



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DÍMEROS ANÁLOGOS DA BIS(n)-LOFINA, HÍBRIDOS TIANEPTINA-MONUESQUARAMIDA E HÍBRIDOS LOFINA-BENZAZOL: SÍNTESE, ATIVIDADE ANTICOLINESTERASE E PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS

Tese de Doutorado

Viktor Saraiva Câmara

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi

Coorientador: Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch

Porto Alegre, Abril 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DÍMEROS ANÁLOGOS DA BIS(n)-LOFINA, HÍBRIDOS TIANEPTINA-MONUESQUARAMIDA E HÍBRIDOS LOFINA-BENZAZOL: SÍNTESE, ATIVIDADE ANTICOLINESTERASE E PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS

Viktor Saraiva Câmara

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Doutor em Química

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi
Orientador

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch
Coorientador

Porto Alegre, Abril 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Câmara, Viktor Saraiva

Dímeros análogos da bis(n)-lofina, híbridos tianeptina-monoescuaramida e híbridos lofina-benzazol: síntese, atividade anticolinesterase e propriedades fotofísicas / Viktor Saraiva Câmara. -- 2022.

196 f.

Orientador: Marco Antonio Ceschi.

Coorientador: Fabiano Severo Rodembusch.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Bis(n)-lofina. 2. Tianeptina. 3. Benzazol. 4. Colinesterase. 5. Fotofísica. I. Ceschi, Marco Antonio, orient. II. Rodembusch, Fabiano Severo, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos

À minha mãe, Saionara Conceição Saraiva Câmara, pela minha educação, pelo apoio, pelo carinho, por todo o amor que tens por mim, por ser uma mulher guerreira que nunca desiste e um exemplo de mãe.

Ao meu pai, Marcio da Silva Câmara, por ter me dado tudo que pôde e mais um pouco. Por ser o melhor pai que eu poderia querer.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi, pela excelente orientação durante todo o tempo no laboratório. Pela convivência muito cordial que tivemos durante todos esses anos. Por sempre colocar o bem estar dos alunos em primeiro lugar.

Ao Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch, pela parceria desenvolvida nesses anos, pelos ensinamentos de fotofísica e por sempre estar disponível para responder questionamentos.

Ao Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes, pelo conhecimento passado, pela ajuda, colaboração nos diversos trabalhos e companheirismo.

A todos os alunos que passaram pelo laboratório K219, por fazerem do laboratório um local agradável de trabalhar.

Aos meus amigos, Arthur e Gabriela Lumi, pela amizade que persiste desde o ensino fundamental. Pelos momentos de diversão e pelo carinho de vocês.

Agradeço especialmente à Natalí. Simplesmente não há palavras que descrevam o quanto sou grato por te ter ao meu lado todos os dias. Essa conquista só foi possível pelo teu apoio incondicional durante todos os anos que estamos juntos.

Sumário

1	Introdução	1
2	Objetivos	3
3	Revisão da Literatura	4
3.1	Doença de Alzheimer	4
3.2	Hipótese colinérgica	7
3.3	Enzimas Colinesterases	10
3.4	Inibidores de Colinesterase	15
3.5	Híbridos multialvo no tratamento da DA	17
3.6	Propriedades Luminescentes	19
3.6.1	Coeficiente de absorvidade molar (ϵ)	21
3.6.2	Deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$)	22
3.6.3	Rendimento quântico de fluorescência (Φ_f)	22
3.6.4	Transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT)	23
3.7	Núcleo Imidazol e Lofina	25
3.8	Núcleo Benzazol	30
3.9	Núcleo Tianeptina	32
3.10	Núcleo Esquárico	34
4	Resultados e Discussão	38
4.1	Síntese das <i>N</i> -alquilaminolofinas	38
4.2	Dímeros análogos bis(n)-lofina	45
4.2.1	Avaliação biológica dos dímeros análogos bis(n)-lofina	53
4.2.2	Estudo de modelagem molecular	57
4.2.3	Avaliação da Citotoxicidade em modelos <i>in vitro</i>	60
4.3	Híbridos Tianeptina-Monoesquaramida	61
4.4	Híbridos Lofina-Benzazol	73
4.4.1	Caracterização fotofísicas dos híbridos lofina-benzazol	82
5	Considerações Finais	95

6	Procedimento Experimental	98
6.1	Materiais e Métodos	98
6.1.1	Procedimento geral para a preparação do (<i>n</i> -alquilamino)carbamato de <i>terc</i> -butila (7a-g).....	99
6.1.2	Procedimento geral para a preparação das <i>N</i> -alquilaminolofinas protegidas (8a-g).99	
6.1.3	Procedimento geral para a preparação das <i>N</i> -alquilaminolofinas (1a-g), a partir da desproteção de 8a-g	100
6.1.4	Procedimento geral para a preparação das <i>N</i> -alquilaminolofinas utilizando micro-ondas (1e-g).....	100
6.1.5	Procedimento geral para a preparação dos homodímeros bis(<i>n</i>)-lofina (22a-c)	101
6.1.6	Procedimento geral para a preparação dos heterodímeros bis(<i>n</i>)-lofina (23a-i)	103
6.1.7	Procedimento geral para a síntese da 3,4-dietoxiciclobut-3-eno-1,2-diona (24)	107
6.1.8	Procedimento geral para a preparação da <i>N</i> -Alquilaminotianeptina protegida (33a-c)	108
6.1.9	Procedimento geral para a preparação das <i>N</i> -Alquilaminotianeptina (25a-c).....	109
6.1.10	Procedimento geral para a síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida (34a-c).	111
6.1.11	Procedimento geral para a preparação 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol (42a-b).	113
6.1.12	Procedimento geral para a preparação do 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol (38a-b).....	113
6.1.13	Procedimento geral para a preparação dos híbridos lofina-benzazol (37a-n)	114
6.1.14	Procedimento do ensaio de inibição das colinesterases	120
6.1.15	Procedimento do ensaio de citotoxicidade em modelos <i>in vitro</i>	121
7	Referências	122

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura do imidazol, do benzazol, da 1,2-tiazepina e de alguns derivados representativos para esta Tese.....	2
Figura 2: Intermediários e compostos híbridos de interesse desse trabalho.....	3
Figura 3: Moléculas pequenas disponíveis para o tratamento sintomático da DA.....	5
Figura 4: Compostos em fases clínicas de teste, que tem como alvo a proteína tau.....	7
Figura 5: Representação esquemática da sinapse colinérgica no sistema nervoso central: 1) Potencial de ação gerado pela despolarização da membrana celular; 2) Saída de K ⁺ , causando a repolarização da membrana; 3) Entrada de Ca ²⁺ no meio celular; 4) Exocitose da acetilcolina; 5) Ligação da acetilcolina ao receptor; 6) Entrada de Ca ²⁺ e Na ⁺ no neurônio pós-sináptico e geração de um novo potencial de ação. ⁴⁸ Adaptado de Nelson e Cox. ⁴⁸	9
Figura 6: A) estrutura tetramérica da AChE, ⁵³ B) Representação esquemática do tetrâmero da AChE ancorado na membrana do neurônio, ⁶⁴ C) estrutura do tetrâmero da BuChE obtida por microscopia crioeletrônica. ⁶⁵	12
Figura 7: Cavidade enzimática da AChE. Adaptado de Rosenberry <i>et al.</i> ⁶⁸	13
Figura 8: Cavidade do oxianion, tríade catalítica e sítio aniônico da AChE.....	14
Figura 9: A) Cavidade enzimática da acetilcolinesterase humana (PDB 4EY4). B) Cavidade enzimática da butirilcolinesterase humana (PDB 1P0I). Adaptado de Rosenberry <i>et al.</i> ⁶⁸	15
Figura 10: A) Estrutura da tacrina e do bis(7)-tacrina; B) Dupla interação do dímero bis(7)-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase. Adaptado de Rydberg <i>et al.</i> ⁸⁵	17
Figura 11: Estrutura da Fenserina e da 4'-isopropilfenserina.....	17
Figura 12: Métodos de hibridização molecular.....	18
Figura 13: Exemplos de compostos híbridos.	19
Figura 14: Diagrama de Jablonski – processos de absorção e emissão de energia.	20
Figura 15: Processo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT) de compostos do 2-(2'hidroxifenil)benzazol, onde X = O, S, NH ou Se.....	24
Figura 16: Estrutura de fluoróforos que apresentam o processo de ESIPT.	25

Figura 17: A) Imidazol e fármacos comercializados contendo o núcleo imidazol. B) Derivados imidazólicos testados como inibidores de colinesterase.	26
Figura 18: Híbridos contendo o núcleo lofina.	28
Figura 19: Estrutura química dos núcleos azol, benzazol e 2-aril benzazol.	30
Figura 20: Híbridos contendo o núcleo benzazol.	31
Figura 21: Estrutura da 1,2-tiazepina e seu derivado tianeptina.	33
Figura 22: Derivados da tianeptina.	34
Figura 23: Equilíbrio de protonação/desprotonação do ácido esquárico e estruturas de ressonância do diânion esquarato.	35
Figura 24: Valores de NICS (0,6) para ácido esquárico, esquaramida, esquarato, esquaramida complexada com amônio, esquaramida protonada e benzeno.....	35
Figura 25: Estrutura do Perzinfotel e do Navarixin.	36
Figura 26: IChEs contendo o núcleo esquaramida.....	37
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 1c	44
Figura 28: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 22b	47
Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 22b	49
Figura 30: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23e	51
Figura 31: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23e	53
Figura 32: Modos de ligação previstos para os compostos (A) 23e (carbonos em ciano), (B) 23h (carbonos em rosa), (C) Tacrina (carbonos em amarelo) sobreposta com 23e . (D) Modo de ligação previsto para o composto 23e contra AChE (Carbonos em amarelo) sobreposto com o modo previsto para a BuChE (Enzima transparente e carbonos em ciano).	59
Figura 33: Intermediários para a síntese dos híbridos tianeptina-esquaramida.	61
Figura 34: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 25a	65
Figura 35: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 31a	68
Figura 36: Espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto 34a	70
Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C - APT (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 34a	71

Figura 38: Espectro de RMN bidimensional heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto 34a	72
Figura 39: Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 38a . 76	
Figura 40: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37g	78
Figura 41: Espectro de RMN ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto 37g	79
Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37g	80
Figura 43: Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto 37g	81
Figura 44: Espectro normalizado de absorção na região do UV-Vis dos compostos 37g (A) e 37n (B) nos diferentes solventes estudados.	83
Figura 45: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37g (A) $\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm; (B) $\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm. (C) Foto do composto em solução nos solventes estudados em 365 nm.	86
Figura 46: Espectros de emissão de fluorescência dos compostos 37a-g em: (A) Diclorometano ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (B) Diclorometano ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm) (C) DMSO ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (D) DMSO ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm); (E) MeOH ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (F) MeOH ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm). 87	
Figura 47: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37n (A) $\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm; (B) $\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm. (C) Foto do composto em solução nos solventes estudados em 365 nm.	89
Figura 48: Espectros de emissão de fluorescência dos compostos 37h-n em: (A) Diclorometano ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (B) Diclorometano ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm) (C) DMSO ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (D) DMSO ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm); (E) MeOH ($\lambda_{\text{exc}} = 300$ nm); (F) MeOH ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm). 89	
Figura 49: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 37h (A) e 37n (B) em misturas de DCM:DMSO. Imagens das misturas em luz normal (C) e luz UV 365 nm (D).	92
Figura 50: Perfil de decaimento de fluorescência ($\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm) para os híbridos 37h (A) e 37n (B) em diferentes proporções DCM:DMSO (v/v). IRF = instrument response fator.	93
Figura 51: Híbridos lofina-benzazol.	97

Índice de Esquemas

Esquema 1: Etapa da biossíntese do neurotransmissor acetilcolina e estrutura da acetilcoenzima A.	8
Esquema 2: Reação de hidrólise da acetilcolina pela AChE.	10
Esquema 3: Reação de quimiluminescência da lofina.	27
Esquema 4: Derivados imidazólicos sintetizados por Das Sharma <i>et.al.</i> ¹⁴⁵	29
Esquema 5: Métodos de síntese de benzazois a partir de ciclocondensação.	32
Esquema 6: Planejamento da síntese do intermediário <i>N</i> -alquilaminolofina.	38
Esquema 7: Reação de proteção das 1,n-alcanodiaminas.	39
Esquema 8: Reação de condensação tetracomponente.	39
Esquema 9: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente.	41
Esquema 10: Reação de desproteção do grupo amino	42
Esquema 11: Síntese do intermediário <i>N</i> -alquilaminolofina utilizando micro-ondas.	43
Esquema 12: Síntese dos análogos simétricos do bis(n)-lofina 22a-c e estrutura dos dímeros anteriormente sintetizados 22d-i	46
Esquema 13: Síntese dos análogos não simétricos do bis(n)-lofina 23a-i	50
Esquema 14: Reações envolvidas no método de Ellman. A) Hidrólise da acetiltiocolina. B) Reação da tiocolina com o DTNB.	54
Esquema 15: Representação simplificada do princípio do método de Ellman.	54
Esquema 16: Síntese do dietilesquarato 24	61
Esquema 17: Reação de acoplamento entre a tianeptina e a etilenodiamina 2a	62
Esquema 18: Mecanismo da Reação de acoplamento promovida pelo EDC e pelo HOBt.	63
Esquema 19: Reação de acoplamento entre a tianeptina e as amins 7a-c para formação de 33a-c	64
Esquema 20: Reação de desproteção do grupo amino do composto 33a-c e formação dos intermediários 25a-c	64
Esquema 21: Síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida.	67
Esquema 22: Mecanismo de substituição nucleofílica do tipo ipso para formação dos híbridos tianeptina-monoesquaramida.	67

Esquema 23: Equilíbrio conformacional de monoesquaramidas.....	68
Esquema 24: Planejamento dos híbridos lofina-benzazol 37a-n	73
Esquema 25: Síntese do 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol 42a-b	73
Esquema 26: Proposta de mecanismo para a formação do benzoxazol 42	74
Esquema 27: Síntese do intermediário 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol 38a-b	75
Esquema 28: Mecanismo de formação do intermediário 38	75
Esquema 29: Síntese dos híbridos lofina-benzoxazol (37a-g) e lofina-benzotiazol (37h-n).	77
Esquema 30: Dímeros análogos da bis(n)-lofina.	95
Esquema 31: Híbridos tianeptina-monoesquaramida.....	96

Índice de Tabelas

Tabela 1: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 1c	44
Tabela 2: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 22b	48
Tabela 3: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 23e	52
Tabela 4: Atividade de inibição dos análogos bis(n)-lofina para a BuChE.	55
Tabela 5: Resultados de docking dos análogos bis(n)-lofina e o composto de referência tacrina contra a BuChE (PDB 6I0C).....	58
Tabela 6: Viabilidade celular após tratamento com os compostos escolhidos em linhagens celulares VERO, HepG2 e C6.....	60
Tabela 7: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 25a	66
Tabela 8: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 34a	69
Tabela 9: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 38a	76
Tabela 10: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto 37g	79
Tabela 11: Dados obtidos via espectroscopia de absorção na região do UV-vis para os híbridos 37a-g obtidos dos espectros de absorção UV-vis, onde ε é a absorvidade molar ($10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), f_e é a força do oscilador, ke_0 é a constante de emissão radiativa (10^7 s^{-1}), τ^0 é o tempo de decaimento radiativo (ns).	84
Tabela 12: Dados obtidos via espectroscopia de absorção na região do UV-vis para os híbridos 37h-n obtidos dos espectros de absorção UV-vis, onde ε é a absorvidade molar ($10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), f_e é a força do oscilador, ke_0 é a constante de emissão radiativa (10^7 s^{-1}), τ^0 é o tempo de decaimento radiativo (ns).	85
Tabela 13: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência dos híbridos 37a-g , onde λ_{abs} e λ_{em} são os máximos de absorção e de emissão, respectivamente (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (cm^{-1}) e Φ_f é o rendimento quântico de fluorescência (%).	90
Tabela 14: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência dos híbridos 37h-n , onde λ_{abs} e λ_{em} são os máximos de absorção e de emissão, respectivamente (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (cm^{-1}) e Φ_f é o rendimento quântico de fluorescência (%).	91
Tabela 15: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência resolvida no tempo para os híbridos 37h e 37n em soluções de diferentes proporções de DCM:DMSO (v/v), utilizando 340 nm como comprimento de onda de excitação, onde τ é o tempo de vida de fluorescência experimental (ns), A é o fator pré-exponencial e χ^2 indica a qualidade do ajuste exponencial.....	94

Lista de Abreviaturas e Símbolos

A	Absorbância
δ	Deslocamento Químico
λ	Comprimento de Onda
$\Delta\lambda_{ST}$	Deslocamento de Stokes
ε	Coeficiente de Absortividade Molar
Φ_f	Rendimento Quântico de Fluorescência
f_e	Força do Oscilador
$h\nu$	Energia do Fóton
k_e^0	Constante de Emissão Radiativa
τ^0	Tempo de Decaimento de Fluorescência Puramente Radiativo
τ	Tempo de Vida de Fluorescência Experimental
ν	Número de Onda
A β	Beta Amiloide
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Acetil-CoA	Acetil-coenzima A
APF	Ácido Polifosfórico
<i>APT</i>	<i>Attached Proton Test</i>
ATF	Ácido Trifluoroacético
Boc ₂ O	Dicarbonato de Di- <i>terc</i> -butila
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
BuChE	Butirilcolinesterase
CAS	<i>Catalytic Active Site</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
ChAT	Colina Acetiltransferase
ChE	Colinesterase
ColQ	<i>Collagen-like Q Subunit</i>
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
DA	Doença de Alzheimer
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
E	Forma Enol

E^*	Forma Enol no Estado Excitado
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
ESIPT	<i>Excited State Intramolecular Proton Transfer</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
hAChE	Acetilcolinesterase Humana
hBuChE	Butirilcolinesterase Humana
HBI	2-(2'-hidroxifenil)benzimidazol
HBO	2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol
HBT	2-(2'-hidroxifenil)benzotiazol
HOBT	1-Hidroxibenzotriazol
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
HRMS-ESI	<i>High Resolution Mass Spectrometry with Eletrospray Ionization</i>
IChe	Inibidor de colinesterase
IC ₅₀	Concentração Necessária para Inibir 50% da Atividade Enzimática
IV	Infravermelho
J	Constante de Acoplamento
K	Forma Ceto
K^*	Forma Ceto no Estado Excitado
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MAO	Monoamino Oxidase
MO	Micro-ondas
NICS	<i>Nucleus-Independent Chemical Shift</i>
NMDA	<i>N</i> -metil-D-aspartato
OLED	<i>Organic Light-Emitting Diode</i>
PAS	<i>Peripheral Anionic Site</i>
Py	Piridina
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PRAD	<i>Proline-rich Attachment Domain</i>
PRIMA	<i>Proline-rich Membrane-anchoring Protein</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SNC	Sistema Nervoso Central
T.P.	Troca Protônica
UV-Vis	Espectroscopia de absorção na Região do ultravioleta-visível

* A abreviatura dos aminoácidos se encontra na Tabela A1 nos anexos (pag. 134)

Resumo

Os núcleos imidazol e benzazol ocupam posições de destaque na química de heterocíclis, sendo seus derivados muito explorados por suas propriedades químicas, farmacológicas e fotofísicas. Outro núcleo importante é a 1,2-tiazepina, que tem o antidepressivo tianeptina como seu derivado de maior destaque. Dentre as diversas aplicações desses núcleos, vale destacar a utilização de derivados deles como inibidores das enzimas colinesterases. A inibição das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) é hoje a uma das principais estratégias de tratamento disponível para a doença de Alzheimer (DA). Devido ao caráter multifatorial da DA, vários compostos híbridos contendo dois ou mais núcleos farmacológicos têm sido sintetizados, com o intuito de que uma única molécula apresente interação com mais de um fator da DA. Neste contexto, a lofina, derivados benzazólicos, a tianeptina e monoessquaramidas são ótimos núcleos para a formação de compostos híbridos, uma vez que, esses núcleos apresentam as mais diversas atividades biológicas.

Neste trabalho foram sintetizados três séries de compostos: os dímeros análogos da bis(n)-lofina, os híbridos tianeptina-monoessquaramida e os híbridos lofina-benzazol. A síntese dos derivados da lofina envolveu a preparação prévia de derivados do tipo *N*-alquilaminolofina. Esses intermediários foram sintetizados por duas rotas sintéticas envolvendo reações de condensação tetracomponente. Foram sintetizados doze novos dímeros análogos da bis(n)-lofina, através de reações de condensação tetracomponente utilizando a técnica de micro-ondas. Os dímeros foram testados para inibição das colinesterases *in vitro*, utilizando a AChE do peixe *Electrophorus electricus* e a BuChE do soro de cavalo. Os dímeros foram seletivos para a BuChE (IC_{50} 32,25 - 0,03 μ M). Além disso, estudos *in vitro* mostraram que os compostos não apresentaram citotoxicidade para células VERO (células do rim), HepG2 (células hepáticas) e C6 (astroglia). Uma rota sintética para a preparação de intermediários do tipo *N*-alquilaminotianeptina também foi desenvolvida, a partir da reação de condensação entre aminas protegidas e a tianeptina. Os intermediários *N*-alquilaminotianeptina foram utilizados na síntese de três novos híbridos tianeptina-monoessquaramida. Por fim, realizou-se a síntese de quatorze híbridos lofina-benzazol, utilizando rotas sintéticas já descritas na literatura. Dessa série de quatorze compostos, somente os híbridos com espaçador de quatro metilenos apresentaram atividade de inibição para a BuChE. Realizou-se a caracterização fotofísica dos híbridos lofina-benzazol através de espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e de emissão de fluorescência, onde se observou uma dupla emissão de fluorescência, provenientes do núcleo lofina (~380 nm) e da forma ceto do benzazol (~520-550 nm), destacando o potencial desses compostos para a aplicação como sensores ópticos em solução.

Palavras Chave: Colinesterase, Bis(n)-lofina, Tianeptina, Benzazol, Fotofísica.

Abstract

The imidazole and benzazole nuclei occupy a privileged position, and its derivatives are widely explored due to their chemical, pharmacological and photophysical properties. Another important heterocycle is 1,2-tiazepin, which has the antidepressant tianeptine as its most prominent derivative. Among all applications of these nuclei, it is worth mentioning the use of their derivatives as cholinesterase inhibitors. The inhibition of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) is the main therapeutic strategy to treat Alzheimer's disease (AD). Due to the multifactorial feature of AD, hybrid molecules have been synthesized to act as multi-target compounds, combining two or more pharmacological properties in a single molecule. In this context, lophine, benzazole derivatives, tianeptine and monoamines are excellent pharmacophore to synthesize hybrid molecules, since these nuclei present a diverse biological activity.

In this work, three different compounds series were synthesized: the bis(n)-lophine analogs, the tianeptine-monoamines hybrids and the lophine-benzazole hybrids. The synthesis of lophine derivatives needed the prior preparation of the *N*-alkylaminolophine precursor, which was synthesized by two different synthetic routes, using a one-pot four component reaction. Twelve new bis(n)-lophine analogues were synthesized through a four component reaction using the microwave technique. The dimers were tested for cholinesterase inhibition *in vitro*, using Electric eel AChE and horse serum BuChE. The dimers were selective to BuChE (IC_{50} 33.25 – 0.03 μ M). Furthermore, *in vitro* studies showed that compounds had no cytotoxic effect on VERO (kidney), HepG2 (liver) and C6 (astroglial) cells. A new synthetic route was developed to synthesize the *N*-alkylaminotianeptine derivative, from the condensation reaction of protected amines and tianeptine. The *N*-alkylaminotianeptine intermediate was used in the synthesis of three tianeptine-monoamines hybrids. At least, fourteen new lophine-benzazole hybrids were synthesized using synthetic routes well established in the literature. From these series, only the hybrids with four methylene spacer chain showed activity to BuChE inhibition. A photophysical study of these hybrids was performed, using absorption and fluorescence emission spectroscopy. From the emission spectra, it can be observed a dual fluorescence emission, originated from the lophine core (~380 nm) and from the benzazole core (~520-550 nm), highlighting the potential of these compounds to act as optical sensor in solution.

Keywords: Cholinesterase, Bis(n)-Lophine, Tianeptine, Benzazole, Photophysics.

1 Introdução

O estudo de compostos heterocíclicos é de grande interesse uma vez que esses compostos desempenham um papel fundamental na química orgânica moderna, na química medicinal, na bioquímica e na fotoquímica. Vários compostos como alcaloides, amino ácidos, vitaminas, hormônios, diversos fármacos e corantes contêm um sistema heterocíclico em sua estrutura. Diversos fármacos disponíveis no mercado tem sua atividade terapêutica devido ao heterociclo na sua estrutura. Vale destacar também os cromóforos heterocíclicos, que são uma das classes de sensores ópticos mais estudados devido às suas excelentes propriedades espectroscópicas e a capacidade de detectar uma gama diversa de analitos. Existe um grande numero de heterocíclcos sintéticos, com destaque para os núcleos imidazol, benzazol e 1,2-tiazepina (Figura 1).

Os núcleos imidazol e benzazol ocupam posições de destaque na química de heterocíclcos, sendo seus derivados muito explorados por suas propriedades químicas, farmacológicas e fotofísicas. As aplicações desses núcleos na química medicinal são as mais diversas, estando presente em moléculas com atividade antifúngica, antibacteriana, anticancerígena, analgésica, entre outros.^{1, 2} Além das aplicações na área medicinal, diversos compostos imidazólicos e benzazólicos são utilizados como sondas fluorescentes para a mais diversa gama de analitos, desde cátion e ânions à pequenas e macro moléculas.³⁻⁵ Comparativamente ao imidazol e ao benzazol, o núcleo tiazepínico ainda é pouco explorado na literatura, sendo a tianeptina seu derivado mais representativo. A tianeptina é um fármaco antidepressivo atípico da classe dos tricíclicos, uma vez que, seu mecanismo de ação difere dos antidepressivos usuais, atuando na captação neuronal do neurotransmissor serotonina.⁶

Dentre as diversas aplicações de derivados imidazólicos, benzazólicos e tiazepínicos (Figura 1), vale destacar a utilização desses compostos como inibidores das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE).⁷⁻⁹ A inibição dessas enzimas é uma das estratégia de tratamento disponível para a doença de Alzheimer (DA). Nenhum dos fármacos utilizados no tratamento da DA impede a evolução da doença e são efetivos somente nos estágios iniciais da DA. Por quase duas décadas, quatro fármacos foram utilizados para o tratamento sintomático da DA, sendo três deles inibidores das enzimas colinesterase (donepezil, rivastigmina e galantamina) e o quarto antagonista dos receptores de *N*-metil-*D*-aspartato (memantina).¹⁰ Em junho de 2021, dezoito anos após a aprovação do último fármaco que foi a memantina, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) o medicamento aducanumab (um anticorpo antiamiloidogênico), apesar de um comitê consultivo ter concluído que não há

evidências suficientes para apoiar a eficácia do tratamento.^{11, 12} Dentro desse contexto, neste trabalho foram desenvolvidos três séries de compostos com o intuito de atuarem como inibidores das enzimas colinesterase: os dímeros análogos da bis(n)-lofina, os híbridos tianeptina-esquaramida e os híbridos lofina-benzazol (Figura 1). Vale destacar também, que devido à fluorescência dos híbridos lofina-benzazol, um estudo de suas propriedades fotofísicas também foi realizado.

