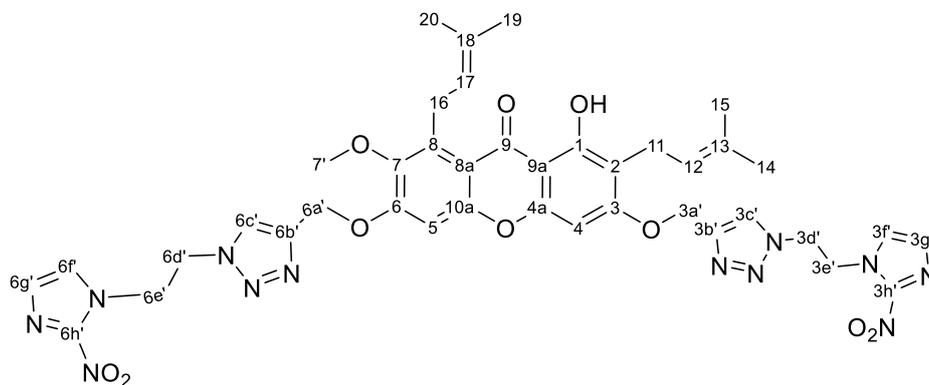
Espectro 68. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **22**, em CDCl_3 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**22**): m/z calculado para ($\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{10}$): 850, massa observada ($\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_{12}\text{O}_{10} + 1\text{H}$): 851.



Espectro 69. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **22**.

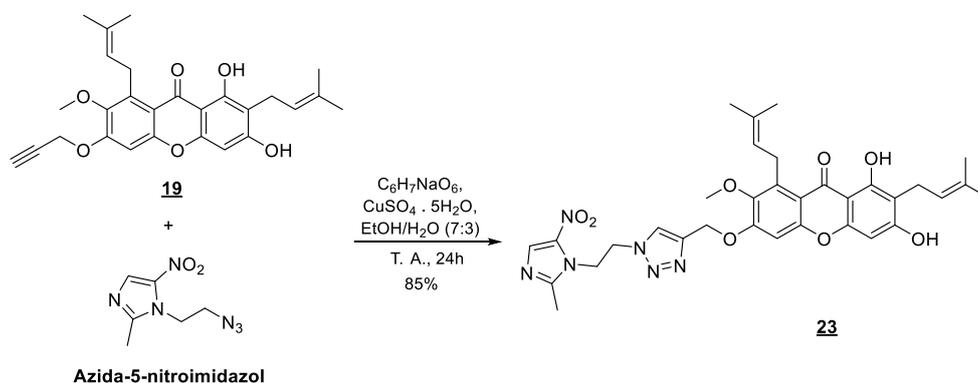
Tabela 25. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-*bis*-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **22**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.43 (s, 1H)	160.06 (C)
2	---	112.01 (C)
3	---	161.65 (C)
4	6.37 (s, 1H)	89.83 (CH)
4a	---	154.71 (C)
5	7.83 (s, 1H)	99.52 (CH)
6	---	156.35 (C)
7	---	144.20 (C)
8	---	137.77 (C)
8a	---	112.49 (C)
9	---	181.83 (C)
9a	---	104.19 (C)
10a	---	154.82 (C)
11	4.10 (s, 2H)	21.44 (CH ₂)
12	5.17 – 5.22 (m, 1H)	122.13 (CH)
13	---	131.74 (C)
14	1.84 (s, 3H)	25.89 (CH ₃)
15	1.74 (s, 3H)	18.18 (CH ₃)
16	3.33 (s, 2H)	26.16 (CH ₂)
17	5.17 – 5.22 (m, 1H)	122.91 (CH)
18	---	132.03 (C)
19	1.65 (s, 3H)	17.83 (CH ₃)
20	1.67 (s, 3H)	25.80 (CH ₃)
7'	3.77 (s, 3H)	60.98 (CH ₃)
3a'	5.33 (s, 2H)	49.60 (CH ₂)
3b'	---	143.44 (C)
3c'	6.58 (s, 1H)	124.18 (CH)
3d'	4.89 – 4.92 (m, 2H)	49.81 (CH ₂)
3e'	4.89 – 4.92 (m, 2H)	62.13 (CH ₂)
3f'	7.60 (s, 1H)	126.69 (CH)
3g'	6.91 (s, 1H)	126.69 (CH)
3h'	---	144.20 (C)
6a'	5.31 (s, 2H)	49.64 (CH ₂)
6b'	---	143.44 (C)
6c'	6.61 (s, 1H)	124.50 (CH)

6d'	4.99 – 5.02 (m, 2H)	49.81 (CH ₂)
6e'	4.99 – 5.02 (m, 2H)	62.23 (CH ₂)
6f'	7.67 (s, 1H)	128.82 (CH)
6g'	6.92 (s, 1H)	128.82 (CH)
6h'	---	144.20 (C)

4.13.6 Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**23**)



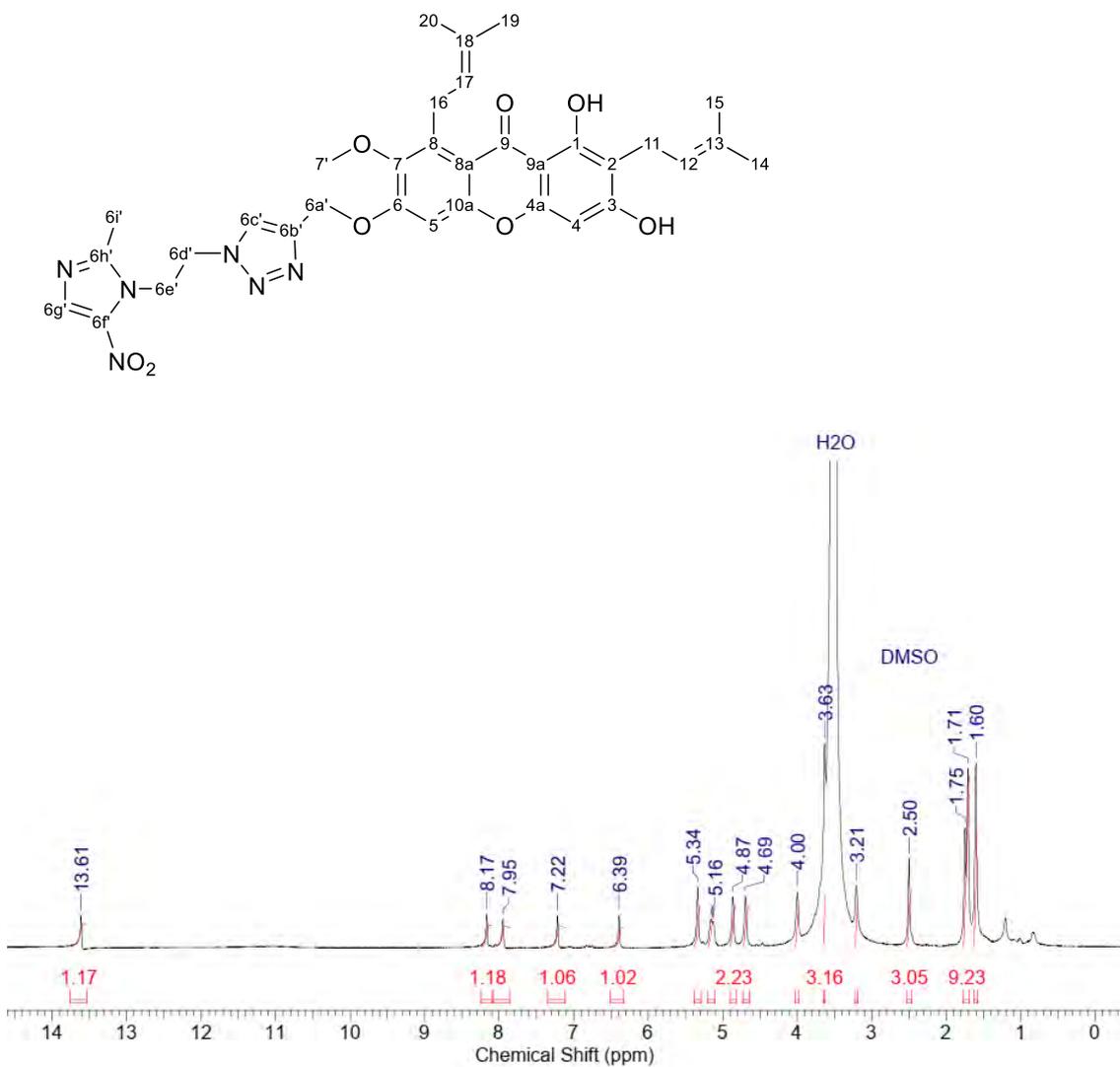
Esquema 24. Formação do derivado α -mangostina-1,2,3-triazol-5-nitroimidazol **23**.

Em um balão de fundo redondo de 10 mL de capacidade foi feita uma solução de 0,448 g (1,0 mmol) do intermediário **19**, e 0,196 g (1 mmol) da azida-5-nitroimidazol, numa mistura de 3,5 mL de etanol e 1,5 mL de água destilada. Em dois tubos de vidro à parte, foram feitas, separadamente, soluções de 0,053 g (0,3 mmol) de ascorbato de sódio (C₆H₇NaO₆), e 0,051 g sulfato de cobre CuSO₄·5H₂O (0,2 mmol), em 250 μ L da mesma mistura de solventes. Após adição de todos os reagentes ao meio reacional, a mistura foi submetida à agitação magnética, mantida sob temperatura ambiente por 24h. A evolução da reação foi monitorada por CCDA. Tendo sido detectado o término da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador e o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc, lavado com 3 \times 20 mL de NaCl_(aq) 10%. A fase orgânica foi então seca sobre Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. Os respectivos produtos foram purificados por CCA, tendo como fase estacionária sílica-gel e como fase móvel uma mistura de DCM/MeOH, em gradiente de concentração de 0 a 10%. O aduto **23** foi obtido na forma de um sólido amorfo de coloração amarelo clara (0,547 g, 85% de rendimento), tendo apresentado PF: 116-118°C. Os dados de RMN (**Espectros 70, 71;**

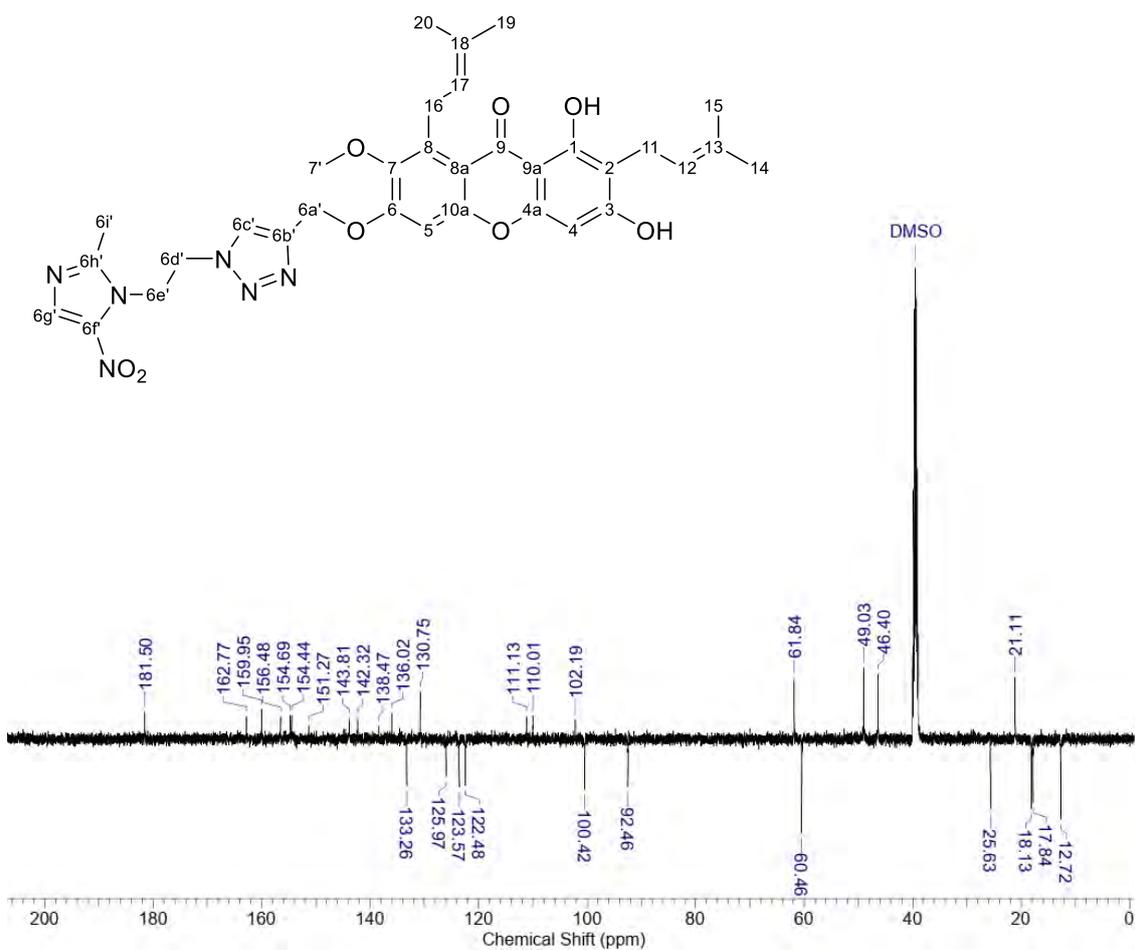
Tabela 26), e o espectro de massas (**Espectro 72**) confirmam a estrutura. verificou-se a massa observada ($C_{33}H_{36}N_6O_8$): m/z 645 $[H + 1]$.

Os dados de caracterização estão mostrados a seguir.

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**23**).

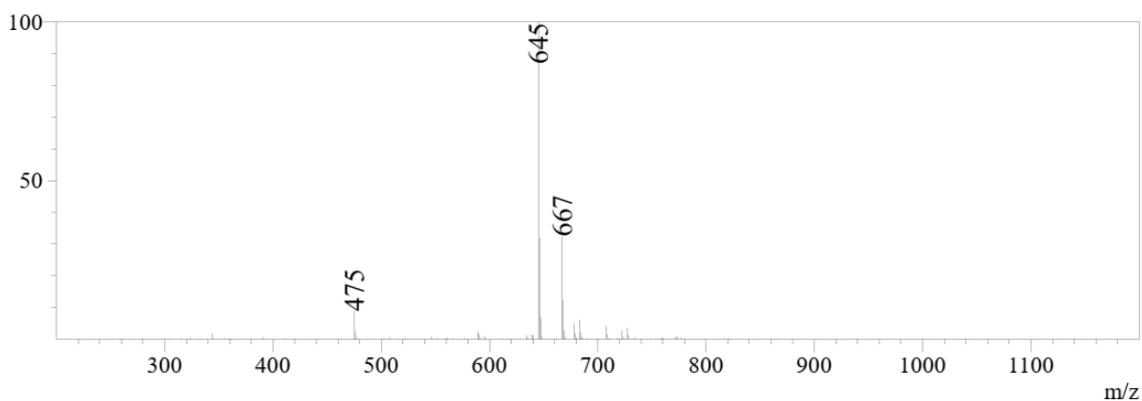


Espectro 70. Espectro RMN 1H do derivado **23**, em DMSO- d_6 , a 500 MHz.



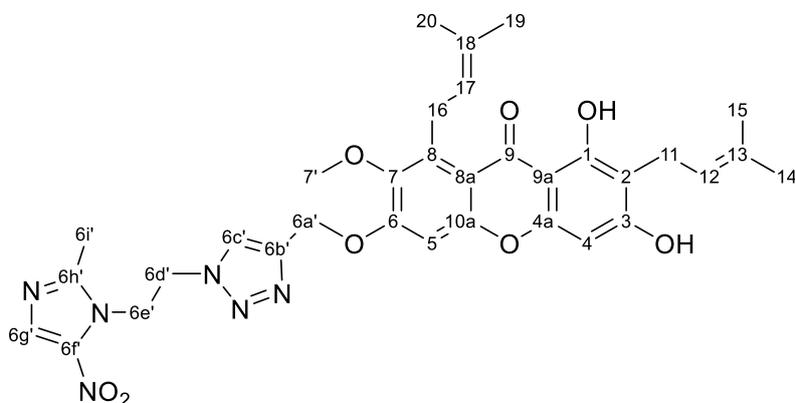
Espectro 71. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **23**, em DMSO-*d*₆, a 125 MHz.

Dados espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**23**): m/z calculado para ($\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_8$): 644, massa observada ($\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_8 + 1\text{H}$): 645.



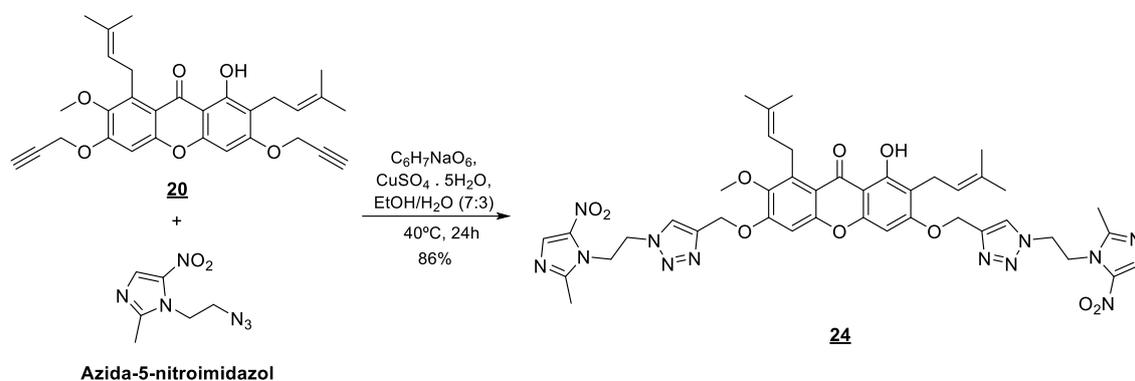
Espectro 72. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **23**.

Tabela 26. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **23**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.61 (s, 1H)	159.95 (C)
2	---	110.01 (C)
3	---	162.77 (C)
4	6.39 (s, 1H)	92.46 (CH)
4a	---	154.44 (C)
5	7.22 (s, 1H)	100.42 (CH)
6	---	156.48 (C)
7	---	143.81 (C)
8	---	136.02 (C)
8a	---	111.13 (C)
9	---	181.50 (C)
9a	---	102.19 (C)
10a	---	154.69 (C)
11	4.00 (s, 2H)	21.11 (CH ₂)
12	5.13 – 5.16 (m, 1H)	122.48 (CH)
13	---	130.75 (C)
14	1.60 (s, 3H)	25.63 (CH ₃)
15	1.60 (s, 3H)	18.13 (CH ₃)
16	3.21 (s, 2H)	21.11 (CH ₂)
17	5.13 – 5.16 (m, 1H)	123.57 (CH)
18	---	130.75 (C)
19	1.71 (s, 3H)	17.84 (CH ₃)
20	1.75 (s, 3H)	25.69 (CH ₃)
7'	3.63 (s, 3H)	60.46 (CH ₃)
6a'	5.34 (s, 2H)	61.84 (CH ₂)
6b'	---	142.32 (C)
6c'	7.95 (s, 1H)	125.97 (CH)
6d'	4.69 (s, 2H)	46.40 (CH ₂)
6e'	4.87 (s, 2H)	49.03 (CH ₂)
6f'	---	156.50 (C)
6g'	8.17 (s, 1H)	133.26 (CH)
6h'	---	151.27 (C)
6i'	2.50 (s, 3H)	12.72 (CH ₃)

4.13.7 Síntese do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**24**)

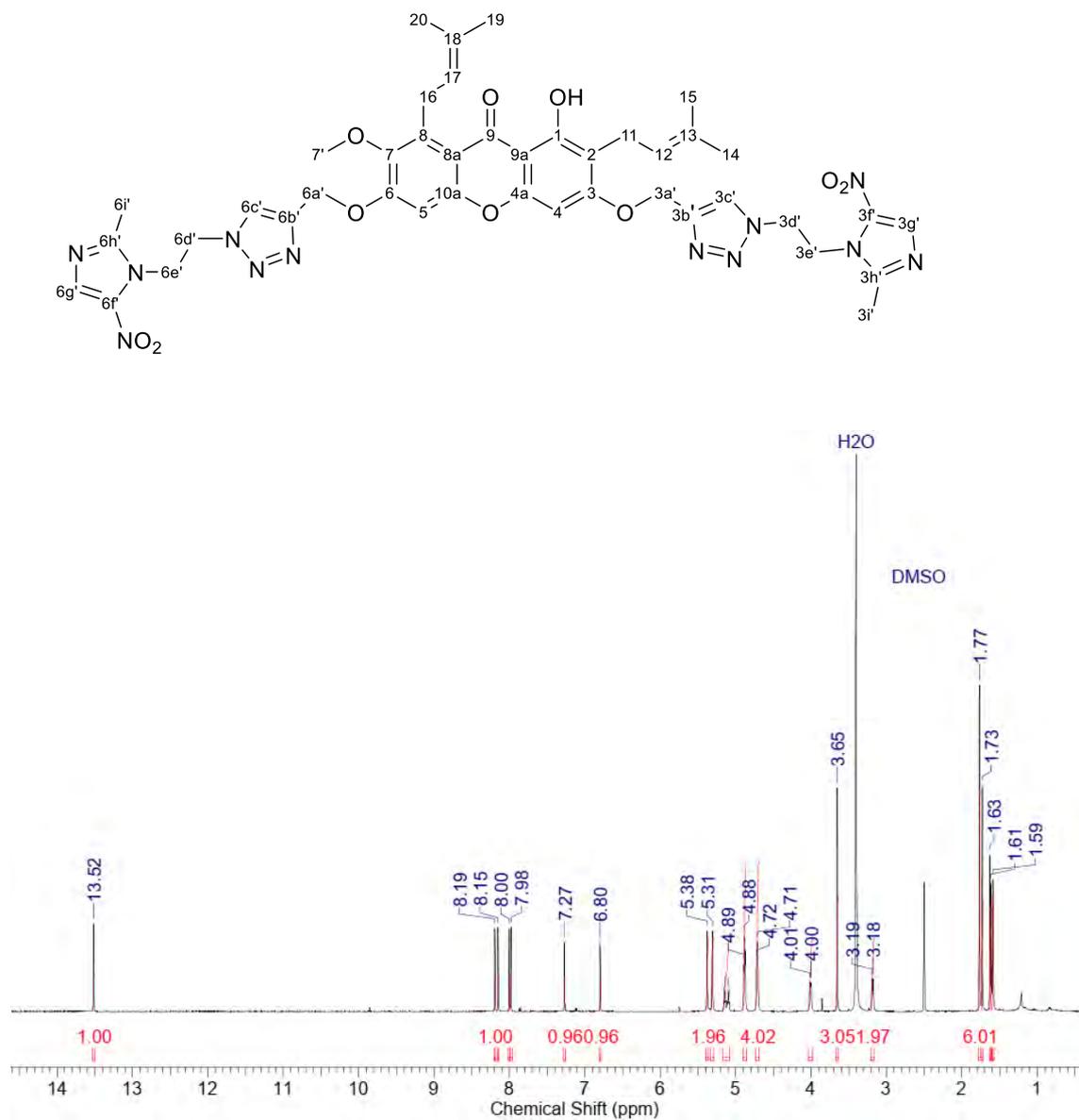


Esquema 25. Reação de formação do derivado α -mangostina-bis-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) **24**.

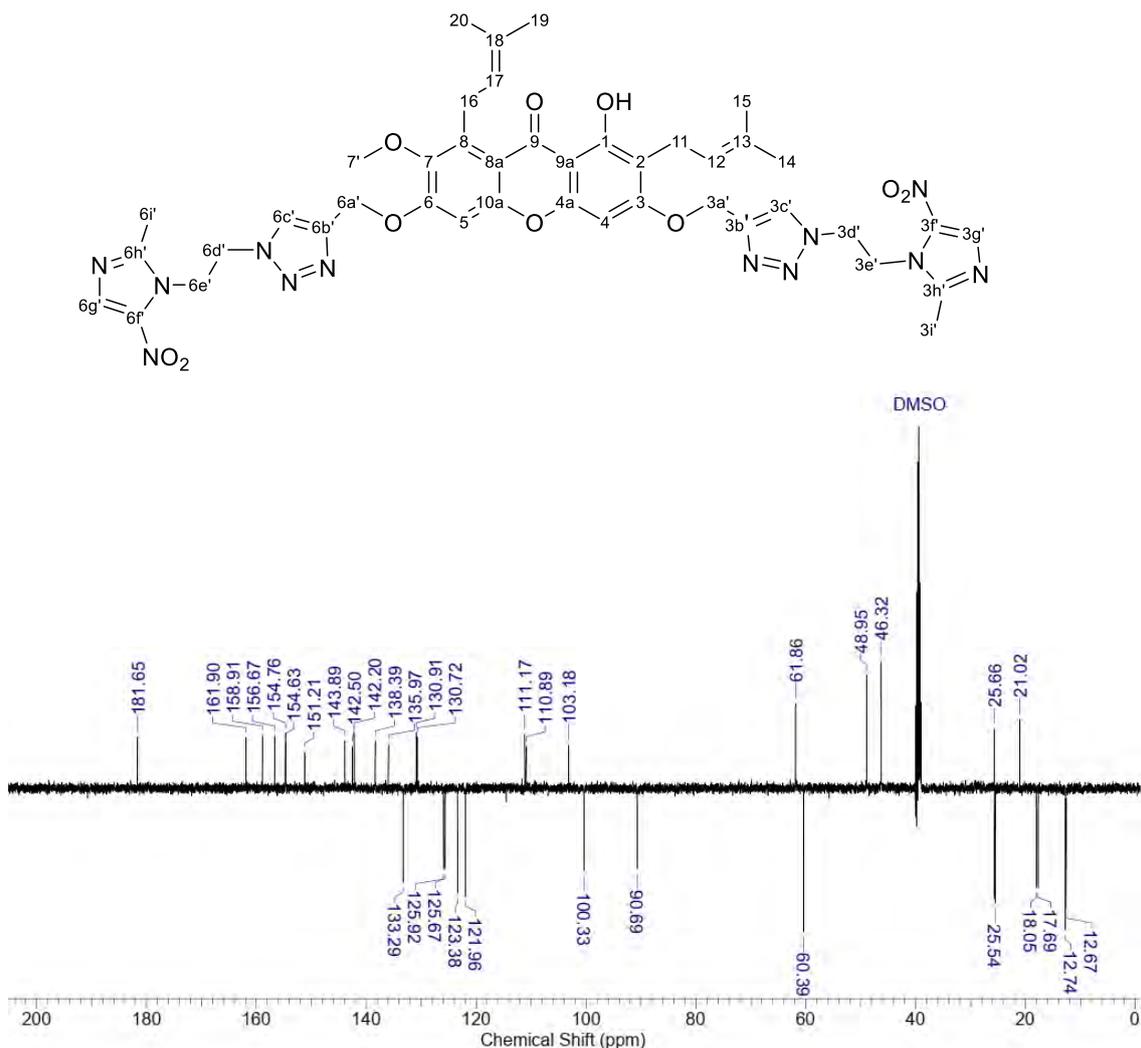
Num balão de 10 mL de capacidade, foi feita uma solução de 0,486 g do intermediário **20** (1,0 mmol) e 0,432 g de azida-5-nitroimidazol (2,0 mmol). Em dois tubos de vidro à parte, foram feitas, separadamente, soluções de 0,118 g (0,6 mmol) de ascorbato de sódio ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$), e 0,090 g de sulfato de cobre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,4 mmol), em 250 μL da mesma mistura de solventes. Após adição de todos os reagentes ao meio reacional, a mistura foi submetida à agitação magnética, mantida sob temperatura ambiente por 24h. A evolução da reação foi monitorada por CCDA. Tendo sido detectado o término da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador e o isolamento foi feito por partição com 30 mL de EtOAc lavado com ($3 \times 20 \text{ mL}$) de $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ 10%). A fase orgânica foi então seca sob Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. O produto foi purificado por CCA tendo como fase estacionária de sílica-gel e como fase móvel a mistura de DCM/MeOH, em gradiente de concentração de 0 a 10%. O produto **24** foi obtido na forma de um sólido amarelo amorfo (0,077 g, 86% de rendimento), tendo apresentado PF: 166-170°C.

A seguir, estão apresentados os dados de RMN utilizados na caracterização do produto **24** (Espectros 73, 74; Tabela 27). No Espectro 75 vemos a massa observada ($\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_{10}$): m/z 879 [H + 1].

Dados espectroscópicos de RMN: derivado α -mangostina-*bis*-3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol (**24**)).

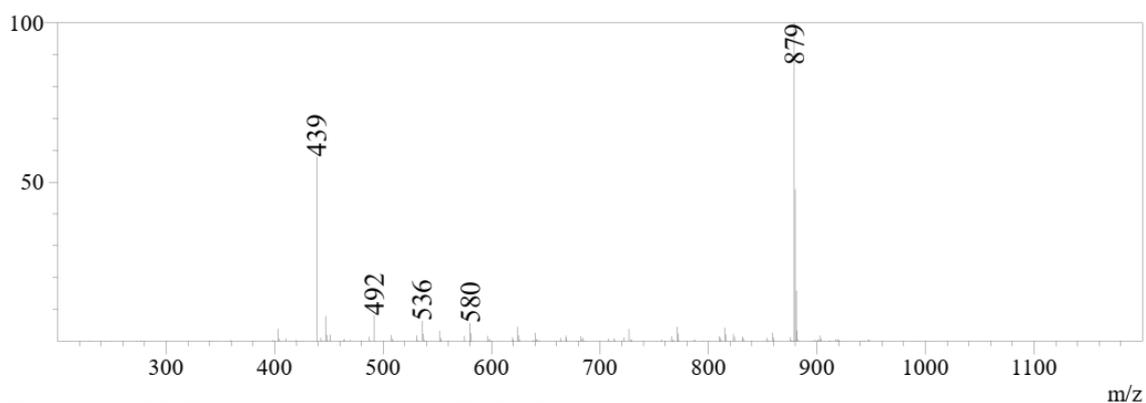


Espectro 73. Espectro RMN ^1H do derivado **24**, em $\text{DMSO-}d_6$, a 500 MHz.



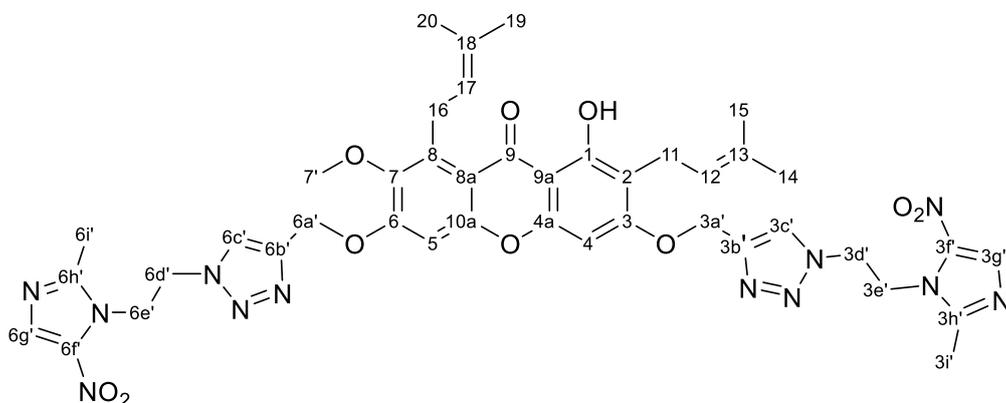
Espectro 74. Espectro de RMN ^{13}C do derivado **24**, em DMSO- d_6 , a 125 MHz.

Dados do espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado (**24**): m/z calculado para ($\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_{10}$): 878; massa observada ($\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_{12}\text{O}_{10} + 1\text{H}$): 879.



Espectro 75. Espectro de massas (EM) (ESI+) para o derivado híbrido **24**.

Tabela 27. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para o derivado α -mangostina-*bis*-3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol **24**.



Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J(\text{Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	13.52 (s, 1H)	158.91 (C)
2	---	111.17 (C)
3	---	161.90 (C)
4	6.80 (s, 1H)	90.69 (CH)
4a	---	151.16 (C)
5	7.27 (s, 1H)	100.33 (CH)
6	---	156.67 (C)
7	---	143.89 (C)
8	---	135.97 (C)
8a	---	110.89 (C)
9	---	181.65 (C)
9a	---	103.18 (C)
10a	---	151.21 (C)
11	4.01 (s, 2H)	21.02 (CH ₂)
12	5.10 (s, 1H)	121.96 (CH)
13	---	130.72 (C)
14	1.63 (s, 3H)	25.62 (CH ₃)
15	1.77 (s, 3H)	18.05 (CH ₃)
16	3.19 (s, 2H)	25.66 (CH ₂)
17	5.14 (s, 1H)	123.38 (CH)
18	---	130.91 (C)
19	1.73 (s, 3H)	17.69 (CH ₃)
20	1.77 (s, 3H)	25.54 (CH ₃)
7'	3.65 (s, 3H)	60.39 (CH ₃)
3a'	5.38 (s, 2H)	61.89 (CH ₂)
3b'	---	142.50 (C)
3c'	8.00 (s, 1H)	125.67 (CH)
3d'	4.71 (s, 2H)	46.32 (CH ₂)
3e'	4.71 (s, 2H)	48.93 (CH ₂)
3f'	---	154.76 (C)
3g'	8.19 (s, 1H)	133.25 (CH)
3h'	---	142.50 (C)

3i'	1.59 (s, 3H)	12.74 (CH ₃)
6a'	5.31 (s, 2H)	61.86 (CH ₂)
6b'	---	142.20 (C)
6c'	7.98 (s, 1H)	125.92 (CH)
6d'	4.88 (s, 2H)	46.34 (CH ₂)
6e'	4.88 (s, 2H)	48.95 (CH ₂)
6f'	---	154.63 (C)
6g'	8.15 (s, 1H)	133.29 (CH)
6h'	---	142.20 (C)
6i'	1.61 (s, 3H)	12.67 (CH ₃)

4.14 Avaliação da atividade biológica

A avaliação da atividade tripanocida das moléculas obtidas neste trabalho foi realizada no Instituto de Veterinária-UFRRJ, Laboratório de Imunologia, em colaboração com a Profa. Débora Decoté-Ricardo de Lima (Protocolo CEUA: **8819010217**).

4.14.1 Parasitos

Tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, cepa Tulahuen C2C4 LacZ, geneticamente modificada, contendo o inserto do gen LacZ de *E. coli* (BUCKNER, et al., 1996), foram mantidas por infecções sucessivas de células LLC-MK2. O parasito foi gentilmente cedido pelo Prof. Adriano Andricopulo (Instituto de Física da USP-São Carlos). Os ensaios foram realizados no IV-UFRRJ, sob a orientação da Profa. Debora Decoté-Ricardo.

4.14.2 Linhagem celular LLC-MK2 (ATCC)

A linhagem celular LLC-MK2 (ATCC), trata-se de uma linhagem celular com morfologia epitelial que foi isolada do rim de macacos rhesus (*Macaca mulatta*). Essa

linhagem foi mantida em frasco de cultivo celular de 150 cm² (50 – 60% de confluência) em meio DMEM suplementado com 5% de SFB, e mantida em estufa a 37°C e 5% de CO₂.

4.14.3 Soluções estoques das amostras

As soluções estoques dos derivados sintetizados, utilizadas nos ensaios biológicos, foram obtidas pela solubilização dos respectivos produtos em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 30mM. Para a realização dos experimentos, as concentrações utilizadas nos ensaios foram obtidas por meio da diluição seriada das soluções estoque preparadas para cada composto. As diluições foram realizadas no próprio meio de cultura do experimento, garantindo-se que a concentração máxima de DMSO presente nas culturas de células não ultrapassasse 0,3% v/v (ISHII *et al.*, 2011).

4.14.4 Citotoxicidade frente células LLC-MK2 (ATCC)

Para este ensaio, foi adicionada uma suspensão de 2×10^4 células de LLC-MK2, em meio de cultura DMEM, enriquecido com 2% de soro fetal bovino (SFB), em uma placa de 96 poços transparente, de fundo chato. As células foram mantidas incubadas por 20h em estufa (37°C, 5% de CO₂). Após o período de incubação a placa foi lavada com PBS para remover as células não aderidas. As células foram tratadas em triplicata com soluções dos compostos, pré-diluídos em DMEM + 2% SFB. Controles não-tratados; veículo (0,3% v/v DMSO); e branco, sem a presença de células. Após o tempo de incubação de 120 h, a 37°C e 5% CO₂, o meio de cultura foi removido e a monocamada de células lavada com PBS, quando então o meio de cultura foi renovado. Em seguida, foi adicionada uma solução de sal de MTT (1,25 mg mL⁻¹, 20 µL/poço) seguindo-se incubação por mais 1,5 h. Posteriormente, o sobrenadante foi removido e os cristais de formazana de MTT dissolvidos pela adição DMSO (120 µL/poço). Após incubação por

1,5 h para dissolução dos cristais de MTT ao abrigo da luz e a 37°C, a absorbância da solução foi medida com auxílio de um leitor de placas a $\lambda = 570$ nm (KUMAR et al., 2018).

4.14.5 Atividade tripanocida frente a amastigotas (Tulahuen C2C4 LacZ)

Neste ensaio, foi adicionada a uma placa de 96 poços transparente a suspensão de 2×10^4 células LLC-MK2 (ATCC) em meio DMEM, suplementado com 2% de SFB. As células foram incubadas (37°C, 5% CO₂) por um período de 3 h, seguida de lavagem com PBS para remoção de células não aderidas. Uma suspensão contendo 5×10^5 tripomastigotas de *T. cruzi* da cepa Tulahuen C2C4 LacZ, foi adicionada às células LLC-MK2, seguindo-se incubação a 37°C (5% de CO₂) por 20 h. Neste processo realizado se estabelece a infecção da célula hospedeira, LLC-MK2 (ATCC), através da invasão dos tripomastigotas. Após o período de infecção, os tripomastigotas que não foram capazes de infectar as células foram removidos do meio através de três lavagens sucessivas com PBS. Em seguida, realizou-se o tratamento da placa com diluições seriadas das soluções dos compostos, diluídas em série, variando de 100-0,41 μ M (7 concentrações), em triplicatas. Controles não tratados, veículo (0,3% v/v DMSO) e branco, sem presença de parasitos. O fármaco de referência, benznidazol, foi utilizado, em diluição seriada, como controle positivo. Após a incubação por 5 dias (120 h), adicionaram-se então 30 μ L de solução 0,5 mM do substrato vermelho de clorofenol β -galactopiranosídeo (CPRG) em PBS, com 0,9% v/v Igepal CA-630. Após incubação por 1,5 h, a absorbância foi medida em leitor de placas a $\lambda = 570$ nm (BUCKNER et al., 1996).

4.14.6 Análise estatística de dados

O percentual da viabilidade das células e parasitos foi obtido através da conversão dos valores de absorbância, verificados em valores de viabilidade relativa à média dos controles, com base na fórmula:

$$V (\%) = \frac{Abs - M_B}{M_V - M_B}$$

$V (\%)$ = Viabilidade em %

Abs = Leitura de absorvância no poço

M_B = Média da absorvância da triplicata (**Controle Branco**)

M_V = Média da absorvância da triplicata (**Controle Veículo**)

Os cálculos estatísticos foram gerados pelo programa (software GraphPad Prism 7.0). A partir dos valores percentuais de absorvância obtidos foi possível gerar os gráficos de análise. Para o cálculo dos valores de CI_{50} foi utilizada a regressão não linear para cada valor de concentração de inibidor contra a resposta normalizada. Através da média de pelo menos três ensaios independentes, os valores de CI_{50} foram obtidos para os compostos avaliados. A avaliação da significância estatística foi realizada por meio do emprego da análise de variância simples *one-way* ANOVA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Isolamento e Purificação de α -mangostina dos frutos de *G. mangostana*

A primeira etapa do desenvolvimento deste trabalho foi a otimização do isolamento dos constituintes majoritários dos frutos secos de *G. mangostana*, o mangostão. O objetivo inicial foi obter o composto de interesse, α -mangostina, em quantidades adequadas para as modificações estruturais pretendidas, visto que este se apresenta como constituinte principal no extrato obtido da matriz vegetal. Segundo a literatura, a metodologia de extração envolve a utilização de solventes de média polaridade, como diclorometano ou acetato de etila, seguida por separação em coluna aberta, empacotada com sílica-gel (OBOLSKIY et al., 2009). Inicialmente, em meio às metodologias testadas para a preparação do extrato bruto, a extração utilizando o extrator Soxhlet mostrou-se um método bastante eficiente, que somada à facilidade de acesso que temos ao equipamento, foi a metodologia escolhida. Por se tratar de um aparato de extração contínua, o extrator Soxhlet permite a extração de produtos naturais, no qual o solvente extrator é constantemente renovado a cada ciclo, isto torna o processo mais eficaz (IKAN, 1991).

Na **(Figura 21)** está representada a análise por HPLC-DAD do extrato bruto, obtido a partir da extração em Soxhlet, tendo como solvente extrator o acetato de etila. Observou-se um pico, com tempo de retenção de $T_R = 10,995$ min., sendo este o pico da xantona gartanina, presente em menor proporção. Já o pico mais proeminente, com $T_R = 14,242$ min., corresponde à substância majoritária no extrato, sendo a de maior interesse para o desenvolvimento deste trabalho, a α -mangostina. Após essa análise, observou-se, em extrações subsequentes, que, de fato, o componente majoritário presente na matriz é a α -mangostina, em percentuais que variam, dependendo do lote do material, de 60 – 70%. Por se tratar de um metabólito especial, biossintetizado de acordo com as demandas do organismo vegetal, impactado, por exemplo, pela idade da planta, pelas condições de solo e sazonalidade, que inclui luminosidade e estresse hídrico aos quais a planta está exposta (FALASCA et al, 2014), esse dado corroborou com as descrições que encontramos na literatura (GUO et al., 2016).

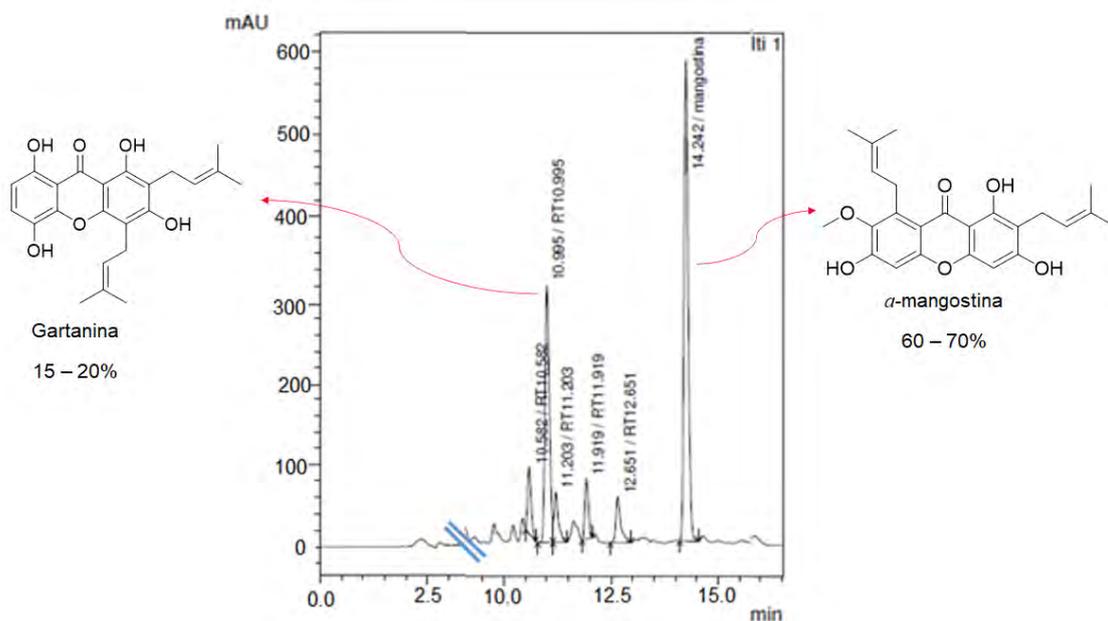


Figura 21. Cromatograma de análise HPLC-DAD para o extrato bruto obtido a partir dos frutos secos de *G. mangostana*.

Para que fosse possível obter o composto de interesse, α -mangostina, em grau de pureza adequado à sua utilização nas etapas subsequentes do trabalho, duas metodologias de purificação foram empregadas, a primeira envolve a metodologia clássica (**Figura 22**). Após a extração do material vegetal com o solvente extrator, acetato de etila, sendo esta primeira etapa do processo de isolamento e purificação, comum para ambas as metodologias de purificação empregadas. Na segunda etapa, já com o extrato bruto seco em rota evaporador, este foi submetido ao processo de purificação em coluna aberta, empacotada com sílica-gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionária, e para fase móvel foi utilizado o eluente Hex-EtOAc no gradiente 90:10; 85:15; 80:20; 70:30; 65:35. Dessa forma, foi isolada primeiramente a gartanina (**Espectro 1, pág. 42; Espectro 2, pág. 43; Tabela 1, pág. 44**), sendo α -mangostina obtida posteriormente, devido à sua maior polaridade. Assim, o composto majoritário foi obtido, em quantidades adequadas para a realização das modificações estruturais planejadas (**Espectro 5, pág. 46; Espectro 6, pág. 47; Tabela 2, pág. 47**).



Figura 22. Método clássico de purificação de α -mangostina.

Em um segundo momento, com o objetivo de otimizar o tempo e uso de solventes, e aumentar as quantidades de α -mangostina purificada, foi realizada uma adaptação no método descrito, chegando a uma nova abordagem no processo de purificação. A segunda metodologia utilizada, consistiu na otimização do método clássico, e para isso foi necessário o emprego do equipamento Isolera, ACI – *Accelerated Chromatographic Isolation* (Biotage AB, Uppsala, Sweden), disponível no PPGQ-UFRRJ. A fase estacionária utilizada foi a coluna Biotage® SNAP 25g, com capacidade de carga na faixa de 25–1.250 mg e fluxo de 20–40 mL/minuto. A fase móvel foi Hex-EtOAc (5:10:15:20:25). Verificou-se que o processo de purificação com o uso desta nova metodologia ofereceu grandes vantagens em relação ao método clássico, uma vez que o tempo de execução desde o preparo da amostra até a obtenção da xantona natural pura foi significativamente menor. Além disso, houve uma redução considerável no uso de solventes, o que torna essa alternativa um processo mais limpo, menos oneroso ao meio ambiente, seguindo os preceitos da química verde (ANASTAS & EGHBALI, 2010), possibilitando um trabalho mais sustentável. O objetivo de conseguir maiores quantidades do componente majoritário, também foi alcançado e em menor tempo, com grau de pureza

elevado, o que torna viável a empregabilidade do novo método de purificação desenvolvido em nosso laboratório (**Figura 23**).



Figura 23. Metodologia otimizada de purificação de α -mangostina em sistema de cromatografia *Flash-Isolera*.

Na **Tabela 28** a seguir, estão destacadas as diferenças comparativas entre os métodos de purificação que foram empregados nesse trabalho.

Tabela 28. Métodos, rendimentos e tempo para cada processo de purificação.

Técnicas Cromatográfica	Massas		Rendimentos	Tempo
	Extrato bruto (mg)	α -mangostina (mg)	(%) (p/p)	(horas)
Coluna (Método clássico)	400	252	63,0	4 - 6
Sistema <i>Flash-Isolera</i> (Método otimizado)	400	290	72,5	0,5

A confirmação da pureza superior a 99% do produto natural, α -mangostina, pode ser verificada através das análises de LCMS-PDA, cromatograma (**Figura 20, pág. 45**) e seu espectro de massas LRMS(ESI+) ($m/z = 411$ u.m.a.) (**Espectro 4, pág. 45**). Para a

completa elucidação estrutural do composto, em seu RMN ^1H (**Espectro 5, pág. 46**), notou-se um simpleto em δ 13,81 ppm, indicando a presença de H da hidroxila adjacente à carbonila, realizando ligação de hidrogênio intramolecular, por isso, apresentando maior valor de deslocamento químico. Os sinais simpletos, em δ 6,32 ppm e 6,85 ppm, são correspondentes aos 2 hidrogênios aromáticos do sistema xantônico, já os sinais dupletos, em 3,49 ppm e 4,11 ppm, compreendem os 4 hidrogênios metilênicos dos grupamentos prenila, assim, como os sinais multipletos, com deslocamento químico entre δ 5,29-5,31 ppm, com integração para 2 hidrogênios, sendo cada um pertencente a um grupo prenila distinto; além das metilas, características desse grupamento, com deslocamento químico variando de δ 1,72 ppm a 1,87 ppm, com integração para 12 hidrogênios, correspondente as 4 metilas. Além disso, foi verificado o sinal simpleto, característico de metoxila, em δ 3,83 ppm (**Espectro 5, pág. 46**). No espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 6, pág. 47**) observou-se um sinal em δ 182,06 ppm, indicando a absorção do carbono da carbonila cetônica, atribuído ao núcleo xantônico; observou-se ainda o sinal do carbono da metoxila (OCH_3), em δ 62,09 ppm; os sinais das 4 metilas do grupo prenila, variando de δ 17,94 ppm – δ 25,84 ppm; os sinais dos 2 carbonos aromáticos (CH), em δ 93,32 ppm e δ 101,57 ppm, que compõem o núcleo central; os 2 carbonos metilênicos CH_2 em δ 21,46 ppm e δ 26,58 ppm; os 2 carbonos (CH), em δ 121,44 ppm e δ 123,15 ppm, do grupo prenila; além dos carbonos que compõem o sistema xantônico, que compreendem tanto os carbonos quaternários quanto os carbonos oxigenados, variando de δ 103,64 ppm a δ 161,64 ppm.

5.2 Planejamento sintético e modificações estruturais sobre a α -mangostina

Após a obtenção do extrato bruto e dos produtos isolados em sua forma pura, antes da realização das modificações, tanto o extrato quanto os produtos foram avaliados frente ao *T. cruzi*. Os resultados encontrados evidenciaram um perfil de atividade tripanocida bastante promissor para essas xantonas naturais gartanina (**1**) e α -mangostina (**2**) (PINTO et al., 2018) (**Figura 24**). Levando em consideração a maior abundância da α -mangostina, que, como visto, se encontra presente no extrato obtido do pericarpo dos frutos de *G. mangostana* em percentuais de até 70% (**Figura 21, pág. 147**), associada à observação

de sua atividade tripanocida proeminente e ao seu índice seletividade frente à célula hospedeira, elegemos essa xantona natural para servir de precursor na preparação de derivados (YAO et al., 2016), bem como para a síntese de novos híbridos moleculares, através da realização de alterações estruturais planejadas à luz das estratégias de modificação molecular da química medicinal (BARREIRO & FRAGA, 2015).

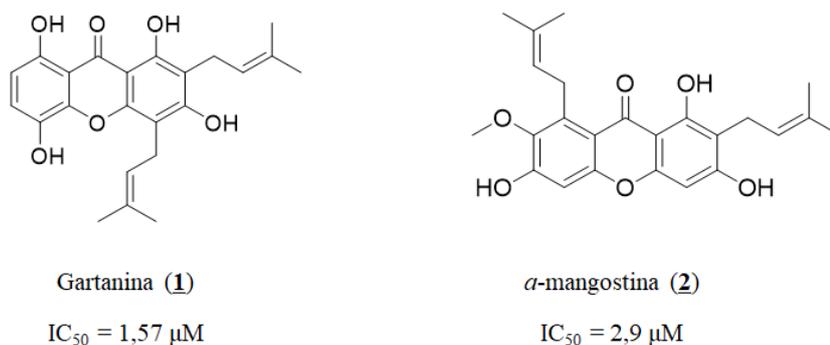
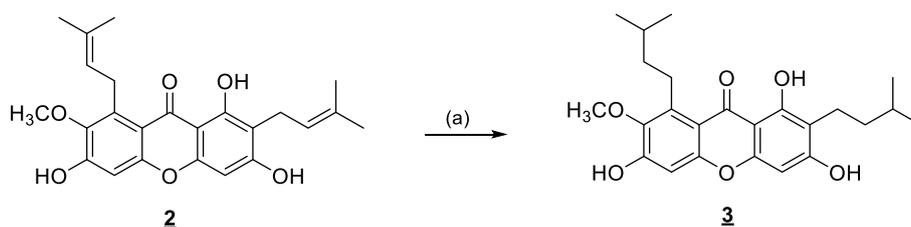


Figura 24. Estruturas das xantonas naturais gartanina (**1**) e α -mangostina (**2**), isoladas de *G. mangostana*, com seus respectivos valores de IC_{50} , frente a amastigotas do *T. cruzi* (cepa Tulauhen-*LacZ*).

A etapa subsequente deste trabalho se concentrou na realização de modificações estruturais quimicamente mais simples, um dos objetivos nesse primeiro momento foi explorar todo o potencial estrutural que a xantona natural, α -mangostina, detém. É notório que as suas características estruturais aliadas à sua versatilidade sintética a torna um precursor bastante interessante em química medicinal de produtos naturais (YAO et al., 2016). A α -mangostina também pode ser usada em associação com outros agentes quimioterápicos e, assim, promover aumentos na eficácia terapêutica ou reduzir efeitos adversos (XIA et al., 2016). Apesar de seus valores terapêuticos serem promissores, não há fármacos clinicamente aprovados à base de α -mangostina devido à sua elevada hidrofobicidade, baixa seletividade e perfil de biodisponibilidade reduzido (ZHAO et al., 2016). Por se tratar de uma substância natural, que possui um amplo espectro de atividades biológicas observadas em diferentes modelos de estudo, nos últimos anos diversos grupos científicos, de diferentes áreas, vem concentrando esforços para superar essas desvantagens. Diante desta perspectiva, a síntese e avaliação de derivados se justifica. Muitos grupos de pesquisa realizaram modificações sobre as hidroxilas

fenólicas nas posições C-1, C-3 e C-6 (ZHANG et al., 2012). Também foram feitas substituições nas posições C-4 e C-5, além de reações de ciclização oxidativa sobre os grupos isoprenila nas posições C-2 e C-8 (CHIN et al., 2008).

5.2.1 Síntese do derivado reduzido de α -mangostina (**3**)



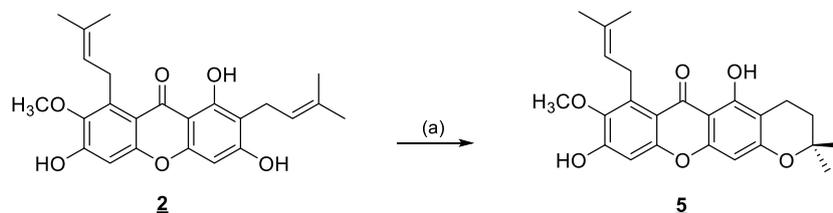
Condições reacionais: (a) H₂, Pd/C, AcOet, t. a., 6 h, 92%.

Esquema 26. Hidrogenação catalítica da α -mangostina, obtenção do derivado (**3**).

O derivado **3**, foi obtido na forma de um óleo de cor castanho através da reação de redução catalítica, onde a porções isopenteno, presente no produto natural, foram reduzidas, com a consequente inserção de átomos de hidrogênios às duplas ligações. Essas modificações foram confirmadas por dados espectroscópicos de RMN, no espectro de RMN de ¹H (**Espectro 7, pág. 49**), observa-se um sinal em δ 2,64 ppm e δ 3,31 ppm ambos com a mesma feição de sinal de que se assemelham a um tripleto, embora, não tenha sido possível a determinação de sua constante de acoplamento. Além disso, a diferença de deslocamento químico, para esses hidrogênios ligados aos anéis aromáticos (Ar-CH₂-), pode ser explicada devido à diferença de ambiente químico. Outro dado relevante é que, os deslocamentos químicos de todas as metilas diminuíram, ou seja, elas se encontram mais blindadas, o que ocorre por não haver mais a presença das duplas ligações. Ainda é possível notar que os sinais multipletos em δ 3,28 – 3,31 ppm, integração para 2H, δ 2,61 – 2,64 ppm, integração para 2H, os sinais δ 1,41 – 1,46 ppm, mutipletos com integração para 4H, e o sinal em δ 1,60 – 1,76 ppm, integração para 2H, em maior deslocamento, uma vez que estes se encontram adjacentes à carbonila e sentem o efeito anisotrópico, confirmam a presença dos hidrogênios que foram inseridos. No RMN de ¹³C (**Espectro 8, pág. 50**), é nítida a ausência dos sinais em δ 121,44 e 123,15 ppm, presentes no

éteres metílicos **4a** e **4b** foram isolados por cromatografia em coluna aberta, e tiveram seus pontos de fusão determinados e comparados com a literatura (NGUYEN et al., 2017; KHAW et al., 2020). Para a caracterização do derivado **4a**, no espectro de RMN de ^1H (**Espectro 10, pág. 53**), percebe-se o sinal simpleto, característico dos hidrogênios de metila em δ 3,93 ppm, sendo este o sinal para a metoxila $-\text{OCH}_3$, após a reação de substituição. Em seu espectro de RMN de ^{13}C (**Espectro 11, pág. 54**), o sinal verificado em δ 55,95 confirma a existência dessa metoxila. Dado de massas (**Espectro 12, pág. 54**) m/z calculado para ($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6$): 424, massa observada ($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6 - 1\text{H}$): 423. No caso de derivado **4b**, nota-se, no RMN de ^1H (**Espectro 13, pág. 56**) os sinais para os prótons de duas metilas, que foram inseridas em δ 3,91 e δ 3,97 ppm. No RMN de ^{13}C (**Espectro 14, pág. 57**), se constata a presença dos sinais das duas metoxilas ($-\text{OCH}_3$) em δ 55,76 e δ 55,96 ppm. Massa confirmada (**Espectro 15, pág. 57**) m/z calculado para ($\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6$): 438, massa observada ($\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6$): 438. Assim, através da análise dos espectros de RMN e espectrometria de massas, foi possível a caracterização dos produtos formados **4a** e **4b**.

5.2.3 Síntese do derivado cíclico 3-isomangostina (**5**)

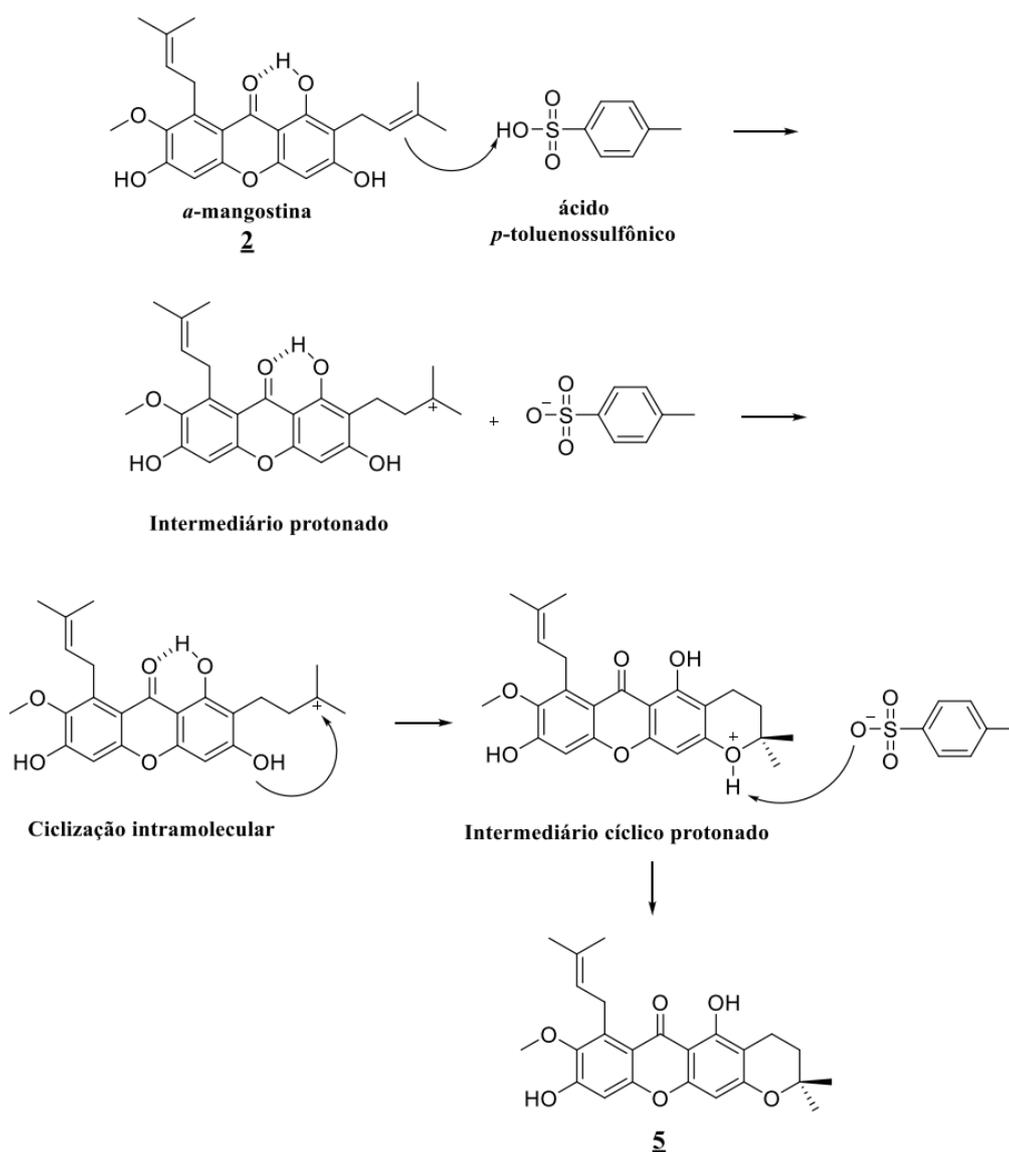


Condições reacionais: (a) TsOH, Tolueno, 60 °C, 3 h, 84%.

Esquema 28. Reação de ciclização ácido catalisada da α -mangostina, síntese do derivado cromona (**5**).

Vemos na literatura estudos sobre atividades biológicas de flavonóides prenilados, principalmente com enfoque em atividades antiproliferativas frente a linhagens tumorais, nos quais as reações de ciclização dos grupos prenila com as hidroxilas fenólicas presentes nas respectivas estruturas geram derivados do tipo cromonas e cromenos os quais apresentam atividades biológicas otimizadas, quando comparados aos seus precursores acíclicos. Como exemplo, podemos citar o trabalho recente de Poplonski e

colaboradores, no qual o flavonóide xantoumol e derivados são avaliados frente a três diferentes linhagens tumorais, apresentado resultados comparáveis ao da cisplatina, fármaco de referência. Desta forma, nosso planejamento envolveu a ciclização da prenila, sustentada pelo C-2 do núcleo xantônico, a qual possui uma hidroxila fenólica em *orto* (C-3). Seguindo o planejamento definido, a síntese do derivado cromona **5**, se deu mediante a formação de um intermediário carbocátion terciário, de maior estabilidade, formado na protonação da ligação dupla carbono-carbono do grupo prenila (MORELLI et al., 2014). Logo, o átomo de oxigênio da hidroxila, em posição *orto* ao grupo prenila, é responsável por realizar o ataque nucleofílico intramolecular, ocorrendo a ciclização nesta porção da molécula, com conseqüente formação de um novo anel de seis membros, acoplado ao núcleo xantônico central, que contém oxigênio como heteroátomo. No **Esquema 29**, a seguir, vemos uma proposta mecanística para a formação da cromona **5**, em catálise ácida.

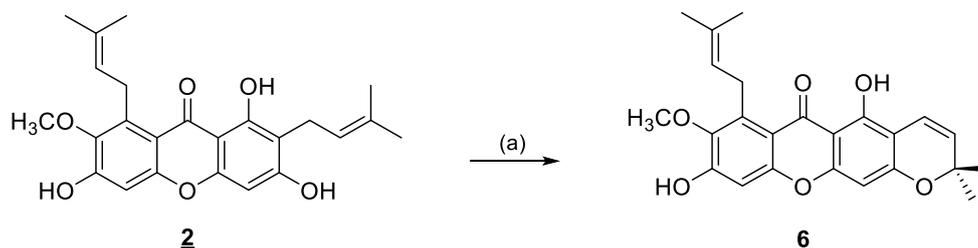


Esquema 29. Proposta mecanística para a formação do derivado tetracíclico cromona (5).

No espectro de RMN de ^1H (**Espectro 16, pág. 60**), nota-se um sinal triplete δ 2,74 ppm, com constante de acoplamento de J 6,8 Hz, referentes aos hidrogênios metilênicos ligados ao sistema aromático. Já o sinal δ 1,89 ppm para o outro $-\text{CH}_2-$ do anel, não foi possível a determinação de sua constante J , uma vez que seu sinal acabou ficando sobreposto ao sinal de uma das metilas do grupo prenila. As metilas presentes nesse novo anel, apresentaram um único simpleto em δ 1,39 ppm, com integração para 6H, em virtude de estarem no mesmo ambiente químico. Já no RMN de ^{13}C (**Espectro 17, pág. 60**), foi verificado a inexistência do sinal em δ 121,44, porém o sinal em δ 123,15 ppm foi mantido, indicando alteração em uma das prenilas, o surgimento do sinal em δ 31,91 ppm

e o aparecimento de um carbono quaternário em δ 76,02 ppm, ligado ao átomo de oxigênio. Além disso, os dados de massas (**Espectro 18, pág. 61**) m/z calculado para ($C_{25}H_{28}O_5$): 408, massa observada ($C_{25}H_{28}O_5 + 1H$): 409, confirmam a formação do produto.