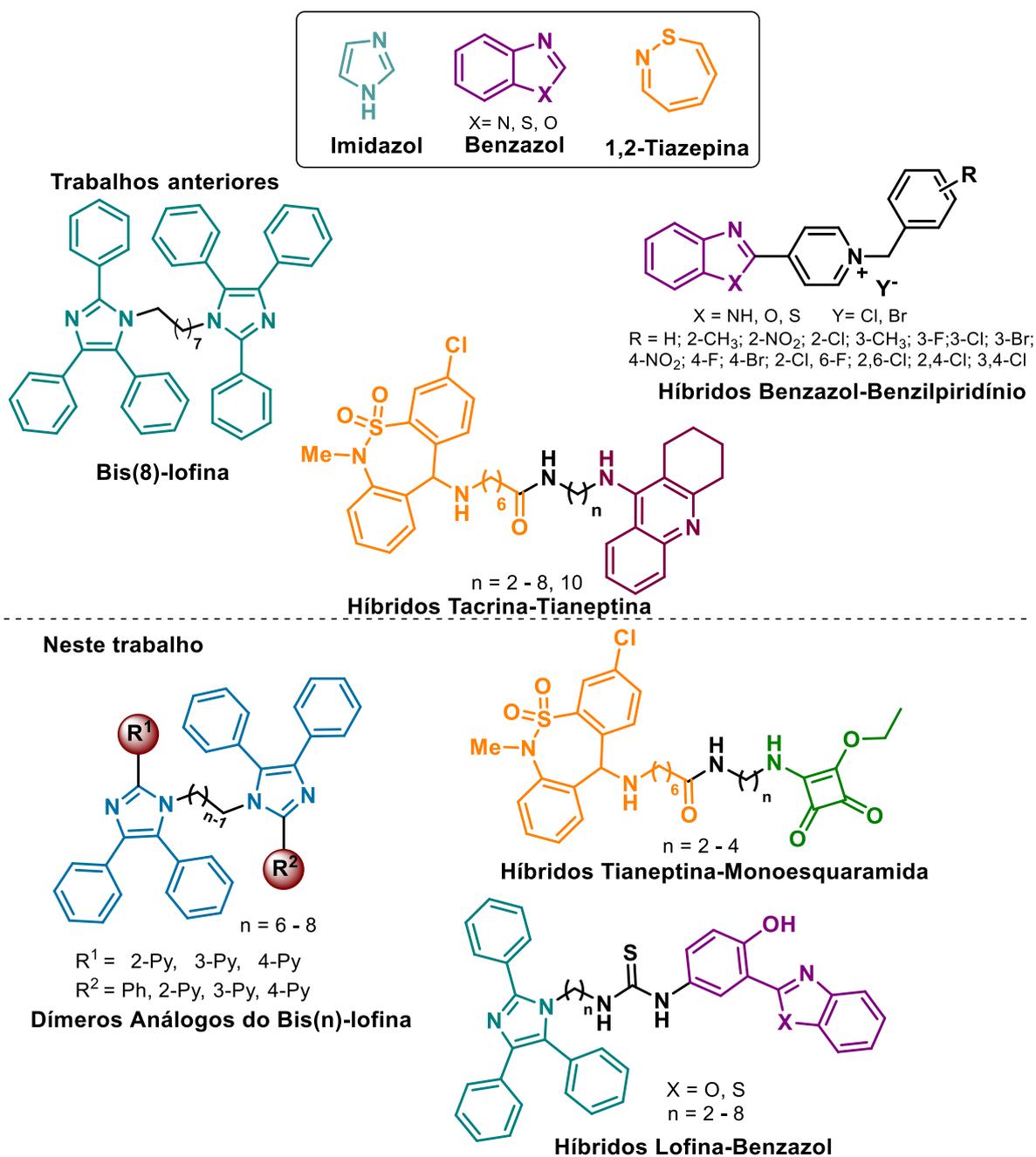


Figura 1: Estrutura do imidazol, do benzazol, da 1,2-tiazepina e de alguns derivados representativos para esta Tese.

2 Objetivos

A presente Tese teve por objetivo a síntese dos dímeros análogos da bis(n)-lofina, dos híbridos tianeptina-monoesquaramida e dos híbridos lofina-benzazol e avaliação da sua atividade anticolinesterase e de suas propriedades fotofísicas (Figura 2).

Os objetivos específicos foram: I) sintetizar os intermediários *N*-alquilaminolofinas; II) desenvolver uma metodologia para a síntese do intermediário *N*-alquilaminotianeptina; III) sintetizar os derivados 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol; IV) síntese dos dímeros análogos da bis(n)-lofina; V) síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida; VI) síntese dos híbridos lofina-benzazol; VII) avaliar os resultados de inibição das enzimas AChE e BuChE; VIII) avaliar o estudo de modelagem molecular; IX) avaliar o estudo de citotoxicidade dos compostos X) realizar a caracterização fotofísica dos híbridos lofina-benzazol.

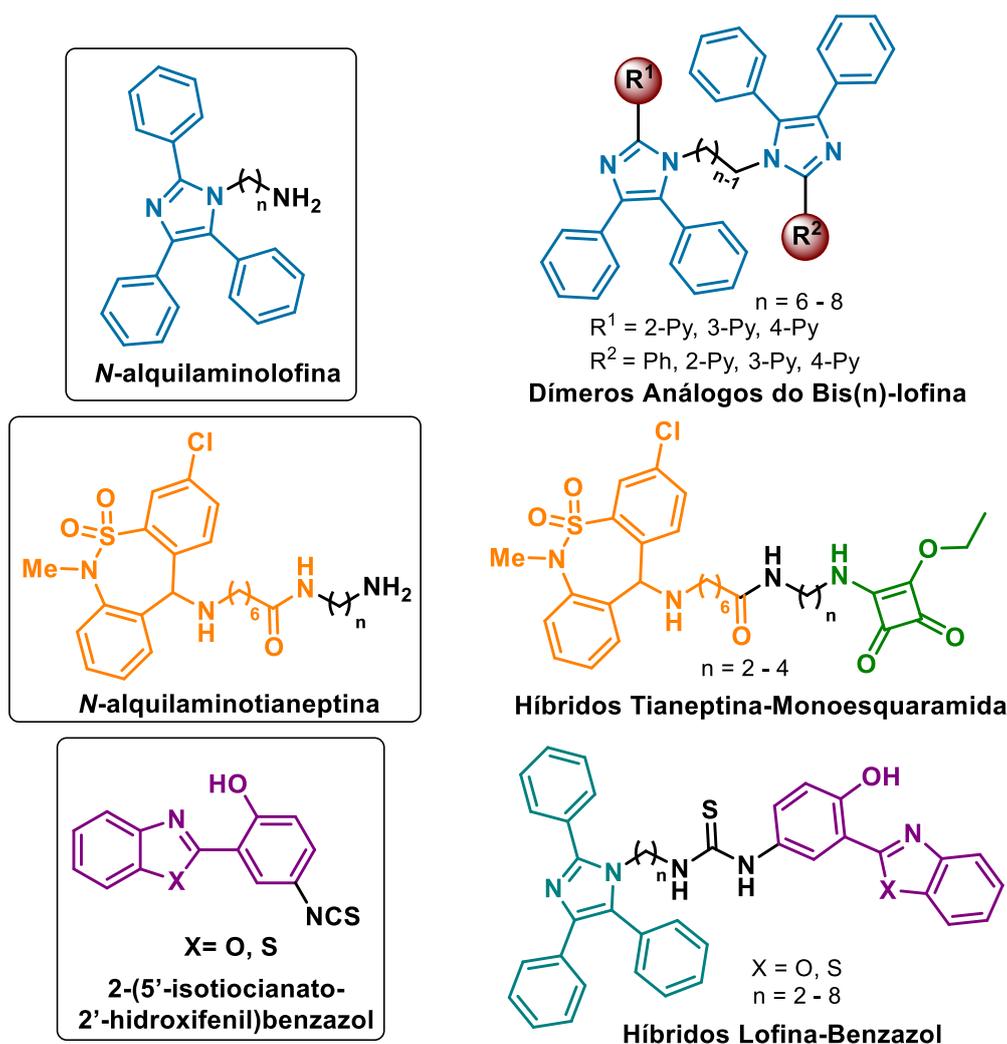


Figura 2: Intermediários e compostos híbridos de interesse desse trabalho.

3 Revisão da Literatura

3.1 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é um tipo de doença cerebral e é a principal causa de demência. Entende-se por demência um conjunto de sintomas que afetam a habilidade de um indivíduo de realizar atividades do dia-a-dia. Entre esses sintomas estão dificuldade de memória, linguagem e de soluções de problemas.¹³ A DA é uma doença neurodegenerativa, ou seja, uma doença progressiva que causa uma atrofia e perda da função dos neurônios, levando o paciente ao óbito.¹⁴

Com o envelhecimento da população, a idade sendo o principal fator de risco e a falta de uma cura, a DA se tornou um desafio crescente para a saúde pública, com 40 a 50 milhões de pessoas vivendo com a doença.^{15, 16} Estima-se que até 2050 o número de pessoas com a DA possa chegar a 131 milhões no mundo.¹⁷ Esses números crescentes de pacientes tem consequência devastadoras em famílias, sistemas de saúde e na sociedade como um todo, uma vez que se trata de uma doença que debilita o paciente ao ponto dele precisar de suporte para realizar todas as suas necessidades.¹⁸

Apesar dos grandes avanços na pesquisa da DA, vários aspectos da doença permanecem desconhecidos, sendo necessário mais estudos com relação às vias etiológicas da DA.¹⁹ Por outro lado, as características neuropatológicas da DA são bem conhecidas e compreendem atrofia do córtex cerebral, degeneração neurovascular, diminuição das sinapses, presença de placas senis extracelulares formadas pela proteína β -amilóide ($A\beta$) e emaranhados neurofibrilares da proteína tau.²⁰ Mas não são só esses os sinais bioquímicos observados em pacientes com a DA, estresse oxidativo, problema na homeostase de metais, desregulação do fluxo de cálcio celular, disfunções mitocondriais, neuroinflamações e defeitos no metabolismo do colesterol também são observados.²¹ A combinação de todas essas características neuropatológicas é que fazem da DA uma doença multifatorial, o que dificulta a descoberta de tratamentos eficazes.

Existem estimativas de que a DA se inicie 20 anos antes dos primeiros sintomas surgirem, através de pequenas alterações cerebrais imperceptíveis. Após anos de alterações cerebrais, os sintomas começam a se manifestar, principalmente, através da perda de memória e problemas de linguagem.¹³ Ansiedade, mudança de personalidade e depressão também podem ocorrer nos primeiros anos da doença.²² A DA não tem cura e leva o paciente ao óbito de 3 a 9 anos após o surgimento dos primeiros sintomas.²³ Os tratamentos disponíveis atualmente para a DA são sintomáticos. Eles atuam mitigando os efeitos da doença, com melhora da atividade cognitiva do paciente.

Atualmente quatro moléculas pequenas são utilizadas no tratamento da DA. Os três fármacos donepezil, rivastigmina e galantamina (Figura 3) atuam como inibidores das enzimas colinesterases (IChEs).²⁴ A memantina (Figura 3), aprovada pelo FDA em 2003, atua como antagonista dos receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA) e também é sintomático como os IChEs.¹⁰ Por fim, recentemente foi aprovado pelo FDA um anticorpo antiamiloidogênico (aducanumab) para o tratamento da DA, apesar de seus resultados ainda estarem incompletos e não publicados.¹²

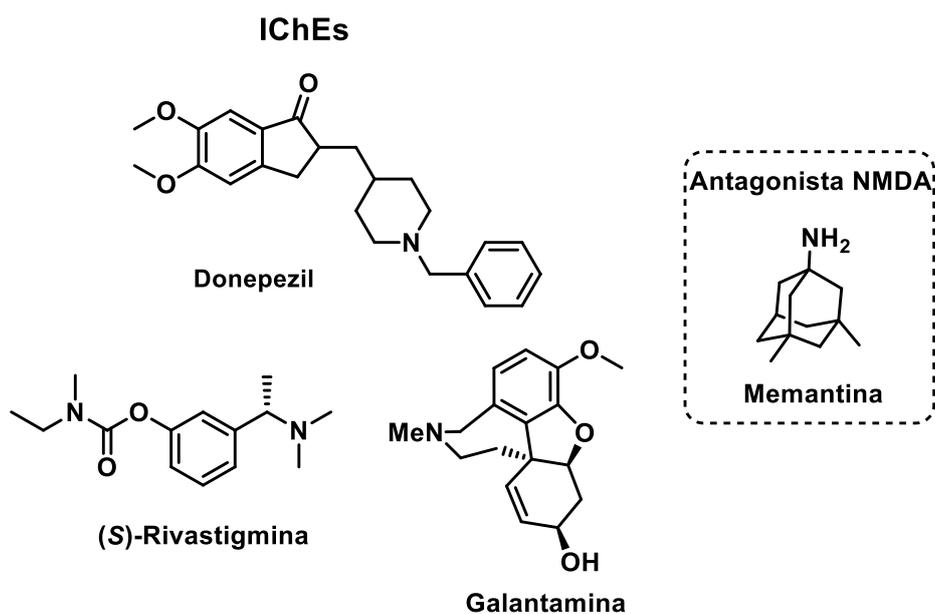


Figura 3: Moléculas pequenas disponíveis para o tratamento sintomático da DA.

Com base nas características patológicas observadas no cérebro dos pacientes afetados pela doença de Alzheimer, diferentes hipóteses têm sido propostas com o objetivo de direcionar a busca por tratamentos eficazes. A hipótese da cascata do amiloide (ou hipótese $A\beta$) propõe que a patogênese inicial da DA se origina da deposição do peptídeo $A\beta$ (placas senis).²⁵ Segundo a hipótese do amiloide, mudanças no metabolismo do $A\beta$ ocasionam um desequilíbrio entre produção, liberação e agregação do peptídeo. Como consequência, há um aumento dos níveis do $A\beta_{42}$, induzindo a formação de fibrilas do peptídeo, que se agregam formando as placas senis. Tais placas causam neurotoxicidade e induzem alterações na proteína tau, levando a morte das células neuronais e neurodegeneração.²⁶ Desde que foi apresentada, a mais de 25 anos atrás, a hipótese da cascata do amiloide é a principal explicação para a patogênese da DA. As terapias baseadas nessa hipótese têm como alvo diminuir os níveis de $A\beta$ no cérebro.²⁷ Desde a postulação da hipótese da cascata do amiloide,

diversas moléculas pequenas que visam diminuir os níveis de A β foram sintetizadas, porém não foram capazes de reduzir os déficits cognitivos dos pacientes e falharam em testes clínicos.^{26, 28, 29} A utilização de anticorpos monoclonais anti-A β vem sendo extensivamente estudada como alternativa de tratamento.³⁰ Diversos anticorpos estão em fases clínicas de testes.³¹ O aducanumab, recentemente aprovado pelo FDA para uso, é um anticorpo humano recombinante que foi coletado de uma população idosa saudável.³⁰ Embora o aducanumab tenha apresentado resultados promissores em fases clínicas iniciais, a Biogen, empresa responsável pelo medicamento, apresentou resultados inconsistentes nos seus testes em fase clínica 3, e mesmo assim foi aprovado.¹² Uma das condições para a aprovação foi que a Biogen terá que realizar um teste confirmatório para comprovar que o anticorpo realmente ajuda os pacientes. Após a aprovação do aducanumab, espera-se que novos anticorpos monoclonais também sejam aprovados pelo FDA utilizando o mesmo precedente.³²

A hipótese da proteína tau surgiu da observação de emaranhados neurofibrilares no lugar onde deveria haver neurônios. Na DA e outras doenças neurodegenerativas, a proteína tau é hiperfosforilada, um comportamento anormal, levando a desestabilização dos microtúbulos e liberação da proteína tau no meio celular. Os filamentos da tau hiperfosforilada se emparelham e posteriormente se agregam, formando os emaranhados neurofibrilares, que assim como os agregados A β são citotóxicos.³³ Diversas abordagens terapêuticas foram desenvolvidas tendo como alvo o processo de hiperfosforilação da tau.³⁴ Uma das abordagens consiste na inibição da agregação da tau, evitando a formação dos emaranhados neurofibrilares. Algumas moléculas pequenas, como o corante azul de metileno (Figura 4),³⁵ estão sendo estudados como inibidores da agregação da tau. Entretanto, esses compostos ainda não se mostraram efetivos em testes com humanos.³⁶ Outra estratégia consiste na inibição das quinases. A inibição das enzimas quinases leva a uma diminuição da hiperfosforilação. Um exemplo de inibidor é o cloreto de lítio, que foi capaz de reduzir os níveis de oligômeros da tau insolúveis e os níveis de tau hiperfosforilada em experimentos modelos.³⁷ Outro bom exemplo de inibidor de quinases é o composto K252a (Figura 4), que também diminuiu os níveis de tau hiperfosforilada em testes com animais.³⁸ Embora tenham apresentado resultados em testes com animais modelos, nenhum inibidor de quinase apresentou eficácia em testes clínicos.³⁹ A utilização de anticorpos que tem a tau como alvo vem ganhando destaque na literatura. Diversas imunoterapias se encontram em fase de testes clínicos e são promissoras no tratamento da DA.⁴⁰

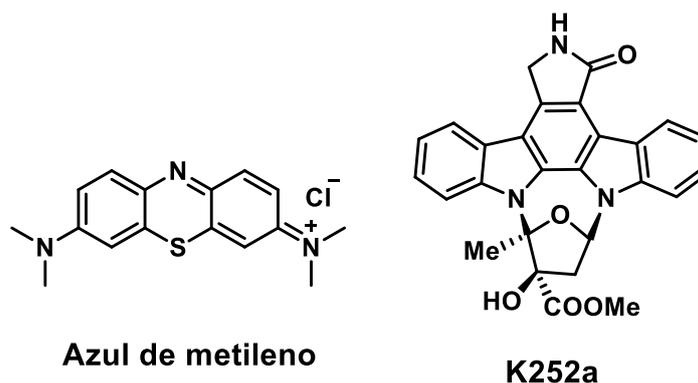


Figura 4: Compostos em fases clínicas de teste, que tem como alvo a proteína tau.

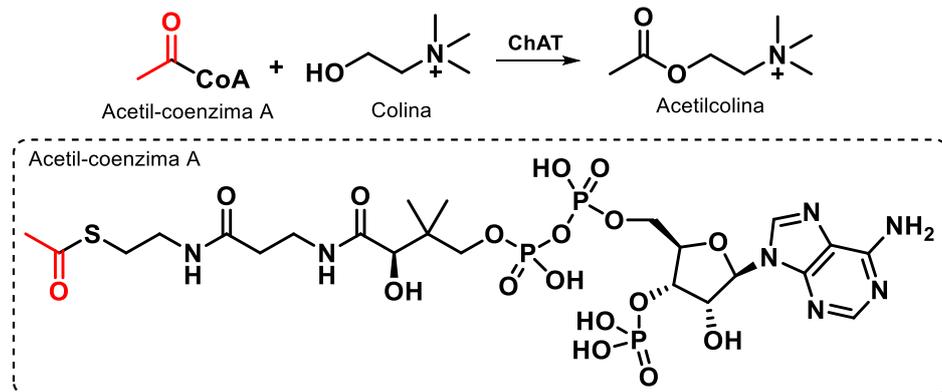
Os sintomas citados anteriormente, entre eles o mais pronunciado, a perda progressiva da memória, estão associados aos déficits na transmissão colinérgica, isto é, uma transmissão sináptica deficiente entre os neurônios colinérgicos (neurônios que utilizam a acetilcolina como neurotransmissor) no sistema nervoso central (SNC). A hipótese colinérgica postula que a perda das funções colinérgicas no SNC contribui significativamente para o declínio cognitivo associado com a idade avançada e a DA.⁴¹ É com base na hipótese colinérgica que os IChEs foram desenvolvidos.

3.2 Hipótese colinérgica

A hipótese colinérgica é a mais antiga hipótese sobre a DA⁴² e está baseada em três evidências obtidas em estudos com humanos e com animais. Primeiro, marcadores colinérgicos são afetados em pacientes com declínio cognitivo associado à idade. Segundo, alterações no sistema colinérgico em experimentos modelos induzem déficits cognitivos, similares aos observados em pacientes com a DA. Por último, aumentar a atividade no sistema colinérgico tem um efeito benéfico em pacientes com déficits cognitivos.⁴³ Essa teoria levou ao desenvolvimento dos IChEs, que são capazes de restaurar as funções colinérgicas pelo bloqueio da acetilcolinesterase (AChE) ou da butirilcolinesterase (BuChE).⁴⁴

Para entender como os IChEs atuam no organismo, é necessário compreender como funciona o sistema colinérgico. A função colinérgica é um sistema composto por neurônios que utilizam a acetilcolina (ACh) como principal neurotransmissor para realização das sinapses, sendo eles classificados como neurônios colinérgicos. Esse sistema possui papel crítico em processos de atenção, aprendizagem, memória, resposta ao estresse e informações sensoriais.⁴⁵ A sinapse ocorre na região chamada fenda sináptica, um espaço entre um neurônio pré-sináptico e um neurônio pós-

sináptico. A sinapse colinérgica inicia com a síntese do neurotransmissor acetilcolina, através da reação entre a acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e a colina, catalisada pela enzima colina acetiltransferase (ChAT) na zona ativa do neurônio pré-sináptico (Esquema 1). Após ser sintetizada, a ACh é armazenada em vesículas transportadoras.⁴⁶



Esquema 1: Etapa da biossíntese do neurotransmissor acetilcolina e estrutura da acetil-coenzima A.

Inicialmente, a membrana plasmática do neurônio pré-sináptico está polarizada, sendo o interior negativo. A estimulação deste neurônio causa um potencial de ação ao longo do axônio, ocasionando a abertura de canais iônicos de Na⁺, que são controlados por voltagem, gerando uma despolarização local e a consequente abertura dos canais de sódio adjacentes. Na membrana também há canais iônicos de K⁺. Esses canais são abertos uma fração de segundo após a passagem do potencial de ação, permitindo a saída de K⁺, formando um fluxo repolarizante da membrana que contrabalança com o fluxo despolarizante causado pela entrada de Na⁺. Portanto, a entrada de Na⁺ e a saída de K⁺ gera um potencial de ação unidirecional que chega à ponta do axônio onde há a presença de canais de Ca²⁺. A entrada de Ca²⁺ é uma sinalização para a célula liberar a acetilcolina na fenda sináptica. Após liberada na fenda sináptica, a ACh se liga aos receptores específicos, que são canais iônicos, na membrana do neurônio pós-sináptico, promovendo a abertura desses canais e a entrada de íons Na⁺ e Ca²⁺ na célula. A entrada desses íons promove a despolarização da membrana e ocasiona um novo impulso nervoso no neurônio pós-sináptico (Figura 5).^{47, 48}

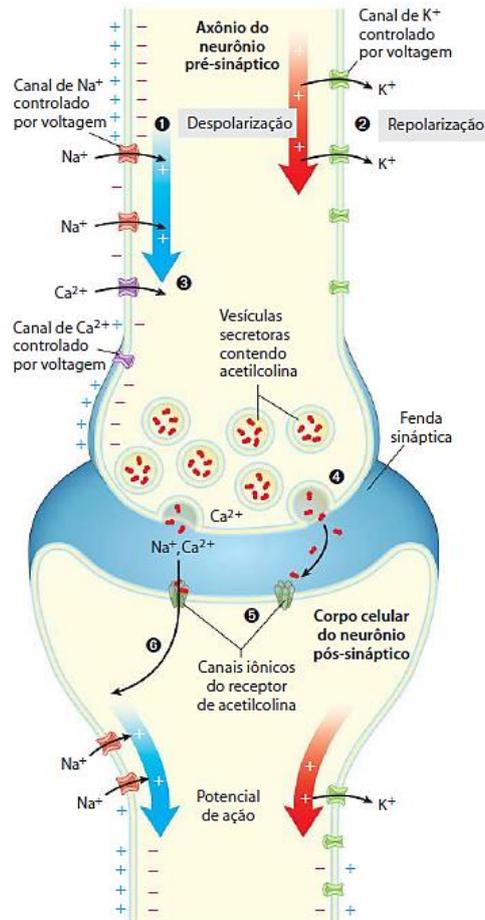
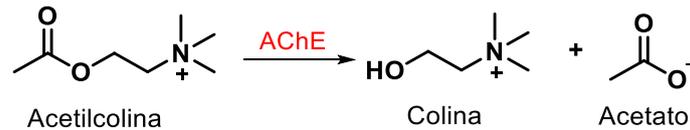


Figura 5: Representação esquemática da sinapse colinérgica no sistema nervoso central: 1) Potencial de ação gerado pela despolarização da membrana celular; 2) Saída de K^+ , causando a repolarização da membrana; 3) Entrada de Ca^{2+} no meio celular; 4) Exocitose da acetilcolina; 5) Ligação da acetilcolina ao receptor; 6) Entrada de Ca^{2+} e Na^+ no neurônio pós-sináptico e geração de um novo potencial de ação.⁴⁸ Adaptado de Nelson e Cox.⁴⁸

Após a transmissão do impulso nervoso a ACh é hidrolisada pela AChE que se encontra ancorada na membrana, produzindo colina, que é recaptada pelo neurônio pré-sináptico, encerrando a sinapse colinérgica (Esquema 2).⁴⁸ Para aumentar a transmissão colinérgica, diferentes estratégias são estudadas, incluindo, aumentar a liberação de acetilcolina na fenda sináptica, estimulação dos receptores pós-sinápticos e a redução da degradação da ACh utilizando IChEs.⁴⁹ Os IChEs atuam de forma a inibir reversivelmente as enzimas colinesterases aumentando os níveis de ACh na fenda sináptica.⁵⁰ Os maiores níveis de ACh na fenda sináptica induzem uma melhora sintomática nos pacientes com DA, entretanto, não tem efeito de impedir ou de regredir a neurodegeneração.



Esquema 2: Reação de hidrólise da acetilcolina pela AChE.

3.3 Enzimas Colinesterases

As enzimas acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) e butirilcolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8) são serino hidrolases amplamente encontradas em várias espécies animais.⁵¹ A AChE e a BuChE compartilham cerca de 50% da sequência de aminoácidos e têm estruturas terciárias e quaternárias similares. Ambas possuem a mesma tríade catalítica (formada pelos aminoácidos serina, glutamato e histidina) no fundo de uma cavidade profunda da estrutura terciária.⁵²

A acetilcolinesterase é encontrada no cérebro e nas junções neuromusculares e age em células pós-sinápticas, realizando a hidrólise da acetilcolina e encerrando a transmissão do impulso nervoso.⁵³ Esse processo é importante para que não ocorra acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica e uma consequente dessensibilização dos receptores colinérgicos, o que causa colapso no sistema nervoso, com perda do controle muscular, convulsão e falência respiratória.⁴⁷ Além do seu papel na hidrólise da ACh, estudos identificaram que a AChE interage com as fibrilas do peptídeo Aβ, formando um complexo AChE-Aβ, que acelera a oligomerização do peptídeo Aβ.⁵⁴

Em contraste com a bem estabelecida função da AChE regulando o sistema colinérgico, a verdadeira função fisiológica da BuChE permanece desconhecida.⁵⁵ Estudos mostram que pessoas que apresentam ausência dessa enzima aparentam ser saudáveis, o que sugere que ela não apresenta função vital na regulação colinérgica.⁵⁶ Ela se encontra em maior concentração que a AChE em diversos tecidos, mas existe em menores quantidades no cérebro, no músculo esquelético e nos nervos periféricos.⁵⁷ A BuChE apresenta uma especificidade menor que a AChE para substratos, sendo capaz de hidrolisar ésteres mais volumosos. Por exemplo, a BuChE consegue hidrolisar tanto a acetilcolina quanto a butirilcolina, enquanto que a AChE só hidrolisa a acetilcolina.⁵² Essa falta de especificidade faz com que a BuChE seja capaz de hidrolisar alguns ésteres tóxicos, como a cocaína, e sendo assim, utilizada em terapias de desintoxicação.⁵⁸ Ela pode ser usada para desintoxicar pessoas expostas a inibidores irreversíveis da AChE, como os organosfosforados.⁵⁹ Por fim, sabe-se que a BuChE está envolvida no metabolismo de lipídios e em algumas doenças como esteatose hepática, diabetes e a doença de Alzheimer.^{60, 61}

No caso da DA, observou-se que em pacientes em estágio avançado, o nível de AChE no cérebro diminui entre 55 – 67% dos valores normais, enquanto que o nível de BuChE aumenta cerca de 120% do nível normal. Esse aumento da concentração de BuChE indica que a enzima assume a função da AChE na hidrólise da acetilcolina em estágios avançados do Alzheimer.⁶¹ A progressão da DA também está associada a BuChE, sugerindo que a enzima contribui para a patogênese da doença.⁶² Estudos mostraram que a ausência da BuChE em cérebros de ratos, levou a uma diminuição do depósito das placas A β , conservando as funções cerebrais em certas regiões.⁶³ Essas descobertas fazem com que inibidores seletivos da BuChE sejam considerados uma estratégia terapêutica para a DA, principalmente em estágios avançados onde a atividade da enzima aumenta consideravelmente.