5.2.4 Síntese do derivado cíclico, do tipo cromeno (**6**)



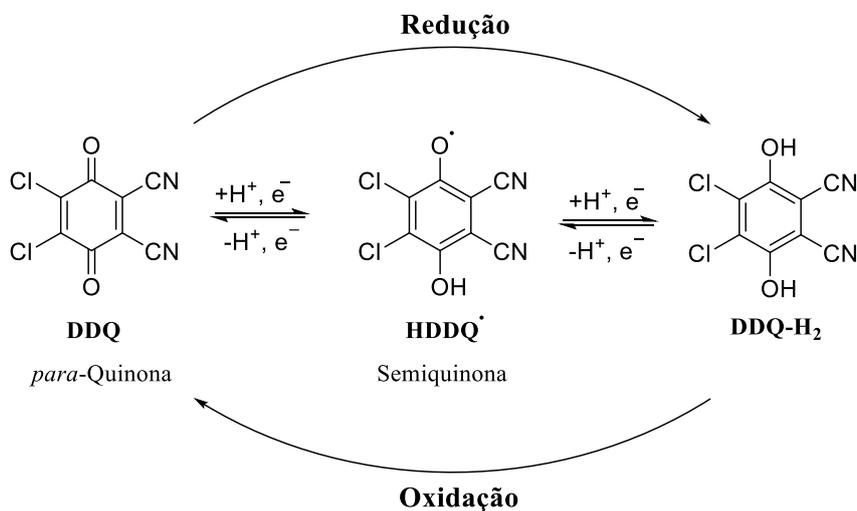
Condições reacionais: (a) DDQ, Tolueno, 60 °C, 2 h, 85%.

Esquema 30. Reação de ciclização da α -mangostina, síntese do derivado (**6**).

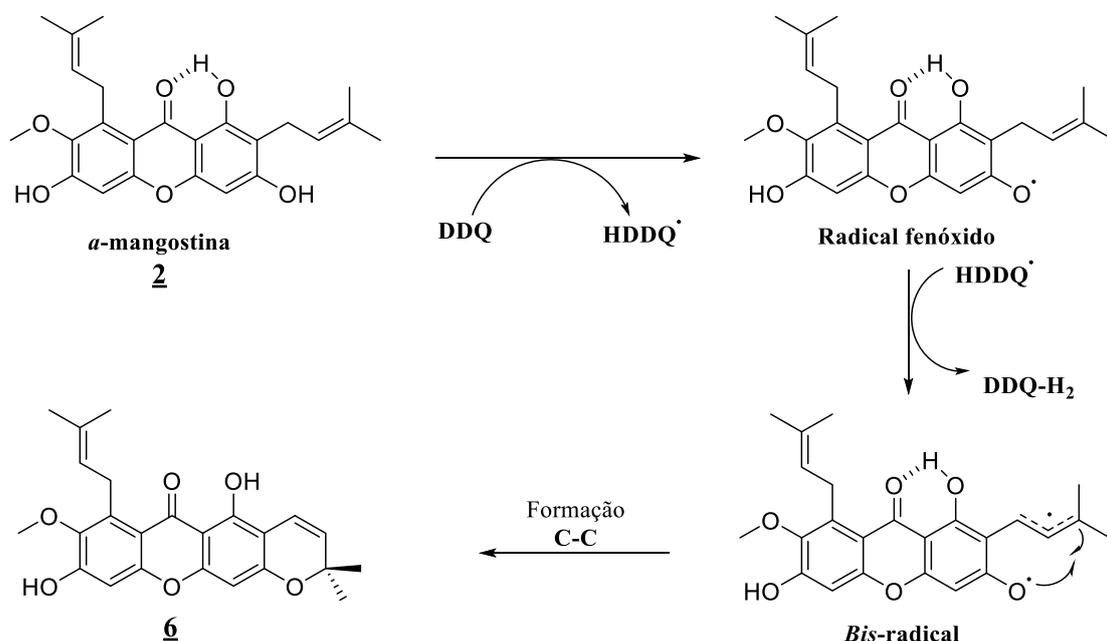
Através da reação de ciclização com o uso de DDQ (2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona), foi possível obter o produto de ciclização oxidativa **6**, com a consequente manutenção da dupla ligação. Na verdade, DDQ é um reagente extremamente versátil em síntese orgânica, pois permite pôr em prática uma grande variedade de transformações sintéticas, em reações como oxidações de álcoois e éteres, ciclizações oxidativas e aromatizações, reações de proteção e de desproteção oxidativas, reações de formação de ligações carbono-carbono, reações de desidrogenação, oxidação de fenóis, aminas, cetonas esteróides entre outras (ALSHARIF et al., 2021). Na formação da cromeno **6** (**Esquema 30**), a hidroxila fenólica, que não se encontra formando ligação de hidrogênio intramolecular com o grupo carbonila, é a responsável por realizar o ataque ao carbono do grupo prenila, e, conseqüentemente, forma-se um quarto anel contendo o átomo de oxigênio e dois carbonos sp^2 , fazendo parte de um sistema benzofurano. No **Esquema 31** a seguir encontra-se uma proposta mecanística para a reação de formação do derivado tetracíclico **6**. Podemos observar que a *para*-quinona (DDQ) age retirando um átomo de hidrogênio da hidroxila fenólica, gerando um radical fenóxido e H-DDQ'. O radical fenóxido é estabilizado por ressonância, sendo que, em seguida, ou concomitantemente,

forma-se um radical alílico/benzílico por abstração de outro átomo de hidrogênio do metileno da prenila posicionada em orto. Na etapa seguinte, o intermediário *bis*-radical cicliza, gerando o cromeno **6**.

Entrada 1:



Entrada 2:

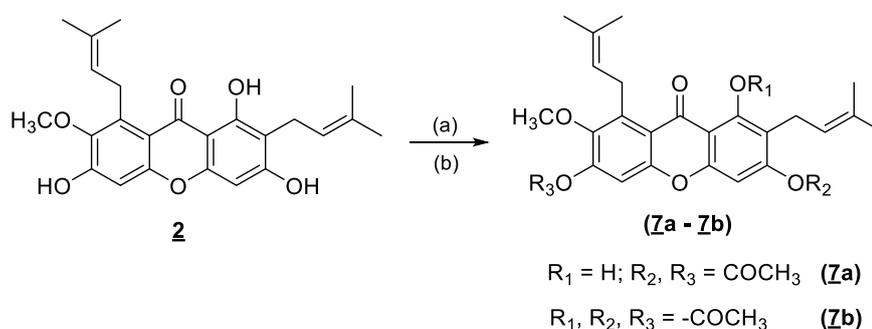


Esquema 31. Proposta mecanística para a formação do cromeno **6** pelo uso de DDQ (HUANG et al., 2013; ALSHARIF et al., 2021).

Para a confirmação da formação do derivado tetracíclico insaturado **6**, em seu espectro de RMN de ¹H (**Espectro 19**, pág. 64), pode-se observar os sinais dos dois hidrogênios do alceno, contido no anel formado após ciclização, os quais acoplam entre si. Há um

sinal duplete δ 5,58 ppm, com constante de J 9,7 Hz, e outro sinal duplete δ 6,74 ppm, com J 10 Hz, referentes aos hidrogênios do alceno que foi mantido, após ciclização. A existência desta diferença de deslocamento químico, pode ser explicado devido a conformação estrutural nessa região, fazendo com que um dos hidrogênios esteja em proximidade com a nuvem eletrônica do anel aromático, isto, tende a provocar um efeito de desblindagem desse hidrogênio. No RMN de ^{13}C (**Espectro 20, pág. 65**), é verificado a ausência do carbono metilênico, após a ciclização intramolecular, e foi observado os sinais δ 115,71 ppm e δ 127,13 ppm, a variação entre esses deslocamentos se deve ao fato de que, a hidroxila fenólica presente no anel aromático do núcleo xantônico acoplado ao novo anel formado, pode causar tal efeito sobre os carbonos deste anel. Também foi identificada a presença de um carbono quaternário em δ 77,93 ppm. A análise de tais deslocamentos, além dos dados de massa (**Espectro 21, pág. 65**) m/z calculado para ($\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_5$): 406, massa observada ($\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_5 + 1\text{H}$): 407, corroboram com formação do produto.

5.2.5 Síntese dos derivados acetilados α -mangostina (**7a**) e (**7b**)



Condições reacionais: (a) Anidrido acético, DMF, 45 °C, 1 h, 98%; (b) Anidrido acético, DMAP, DMF, 45 °C, 1 h, 91%.

Esquema 32. Reação de acetilação da α -mangostina, síntese dos derivados (**7a**) e (**7b**).

Para atingir o seu alvo farmacológico, normalmente os compostos fenólicos necessitam de algum tipo de proteção, capaz tanto de manter sua integridade estrutural quanto de aumentar sua solubilidade e biodisponibilidade no seu trânsito na biofase. Dentre as diversas formas de aumentar a biodisponibilidade dos polifenóis, podemos citar

as intervenções farmacotécnicas, como microencapsulações em diferentes sistemas. Alternativamente, a transformação química nas hidroxilas fenólicas apresenta-se como uma boa solução (MUNIN & EDWARDS-LÉVY, 2011). A introdução de grupos acetila apresenta-se como uma boa alternativa para a preparação de derivados polifenólicos, devido à simplicidade e facilidade das reações de acetilação, que permitem obter derivados que podem fornecer subsídios sobre as relações entre estrutura e atividade biológica dessas substâncias. Outro aspecto importante a ser considerado na preparação de acetatos de polifenóis é a possibilidade desses ésteres, além de aumentarem a estabilidade de seus precursores, após serem absorvidos e já em meio intracelular, serem hidrolisados e liberarem os respectivos polifenóis livres. Assim, os acetatos estariam funcionando como pró-fármacos dos fenóis correspondentes (WU, 2009). Ahmed e colaboradores descreveram a preparação de acetato derivado do polifenol epigalato catequina galato do chá verde, que apresentou alta estabilidade, biodisponibilidade e atividade biológica otimizada em testes *in vivo*, quando comparado ao seu precursor com hidroxilas fenólicas livres (AHMED et al., 2016).

A acetilação química de polifenóis geralmente é realizada na presença de anidrido acético e piridina (MATTAREI et al., 2010). Porém, sabe-se que a piridina é um solvente tóxico (SCHULTZ & ALLISON, 1979) e grande parte dos métodos sintéticos ocorre à altas temperaturas de refluxo, especialmente quando o objetivo é a peracetilação dos derivados polifenólicos (VOGL et al., 2011), o que pode levar à degradação térmica. Dessa forma, a preparação do derivado **7a** foi realizada com o uso de anidrido acético, dimetilformamida (DMF) como solvente e, para o derivado **7b** foi utilizado 4-dimetilamino-piridina (DMAP) como catalisador. O uso de DMF como solvente nestas reações foi planejado considerando seu alto valor de constante dielétrica ($\epsilon = 37,51$ a 25°C), sendo este um importante solvente orgânico, com uma ampla gama de aplicações. Devido à sua alta polaridade, o DMF atua como um meio protofílico aprótico, com grande momento dipolar ($p = 3,86$ D a 25°C) e forte poder solvatante (CORRADINI et al., 1992). Diversos estudos descritos na literatura relatam a capacidade do DMF de interferir em sistemas binários, formados principalmente por interações de ligação de hidrogênio (YANG et al., 2020). Além disso, o DMAP foi escolhido para este protocolo devido à sua conhecida eficácia como catalisador de reações de acilação e sua facilidade de separação de produtos apolares (BERRY et al., 2001). Com a aplicação desse método reacional foram identificadas duas condições de reação interessantes, na qual foram usados 18 equivalentes de anidrido acético, na ausência de DMAP, para formação do derivado **7a**; e

na presença de 0,3 equivalentes de DMAP, para obtenção do produto **7b**. Ambas as reações foram conduzidas na temperatura de 45°C. Após 1 h, para ambos os casos, a conversão máxima foi alcançada (98% e 91% respectivamente), enquanto que após 2 h subprodutos foram observados em quantidades consideráveis. Além disso, maiores quantidades de DMAP (0,5 e 1,0 equivalentes) aumentaram a taxa de formação de subprodutos, após 1 h ou 2 h de reação. Assim, foi possível estabelecer as condições ideais para o protocolo de peracetilação como 6 equivalentes de anidrido acético por grupo OH com 0,3 equivalentes de DMAP, a 45°C. Esta metodologia otimizada de acetilação de compostos fenólicos foi estendida a outros derivados do tipo flavonóides e ácidos fenólicos, tendo se mostrado uma metodologia geral e reprodutível, não só para a acetilação destes compostos, mas também para a introdução de diferentes substituintes acil (DE ALCÂNTARA et al., 2022).

O espectro de RMN de ^1H (**Espectro 22, pág. 68**) para a caracterização do derivado **7a**, percebe-se que a presença da hidroxila é mantida, com deslocamento químico de δ 13,45 ppm, indicando a manutenção de -OH em ligação de hidrogênio intramolecular com a carbonila. Também foram observadas as duas metilas dos grupamentos acetato, com deslocamentos em δ 2,36 ppm e δ 2,41 ppm, na forma de sinais singletos, com integração de três hidrogênios para cada sinal. Já no RMN de ^{13}C (**Espectro 23, pág. 69**), além dos sinais para as duas metilas, em δ 20,91 ppm e δ 20,99 ppm, foram identificados ainda os sinais característicos para carbonilas de ésteres, em δ 168,02 ppm e δ 168,47 ppm, dados de massas (**Espectro 24, pág. 69**) m/z calculado para ($\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_8$): 494, massa observada ($\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_8 + 1\text{H}$): 495. Para o derivado **7b** (**Espectro 25, pág. 71**), no espectro de RMN de ^1H não se observa a presença da hidroxila em ligação de hidrogênio, sendo, conseqüentemente, verificada a presença de três metilas com sinais singletos, e deslocamentos de δ 2,35 ppm, δ 2,39 ppm e δ 2,47 ppm, com integração de três hidrogênios para cada um dos sinais. No RMN de ^{13}C (**Espectro 26, pág. 72**), foram identificados os carbonos metílicos com deslocamentos em δ 20,92 ppm, δ 20,99 ppm e δ 21,21 ppm, assim como os três carbonos carbonílicos, em δ 168,09 ppm, δ 168,15 ppm e δ 169,27 ppm, além da confirmação de seus dados de massas (**Espectro 27, pág. 72**) m/z calculado para ($\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9$): 536, massa observada ($\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_9 + 1\text{H}$): 537. Por meio desses dados, de RMN e espectrometria de massas, os derivados **7a** e **7b** tiveram as suas estruturas confirmadas.

5.3 Síntese dos derivados aminometilados da α -mangostina, via reação multicomponente de Mannich

Em 2018, Buravlev e colaboradores exploraram a reação do tipo Mannich na preparação de derivados da xantona natural, α -mangostina. O grupo observou a regioseletividade para a preparação de derivados substituídos na posição 4 do anel xantônico (**Figura 25**). O caráter seletivo pode ser compreendido, como será visto, através do somatório de efeitos eletrônicos e estéricos que tornam esta posição mais reativa, quando comparada ao carbono C-5 frente ao eletrófilo de Mannich. A reação de Mannich é considerada uma reação multicomponente, em que, classicamente, 3 reagentes: um aldeído não enolizável, uma cetona enolizável e uma amina reagem, gerando uma α -aminocetona (PAPROCKI et al., 2018). No nosso caso, trata-se de uma reação do tipo Mannich onde o formaldeído reage com uma amina secundária, formando um íon imínio, altamente eletrofílico, que reage com um núcleo aromático rico em elétrons, que age como nucleófilo. A combinação destes três componentes leva à formação de um aduto, com total economia de átomos, e tendo como único subproduto uma molécula de água. É uma reação que atende perfeitamente aos preceitos da química verde (ANASTAS et al., 2010)

Em virtude dos resultados descritos por Buravlev, decidiu-se investigar, no presente trabalho, se a posição 4, carbono C-4 do núcleo xantônico, de fato detinha maior densidade eletrônica naquela região e que seria responsável, por maior seletividade, as substituições ocorrerem principalmente sobre este carbono C-4 (BURAVLEV et al., 2018). Para realização de tal investigação foi necessário fazer uso de um modelo computacional. Através do uso da modelagem molecular foi possível avaliar o caráter seletivo em cada região do núcleo xantônico. Nos últimos anos a aplicação de estudos computacionais tem sido uma alternativa aos métodos experimentais em determinação de estruturas, oferecendo a vantagem de serem menos custosos, mais rápidos e de elevada precisão, sendo de grande valia em química medicinal. Os programas de modelagem molecular têm por princípio o estabelecimento de uma proposta inicial para a estrutura molecular de uma substância e, para isso, utilizam algum método ou conjunto destes para gerar um modelo otimizado de estrutura. O valor de energia está entre um dos critérios avaliativos para a otimização de estruturas, ou seja, quanto menor for essa energia, melhor

será a predição dessa estrutura. Vale ressaltar que a energia mínima de uma molécula no vácuo não é necessariamente o mesmo quando ela se encontra em solução, mas, qualquer que seja o meio em que ela se encontra inserida, é importante que o programa seja capaz de encontrar a energia mínima para a estrutura molecular, sob determinado conjunto de condições (MORGON, 2007).

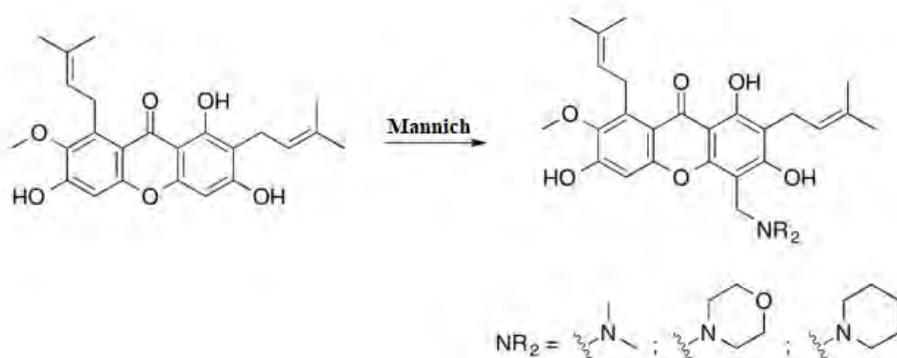
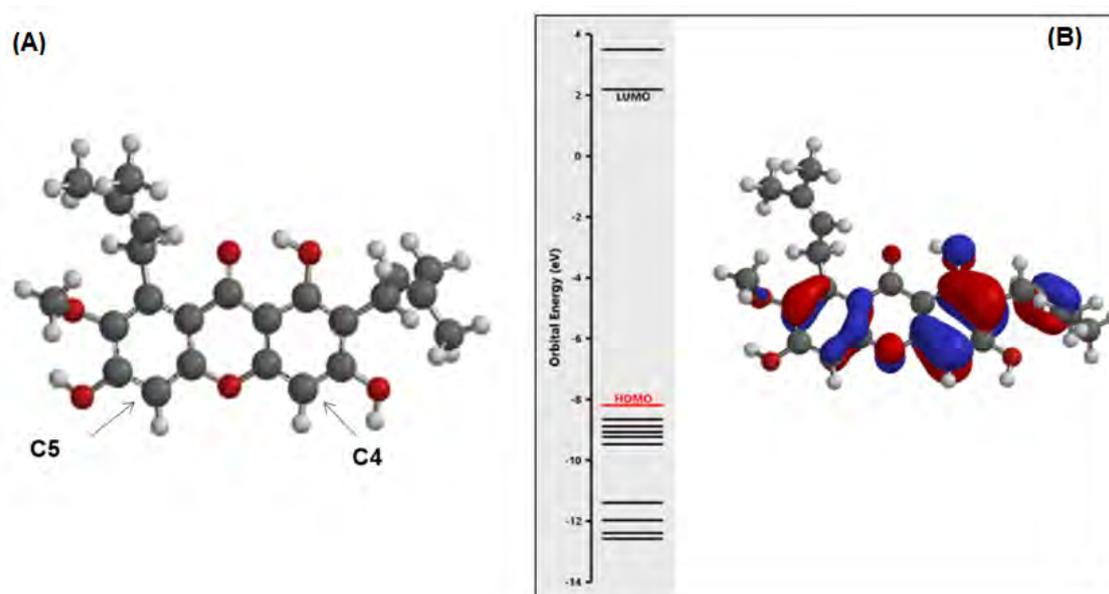


Figura 25. Derivados do tipo Mannich, mono-substituídos, sintetizados a partir da α -mangostina por Buravlev et al., 2018.

Para o estudo do caráter seletivo, a estrutura molecular foi construída no programa Spartan 14', e foram utilizados dois métodos quânticos, semi-empírico e Hartree-Fock (HF). De modo geral, a escolha do método depende das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível para a realização dos cálculos. O método semi-empírico consiste na introdução de parâmetros empíricos, ou previamente calculados, permitindo reduzir assim o tempo de cálculo na resolução da equação de Schrödinger, ou seja, fazem aproximações que são compensadas com funções ajustadas empiricamente. No método Hartree-Fock, considera-se a aproximação de Born-Oppenheimer, no qual o movimento nuclear é separado do movimento eletrônico, já que a massa do núcleo é várias vezes maior que a massa dos elétrons. Desse modo, os núcleos são assumidos em determinadas posições do espaço, então, a equação de Schrödinger é resolvida apenas para os elétrons, descritos por uma função de onda puramente eletrônica, na presença do potencial produzido pelos núcleos “congelados”. Logo, durante o ciclo de cálculos, a melhor função de onda é obtida de tal forma que a energia seja um mínimo. A energia obtida assim é a energia eletrônica do sistema, calculada através de uma série de equações, chamadas *equações de Hartree-Fock*, onde se assume que cada elétron se move no campo médio produzido pelos demais elétrons e pelos núcleos (HOUSE, 2004; STEWART, 2013).

Após a realização dos cálculos, foi possível verificar a diferença de densidade eletrônica entre os carbonos C-4 e C-5 de α -mangostina. Os valores de cargas eletrostática e Mulliken, no método Hartree-Fock para o C-4 foram de -1.039 e -0.858, respectivamente. Já para o carbono C-5 no mesmo método os valores de cargas eletrostática e Mulliken foram de -0,318 e -0,266. Quando foi aplicado o método semi-empírico para efeito comparativo, os valores de cargas eletrostática e Mulliken para C-4 foram de -0.860 e -0.601 e para o carbono C-5 foram de -0.709 e -0.465, assim, verificou-se a reprodutibilidade dos métodos e consistência dos cálculos. Desse modo, ficou comprovado que sobre o carbono C-4 se encontra a região com maior densidade eletrônica, isto, pode ser explicado devido à presença de hidroxilas (-OH) em posição *orto* e *para* que tendem a aumentar a densidade de elétrons nesta região. Em contrapartida, quando se olha para os valores de cargas eletrostática e Mulliken para o carbono C-5, evidencia-se uma região com menor densidade eletrônica, e levando em consideração a presença de apenas uma hidroxila (-OH) em posição *orto* e a presença de uma metoxila em posição *meta*, isto traduz em um efeito de redução da densidade sobre este carbono C-5. Além disso, a maior densidade eletrônica sobre o carbono C-4 pode ser mais bem visualizada quando se analisa o orbital HOMO nesta região, o que torna claro a maior população eletrônica sobre C-4 e, conseqüentemente, explica-se a maior seletividade sobre essa posição no núcleo xantônico nas reações, onde as substituições eletrofílicas ocorrem preferencialmente sobre o carbono C-4 (**Figura 26**). Com base nessas avaliações os derivados aminoalquilados da α -mangostina foram construídos nesse trabalho.

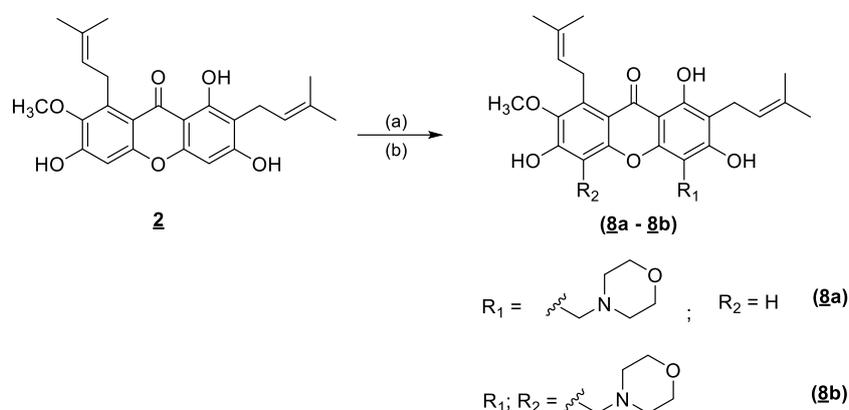


(C)

Método \ Cargas	Eletrostática	Mulliken
	Hartree-Fock (C4)	-1.039
Hartree-Fock (C5)	-0.318	-0.266
Semi-empírico (C4)	-0.860	-0.601
Semi-empírico (C5)	-0.709	-0.465

Figura 26. Estudo computacional utilizando os métodos semi-empírico e Hartree-Fock para avaliação da regioselectividade nas reações de Mannich. Estrutura otimizada do produto natural α -mangostina (A), mapa potencial de densidade eletrônica (B), tabela contendo os métodos usados e valores das cargas eletrostáticas e Mulliken (C).

5.3.1 Síntese dos derivados morfolinametil- α -mangostina (**8a**) e (**8b**)



Condições reacionais: (a) Morfolina (1.1 eqv.), formaldeído, EtOH, 60 °C, 5 h, 74,2%; (b) Morfolina (2.5 eqv.), formaldeído, EtOH, 60 °C, 5 h, 80%.

Esquema 33. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados (**8a**) e (**8b**).

As reações de formação dos derivados **8a** e **8b**, via reação do tipo Mannich poderiam ocorrer tanto em condições ácidas quanto básicas, sendo que as condições ácidas são mais comuns. Sob condições ácidas, o primeiro estágio é a reação do componente amina com o composto carbonílico não enolizável protonado/ativado para dar um hemiaminal, que após a transferência de prótons perca uma molécula de água para formar o íon imínio, componente eletrofílico. Em seguida, o composto carbonílico enolizável, substrato nucleófilo presente no meio reacional, realiza o ataque nucleofílico através de seu carbono α , em uma reação do tipo aldol, para dar origem à base de Mannich. A **Figura 27**, se encontra o mecanismo da reação clássica de Mannich. (XIAO et al., 1997). No nosso caso, o papel do nucleófilo que faz o ataque ao íon imínio, altamente eletrofílico, é o C-4 do anel aromático A da α -mangostina, o qual finaliza a reação do tipo Mannich numa etapa de substituição eletrofílica aromática, culminando com a formação do derivado aromático aminometilado.

Formação do íon imínio sob condições ácidas

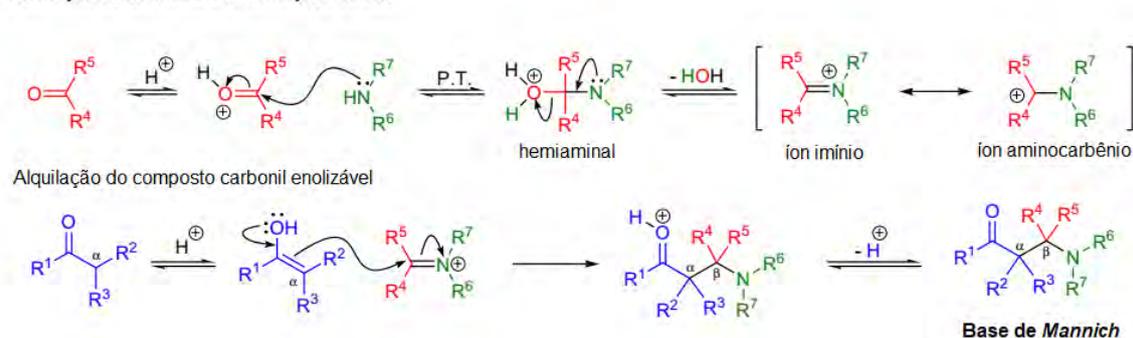


Figura 27. Mecanismo de formação das bases de Mannich.

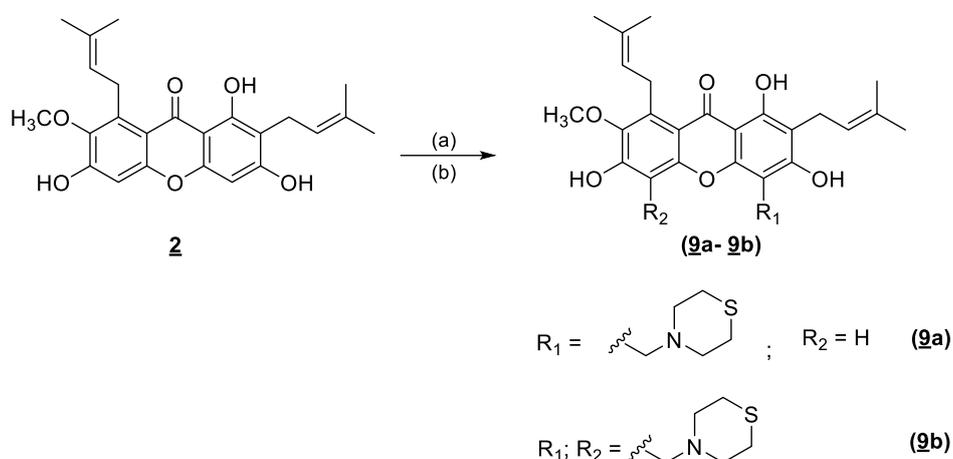
Nas reações de síntese dos derivados **8a** e **8b**, foi utilizada a amina secundária morfolina e formaldeído, tendo como solvente o etanol, que atua promovendo a completa solubilização da α -mangostina, além de contribuir para a ativação do formaldeído, necessário para a formação do eletrófilo necessário, o íon imínio. A formação do íon imínio ocorre *in situ*, havendo o subsequente ataque nucleofílico do carbono do sistema aromático do núcleo xantônico. No caso, do produto monossustituído, esse ataque se dá preferencialmente pelo carbono C-4, por ser, como já discutido, a região de maior densidade eletrônica e, assim, forma-se, seletivamente, o derivado **8a**. Uma vez que o ajuste nas condições estequiométricas da reação é feito, ocorre a formação do produto dissustituído, havendo o ataque tanto do carbono C-4 quanto C-5, dando origem ao produto **8b**.

Na análise dos dados de RMN de ^1H (**Espectro 28, pág. 75**) do derivado **8a** é possível notar a ausência de sinal do hidrogênio aromático em posição C-4, estando o hidrogênio da posição C-5 presente, o que evidencia a regioseletividade da etapa de SE_{Ar} . Foi verificado ainda o aparecimento de hidrogênios metilênicos na posição C-4, sinal simpleto característico para esse tipo de substituição, com deslocamento em δ 3,96 ppm, além de sinais adicionais, variando de δ 2,68 ppm a δ 3,73 ppm, referentes aos oito hidrogênios que compõem o anel morfolínico, que foi incorporado à estrutura da α -mangostina. Em seu RMN de ^{13}C (**Espectro 29, pág. 76**), nota-se a ausência do carbono metínico aromático da posição C-4, sendo observado o surgimento de um carbono quaternário em δ 96,24 ppm. Adicionalmente, observa-se o sinal em δ 52,80 ppm, que corresponde ao carbono metilênico nesta posição, além dos sinais em δ 53,85 ppm, δ 58,47 ppm e δ 66,70 ppm, que compreendem os carbonos do anel morfolínico. Além dos

dados de massas (**Espectro 30, pág. 77**) m/z calculado para ($C_{29}H_{35}NO_7$): 509, massa observada ($C_{29}H_{35}NO_7 - 1H$): 508.

Para o derivado dissustituído **8b**, em seu RMN de 1H (**Espectro 31, pág. 79**), os hidrogênios aromáticos das posições C-4 e C-5 se encontram ausentes, ao passo que é observado dois sinais simpletos em δ 3,91 ppm, posição C-4, além do sinal em δ 4.04 ppm, posição C-5, cada um com integração para dois hidrogênios. Ainda, verificou-se os sinais δ 2,72 ppm e δ 3,85 ppm, com integração para os oito hidrogênios do anel morfolínico em C-4. Neste caso, observa-se, adicionalmente, os sinais em δ 2,72 ppm e δ 3,85 ppm, com integração também para oito hidrogênios, referentes ao sistema morfolínico, presente em C-5 do núcleo xantônico. No RMN de ^{13}C (**Espectro 32, pág. 80**) os carbonos do sistema aromático agora ausentes, deram origem aos carbonos quaternários com sinais em δ 96,18 ppm e δ 105,46 ppm, posições C-4 e C-5, respectivamente. Além do sinal característico, em δ 53,04 ppm, referente ao carbono metilênico ligado à posição C-4; o sinal em δ 53,22 ppm, do CH_2 ligado à posição C-5; além dos sinais em δ 54,90 ppm e δ 66,58 ppm, que compreendem os carbonos dos dois anéis morfolínicos inseridos. Dados de massas (**Espectro 33, pág. 81**) m/z calculado para ($C_{34}H_{44}N_2O_8$): 608, massa observada ($C_{34}H_{44}N_2O_8 - 1H$): 607. Assim, confirmou-se a estrutura do derivado desejado.

5.3.2 Síntese dos derivados tiomorfolinametil- α -mangostina (**9a**) e (**9b**)



Condições reacionais: (a) Tiomorfolina (1.1 eqv.), formaldeído, EtOH, 60 °C, 2,5 h, 67%; (b) Tiomorfolina (2.5 eqv.), formaldeído, EtOH, 60 °C, 2,5 h, 78%.

Esquema 34. Reação de Mannich sobre α -mangostina, síntese dos derivados (**9a**) e (**9b**).