A AChE é encontrada nas formas monomérica, dimérica e tetramérica, sendo esta última (Figura 6A) a mais importante para a atividade catalítica nos cérebros de mamíferos. O tetrâmero da AChE é ancorado na membrana celular através de duas estruturas essenciais: o domínio de ligação rico em prolina (PRAD em inglês - *proline-rich attachment domain*) e a proteína de ancoramento à membrana (PRiMA em inglês - *proline-rich membrane-anchoring protein*, Figura 6B). A PriMA é a proteína de ancoramento nas sinapses neuronais, enquanto que na sinapses onde há lâmina basal, como nas junções neuromusculares, a enzima é ancorada pela subunidade Q tipo colágeno (ColQ em inglês- *collagen-like Q subunit*).^{53, 64} Assim como a AChE, a BuChE pode ser encontrada nas formas monoméricas, diméricas e tetraméricas. Na forma de tetrâmero ela pode ser encontrada tanto ancorada em membrana celular quanto solúvel, sendo esta última a mais comum no plasma de mamíferos. Embora grandes quantidade de BuChE tetramérica possam ser purificadas do plasma, nenhum estudo até o momento foi capaz de cristalizar a espécie tetramérica nativa da BuChE.⁶⁴ Entretanto, estudos usando microscopia crioeletrônica determinaram a estrutura tetramérica da BuChE (Figura 6C). Esses estudos revelaram que o tetrâmero da BuChE consiste em dois dímeros não planares arranjados em volta do domínio de ligação rico em prolina (PRAD).^{65, 66}

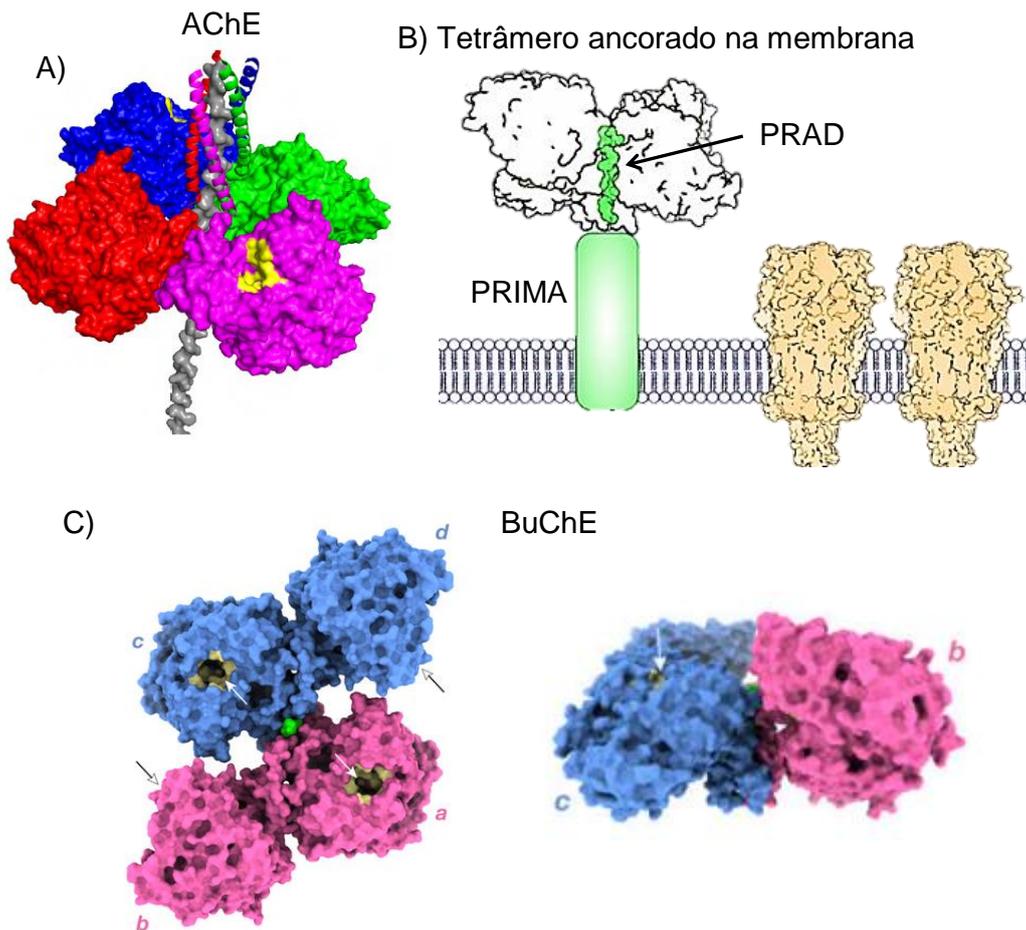


Figura 6: A) estrutura tetramérica da AChE;⁵³ B) Representação esquemática do tetrâmero da AChE ancorado na membrana do neurônio;⁶⁴ C) estrutura do tetrâmero da BuChE obtida por microscopia crioeletrônica.⁶⁵

Na Figura 7 é apresentada a cavidade enzimática da AChE, que tem a forma de um gargalo estreito e profundo de aproximadamente 20 Å.^{67, 68} Ela é composta de dois sítios: o sítio catalítico ativo (CAS em inglês - *catalytic active site*) ao fundo da cavidade enzimática e o sítio aniônico periférico (PAS em inglês - *peripheral anionic site*) próximo à entrada da cavidade.⁶⁹ O PAS apresenta a importante função de capturar a acetilcolina no meio extracelular e direcioná-la para o interior da enzima. Para realizar essa função, o PAS conta com o aminoácido Asp,^{*} que apresenta uma carga negativa, e através de interações eletrostáticas captura e direciona a ACh para o interior da cavidade enzimática.⁷⁰

* A abreviatura e a estrutura dos aminoácidos presentes nessa Tese encontram-se na Tabela A1 nos Anexos (pag. 134).

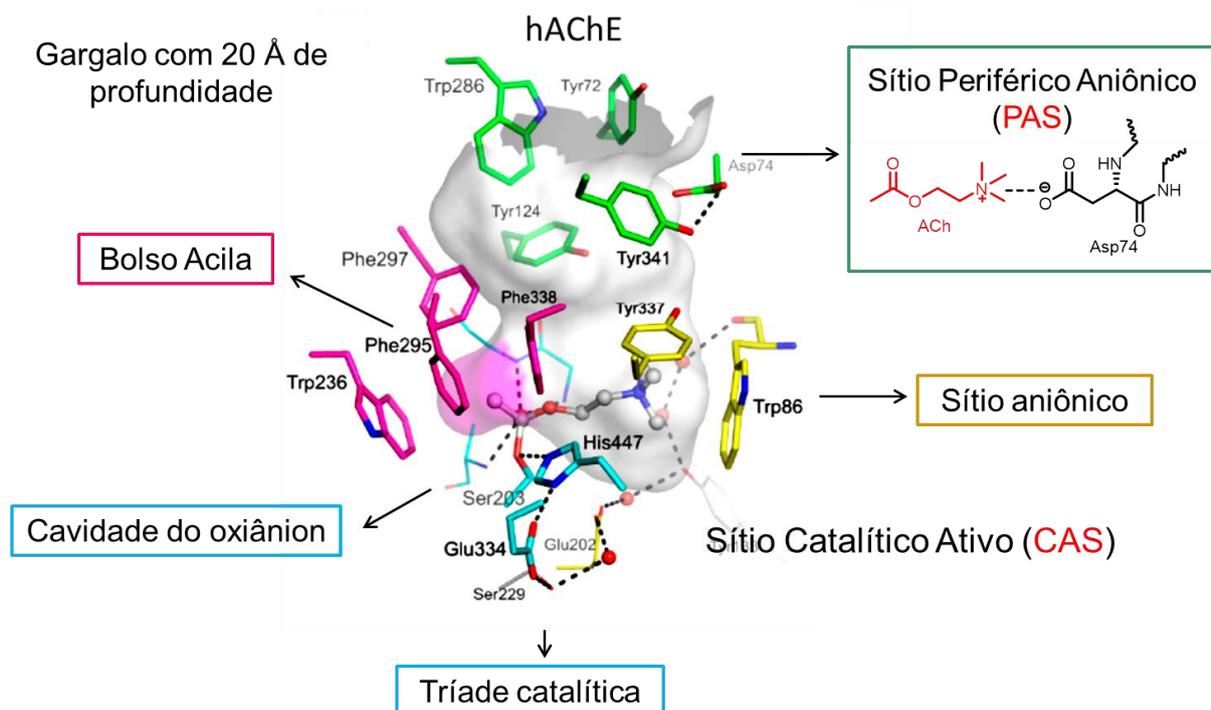


Figura 7: Cavidade enzimática da AChE. Adaptado de Rosenberry *et al.*⁶⁸

O CAS das colinesterases é dividido em quatro subsítios, que têm a função de estabilizar o estado de transição da hidrólise da ACh. São eles: o bolso acila, a cavidade do oxianion, o sítio aniônico e a tríade catalítica.⁷¹ Os quatro subsítios atuam de forma sinérgica, diminuindo a energia do estado de transição e possibilitando a catálise. Desses quatro subsítios, a tríade catalítica é o que efetivamente realizará a hidrólise da ACh. O bolso acila, representado pela cor rosa na Figura 7, é formado pelos resíduos Phe295, Phe297 e Phe338. Esses resíduos aromáticos são volumosos e delimitam o espaço onde o grupo acila da ACh se acomodará. A Figura 8 mostra com mais detalhes a cavidade do oxianion, o sítio aniônico e a tríade catalítica. A cavidade do oxianion é formada pelos nitrogênios, participantes da ligação peptídica, dos aminoácidos Gli121, Gli122 e Ala204. Através de ligações de hidrogênio, a carbonila da ACh interage com os hidrogênios ligados aos nitrogênios, estabilizando os intermediário de alta energia e o estado de transição da reação. Inicialmente, a Ala204 não interage com a carbonila. Porém, com o decorrer da reação e a formação do intermediário tetraédrico (formado quando a serina da tríade catalítica se adiciona na carbonila), uma ligação de hidrogênio entre a Ala204 e a ACh é formada.⁷²

O sítio aniônico é formado pelos aminoácidos Trp84, Glu199 e Phe330.⁷³ Esse sítio é responsável por acomodar o grupo amino quaternário da ACh. O principal resíduo desse sítio é o Trp84, pois ele interage com a carga positiva do grupo amino, através de

interações do tipo cátion- π .⁷⁴ A tríade catalítica é composta pela Ser203, His447 e Glu334. O aminoácido que faz a ligação covalente com a ACh é a Ser203, através do ataque nucleofílico da hidroxila à carbonila da ACh. Os outros dois aminoácidos atuam de forma a favorecer esse ataque, com a histidina atuando como uma base, abstraindo o próton da Ser203, aumentando sua nucleofilicidade, e o Glu334 estabilizando o estado de transição formado através de interações eletrostáticas com a His447.^{53, 72}

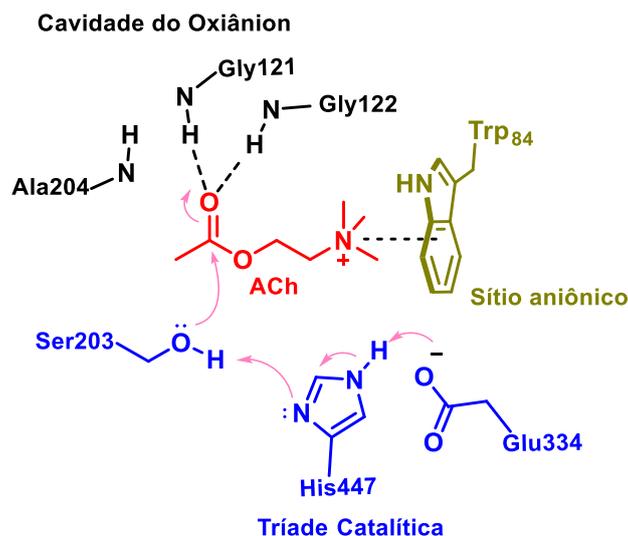


Figura 8: Cavidade do oxiânion, tríade catalítica e sítio aniônico da AChE.

A cavidade enzimática da AChE e da BuChE apresentam os mesmos sítios e subsítios, a diferença reside nos aminoácidos que os compõem (Figura 9). A principal diferença na cavidade enzimática está na quantidade de resíduos aromáticos. Dos dez resíduos aromáticos presentes na AChE, somente quatro permanecem na BuChE. Os principais sítios afetados por essa diferença são o PAS e o bolso acila. No PAS, onde a AChE possui os resíduos triptofano, fenilalanina e duas tirosinas, a BuChE possui a alanina, valina, asparagina e glutamato, aminoácidos alifáticos que conferem maior flexibilidade à BuChE, possibilitando a interação com substratos mais volumosos.⁶⁸ No bolso acila, a BuChE apresenta a leucina e a valina, enquanto que a AChE conta com duas fenilalaninas. A presença desses dois aminoácidos menores no bolso acila da BuChE confere um espaço maior disponível no interior da enzima. Dessa forma, a BuChE se torna menos específica que AChE e consegue hidrolisar substratos maiores.⁷⁵

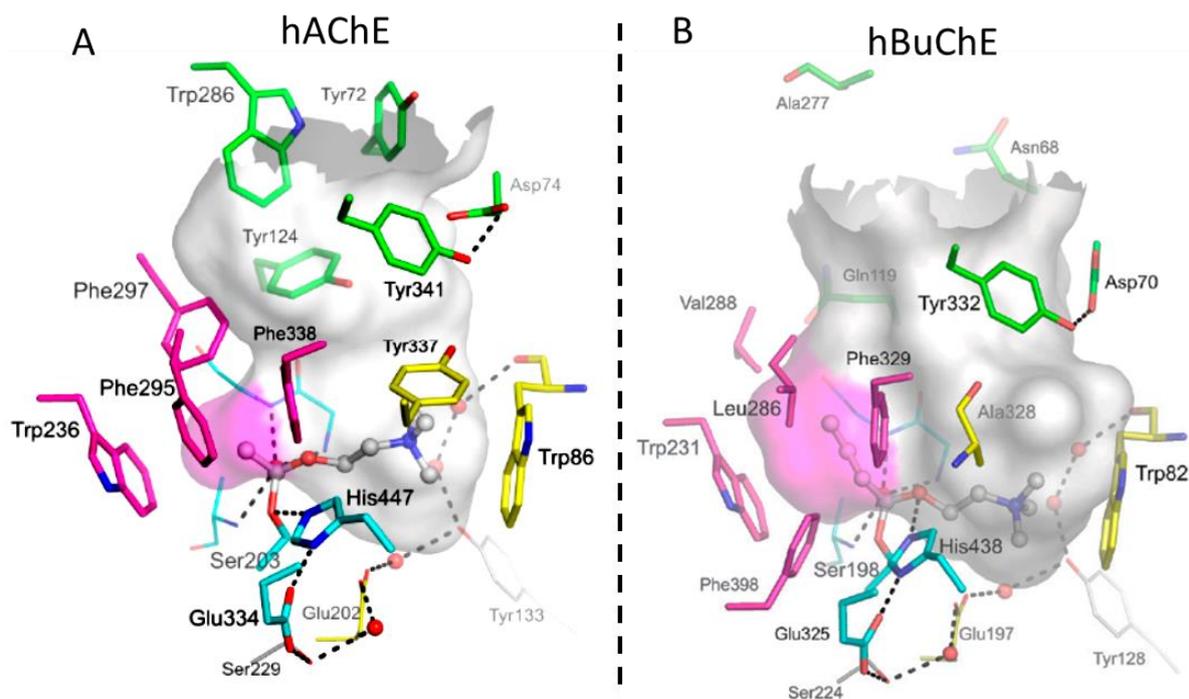


Figura 9: A) Cavidade enzimática da acetilcolinesterase humana (PDB 4EY4). B) Cavidade enzimática da butirilcolinesterase humana (PDB 1P0I). Adaptado de Rosenberry *et al.*⁶⁸

3.4 Inibidores de Colinesterase

Os inibidores de colinesterases (IChEs) retardam a degradação da acetilcolina pela AChE (ou pela BuChE), causando um aumento da concentração da ACh na fenda sináptica, otimizando a disponibilidade do substrato para a comunicação entre os neurônios. Essa estratégia retarda a progressão dos sintomas decorrentes da disfunção cognitiva, permitindo ao paciente uma melhora na qualidade de vida.⁷⁶ Os IChEs utilizados na DA são inibidores reversíveis das enzimas, ou seja, eles não causam a desativação da enzima, somente diminuem sua atividade. Compostos que inibem de forma irreversível as ChEs, como os organofosforados, são agentes neurotóxicos,⁷⁴ pois, como já mostrado, as ChEs exercem um papel fundamental no organismo e sua completa desativação leva a colapso do sistema nervoso. Os IChEs reversíveis interagem no interior da cavidade enzimática, através de interações intermoleculares com os resíduos de aminoácidos da enzima. Dessa forma, impedem que a ACh seja hidrolisada pela enzima, diminuindo a atividade da enzima.⁷⁷

A primeira droga aprovada nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA foi a 9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina, a tacrina (Figura 10A). A tacrina apresenta uma boa atividade na inibição das enzimas, porém, foi

retirada do mercado por apresentar efeitos colaterais, como hepatotoxicidade. Atualmente, três dos cinco medicamentos aprovados pelo FDA para o tratamento dos déficits cognitivos associados à DA (Figura 3) atuam como IChE: Donepezil (Aricept®), (S)-Rivastigmina (Exelon®) e Galantamina (Razadyne®). Embora amplamente utilizados, esses fármacos apresentam eficácia limitada e são efetivos no controle dos sintomas da DA somente nos estágios iniciais.⁷⁸

Com base na observação da estrutura do sítio ativo da AChE, Pang *et al.* sintetizaram moléculas do tipo bis(n)-tacrina (Figura 10A), onde duas unidades do núcleo tacrina são ligados por uma cadeia espaçadora de metilenos.⁷⁹ A ideia dos autores era que esses dois núcleos da tacrina pudessem interagir simultaneamente com o CAS e com o PAS da AChE e dessa forma apresentar uma maior potência de inibição (Figura 10B). A ideia foi bem sucedida e os dímeros da tacrina, especialmente o bis(7)-tacrina, apresentaram maior inibição para a AChE do que a tacrina. O bis(7)-tacrina apresentou inibição cerca de mil vezes maior que a tacrina. Estudos computacionais mostraram que a cadeia de sete metilenos confere ao dímero uma distância de aproximadamente 18 Å entre os dois núcleos da tacrina. Esse valor está bem próximo do determinado para a distância entre o sítio de ligação no CAS e no PAS, que é de 16 Å.⁸⁰ Com base no trabalho de Pang, uma nova onda de inibidores começou a surgir na literatura, utilizando espaçadores para interagir simultaneamente nos dois sítios das ChEs.

Devido a importância da BuChE na DA citada anteriormente, o desenvolvimento de inibidores seletivos para essa enzima vem ganhando destaque na literatura.⁸¹⁻⁸³ Tendo em vista que o bolso acila da BuChE tem mais espaço disponível, quando comparado ao da AChE, fármacos que ocupam esse espaço tendem a ser seletivos para a BuChE.⁶¹ O modo como essa diferença se manifesta na seletividade AChE/BuChE pode ser observada quando comparado o IC₅₀ da fenserina e da 4'-isopropilfenserina (Figura 11). O IC₅₀ é a concentração mínima necessária para inibir 50 % da atividade da enzima. Dessa forma, quanto menor o IC₅₀ mais potente/eficaz será a molécula. A fenserina é um inibidor altamente seletivo para a AChE. A explicação para a seletividade reside no anel aromático ligado ao nitrogênio do grupo carbamato. Esse anel se encontra no bolso acila da AChE, interagindo fortemente com a Phe295 e com a Phe297, através de interações do tipo π - π *stacking*. Como esses dois resíduos são substituídos pela leucina e pela valina na BuChE, tal interação não é possível de ocorrer. Entretanto, o análogo 4'-isopropilfenserina é altamente seletivo para a BuChE. A explicação reside na mesma região da enzima. A ausência das fenilalaninas na

BuChE cria um espaço vazio no bolso acila, que permite melhor acomodar o substituinte isopropila. Esse espaço no bolso acila não existe na AChE e por isso, compostos com substituintes na posição 4' do anel da fenserina tendem a ser seletivos para a BuChE.⁸⁴

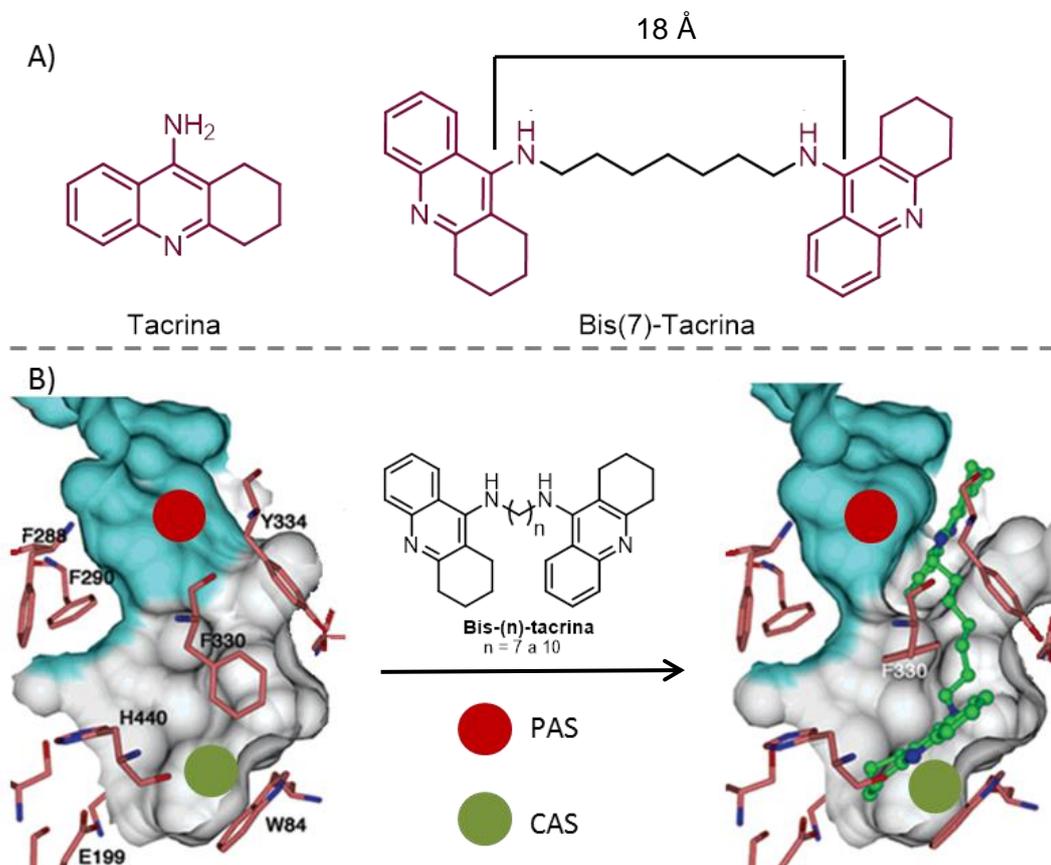


Figura 10: A) Estrutura da tacrina e do bis(7)-tacrina; B) Dupla interação do dímero bis(7)-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase. Adaptado de Rydberg *et al.*⁸⁵

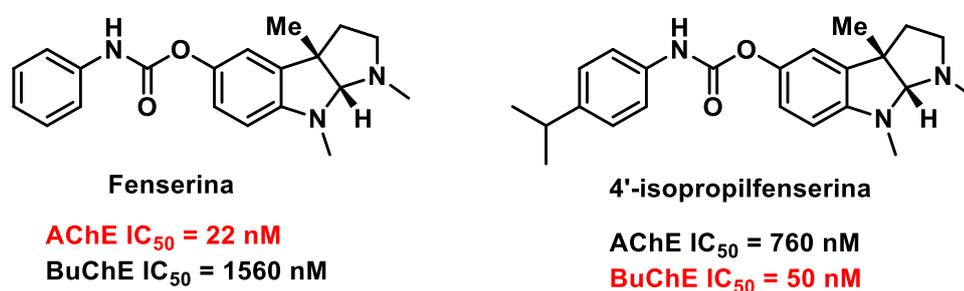


Figura 11: Estrutura da Fenserina e da 4'-isopropilfenserina.

3.5 Híbridos multialvo no tratamento da DA

A estratégia de hibridização molecular consiste na síntese de um composto que contenha dois ou mais núcleos farmacofóricos, com o intuito de que uma única molécula

apresente interação com mais de um fator de uma determinada doença.⁸⁶ Essa estratégia é utilizada no caso de doenças multifatoriais, como a DA.⁸⁷ Nesse caso, os híbridos são planejados para atuarem como IChEs e em algum outro fator da doença, como por exemplo, antioxidantes,⁸⁸ inibidores da formação das placas A β ,⁸⁹ inibidores da monoamino oxidase (MAO),⁹⁰ neuroprotetores⁹¹ e quelantes de metais.⁹² A Figura 12 apresenta um esquema genérico de como planejar uma molécula híbrida. Utilizando como exemplo um fármaco A, com seu receptor A, e um fármaco B, com seu receptor B, uma molécula híbrida desses dois fármacos pode ser desenhada de três maneiras gerais: 1) Híbrido fundido, onde será ligado diretamente um fármaco no outro; 2) Híbrido sobreposto, onde se sobrepõem somente os grupos farmacofóricos, que são a porção da molécula responsável pela atividade biológica; 3) Híbrido conectado, onde os dois fármacos são conectados por um espaçador.⁹³

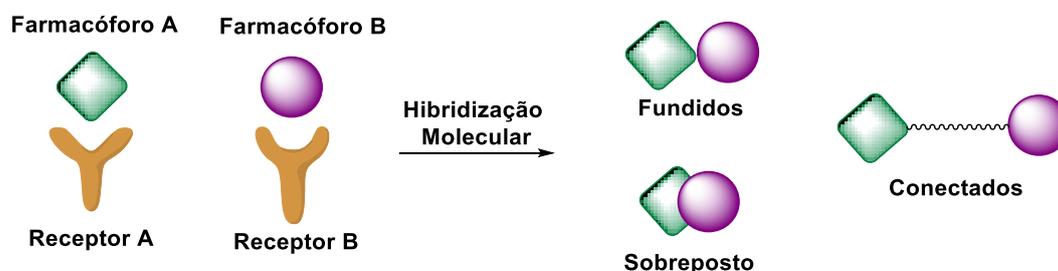


Figura 12: Métodos de hibridização molecular.

A Figura 13 apresenta exemplos de híbridos que atuam como inibidores das enzimas colinesterases. Os híbridos tacrina-*p*-toluenosulfonamida são potentes inibidores das colinesterases com seletividade para a AChE e, além disso, apresentaram potencial de bloquear a agregação das placas β -amiloide induzida pela AChE.⁹⁴ Os híbridos cumarina-benzotriazol apresentaram uma boa inibição da AChE, inibiram a agregação induzida por cobre da proteína β -amiloide e apresentaram atividade como quelante de metais (Cu^{2+} , Fe^{2+} e Zn^{2+}).⁹⁵ Os híbridos donepezil-indol inibiram as enzimas AChE e BuChE e apresentaram atividade como inibidor da monoamino oxidase (MAO) A e B. A MAO é uma enzima que catalisa a degradação de monoaminas, gerando aldeídos, amônia e peróxido de hidrogênio. A inibição da MAO reduz a quantidade de espécies reativas de oxigênio, diminuindo os danos neuronais.⁹⁶

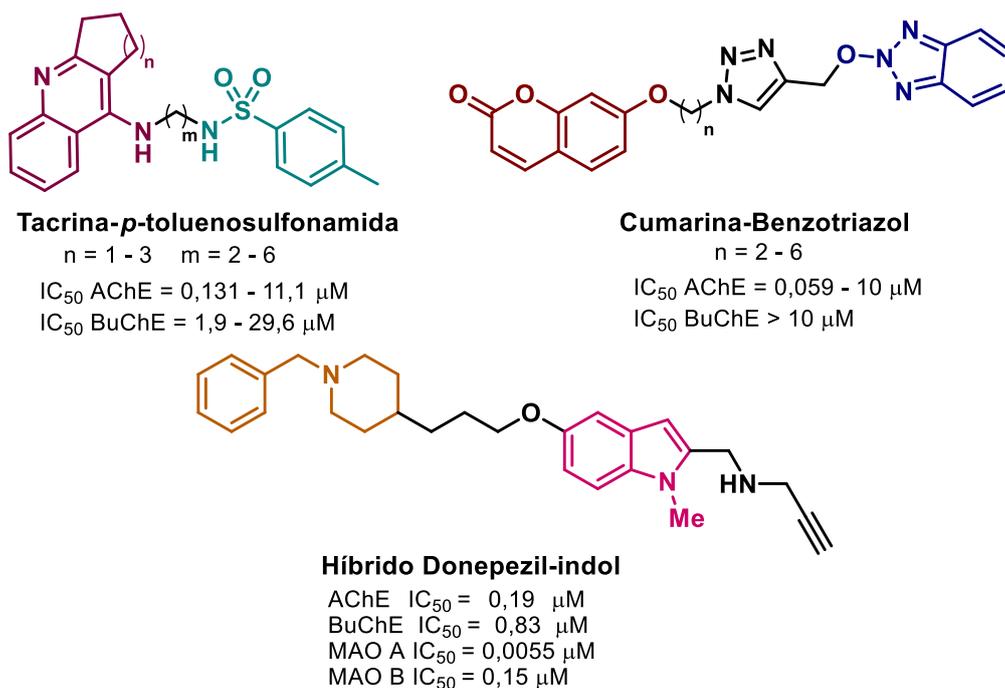


Figura 13: Exemplos de compostos híbridos.