Para a formação dos derivados **9a** e **9b**, as condições reacionais foram mantidas. A análise do RMN de ^1H do derivado **9a** (**Espectro 34, pág. 84**), o hidrogênio aromático da posição C-4 está ausente, e observa-se o simpleto característico em δ 3,97 ppm, com integração para dois hidrogênios, indicativo da reação de substituição bem-sucedida. No RMN de ^{13}C (**Espectro 35, pág. 85**), o metino do sistema aromático de C-4 está ausente, com o consequente surgimento do carbono quaternário, com sinal em δ 96,32 ppm. O carbono metilênico inserido em C-4 aparece em δ 54,29 ppm. Dados para confirmação da massa (**Espectro 36, pág. 85**) m/z calculado para ($\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_6\text{S}$): 525, massa observada ($\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_6\text{S} - 1\text{H}$): 524.

Para o composto dissustituído **9b**, no seu RMN de ^1H (**Espectro 37, pág. 87**), observa-se a ausência dos hidrogênios aromáticos em ambas as posições, C-4 e C-5, com o surgimento dos sinais dos hidrogênios em δ 3,90 ppm e δ 4,04 ppm, relativos aos metilenos, característicos para essas substituições. Em seu RMN de ^{13}C (**Espectro 38, pág. 88**), nota-se a ausência dos dois metinos aromáticos e o consequente aparecimento dos carbonos quaternários em δ 96,23 ppm e δ 105,49 ppm, além dos metilenos em δ 54,75 ppm e δ 55,36 ppm. A observação destes sinais, de maneira comparativa com os espectros de seu precursor, a xantona natural (**2**), a confirmação de seus dados de massas

(Espectro 39, pág. 88) m/z calculado para (C₃₄H₄₄N₂O₆S₂): 640, massa observada (C₃₄H₄₄N₂O₆S₂ - 1H): 639, atestam a síntese desses derivados.

5.4 Planejamento da síntese dos derivados híbridos de α -mangostina, possuindo os sistemas nitroimidazólicos e 1,2,3-triazólicos

A construção dos híbridos xantona-nitroimidazóis planejados nesse trabalho ocorreu através da aplicação da estratégia de hibridação molecular, visto ser esta uma técnica bastante empregada em química medicinal (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). O conhecimento dos alvos bioquímicos com os quais se pretende interagir, assim como o conhecimento da fisiologia tanto do hospedeiro quanto do parasito, são essenciais para o desenvolvimento de novos fármacos com ação antiparasitária seletiva, principalmente os compostos da classe dos nitroaromáticos (BASTRAKOV & STAROSOTNIKOV, 2022). Em um primeiro momento, foi inserido à estrutura da α -mangostina o grupamento farmacofórico do benznidazol, o anel 2-nitroimidazol. Os sistemas nitro-heterocíclis são capazes de atuarem promovendo a desestabilização no equilíbrio redox das células do parasito, que são normalmente mais sensíveis a esta intervenção. A ação dos nitro-heterocíclicos ocorre mediada por sucessivas reduções intracelulares, através da ação da enzima tripanotona redutase, presente nos tripanosomatídeos. Essa enzima é capaz de catalisar no meio intracelular nitro-reduções, conseqüentemente gerando uma série de espécies radicalares, mutagênicas e tóxicas, havendo a formação de intermediários que ocasionam sérios danos ao DNA do parasito, desencadeando o processo apoptótico (PATTERSON & WILLIE, 2014).

No caso do nitro-aromático, benznidazol, apesar das controvérsias sobre seus prováveis mecanismos de ação, sabe-se que sua ação se dá, principalmente, mediante a formação e concentração de ânions-radicaís superóxido em concentrações intracelulares suficientemente para que o parasito possa realizar a detoxificação (DOCAMPO, 1990). O que justificaria a toxicidade seletiva do benznidazol, é a transferência de elétron para o grupo nitro-aryl, que desproporciona, formando novamente um composto nitroimidazol e um nitrosoimidazol, que por sua vez liga-se de modo irreversível à enzima tripanotona redutase, sendo esta enzima fundamental para a viabilidade do *T. cruzi* (MAYA et al,

2003; MITSCHER et al., 2012). Pressupunha-se que a ação tóxica do fármaco se processava por meio do grupamento nitroso, porém, os estudos realizados por Trochine e colaboradores, evidenciou que os adutos podem ser gerados por meio de uma reação de substituição eletrofílica aromática na posição 4 do anel imidazol (TROCHINE *et al*, 2014). Já Patterson, propôs um mecanismo de ação para o benznidazol, no qual este é convertido a uma *N*-aril-hidroxilamina e, em seguida, há uma sequência de reações não-enzimáticas, que resultam na geração de um metabólito contendo uma porção guanidina e uma molécula de glicoxal, que por sua vez apresenta propriedades citotóxicas que são também capazes de explicar a ação tripanocida (**Figura 28**) (PATTERSON & WYLLIE, 2014 e TROCHINE *et al*, 2014). A análise deste conjunto de informações, e de tantas outras já disponíveis na literatura, remete à conclusão de que o mecanismo de ação destes derivados aromáticos nitrados deve se dar por uma combinação de fatores.

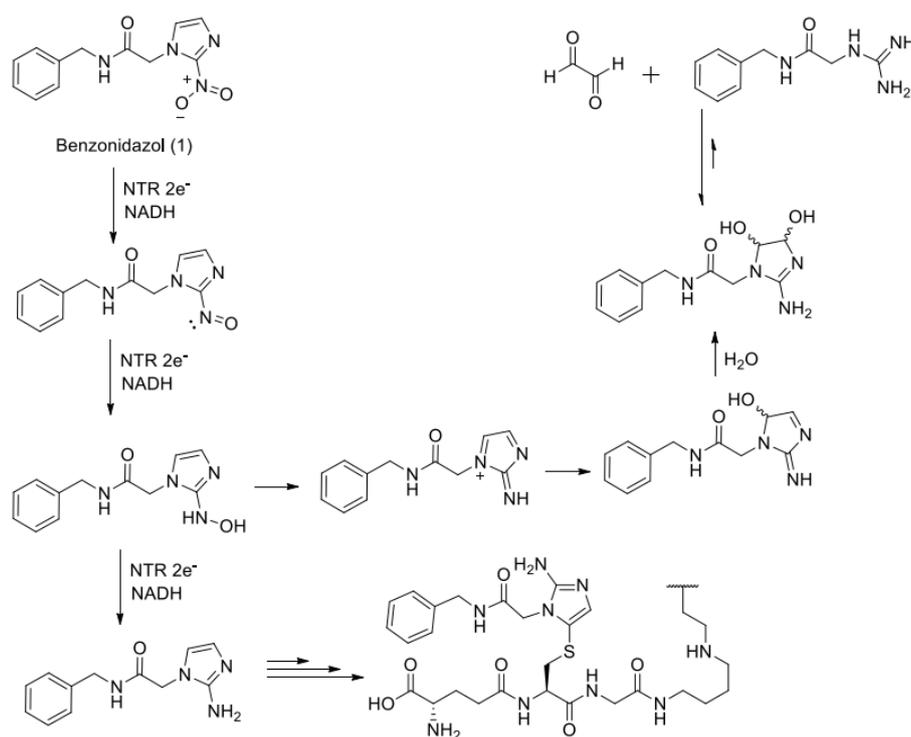


Figura 28. Formação de metabólitos nitroso e *N*-aril-hidroxilamina, que por ação enzimática origina-se o composto reduzido 2-aminoimidazol ou há formação do íon nitrênio, que sofre di-hidroxilação levando a formação de um intermediário que estabelece equilíbrio gerando uma molécula de glicoxal e um derivado guanidínico. (Adaptado de SUETH-SANTIAGO et al., 2017).

Em nosso grupo, o produto natural piperina, obtido a partir da extração de *Piper nigrum*, foi modificado com uso das estratégias de bioisosterismo e hibridação molecular por Franklim e colaboradores, o objetivo foi explorar a inserção do sistema azólico a estrutura da piperina natural obtendo derivados híbridos ativos frente a formas evolutivas de *T. cruzi*. Os derivados sintetizados continham em suas estruturas o núcleo 1,2,4-triazol-3-tiona, grupo farmacofórico presente na molécula do fármaco protoconazol, disponível para tratar infecções fúngicas, que tem seu mecanismo de ação focado na inibição da CYP51. Esta enzima, presente em todos os organismos vivos, em fungos e tripanosomatídeos é responsável pela conversão de lanosterol a ergosterol, que é o lipídeo não saponificável, presente na membrana celular destes microorganismos, e responsável pela manutenção da permeabilidade e integridade da membrana celular (**Figura 29**) (FRANKLIM et al., 2013). Compostos pertencentes à classe do azóis são inibidores reconhecidos da enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51), a qual tem relação direta na formação de ergosterol, esteróide que é essencial para a formação e manutenção da membrana celular do *T. cruzi*. A inibição da biossíntese do ergosterol acarreta acúmulo de precursores deste esteróide e impacta negativamente a integridade da membrana do parasito, há a formação de lipídeos tóxicos, ocasionando sérios danos à membrana celular. A inibição da síntese de ergosterol se tornou, nos últimos anos, uma via de intervenção considerada bastante promissora para o desenvolvimento de fármacos com atividade tripanocida. Além disso, esse alvo bioquímico é bem específico, uma vez que as células do hospedeiro vertebrado são dependentes do colesterol, diferente do *T. cruzi*, que é sensível a inibidores da biossíntese de ergosterol, o que reflete em melhores índices de seletividade para compostos dessa classe (URBINA, 2002).

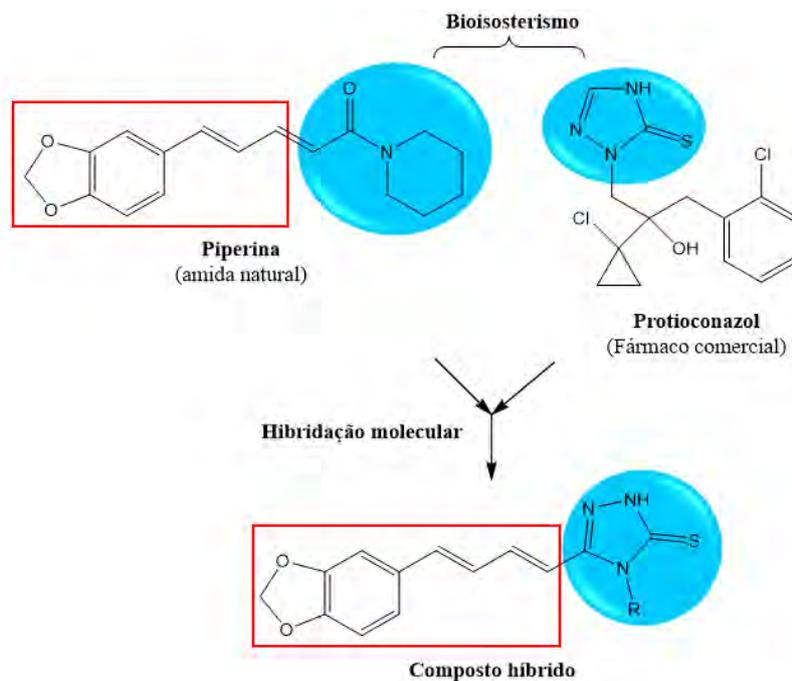


Figura 29. Formação dos híbridos da piperina contendo o sistema 1,2,4-triazol (Adaptado de FRANKLIM et al., 2013).

No trabalho realizado por Papadopoulou e colaboradores foi avaliado o potencial de 13 derivados contendo o sistema 2-nitro-1,2,4-triazol frente ao *T. cruzi*. Dentro da série avaliada, todos foram de 2 a 56 vezes mais potentes do que o benznidazol sobre a forma amastigota de *T. cruzi*, em escala nanomolar, e com índice de seletividade $IS > 200$. Os derivados **1**, **2**, **4**, **6** e **10** (**Figura 30**) apresentaram o melhor perfil de atividade. Os autores demonstraram que aumentos na lipofilicidade ($clogP$) dentro da série promove aumento da potência antichagásica e de toxicidade nas células hospedeiras L6, o que se observa para compostos de mesma classe química (**Figura 30**). No caso, o composto sulfonamida **6** e o derivado 2-aminobenzotiazol **10**, foram os que apresentaram um potencial anti-*T. cruzi* excepcional, com valores de IC_{50} de 28 e 59 nM, respectivamente, e excelentes índices de seletividade, $SI > 1700$.

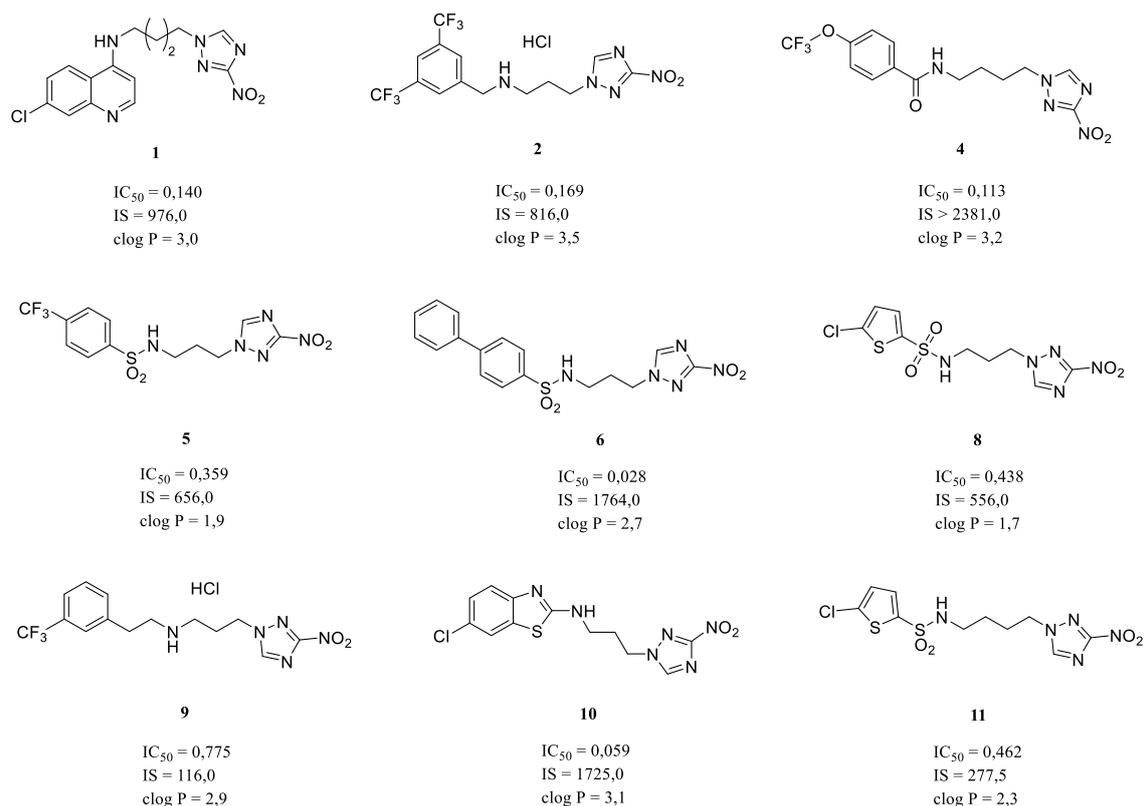
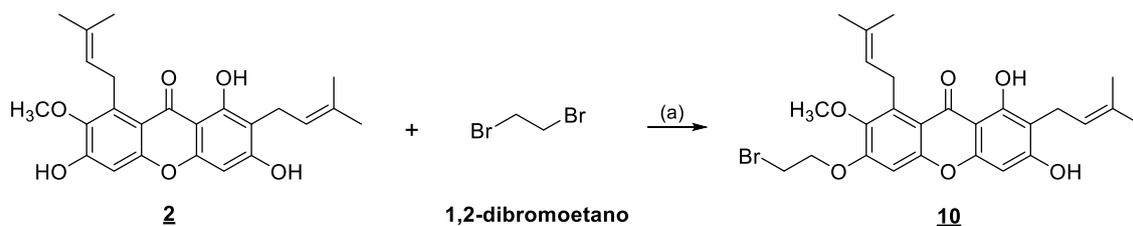


Figura 30. Derivados contendo em suas estruturas o sistema 1,2,4-triazol ativos contra amastigotas de *T. cruzi*. (Adaptado de PAPADOPOULOU et al., 2013).

5.4.1 Síntese do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (**10**)



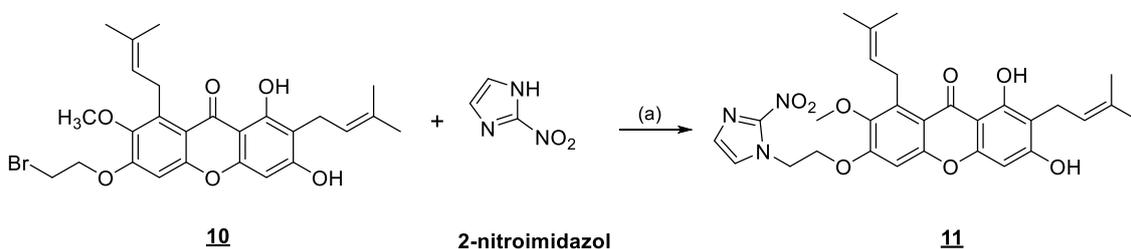
Condições reacionais: (a) K_2CO_3 , $KHCO_3$, $60^\circ C$, 24h.

Esquema 35. Formação do intermediário 6-bromoetoxi- α -mangostina (**10**).

A introdução do núcleo nitroimidazólico na estrutura da xantona natural, pode ser feita de diferentes maneiras. Numa abordagem inicial, fez-se necessária a funcionalização adequada das hidroxilas fenólicas. Desta forma, a preparação do intermediário **10**, se deu através da reação de substituição nucleofílica bimolecular do oxigênio da hidroxila fenólica, em posição adjacente à metoxila, sobre o substrato 1,2-dibromoetano, sendo este

alquilante escolhido, devido ao bromo ser um bom grupo abandonador, favorecendo assim a reação S_N2 . O espectro de 1H RMN de **10** apresentou um sinal tripleto em δ 3,76 ppm, com constante de acoplamento J_1 5,7 Hz e integração para 2H, corresponde aos hidrogênios metilênicos ligados ao átomo de bromo. Já o sinal em δ 4,41 ppm e constantes de J_1 16,21 Hz, J_2 6,01 Hz e integração para 2H, é referente aos hidrogênios ligados ao átomo de oxigênio mais eletronegativo, por isso o maior deslocamento químico, os valores distintos das constantes J , pode ser compreendido devido a diferença de ambientes químicos entre os hidrogênios nessa região, próximos ao anel aromático, havendo o acoplamento com os hidrogênios vizinhos, além do acoplamento geminal, que podem ser verificados no RMN de 1H (**Espectro 40, pág. 91**). Em seu RMN de ^{13}C (**Espectro 41, pág. 92**), foi identificado para os sinais δ 28,10 ppm e δ 68,49 ppm, condizentes com os carbonos metilênicos ligados aos átomos de bromo e oxigênio, respectivamente.

5.4.2 Síntese do derivado α -magostina-6-etil-2-nitroimidazol (**11**)



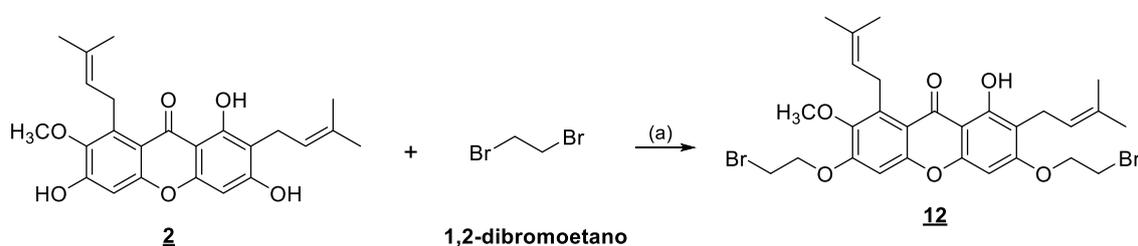
Condições reacionais: (a) TEA, DMF, 50°C, 24h, 79%.

Esquema 36. Síntese do derivado α -magostina-6-etil-2-nitroimidazol (**11**).

A reação entre o intermediário **10**, obtido previamente, com o 2-nitroimidazol, em meio de TEA e DMF, possibilitou a melhor solubilização dos substratos, assim como a abstração do próton do sistema imidazólico, que possui um hidrogênio com $pK_a = 8,72$, sendo um bom nucleófilo para este tipo de reação. Com isso, o ataque nucleofílico ao carbono ligado ao grupo bromoalquil é favorecido, havendo liberação do bromo no meio por ser um bom grupo de saída. Assim, a substituição pretendida foi alcançada, com a formação do derivado **11**.

Através dos dados espectroscópicos foi possível confirmar a estrutura do híbrido gerado. No RMN de ^1H (**Espectro 42, pág. 94**), os sinais que compreendem a região característica de hidrogênios aromáticos, se encontram os deslocamentos para o sistema xantônico em δ 6,36 ppm e δ 7,08 ppm. Nota-se que no sinal em δ 7,08 ppm, há um ligeiro aumento em seu deslocamento, quando comparado ao seu precursor. Essa observação é justificável, já que, ao inserir o substituinte nitroimidazólico, este exerce seu efeito indutivo de retirada de densidade eletrônica. Verificou-se ainda, a presença de 2H aromáticos, com sinais em δ 7,21 ppm e δ 7,73 ppm, correspondentes aos hidrogênios do grupamento nitroimidazólico que foi inserido. Também foi confirmada a presença dos hidrogênios metilênicos, com sinais em δ 4,92 ppm, com maior deslocamento por estar ligado ao sistema nitroimidazólico; além do sinal em δ 4,55 ppm, atribuído ao metileno ligado ao átomo de oxigênio. No RMN de ^{13}C (**Espectro 43, pág. 95**), os carbonos $-\text{CH}_2-$ foram detectados em deslocamentos químicos em δ 48,63 e 67,42 ppm. O sinal em δ 67,42 ppm, em campo mais baixo, se deve ao fato deste $-\text{CH}_2-$ estar ligado diretamente ao grupo nitroimidazólico. Adicionalmente, identificou-se dois sinais em δ 127,88 ppm e δ 128,59 ppm, referentes aos dois $-\text{CH}-$ do sistema nitroimidazólico, e também o sinal para o carbono quaternário deste sistema, em δ 144,88 ppm. Ainda foi confirmado seu dado de massas (**Espectro 44, pág. 95**). Dados de massas (**Espectro 44, pág. 95**) m/z calculado para $(\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8)$: 549, massa observada $(\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8 - 1\text{H})$: 548. Desse modo, a estrutura do derivado **11** foi confirmada.

5.4.3 Síntese do intermediário 3,6-bromoetoxi- α -mangostina (**12**)



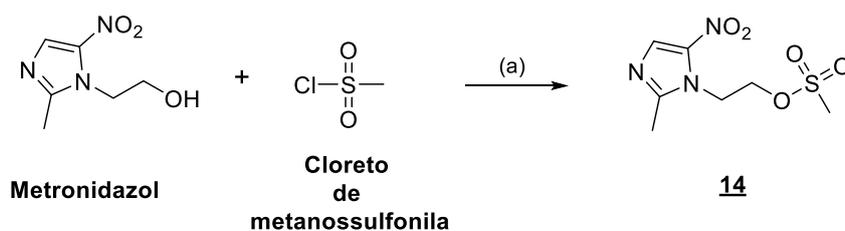
Condições reacionais: (a) K_2CO_3 , DMF, 60°C , 24h, 81%.

Esquema 37. Preparação do intermediário 3,6-bis-bromoetoxi- α -mangostina (**12**).

pela porção nitroimidazólica, dando origem ao produto híbrido de interesse **13**. As substituições foram confirmadas através das análises de dados de RMN.

No RMN de ^1H (**Espectro 47, pág. 101**), notam-se os sinais multipletos, referentes aos hidrogênios dos carbonos das duas pontes metilênicas entre os núcleos aromáticos, com deslocamentos em δ 4,49 ppm, δ 4,92 ppm e δ 4,97 ppm, e integração para os 8H. Foi verificado também os hidrogênios aromáticos do sistema nitroimidazólico, em δ 7,19 ppm, δ 7,22 ppm, além dos sinais em δ 7,28 ppm e δ 7,38 ppm, cada um com integração para 1H, confirmando a inserção dos dois anéis heterocíclicos. Observou-se no RMN de ^{13}C (**Espectro 48, pág. 102**), os sinais para os quatro carbonos metilênicos $-\text{CH}_2-$ em δ 49,24 ppm, δ 66,53 ppm, δ 49,45 ppm e δ 67,02 ppm, presentes em cada ponte metilênica. Além disso, verificou-se a presença dos carbonos $-\text{CH}-$ de aromático das porções nitroimidazólicas, com sinais identificados em δ 127,36 ppm, δ 127,48 ppm, δ 128,48 ppm e δ 128,56 ppm. Dados de massas (**Espectro 49, pág. 102**) m/z calculado para ($\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10}$): 688, massa observada ($\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_{10} - 1\text{H}$): 687. Dessa maneira foi confirmada a estrutura do híbrido *bis*-2-nitroimidazol- α -mangostina formado.

5.4.5 Síntese do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (**14**)



Condições reacionais: (a) EtOAc, TEA, t. a., 12h, 80%.

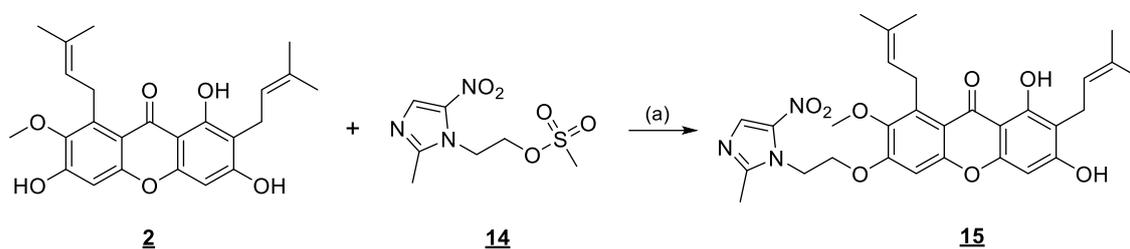
Esquema 39. Formação do intermediário metanossulfonato-etil-5-nitroimidazol (**14**).

Após o isolamento do metronidazol e determinação de seu ponto de fusão, sua caracterização foi feita através dos dados de RMN (**Espectro 50, pág. 105; Espectro 51, pág. 105**), que foram coerentes com os valores descritos na literatura (CROSSLAND & SERVIS, 1970). A etapa seguinte foi a obtenção do intermediário **14**, eletrófilo adequado à etapa de *O*-alquilação, para formação do híbrido planejado entre o metronidazol e a

xantona natural α -mangostina. A estratégia de hibridação molecular do benznidazol com a α -mangostina se baseia em dados da literatura que demonstram que apesar do fármaco apresentar reduzidas atividades *in vitro* e *in vivo* contra o *T. cruzi*, ele foi capaz de melhorar o perfil de atividade do benznidazol, aumentando a potência de suas doses, quando os dois fármacos foram administrados em terapias combinadas. Além disso, estudos *in vivo* demonstraram que o metronidazol, mesmo em regime de monoterapia, foi capaz de prolongar a meia-vida de animais infectados (SIMÕES-SILVA et al., 2017).

Para a preparação do intermediário eletrolítico (**14**), adequado à preparação do híbrido planejado, a hidroxila presente no grupamento ligado ao N-1 do núcleo imidazólico, foi convertida em um melhor grupo de saída. Devido o acetato de etila promover uma boa solubilização do metronidazol, este solvente foi escolhido para a reação, sendo a mistura reacional mantida sob condições anidras, de modo a evitar que a água pudesse interferir na reação, hidrolisando o éster metanossulfonato formado. Por outro lado, a trietilamina tem ainda a função de atuar como base para neutralizar o ácido clorídrico formado durante a reação, gerando o cloreto de trietilamínio, insolúvel, que precipita no meio. Ao fim da reação o intermediário **14** foi purificado e teve seu ponto de fusão determinado, sendo sua caracterização feita através de dados de RMN. No espectro de RMN ^1H (**Espectro 52, pág. 107**), observou-se um simpleto, com integração para 3H, em δ 2,47 ppm, característico de $-\text{CH}_3$ ligada ao anel imidazólico. Foi observado um sinal simpleto, com integração para 3H em δ 3,16 ppm, característico de $-\text{CH}_3$ ligada ao átomo de enxofre da porção mesilato. Além da observação da ausência do sinal tripleto, referente ao hidrogênio da hidroxila de álcool primário, presente no metronidazol. No espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 53, pág. 108**) observou-se um sinal em δ 37,18 ppm, referente ao carbono de metila $-\text{CH}_3$ ligada ao átomo de enxofre, e o sinal em δ 14,49 ppm, respectivo à $-\text{CH}_3$ ligada ao anel imidazólico.

5.4.6 Síntese do derivado híbrido α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol (**15**)



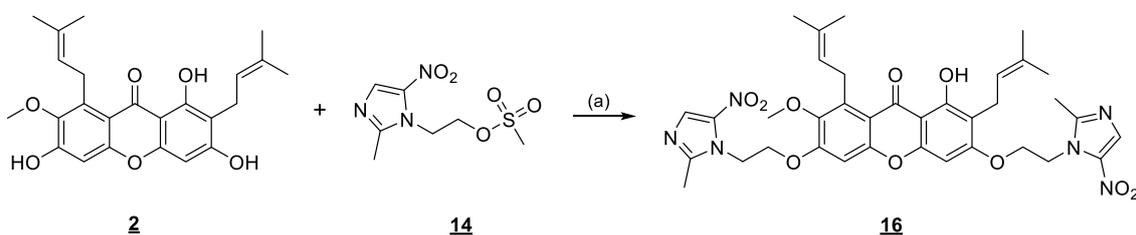
Condições reacionais: (a) KHCO_3 , DMF, 50°C , 24h, 77%.

Esquema 40. Síntese do derivado α -mangostina-6-*O*-etil-5-nitroimidazol (**15**).

Após a obtenção do intermediário **14**, quando este e o produto natural **2** são colocados no meio reacional básico adequado, ocorre a abstração do próton de α -mangostina **2**, sendo o fenóxido correspondente capaz de atuar como nucleófilo. A capacidade nucleofílica adquirida, permite à α -mangostina realizar o ataque nucleofílico sobre o carbono ligado ao grupo mesilato, ocorrendo então o consequente desligamento deste grupo, seguido da inserção do sistema 5-nitroimidazol, dando origem ao derivado **15**.

Na caracterização do híbrido **15**, os sinais observados no RMN ^1H (**Espectro 54**, pág. **110**), são sinais característicos para esse padrão de substituição, com multiplicidade triplete, em δ 4,44 ppm, J 4,5 Hz, com integração para 2H; e δ 4,84 ppm, J 4,5 Hz, com integração para 2H, referentes aos hidrogênios da cadeia espaçadora, a qual faz a conexão entre o núcleo imidazólico e a α -mangostina. Além disso, observa-se o sinal em δ 2,76 ppm, referente à metila $-\text{CH}_3$, e o sinal de hidrogênio em δ 8,03 ppm, sinais característicos do sistema 5-nitroimidazólico. No espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 55**, pág. **111**), observa-se os deslocamentos químicos em δ 45,74 ppm e δ 67,28 ppm, que são referentes aos carbonos metilênicos da cadeia espaçadora, além dos sinais em δ 133,29 ppm, referentes ao metino aromático. Observa-se ainda os sinais a δ 138,18 ppm e δ 152,07 ppm, atribuídos aos carbonos quaternários e a metila $-\text{CH}_3$ em δ 14,59 ppm, sendo estes os sinais dos carbonos que compõem a porção 5-nitroimidazólica. Dados de massas (**Espectro 56**, pág. **111**) m/z calculado para $(\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8)$: 563, massa observada $(\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_8 + 1\text{H})$: 564. Sendo assim, o derivado **15** foi devidamente caracterizado, tendo sua estrutura confirmada.

5.4.7 Síntese do derivado α -mangostina-3,6-*O*-bis-etil-5-nitroimidazol (**16**)



Condições reacionais: (a) K₂CO₃, DMF, 60°C, 24h, 94%.

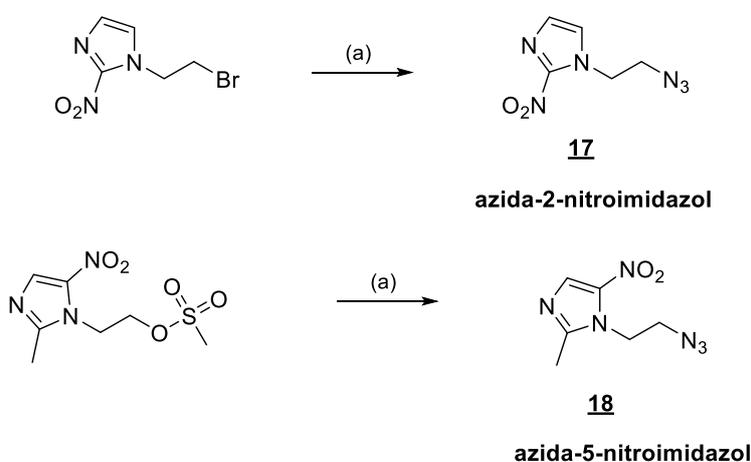
Esquema 41. Síntese do derivado α -mangostina-3,6-*O*-bis-etil-5-nitroimidazol (**16**).

Seguindo o protocolo ajustado para a reação de substituição nucleofílica bimolecular, estabelecido para a preparação do híbrido **15**, após o ajuste necessário na estequiometria da reação, os fenóxidos obtidos na desprotonação das duas hidroxilas fenólicas da α -mangostina realizaram o ataque nucleofílico sobre o carbono ligado ao grupo metanosulfonato do eletrófilo **14**. Assim, os dois substituintes foram ligados à estrutura da α -mangostina, levando à formação do derivado **16**.

A confirmação da estrutura do novo híbrido se deu pela análise dos seus espectros de RMN. Os sinais triplete no RMN ¹H (**Espectro 57, pág. 114**), com deslocamentos em δ 4,45 ppm, J 4,0 Hz, 2H e δ 4,45 ppm, J 4,0 Hz, 2H, são similares, por estarem em ambientes químicos semelhantes. Já para os sinais em δ 4,79 ppm, J 4,2 Hz, 2H; e δ 4,84 ppm, J 4,0 Hz, 2H, as diferenças de deslocamentos se justificam, em virtude da nuvem eletrônica do alceno do grupo prenila nessa região exercer um efeito anisotrópico, blindando os hidrogênios dos metilenos próximos à ela. Todos esses sinais são referentes à cadeia espaçadora de 2 carbonos, totalizando assim 8 hidrogênios. Além desses sinais, observam-se os hidrogênios das duas metilas -CH₃, em δ 2,59 ppm e δ 2,74 ppm; além dos dois sinais para os hidrogênios aromáticos, em δ 8,00 ppm e δ 8,02 ppm, que são referentes aos dois sistemas 5-nitroimidazólicos incorporados. No espectro de RMN ¹³C (**Espectro 58, pág. 115**), observa-se os sinais em δ 45,67 ppm, δ 45,75 ppm, δ 67,09 ppm e δ 67,32 ppm, referentes aos carbonos metilênicos da cadeia espaçadora. Adicionalmente, observa-se os sinais em δ 133,50 ppm, δ 133,65 ppm, devidos aos carbonos metínicos de aromáticos. Adicionalmente, vê-se os sinais em δ 151,58 ppm, δ 152,01 ppm, δ 154,83 ppm e δ 154,91 ppm, atribuídos aos carbonos quaternários. Os

sinais observados em δ 14,40 ppm e δ 14,64 ppm devem-se às duas metilas -CH₃ presentes. Todos esses sinais são para os carbonos que compõem as duas porções 5-nitroimidazólicas, inseridas via reação de S_N2. Dados de massas (**Espectro 59, pág. 115**) m/z calculado para (C₃₆H₄₀N₆O₁₀): 716, massa observada (C₃₆H₄₀N₆O₁₀ + 1H): 717. Com esses dados, o derivado **16** teve sua estrutura confirmada.

5.4.8 Preparação dos intermediários azida (**17**) e (**18**)

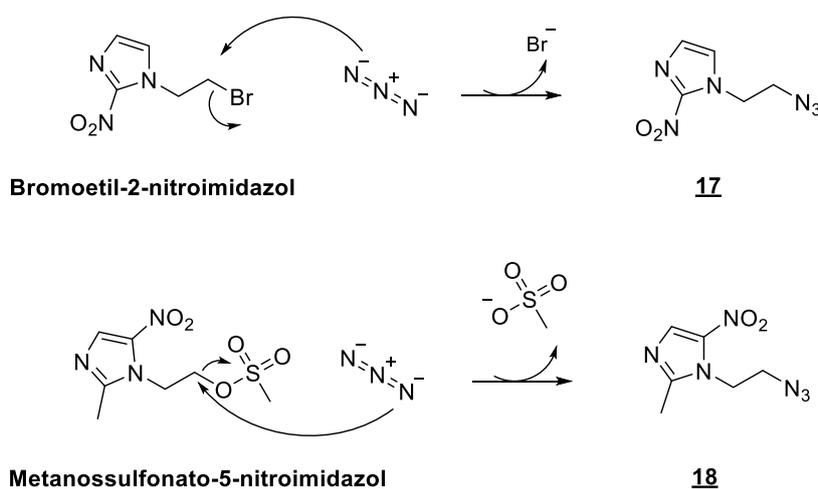


Condições reacionais: (a) NaN₃, H₂O/THF (5:1), 60°C, 24h, 93% (**17**); 95% (**18**).

Esquema 42. Formação dos intermediários azida-2-nitroimidazol (**17**) e azida-5-nitroimidazol (**18**).

As azidas nitroimidazólicas (**17**) e (**18**) foram sintetizadas com o intuito de permitirem a preparação de híbridos onde estará inserido um conector (*linker*) do tipo 1,2,3-triazol. Este núcleo heterocíclico está presente na estrutura de diversas moléculas com potenciais atividades biológicas, incluindo antiparasitários (VALÉRIO et al., 2021; GLANZMANN et al., 2021), e sua grande ocorrência se deve à simplicidade e facilidade da sua reação de preparação, o que rendeu o Nobel de Química no ano de 2022 para o trio de cientistas Barry Sharpless (Scripps Research, La Jolla, CA, EUA), Morten Meldal (Universidade de Copenhagen, Copenhagen, Dinamarca), e Carolyn Bertozzi (Universidade de Stanford, Stanford, CA, EUA). (<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/>). A partir da reação com azida de sódio

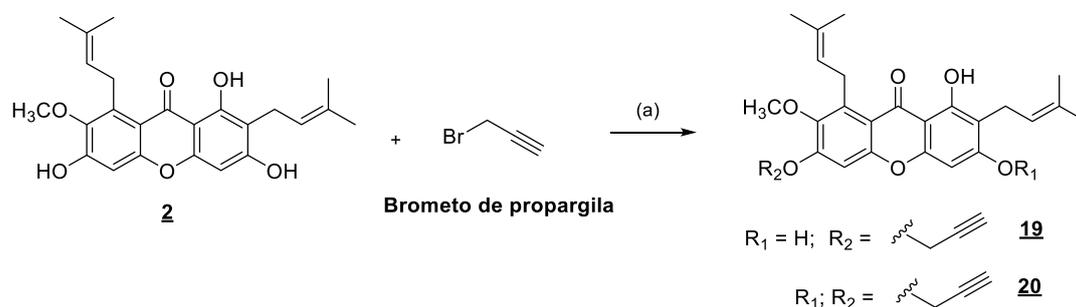
em uma mistura de água e THF, as azidas adequadamente funcionalizadas foram obtidas como sólidos de coloração alaranjada. Seus pontos de fusão foram determinados e comparados com valores descritos na literatura (AVULA et al., 2021). A construção dessas azidas, **17** e **18**, foi realizada via reação de substituição nucleofílica entre a azida de sódio e o bromoetil-2-nitroimidazol ou metanossulfonato-5-nitroimidazol (Esquema 43). O mecanismo proposto para a síntese das azidas **17** e **18** ocorre através de uma substituição nucleofílica bimolecular S_N2 (SMITH & MARCH, 2019). A azida, atua como um bom nucleófilo, realiza o ataque sobre o carbono ligado ao bromo ou o carbono do mesilato. À medida que a reação transcorre, a ligação N-carbono vai se estabelecendo, enquanto a ligação C-Br ou C-O-Mesilato vai se rompendo, de forma concertada. Assim, devido ao bromo e o mesilato serem bons grupos de saída, estes são eliminados, dando origem às respectivas azidas **17** e **18**.



Esquema 43. Mecanismo de formação das azidas (**17**) e (**18**).

Após a obtenção das respectivas azidas **17** e **18**, a etapa seguinte foi a produção dos intermediários α -mangostina-*O*-propargil mono e bis-alquilados, **19** e **20**, respectivamente. Estes são substratos para as reações do tipo CuAAC (do inglês: *Copper-catalysed azide-alkyne cycloaddition*), que levarão à formação dos híbridos da α -mangostina, contendo o sistema 1,2,3-triazol como conector.

5.4.9 Síntese dos intermediários α -mangostina-*O*-propargil (**19**) e (**20**)



Condições reacionais: (a) K_2CO_3 , DMF, $60^\circ C$, 2h, 31-62%.

Esquema 44. Preparação dos intermediários α -mangostina *mono* e *bis-O*-propargil (**19**) e (**20**).

Os compostos que contém em sua estrutura o grupo propargil são de grande interesse, pois, apresentam uma gama de aplicações em síntese orgânica, como é o caso das reações de cicloadição de azidas para obtenção de triazóis. Moléculas que apresentam a porção propargil em sua constituição, configuram-se como valiosos precursores para a síntese de heterociclos (HALDÓN et al., 2015), sendo a fração propargil reconhecida como um grupo funcional muito importante em química medicinal. A reação de *O*-alquilação de **2** ocorre devido à reatividade das hidroxilas fenólicas, que em presença de uma base adequada, carbonato de potássio em DMF, geram os respectivos fenóxidos, nucleófilos adequados à reação SN_2 . A reação de α -mangostina **2** com brometo de propargil resultou na formação de uma mistura de intermediários mono- e dipropargil **19** e **20**, que foram devidamente isolados por cromatografia em coluna aberta, em rendimentos de 31 e 62%, respectivamente.

No caso do intermediário **19**, a presença do grupamento propargil foi caracterizada em seu RMN 1H (**Espectro 60**, **pág. 119**) por um duplete em δ 4,87 ppm, com uma constante de acoplamento J 1,9 Hz, e integração para 2H. Foi observado um sinal de deslocamento químico em 2,63 ppm, com multiplicidade triplete, e constante J 2,0 Hz, com integração para 1H, característico do hidrogênio do alcino terminal. O maior deslocamento para os prótons com sinal em δ 4,87 ppm, pode ser explicado devido a estes estarem ligados ao átomo de oxigênio eletronegativo e, ainda, por estarem em proximidade ao sistema aromático e sentirem o efeito anisotrópico deste anel. No espectro

de RMN ^{13}C (**Espectro 61, pág. 120**), encontra-se os sinais típicos do grupo propargil, observados em δ 56,40 ppm ($-\text{CH}_2-$); 76,85 ppm carbono quaternário (C); e 77,23 ppm ($\equiv\text{CH}$), alcino terminal. Para o intermediário **20**, foi identificada a presença de dois grupos propargil, em ambientes químicos distintos. No espectro de RMN ^1H (**Espectro 62, pág. 122**) observa-se o duplete em δ 4,80 ppm, J 1,89 Hz, 2H e o sinal tripleto em δ 2,60 ppm J 2,05 Hz, 1H, sinais que acoplam entre si. Já na outra porção alcino, observa-se o sinal duplete, em δ 4,87 ppm, J 2,21 Hz, 2H e o sinal simpleto, em δ 2,63 ppm, 1H, não sendo possível identificar a constante J para esse sinal. No espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 63, pág. 123**), os sinais observados para os grupamentos homologados à estrutura aparecem em δ 56,21 ppm ($-\text{CH}_2-$), 76,13 ppm (C), 77,24 ppm ($\equiv\text{CH}$), atribuídos ao alcino terminal e, para a outra porção alcino, os sinais foram, δ 56,40 ppm ($-\text{CH}_2-$), 76,87 ppm (C) e 77,24 ppm. Desse modo, as estruturas dos intermediários **19** e **20** foram devidamente caracterizadas.

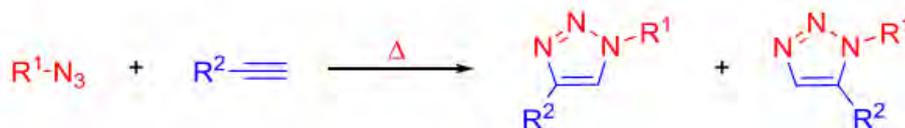
5.4.10 Síntese dos derivados α -mangostina-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) e α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) via *Cooper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition* (CuAAC)

A reação de cicloadição 1,3-dipolar, comumente chamada de reação *Click*, utiliza um alcino terminal e um azido orgânico, sendo estes os substratos de partida. Ela também ficou conhecida como ciclização de Huisgen, que foi o primeiro pesquisador a entender a relevância deste tipo de reação, que dá origem aos sistemas 1,2,3-triazóis ou 1,2,4-triazóis, dependendo da disposição dos nitrogênios (HUISGEN, R., 1963). Apesar dos sistemas 1,2,4-triazóis serem os mais estudados, nos últimos anos os estudos envolvendo os sistemas 1,2,3-triazóis tem aumentado. O conceito de “*Click Chemistry*,” foi introduzido por Sharpless e colaboradores em 2001, após a descoberta do efeito do cobre como catalisador, evidenciado por Meldal e Sharpless em 2002 (MELDAL & SHARPLESS, 2002), que como já mencionado, dividem o prêmio Nobel de Química de 2022 com a profa. Bertozzi da Universidade de Stanford. A reação CuAAC tem ganhado notório destaque nos últimos anos entre os cientistas de diferentes áreas e, isto, se deve ao fato da grande versatilidade de transformações, não só apenas de condições reacionais,

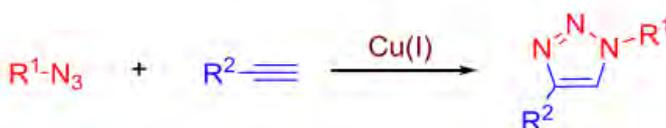
como também devido às propriedades únicas dos produtos de reação, contendo sistema 1,2,3-triazol, o que a torna uma metodologia sintética de extrema relevância na química contemporânea e, notadamente, para a química medicinal (JIANG et al., 2019; KAUR, SAXENA & RISHI, 2021).

A reação de cicloadição catalisada por cobre(I) se apresenta como exemplo de método sintético de excelentes benefícios, utilizando-se metais de transição em química orgânica sintética. Em contrapartida, a cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen de azidas orgânicas e alcinos quando não catalisada, é uma reação muito lenta, inclusive à altas temperaturas, ocorre a formação de mistura equimolar de regioisômeros de 1,2,3-triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos (**Esquema 45-A**) (HUISGEN, 1989; 1963). Porém, quando a reação de cicloadição ocorre em presença de quantidades catalíticas de Cu(I), há um incremento substancial na velocidade da reação, a taxa de reação pode aumentar até 7 ordens de magnitude superior ao processo não catalisado. Além disso, observa-se o controle da regioseletividade, com produção apenas do isômero 1,4-dissubstituído, sendo o único produto formado (**Esquema 45-B**) (HIMO et al., 2005).

A. Cicloadição 1,3-dipolar (Huisgen)



B. Cicloadição 1,3-dipolar, catalisada por cobre Cu (I)



Esquema 45. Síntese de 1,2,3-triazóis via cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos terminais (CuAAC).

As modificações químicas que se utilizam desta estratégia têm como principais vantagens serem de fácil execução; fazerem uso de nenhum solvente, ou usarem solventes que sejam benignos; possuírem alta versatilidade sintética e elevada seletividade; além de não haver necessidade do uso de grupos de proteção e desproteção nas reações. Adicionalmente, as reações tendem a apresentar altos rendimentos e gerarem apenas subprodutos inofensivos e de fácil remoção, visto serem reações que, em sua maioria,

podem ser realizadas em meio aquoso (LUTZ, J. F. & ZARAFSHANI, Z., 2008). Logo, a alta eficiência desta reação, as condições reacionais brandas, sua notável quimio- e regioseletividades, e sua excelente compatibilidade com diferentes grupos funcionais, atualmente, tornou-a uma excelente alternativa para aplicações em reações bioortogonais (ROBERT et al., 2021). Contudo, apesar da extrema importância e aplicabilidade da reação do tipo CuAAC, existe uma questão relevante a ser considerada, principalmente quando a reação é utilizada para a preparação de moléculas com aplicação medicinal ou na química de materiais para aplicações especiais, qual seja, a contaminação por cobre, e mesmo por outros metais de transição, nos produtos obtidos, mesmo quando estes metais são usados em quantidades catalíticas. Esta tem sido uma preocupação de vários pesquisadores que trabalham nesta área. Vemos na literatura importantes discussões sobre o assunto, devido à sua relevância (HEIN et al., 2008; MANDOLI, 2016; AFLAK et al., 2022). Desta forma, essa questão da contaminação por cobre, no caso de moléculas para aplicação medicinal, diverge de um dos aspectos relevantes, destacados na definição feita pelo Prof. Barry Sharpless (2001), para a reação *click*: o fato dela levar à obtenção de produtos em alta pureza, dispensando métodos cromatográficos de purificação. Nesse sentido, principalmente no campo da chamada química bioortogonal, metodologias envolvendo reações *click* livres de metais têm sido muito estudadas (WU et al., 2022)

Como já comentado anteriormente, o núcleo 1,2,3-triazol consiste numa porção estrutural reconhecida por ser altamente privilegiado na área da química medicinal, e as substâncias que contêm esse tipo de sistema são detentoras de um amplo espectro de atividades biológicas e, por isso, alguns compostos com essas características têm sido aprovados como fármacos ou potenciais candidatos a estudos clínicos avançados. Na **Figura 31** estão alguns dos candidatos e medicamentos já aprovados, que contêm a porção 1,2,3-triazol (OUYANG et al., 2018; JIANG et al., 2019).

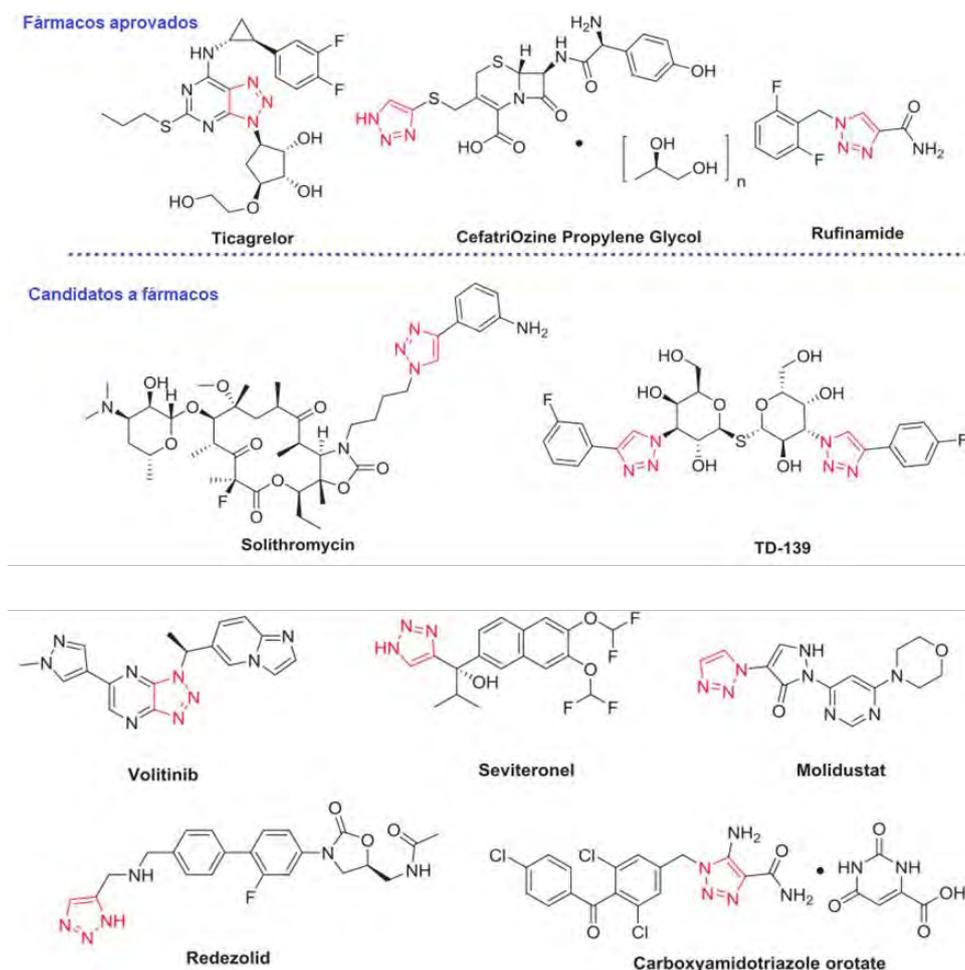


Figura 31. Fármacos aprovados e potenciais candidatos contendo em suas estruturas o sistema 1,2,3-triazol.

Particularmente, os sistemas 1,2,3-triazol-1,4-substituídos desempenham múltiplos papéis como substâncias bioativas, pois podem atuar como elemento farmacofórico, participando da formação de ligações de hidrogênio ou interações hidrofóbicas, e são um importante arcabouço estrutural para estruturação e arranjo molecular. Os 1,2,3-triazol-1,4-substituídos são capazes de promover a regulação de outros elementos farmacofóricos, tornando possível a manutenção de uma conformação ativa, também podem funcionar como grupo conector, realizando a conexão entre conjugados moleculares ou sondas, ou na estrutura de híbridos. Este potencial de conjugação, pode aumentar a absorção celular de pequenas moléculas e ainda permitir a sua entrega, como foi verificado em 2014, quando uma série de híbridos foram desenvolvidos, ligando covalentemente triterpenos-sapogeninas bioativas a peptídeos portadores do domínio de ligação à zona de hélice (HBD), por meio do uso da reação CuAAC (**Figura 32**). O efeito do triterpeno, ou dos componentes peptídicos, quando

avaliados de maneira isolada contra a fusão célula-célula mediada pelo HIV-1, não foram eficazes. No entanto, quando os híbridos foram testados mostraram um efeito conjunto muito mais efetivo e robusto, visto apresentarem propriedades farmacocinéticas otimizadas (WANG et al., 2014).

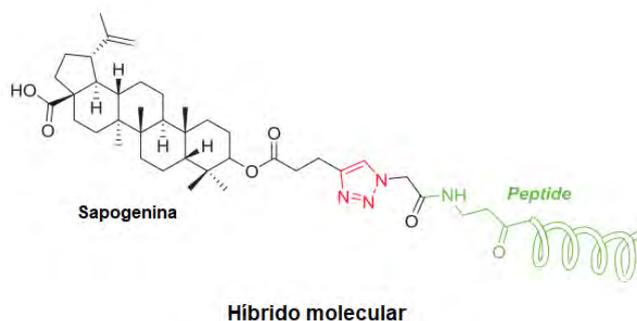
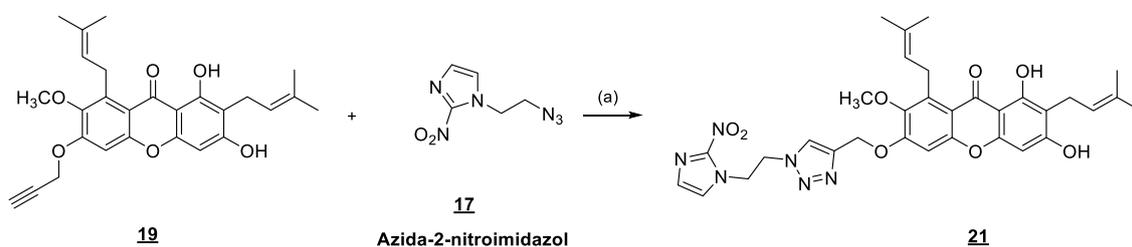


Figura 32. Conjugação mediada, via reação *Click*, de uma sapogenina antiviral, não específica, com um inibidor de fusão do HIV. (Adaptado de WANG et al., 2014).

Trazendo o enfoque para este trabalho, a diversidade estrutural da α -mangostina, suas características químicas privilegiadas associada à uma abordagem sintética de fácil aplicação, como a reação CuAAC, permitiu a inserção sobre o produto natural tanto do sistema 1,2,3-triazol, quanto das porções nitroimidazólicas, gerando os híbridos planejados em rendimentos adequados e de maneira satisfatória, como será discutido a seguir.

5.4.11 Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**21**)



Condições reacionais: (a) $C_6H_7NaO_6$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, EtOH/ H_2O (7:3), $40^\circ C$, 4h, 77%.

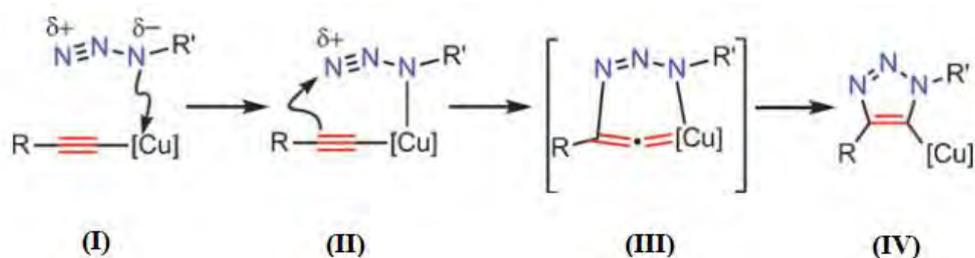
Esquema 46. Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol)-2-nitroimidazol (**21**).

A síntese do derivado **21**, ocorreu via reação de cicloadição entre azida e alcino catalisada por cobre (CuAAC), entre o intermediário **19**, contendo o alcino terminal e a azida **17**. Essa reação foi escolhida com base em alguns critérios essenciais, tais como: sua taxa de conversão é elevada, por um fator de 10^7 , em relação ao processo térmico (HIMO et al., 2005), o que permite seu emprego de forma rápida à temperatura ambiente e/ou abaixo dela, o que permitiu ser realizada a 40°C. As propriedades estereoelétrônicas dos grupos ligados ao alcino ou a azida, não afetam significativamente o desempenho da reação, até mesmo quando são utilizadas azidas primárias, secundárias e até terciárias, com deficiência em elétrons ou ricas em elétrons, alifáticas, aromáticas e heteroaromáticas podendo reagir bem com alcinos terminais contendo diferente grupos substituintes. A reação pode ocorrer em diferentes solventes, desde solventes próticos a apróticos, incluindo água, além disso, não há interferência por parte da maioria dos grupos funcionais orgânicos e inorgânicos, assim, elimina-se o uso de grupos protetores, nesse sentido, optou-se pela escolha da mistura de solventes EtOH/H₂O, que além de manterem, em nosso caso, o meio reacional homogêneo, são pouco tóxicos e ambientalmente amigáveis. Além do mais, essas condições reacionais em que se processa, permitem o total controle da regioselectividade (MELDAL & DINESS, 2020).

Ao se considerar os estados de oxidação do cobre (0, +1 e +2), o estado +1, termodinamicamente, é o menos estável. O íon Cu(I) pode ser facilmente oxidado a espécies catalíticas inativas de Cu(II). Ao observar seu potencial padrão de 159mV, Cu²⁺/Cu⁺, este pode sofrer variações consideráveis, a depender do tipo de solvente e ligantes coordenados ao cobre, e, esse fato, torna-se ainda mais complexo em meio aquoso. Uma vez que, o Cu(II) esteja presente em quantidades consideráveis para promover o acoplamento de alcinos, seu efeito durante o processo pode gerar subprodutos indesejados, dificultando a formação do triazol. Entretanto, quando o Cu(I) é usado em quantidades catalíticas, de modo direto, isolado ou em conjunto com ligantes de amina, a remoção de oxigênio torna-se necessária. Sobretudo, quando no meio reacional há presença de oxidantes brandos, a formação de intermediários triazol de cobre é favorável e a formação dos derivados ocorre em bons rendimentos. Neste sentido, o ascorbato usado nas reações, atua com um redutor suave, sendo de fundamental importância durante o ciclo reacional catalítico. A introdução deste agente redutor, feita por Fokin e colaboradores (FINN & FOKIN, 2010), configurou-se como alternativa prática às condições sem oxigênio. A combinação do ascorbato com um sal de cobre (II), como o sulfato de cobre (II) pentahidratado, estável ou acetato de cobre (II), tornou-se um método

para a síntese de derivados 1,2,3-triazóis amplamente utilizado. A água é capaz de estabilizar de forma adequada os acetiletos de cobre (I) em seu estado reativo, particularmente quando são gerados *in situ*. Assim, a água é um solvente ideal sob essas circunstâncias. Sendo assim, a geração de subprodutos ocasionada por reações oxidativas secundárias mediadas por cobre é restringida, pois qualquer espécie de dioxigênio dissolvido é prontamente reduzida. O emprego de ascorbato em meio aquoso fornece os produtos desejados, em altos rendimentos e elevada pureza, não havendo a necessidade de aditivos, ligantes ou métodos de proteção da mistura reacional de reações com o oxigênio (ROSTOVTSEV et al., 2002; NEUMANN et al., 2019).

Durante o processo reacional, o catalisador de cobre envolvido na reação, é capaz de alterar significativamente o modo de como a reação se processa, assim como o resultado da reação, pois a mesma, pode transcorrer em uma sequência de etapas discretas, que levam à formação de um intermediário cíclico de cobre-5-triazoil (**III**, **Esquema 47**). A etapa crucial para construção da ligação C-N ocorre entre o carbono- β nucleofílico de cobre (I), do tipo vinilideno, do acetileto de cobre(I), e o nitrogênio terminal eletrofílico da azida orgânica, coordenada ao átomo de cobre (**II**) (**Esquema 47**) (HEIN & FOKIN, 2010).



Esquema 47. Representação simplificada das etapas de formação de ligações C–N na reação de acetiletos de cobre(I) com azidas orgânicas.

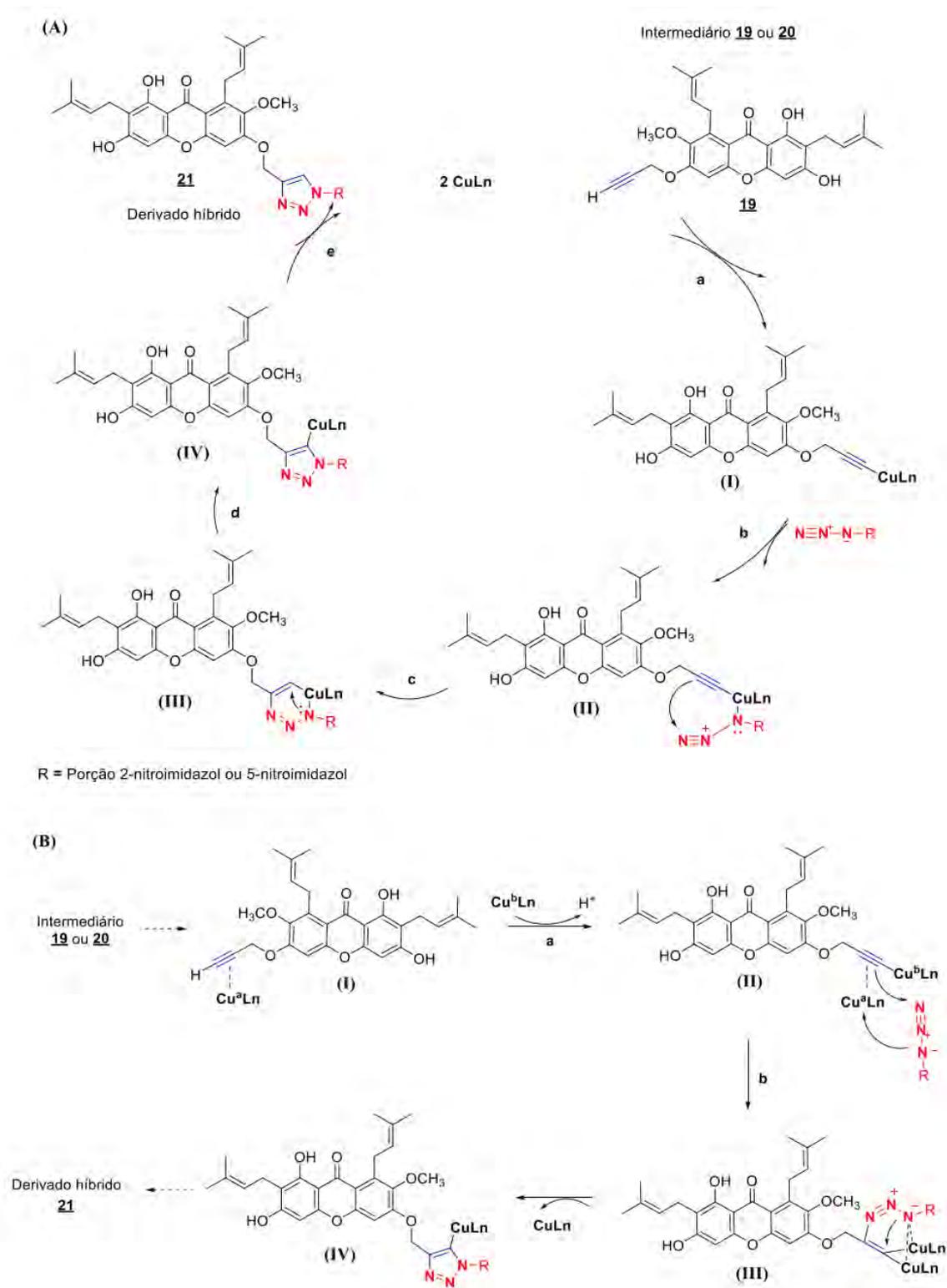
Dessa forma, o derivado híbrido **21**, planejado neste trabalho, foi construído, e teve a sua caracterização realizada por meio dos espectros de RMN. Em seu RMN 1H (**Espectro 64, pág. 126**), observa-se o sinal de deslocamento em δ 5,26 ppm, com integração para 2H, referente ao metileno $-CH_2-$ ligado ao oxigênio de sistema xantônico e à porção 1,2,3-triazoil. Os sinais verificados em δ 4,83 ppm e 4,93 ppm, com integração para 4H, correspondem à cadeia espaçadora, que conecta a porção 1,2,3-triazoil e o sistema 2-nitroimidazol. Além disso, foi identificado os hidrogênios desses sistemas

aromáticos inseridos, com sinais em 7,64 ppm com integração para 1H, sistema 1,2,3-triazol, e os dois hidrogênios, em 6,79 ppm e 6,91 ppm, contidos na porção 2-nitroimidazol. No espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 65, pág. 127**), nota-se o sinal em δ 62,14 ppm, atribuído ao carbono metilênico $-\text{CH}_2-$, que por sua vez, trata-se de um sinal de deslocamento químico esperado e coerente, por este carbono estar ligado ao átomo de oxigênio eletronegativo e ao sistema aromático 1,2,3-triazol. Os sinais em δ 49,45 ppm e δ 49,76 ppm são sinais dos dois carbonos metilenos da cadeia espaçadora. Foram identificados também os carbonos $-\text{CH}$ (metino), em δ 124,44 ppm; e em δ 154,93 ppm o carbono quaternário do sistema 1,2,3-triazol. Para a porção 2-nitroimidazol, observa-se os sinais de seus dois carbonos $-\text{CH}$ em δ 126,63 ppm e δ 128,50 ppm; e seu carbono quaternário em δ 143,59 ppm. Após as análises desses dados de RMN apresentados e os dados de massas (**Espectro 66, pág. 128**) m/z calculado para ($\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_8$): 630, massa observada ($\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_8 + 1\text{H}$): 631, assim, foi possível a caracterização inequívoca do derivado híbrido formado.