3.6 Propriedades Luminescentes

A luminescência é a emissão de luz de uma substância que pode ocorrer a partir de um estado eletrônico excitado. Os principais fenômenos luminescentes conhecidos são a fluorescência e a fosforescência. Esses processos podem começar com a absorção de um fóton no estado eletrônico fundamental, permitindo a passagem para o estado eletrônico excitado, para posterior desativação por emissão de radiação. Os prováveis processos que ocorrem entre a absorção e a emissão de radiação são ilustrados no diagrama de Jablonski (Figura 14).^{97, 98}

No diagrama de Jablonski, S_0 representa o estado eletrônico fundamental singlete, e S_1 e S_2 representam o primeiro e o segundo estado eletrônico excitado, respectivamente. Em cada um desses estados eletrônicos, os fluoróforos podem existir em diversos estados vibracionais. Com base no princípio de Franck-Condon, as transições eletrônicas são representadas por linhas verticais, pois são transições muito rápidas ($\sim 10^{-15}$ s), o que representa um tempo muito rápido para um significativo movimento do núcleo.⁹⁹

Um composto no seu estado eletrônico fundamental (S_0) ao absorver um fóton passa para um estado eletrônico excitado de maior energia (S_1 , S_2 , ... S_n) onde processos de desativação radiativos e não-radiativos podem ocorrer. Dentre os mecanismos de desativação não radiativos, existe a conversão interna, que permite ao composto passar de um estado eletrônico excitado de maior energia para um de menor

energia e mesma multiplicidade de spin ($S_n \rightarrow S_{n-1}$). Ao mesmo tempo, dentro de um mesmo nível eletrônico excitado, o composto pode relaxar vibracionalmente via mecanismo denominado de relaxação vibracional até atingir o estado vibracional de menor energia dentro deste estado eletrônico. Dentre os processos de desativação radiativa há a fluorescência, onde o fluoróforo no estado S_1 retorna ao S_0 a partir da emissão de luz. Por fim, um processo isoenergético que pode ocorrer em estados eletrônicos excitados é o processo de cruzamento intersistemas, que representa a transição entre dois estados excitados de diferentes multiplicidades de spin, passando assim de um estado singlete (S_n) para o estado tripleto (T_n). Para tanto, o elétron precisa inverter seu spin para realizar esta transição (por exemplo, $S_1 \rightarrow T_1$). A desativação radiativa do estado T_1 para o estado S_0 é denominada de fosforescência. Como no processo de fosforescência ao retornar ao estado fundamental o elétron precisa mudar seu spin, de tripleto para singlete, a fosforescência é um processo mais lento ($\sim 10^{-4}$ a 10 s), quando comparado com a fluorescência ($\sim 10^{-8}$ s).^{97 99, 100}

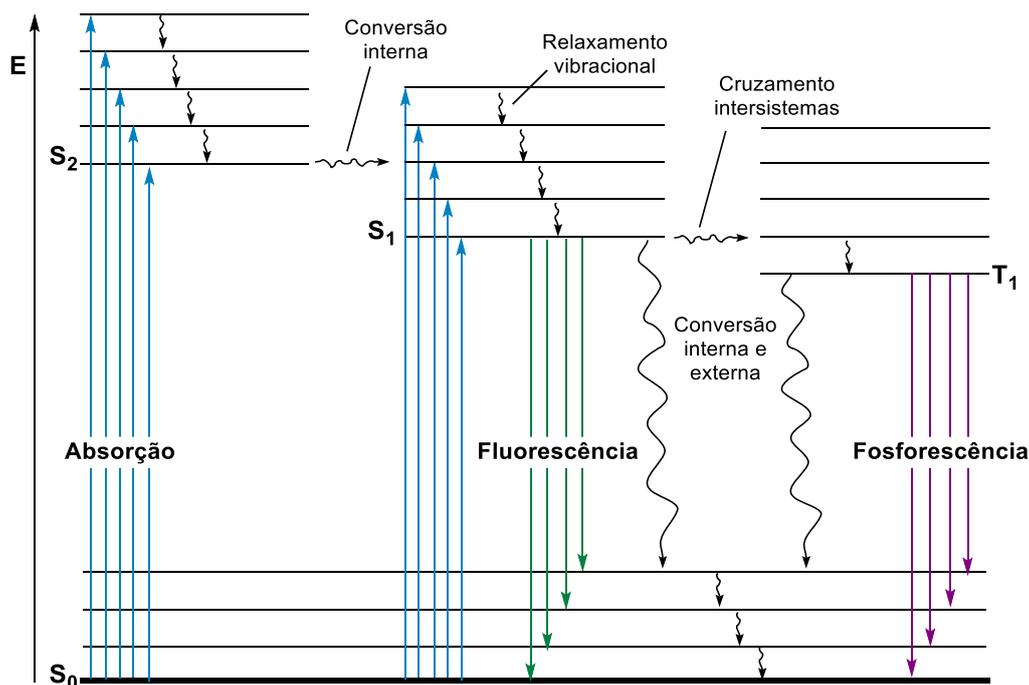


Figura 14: Diagrama de Jablonski – processos de absorção e emissão de energia.

Uma propriedade importante da fluorescência é que, de forma geral, o mesmo espectro de fluorescência é observado independente do comprimento de onda de excitação. Essa propriedade é conhecida como regra de Kasha. Via de regra, em estados vibracionais e eletrônicos de maior energia, o excesso de energia é rapidamente dissipado por processos não-radiativos ($\sim 10^{-12}$ s), levando o fluoróforo ao

estado vibracional de menor energia do S_1 .^{99, 101} Por causa dessa rápida relaxação, o espectro de emissão, geralmente, é independente do comprimento de onda de excitação. Exceções à regra de Kasha, como emissões a partir de estados eletrônicos do tipo S_2 , existem com alguns exemplos reportados na literatura.¹⁰²⁻¹⁰⁵

3.6.1 Coeficiente de absorvidade molar (ϵ)

O coeficiente de absorvidade molar (ϵ) expressa a habilidade de 1 mol do composto absorver luz em um dado solvente. Esse coeficiente está associado à absorvância e à concentração do composto em solução através da Lei de Lambert-Beer (Equação 1).⁹⁸

$$\epsilon(\lambda) = \frac{A(\lambda)}{c \cdot l} \quad (1)$$

onde, $\epsilon(\lambda)$ é o coeficiente de absorvidade molar, $A(\lambda)$ é a absorvância, c é a concentração do composto e l é o caminho óptico.

O valor de ϵ fornece informações importantes a respeito das transições eletrônicas observadas após a absorção de um fóton, que consistem na promoção de elétrons de um orbital ligante para um orbital vazio antiligante. De modo geral, as transições mais prováveis são aquelas que ocorrem do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO em inglês - *Highest Occupied Molecular Orbital*) para o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO em inglês - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Do ponto de vista da fotofísica orgânica, as duas principais transições são $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, pois são transições eletrônicas que geralmente apresentam comprimentos de onda não dissociativos e que estão associados à absorção na região do visível.^{98, 99}

As transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ são permitidas por spin e por simetria e possuem absorção intensa na região do ultravioleta até a região do visível, apresentando valores para o coeficiente de absorvidade molar na ordem de 10^3 - $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Vale ressaltar que quanto maior a conjugação do sistema π , menor será a energia necessária para a transição ocorrer. Já as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ são proibidas por simetria, mas em alguns casos podem ser observadas devido a vibrações moleculares que causam uma perturbação no sistema (acoplamento vibrônico). Dessa forma, apresentam baixos valores para a absorvidade molar, geralmente muito menores que $1000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.^{98, 99}

3.6.2 Deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$)

Observando o diagrama de Jablonski, a energia relacionada ao processo de emissão de fluorescência, tipicamente, é menor que a envolvida no processo de absorção, ou seja, a fluorescência ocorre em maiores comprimentos de onda em relação à absorção (Lei de Stokes). Assim, o deslocamento de Stokes pode ser definido como a diferença entre o máximo de absorção e o máximo de emissão, quando calculado em número de onda (cm^{-1}). Embora a emissão de um fóton seja relativamente rápida, porém mais lenta que a sua absorção, as moléculas excitadas permanecem no estado S_1 por um determinado tempo antes de emitir um fóton ou decair não radiativamente. Durante esse tempo, as moléculas passam por processos que levam à perda de energia no estado excitado. Além disso, os fluoróforos geralmente decaem para níveis vibracionais de mais alta energia do S_0 , resultando em mais perdas de energia por relaxação vibracional. Outros efeitos que aumentam o deslocamento de Stokes são interações com o solvente, reações no estado excitado, formação de complexos excitados, processos de transferência de carga intramolecular, transferência de energia, entre outros.⁹⁹

3.6.3 Rendimento quântico de fluorescência (Φ_f)

O rendimento quântico de fluorescência representa a fração de moléculas excitadas que retornam ao estado fundamental emitindo luz na forma de fluorescência. Ele é uma razão entre os fótons emitidos pelos fótons absorvidos.⁹⁹

De forma geral, o valor de Φ_f de um composto pode ser determinado de forma relativa, através da comparação entre a integral sob a sua curva de emissão com a de um padrão (Equação 2). Para tanto, deve-se conhecer o Φ_f do padrão, o qual deve possuir máximo de absorção próximo ao do composto em estudo. É importante ressaltar que os espectros de emissão de fluorescência tanto da amostra quanto do padrão devem ser obtidos em condições de análise idênticas e em soluções bastante diluídas. O rendimento quântico de um composto encontra-se entre 0 e 1, sendo que 0 indica que o processo de decaimento radiativo não é favorecido e 1 indica que 100% dos fótons absorvidos foi emitido como fluorescência.^{97, 98, 106} Abaixo está apresentada a equação utilizada para a obtenção do rendimento quântico de fluorescência.

$$\Phi_{f,x} = \Phi_{f,st} \cdot \frac{F_x}{F_{st}} \cdot \frac{A_{st}}{A_x} \cdot \frac{n_x^2}{n_{st}^2} \quad (2)$$

onde, $\Phi_{f,x}$ é o rendimento quântico da amostra, $\Phi_{f,st}$ é o rendimento quântico do padrão, F_x e F_{st} são as áreas das curvas de emissão de fluorescência da amostra e do padrão, respectivamente; A_{st} e A_x são as absorvâncias do padrão e da amostra, respectivamente; e n_x e n_{st} são os índices de refração dos solventes da amostra e do padrão, respectivamente.

3.6.4 Transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT)

Desde o seu primeiro relato em 1955 por Weller,¹⁰⁷ moléculas que realizam o processo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT em inglês- *Excited State Intramolecular Proton Transfer*) são extensivamente utilizadas devido as suas propriedades fotofísicas. O ESIPT é um processo fotoquímico e fotofísico que consiste na transferência de um próton no estado excitado entre um grupo ácido para um grupo básico receptor (Figura 15). O processo de ESIPT começa quando o composto, por exemplo, o 2-(2'-hidroxifenil)benzazol na sua forma enol-cis (*E*) absorve radiação ($h\nu$). Ao absorver a radiação, o composto passa do estado fundamental S_0 para o estado excitado S_1 na sua forma enol excitada (E^*). A forma E^* pode retornar ao estado fundamental (*E*) emitindo fluorescência ($h\nu'$). Entretanto, dependendo do meio onde a molécula se encontra, o processo de ESIPT pode acontecer. Ao invés da forma E^* emitir um fóton, ela pode transferir um próton intramolecularmente, levando à formação do tautômero ceto excitado K^* , que retorna ao estado S_0 emitindo um fóton ($h\nu''$). Este processo de transferência ocasiona uma significativa perda de energia deslocando a sua emissão para menores energias. Finalizando o ciclo fotofísico, a forma *K* tautomeriza para a forma *E*, regenerando a espécie inicial.¹⁰⁸

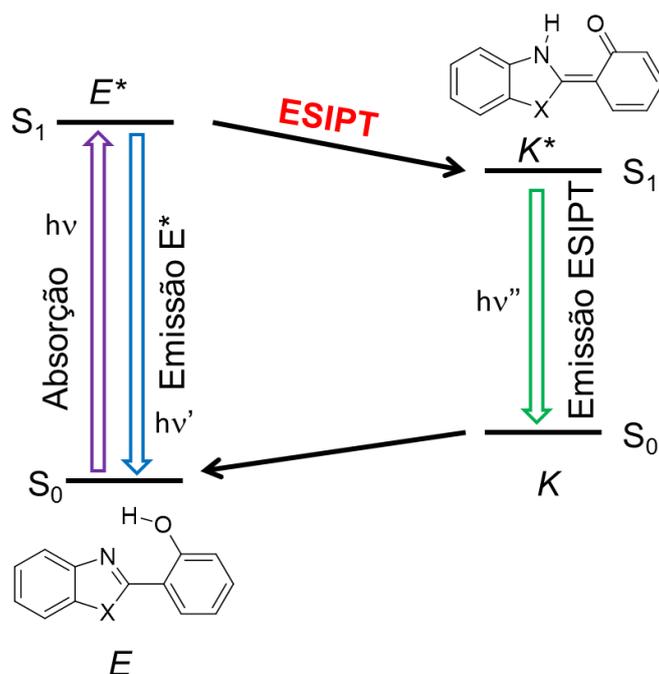


Figura 15: Processo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT) de compostos do 2-(2'-hidroxifenil)benzazol, onde X = O, S, NH ou Se.

Os fluoróforos mais comuns reativos ao processo de ESIPT são os derivados benzazólicos tais como o 2-(2'-hidroxifenil)benzimidazol (HBI),¹⁰⁹ o 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol (HBO)¹¹⁰ e o 2-(2'-hidroxifenil)benzotiazol (HBT, Figura 16).¹¹¹ Além de derivados benzazólicos, moléculas derivadas de 10-hidroxiquinolinas,¹¹² oxibenzonas,¹¹³ 3-hidroxi flavonas,¹¹⁴ 1-cloroacetilaminoantraquinonas,¹¹⁵ 2-(hidroxifenil)benzotriazóis¹¹⁶ e *N*-salicileneanilinas¹¹⁷ apresentam o processo de ESIPT (Figura 16). Por conta desse rápido processo fotoquímico, fluoróforos reativos ao ESIPT apresentam propriedades fotofísicas muito atrativas e são amplamente utilizados como sondas fluorescentes e agentes de imageamento.¹¹⁸⁻¹²⁰ Por exemplo, compostos com ESIPT apresentam um maior deslocamento de Stokes ($>10000\text{ cm}^{-1}$) quando comparados com fluoróforos usuais, como rodaminas e fluoresceínas. Esse grande deslocamento de Stokes ajuda a evitar processos indesejados como auto-absorção (Efeito de filtro interno). Além disso, devido à natureza transiente do ESIPT, a emissão ESIPT é altamente sensível ao ambiente. Conseqüentemente, a presença de solventes polares e doadores de ligações de hidrogênio podem resultar na inibição do processo de ESIPT, resultando no desaparecimento da emissão da forma K*, e a possibilidade de utilização como sondas ratiométricas.¹²¹

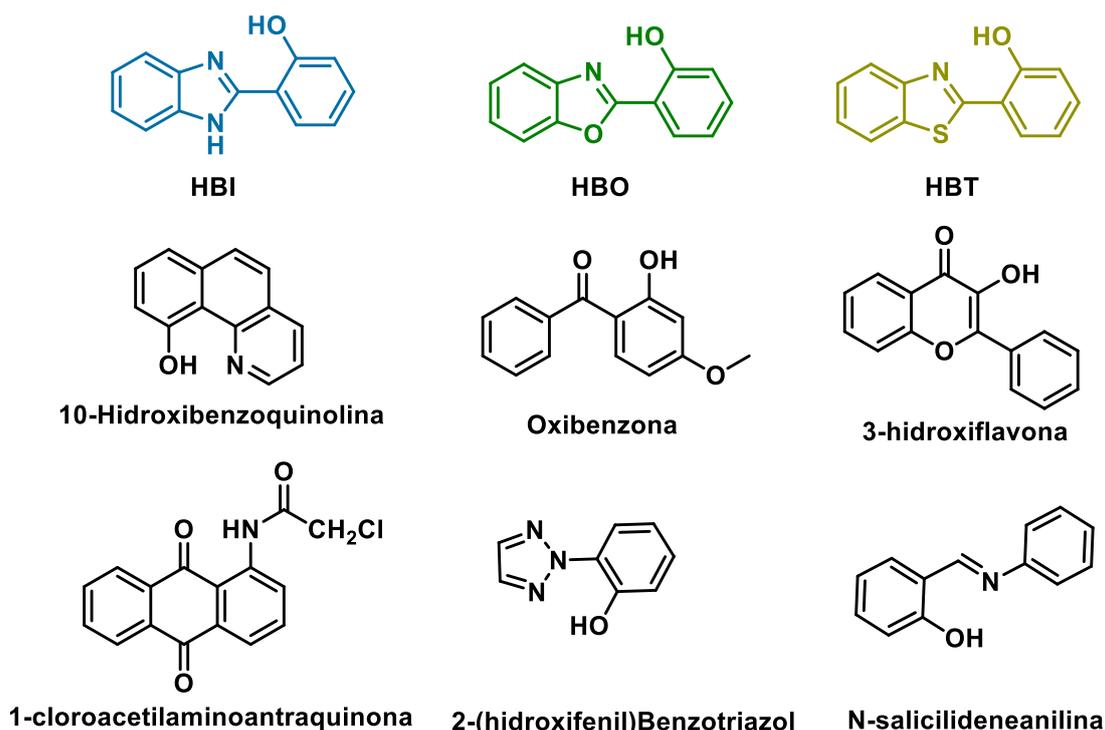


Figura 16: Estrutura de fluoróforos que apresentam o processo de ESIPF.

As aplicações de fluoróforos com ESIPF são as mais diversas, tais como: sensores de pH,¹²² diodo orgânico emissor de luz (OLED em inglês - *Organic Light-Emitting Diode*),¹²³ sensores de cátions e ânions,^{124, 125} sensores de pequenas moléculas e de macromoléculas,^{118, 126} bioimagem,¹²⁷ entre outros. Por fim, muitos fluoróforos que apresentam ESIPF são usados como sondas ratiométricas por conta da emissão dual (forma E* e K*). Sondas ratiométricas são fluoróforos que mudam sua banda de emissão através da interação com um analito, permitindo assim, a detecção quantitativa desse analito pela simples avaliação da razão das intensidades de fluorescência em dois comprimentos de ondas distintos.¹²⁸ Sondas ratiométricas conseguem detectar mudanças em parâmetros físico-químicos do ambiente em análise, como pH, viscosidade, polaridade e temperatura, e podem ser aplicadas para responder a variações desses parâmetros em sistemas *in vitro* e *in vivo*.¹²⁹ Como o processo de ESIPF é muito dependente do ambiente químico, perturbações nesse ambiente podem ocasionar variações nas intensidades relativas das duas bandas de emissão, fornecendo importantes informações do ambiente químico em análise.

3.7 Núcleo Imidazol e Lofina

O imidazol é um núcleo heteroaromático de cinco membros contendo átomos de nitrogênio nas posições 1 e 3 do anel (Figura 17A). Sua estrutura é muito interessante

do ponto de vista da química medicinal, pois possui caráter doador e receptor de ligações de hidrogênio, assim como elevada afinidade por metais.¹³⁰ O imidazol é o núcleo base de diversos produtos naturais como histidina, histamina, purina e ácidos nucleicos. Compostos imidazólicos apresentam atividades farmacológicas diversas, tais como analgésicos, antifúngicos, antitumorais, antivirais, antiprotozoários, entre outros.¹ A Figura 17A apresenta dois exemplos de fármacos comerciais que contêm o núcleo imidazol, sendo eles, a enviroxima (antiviral)¹³¹ e o etomidato (agente anestésico).¹³² Por fim, inibidores de colinesterases são encontrados na literatura na forma de derivados de benzimidazóis e fenantroimidazóis (Figura 17B). Os derivados do benzimidazol inibiram as enzimas AChE e BuChE na escala micromolar. Os estudos de modelagem molecular mostraram que o anel benzimidazol interage no PAS através de interações π - π stacking com Trp279 e Tyr334.¹³³ Compostos do tipo fenantroimidazol mostraram-se efetivos na inibição da agregação do peptídeo A β em concentrações na ordem micromolar, bem como na inibição das colinesterases na mesma escala de concentração.¹³⁴

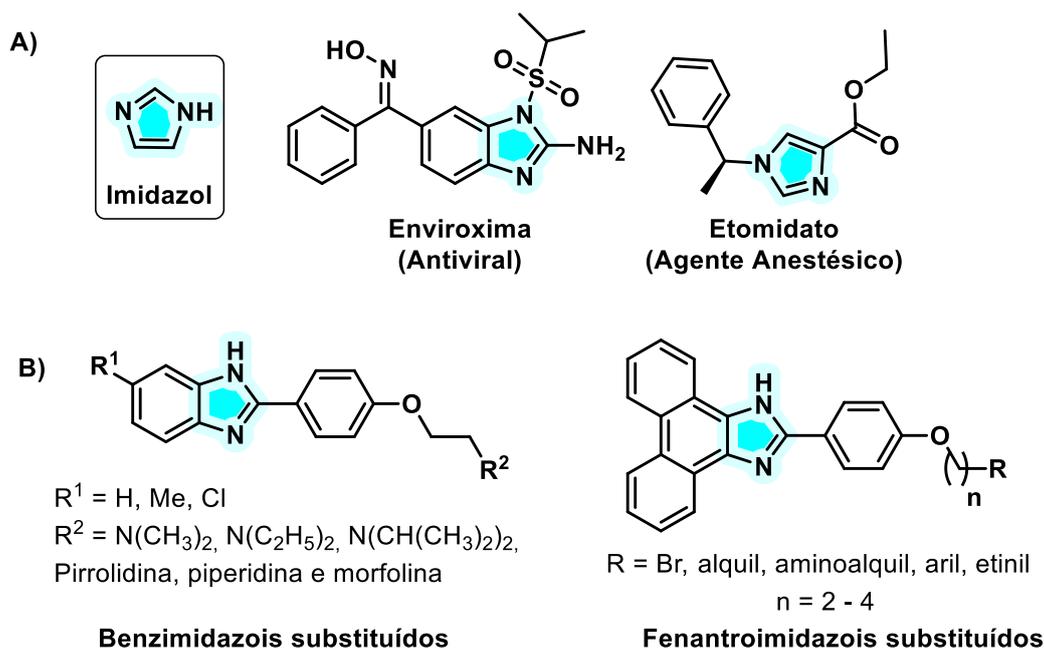
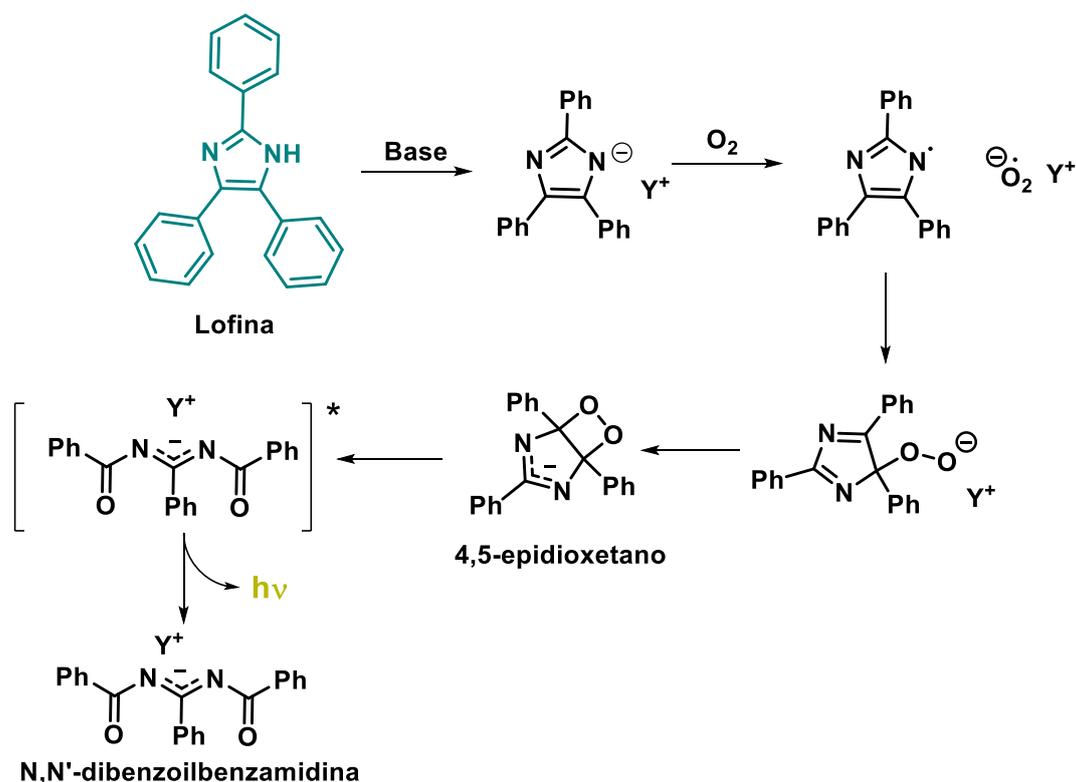


Figura 17: A) Imidazol e fármacos comercializados contendo o núcleo imidazol. B) Derivados imidazólicos testados como inibidores de colinesterase.

Um derivado interessante do núcleo imidazol é a lofina (2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol, Esquema 3). A lofina apresenta três substituintes fenilas nas posições 2, 4 e 5 do anel, conferindo a molécula maior possibilidade de realizar interações do tipo π - π stacking, T-stacking e dipolo-dipolo. A lofina apresenta uma propriedade fotofísica muito

interessante, a quimiluminescência, definida como a emissão de luz decorrente de uma reação química. Em 1877, Radziszewski observou que a oxidação da lofina pelo oxigênio na presença de uma base, leva a emissão de luz na região do amarelo (Esquema 3).¹³⁵ Inicialmente, a lofina é desprotonada pela base levando a formação de um ânion, que reage com oxigênio, através de uma reação de transferência de um elétron, levando a formação do radical neutro da lofina e do íon superóxido. Esses dois radicais se combinam formando o peroxiânion, que após ciclização forma o intermediário 4,5-epidioxetano. Por fim, a abertura do dioxetano leva a formação da *N,N'*-dibenzoilbenzamidina no estado excitado. Ao retornar ao estado fundamental, a benzamidina libera um fóton, conferindo a reação sua propriedade quimiluminescente.¹³⁶⁻¹³⁸ Além de quimiluminescente, a lofina é fluorescente, isto é, pode emitir luz sem sofrer uma reação química. Derivados da lofina podem ser utilizados como marcadores fluorescentes para aminas, fenóis e ácidos carboxílicos, além disso, alguns desses compostos formam complexos com íons metálicos e têm sido empregados na análise de traços de metais.^{3, 139}



Esquema 3: Reação de quimiluminescência da lofina.

Em 2013, nosso grupo de pesquisa sintetizou uma série de híbridos tacrina-lofina (Figura 18) que se mostraram potentes inibidores da AChE e da BuChE, com a maioria

sendo seletivos para a BuChE.⁸ Neste mesmo trabalho, foram sintetizados dímeros bis(n)-lofina, onde somente o bis(8)-lofina (Figura 18) foi ativo para a AChE na escala de concentração nanomolar. Este trabalho foi de grande importância para o nosso grupo, pois revelou a lofina como uma nova plataforma de desenvolvimento de IChEs. Desde então, nosso grupo já sintetizou algumas series de híbridos contendo o grupo lofina, como os híbridos lofina-carboidratos e os híbridos lofina-pirimidina (Figura 18).^{5, 8, 140}

Vale destacar que os híbridos lofina-pirimidina não foram ativos para as enzimas colinesterases. Assim, devido as suas já conhecidas propriedades luminescentes, e para melhorar explorar suas aplicações, um estudo fotofísico em solução desses híbridos foi realizado. Os compostos apresentaram máximo de absorção em 260 nm e máximo de emissão de fluorescência em 380 nm. Adicionalmente, foram realizados estudos de interação dos híbridos com a proteína albumina sérica bovina (BSA). Nesse estudo, verificou-se que a interação dos híbridos com a BSA causa uma supressão da fluorescência da BSA. Baseado na observação que a lofina não suprime a fluorescência da BSA, atribuiu-se essa supressão à interação da porção pirimidina do híbrido com a BSA.⁵

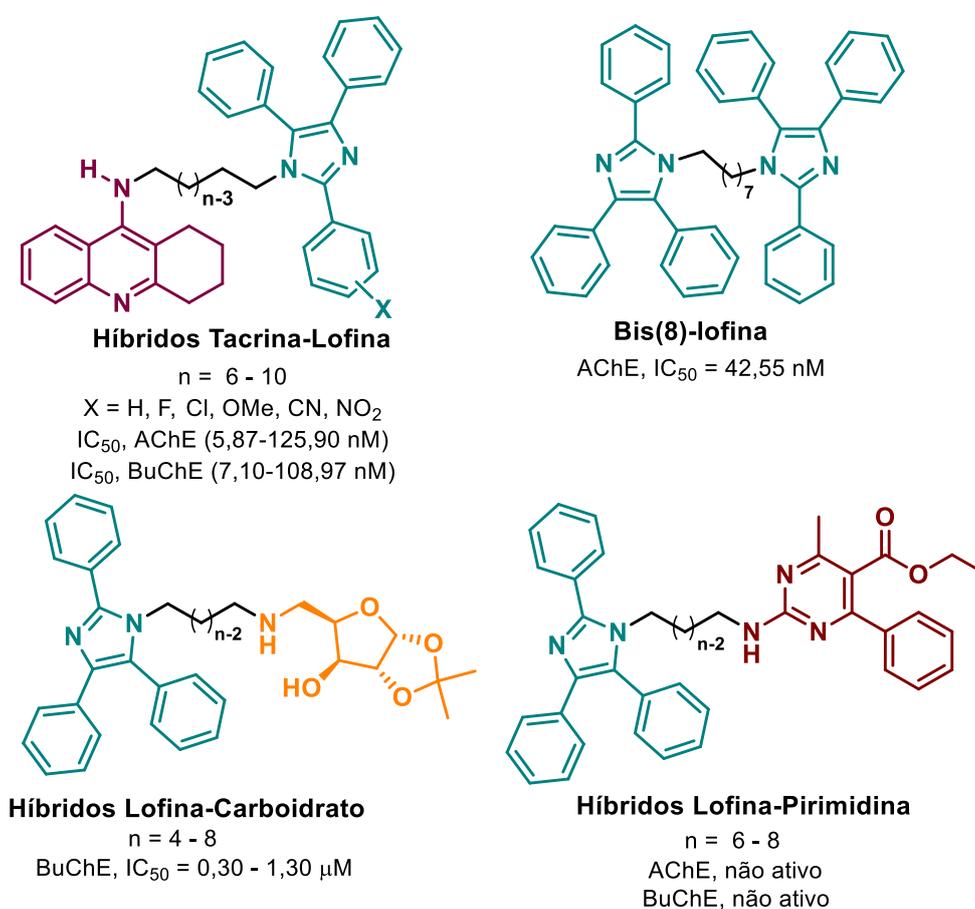
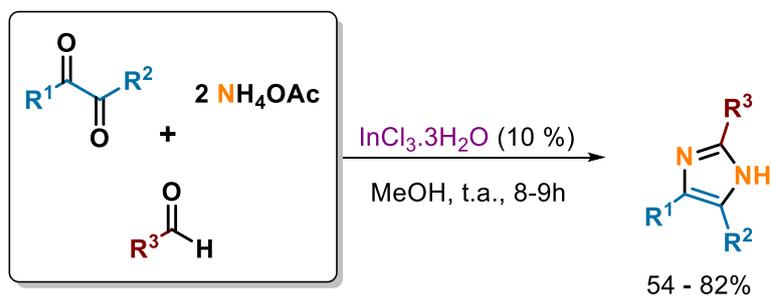


Figura 18: Híbridos contendo o núcleo lofina.