A seguir, no (**Esquema 48**), se encontra o mecanismo da reação CuAAC para a formação do derivado **21**. Esse mecanismo foi utilizado como exemplificação e, que, se aplica para os demais derivados da série, contendo os sistemas 1,2,3-triazol, e as respectivas porções 2-nitroimidazol e 5-nitroimidazol. Inicialmente, no mecanismo proposto, o átomo de Cu(I) mononuclear está intimamente envolvido na complexação. Na etapa inicial, (**etapa a**), ocorre a complexação entre os elétrons π do alcino **19** com o Cobre(I), com a consequente abstração do hidrogênio terminal do alcino **19**, dando origem ao acetileto de cobre, intermediário (**I**). Ao ocorrer essa complexação inicial, o cobre é capaz de diminuir o pK_a do alcino terminal, tornando possível que a desprotonação ocorra em meio aquoso. Logo, a azida 2-nitroimidazólica, **17**, ou azida 5-nitroimidazólica, **18**, podem ser ativadas, quando ocorre a coordenação ao Cobre, ao formar intermediário (**II**) (**etapa b**). O átomo de Cobre, além de aumentar a proximidade entre os reagentes, confere ao *N* terminal maior caráter eletrofílico, ficando o carbono em ligação ao oxigênio da tripla ligação mais nucleofílico. Esses fatores favorecem o ataque do carbono sobre o nitrogênio, para formar o intermediário metalociclo (**III**) (**etapa c**), sendo essa etapa determinante para definição da regioespecificidade da reação. Em seguida, ocorre a contração do anel, levando à formação da triazolila de Cobre (**IV**) (**etapa d**). Finalmente, ocorre a protonação do intermediário triazoila (**IV**) e a consequente formação do derivado híbrido 1,2,3-triazol **21**, com a concomitante

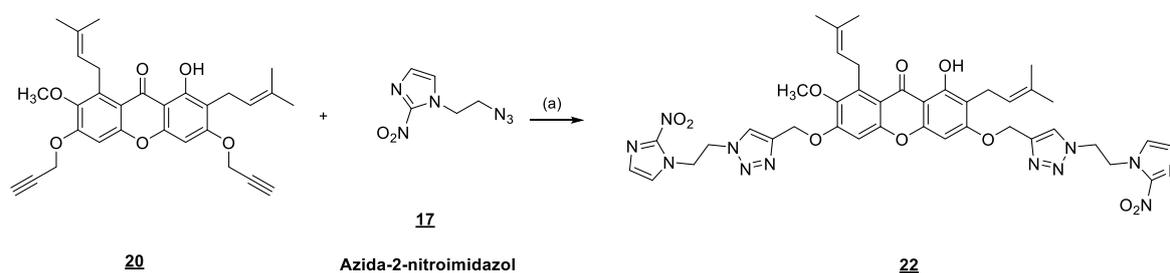
regeneração do catalisador (**etapa e**), fechando assim o ciclo catalítico (HEIN & FOKIN, 2010).

Posteriormente, estudos subsequentes, demonstraram que o mecanismo envolvido nesta reação era bem mais complexo e sugeriram a participação de complexos de Cu(I) dinucleares após análises de experimentos cinéticos (RODIONOV *et al.*, 2005) e computacionais (HIMO *et al.*, 2005; AHLQUIST & FOKIN 2007). Os estudos publicados por Fokins e colaboradores, os quais evidenciaram que o complexo de acetileno de Cu dinuclear (**II**) trata-se da espécie catalítica ativa e descrevem o mecanismo reacional baseado nos complexos dinucleares (WORRELL *et al.*, 2013) (**Esquema 48-B**). No mecanismo do esquema apresentado a seguir, o intermediário (**I**) se complexa com um outro íon de Cu^b seguida da desprotonação do mesmo (**etapa a**), desse modo, ocorre à formação do acetileno de Cu dinuclear (**II**). Na próxima etapa (**etapa b**), o nitrogênio nucleofílico se complexa com o Cu^a e o carbono da tripla ligação realiza o ataque ao nitrogênio eletrofílico, formando assim o intermediário dinuclear (**III**). Em seguida, ocorre a contração de anel, levando à formação do intermediário triazóila de cobre (**IV**), com a concomitante protonação do intermediário triazóila de cobre dando origem ao derivado híbrido 1,2,3-triazol de *a*-mangostina **21** (**Esquema 48**).



Esquema 48. A - Mecanismo de formação do sistema 1,2,3-triazol via CuAAC, baseado no envolvimento de complexos de Cu(I) mononuclear. (Adaptado de HEIN & FOKIN, 2010). B - Mecanismo da reação CuAAC baseado nos complexos dinucleares (Adaptado de WORRELL et al., 2013).

5.4.12 Síntese do derivado α -mangostina-3,6-bis-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**22**)



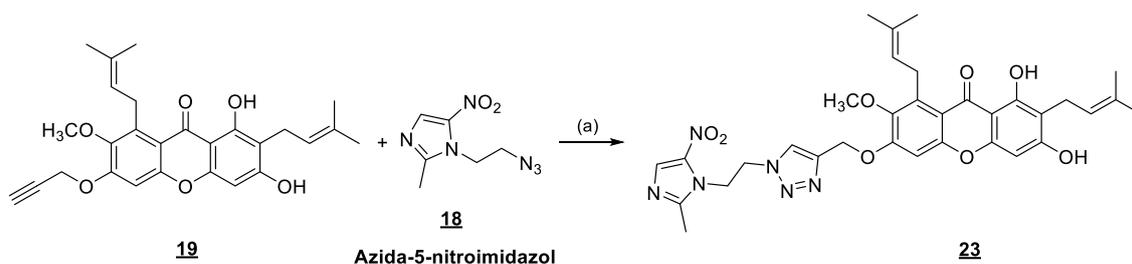
Condições reacionais: (a) $C_6H_7NaO_6$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, EtOH/ H_2O (7:3), 40°C, 4h, 83%.

Esquema 49. Síntese do híbrido α -mangostina-3,6-(1,2,3-triazol-2-nitroimidazol) (**22**).

Para a caracterização do híbrido **22**, observou-se os seguintes sinais no RMN 1H (**Espectro 67, pág. 131**): o sinal simpleto típico, com deslocamento em δ 5,33 ppm, 2H, que são os prótons metileno de $-CH_2-$ entre o oxigênio do núcleo xantônico e a porção 1,2,3-triazol; sinais multipletos em δ 4,89 – 4,92 ppm, com integração para 4H, que são hidrogênios referentes a cadeia espaçadora que conecta a porção 1,2,3-triazol e o sistema 2-nitroimidazol. Adicionalmente, observou-se ainda os hidrogênios pertencentes aos dois sistemas aromáticos, com sinais em 6,58 ppm para 1H, referente ao núcleo 1,2,3-triazol, além dos hidrogênios em 6,91 ppm e 7,60 ppm, sendo estes da porção 2-nitroimidazol. Já no espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 68, pág. 132**), nota-se o sinal característico em δ 49,60 ppm, devido ao carbono metilênico $-CH_2-$. Os sinais em δ 49,81 e δ 62,13 ppm, foram atribuídos aos carbonos metilênicos da cadeia espaçadora. Sinais para o metino $-CH$, em δ 124,18 ppm, e em δ 143,44 ppm o sinal referente ao carbono quaternário do sistema 1,2,3-triazólico. Para a porção 2-nitroimidazol, os sinais para os dois $-CH$ aparecem juntos em δ 126,69 ppm; e em δ 144,20 ppm, o carbono quaternário. Para a outra porção presente na estrutura do híbrido os sinais foram: RMN 1H (**Espectro 67, pág. 131**): o sinal simpleto em δ 5,31 ppm, com integração para 2H, devido aos prótons metilênicos $-CH_2-$ entre o oxigênio do núcleo xantônico e a porção 1,2,3-triazol, sinais multipletos entre δ 4,99 – 5,02 ppm, com integração para 4H, atribuídos aos hidrogênios da cadeia espaçadora, que faz a conexão entre os sistemas 1,2,3-triazol e o núcleo 2-nitroimidazol. Sinais para os hidrogênios dos sistemas aromáticos, com sinais em 6,61 ppm para 1H, sistema 1,2,3-triazol; e os hidrogênios em 6,92 ppm e 7,67 ppm, estes dois últimos sinais referentes à porção 2-nitroimidazol. No RMN ^{13}C (**Espectro 68, pág. 132**),

verificou-se o sinal para o metileno $-CH_2-$, em δ 49,64 ppm, além dos sinais em δ 49,81 ppm e δ 62,23 ppm, referentes aos carbonos da cadeia espaçadora. Além disso, observou-se os sinais para o carbono $-CH$, em δ 124,50 ppm; e em δ 143,44 ppm o sinal para o carbono quaternário (C) do sistema 1,2,3-triazol, e os sinais para os dois carbonos $-CH$ em δ 128,82 ppm e δ 144,20 ppm, dos carbonos quaternários para a porção 2-nitroimidazol. Através da análise destes dados, assim como os dados de massas (**Espectro 69; pág. 132**) m/z calculado para ($C_{40}H_{42}N_{12}O_{10}$): 850, massa observada ($C_{40}H_{42}N_{12}O_{10} + 1H$): 851, foi possível realizar a caracterização do derivado **22**, híbrido planejado entre a α -mangostina e o farmacóforo 2-nitroimidazol.

5.4.13 Síntese do derivado α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**23**)



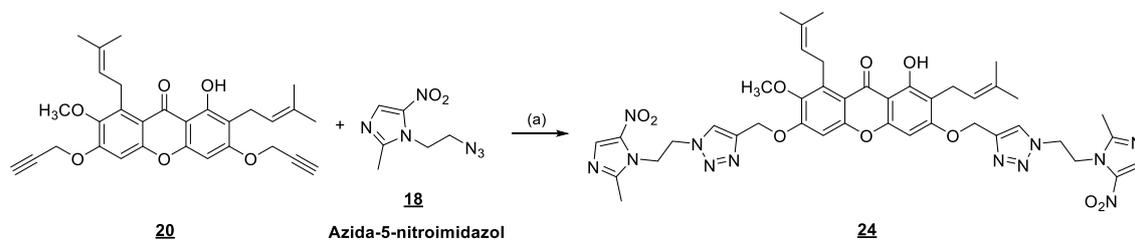
Condições reacionais: (a) $C_6H_7NaO_6$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, EtOH/ H_2O (7:3), t. a., 24h, 85%.

Esquema 50. Síntese do híbrido α -mangostina-6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**23**).

A mesma metodologia sintética mencionada para os híbridos anteriores foi aplicada para a obtenção do derivado contendo a porção 2-metil-5-nitroimidazol **23**, proveniente do fármaco metronidazol. Para a sua elucidação estrutural, foram analisados os principais sinais de deslocamentos químicos nos espectros de RMN. No RMN 1H (**Espectro 70, pág. 135**), observa-se a presença do sinal característico, com deslocamento em δ 5,34 ppm e integração para 2H, sendo este atribuído aos prótons do metileno $-CH_2-$ ligado ao átomo de oxigênio e ao grupo substituinte que foi inserido ao precursor. O sinal em δ 7,95 ppm, com integração para 1H, trata-se do hidrogênio aromático da porção 1,2,3-triazol. Também foram notados os dois sinais dos hidrogênios dos metilenos do grupo espaçador $-CH_2-CH_2-$, em δ 4,69 ppm e 4,87 ppm, com integração para 4H. Adicionalmente, observa-se os sinais característicos para os hidrogênios da porção 5-

nitroimidazol, em δ 8,17 ppm, 1H, para o hidrogênio aromático, além do sinal dos hidrogênios da metila ligada na posição 2 do anel, em δ 2,50 ppm, 3H. Para o fechamento da caracterização, no espectro de RMN ^{13}C (**Espectro 71, pág. 136**), observou-se o sinal do carbono metileno $-\text{CH}_2-$, em δ 61,84 ppm. Este carbono se encontra ligado ao oxigênio e ao sistema 1,2,3-triazol. Os sinais em δ 46,40 ppm e δ 49,03 ppm, foram atribuídos aos dois carbonos metilenos $-\text{CH}_2-$ da cadeia espaçadora. Foram observados ainda os carbonos $-\text{CH}$, em δ 125,97 ppm e em δ 142,32 ppm, devidos aos carbonos (C) quaternários da porção 1,2,3-triazol. Os carbonos que compõe a porção 5-nitroimidazol, foram atribuídos aos sinais em δ 133,26 ppm, referente ao metino $-\text{CH}$; os sinais dos dois carbonos quaternários, em δ 151,27 ppm e δ 156,50 ppm; além do sinal em δ 12,72 ppm referente à metila $-\text{CH}_3$, substituinte da posição 2 do anel heterocíclico. Dados de confirmação de massas (**Espectro 72, pág. 136**) m/z calculado para $(\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_8)$: 644, massa observada $(\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_8 + 1\text{H})$: 645. Assim, a estrutura molecular deste derivado foi devidamente confirmada.

5.4.14 Síntese do derivado α -mangostina-3,6-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**24**)



Condições reacionais: (a) $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ (7:3), t. a., 24h, 86%.

Esquema 51. Síntese do híbrido α -mangostina-3,6-bis-(1,2,3-triazol-5-nitroimidazol) (**24**).

A elucidação estrutural do derivado híbrido **24**, foi confirmada por seus dados de RMN. Destaca-se, em seu RMN ^1H (**Espectro 73, pág. 139**), o sinal em δ 5,38 ppm, com integração para 2H, referente aos prótons do metileno $-\text{CH}_2-$ ligado ao átomo de oxigênio fenólico e ao anel triazólico. O sinal observado em δ 8,00 ppm, com integração para 1H, foi atribuído ao hidrogênio aromático $-\text{CH}-$, presente no conector 1,2,3-triazol. Notou-se

os sinais para os hidrogênios do grupo espaçador, os quatro prótons do metileno -CH₂-, em δ 4,71 ppm, 4H. Observou-se o sinal para o hidrogênio da porção 5-nitroimidazol, em δ 8,19 ppm, 1H, e o sinal dos hidrogênios da metila em δ 1,59 ppm, 3H. No espectro de RMN ¹³C (**Espectro 74, pág. 140**), o sinal referente ao carbono metilênico -CH₂- em δ 61,89 ppm, sendo este o carbono ligado ao oxigênio fenólico e ao sistema 1,2,3-triazol. Observa-se ainda os sinais em δ 46,32 ppm e δ 48,93 ppm, para os dois carbonos metilenos -CH₂- da cadeia espaçadora. Foram também observados, os carbono -CH em δ 125,67 ppm, e em δ 142,50 ppm, carbono (C) quaternário, ambos da porção 1,2,3-triazol. Os carbonos para porção 5-nitroimidazol, foram observados em δ 133,265 ppm -CH, além dos sinais dos carbonos quaternários, em δ 142,50 ppm e δ 154,76 ppm, e o sinal em δ 12,74 ppm para a metila -CH₃. Para o outro grupamento, que inserido na outra posição da molécula, os sinais observáveis foram: RMN ¹H (**Espectro 73, pág. 139**), sinal em δ 5,31 ppm, com integração para 2H, referente aos prótons do metileno -CH₂- em ligação ao átomo de oxigênio e ao grupo substituinte. O sinal de hidrogênio aromático em δ 7,98 ppm, integração par 1H, além dos sinais para os hidrogênios do grupo espaçador, os quatro hidrogênios do metileno -CH₂-, em δ 4,88 ppm. O sinal para o hidrogênio da porção 5-nitroimidazol, em δ 8,15 ppm, 1H, e o sinal dos hidrogênios da metila, em δ 1,61 ppm, com integração para 3H. No espectro de RMN ¹³C (**Espectro 74, pág. 140**), observou-se o sinal do carbono metilênico -CH₂-, em δ 61,86 ppm, referente ao carbono ligado ao oxigênio fenólico e ao sistema 1,2,3-triazol. Observa-se ainda os sinais, em δ 46,34 ppm e δ 48,95 ppm, para os dois carbonos metilenos -CH₂- da cadeia espaçadora. Os sinais em δ 125,92 ppm e em δ 142,20 ppm, são referentes aos carbonos carbono -CH e (C) da porção 1,2,3-triazol. Os carbonos presentes na porção 5-nitroimidazol, apresentaram sinais em δ 133,29 ppm -CH, os sinais dos carbonos quaternários em δ 142,20 ppm e δ 154,63 ppm, além do sinal em δ 12,67 ppm, referente à metila -CH₃. Com a verificação desses principais sinais de deslocamentos químicos, e seus dados de massas (**Espectro 75, pág. 140**) m/z calculado para (C₄₂H₄₆N₁₂O₁₀): 878, massa observada (C₄₂H₄₆N₁₂O₁₀ + 1H): 879, foi possível a caracterização do híbrido **24**. Todos os sinais apresentaram multiplicidades simpleto. Todos os espectros foram analisados e comparados com o espectro simulado pelo programa ACD Labs 6.0.

5.5 Atividade biológica anti-*T. cruzi*

No estudo de atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, foi utilizada a cepa (Tulahuen C2C4 LacZ), a qual foi transfectada para conter o gene de *E. coli*, que é responsável por expressar a enzima β -galactosidase. A estratégia de utilização desta cepa, se deve ao fato de que a β -galactosidase se encontra apenas nas células do *T. cruzi* e não nas células hospedeiras, sendo assim possível a quantificação indireta do parasito mediante a hidrólise enzimática do reagente CPRG. Dessa maneira, a quantificação da viabilidade do parasito pode ser feita através do método colorimétrico, ainda que o mesmo se encontre no interior das células de seu hospedeiro (BUCKNER et al., 1996). Desta forma, torna-se possível a quantificação indireta de amastigotas intracelulares, sem a interferência das células hospedeiras viáveis. Como a forma amastigota é a forma evolutiva do parasita de maior importância clínica, esta metodologia constitui-se numa importante ferramenta para a avaliação de moléculas, num ensaio de grande vazão.

Para a determinação da atividade dos derivados diretos e dos híbridos de α -mangostina, as células hospedeiras utilizadas foi a LLC-MK2. As células foram infectadas com as formas tripomastigotas *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ), e foram incubadas em estufa a 37°C e 5% CO₂, e após o período de 24h os parasitos não internalizados foram removidos. Logo, realizou-se o tratamento com os compostos e, então, o tratamento foi incubado por 120h a 37°C e 5% CO₂. A viabilidade do parasito foi determinada por meio da hidrólise enzimática do CPRG (BUCKNER et al., 1996). Na avaliação da citotoxicidade dos compostos sobre as células LLC-MK2, sem estarem infectadas, as condições de tratamento foram as mesmas, no caso das células, o reagente colorimétrico usado foi o sal de MTT, que é capaz de avaliar a atividade mitocondrial de células viáveis (KUMAR et al., 2018).

5.5.1 Atividade dos derivados diretos de α -mangostina contra o *T. cruzi*

Na **Tabela 29**, encontram-se os resultados obtidos na avaliação do produto natural e dos derivados diretos de α -mangostina **2** frente a amastigotas de *T. cruzi*. Para o

derivado **3**, onde foi realizada a redução das prenilas, em relação à atividade em formas amastigotas, houve redução na ação e, isto, ocorre quando se avalia o perfil de atividade final que, levando-se em consideração o índice de seletividade observado, a eficácia da ação é diminuída. Essa observação, indica que a manutenção das duplas ligações nas prenilas são de algum modo importantes para a atividade, pois a redução das prenilas ao ocasionar diminuição da lipofelicidade, pode acarretar em perda de interações de caráter hidrofóbico fundamentais para uma boa atividade. No caso dos derivados *O*-metilados (**4a** e **4b**), vemos uma variação importante de atividade. Para derivado **4a**, no qual as duas hidroxilas fenólicas foram substituídas, foi observada a perda total de atividade tripanocida, evidenciando a importância do fenol livre para a atividade estudada. Em contrapartida, e de forma complementar, o derivado **4b**, onde houve a substituição de apenas uma das hidroxilas fenólicas, ou seja, aquela com menor valor de pKa, observa-se a manutenção da atividade tripanocida e, adicionalmente, a elevação o índice de seletividade, que passou de IS= 4,3 para o produto natural, para IS= 7,5, ou seja, um incremento considerável no perfil de atividade biológica. Essas evidências demonstram que a posição em que o substituinte é alocado, assim como a posição onde a hidroxila fenólica se encontra, são fatores essenciais para o efeito tripanocida desejado e para a redução dos efeitos citotóxicos frente à célula hospedeira. Quanto aos derivados de ciclização da prenila presente no anel A da xantona natural, os derivados tetracíclicos **5** e **6**, observamos para o composto cíclico **5**, onde o anel formado é totalmente saturado, uma diminuição na atividade tripanocida, quando comparado ao seu análogo insaturado, o derivado **6**. Esta observação aponta que mesmo nos derivados de ciclização, a presença da dupla ligação se faz importante, talvez por implementar uma rigidez adicional nesta porção da molécula, no anel recém homologado à estrutura, facilitando assim algum tipo de interação adicional com um biorreceptor hipotético. No caso do composto **7a**, produto parcialmente acetilado, onde a hidroxila fenólica que se encontra em ligação de hidrogênio com a carbonila permanece livre, observa-se uma redução de atividade. Por outro lado, o derivado **7b** peracetilado, em que todas as hidroxilas foram substituídas por grupamentos acetatos, observa-se o ressurgimento da atividade. É bem possível que, a presença desses grupos possa favorecer parâmetros físico-químicos que irão influenciar no perfil de citotoxicidade. É sabido, como já discutido anteriormente, que polifenóis acetilados podem funcionar como pró-fármacos dos precursores com as hidroxilas fenólicas livres (MUNIN & EDWARDS-LÉVY, 2011), de forma que a presença dos grupos acetil favorecem a permeação da molécula através das membranas celulares, tanto

da célula hospedeira, quanto do parasita, sendo então o polifenol livre liberado no ambiente intracelular, devido à conhecida labilidade da função éster, tanto do ponto de vista químico quanto enzimático (WU, 2009; AHMED et al., 2016). Desse modo, o tipo de substituintes, suas características estruturais, a manutenção de grupos ou porções na estrutura do composto natural de origem, podem, de algum modo, influenciar significativamente a atividade. Deve-se também levar em consideração que a modulação de parâmetros que estão diretamente relacionados aos modos de interações com alvos possíveis moleculares, devem ser avaliados e ajustados, mediante as modificações estruturais realizadas e, assim, tornar possível o desenvolvimento e melhoramento do perfil de atividade. Portanto, o conhecimento dessas informações, como a determinação dos principais alvos para serem estudados, nos fornecerão subsídios fundamentais para planejamentos de modificações estruturais futuras (DHARMARATNE et al., 2013).

Tabela 29. Atividades dos derivados (**3** – **7b**) de α -mangostina **2** contra amastigotas de *T. cruzi*, e suas respectivas citotoxicidades frente à célula hospedeira LLC-MK2.

Compostos	<i>T. cruzi</i> (amastigotas) IC ₅₀ (μM)	LLC-MK2 IC ₅₀ (μM)	Índice de Seletividade
2	3,40 ± 0,3	14,5 ± 1,5	4,3
3	2,80 ± 1,5	10,0 ± 0,2	3,57
4a	>50	>50	-
4b	3,10 ± 1,2	23,1 ± 1,3	7,5
5	11,5 ± 0,5	21,3 ± 1,7	1,85
6	7,01 ± 1,8	16,8 ± 5,4	2,4
7a	52,4 ± 0,5	>100	>1,90
7b	2,65 ± 0,9	11,00 ± 0,7	4,16
Bnz*	1,30 ± 0,2	>50	>38,7

*Fármaco de referência benznidazol.

Para os ensaios de atividade tripanocida dos derivados de α -mangostina, obtidos via reação de Mannich (**Tabela 30**), os ensaios foram realizados na concentração inicial de 100 μM. Os dados descritos são de percentual de viabilidade celular, em função do controle não tratado. Como pode ser observado, no caso dos derivados mono-substituídos em posição C-4 do sistema xantônico, o derivado **8a**, que contém a porção morfolina, assim como o produto **9a**, contendo a porção tiomorfolina, nota-se um perfil citotóxico bastante agudo, afetando tanto as células hospedeiras (LLC-MK2) quanto os parasitos. Cabe ressaltar, que o derivado **8a** ainda foi avaliado na concentração de 50μM, e a toxidez ainda se manteve elevada. Por outro lado, para os seus análogos **8b** e **9b**, que são os

respectivos produtos de *bis*-substituições em posições C-4 e C-5 do núcleo xantônico, observa-se um efeito de atividade mais direcionados ao *T. cruzi*, mas ainda sutil. Essas observações apontam para o fato de que, apesar dessas condições dos produtos testados, quando substituídos nessas duas posições levarem ao surgimento de atividade tripanocida, o efeito citotóxico é também muito elevado. Contudo, a análise detalhada desses efeitos demonstra que grupos substituintes com características químicas diferentes poderiam ser alocados nessas regiões e, desse modo, tornando possível a realização de um estudo mais aprofundado, direcionado à relação estrutura atividade e, assim, traçar um perfil de atividade mais completo e direcionado. Mas, devido aos resultados obtidos com os derivados de Mannich, esta série de derivados, por hora, não foi explorada de maneira mais aprofundada.

Tabela 30. Viabilidade percentual dos derivados (**8a** - **9b**) de α -mangostina **2**, relativo ao controle não tratado.

Compostos	<i>T. cruzi</i> (amastigotas)	LLC-MK2
8a	2,0% \pm 1,0%	4,0% \pm 1,0%
8b	79,5% \pm 3,3%	86,9% \pm 1,0%
9a	15,6% \pm 1,2%	1,1% \pm 0,4%
9b	32,0% \pm 1,3	35,0% \pm 12,8%

5.5.2 Atividade dos derivados híbridos de α -mangostina contra o *T. cruzi*

A seguir, encontram-se os resultados para os derivados híbridos contendo as porções 2-nitroimidazol e 5-nitroimidazol, além dos híbridos que possuem o sistema 1,2,3-triazol, compreendendo tanto os produtos de *mono*-substituição quanto os *bis*-substituídos, testados a concentração de 50 μ M a 0,4 μ M (**Figura 33** e **Figura 34**).

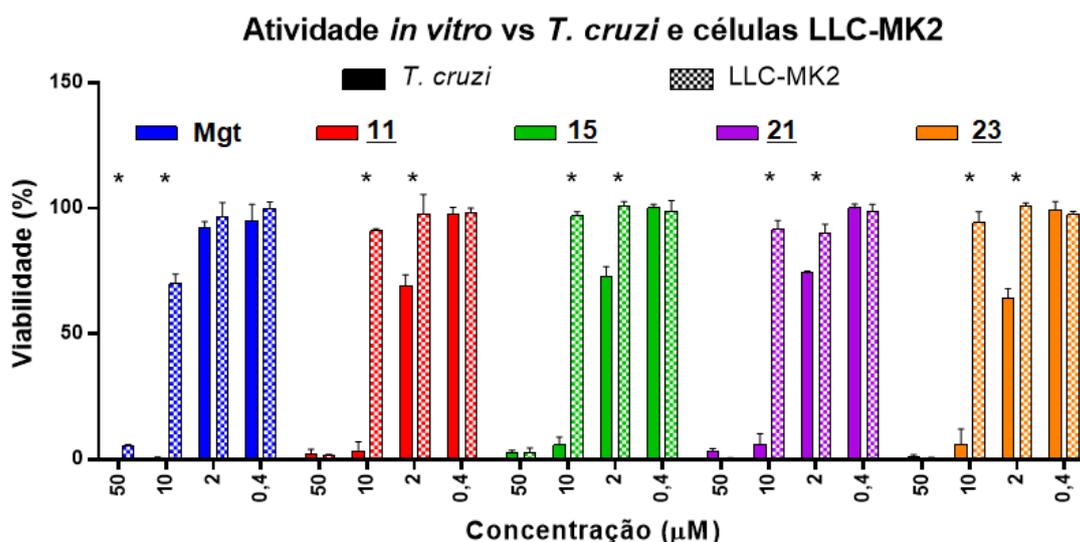


Figura 33. Gráfico de viabilidade percentual média (n = 3) após o tratamento com α -mangostina (Mgt) e híbridos *mono*-substituídos. Viabilidade de amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ) (barras sólidas), determinada pela clivagem enzimática de CPRG. Viabilidade de células hospedeiras LLC-MK2 (barras quadriculadas), determinada pelo método MTT. * = P < 0,05.

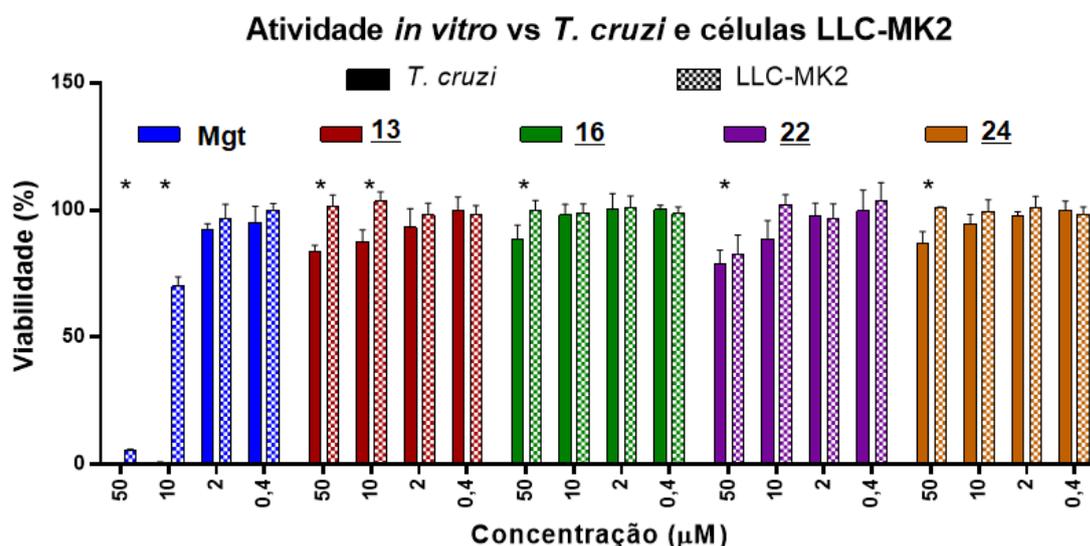


Figura 34. Gráfico de viabilidade percentual média (n = 3) após o tratamento com α -mangostina (Mgt) e híbridos *bis*-substituídos. Viabilidade de amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ) (barras sólidas), determinada pela clivagem enzimática de CPRG. Viabilidade de células hospedeiras LLC-MK2 (barras quadriculadas), determinada pelo método MTT. * = P < 0,05.

Tabela 31. Valores médios com desvios padrão de viabilidade celular, após o tratamento a 10µM com híbridos *mono*-substituídos (**11**, **15**, **21**, **23**) e *bis*-substituídos (**13**, **16**, **22**, **24**) relativa aos controles não-tratados de amastigotas de *T. cruzi* e de células LLC-MK2.

Compostos	<i>T. cruzi</i> (amastigotas)	LLC-MK2
	Média ^a ± σ ^b	Média ^a ± σ ^b
Mgt	0,6 ± 0,2	69,9 ± 3,9
11 *	3,3 ± 3,6	91,1 ± 0,8
15 *	5,6 ± 1,3	96,8 ± 1,9
21 *	5,4 ± 1,2	91,6 ± 3,5
23 *	6,4 ± 1,0	94,3 ± 4,4
13	87,7 ± 4,5	103,4 ± 3,7
16	98,2 ± 4,1	98,8 ± 3,7
22	88,4 ± 7,5	102,1 ± 4,0
24	96,4 ± 3,7	99,6 ± 4,4
Bnz **	2,1 ± 0,2	93,6 ± 7,7

^a Valores percentuais médios de três experimentos independentes;

^b σ = desvio padrão.

*Derivados com perfil de citotoxicidade promissora

**Fármaco de referência benznidazol.

Analisando os resultados mostrados nos gráficos (**Figura 33** e **Figura 34**) e na (**Tabela 31**), vemos que na concentração de 10µM os derivados *bis*-substituídos, quando comparados ao seu precursor, assim como ao fármaco de referência, não se mostraram efetivos em nenhuma concentração testada. Nesse contexto, ao se considerar a regra de Lipinsk, que estabelece que a má absorção ou permeação é mais provável quando se tem mais de 5 doadores de ligações de H, mais de 10 aceptores de ligações de H, coeficiente de partição (clog P) maior que 5 e peso molecular superior a 500. Tal regra, torna possível determinar se uma dada substância biologicamente ativa pode apresentar propriedades físico-químicas de biodisponibilidade adequadas e, a violação de dois ou mais destes princípios, prevê-se uma molécula com propriedades farmacocinéticas não apreciável. Cabe ressaltar que, quando a regra dos 5 foi desenvolvida, o conhecimento e a compreensão sobre transportadores de fármacos e demais xenobióticos eram limitados. Desse modo, a regra vale especificamente para compostos que não são substratos para transportadores ativos (LIPINSKI et al., 2001).

Utilizando a regra de Lipinsk de modo preliminar, ao se considerar os pesos moleculares dos derivados *bis*-substituídos (**13**, **16**, **22**, **24**), variando de 688 a 878 g/mol,

é possível, em um primeiro momento de avaliação, que o elevado peso dessas moléculas seja prejudicial para a atividade biológica pretendida. Esse fator, nesse caso, pode ser determinante para a permeabilidade desses compostos, o que pode estar impactando negativamente no perfil citotóxico, para real confirmação da inatividade dessas moléculas estudos futuros serão realizados. Em contrapartida, produtos *mono*-substituídos (**11**, **15**, **21**, **23**) se mostraram bem ativos, especialmente, na concentração de 10µM. Embora seus pesos moleculares variem de 549 a 644 g/mol e, isto, *a priori* contraria a regra de Lipinski, logo, outros métodos de análises mais específicos e de maior precisão serão utilizados futuramente. Uma observação muito interessante e, que, deve ser considerada, é que, a manutenção da hidroxila em posição C-3, novamente, parece ter um papel de grande importância para o desenvolvimento da atividade e, quando, em associação com os grupos farmacofóricos contidos nesses derivados, favorece o surgimento de uma atividade citotóxica bastante promissora.

Os valores de concentração inibitória (IC₅₀) calculados e os índices de seletividades na **Tabela 32**, demonstram o perfil de citotoxicidade promissor para os derivados híbridos sintetizados, especialmente os derivados *mono*-substituídos. Em virtude das concentrações utilizadas nas avaliações realizadas, posteriormente, estas moléculas serão reavaliadas com maior número de pontos, permitindo assim o cálculo de valores de IC₅₀ estatisticamente mais refinados.

Tabela 32. Valores médios de CI₅₀ observados após o tratamento de amastigotas intracelulares de *T. cruzi* e de células LLC-MK2 para os derivados híbridos nitroimidazólicos de α -mangostina, e seus respectivos índices de seletividade (IS).

Compostos	<i>T. cruzi</i> (amastigotas)	LLC-MK2	(IS)
	IC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (µM)	
Mgt	3,40 ± 0,3	14,5 ± 1,5	4,3
11 *	2,6 ± 0,4	38,3 ± 0,8	14,9
15 *	3,2 ± 1,4	33,0 ± 5,9	10,3
21 *	2,8 ± 0,7	34,4 ± 1,6	12,3
23 *	2,1 ± 0,1	31,5 ± 1,1	15,2
13	>50	>50	-
16	>50	>50	-
22	>50	>50	-
24	>50	>50	-
Bnz **	1,3 ± 0,2	>50	>38,7

*Derivados com perfil de citotoxicidade promissora

**Fármaco de referência benznidazol.

Todos os derivados encaminhados para ensaios biológicos tiveram seus graus de pureza previamente avaliados por CLAE-DAD, apresentando valores iguais ou superiores a 95%. A versatilidade desses híbridos, do ponto de vista das possibilidades de interações moleculares, é uma das observações particularmente interessante. O grau de afinidade e a especificidade da ligação micromolécula-receptor (neste caso um biorreceptor hipotético, visto ainda não termos realizado estudos sobre os possíveis alvos) são determinados por interações intermoleculares e, nesse sentido, esses derivados podem desenvolver interações do tipo ligações de hidrogênios, atuando tanto como acceptor e como doador de ligações de H; interações hidrofóbicas como discutido e descrito na literatura para o aspecto da importância dos grupos prenilas; interações do tipo dipolo-dipolo. Adicionalmente, sistemas de anéis aromáticos e heteroaromáticos, que podem ser encontrados na grande maioria dos fármacos e também na estrutura dos aminoácidos naturais, os quais, geralmente, estão intimamente envolvidos no processo de reconhecimento molecular ligante-biorreceptor, por meio de interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo como: empilhamento- π , empilhamento-T, ou mesmo interações íon-dipolo, denominadas de cátion- π (COCKROFT et al., 2007). Logo, os tipos de interações, os sistemas aromáticos que compõem a estrutura desses híbridos, podem favorecer as atividades dos derivados (15, 21, 23), sendo o perfil de atividade destes bem similar. Já para o híbrido 11, nota-se uma ação citotóxica um pouco mais acentuada, comparada aos demais e, muito próxima ao fármaco benznidazol. É bem provável que, estes derivados híbridos possam interagir com transportadores bioativos e, isso, poderia estar favorecendo sua capacidade de permeação, aumentando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, contribuindo para maior atividade. Cabe salientar que, o derivado 11, dentre os mais ativos, foi o único que teve seu peso molecular próximo do valor ideal, segundo a regra de Lipinski, sendo este um dos aspectos favoráveis para sua melhor atividade.

6 CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho evidenciaram o grande potencial que o produto natural, α -mangostina, apresenta como matéria-prima ao desenvolvimento de compostos promissores, inclusive na geração de uma nova classe de derivados híbridos inéditos. Dentre as metodologias de extração e purificação aplicadas, o método utilizado com o emprego do equipamento *Flash-isolera* foi bastante eficiente, levando em consideração aspectos como redução no tempo de execução, menores quantidades de solventes utilizados, além de todo processo de purificação ocorrer em um tempo significativamente reduzido.

Os derivados diretos obtidos mostraram um melhor perfil de atividade contra as formas amastigotas, particularmente o derivado **4b**, *O*-metilado em apenas uma posição das hidroxilas de α -mangostina. Neste derivado verificou-se um efeito citotóxico muito promissor, aliado a um índice de seletividade otimizado em relação ao precursor natural. Já para o caso dos derivados híbridos, contendo os grupamentos 2-nitroimidazol ou 5-nitroimidazol, além do sistema 1,2,3-triazol, quando eram produtos de *bis*-substituição, estes não foram ativos. Em contrapartida, os híbridos de *mono*-substituição (**11**, **15**, **21**, **23**), apresentaram um efeito promissor sobre a viabilidade do parasito, com dados bastante significativos, sendo estas moléculas candidatas a maiores investigações.

As informações obtidas nesse estudo, apontam para fatores que são determinantes para a atividade tripanocida pretendida, ou seja, a versatilidade de α -mangostina permite um gama de variações estruturais, mas existem grupos em sua estrutura que são primordiais, e a sua manutenção deve ser considerada. Logo, a modulação de alterações pontualmente planejadas é de extrema importância e se faz necessária para se alcançar o efeito desejado, de maneira que poderá influenciar os principais parâmetros da farmacocinética e farmacodinâmica, quando o objetivo é a obtenção de um novo candidato a fármaco com aplicação no tratamento da doença de Chagas. Desse modo, a α -mangostina possibilita a geração de *hits* moleculares muito promissores, a serem investigados contra as diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*.

Encontram-se em andamento, em colaboração com a Fiocruz-RJ, estudos de microscopia eletrônica (MEV e MET), em epimastigotas e amastigotas de *T. cruzi*, que

poderão nos apontar, de acordo com as alterações ultraestruturais observadas, os prováveis mecanismos de ação do produto natural e de seus derivados mais ativos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFLAK, N.; BEM, E. L.; AYOUCHEA, H.; BAHISIS, L.; ANANE, H.; JULVE, M.; STIRIBA, S. E. Recent Advances in Copper-Based Solid Heterogeneous Catalysts for Azide-Alkyne Cycloaddition Reactions. **Int J Mol Sci.**, v. 23, p. 2383, 2022.

AHLQUIST, M.; FOKIN, V. V. Enhanced reactivity of dinuclear copper(I) acetylides in dipolar cycloadditions. **Organometallics**, v. 26, p. 4389-4391, 2007.

AHMED, R. S. I.; LIU, G.; RENZETTI, A.; FARSHI, P.; YANG, H.; SOAVE, C.; DOU, Q. P. Biological and Mechanistic Characterization of Novel Prodrugs of Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Analogs in Human Leiomyoma Cell Lines. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 117, p. 2357–2369, 2016.

AIZAT, W. M.; AHMAD-HASHIM, F. H.; SYED JAAFAR, S. N. Valorization of mangosteen, “The Queen of Fruits,” and new advances in postharvest and in food and engineering applications: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 20, p. 61–70, 2019.

AIZAT, W. M.; JAMIL, I. N.; AHMAD-HASHIM, F. H.; NOOR, N. M.; Recent updates on metabolite composition and medicinal benefits of mangosteen plant. **Peer J**, 7, e6324, 2019.

AKAWA, O. B., SUBAIR, T. I., SOREMEKUN, O. S., OLOTU, F. A., & SOLIMAN, M. E. S. Structural alterations in the catalytic core of hSIRT2 enzyme predict therapeutic benefits of *Garcinia mangostana* derivatives in Alzheimer’s disease: molecular dynamics simulation study. **RSC Advances**, v. 11, p. 8003–8018, 2021.

AL-MASSARANI, S. et al. Phytochemical, Antimicrobial and Antiprotozoal Evaluation of *Garcinia Mangostana* Pericarp and α -Mangostin, Its Major Xanthone Derivative. **Molecules**, v. 18, p. 10599–10608, 2013.

ALSHARIF, M. A.; RAJA, Q. A.; MAJEED, N. A.; JASSAS, R. S.; ALSIMAREE, A. A.; SADIQ, A.; NAEEM, N.; MUGHAL, E. U.; ALSANTALI, R. I.; MOUSSA, Z.; AHMED, S. A. DDQ as a versatile and easily recyclable oxidant: a systematic review. **RSC Adv.**, v. 47, p. 29826-29858, 2021.

AMBLARD, M.; FEHRENTZ, J. A.; MARTINEZ, J.; SUBRA, G. Methods and protocols of modern solid phase Peptide synthesis. **Mol Biotechnol.**, v. 33, p. 239-254, 2006.

AMES, B. N, GOLD, L. S. Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogens. **Proc. Natl Acad. Sci.**, v. 87, p.7776, 1990.

ANASTAS, P & EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, p. 301-312, 2010.

ANDREU, G. L. P.; MAURMANN, N.; REOLON, G. K.; DE FARIAS, C. B.; SCHWARTSMANN, G.; DELGADO, R.; ROESLER, R. Mangiferin, a naturally occurring glucoxilxanthone improves long-term object recognition memory in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 635, p. 124–128, 2010.

- ATANASOV, A. G. et al Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 1582–1614, 2015.
- ATANASOV, A. G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V. M.; SUPURAN C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, p. 200–216, 2021.
- ATKINSON, J. E.; GUPTA, P.; LEWIS, J. R. Benzophenone participation in xanthone biosynthesis (Gentianaceae). **Chemical Communications (London)**, v. 22, p. 1386, 1968.
- AUSTIN, M. B.; NOEL, J. P. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. **Natural Product Reports**, v. 20, p. 79–110, 2002.
- AVULA, S. K.; RAZA SHAH, S.; AL-HOSNI, K.; U. ANWAR, M.; CSUK, R.; DAS, B.; AL-HARRASI, A. Synthesis and antimicrobial activity of 1*H*-1,2,3-triazole and carboxylate analogues of metronidazole. **Beilstein J. Org. Chem.**, v. 17, p. 2377–2384, 2021.
- AZWANIDA, N. N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. **Med Aromat Plants**, v. 4, p. 196, 2015.
- BALUNAS, M. J.; SU, B.; BRUEGGEMEIER, R. W.; KINGHORN, A. D. Xanthonenes from the Botanical Dietary Supplement Mangosteen (*Garcinia mangostana*) with Aromatase Inhibitory Activity. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 1161–1166, 2008.
- BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. Em: **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3a ed., Artmed, Porto Alegre, 2015.
- BASTRAKOV, M.; STAROSOTNIKOV, A. Recent Progress in the Synthesis of Drugs and Bioactive Molecules Incorporating Nitro(het)arene Core. **Pharmaceuticals (Basel)**, v. 15, p. 705, 2022.
- BEERHUES L. Benzophenone synthase from cultured cells of *Centaurium erythraea*. **FEBS Letters**, v. 383, p. 264–266, 1996.
- BEERHUES, L. Biosynthesis of the active *Hypericum perforatum* constituents In Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology: Odabas, M. S., Çirak C., eds.; **Global Science Books**: Islework, 2011.
- BEHRENDT, R.; WHITE, P.; OFFER, J. Advances in Fmoc solid-phase peptide synthesis. **J. Pept. Sci.**, v. 22, p. 4–27, 2016.
- BENDER, B. J. et al. A practical guide to large-scale docking. **Nat Protoc.**, v. 16, p. 4799–4832, 2021.
- BENNETT, G. J.; LEE, H. H. Xanthonenes from guttiferae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 967–998, 1989.
- BERMUDEZ, J. et al. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. **Acta Trop.** V. 156, p. 1-16, 2016.
- BERRY, D. J.; DIGIOVANNA, C. V.; METRICK, S. S.; MURUGAN, R. 2001. Catalysis by 4-dialkylaminopyridines. **Arkivoc.**, v. 2, p. 964, 2001.
- BHATIA, V. K.; RAMANATHAN, J. D.; SESHADRI, T. R. Constitution of mangiferin. **Tetrahedron**, v. 23, p. 1363–1368, 1967.

BISHOP, T & SHAM, P. editors. Analysis of multifactorial diseases. Oxford: **Bios Scientific**; 2000.

BISWAS, S.C. & SEN, R.K. X-ray crystallographic studies of xanthenes. **Indian J. Pure Appl. Phys.**, V. 20, p. 414, 1982.

BUCKNER, F. S. et al. Efficient technique for screening drugs for activity Against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 40, p. 2592-2597, 1996.

BURAVLEV, E. V.; SHEVCHENKO, O. G.; KUTCHIN, A. V. Synthesis and membrane-protective activity of novel derivatives of α -mangostin at the C-4 position. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 826–829, 2015; BURAVLEV, E. V., SHEVCHENKO, O. G., ANISIMOV, A. A., & SUPONITSKY, K. Y. Novel Mannich bases of α - and γ -mangostins: Synthesis and evaluation of antioxidant and membrane-protective activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 152, p. 10–20, 2018.

CABRERA, M. et al. Cytotoxic, mutagenic and genotoxic effects of new anti-T. cruzi 5-phenylethenylbenzofuroxans. Contribution of Phase I metabolites on the mutagenicity induction. **Toxicol. Lett.**, v. 190, p. 149, 2009.

CHAGAS, Carlos. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHAVAN, T & MUTH A. The diverse bioactivity of α -mangostin and its therapeutic implications, **Future Med Chem.**, v. 13, p. 1679, 2021.

CHENG, F.; LI, W.; LIU, G.; TANG, Y. Natural product and natural product derived drugs in clinical trials **Curr. Top. Med. Chem.** (Sharjah, United Arab Emirates), v. 13, p. 1273, 2013.

CHENG, W.; ZHU, S.; MA, X.; QIU, N.; PENG, P.; SHENG, R.; HU, Y. Design, synthesis and biological evaluation of 6-(nitroimidazole-1H-alkyloxy)-4-anilinoquinazolines as efficient EGFR inhibitors exerting cytotoxic effects both under normoxia and hypoxia. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 89, p. 826–834, 2015.

CHI, X. et al. Design, synthesis and structure–activity relationships of mangostin analogs as cytotoxic agents. **RSC Advances**, v. 8, p. 41377–41388, 2018.

CHIN, Y. W.; JUNG, H. A.; CHAI, H.; KELLER, W. J.; KINGHORN, A. D. Xanthenes with quinone reductase-inducing activity from the fruits of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). **Phytochemistry**, v. 69, p. 754–758, 2008.

COCKROFT, S. L.; PERKINS, J.; ZONTA, C.; ADAMS, H.; SPEY, S. E.; LOW, C. M., et al. Substituent effects on aromatic stacking interactions. **Org Biomol Chem.**, v. 5, p. 1080, 2007.

CORRADINI, F.; MARCHESELLI, L.; TASSI, L.; TOSI, G. Static dielectric constants of the N, N-dimethylformamide/2-methoxyethanol solvent system at various temperatures. **Can J Chem.**, v. 70, p. 2899, 1992.

COURA, J.R.; CASTRO, S. L. A critical review on Chagas disease chemotherapy. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 3-24, 2002.

- CROSSLAND, R. K.; SERVIS, K. I. A facile synthesis of methanesulfonate esters. **J. Org. Chem.**, v. 35, p. 3195-3196, 1970.
- DAVID, B.; WOLFENDER, J. L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 299–315, 2015.
- DE ALCÂNTARA PINTO, D. C.; PITASSE-SANTOS, P.; DE SOUZA, G. A.; CASTRO, R. N.; FREIRE DE LIMA, M. E. Peracetylation of polyphenols under rapid and mild reaction conditions. **Nat Prod Res.**, v. 24, p. 1-6, 2022.
- DE MELLO, R. F. A. et al. A fast and efficient preparative method for separation and purification of main bioactive xanthenes from the waste of *Garcinia mangostana* L. by high-speed countercurrent chromatography. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, p. 103252, 2021.
- DE SOUZA, Rita de Cássia Moreira et al. Chagas disease in the context of the 2030 agenda: Global warming and vectors. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 116, p. e200479, 2021.
- DESIMONE, W. R.; CURRIE, K. S.; MITCHELL, S. A.; DARROW, J. W.; PIPPIN, D. A. Privileged Structures: Applications in Drug Discovery. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 7, p. 473-493, 2004.
- DHARMARATNE, H. R. W.; SAKAGAMI, Y.; PIYASENA, K. G. P.; THEVANESAM, V. Antibacterial activity of xanthenes from (*Garcinia mangostana* L.) and their structure–activity relationship studies. **Natural Product Research**, v. 27, p. 938–941, 2013.
- DIAS, L.C. et al. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Quím. Nova**, v. 32, p. 2444-2457, 2009.
- DO SACRAMENTO, C. K. et al. Cultivo do mangostão no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 195–203, 2007.
- DOCAMPO, R. Sensitivity of Parasites to free radical damage by antiparasitic drugs. **Chemical and Biological Interactions**, v.73, p. 27, 1990.
- DOS SANTOS, W. G. Natural History of COVID-19 and Current Knowledge on Treatment Therapeutic Options. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 110493, 2020.
- DRAG, M. & SALVESEN, G. S. Emerging principles in protease-based drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, p. 690 - 701, 2010.
- DRUGBANK, C. A. [S. l.]. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00916>., 2005. Acesso em 14 julho de 2022.
- ECHEVERRÍA, L. E. et al. WHF IASC roadmap on Chagas disease. **Global heart**, v. 15, n. 1, 2020.
- ELEFThERIOU, P.; AMANATIDOU, D.; PETROU, A.; GERONIKAKI, A. In Silico Evaluation of the Effectivity of Approved Protease Inhibitors against the Main Protease of the Novel SARS-CoV-2 Virus. **Molecules**, v. 25, p. 2529, 2020.

FALASCA, A.; MELCK, D.; PARIS, D. et al. Seasonal changes in the metabolic fingerprint of *Juniperus communis* L. berry extracts by ¹H NMR-based metabolomics. **Metabolomics**, v. 10, p. 165–174, 2014.

FERREIRA, R. C.; DE MELO, M. E.; MORAES JUNIOR, M. A et al. Evaluation of genotoxic activity in the blood and urine of guinea pigs treated with nifurtimox and benznidazole. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 21, p. 1077, 1988.

FERREIRA, W. S.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; DE LIMA, M. E. F. Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 208-224, 2012; FRANKLIM, T. N.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DINIZ, J. N. S.; PREVIATO, J. O.; CASTRO, R. N.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; LIMA, M. E. F. Design, synthesis and trypanocidal evaluation of novel 1,2,4-triazoles-3-thiones derived from natural piperine. **Molecules**, v. 18, p. 6366-6382, 2013.

FINN, M. G., & FOKIN, V. V. Click chemistry: function follows form. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 1231, 2010.

FRANKLIM, T.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DE NAZARETH SÁ DINIZ, J.; PREVIATO, J.; CASTRO, R.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; DE LIMA, M. Design, Synthesis and Trypanocidal Evaluation of Novel 1,2,4-Triazoles-3-thiones Derived from Natural Piperine. **Molecules**, v. 18, p. 6382, 2013.

FUJITA, M.; INOUE, T. Biosynthesis of mangiferin in *Anemarrhena asphodeloides* Bunge. I. The origin of the xanthone nucleus. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 28, p. 2476–2481, 1980.

GALES, L. & DAMAS, A. M. Xanthenes-A Structural Perspective. **Curr. Med. Chem.**, v. 12, p. 2499–2515, 2005.

GAZI, M. A.; ISLAM, M. R.; KIBRIA, M. G.; MAHMUD, Z. General and advanced diagnostic tools to detect *Mycobacterium tuberculosis* and their drug susceptibility: a review. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 34, p. 851–861, 2015.

GEE, P.; MARON, D. M.; AMES, B. N. Detection and classification of mutagens: a set of basespecific *Salmonella* tester strains. **Proc. Natl Acad. Sci.**, v. 91, p. 11610, 1994.

GLANZMANN, N. et al. Synthesis and biological activity of novel 4-aminoquinoline/1,2,3-triazole hybrids against *Leishmania amazonensis*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 141, 111857, 2021.

GUO, M.; WANG, X.; LU, X.; WANG, H.; BRODELIUS, P. E. α -Mangostin Extraction from the Native Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) and the Binding Mechanisms of α -Mangostin to HSA or TRF. **Plos One**, v. 11, p. 1-22, 2016.

GUPTA, P.; LEWIS, J. R. Biogenesis of xanthenes in *Gentiana lutea*. **Journal of the Chemical Society C: Organic**, p. 629, 1971.

HALDÓN, E.; NICASIO, M. C.; PÉREZ, P. J. Copper-catalysed azide–alkyne cycloadditions (CuAAC): an update. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, p. 9550, 2015.

HEIN, C. D.; LIU, X. M.; WANG, D. Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. **Pharm Res.**, v. 25, p. 2216-2230, 2008.

HEIN, J. E.; FOKIN, V. V. Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 1315, 2010.

HIDAYAT, S.; IBRAHIM, F. M.; PRATAMA, K. F.; MUCHTARIDI, M. The interaction of alpha-mangostin and its derivatives against main protease enzyme in COVID-19 using in silico methods. **J. Adv. Pharm. Technol. Res.**, v. 12, p. 285, 2021.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF R.; ROSTOVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Journal of American Chemical Society**, v. 127, p. 210–216, 2005.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTOVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, p. 216, 2005.

HOTEZ P. J.; MOLYNEUX, D. H.; FENWICK, A.; KUMARESAN, J.; SACHS, S.E.; SACHS, J.D.; SAVIOLI, L. Control of neglected tropical diseases. **The New England Journal of Medicine**, v. 357, p. 1018–27, 2007.

HOUSE, J. E. *Fundamentals of Quantum Chemistry*, Elsevier, San Diego, 2004. STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. **J. Mol. Model.**, v. 19, p. 32, 2013.

HOUWELING, T. A. J. et al. Socioeconomic Inequalities in Neglected Tropical Diseases: A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, e0004546, 2016.

<http://who.sprinklr.com>, acessado em Março de 2022.

<https://clarivate.com/products/web-of-science/databases>. Palavras-chave utilizadas: alpha-mangostin or α -mangostin. Filtros utilizados no levantamento (Research Area): Pharmacology Pharmacy or Biochemistry Molecular Biology or Cell Biology, acessado em Fevereiro de 2022.

<https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.1c00247>, acessado em Outubro de 2022.

<https://www.needpix.com/photo/887745/>., licença Creative Commons CC., acessado em Outubro de 2021.

<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/> acessado em Outubro de 2022.

<https://www.tridge.com/intelligences/mangosteen/production>, acessado em outubro 2021.

HUANG, G. M.; SUN, Y.; GE, X.; WAN, X.; LI, C. B. Gambogic acid induces apoptosis and inhibits colorectal tumor growth via mitochondrial pathways. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, p. 6194, 2015.

HUANG, Z.; JIN, L.; FENG, Y.; PENG, P.; YI, H.; LEI, A. Iron-Catalyzed Oxidative Radical Cross-Coupling/Cyclization between Phenols and Olefins. **Angewandte Chemie**, v. 125, p. 7292–7296, 2013.

HUISGEN, R. Kinetics and reaction mechanisms: selected examples from the experience of forty years. **Pure and Applied Chemistry**, v. 61, p. 628, 1989; HUISGEN, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 2, p. 598, 1963.

IIKUBO, K.; ISHIKAWA, Y.; ANDO, N.; UMEZAWA, K.; NISHIYAMA, S. The first direct synthesis of α -mangostin, a potent inhibitor of the acidic sphingomyelinase. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 291–293, 2002.

IKAN, R. In: **Natural Products: A Laboratory Guide**, Academic Press, 2nd Edition: 233-238, 1991.

ISHII, M. et al. Synthesis, molecular modeling and preliminary biological evaluation of a set of novel 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines as potential antibacterial, anti-*T. cruzi*, and antifungal agents. **Bioorg. Med. Chem.** v. 19, p. 6292-6301, 2011.

JENKINS, G. J.; DOAK, S. H.; JOHNSON, G. E. Do dose response thresholds exist for genotoxic alkylating agents? **Mutagenesis**, v. 20, p. 398, 2005.

JIANG, K. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone derivatives as phosphoglycerate mutase 1 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 36, 127820, 2021.

JIANG, X.; HAO, X.; JING, L.; WU, G.; KANG, D.; LIU, X.; ZHAN, P. Recent applications of click chemistry in drug discovery. **Expert Opin Drug Discov.**, v. 14, p. 789, 2019.

JIN, Z.; DU, X.; XU, Y.; DENG, Y.; LIU, M.; ZHAO, Y. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. **Nature**. v. 582, p. 289 -293, 2020.

JUNG, H. A.; SU, B. N.; KELLER, W. J.; MEHTA, R. G.; KINGHORN, A. D. Antioxidant Xanthenes from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2077–2082, 2006.

KAUR, J.; SAXENA, M.; RISHI, N. An Overview of Recent Advances in Biomedical Applications of Click Chemistry. **Bioconjugate Chemistry**, v. 32, p. 1455–1471, 2021.

KE, H.; MORRISEY, J. M.; QU, S.; CHANTARASRIWONG, O.; MATHER, M. W.; THEODORAKIS, E. A.; VAIDYA, A. B. *Caged Garcinia Xanthenes*, a Novel Chemical Scaffold with Potent Antimalarial Activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, p. 1-28, 2017; FERNANDES, C.; CARRARO, M. L.; RIBEIRO, J.; ARAÚJO, J.; TIRITAN, M. E.; PINTO, M. M. M. Synthetic Chiral Derivatives of Xanthenes: Biological Activities and Enantioselectivity Studies. **Molecules**, v. 24, p. 1-36, 2019.

KLUNDT, T.; BOCOLA, M.; LÜTGE, M.; BEUERLE, T.; LIU, B.; BEERHUES, L. A Single Amino Acid Substitution Converts Benzophenone Synthase into Phenylpyrone Synthase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, p. 30957–30964, 2009.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angew Chem Int Ed Engl.**, v. 40, p. 2004-2021, 2001.

KUMAGAI, K.; HOSOTANI, N.; KIKUCHI, K.; KIMURA, T.; SAJI, I. Xanthofulvin, a Novel Semaphorin Inhibitor Produced by a Strain of *Penicillium*. **The Journal of Antibiotics**, v. 56, p. 610–616, 2003.

- KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. Analysis of cell viability by the MTT assay. **Cold spring harbor protocols**, v. 2018, n. 6, p. pdb. prot095505, 2018.
- LAKHERA, S.; DEVLAL, K.; GHOSH, A.; CHOWDHURY, P.; RANA, M. Modelling the DFT structural and reactivity study of feverfew and evaluation of its potential antiviral activity Against COVID-19 using molecular docking and MD simulations. **Chem. Pap.**, v. 76, p. 2759-2776, 2022.
- LAWSON, A. D. G.; MACCOSS, M.; HEER, J. P. Importance of Rigidity in Designing Small Molecule Drugs To Tackle Protein–Protein Interactions (PPIs) through Stabilization of Desired Conformers. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, p. 4283–4289, 2018.
- LEE, B. Y.; BACON, K. M.; BOTAZZI, M. E.; HOTEZ, P. J. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. **The Lancet Infect. Dis.** v. 13, p. 342-348, 2013.
- LEYVA-LÓPEZ, N.; LIZÁRRAGA-VELÁZQUEZ, C. E.; HERNÁNDEZ, C.; SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, E. Y. Exploitation of Agro-Industrial Waste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture. **Foods**, v. 9, p. 843, 2020; FAO. The State of Food and Agriculture 2019. Moving forward on food loss and waste reduction, FAO: Rome, 2019.
- LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 4, p. 337–341, 2004.
- LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv Drug Deliv Rev.**, v. 46, p. 26, 2001.
- LIU, B.; FALKENSTEIN-PAUL, H.; SCHMIDT, W.; BEERHUES, L. Benzophenone synthase and chalcone synthase from *Hypericum androsaemum* cell cultures: cDNA cloning, functional expression, and site-directed mutagenesis of two polyketide synthases. **The Plant Journal**, v. 34, p. 847–855, 2003.
- LUTZ, J.; ZARAFSHANI, Z. Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide-alkyne “click” chemistry. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 870, 2008.
- MANDOLI, A. Recent Advances in Recoverable Systems for the Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction (CuAAC). **Molecules**, v. 21, p. 1174, 2016.
- MASTERS, K. S., & BRÄSE, S. Xanthenes from Fungi, Lichens, and Bacteria: The Natural Products and Their Synthesis. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 3717–3776, 2012.
- MATTAREI, A.; BIASUTTO, L.; RASTRELLI, F.; GARBISA, S.; MAROTTA, E.; ZORATTI, M.; PARADISI, C. Regioselective O-Derivatization of Quercetin via Ester Intermediates. An Improved Synthesis of Rhamnetin and Development of a New Mitochondriotropic Derivative. **Molecules**, v. 15, p. 4736, 2010.
- MAYA, J. D.; BOLLO, S.; NUÑES-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A.; REPETTO, Y.; MORELLO, A.; PÉRIÉ, J.; CHAUVIÈRE, G. *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofuran derivatives. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 1006, 2003; MITSCHER, L. A.; LEMKE, T. L.; GENTRY, E. J. Foye’s Principles of Medicinal Chemistry. 6ed. **Lippincott: Williams & Wilkins**, 2012.

- MBWAMBO, Z. H. et al. Antiparasitic Activity of Some Xanthenes and Biflavonoids from the Root Bark of *Garcinia livingstonei*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 369–372, 2006.
- MELDAL, M.; DINESS, F. Recent Fascinating Aspects of the CuAAC Click Reaction. **Trends Chem.**, v. 2, p. 584, 2020.
- MOHAMED, G. A.; IBRAHIM, S. R. M.; SHAABAN, M. I.; ROSS, S. A. Mangostanaxanthenes I and II, new xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana*. **Fitoterapia**, v. 98, p. 215–221, 2014.
- MOLYNEUX, David H. et al. The history of the neglected tropical disease movement. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 115, n. 2, p. 169-175, 2021.
- MORELLI, C. F.; BIAGIOTTI, M.; PAPPALARDO, V. M.; RABUFFETTI, M. & SPERANZA, G. Chemistry of α -mangostin. Studies on the semisynthesis of minor xanthenes from *Garcinia mangostana*. **Natural Product Research**, v. 29, p. 750–755, 2014.
- MORGON, N. H.; COUTINHO, K. editores. **Métodos de química teórica e modelagem molecular**. São Paulo: Livraria da Física; 2007.
- MOTA, D. C. G. D.; PEREIRA, A. M. T. B.; ARAÚJO, S. M.; GOMES, M. L. Estresse e resiliência em doença de Chagas. **Aletheia**, 24, 57-68, 2006.
- MUNIN, A. & EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. **Pharmaceutics**, v. 3, p. 793–829, 2011.
- NAYIK, G. A.; GULL, A. Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits; Nayik, G. A.; Gull, A., eds.; **Springer**: Singapore, 2020.
- NEUMANN, S.; BIEWEND, M.; RANA, S.; BINDER, W. H. The CuAAC: Principles, Homogeneous and Heterogeneous Catalysts, and Novel Developments and Applications. **Macromolecular Rapid Communications**, 1900359, 2019.
- NEWMAN, D. J., & CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, p. 770–803, 2020.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629–661, 2016.
- NGUYEN, N. K.; TRUONG, X. A.; BUI, T. Q.; BUI, D. N.; NGUYEN, H. X.; TRAN, P. T.; NGUYEN, L.-H. D. α -Glucosidase Inhibitory Xanthenes from the Roots of *Garcinia fusca*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, e1700232, 2017; KHAW, K. Y.; KUMAR, P.; YUSOF, S. R.; RAMANATHAN, S.; MURUGAIYAH, V. Probing simple structural modification of α -mangostin on its cholinesterase inhibition and cytotoxicity. **Arch. Pharm.**, e2000156, 2020.
- NICOLAOU, K. C. Organic synthesis: the art and science of replicating the molecules of living nature and creating others like them in the laboratory. Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering. **Sciences**, v. 470(2163), p. 20130690–20130690, 2014.