Tendo em vista a importância dos compostos imidazólicos, diversas rotas sintéticas foram desenvolvidas para a síntese desses compostos.¹⁴¹ Um método prático e eficiente para síntese de imidazóis substituídos é a reação multicomponente de Radziszewski.¹⁴² Ela consiste na reação de condensação tricomponente entre 1,2-dicetona, aldeído e acetato de amônio (2 equivalentes). A reação de Radziszewski original leva a formação de imidazóis 2,4,5-trissubstituídos. Os imidazóis 1,2,4,5-tetrasubstituídos podem ser sintetizados pelo mesmo método, porém, ao invés de usar 2 equivalente de acetato de amônio, utiliza-se uma amina primária.

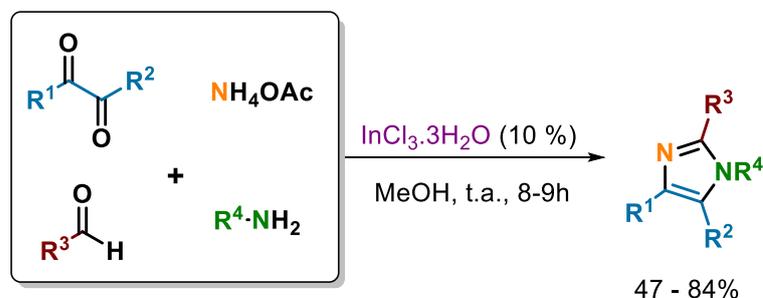
Ao longo dos anos, diversos trabalhos na literatura exploraram a reação de Radziszewski, envolvendo diversos materiais de partida, catalisadores e solventes.^{143, 144} Em 2008, Das Sharma *et al.* desenvolveram um método para síntese de imidazóis 2,4,5-tri e 1,2,4,5-tetrasubstituídos, baseado na reação de Radziszewski, que utiliza $\text{InCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ como catalisador. Em comparação com os demais métodos, o método de Das Sharma *et al.* é simples, com condições brandas, podendo ser realizada em temperatura ambiente, e com bons rendimentos (Esquema 4).¹⁴⁵

A) Síntese de imidazóis 2,4,5 trissubstituídos



$\text{R}_1 = \text{Ph, 4-MePh}$
 $\text{R}_2 = \text{Ph, 4-MeOPh, 3- ou 4-NO}_2\text{Ph}$
 $4\text{-BrPh, 2- ou 4-ClPh, 2- ou 4-HOPh,}$
 $3,4\text{-(MeO)}_2\text{Ph, Me, } n\text{-Pr, } i\text{-Pr,}$
 $n\text{-pentil, benzil, PhCH(CH}_3\text{)}$

B) Síntese de Imidazóis 1,2,4,5 tetrasubstituídos



$\text{R}_1 = \text{Ph, 4-MePh, 4-BrPh, 4-ClPh,}$
 H, Me
 $\text{R}_2 = \text{Ph, Me, Et, alil, benzil}$

Esquema 4: Derivados imidazólicos sintetizados por Das Sharma *et al.*¹⁴⁵

3.8 Núcleo Benzazol

Os anéis azólicos com um heteroátomo (N, O, S ou Se) na posição 1 e um nitrogênio na posição 3 (Figura 19) são um importante núcleo em diversas moléculas com atividade biológica.¹⁴⁶⁻¹⁴⁸ O núcleo benzazol, um anel azólico com um grupo fenila fundido ao anel nas posições 4 e 5, (Figura 19) são sistemas heterocíclicos muito versáteis, presentes em uma grande variedade de compostos bioativos. Ainda, apresentam excelentes propriedades farmacocinéticas, são ótimos ligantes para reagentes organometálicos e podem ser usados como corantes.^{110, 149, 150}

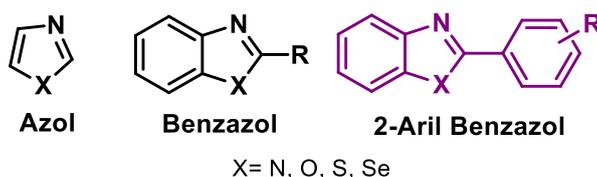


Figura 19: Estrutura química dos núcleos azol, benzazol e 2-aril benzazol.

Compostos 2-aril ou 2-heteroaril benzotiazóis são estudados como agentes antitumorais, antimicrobianos, antibacterianos e antifúngicos.¹⁵¹⁻¹⁵³ Derivados do núcleo benzoxazol são estudados como antipsicóticos multialvos, antivirais, entre outras aplicações.^{154, 155} Ambos os núcleos são estudados como agentes de imageamento das placas β -amilóides, auxiliando no diagnóstico da doença de Alzheimer.^{156, 157} Estudos também mostraram que derivados do benzotiazol se ligam fortemente às placas $A\beta$ e podem reduzir a presença de oligômeros solúveis da $A\beta$.¹⁵⁸

O núcleo benzazol também é utilizado para a síntese de moléculas híbridas (Figura 20). Santos *et al.* sintetizaram uma série de híbridos tacrina-benzotiazol como compostos multialvo para o tratamento da doença de Alzheimer. Os compostos sintetizados apresentaram atividade de inibição da AChE, na faixa de 0,19 a 1,89 μ M, e inibiram o processo de agregação $A\beta_{42}$.¹⁵⁹ Outro híbrido presente na literatura é o benzotiazol-benzilpiridínio (Figura 20), cuja série de compostos sintetizados apresentaram potente inibição da AChE e da BuChE e também conseguiram inibir o processo de agregação $A\beta_{42}$.⁹

Derivados benzazólicos também são utilizados como blocos de construção de compostos fluorescentes. Derivados benzazólicos podem ser encontrados em sensores para íons,¹⁶⁰ pH,¹⁶¹ pequenas moléculas¹²⁶ e biomoléculas.¹⁶² Como mostrado na seção 3.6.4, derivados 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol apresentam o processo de ES IPT. Isso confere a essas moléculas um grande deslocamento de Stokes, uma alta foto

estabilidade e uma baixa taxa de reabsorção. O núcleo benzazol também pode ser utilizado na construção de moléculas híbridas fluorescentes. De Souza *et al.* sintetizaram uma série de híbridos benzazol-diidropirimidinonas (Figura 20). Esses híbridos foram capazes de apresentar uma função dupla em meio biológico, unindo a propriedade luminescente do benzazol e a atividade anticâncer das diidropirimidinonas.¹⁶³

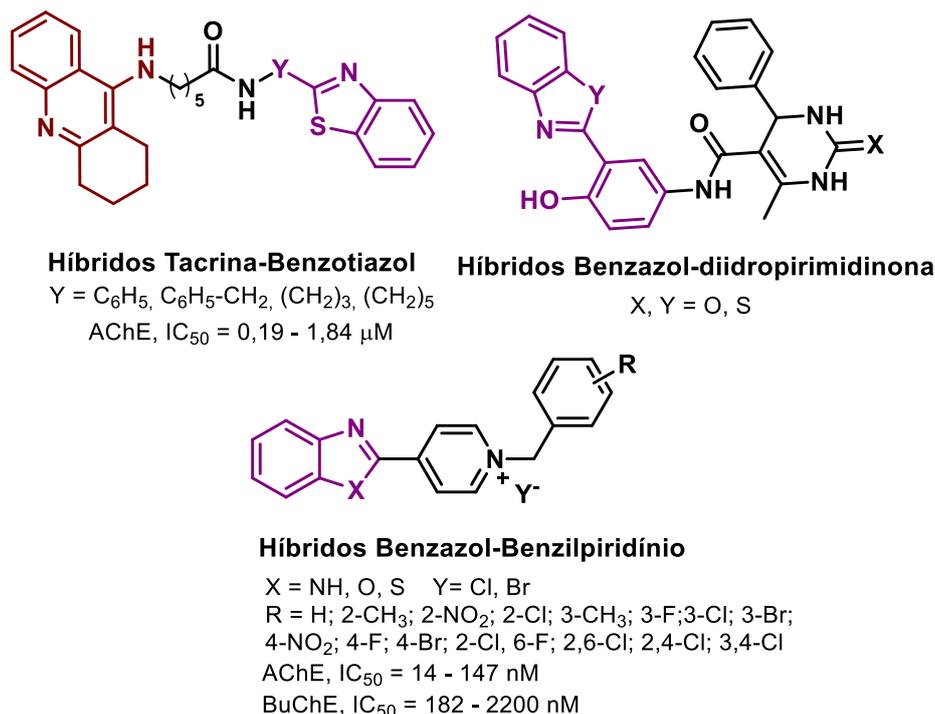


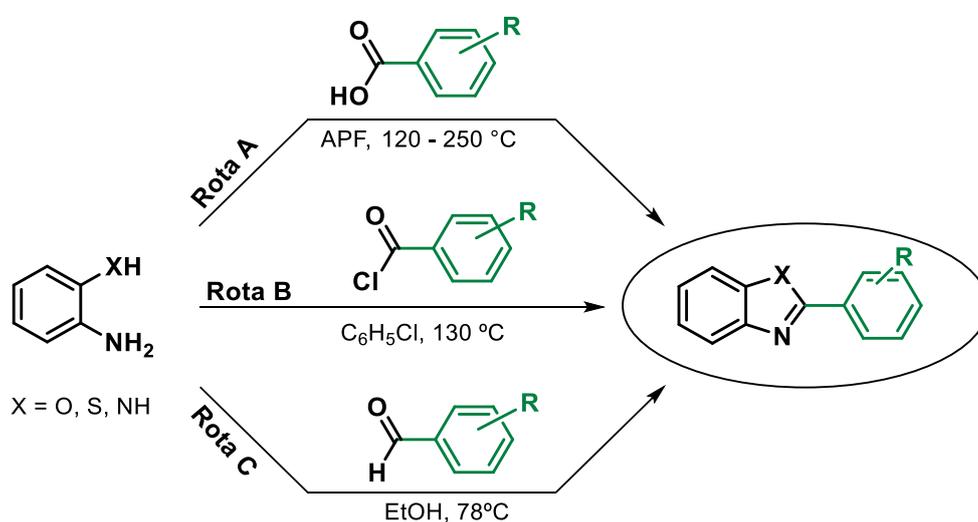
Figura 20: Híbridos contendo o núcleo benzazol.

Diversas rotas sintéticas foram desenvolvidas para a síntese de 2-aryl-benzazóis.² A abordagem mais utilizada é a reação de ciclocondensação entre *o*-aminofenol, *o*-aminotiofenol ou *o*-fenilenodiamina com ácidos carboxílicos (Esquema 5, rota A). Nesse tipo de reação, normalmente a ativação se dá através da utilização de ácidos de Lewis e muitas vezes requer elevadas temperaturas. Uma metodologia sintética bastante usual é a condensação com ácidos carboxílicos em ácido polifosfórico (APF) a 120 – 250°C, seguida de neutralização. Além desta, outras condições reacionais utilizam éster de trimetilsililpolifosfato, ou ácido metanossulfônico combinado com sílica gel, ambas as metodologias em temperaturas de 140 °C.¹⁶⁴⁻¹⁶⁶

Outra rota sintética empregada para síntese desse núcleo é a condensação com cloretos de ácido em refluxo de clorobenzeno (Esquema 5, rota B). Outras opções de solvente para esta reação são refluxo de ácido acético ou *N*-metil-2-pirrolidina a 100

°C.¹⁶⁴ Essa condensação pode ser catalisada por $\text{In}(\text{OTf})_2$ a 110 °C sem a utilização de solventes.¹⁶⁷ Também existem procedimentos utilizando aquecimento por micro-ondas diminuindo os tempos reacionais e aumentando os rendimentos.¹⁶⁸

Ainda, pode ser realizada a condensação de *o*-aminofenol, *o*-aminotiofenol ou *o*-fenilenodiamina com aldeídos (Esquema 5, rota C). A condensação pode ser realizada em etanol, utilizando bis(trifluoroacetato) de feniliodo (III) como oxidante.¹⁶⁴ A reação pode ser realizada, ainda, empregando-se iodo hipervalente suportado em polímero – poli[4-diacetoxiiodo] estireno – em diclorometano a temperatura ambiente.¹⁶⁵ Também pode ser utilizado cloreto de amônio como catalisador em uma mistura metanol-água (15:1) como solvente a temperatura ambiente. Esta é uma condição branda de reação que não necessita o uso de ácidos ou metais.¹⁶⁴



Esquema 5: Métodos de síntese de benzazois a partir de ciclocondensação.

3.9 Núcleo Tianeptina

A tianeptina é um derivado da 1,2-tiazepina contendo dois anéis benzênicos fundidos e como cadeia lateral o ácido 7-amino-heptanoico (Figura 21). A tianeptina, comercializada como Stablon®, é um antidepressivo atípico da classe dos tricíclicos. Ela compartilha similaridades estruturais com outros antidepressivos tricíclicos, entretanto, seu modo de ação é diferente.¹⁶⁹ A tianeptina atua no aumento da captação neuronal do neurotransmissor serotonina, ao invés de atuar na liberação e captura de dopamina, como os antidepressivos tricíclicos clássicos.⁶ Também foi observada a atuação da tianeptina no sistema glutamatérgico, apresentando efeitos na neuroplasticidade no hipocampo e na amígdala.¹⁷⁰ Dados experimentais sugerem que a tianeptina pode

prevenir a atrofia e a disfunção do hipocampo humano, duas características relacionadas ao envelhecimento e à DA.¹⁷¹

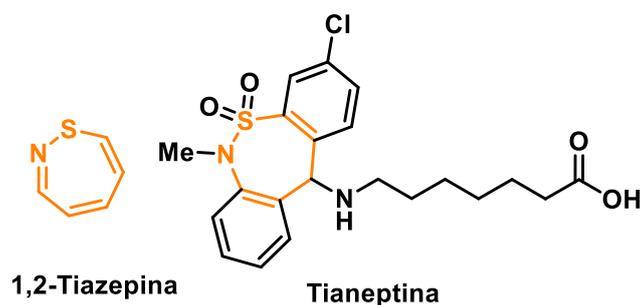


Figura 21: Estrutura da 1,2-tiazepina e seu derivado tianeptina.

A tianeptina foi aprovada para uso em diversos países da Europa e da América Latina. Entretanto, ela não é aprovada pelo FDA nos EUA. Inclusive, nos últimos anos, ela vem sendo considerada um problema emergente de saúde pública nos EUA, uma vez que, seu uso indiscriminado pode causar dependência química e toxicidade similar a opioides.¹⁷² Esse potencial de abuso se deve à capacidade da tianeptina de se ligar a receptores μ -opioide, que estão relacionados à dependência química dessa classe de compostos.¹⁶⁹

A presença do grupo ácido na cadeia lateral da tianeptina chama atenção pela facilidade de modificar a molécula nessa posição. Entretanto, poucos derivados da tianeptina são encontrados na literatura.^{7,173-176} Recentemente, uma série de ésteres da tianeptina foi sintetizada (Figura 22) com o objetivo de estudar a interação desses compostos com a BSA.¹⁷⁵ Nosso grupo de pesquisa sintetizou uma série de híbridos contendo o núcleo tacrina conectado à tianeptina (Figura 22). Os híbridos tacrina-tianeptina apresentaram IC₅₀ (concentração mínima necessária para inibir 50% da atividade da enzima) na faixa de concentração nanomolar para inibição das ChEs. Vale ressaltar que a tianeptina não apresentou atividade como inibidor das ChEs. Verificou-se também que os compostos obtidos não afetaram a integridade celular e, além disso, foram capazes de reduzir a secreção basal da proteína S100B, cujo alto nível de secreção está associado a neuropatologias.⁷

Recentemente, Berecz *et al.* sintetizaram uma série de derivados da tianeptina, onde o nitrogênio do anel da 1,2-tiazepina faz parte de um ciclo fundido (Figura 22).¹⁷⁶ Essa modificação estrutural teve como objetivo aumentar a estabilidade metabólica dos compostos através da eliminação da porção *N*-metil sulfonamida, uma vez que, a demetilação dessa função da molécula é um passo importante na rota metabólica da

tianeptina. Vale destacar que os autores reportaram somente a síntese desses compostos, sem nenhum teste biológico adicional.

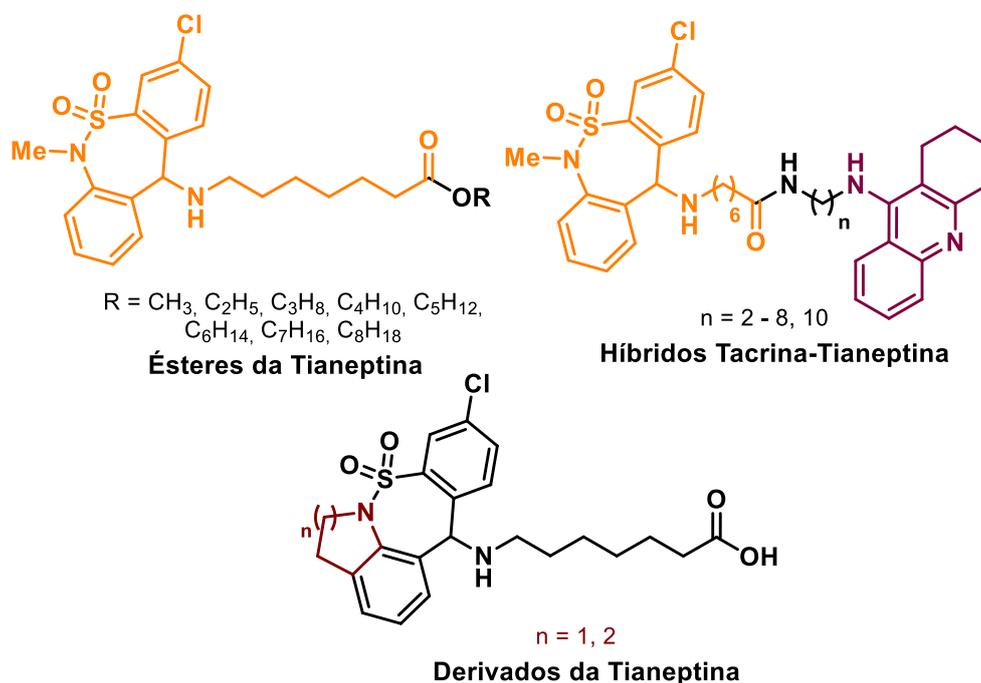


Figura 22: Derivados da tianeptina.

3.10 Núcleo Esquárico

O ácido esquárico (3,4-diidroxi-3-ciclobuten-1,2-diona), é composto por um anel ciclobuteno com duas carbonilas adjacentes e duas hidroxilas nos carbonos 3 e 4 (Figura 23). O ácido esquárico apresenta dois hidrogênios ácidos com $\text{pK}_{a1} = 0,54$ e $\text{pK}_{a2} = 3,58$.¹⁷⁷ Essa forte acidez pode ser explicada pela alta estabilidade de sua base conjugada em decorrência de sua deslocalização eletrônica. Além disso, sua base conjugada apresenta uma estabilização adicional devido ao aumento do caráter aromático do diânion. A base conjugada segue as três regras de Hückel: satisfazer a regra $4n + 2 = 2$ elétrons π (onde $n = 0$), ser uma molécula cíclica planar e possuir uma nuvem eletrônica deslocalizada.¹⁷⁸ Diversos métodos foram utilizados para medir a aromaticidade do diânion esquarato e chegaram a conclusão de que ele realmente é aromático, baseado na geometria (comprimento das ligações), na energia (energia de estabilização aromática) e em parâmetros magnéticos como susceptibilidade magnética, equivalência química de ^{17}O e deslocamento químico independente do núcleo (NICS em inglês - *Nucleus-Independent Chemical Shift*).^{177, 179, 180}

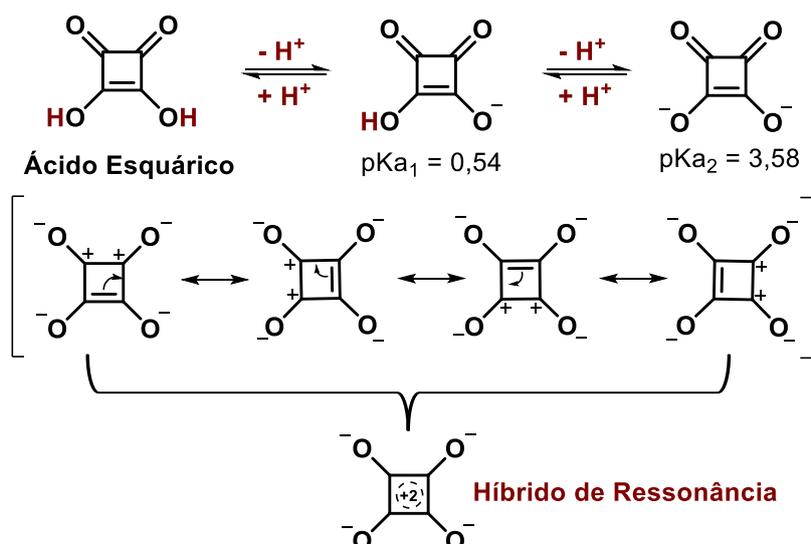


Figura 23: Equilíbrio de protonação/desprotonação do ácido esquárico e estruturas de ressonância do diânion esquarato.

As esquaramidas são derivadas do ácido esquárico com diversas aplicações. Elas são usualmente utilizadas em catálise assimétrica, devido a sua capacidade de formar ligações de hidrogênio.¹⁸¹ Utilizando cálculos computacionais de NICS, Quiñóteros *et al.* estimaram a aromaticidade de esquaramidas, esquaramidas protonadas e esquaramidas complexadas com cátion amônio (Figura 24).¹⁸⁰ Vale mencionar que quanto menor o valor de NICS (0,6), maior é o caráter aromático da molécula. Para fins de comparação o NICS do benzeno é -10,1 ppm. Nesse estudo, os autores verificaram que a esquaramida protonada e a esquaramida complexada apresentam valores de NICS muito similares ao do benzeno, indicando que essas estruturas têm um incremento na aromaticidade, quando comparadas com a esquaramida. Esse incremento na aromaticidade ajuda a explicar a forte ligação de hidrogênio que as esquaramidas realizam, uma vez que, o incremento na aromaticidade gera uma estabilização adicional.

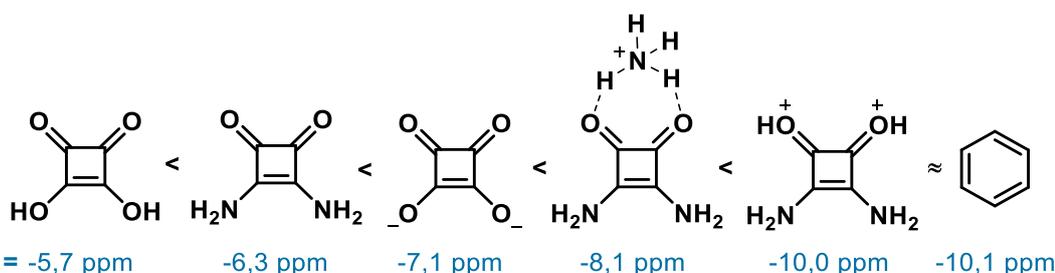


Figura 24: Valores de NICS (0,6) para ácido esquárico, esquaramida, esquarato, esquaramida complexada com amônio, esquaramida protonada e benzeno.

As esquamidas também são importantes blocos de construção de moléculas para química medicinal. Exemplos de moléculas pequenas que entraram em ensaios clínicos e que contêm uma porção esquamida são o Perzinfotel, que atua como antagonista dos receptores NMDA¹⁸² e o Navarixin, que atua como antagonista dos receptores de quimiocina CXCR2, Figura 25.¹⁸³ Além desses dois compostos, na literatura são reportados derivados do ácido esquárico com propriedades anti-inflamatórias,¹⁸⁴ antibacterianas,¹⁸⁵ anti-*Trypanosoma cruzi*,¹⁸⁶ e antitumorais.¹⁸⁷

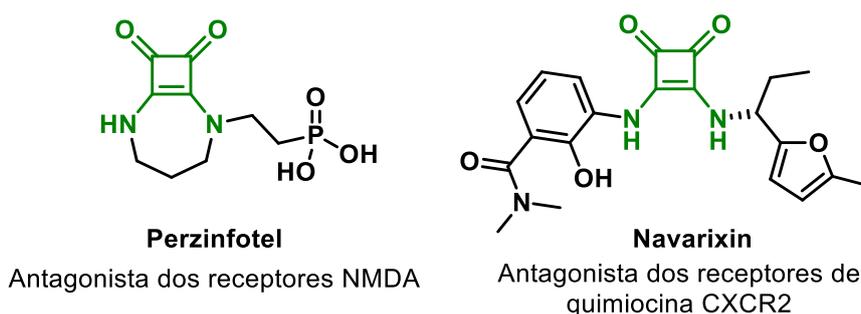


Figura 25: Estrutura do Perzinfotel e do Navarixin.

Outra característica importante das esquamidas e de outros derivados do ácido esquárico é a possibilidade deles atuarem como bioisómeros de importantes funções orgânicas. Na prática, isso significa que essas funções podem ser substituídas por derivados do ácido esquárico, pois tem propriedades físicas e químicas semelhantes.¹⁷⁷ Derivados do ácido esquárico podem atuar como bioisómeros de ureias, tioureias, amidas, carbamatos, carboxilatos, enolatos, α -amino ácidos, fosfatos, entre outros.¹⁸⁸

Recentemente, duas séries de compostos contendo esquamidas foram publicadas com atividade anticolinesterase. O primeiro foi os dímeros da tacrina unidos pelo núcleo esquamida (Figura 26) que foram ativos para as colinesterases na escala de concentração nanomolar. Além disso, os compostos com cadeias espaçadoras mais curtas não apresentaram citotoxicidade contra células hepáticas.¹⁸⁹ O segundo trabalho foi publicado pelo nosso grupo de pesquisa, no qual foram sintetizados híbridos da tacrina com diferentes monoesquamidas (Figura 26). Os compostos foram altamente seletivos para a AChE, com alguns compostos apresentando IC₅₀ na faixa de picomolar de concentração.¹⁹⁰ Devido a alta atividade inibitória dos híbridos tacrina-monoesquamida, os compostos sintetizados podem ser considerados promissores agentes pro tratamento de desordens neurodegenerativas. Além disso, a presença do grupo OR no núcleo esquárico abre a possibilidade de modificações estruturais no

híbrido final, inserindo diferentes nucleófilos e aumentando o escopo de híbridos sintetizados.

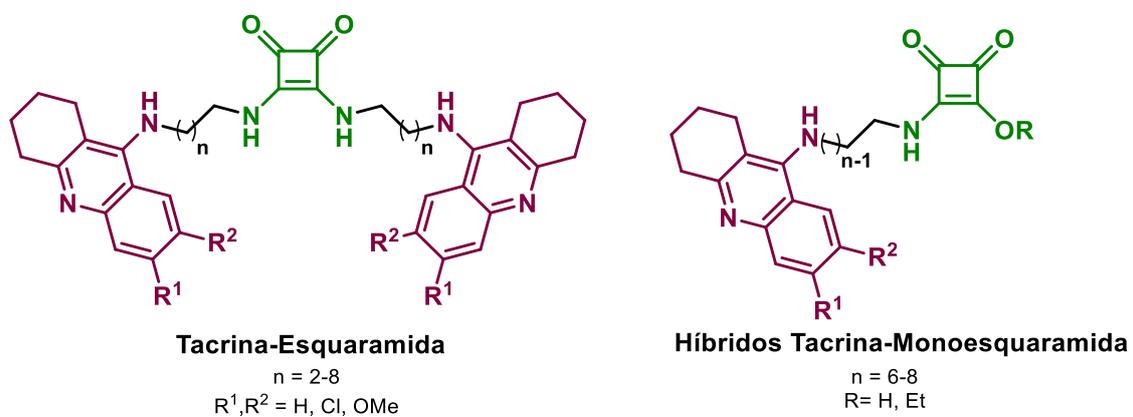


Figura 26: IChEs contendo o núcleo esquaramida.

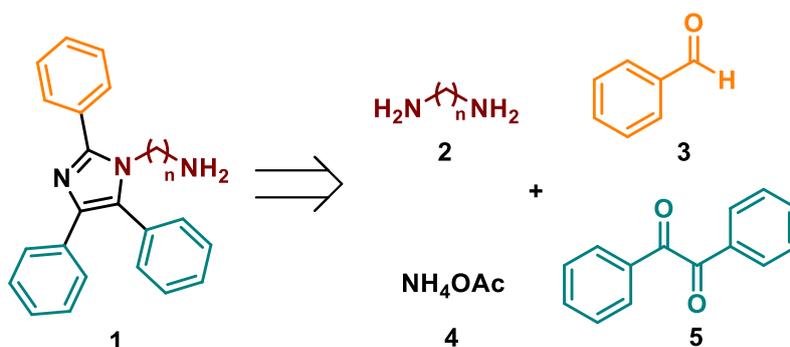
4 Resultados e Discussão

Conforme mencionado anteriormente, uma das formas de hibridização molecular é conectar dois núcleos farmacológicos utilizando um espaçador. No caso de inibidores de colinesterases, essa é a principal estratégia utilizada, pois o objetivo é obter compostos com a dupla interação enzimática. Sendo assim, do ponto de vista sintético, o ponto chave na síntese dos híbridos propostos é a inserção da cadeia espaçadora entre os dois núcleos, uma vez que já existem metodologias bem estabelecidas na literatura para a formação dos heterocíclios de interesse. Nesse sentido, nosso grupo já trabalha há algum tempo com a utilização de 1,*n*-alcanodiaminas para inserir essa cadeia espaçadora. Essas diaminas são comerciais, de fácil manipulação e elas fornecem duas funções aminas que servem de nucleófilo para unir os dois heterocíclios.

Os intermediários *N*-alquilaminolofina (**1**) desempenham um papel chave na síntese dos híbridos contendo o núcleo lofina. Esse intermediário carrega a cadeia espaçadora e faz a ligação com o outro heterocíclio presente no híbrido final. A seguir serão apresentadas as duas metodologias aplicadas para a síntese desses intermediários.

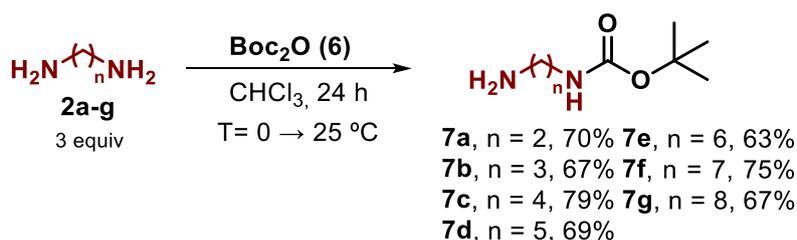
4.1 Síntese das *N*-alquilaminolofinas

Os intermediários *N*-alquilaminolofinas (**1**, Esquema 6) podem ser sintetizados pela reação de condensação tetracomponente utilizando 1,*n*-alcanodiamina (**2**), benzaldeído (**3**), acetato de amônio (**4**), e benzil (**5**). Em trabalhos anteriores,¹⁹¹ nosso grupo de pesquisa tentou a síntese das *N*-alquilaminolofinas utilizando 1,*n*-alcanodiaminas (**2**) sem proteger um dos grupos amino da molécula. Utilizando condições de aquecimento convencional nessa síntese foi obtida uma mistura complexa e não foi possível isolar o produto desejado. Porém, como será mostrado mais adiante nesse trabalho, quando utilizado aquecimento em micro-ondas é possível obter as *N*-alquilaminolofinas utilizando diaminas desprotegidas.



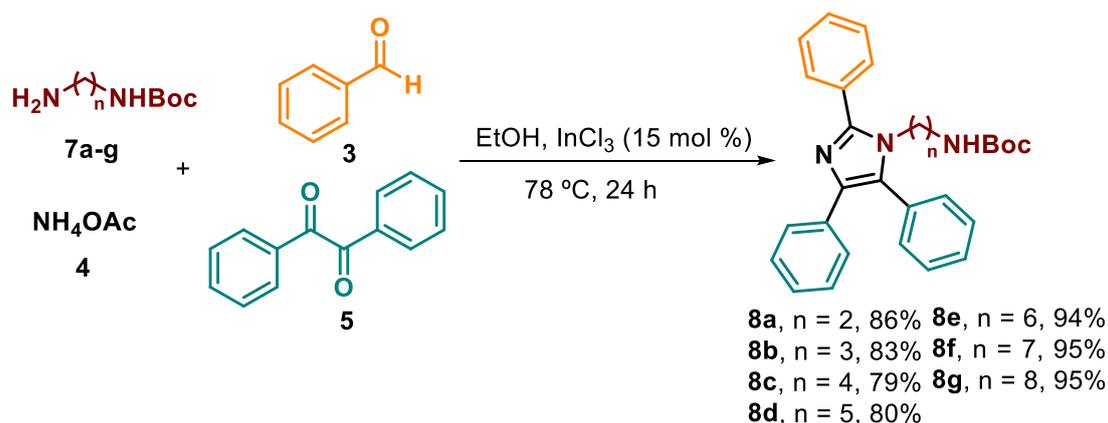
Esquema 6: Planejamento da síntese do intermediário *N*-alquilaminolofina.

Partindo da observação que usando aquecimento convencional a síntese do intermediário **1** necessita da proteção das diaminas, empregou-se uma estratégia em três etapas.⁵ A primeira etapa é a reação de proteção seletiva de um dos grupamentos amina das diaminas **2a-g** ($n = 2$ a 8). A proteção da amina na forma de um carbamato foi realizada utilizando excesso de diamina (3 equivalentes) e adicionando lentamente o dicarbonato de di-*tert*-butila (**6**, Boc_2O) à $0\text{ }^\circ\text{C}$.¹⁹² As 1,*n*-alcanodiaminas protegidas **7a-g** foram obtidas com rendimentos de 63 a 75% (Esquema 7) após purificação por cromatografia em coluna.



Esquema 7: Reação de proteção das 1,*n*-alcanodiaminas.

A segunda etapa é a reação de condensação tetracomponente para a formação do núcleo lofina (Esquema 8). A reação ocorre entre a 1,*n*-alcanodiamina protegida **7a-g**, o benzaldeído **3**, o acetato de amônio **4** e o benzil **5**, utilizando InCl_3 como catalisador.⁸ Obteve-se como produto as *N*-alquilaminolofinas protegidas **8a-g** com rendimentos entre 79 e 95% após purificação por cromatografia em coluna.

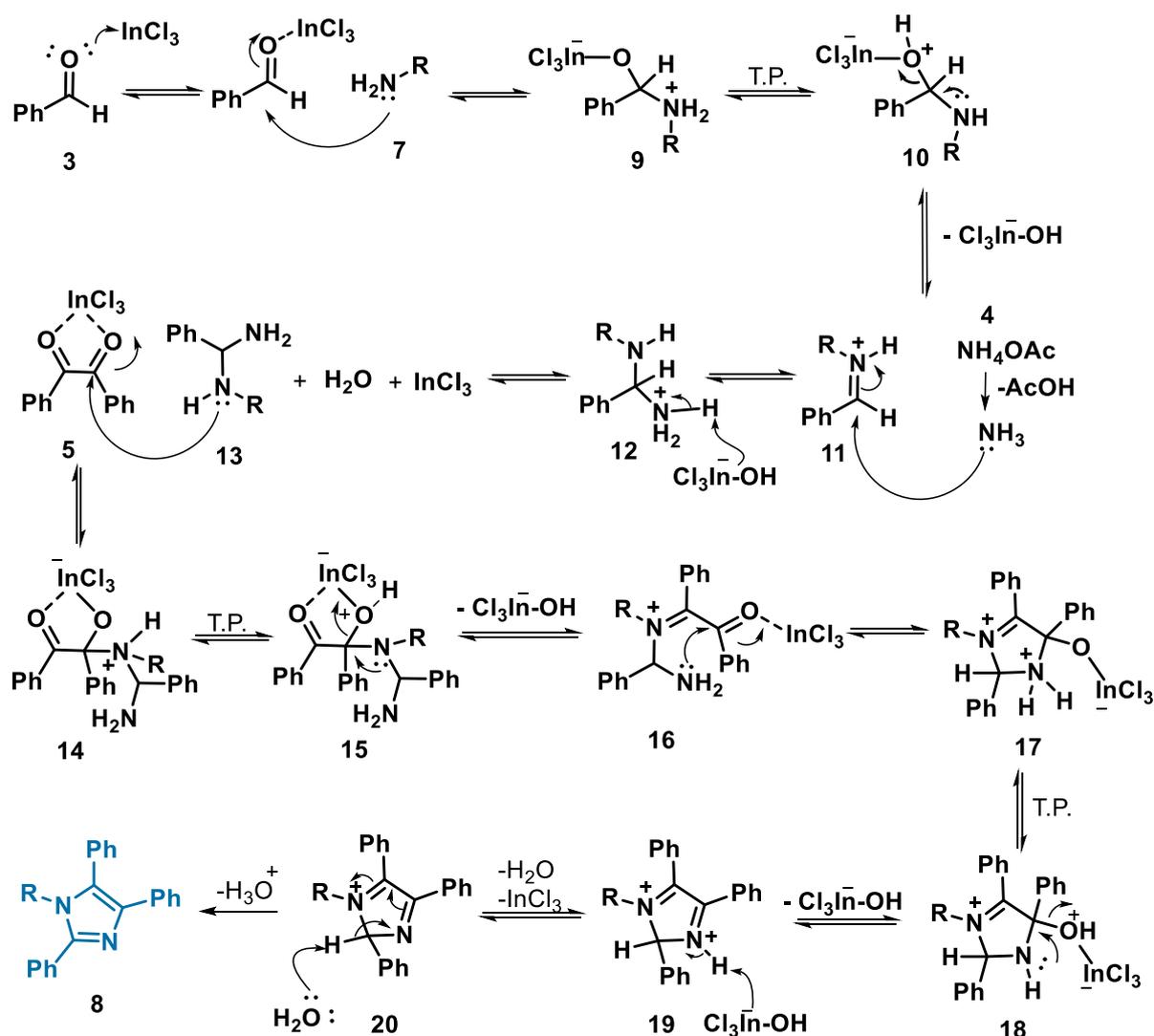


Esquema 8: Reação de condensação tetracomponente.

Essas condições experimentais foram otimizadas pelo nosso grupo na síntese dos híbridos tacrina-lofina,⁸ onde foram explorados diferentes ácidos de Lewis como catalisador e diferentes estequiometria dos materiais de partida. Com relação aos

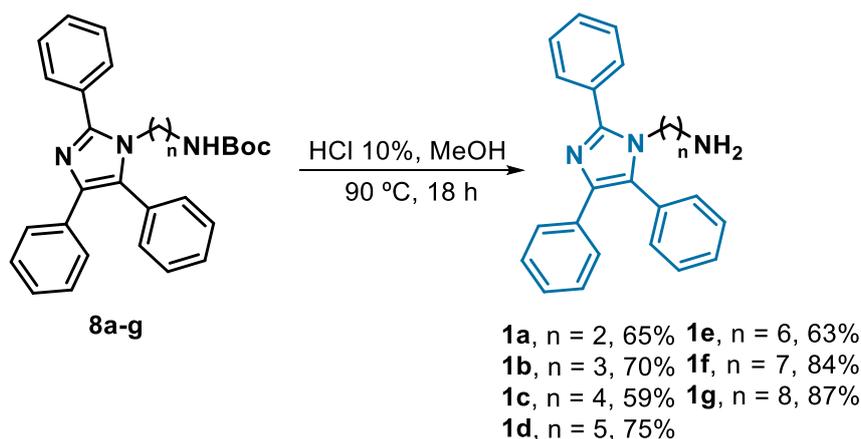
ácidos de Lewis, foram testados InCl_3 , FeCl_3 , $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, AlCl_3 e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. O melhor rendimento foi obtido quando se utilizou o InCl_3 como catalisador. Esse resultado pode ser explicado pelo fato do InCl_3 ser um ácido de Lewis mais mole, quando comparado aos outros utilizados, e dessa forma ter uma coordenação mais fraca com as espécies no meio, que são tipicamente bases duras. Nessa reação, o ácido de Lewis atua em diferentes etapas do mecanismo se coordenando aos materiais de partida e intermediários, ativando a carbonila para sofrer ataque dos nucleófilos no meio. Dessa, é importante que a coordenação com uma determinada espécie do meio não seja forte ao ponto do ácido se descoordenar somente ao fim da reação. Com relação à estequiometria, observou-se que a adição de um segundo equivalente de **3**, **4** e **5** após 12 h de reação, ocasionou um aumento no rendimento da reação de 35 para 55%.

A seguir é apresentada uma proposta mecanística para a formação de imidazóis tetrassubstituídos na presença de InCl_3 , baseado no trabalho de Das Sharma *et al.* (Esquema 9).¹⁴⁵ O benzaldeído **3** é ativado pelo InCl_3 e sofre um ataque nucleofílico da amina primária **7** levando ao intermediário tetraédrico **9**, que após troca protônica forma **10**, que após eliminação de $\text{InCl}_3\text{-OH}^{-1}$ leva a formação do imínio **11**. Em seguida, o ataque nucleofílico da amônia, gerada *in situ* a partir do acetato de amônio **4**, no imínio **11** leva a formação da diamina **12**. Após, a abstração de um próton de **12** leva a formação da diamina **13**, que promove um ataque nucleofílico a uma das carbonilas do benzil **5**, que está ativada pelo ácido de Lewis, fornecendo o intermediário tetraédrico **14**. Após abstração de um próton e formação do intermediário **15**, o par de elétrons do nitrogênio forma a ligação dupla $\text{C}=\text{N}$, eliminando $\text{InCl}_3\text{-OH}^{-1}$, formando o imínio **16**. Após, o ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino à carbonila ativada resulta no intermediário cíclico **17**. Uma nova troca protônica gera o heterociclo **18**, que após eliminação de $\text{InCl}_3\text{-OH}^{-1}$ forma o intermediário **19**. A perda de um próton de **19** gera o intermediário **20**, que sofre uma abstração de próton, levando à aromatização do anel e fornecendo o imidazol tetrassubstituído **8**.¹⁴⁵



Esquema 9: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente.

A terceira e última etapa é a reação de desproteção do grupo amino. A reação de hidrólise do grupo carbamato foi realizada em meio ácido, utilizando uma solução aquosa de HCl 10% (Esquema 10). A reação foi realizada em refluxo de MeOH a 90 °C por 18 h. As *N*-alquilaminolofinas **1a-g** foram obtidas em bons rendimentos (59-87%), após purificação por cromatografia em coluna.

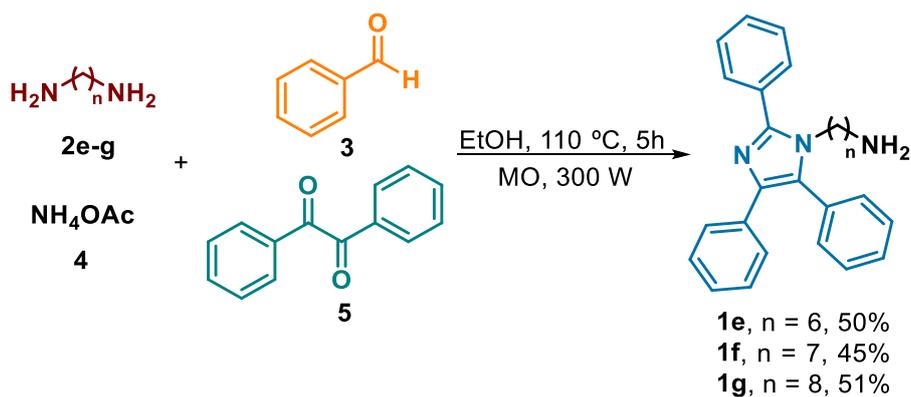


Esquema 10: Reação de desproteção do grupo amino

Essa estratégia em três etapas, proteção/tetracomponente/desproteção, foi muito útil na síntese das *N*-alquilaminolofinas **1a-g**. Com esse método foi possível sintetizar todos os intermediários **1a-g** com rendimentos globais de moderados, entre 37 e 57%. Entretanto, utilizar métodos de proteção/desproteção em uma rota sintética acarreta em pelo menos duas etapas adicionais, aumentando os custos da síntese, possíveis perdas de produto na manipulação e o tempo necessário para obter o produto final desejado.

Como citado no início dessa sessão, os intermediários **1** podem ser obtidos em uma etapa reacional quando utilizado micro-ondas na reação de condensação tetracomponente. O uso de micro-ondas surgiu como uma alternativa para a condensação tetracomponente na síntese de análogos nitrogenados dos compostos bis(*n*)-lofina.^{193, 194} Esses análogos, que também serão abordados nesse trabalho, não foram possíveis de obter utilizando aquecimento convencional, somente utilizando a técnica de em micro-ondas.

A partir da observação de que o uso de micro-ondas favorece a condensação tetracomponente, empregou-se essa metodologia para a síntese dos intermediários **1** a partir das 1,*n*-alcanodiaminas **2e-g** (Esquema 11). Em trabalhos anteriores, realizou-se um estudos de otimização dessa reação,¹⁹³ onde se observou que a melhor condição utiliza 1 equivalente de todos os materiais de partida e não necessita da presença de um ácido de Lewis. Salientando que as reações conduzidas com e sem a presença do InCl_3 apresentaram o mesmo rendimento. Assim, a reação foi conduzida a 110 °C por 5 h a uma potência de 300 W, utilizando EtOH como solvente. Essas condições foram utilizadas para a síntese dos intermediários **1e-g** (n= 6-8). Os produtos foram obtidos com rendimentos entre 45 e 50%.



Esquema 11: Síntese do intermediário *N*-alquilaminolofina utilizando micro-ondas.

O estabelecimento dessa metodologia foi um avanço na síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina **1**. Comparando os rendimentos obtidos com essa metodologia e o rendimento global da metodologia em três etapas, observa-se que são valores muito próximos. Isso faz com que, mesmo tendo rendimentos moderados, a metodologia com micro-ondas se torne viável. Essa metodologia apresenta algumas vantagens também, como I) o tempo gasto para obter o composto **1** é consideravelmente menor; II) o gasto com reagentes é menor, não havendo a necessidade de utilizar mais do que 1 equivalente dos materiais de partida na reação tetracomponente; III) não há necessidade de usar o InCl_3 como catalisador; IV) maior economia de solventes e sílica na purificação dos compostos, uma vez que, é necessária somente uma purificação frente as três purificações no método em três etapas.

Com relação às suas propriedades espectroscópicas, o núcleo lofina ligado a uma cadeia metilênica apresenta quatro sinais característicos nos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H de todos os intermediários *N*-alquilaminolofina **1**, como exemplificado no espectro do composto **1c** (Figura 27). Os seguintes sinais são observados: I) multiplete entre 7,71 – 7,67 ppm (2H); II) multiplete entre 7,56 – 7,40 (10H); III) multiplete entre 7,23 – 7,09 (3H) IV) triplete em 3,90 (2H). A correta atribuição de todos os 15H ligados as fenilas é difícil, visto que há uma grande sobreposição dos sinais desses hidrogênios. Vale destacar também o triplete em 3,90 ppm, correspondente ao H5 do grupo CH_2 ligado ao anel imidazólico. Esse triplete está presente nos demais compostos contendo o núcleo lofina ligado a uma cadeia espaçadora de metilenos, com poucas variações nos valores de δ . A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **1c** é apresentada na Tabela 1.

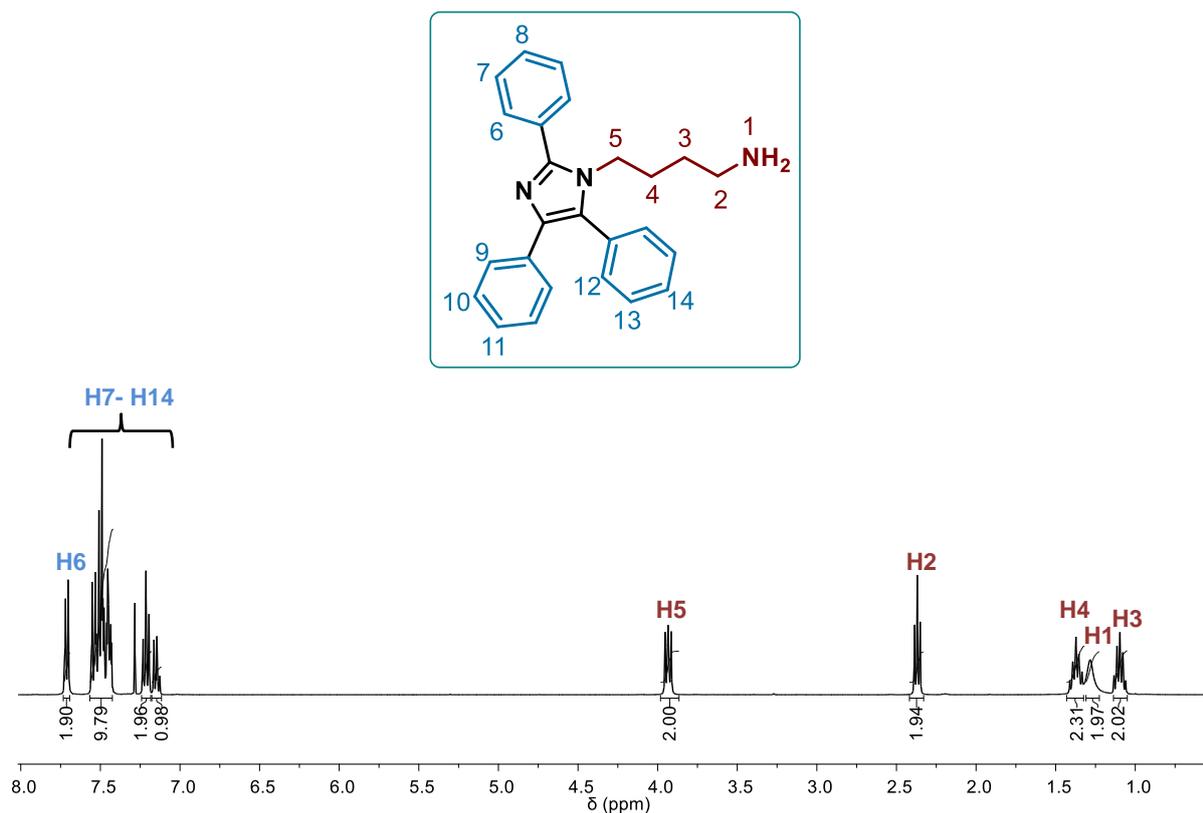


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **1c**.

Tabela 1: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **1c**.

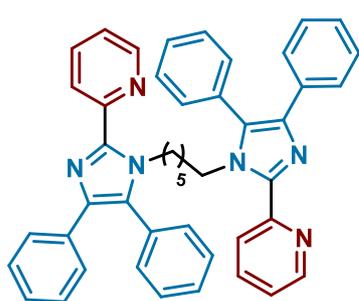
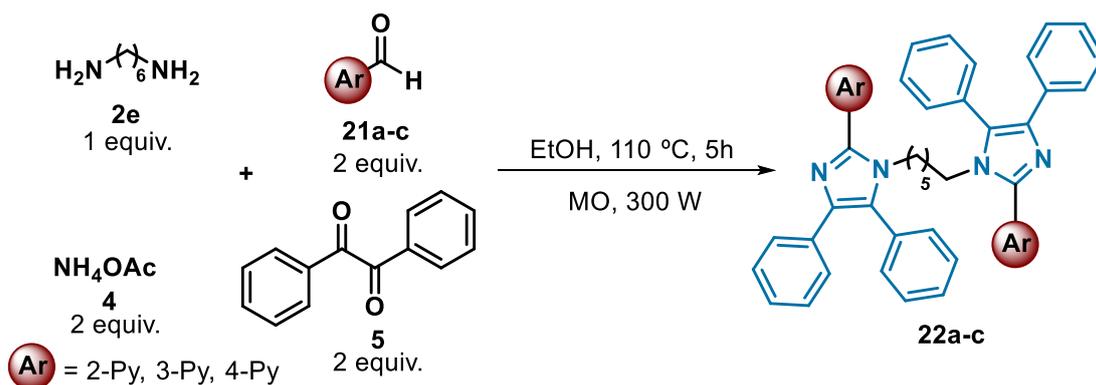
δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
7,71 – 7,67	Multiplete	-	2	H6
7,56 – 7,39	Multiplete	-	10	H7 – H14
7,23 – 7,09	Multiplete	-	3	H7 – H14
3,91	Triplete	7,4	2	H5
2,35	Triplete	7,4	2	H2
1,40 – 1,31	Multiplete	-	2	H4
1,26	Simpleto largo	-	2	H1 (NH ₂)
1,12 – 1,03	Multiplete	-	2	H3

De posse dos intermediários **1** foi possível sintetizar os dímeros análogos do bis(n)-lofina e os híbridos lofina-benzazol.

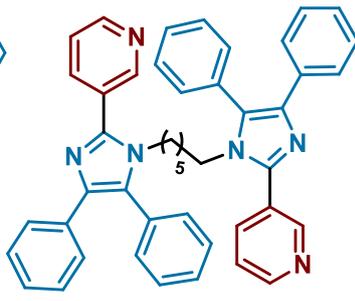
4.2 Dímeros análogos bis(n)-lofina

Nesta Tese foram sintetizadas duas séries de dímeros análogos da bis(n)-lofina: os simétricos, onde os dois núcleos lofina apresentam o anel piridínico, e os não simétricos, onde somente um núcleo lofina apresenta o anel piridínico. O anel piridínico foi inserido a partir do 2-, 3- ou 4-piridinocarboxaldeído (**21a-c**). Importante destacar que a metodologia de aquecimento convencional aplicada na síntese dos compostos bis(n)-lofina (condições análogas às utilizadas na síntese de **8a-g**)⁸ não foi efetiva na síntese dos análogos nitrogenados, resultando em rendimentos muito baixos.¹⁹⁴ Portanto, utilizou-se a técnica de micro-ondas na síntese dos dímeros análogos da bis(n)-lofina.

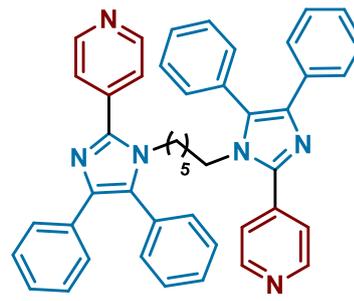
Os análogos simétricos **22a-c** foram sintetizados a partir da reação de condensação tetracomponente entre a 1,6-hexanodiamina **2e**, o acetato de amônio **4**, 2-, 3- ou 4-piridinocarboxaldeído (**21a-c**) e o benzil **5** (Esquema 12). São utilizados 2 equivalentes de **4**, **21a-c** e **5** para que a condensação ocorra nos dois grupos amino da diamina **2e**. Assim como na síntese de **1**, não é necessário a utilização de InCl₃ como catalisador. As reações apresentaram um rendimento moderado de 33 a 39% em uma única etapa de reação. A síntese dos análogos simétricos **22a-c** foi um complemento do trabalho realizado pela Dra. Brunella Biscussi em seu estágio de doutorado sanduiche no laboratório do Prof. Marco Antonio Ceschi, no qual foram sintetizados seis análogos simétricos com cadeia espaçadoras de 7 e 8 metilenos (**22d-i**).^{193, 194}



22a, 39%

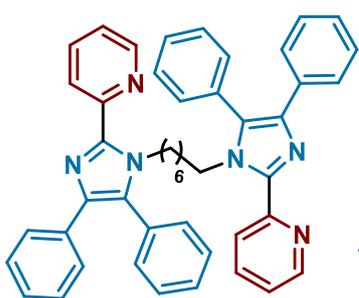


22b, 37%

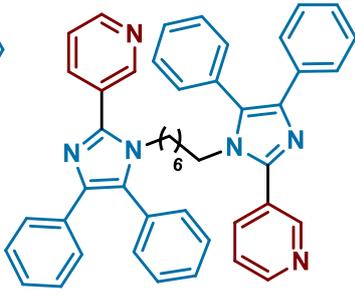


22c, 33%

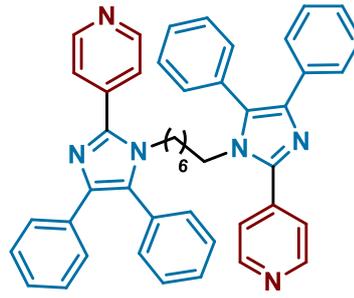
Dímeros anteriormente sintetizados



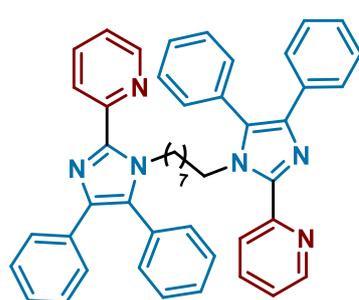
22d, 45%



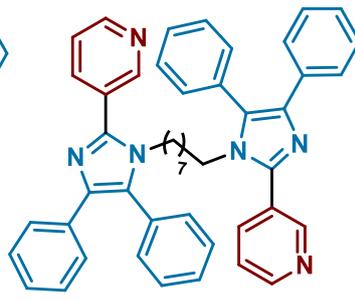
22e, 39%



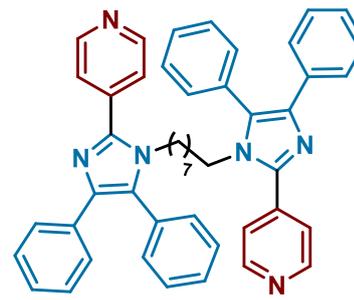
22f, 31%



22g, 55%



22h, 47%



22i, 35%

Esquema 12: Síntese dos análogos simétricos do bis(n)-lofina **22a-c** e estrutura dos dímeros anteriormente sintetizados **22d-i**.