- NILAR, H. L. J. Xanthones from the heartwood of *Garcinia mangostana*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 548, 2002.
- NKENGFAK, A. E.; MKOUNGA, P.; MEYER, M.; FOMUM, Z. T.; BODO, B. Globulixanthones C, D and E three prenylated xanthones with antimicrobial properties from the root bark of *Symphonia globulifera*. **Phytochemistry**, v. 61, p. 181–187, 2002.
- NOGRADY, T.; WEAVER, D.F. Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach, 3rd ed., **Oxford Press: New York**, 2005.
- OBOLSKIY, D.; PISCHEL, I.; SIRIWATANAMETANON, N.; HEINRICH, M. *Garcinia mangostana* L.: a phytochemical and pharmacological review. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1047–1065, 2009; OVALLE-MAGALLANES, B.; EUGENIO-PÉREZ, D.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.): A comprehensive update. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 102–122, 2017.
- OUYANG, T.; LIU, X.; OUYANG, H.; REN, L. Recent trends in click chemistry as a promising technology for virus-related research. **Virus Research**, v. 256, p. 28, 2018.
- PAPROCKI, D.; MADEJ, A.; KOSZELEWSKI, D.; BRODZKA, A.; OSTASZEWSKI, R. Multicomponent Reactions Accelerated by Aqueous Micelles. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 502, 2018.
- PASTERKAMP, R. J. et al. Expression of the Gene Encoding the Chemorepellent Semaphorin III Is Induced in the Fibroblast Component of Neural Scar Tissue Formed Following Injuries of Adult But Not Neonatal CNS. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 13, p. 143–166, 1999.
- PASTRE, R.; MARINHO, A. M. R.; RODRIGUES-FILHO, E.; SOUZA, A. Q. L.; PEREIRA, J. Diversidade de policetídeos produzidos por espécies de *Penicillium* isoladas de *Melia azedarach* e *murraya paniculata*. **Química Nova**, v. 30, p. 1867–1871, 2007.
- PATTERSON, S. & WYLLIE, S. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: past, presente and future prospects. **Trends in Parasitology**, v. 30, p. 298, 2014.
- PAUCAR, R.; MORENO-VIGURI, E.; PÉREZ-SILANES, S. Challenges in Chagas Disease Drug Discovery: A Review. **Curr Med Chem.**, v. 23, p. 3154-3170, 2016.
- PELOZO, M. F.; LIMA, G. F. S.; CORDEIRO, C. F.; SILVA, L. S.; CALDAS, I. S.; CARVALHO, D. T.; LAVORATO, S. N.; HAWKES, J. A.; FRANCO, L. L. Synthesis of New Hybrid Derivatives from Metronidazole and Eugenol Analogues as Trypanocidal Agents. **J. Pharm. Pharm. Sci.**, v. 24, p. 421- 434, 2021.
- PERES, V.; NAGEM, T. J. Trioxygenated naturally occurring xanthones. **Phytochemistry**, v. 44, p. 191–214, 1997.
- PERES, V.; NAGEM, T. J.; DE OLIVEIRA, F. F. Tetraoxygenated naturally occurring xanthones. **Phytochemistry**, v. 55, p. 683–710, 2000.
- PETERS, S.; SCHMIDT, W.; BEERHUES, L. Regioselective oxidative phenol couplings of 2,3',4,6-tetrahydroxybenzophenone in cell cultures of *Centaurium erythraea* RAFN and *Hypericum androsaemum* L. **Planta**, v. 204, p. 64–69, 1997.

- PINHEIRO, L.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; FERREIRA, A. G.; YOUNG, M. C. M.; CORTEZ, A. G. Antibacterial xanthenes from *Kielmeyera variabilis mart.* (Clusiaceae). **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 549–552, 2003.
- PINTO, M. M. M.; PALMEIRA, A.; FERNANDES, C.; RESENDE, D. I. S. P.; SOUSA, E.; et al. From Natural Products to New Synthetic Small Molecules: A Journey through the World of Xanthenes. **Molecules**, v. 26, p. 431, 2021.
- POPŁOŃSKI J, TURLEJ E, SORDON S, TRONINA T, BARTMAŃSKA A, WIETRZYK J, HUSZCZA E. Synthesis and Antiproliferative Activity of Minor Hops Prenylflavonoids and New Insights on Prenyl Group Cyclization. **Molecules**, v. 23, p. 776, 2018.
- REN, Y.; LANTVIT, D. D.; DE BLANCO, E. J. C.; KARDONO, L. B. S.; et al. Proteasome-inhibitory and cytotoxic constituents of *Garcinia lateriflora*: absolute configuration of caged xanthenes. **Tetrahedron**, v. 66, p. 5311–5320, 2010.
- ROBERT, E. B.; STEVEN, A.; LEMMEL, X.; QIONGQIONG, A. Z. Bioorthogonal Chemistry and Its Applications. **Bioconjugate Chemistry**, v. 32, p. 2479, 2021.
- RODIONOV, V. O.; FOKIN, V. V.; FINN, M. G. Mechanism of the ligand-free Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 44, p. 2210-2215, 2005.
- ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, p. 2599, 2002.
- SANTOS, C. M. M.; FREITAS, M.; FERNANDES, E. A comprehensive review on xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry. Eur. J. Med. Chem.** v. 157, P. 1460, 2018; NIE, W.; ZAN, X.; YU, T.; RAN, M.; HONG, Z. Synergetic therapy of glioma mediated by a dual delivery system loading α -mangostin and doxorubicin through cell cycle arrest and apoptotic pathways. **Cell Death & Disease**, v. 11, p. 1-13, 2020.
- SARGOLZAEI, M. Effect of nelfinavir stereoisomers on coronavirus main protease: Molecular docking, molecular dynamics simulation and MM/GBSA study. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 103, p. 107803, 2021.
- SCHMID, W. Ueber das Mangostin. **Annalen Der Chemie Und Pharmacie**, v. 93, p. 83–88, 1855.
- SCHULTZ, T. W.; ALLISON, T. C. Toxicity and toxic interaction of aniline and pyridine. **Bulletin of environmental contamination and toxicology.**, v. 23, p. 819, 1979; SHAWAHNA, R.; RAHMAN, N. U. Evaluation of the use of partition coefficients and molecular surface properties as predictors of drug absorption: a provisional biopharmaceutical classification of the list of national essential medicines of Pakistan. **DARU**, v. 19, p. 99, 2011.
- SILVERMAN, R. B & HAWE, W. P. SAR studies of fluorine-substituted benzylamines and substituted 2-penylethylamines as substrates and inactivators of monoamine oxidase B. **J. Enzyme Inhib.**, v. 9, p. 215, 1995.

SIMÕES-SILVA, M. R. et al. Drug repurposing strategy against *Trypanosoma cruzi* infection: In vitro and in vivo assessment of the activity of metronidazole in mono- and combined therapy. **Biochem Pharmacol.**, v, 145, p. 46-53, 2017.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **Em March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms, and structure**, 8^a Ed., Wiley, New York, 2019.

SORIANO-ARANDES, A. et al. Control and management of congenital Chagas disease in Europe and other non-endemic countries: current policies and practices. **Trop Med Int Health**, v. 21, p. 590-596, 2016.

STANAWAY J.D.; ROTH, G. The burden of Chagas disease: estimates and challenges. **Global Heart**, v. 10, p.139-144, 2015.

STEWART, B. H.; CHAN, O. H.; LU, R. H et al. Comparison of intestinal permeabilities determined in multiple in vitro and in situ models: relationship to absorption in humans. **Pharm. Res.**, v. 12, p. 693, 1995.

SUDTA, P.; JIARAWAPI, P.; SUKSAMRARN, A.; HONGMANEE, P.; SUKSAMRARN, S. Potent activity against multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis of *alpha*-mangostin analogs. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 61, p. 194–203, 2013.

SUETH-SANTIAGO, V.; DECOTE-RICARDO, D.; MORROT, A.; FREIRE-DE-LIMA, C. G.; LIMA, M. E. F. Challenges in the chemotherapy of Chagas disease: Looking for possibilities related to the differences and similarities between the parasite and host. **World Journal of Biological Chemistry**, v. 8, p. 57, 2017.

TAI, N. V.; QUAN, P. M.; HÁ, V. T.; LUYEN, N. D.; CHI, H. K.; CUONG, L. H.; PHONG, L.; CHINH, L. V. Synthesis of Propargyl Compounds and Their Cytotoxic Activity. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 57, p. 462-468, 2021.

TORNØE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 67, p. 3064, 2002.

TROCHINE, A.; CREEK, D. J.; FARAL-TELLO, P.; BARRET, M.P.; ROBELLO, C. Benznidazole biotransformation and multiple targets in *Trypanosoma cruzi* revealed by metabolomics. **PLoS Neglected tropical Diseases**, v. 8, p. 15, 2014.

URBINA, J. A. et al. Parasitological cure of acute and chronic experimental Chagas disease using the long-acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 21, p. 48, 2003.

VALÉRIO, L. F. FAZZA, S. P. H, MARINHO, J. A.; REIS, S. R.; DE AZEVEDO, A. L.; CAPRILES, G. P. V. Z.; ABRAMO, C.; DAVID, S. A. 1,2,3-Triazole derivatives: synthesis, docking, cytotoxicity analysis and in vivo antimalarial activity. **Chem Biol Interact.** 2021; 350 :109688.

VELEZ, A. S. M. M.; DE SOUZA, G. A.; PITASSE-SANTOS, P.; DE ALCÂNTARA PINTO, D. C.; DECOTE-RICARDO, D.; DE LIMA, M. E. F. 2-Nitro-1-vinyl-1*H*-imidazole. **Molbank** 2022, M1326, 2022.

- VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; DA SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Curr Med Chem.**, v. 14, p. 1829-1852, 2007.
- VIEIRA, L. M. M.; KIJJOA. A. Naturally-Occurring Xanthenes: Recent Developments. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 2413–2446, 2005.
- VOGL, M.; KRATZER, R.; NIDETZKY, B.; BRECKER, L. Candida tenuis xylose reductase catalysed reduction of acetophenones: the effect of ring-substituents on catalytic efficiency. **Organic & biomolecular chemistry.**, v. 9, p. 5870, 2011
- WANG, C.; LU, L.; NA, H, et al. Conjugation of a nonspecific antiviral sapogenin with a specific HIV fusion inhibitor: a promising strategy for discovering new antiviral therapeutics. **J Med Chem.**, v. 57, p. 7354, 2014.
- WERMUTH, C. G. Identical and non-identical twin drugs. IN: WERMUTH, C. G, editor. **The practice of medicinal chemistry**. London: Academic. p. 261-293, 1996;
- WEZEMAN, T.; BRÄSE, S.; MASTERS, K.S. Xanthone dimers: a compound family which is both common and privileged. **Natural Product Reports**, v. 32, p. 28, 2015.
- WEZEMAN, T.; MASTERS, K. S. Chapter 12 Xanthenes are Privileged Scaffolds in Medicinal Chemistry—But are they Over-privileged? In Privileged Scaffolds in Medicinal Chemistry: Design, Synthesis, Evaluation; **The Royal Society of Chemistry**: London, UK, 2016.
- WHO - Global distribution of cases of Chagas disease, based on official estimates, 2018. Retrieved September 1, 2020, https://www.who.int/docs/defaultsource/ntds/chagas-disease/chagas-2018-cases.pdf?sfvrsn=f4e94b3b_2, 2018.
- WHO. **Anti-tuberculosis drug resistance in the world**, WHO, Geneva, 2004.
- WHO. **Global tuberculosis report 2017**, WHO: Geneva, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates**. Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire, v. 90, p. 33-44, 2015.
- Worrell, B. T.; Malik, J. A. & Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. **Science**, v. 340, p. 457–460, 2013.
- WU, D.; YANG, K.; ZHANG, Z.; FENG, Y.; RAO, L.; CHEN, X. & YU, G. (2022). Metal-free bioorthogonal click chemistry in cancer theranostics. **Chemical Society Reviews**, v. 51, p. 1336-1376, 2022.
- WU, K. M. A New Classification of Prodrugs: Regulatory Perspectives. **Pharmaceuticals (Basel)**, v. 3, p. 77-81, 2009.
- XIA, Y.; LI, Y.; WESTOVER, K. D.; SUN, J.; CHEN, H.; ZHANG, J.; FISHER, D. E. Inhibition of Cell Proliferation in an NRAS Mutant Melanoma Cell Line by Combining Sorafenib and α -Mangostin. **Plos One**, v. 11, e0155217, 2016.
- XIAO, H. M.; LING, Y.; ZHAI, Y. F.; LI, Y. M. Theoretical studies on the mechanism of Mannich reaction involving iminium salt as potential Mannich reagent. Use of acetaldehyde as pseudo-acid component. **Chemical Research in Chinese Universities** v. 13, p. 329, 1997.

- XU, D.; NIE, Y.; LIANG, X.; JI, L.; HU, S.; YOU, Q.; WANG, F.; YE, H.; WANG, J. A Concise and Efficient Total Synthesis of α -Mangostin and β -Mangostin from *Garcinia Mangostana*. **Natural Product Communications**, v. 8, p. 1101-1103, 2013.
- XU, Z.; HUANG, L.; CHEN, X.H. Cytotoxic Prenylated Xanthenes from the Pericarps of *Garcinia mangostana*. **Molecules**, v. 19, p. 1820–1827, 2014.
- YANG, A.; LIU, C.; WU, J.; KOU, X.; SHEN, R. A review on α -mangostin as a potential multi-target-directed ligand for Alzheimer's disease. **European Journal of Pharmacology**, v. 897, p. 173950, 2021.
- YANG, B.; LANG, H.; LIU, Z.; WANG, S.; MEN, Z.; SUN, C. Three stages of hydrogen bonding network in DMF-water binary solution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 324, p. 114996, 2021.
- YAO, H.; LIU, J.; XU, S.; ZHU, Z.; XU, J. The structural modification of natural products for novel drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 12, p. 121–140, 2016.
- YATES, P & BHAT, H. B. (1970). Acid-catalyzed cyclization of mangostin. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 48(4), p. 680–684, 1970.
- YAZDANIAN, M.; GLYNN, S. L.; WRIGHT, J. L.; HAWI, A. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 1490–1494, 1998.
- ZHANG, X. et al. Synthesis, SAR and biological evaluation of natural and non-natural hydroxylated and prenylated xanthenes as antitumor agents. **Med Chem.**, v. 8, p. 1012-1025, 2012.
- ZHAO, Y., TANG, G., TANG, Q., ZHANG, J., HOU, Y., CAI, E., WANG, S. A Method of Effectively Improved α -Mangostin Bioavailability. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 41, p. 605–613, 2015.

8.1 Artigos publicados durante a execução do doutorado

Quim. Nova, Vol. XY, No. 00, 1-18, 200_

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170954>O POTENCIAL DA XANTONA NATURAL α -MANGOSTINA NO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS AGENTES ANTI-INFECCIOSOS: UMA REVISÃODouglas Chaves de Alcântara Pinto^a, Gabriela Alves de Souza^a, Paulo Pifasse-Santos^a, Afonso Santine M. M. Velez^a, Debora Decote-Ricardo^b, Debora Regina Lopes dos Santos^b, Leonardo Freire-de-Lima^c Célio G. Freire-de-Lima^a e Marco Edilson Freire de Lima^{a,*}^aDepartamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23890-000 Seropédica – RJ, Brasil^bDepartamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23890-000 Seropédica – RJ, Brasil^cInstituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902 Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 20/05/2022; aceito em 06/09/2022; publicado na web 27/09/2022

Revisão

THE POTENTIAL OF NATURAL XANTHONE α -MANGOSTIN IN THE DEVELOPMENT OF NOVEL ANTIINFECTIVE AGENTS: A REVIEW. The mangosteen (*Garcinia mangostana*, Linn.) is a tropical fruit cultivated in the tropical forests of Southeast Asian countries. It is recognized as the queen of fruits due to its unique color, aroma, and flavor. It has been used for centuries in Southeastern Asian traditional medicine for the treatment of various diseases. Many functional molecules with high medicinal value are obtained from the pericarp of mangosteen fruit, whose major constituent is xanthone α -mangostin. Several studies have been carried out over the last decades to further investigate and understand the pharmacological properties associated with the plant and its main chemical constituents, belonging to the class of xanthones. In addition, numerous *in vitro* and *in vivo* studies related to mangosteen have been published, indicating its importance and its potential application in medicinal chemistry. Prenylated xanthones, which include α -mangostin, are secondary metabolites particularly common in plants belonging to the Clusiaceae family. These substances have been intensively investigated for their potential as biologically active agents. This article describes a critical analysis of published data related to the properties of α -mangostin, aiming to provide a more detailed view of its potential as a chemotherapeutic agent for the prevention and treatment of infectious diseases.

Keywords: *Garcinia mangostana*; antiviral; antiparasitic; antibacterial; antifungal.

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais (PNs) são reconhecidos historicamente por sua grande importância e contribuição na descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos, sendo uma fonte extremamente relevante para a busca de novas alternativas terapêuticas, prevenção e tratamento de diversas doenças. PNs têm como principais características elevadas diversidade e complexidade estruturais, agregando grandes vantagens ao processo de descoberta de novas substâncias potencialmente bioativas.^{1,2} Para suprir as funções biológicas essenciais durante a evolução, os PNs passaram por otimização de suas estruturas, permitindo o controle dos mais diversos mecanismos de defesa endógenos, bem como propiciando mecanismos de competição com outros organismos. Isso explicaria a grande relevância nos estudos e aplicação destas substâncias para o tratamento de doenças infecciosas e do câncer. A sua longa utilização na medicina tradicional, por diferentes povos pertencentes a culturas distintas, é uma fonte de informações valiosas sobre o perfil de eficácia e segurança dos produtos de origem natural. Além disso, os efeitos adversos, observados para fármacos de origem sintética, devido principalmente ao seu uso em maior escala, despertaram crescente interesse por PNs derivados de plantas.^{3,4}

Outro ponto relevante é que os produtos químicos de origem natural, mesmo aqueles de origem vegetal, que são os mais estudados, ainda estão longe de serem investigados de forma exaustiva.⁵ Geralmente, as substâncias naturais apresentam massa molecular elevada, maior número de átomos de Carbono sp^3 e átomos de

Oxigênio, e um menor número de átomos de Nitrogênio e Halogênios. Devido às suas características estruturais, os PNs possuem, em geral, maior número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, um ponto de grande relevância para as interações destes com os diferentes tipos de receptores biológicos. Além disso, os produtos de origem natural, normalmente, detêm um menor coeficiente de partição, o que indica uma maior hidrofobicidade. Eles podem ainda apresentar maior rigidez molecular, em relação aos compostos de origem sintética.⁶ Essas características e circunstâncias revitalizaram o interesse dos pesquisadores na descoberta de medicamentos com base em produtos obtidos de fontes naturais. Para o aproveitamento mais racional de todo esse potencial, é de fundamental importância a adoção de uma abordagem interdisciplinar: aliar conhecimento etnofarmacológico a outras importantes áreas do conhecimento, como a botânica, a fitoquímica, a química computacional, as estratégias biotecnológicas e sintéticas, além de testes farmacológicos, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*. O trabalho coordenado entre as diferentes áreas é crucial para o sucesso das pesquisas na área da química medicinal de produtos naturais.⁷ Nesta revisão serão discutidos os aspectos químicos e de atividade biológica da xantona natural α -mangostina, presente no pericarpo dos frutos do mangostão e que possui promissora aplicabilidade no desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos.

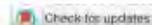
A QUÍMICA DA XANTONA NATURAL α -MANGOSTINA

Xantonas

As xantonas são estruturas de origem natural, presentes como metabólitos secundários em famílias de plantas superiores, mas

*e-mail: marcoedilson@gmail.com

SHORT COMMUNICATION



Peracetylation of polyphenols under rapid and mild reaction conditions

Douglas Chaves de Alcântara Pinto*, Paulo Pitasse-Santos*, Gabriela Alves de Souza, Rosane Nora Castro and Marco Edilson Freire de Lima 

Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil

ABSTRACT

Structural modifications are an important tool for studying the properties of naturally occurring polyphenols. Regarding the preparation of acetyl esters, the presence of hydroxyl groups stabilized by intramolecular hydrogen bonds may pose an obstacle for the peracetylation of these compounds. In this paper, we present a facile protocol for the acetylation of selected polyphenols under mild reaction conditions by using acetic anhydride, catalytic amount 4-dimethylaminopyridine (DMAP) and dimethylformamide (DMF) as solvent. Reaction conditions were adjusted for optimal formation of peracetylated polyphenols while minimizing the formation of byproducts. Butyric anhydride was employed as an alternative acylating agent and showed similar results. Reaction yields varied from 78–97%, and products were obtained in high purity, as determined by LCMS(ESI+), ¹H NMR and ¹³C NMR.

ARTICLE HISTORY

Received 24 September 2021
Accepted 10 January 2022

KEYWORDS

Flavonoid; xanthone;
acylation; butyrylation;
intramolecular hydro-
gen bond



CONTACT Marco Edilson Freire de Lima  marcoedilson@gmail.com

*These authors contributed equally to this work

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2031186>.

© 2022 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Short Note

2-Nitro-1-vinyl-1H-imidazole

Afonso Santine M. M. Velez ^{1,†}, Gabriela Alves de Souza ^{1,†}, Paulo Pitasse-Santos ¹,
Douglas Chaves de Alcântara Pinto ¹, Debora Decote-Ricardo ² and Marco Edilson Freire de Lima ^{1,*}

¹ Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, Brazil; afonsosv30@gmail.com (A.S.M.M.V.); gabrielakrt@hotmail.com (G.A.d.S.); paulopitasse@gmail.com (P.P.-S.); douglasdoti@hotmail.com (D.C.d.A.P.)

² Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, Brazil; decotecardo@ufrj.br

* Correspondence: marcedilson@gmail.com

† These authors contributed equally to this work.

Abstract: Nitroimidazoles are pharmacophoric groups responsible for important antiparasitic activity against several infectious diseases. 2-Nitroimidazoles are found in some antiparasitic drugs and are one of the main moieties responsible for the biological activities exhibited. As an example, we can mention the drug benznidazole, the only drug available in Brazil for the treatment of Chagas disease. This work describes an efficient methodology for the synthesis of 2-nitro-1-vinyl-1H-imidazole through a simple and direct approach, as well as its full characterization and biological assessment. The antiparasitic evaluation of 2-nitro-1-vinyl-1H-imidazole against *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen C2C4-LacZ strain) showed $IC_{50} = 4.8 \mu\text{M}$ on amastigotes and low cytotoxicity against LLC-MK2 cells ($IC_{50} > 500 \mu\text{M}$), validating 2-nitro-1-vinyl-1H-imidazole as a biologically active structural subunit for anti-*T. cruzi* activity. The results presented herein demonstrate that 2-nitro-1-vinyl-1H-imidazole can be easily obtained, possessing great potential for use in the design of new antichagasic drugs through a molecular hybridization strategy using known coupling reactions.

Keywords: imidazole alkylation; Chagas disease; antiparasitic drugs; *Trypanosoma cruzi*



Citation: Velez, A.S.M.M.; de Souza, G.A.; Pitasse-Santos, P.; de Alcântara Pinto, D.C.; Decote-Ricardo, D.; de Lima, M.E.F. 2-Nitro-1-vinyl-1H-imidazole. *Molbank* 2022, 2022, M1326. <https://doi.org/10.3390/M1326>

Academic Editor: Fang-Rang Chang

Received: 5 January 2022
Accepted: 25 January 2022
Published: 27 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Nitroimidazoles are a class of molecules that present in their structure a five-membered heterocycle, with two nitrogen atoms in the 1 and 3 positions and a nitro group that can appear in the 2, 4 or 5 position. The first nitroimidazole isolated and characterized from a natural source was azomycin 1 (2-nitroimidazole), a natural antibiotic from *Streptomyces eurodicus*, in the 1950s, while a group of scientists analyzed the activity of this extract against *Trichomonas vaginalis* [1,2]. 2-Nitro-1-vinyl-1H-imidazole 2 was first described in the 1984 Hoffman-La Roche patent as an antiparasitic agent with filaricidal activity, exhibiting average ED₅₀ values against *Litomosoides sigmodontis*, formerly known as *L. carinii*, in cotton rats at doses of 12 mg/kg [3,4]. Despite its description in this patent, which, as far as we know, is the only description of derivative 2 in the literature, the work does not describe characterization data or even further details on the methodology used in its preparation. The use of nitroimidazoles as antiparasitic agents deserves significant attention, since important drugs currently used to treat both parasitic and bacterial infections have a nitroheterocycle group in their structure, such as benznidazole 3 (2-nitroimidazole) and nifurtimox 4 (5-nitrofurazone). These are the only drugs used to treat Chagas disease that possess protozoa hemoflagellate *T. cruzi* as an etiologic agent [5–7], in addition to megazole 5 and fexinidazol 6 (both 1-methyl-5-nitroimidazole), which have great antichagasic potential [8], and metronidazole 7 (2-methyl-5-nitroimidazole) for the treatment of infections caused by protozoa such as *Trichomonas vaginalis* [1], *Giardia Lamblia* [9] and bacterial infections. The nitroheterocyclic portion is pharmacophoric to the drugs shown in Figure 1, characterizing this core as a fundamental subunit in the structure of this set of drugs.

Article

2-Chloro-4,6-bis{(E)-3-methoxy-4-[(4-methoxybenzyl)oxy]styryl}pyrimidine: Synthesis, Spectroscopic and Computational Evaluation

Otávio Augusto Chaves ^{1,✉}, Vitor Sueth-Santiago ^{2,3,†}, Douglas Chaves de Alcântara Pinto ², José Carlos Netto-Ferreira ^{2,4}, Debora Decole-Ricardo ⁵ and Marco Edilson Freire de Lima ^{2,*}

¹ Centro de Química de Coimbra (CQC), Departamento de Química, Universidade de Coimbra, Rua Larga, 3004-545 Coimbra, Portugal; otavioaugustochaves@gmail.com

² Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, Brazil; vitor_sueth@hotmail.co.uk (V.S.-S.); douglasdoti@hotmail.com (D.C.d.A.P.); jcnetto@ufrrj.br (J.C.N.-F.)

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus São Gonçalo, Rua José Augusto Pereira dos Santos, São Gonçalo 24425-004, Brazil

⁴ Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco A, Cidade Universitária, Rio de Janeiro 21941-909, Brazil

⁵ Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, Brazil; decolericardo@ufrrj.br

* Correspondence: marcoedilson@gmail.com

† This work is dedicated to the memory of the honorable Brazilian scientist, teacher, friend and human being, Vitor Sueth-Santiago (1967–2021). A victim from COVID-19.



Citation: Chaves, O.A.; Sueth-Santiago, V.; Pinto, D.C.d.A.; Netto-Ferreira, J.C.; Decole-Ricardo, D.; Lima, M.E.F.d. 2-Chloro-4,6-bis{(E)-3-methoxy-4-[(4-methoxybenzyl)oxy]styryl}pyrimidine: Synthesis, Spectroscopic and Computational Evaluation. *Molbank* 2021, 2021, M1276. <https://doi.org/10.3390/M1276>

Academic Editor: Giovanni Rastaldi

Received: 31 July 2021

Accepted: 29 August 2021

Published: 7 September 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: A novel curcumin analog namely 2-chloro-4,6-bis{(E)-3-methoxy-4-[(4-methoxybenzyl)oxy]styryl}pyrimidine (compound 7) was synthesized by three-step reaction. The condensation reaction of protected vanillin with 2-chloro-4,6-dimethylpyrimidine (6) was the most efficient step, resulting in a total yield of 72%. The characterization of compound 7 was performed by ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR), as well as high-resolution mass spectrometry. The experimental spectrometric data were compared with the theoretical spectra obtained by the density functional theory (DFT) method, showing a perfect match between them. UV-visible spectroscopy and steady-state fluorescence emission studies were performed for compound 7 in solvents of different polarities and the results were correlated with DFT calculations. Compound 7 showed a solvatochromism effect presenting higher molar extinction coefficient ($\log \epsilon = 4.57$) and fluorescence quantum yield ($\phi = 0.38$) in toluene than in acetonitrile or methanol. The simulation of both frontier molecular orbitals (FMOs) and molecular electrostatic potential (MEP) suggested that the experimental spectra profile in toluene was not interfered by a possible charge transfer. These results are an indication of a low probability of compound 7 in reacting with unsaturated phospholipids in future applications as a fluorescent dye in biological systems.

Keywords: curcumin analog; organic synthesis; photophysical properties; steady-state fluorescence; DFT calculation

1. Introduction

Turmeric, obtained from the dried rhizomes of *Curcuma longa* (Zingiberaceae), is a golden colored material, commonly used around the world for seasoning and food coloring. Since antiquity, turmeric has been widely used in the treatment of several diseases in traditional Chinese and Indian medicine (traditionally known as Ayurveda, e.g., for the treatment of inflammatory diseases) [1–3]. Curcumin ((1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)hepta-1,6-diene-3,5-dione) also known as diferuloylmethane, is the main chemical component of turmeric (accounting for up to 70%), belonging to the class of diarylheptanoid



Article

Piperine Inhibits TGF- β Signaling Pathways and Disrupts EMT-Related Events in Human Lung Adenocarcinoma Cells

Leonardo Marques da Fonseca ^{1,‡}, Lucas Rodrigues Jacques da Silva ^{1,†},
Jhenifer Santos dos Reis ¹, Marcos André Rodrigues da Costa Santos ¹,
Victoria de Sousa Chaves ¹, Kelli Monteiro da Costa ¹, Julliana de Nazareth Sa-Diniz ¹,
Celio Geraldo Freire de Lima ¹, Alexandre Morrot ^{2,3}, Tatiany Nunes Franklim ⁴,
Douglas Chaves de Alcântara-Pinto ⁴, Marco Edilson Freire de Lima ⁴, Jose Osvaldo Previato ¹,
Lucia Mendonça-Previato ^{1,*} and Leonardo Freire-de-Lima ^{1,*}

¹ Laboratório de Glicobiologia, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro RJ 21941-902, Brazil; lfonseca@biof.ufrj.br (L.M.d.F.); lucasrjs@hotmail.com (L.R.J.d.S.); jhnfrs8@gmail.com (J.S.d.R.); rodrigues8mr@gmail.com (M.A.R.d.C.S.); sousavictoria97@gmail.com (V.d.S.C.); kellimc85@gmail.com (K.M.d.C.); jullianawinners@gmail.com (J.d.N.S.-D.); celio@biof.ufrj.br (C.G.F.d.L.); previato@biof.ufrj.br (J.O.P)

² Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro RJ 21941-902, Brazil; alexandre.morrot@ioc.fiocruz.br

³ Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ 21040-360, Brazil

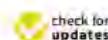
⁴ Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica RJ 23851-970, Brazil; tnfranklim@gmail.com (T.N.F.); douglasdoti@hotmail.com (D.C.d.A.-P.); marco@ufrj.br (M.E.F.d.L.)

* Correspondence: luciamp@biof.ufrj.br (L.M.-P.); leolima@biof.ufrj.br (L.F.-d.-L.);

Tel.: +55-21-3938-6646 (L.M.-P.); +55-21-3938-6646 (L.F.-d.-L.)

† Both authors contributed equally to this work.

Received: 9 March 2020; Accepted: 3 April 2020; Published: 8 April 2020



Abstract: **Background:** Piperine, an amide extracted from the Piper spices, exhibits strong anti-tumor properties. However, its effect on the epithelial–mesenchymal transition (EMT) process has never been investigated. Herein, we evaluate the toxic effect of piperine on lung adenocarcinoma (A549), breast adenocarcinoma (MDA-MB-231) and hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines, as well as its ability to inhibit EMT-related events induced by TGF- β 1 treatment. **Methods:** The cell viability was investigated by MTT assay. Protein expression was evaluated by Western blot. Gene expression was monitored by real-time PCR. Zymography assay was employed to detect metalloproteinase (MMP) activity in conditioned media. Cell motility was assessed by the wound-healing and phagokinetic gold sol assays. **Results:** The results revealed that piperine was cytotoxic in concentrations over 100 μ M, showing IC₅₀ values for HepG2, MDA-MB-231 and A549 cell lines of 214, 238 and 198 μ M, respectively. In order to investigate whether piperine would reverse the TGF- β 1 induced-EMT, the A549 cell line was pretreated with sublethal concentrations of the natural amide followed by the addition of TGF- β 1. Besides disrupting EMT-related events, piperine also inhibited both ERK 1/2 and SMAD 2 phosphorylation. **Conclusions:** These results suggest that piperine might be further used in therapeutic strategies for metastatic cancer and EMT-related disorders.

Keywords: piperine; cancer; piperidinyl amide; epithelial–mesenchymal transition; ERK1/2; SMAD

1. Introduction

The discovery of new cancer drugs is a hot topic in cancer research. Over the last twenty years, numerous studies have shown that many natural products display chemoprotective properties against