Os espectros de RMN de ^1H dos análogos **22** apresentam sinais bem característicos dependendo da posição do nitrogênio no anel piridínico. No espectro da Figura 28 (composto **22b**) é possível ver os sinais dos hidrogênios do núcleo piridínico com o nitrogênio na posição 3 do anel. Esses sinais se caracterizam por um duplete em 8,90 ppm (H1, com $J = 1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 4 ligações com H4), um duplete de duplete em 8,69 ppm (H2, com $J = 4,8$ e $1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 3 ligações com H3 e a 4 ligações com H4) e um duplete de tripleto em 8,08 ppm (H4, $J = 7,9$ e $1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 3 ligações com H3 e a 4 ligações com H1 e H2). O sinal correspondente ao H1 deveria aparecer como um duplete de duplete pelo 4J com H2 e H4. Entretanto, o $^4J_{\text{H1-H2}}$ pode apresentar valor menor que 1 Hz e dessa forma não ser detectado. O hidrogênio H3 se encontra sobreposto com os demais H aromáticos da molécula. Por fim, destaca-se o tripleto em 3,80 ppm (H17) que é um sinal muito característico do CH_2 ligado ao nitrogênio trissubstituído do anel imidazol. A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **22b** é apresentada na Tabela 2.

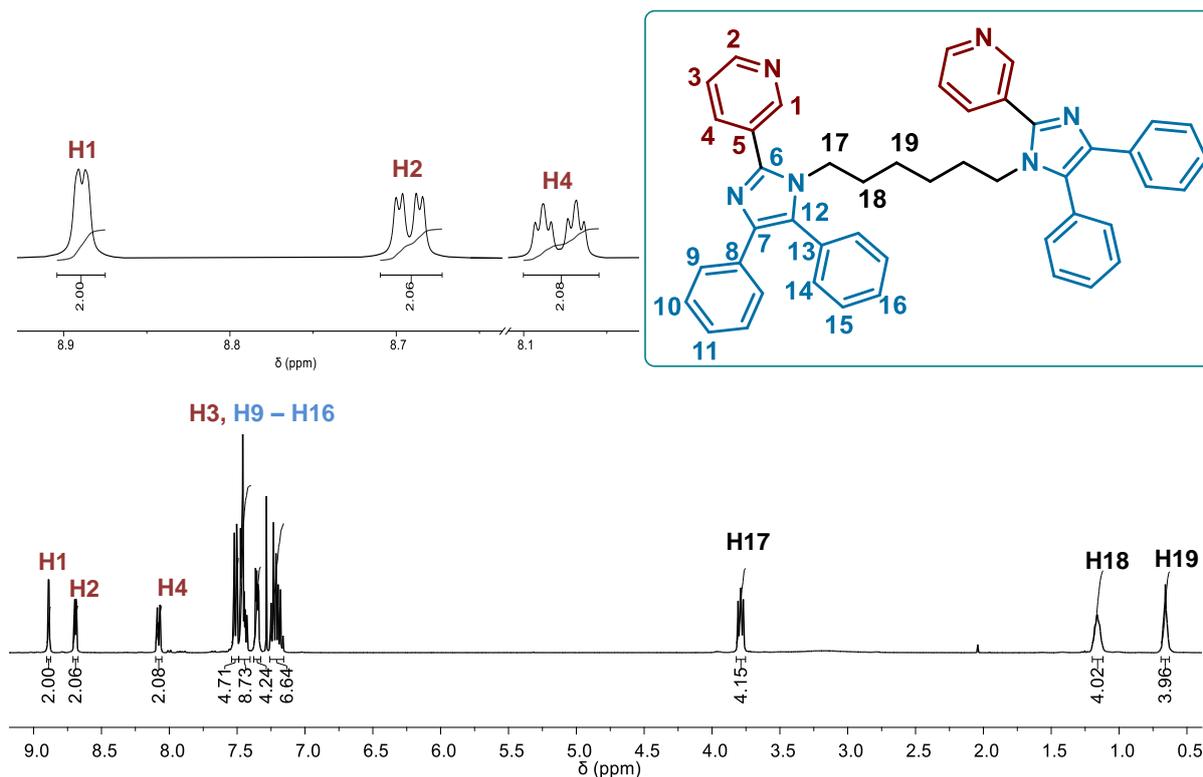


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **22b**.

Tabela 2: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **22b**.

δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
8,90	Dupleto	1,6	2	H1
8,69	Dupleto de dupleto	4,8 e 1,6	2	H2
8,08	Dupleto de tripleto	7,9 e 1,6	2	H4
7,54 – 7,49	Multipleteo	-	4	H3, H9-H16
7,48 – 7,42	Multipleteo	-	8	
7,37 – 7,32	Multipleteo	-	4	
7,26 – 7,14	Multipleteo	-	6	
3,80	Tripleto	7,6	4	H17
1,22 – 1,11	Multipleteo	-	4	H18
0,70 – 0,61	Multipleteo	-	4	H19

Na Figura 29 é apresentado o espectro de RMN de ^{13}C -APT (*Attached Proton Test*) do composto **22b**. Os sinais em 149,8 (C1); 149,3 (C2); 136,7 (C4) e 127,5 ppm (C5) correspondem aos carbonos do anel piridínico. A inequívoca atribuição do C3 não foi possível por se encontrar em uma região de difícil identificação do núcleo lofina (entre 130 e 125 ppm). O sinal em 144,3 ppm, correspondente ao C6, é um sinal bem característico da lofina e caracteriza a formação do núcleo imidazólico. Na região dos carbonos alifáticos, são observados três sinais da cadeia espaçadora (não são observados os seis porque a molécula é simétrica) em 44,6 (C17); 30,2 (C18) e 25,4 ppm (C19). Os demais sinais são observados em 138,4 (C7); 134,0 (C12); 131,0 (C8); 130,8; 130,2 (C13); 129,2; 129,0; 128,2; 126,8; 126,6 e 123,6 ppm.

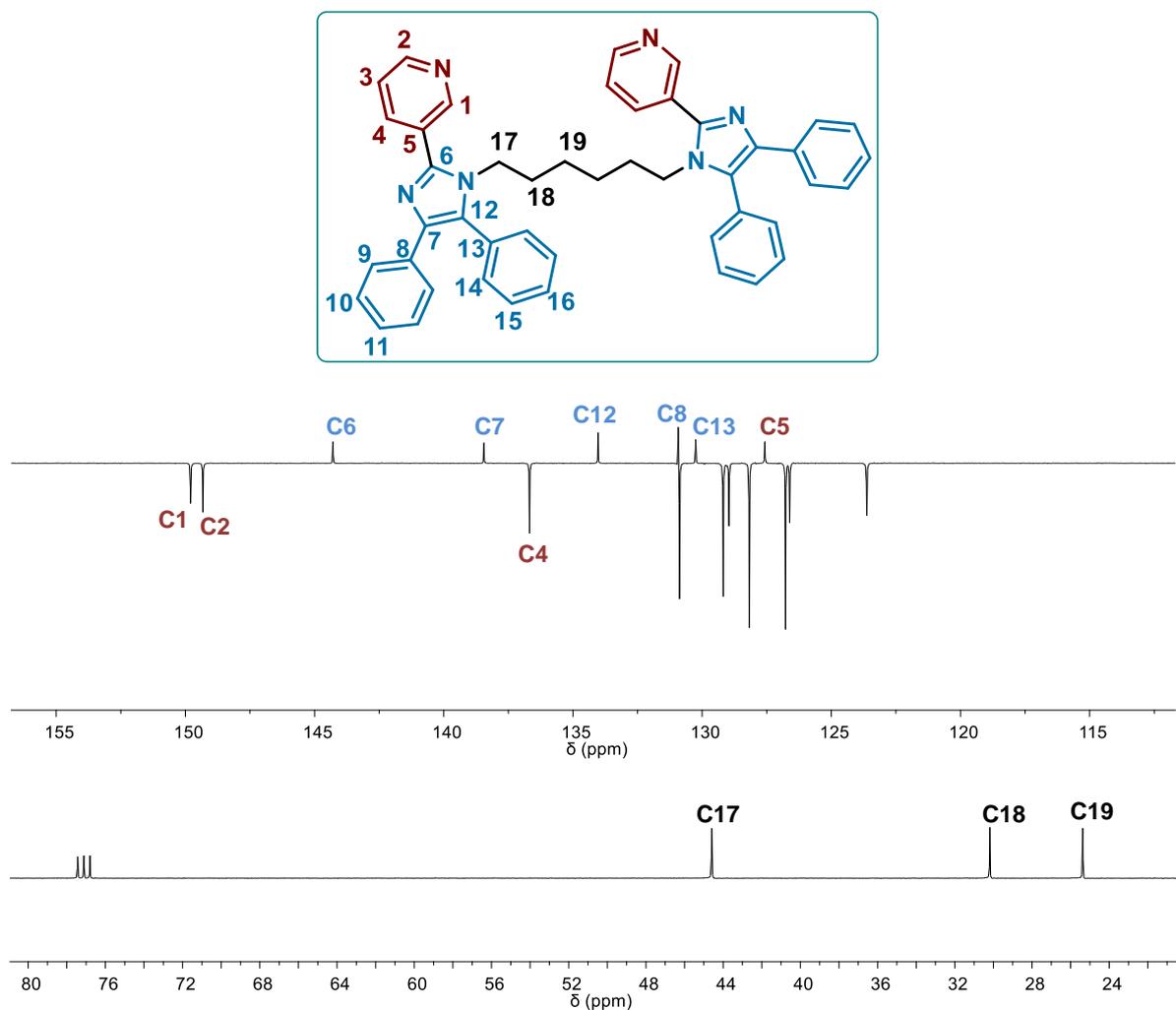
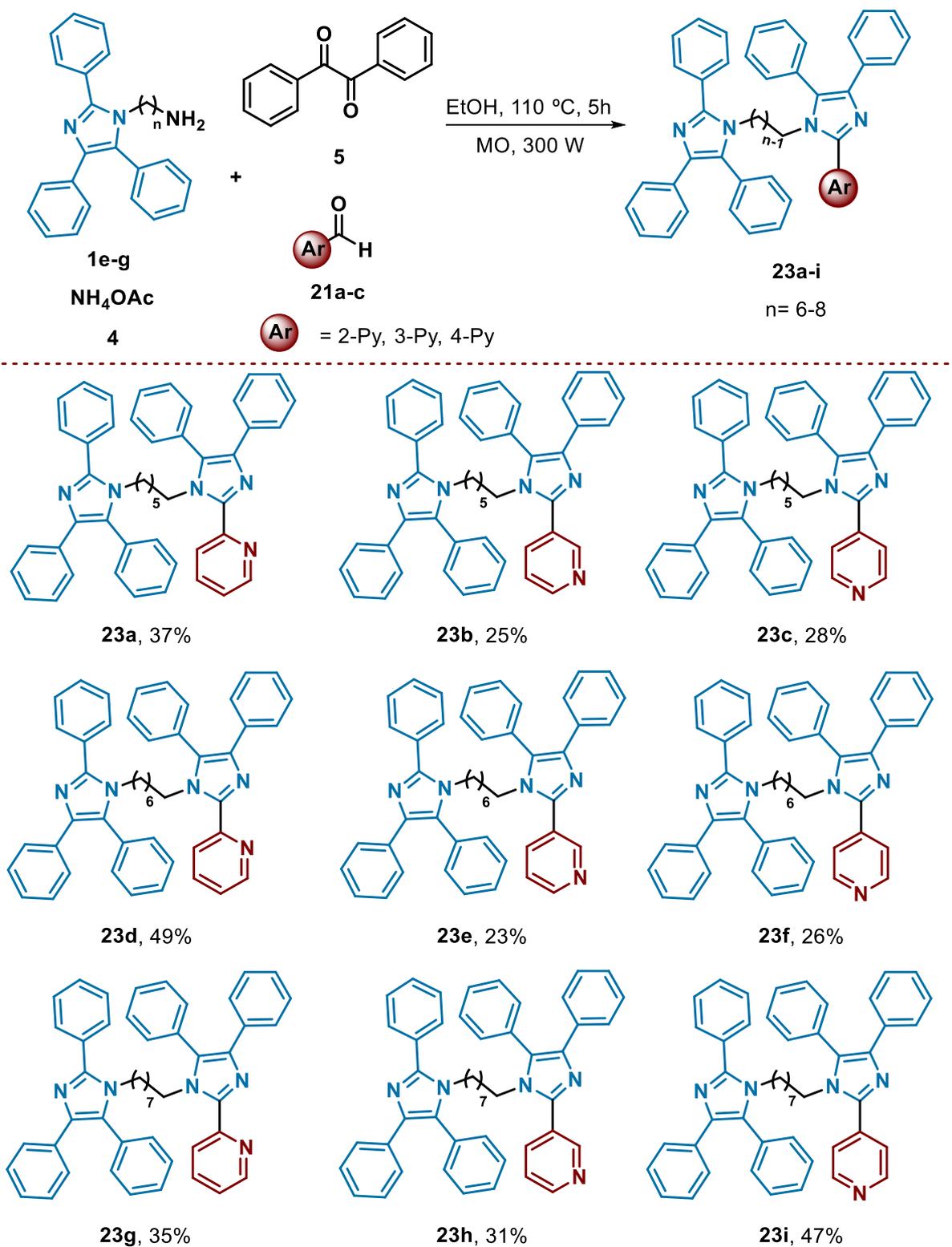


Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **22b**.

A síntese dos análogos não simétricos (**23a-i**) foi feita em duas etapas. A primeira etapa foi a síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina **1e-g**, utilizando os métodos apresentados na seção anterior. Em seguida, realizou-se uma nova reação de condensação tetracomponente entre **1e-g**, o acetato de amônio **4**, 2-, 3- ou 4-piridinocarboxaldeído (**21a-c**) e o benzil **5** (Esquema 13). As condições reacionais foram as mesmas utilizadas na síntese dos análogos simétricos e as reações apresentaram rendimentos de baixos a moderados (23 a 49%) após purificação por cromatografia em coluna. A maior dificuldade nessa síntese é a etapa de purificação dos compostos. No caso de alguns compostos da série, para obter o produto com a pureza adequada para as análises biológicas, foram necessárias duas cromatografias em coluna. Realizou-se uma primeira coluna cromatográfica utilizando um gradiente de Hexano:AcOEt, começando com uma proporção de 70:30 até 0:100. A segunda coluna cromatográfica,

quando necessária, foi realizada utilizando um gradiente de CHCl₃:MeOH, começando com uma proporção de 99:1 até 95:5.



Esquema 13: Síntese dos análogos não simétricos do bis(n)-lofina **23a-i**.

Similarmente ao que ocorre nos espectros de RMN de ^1H dos análogos simétricos **22a-c**, os espectros dos compostos **23a-i** apresentam sinais bem característicos dependendo da posição do nitrogênio no anel piridínico. No caso do espectro do composto **23e** (Figura 30) é possível observar os sinais dos hidrogênios do núcleo piridínico com o nitrogênio na posição 3 do anel. Eles são observados como um duplete em 8,90 ppm (H1, com $J = 1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 4 ligações com H4), um duplete de duplete em 8,69 ppm (H2, com $J = 4,8$ e $1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 3 ligações com H3 e a 4 ligações com H4) e um duplete de triplete em 8,08 ppm (H4, $J = 7,9$ e $1,6$ Hz, devido ao acoplamento a 3 ligações com H3 e a 4 ligações com H1 e H2). Outro sinal de destaque é o multiplete entre 7,70 – 7,65 ppm (H26) que é um sinal muito característico do núcleo lofina. Por fim, vale destacar o triplete em 3,80 ppm (H17 e H23) referente aos CH_2 ligados aos núcleos imidazólicos. É interessante notar que H17 e H23 apresentam o mesmo δ , independentemente da molécula não apresentar simetria. A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **23e** é apresentada na Tabela 3.

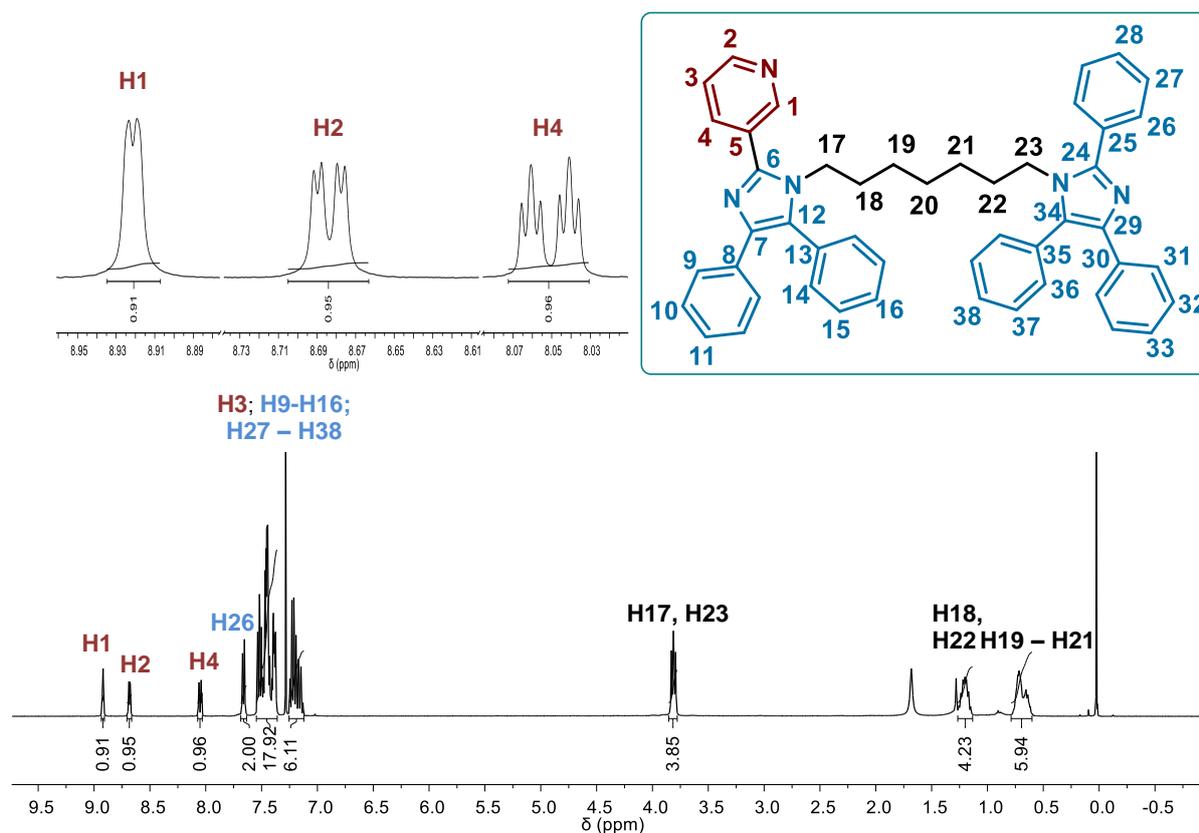


Figura 30: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23e**.

Tabela 3: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **23e**.

δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
8,92	Dupleto	1,8	1	H1
8,68	Dupleto de dupleto	4,8 e 1,8	1	H2
8,08	Dupleto de tripleto	7,9 e 1,8	1	H4
7,69 – 7,62	Multipleteo	-	2	H26
7,57 – 7,34	Multipleteo	-	18	H3, H9-H16;
7,26 – 7,12	Multipleteo	-	6	H27 – H38
3,80	Tripleto	7,6	4	H17, H23
1,27 – 1,13	Multipleteo	-	4	H18, H22
0,82 – 0,61	Multipleteo	-	6	H19 – H21

A Figura 31 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C APT do composto **23e**. Os sinais em 149,8 (C1); 149,4 (C2); 136,7 (C4) e 127,7 ppm (C5) correspondem aos carbonos do núcleo piridínico. Quando comparados os δ dos carbonos do anel piridínico nos dímeros não simétricos com o δ dos mesmos carbonos nos dímeros simétricos, observa-se que não há um $\Delta\delta$ muito grande. A formação dos dois núcleos imidazólicos é evidenciada pelos sinais em 147,7 (C24) e 144,3 ppm (C6). Por fim, destacam-se os sete carbonos da cadeia espaçadora em 44,7 (C23); 44,5 (C17); 30,3 (C22); 30,1 (C18); 27,7 (C20); 25,8 (C21) e 25,7 ppm (C19).

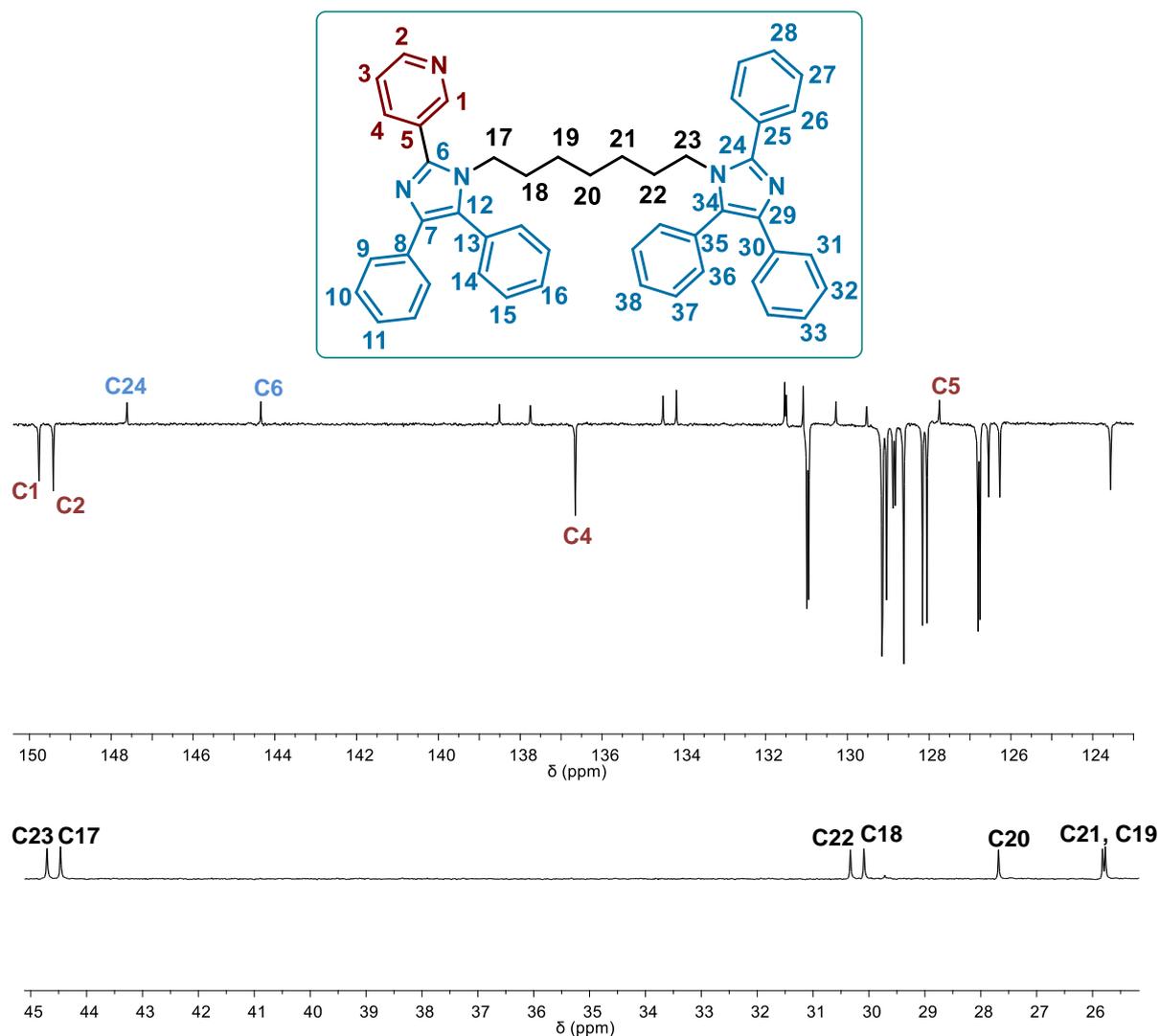


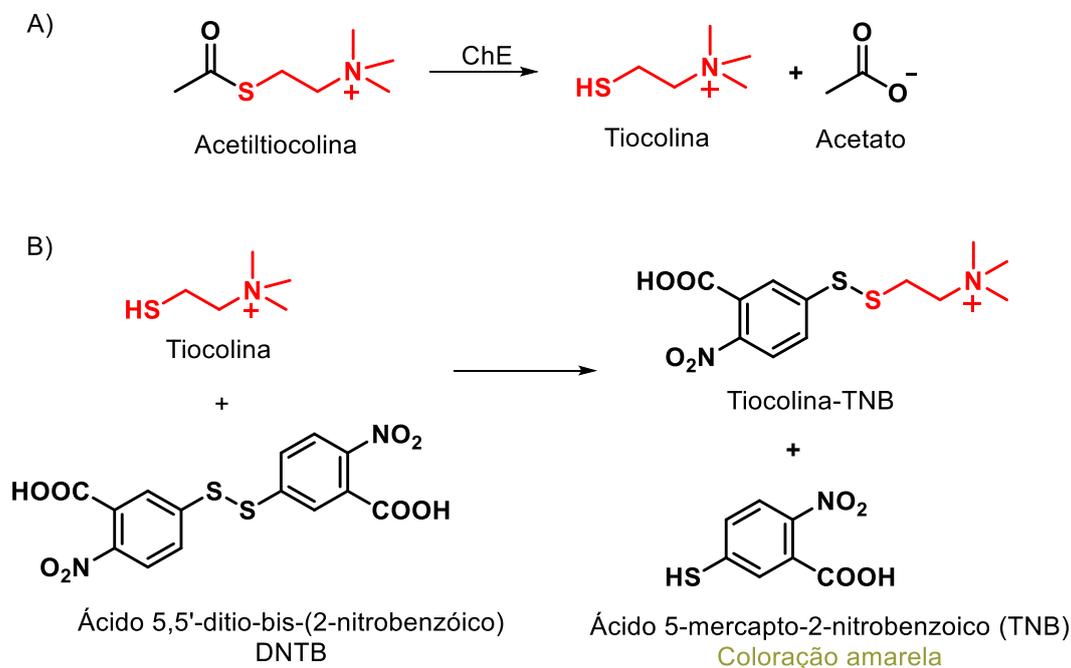
Figura 31: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23e**.

4.2.1 Avaliação biológica dos dímeros análogos bis(n)-lofina

Os dímeros sintetizados **22a-i** e **23a-i** foram avaliados quanto à capacidade de inibição das enzimas colinesterases, AChE e BuChE, através do método espectrofotométrico de Ellman com algumas modificações.¹⁹⁵ Tal método está baseado na reações mostradas no Esquema 14. O princípio do método consiste na determinação da taxa de produção da tiocolina devido à hidrólise da acetiltiocolina. No caso da determinação da atividade da BuChE pode-se utilizar a butiriltiocolina.

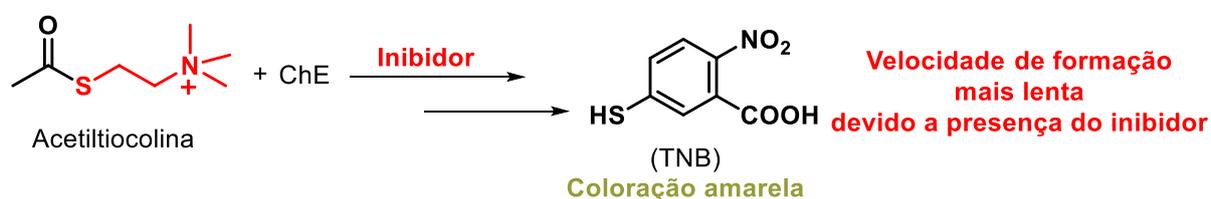
A hidrólise da acetiltiocolina, em tiocolina e acetato (Esquema 14A), pode ser monitorada utilizando o DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)). A tiocolina reage com o DNTB levando a formação do TNB (ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico, Esquema 14B). O TNB apresenta uma coloração amarela (absorção em 412 nm) e sua velocidade de formação pode ser determinada por espectroscopia de UV-Vis. É importante

observar que a velocidade da reação da tiocolina com o DNTB é suficientemente rápida para que, a etapa limitante da velocidade de formação do TNB seja a reação de hidrólise enzimática, que é a reação de interesse.¹⁹⁵



Esquema 14: Reações envolvidas no método de Ellman. A) Hidrólise da acetiltiocolina. B) Reação da tiocolina com o DTNB.

Quando um ChEI é adicionado na etapa de hidrólise (Esquema 15) a velocidade de formação da tiocolina será menor, devido a inibição da atividade da enzima. Consequentemente, a formação do TNB será mais lenta. Comparando as velocidades de formação do TNB na presença e na ausência de um ChEI, é possível determinar a atividade de inibição do composto utilizado como inibidor.¹⁹⁵

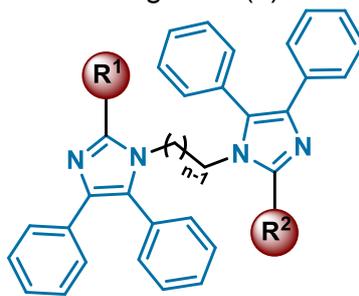


Esquema 15: Representação simplificada do princípio do método de Ellman.

As análises de inibição foram realizadas pela Dra. Brunella Biscussi do INQUISUR-CONICET, Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, na Argentina. Os dímeros foram testados para inibição das colinesterases *in*

vitro, utilizando a AChE do peixe *electrophorus electricus* e a BuChE do soro de cavalo e a tacrina como inibidor de referência. Nesse estudo, compostos com IC₅₀ acima de 50 μM foram considerados inativos. Os valores de IC₅₀ dos compostos podem ser observados na Tabela 4. Nenhum dos compostos apresentou atividade de inibição para a AChE na concentração testada (50 μM).

Tabela 4: Atividade de inibição dos análogos bis(n)-lofina para a BuChE.



Entrada	Composto	R ¹	R ²	n	IC ₅₀ (μM)	log IC ₅₀ ± DP
1	22a	2-Py	2-Py	6	0,246	-0,608 ± 0,062
2	22b	3-Py	3-Py	6	0,208	-0,691 ± 0,198
3	22c	4-Py	4-Py	6	25,84	1,412 ± 0,053
4	22d	2-Py	2-Py	7	32,25	1,508 ± 0,111
5	22e	3-Py	3-Py	7	12,04	1,081 ± 0,091
6	22f	4-Py	4-Py	7	23,27	1,367 ± 0,125
7	22g	2-Py	2-Py	8	n.a	-
8	22h	3-Py	3-Py	8	n.a	-
9	22i	4-Py	4-Py	8	n.a	-
10	23a	2-Py	Ph	6	0,155	-0,808 ± 0,058
11	23b	3-Py	Ph	6	0,134	-0,874 ± 0,075
12	23c	4-Py	Ph	6	0,164	-0,784 ± 0,109
13	23d	2-Py	Ph	7	0,091	-1,041 ± 0,039
14	23e	3-Py	Ph	7	0,034	-1,463 ± 0,063
15	23f	4-Py	Ph	7	1,294	0,112 ± 0,164
16	23g	2-Py	Ph	8	0,578	-0,238 ± 0,070
17	23h	3-Py	Ph	8	0,071	-1,151 ± 0,100
18	23i	4-Py	Ph	8	1,586	0,200 ± 0,044
19	Tacrina				0,004	2,35 ± 0,07

n.a. não ativo; D.P: Desvio Padrão; IC₅₀: concentração mínima necessária pra inibir 50% da atividade da enzima.

Com exceção dos compostos **22g**, **22f** e **22i** (Entradas 7, 8 e 9), todos os dímeros apresentaram potente inibição da BuChE na escala de concentração micromolar (IC_{50} 32,25 – 0,03 μ M). Comparando as duas séries, de uma forma geral, os análogos não simétricos **23a-i** (Entradas 10 a 18, IC_{50} 0,034 – 1,586 μ M) foram mais ativos que os análogos simétricos **22a-i** (Entradas 1 a 9; IC_{50} = 0,208 – 32,25 μ M). O composto mais ativo da série foi o dímero não simétrico **23e** (Entrada 14) com IC_{50} = 0,034 μ M, seguido do composto **23h** (IC_{50} = 0,071 μ M, Entrada 17). Ambos os composto apresentam R^1 = 3-Py e diferem no tamanho da cadeia espaçadora (n = 7 e 8, respectivamente).

Com relação às diferenças estruturais das séries, acredita-se que duas características influenciam a inibição: o substituinte R^1 e o comprimento da cadeia espaçadora. Com relação ao R^1 , mantendo o mesmo n , os compostos com R^1 = 2-Py e 3-Py foram mais ativos que os compostos com 4-Py, exceto para o composto **22d** que foi menos ativo que composto **22f** (Entradas 4 e 6, respectivamente). A diferença de atividade entre os dímeros com R^1 = 2-Py, 3-Py e com R^1 = 4-Py é mais acentuada nos análogos simétricos com n = 6 (**22a-c**, Entradas 1 a 3) e nos análogos não simétricos **23d-i** (Entradas 10 a 18).

Com relação ao tamanho da cadeia espaçadora, nos dímeros simétricos a cadeia de seis metilenos foi a que apresentou os melhores resultados de inibição, exceto para o composto com R^1 , R^2 = 4-Py (Entradas 1, 2 e 3). Esse resultado evidencia uma forte dependência da inibição desses compostos com o comprimento da cadeia espaçadora. No caso dos dímeros não simétricos, para os dímeros com R^1 = 2-Py e 3-Py a cadeia de sete metilenos foi a que apresentou melhor inibição (Entradas 13 e 14). Para o substituinte R^1 = 4-Py, o espaçamento de seis metilenos foi o mais ativo (Entrada 12). Esses resultados mostram que existe uma sinergia entre a cadeia espaçadora e a posição do nitrogênio no anel piridínico nas interações enzima substrato, indicando que a inibição depende de um bom ajuste desses dois parâmetros.

Como mostrado na seção **3.7**, o dímero bis(8)-lofina foi seletivo para a inibição da AChE (IC_{50} = 42,55 nM),⁸ diferentemente do que foi observado para seus análogos nitrogenados. Os compostos **22** e **23** foram seletivos para a BuChE, sem apresentar inibição para a AChE na mesma escala de concentração que o bis(8)-lofina apresenta. Esse resultado mostra que a simples substituição de uma fenila por um anel piridínico na molécula é capaz de causar uma inversão na seletividade desse grupo de dímeros. Também vale destacar que os dímeros bis(6)-lofina e bis(7)-lofina não apresentaram

atividade para as enzimas. Enquanto que, seus análogos nitrogenados foram ativos para a BuChE, mostrando novamente a importância do anel piridínico na molécula.

4.2.2 Estudo de modelagem molecular

Os estudos de modelagem molecular foram conduzidos pelo prof. Dr. Laurent Emmanuel Dardenne e pela Dra. Isabela Alvim Guedes, no Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC. Os ensaios de *docking* foram realizados utilizando o programa Glide e a estrutura da BuChE do *Homo Sapiens* complexada com o híbrido inibidor tacrina-triptofano (*Protein Data Bank*-PDB ID 6i0c). Os dois compostos mais ativos **23e** e **23h** estão entre os três compostos com a menor energia de ligação no estudo de modelagem molecular (Tabela 5). Vale destacar que, quanto menor o valor de energia de ligação, mais estável o complexo enzima-substrato. O estudo previu que os dímeros interagem com a cavidade da BuChE de forma similar, com o núcleo lofina não substituído interagindo no fundo da cavidade, enquanto que a lofina N-substituída interage na região do PAS. Esse comportamento só não é observado para os dímeros não simétricos com nitrogênio na posição 2 do anel, onde ocorre uma inversão com a lofina N-substituída ocupando o fundo da cavidade enzimática.

No fundo da cavidade, esses ligantes interagem através de interações lipofílicas e do tipo *T-stacking*, principalmente com os resíduos Trp82 (W82), His438 (H438), Trp321 (W231), Phe329 (F329) e Tyr332 (Y332, Figura 32A e B). Apesar dessas interações, não foram observadas interações π -*stacking* ou cátion- π comumente observadas com o Trp82 (W82) em inibidores potentes reportados na literatura (Figura 32C).^{7, 85} Essa interações provavelmente não foram observadas devido ao maior tamanho e menor flexibilidade do núcleo lofina, levando a um ajuste sub otimizado no sítio de ligação. Notavelmente, os análogos piridínicos do bis(n)-lofina conseguem interagir mais ao fundo da cavidade da BuChE do que na cavidade da AChE, estando muito mais próximos do Trp82 (W82) na BuChE (Figura 32D). Por exemplo, o anel fenila do composto **23e** está a uma distância de 3,5 Å do Trp82 (W82) da BuChE, enquanto que na AChE ele está a 5,5 Å do Trp82 (W82).

A seletividade desses compostos pela BuChE pode ser explicado pela ausência de alguns resíduos aromáticos na entrada da cavidade da enzima. Isso ocasiona um sítio de ligação mais aberto, que acomoda melhor ligantes maiores, e a formação de bolsos hidrofóbicos que são frequentemente ligados a seletividade para a BuChE. Por exemplo, de acordo com os resultados do *docking*, os dímeros bis(n)-lofina interagem com a cadeia lateral do Trp231 (W231), presente no CAS, por interações do tipo T-

stacking. Esse resíduo só é acessível na BuChE e é considerado um resíduo chave para a seletividade. Por fim, outra interação importante, observada para os dímeros não simétricos com nitrogênio na posição 3 (como **23e** e **23h**), é a ligação hidrogênio com a cadeia lateral do Asn68 (N68), localizado no PAS.

Tabela 5: Resultados de *docking* dos análogos bis(n)-lofina e o composto de referência tacrina contra a BuChE (PDB 6I0C).

Entrada	Composto	GlideScore (kcal.mol ⁻¹)	IC ₅₀ (μM)
1	22a	-9,708	0,246
2	22b	-9,657	0,208
3	22c	-10,379	25,84
4	22d	-10,808	32,25
5	22e	-9,827	12,04
6	22f	-10,468	23,27
7	22g	-10,395	n.a
8	22h	-10,594	n.a
9	22i	-10,484	n.a
10	23a	-10,102	0,155
11	23b	-9,98	0,134
12	23c	-10,028	0,164
13	23d	-10,405	0,091
14	23e	-11,28	0,034
15	23f	-11,323	1,294
16	23g	-10,944	0,578
17	23h	-11,052	0,071
18	23i	-10,927	1,586
19	Tacrina	-7,578	0,004

IC₅₀: concentração mínima necessária pra inibir 50% da atividade da enzima.

Apesar dos modos de ligação previstos serem bem similares para todos os compostos, os valores de IC₅₀ obtidos experimentalmente tem uma grande variação. Provavelmente, a principal diferença entre as afinidades determinadas experimentalmente para as séries de dímeros simétricos e não simétricos está relacionada às penalidades por dessolvatação. Essa penalidade surge ao tentar inserir o

grupo piridina da série dos dímeros simétricos no interior da cavidade, sem compensação através de interações polares com o ambiente.

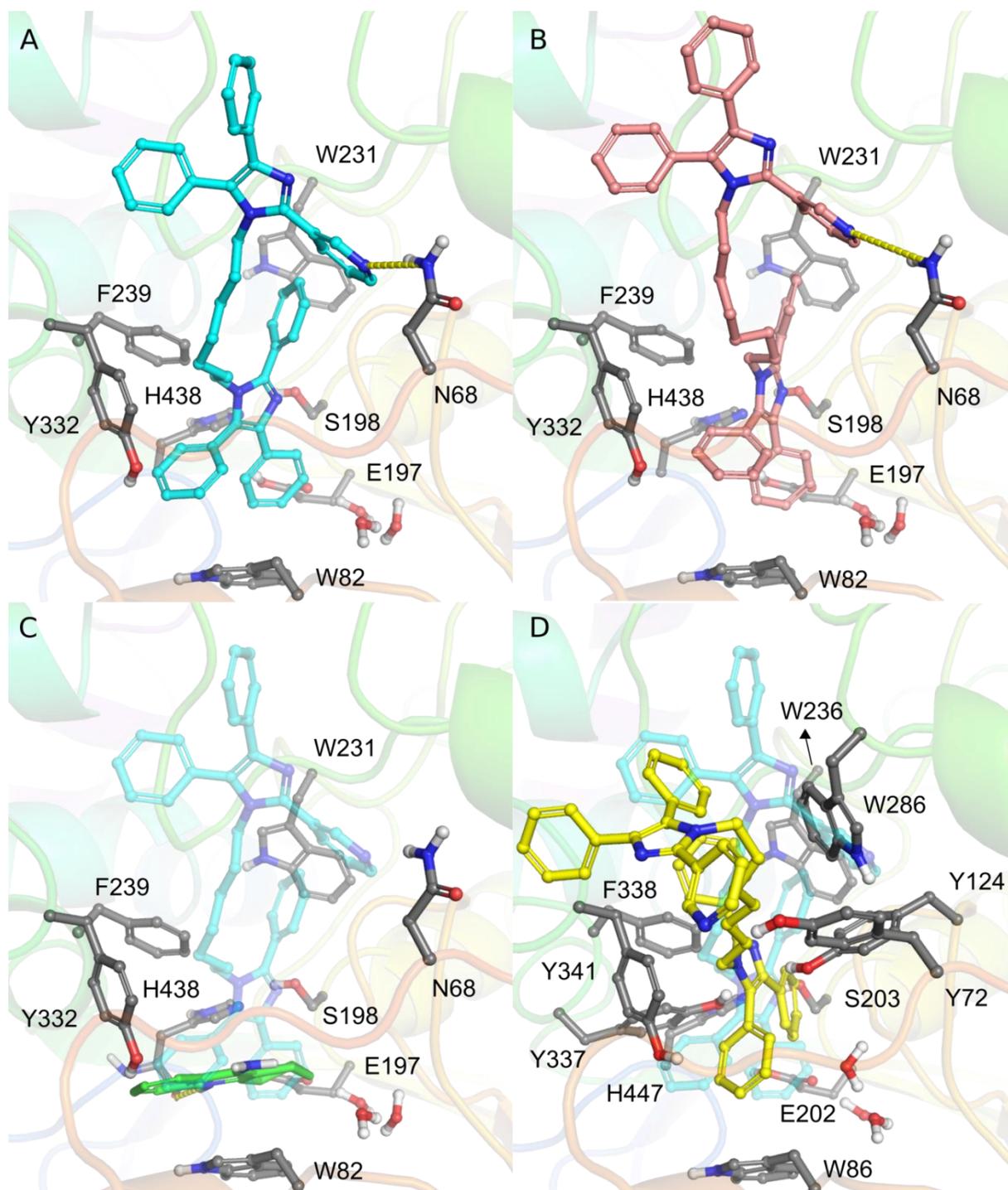


Figura 32: Modos de ligação previstos para os compostos (A) **23e** (carbonos em ciano), (B) **23h** (carbonos em rosa), (C) Tacrina (carbonos em amarelo) sobreposta com **23e**. (D) Modo de ligação previsto para o composto **23e** contra AChE (Carbonos em amarelo) sobreposto com o modo previsto para a BuChE (Enzima transparente e carbonos em ciano).

4.2.3 Avaliação da Citotoxicidade em modelos *in vitro*

Para a avaliação da citotoxicidade em modelos *in vitro* foram escolhidos os análogos **23b** e **23h**. Eles foram avaliados contra células modelos de VERO (células do rim), HepG2 (células hepáticas) e C6 (astroglia), que são linhas celulares amplamente utilizadas em experimentos que buscam informações sobre nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e neurotoxicidade, respectivamente. A viabilidade celular foi determinada pelo método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólico).

De acordo com os resultados (Tabela 6), os compostos **22b** e **23h** não apresentaram efeitos citotóxicos em todas as linhagens celulares na concentração testada, apresentando um IC_{50} maior que 125 μ M. Esses resultados sugerem que os compostos apresentam um bom grau de segurança porque há uma grande diferença entre o IC_{50} para a BuChE ($IC_{50} = 0,208 \mu$ M para o **22b**; e $0,071 \mu$ M para o **23h**) e a concentração que as linhagens celulares foram expostas (até 125 μ M) no ensaio de citotoxicidade. Para os compostos **22b** e **23h**, concentrações 600 e 1760 vezes maiores do que as concentrações de inibição da BuChE foram utilizadas, respectivamente, e uma pequena ou nenhuma redução na viabilidade celular foi observada. Também vale destacar, que os análogos bis(n)-lofina são significativamente menos tóxicos que a tacrina para a linhagem de células hepáticas (HepG2), pois, na concentração de 125 μ M, a tacrina apresenta uma viabilidade celular de 44%, enquanto que os derivados **22b** e **23h** apresentam de 70 a 95% de viabilidade celular.

Tabela 6: Viabilidade celular após tratamento com os compostos escolhidos em linhagens celulares VERO, HepG2 e C6.

Citotoxicidade ($IC_{50} \pm EPM - \mu$ M)			
Composto	Vero	HepG2	C6
22b	> 125	> 125	> 125
23h	> 125	> 125	> 125
Tacrina	168,9 \pm 14,0	114,9 \pm 17,9	450.7 \pm 4,2

IC_{50} : concentração mínima necessária pra inibir 50% da atividade da enzima; EPM: erro padrão da média.

4.3 Híbridos Tianeptina-Monoesquaramida

Para a síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida foi necessário a síntese de dois intermediários chave: o dietilesquarato **24** e as *N*-alquilaminotianeptina **25a-c** (Figura 33). Tendo em vista que a tianeptina já apresenta uma cadeia fixa de seis metilenos, para o intermediário **25a-c** foram escolhidos como ponto de partida $n = 2, 3$ e 4 . Vale destacar que a função amida do intermediário **25** também pode efetuar ligações de hidrogênio com as enzimas colinesterases, como verificado no híbrido tacrina-tianeptina.⁷

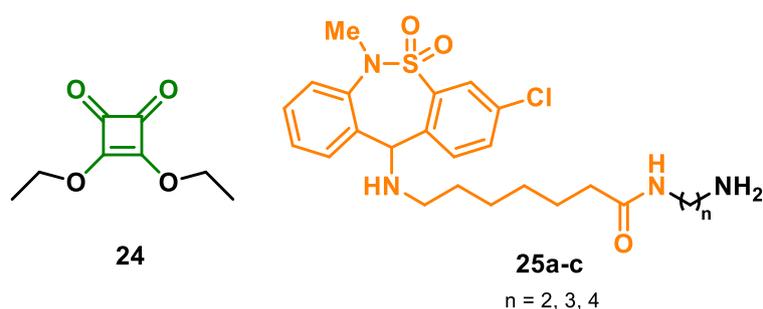
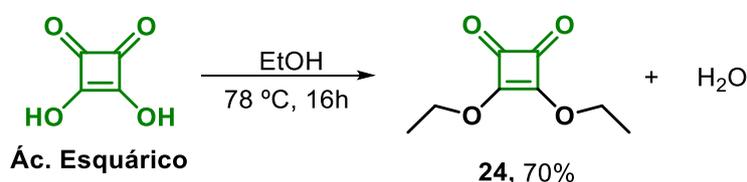


Figura 33: Intermediários para a síntese dos híbridos tianeptina-esquaramida.

O intermediário dietilesquarato **24** pode ser facilmente obtido através da reação de substituição nucleofílica entre o ácido esquárico e etanol, conforme mostrado no Esquema 16. A reação é realizada em refluxo a $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera inerte e o rendimento foi de 70%, após purificação por cromatografia em coluna. O procedimento experimental dessa síntese apresenta algumas particularidades. A reação não ocorre em 16 h seguidas, em vez disso, são feitos quatro ciclos de 4 h de reação, onde o EtOH é removido, sob pressão reduzida, entre os ciclos. Utilizando esse procedimento, a água formada no meio reacional é removida e evita-se a hidrólise do dietilesquarato.¹⁹⁰

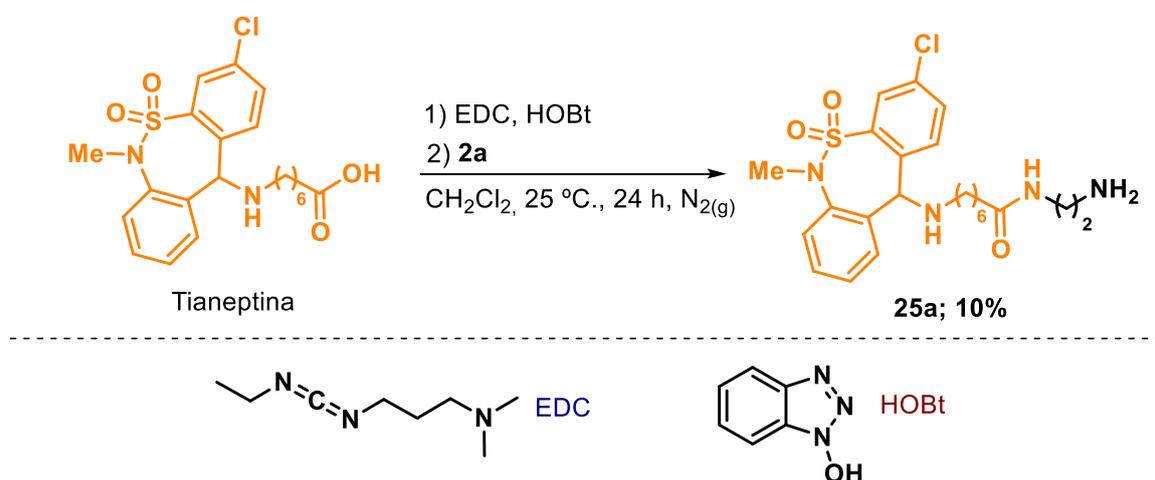


Esquema 16: Síntese do dietilesquarato **24**.

O ponto chave para a síntese de **25** é a formação da ligação amida, que pode ser realizada através da reação de acoplamento entre a tianeptina e a 1,*n*-alcanodiamina **2**. Neste trabalho não foi realizado a síntese da tianeptina devido à complexidade da sua

síntese. A tianeptina foi extraída de um medicamento contendo tianeptina como princípio ativo e posteriormente purificada por cromatografia em coluna.¹⁹¹

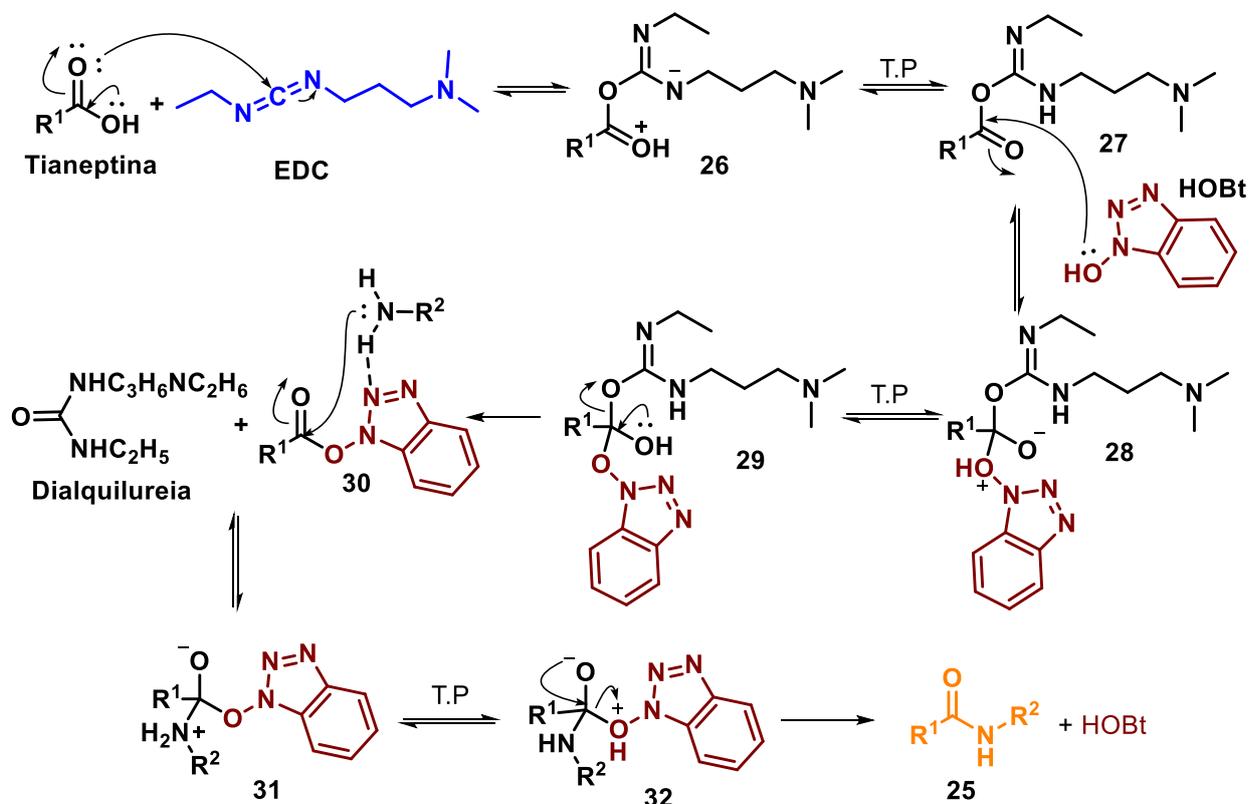
Inicialmente, tentou-se a reação direta entre a tianeptina e a 1,2-etilenodiamina **2a**, a fim de obter o intermediário **25a** (Esquema 17). Para tanto, utilizou-se as mesmas condições otimizadas para a reação de acoplamento na síntese dos híbridos tacrina-tianeptina.⁷ Essas condições utilizam EDC [1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida] como agente de acoplamento e o HOBt (hidroxibenzotriazol) como aditivo. A reação apresentou um baixo rendimento, apenas 10% após purificação por cromatografia em coluna. Esse baixo rendimento pode estar relacionado com as dificuldades encontradas na purificação do produto e também com a possível formação de dímeros da tianeptina, que podem se formar a partir da reação do éster ativado da tianeptina com o intermediário **25a** formado no meio.



Esquema 17: Reação de acoplamento entre a tianeptina e a etilenodiamina **2a**.

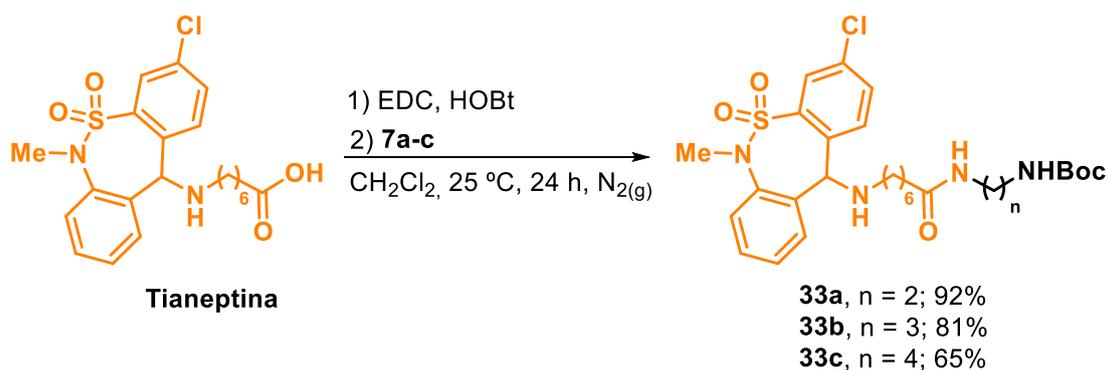
A reação de acoplamento utilizada começa pela ativação do ácido carboxílico da tianeptina. A primeira etapa consiste no ataque nucleofílico do ácido carboxílico a carbodiimida do EDC, formando **26**, que após troca protônica leva a formação do intermediário O-acil-isoureia **27**. Em seguida, o HOBt realiza um ataque nucleofílico no intermediário **27**, formando o intermediário tetraédrico **28**, que após troca protônica forma **29**, que elimina dialquileureia e forma o éster ativado **30**. Em seguida, ocorre uma nova reação de substituição acílica, onde a amina realiza um ataque nucleofílico a carbonila do éster ativado **30**, com formação do intermediário tetraédrico **31**. Por fim, uma nova troca protônica forma **32**, que elimina o HOBt após restituição da carbonila, levando a formação da amida de interesse (Esquema 18).¹⁹⁶ O HOBt é um aditivo muito interessante de se utilizar em reações de acoplamento desse tipo, pois ele forma um

éster ativado suscetível ao ataque da amina, e também estabiliza a aproximação da amina através de ligações de hidrogênio.¹⁹⁷



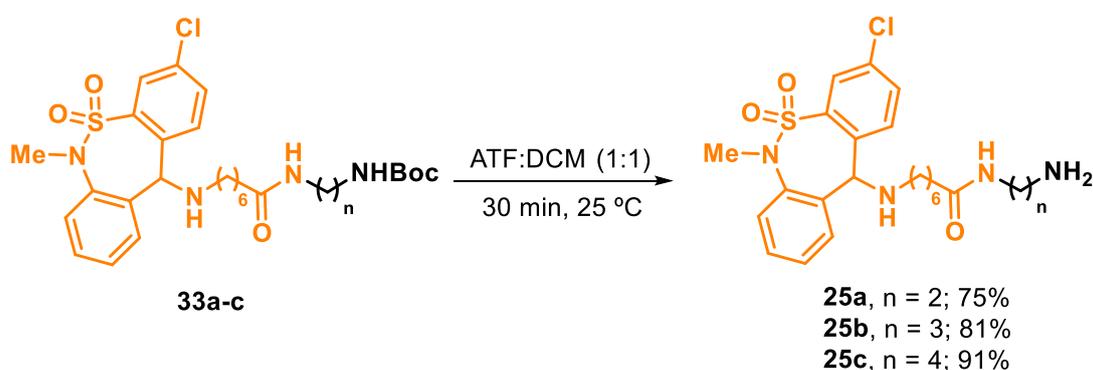
Esquema 18: Mecanismo da reação de acoplamento promovida pelo EDC e pelo HOBT.

Tendo em vista a dificuldade de obter o produto **25** a partir da reação direta com a diamina **2**, optou-se por utilizar as diaminas protegidas **7a-c**, sintetizadas de acordo com a reação do Esquema 7. A reação das diaminas **7a-c** com a tianeptina utilizou o EDC como agente de acoplamento e o HOBT como aditivo (Esquema 19). Os intermediários **33a-c** foram obtidos com rendimentos entre 65 e 91%, após purificação por cromatografia em coluna.



Esquema 19: Reação de acoplamento entre a tianeptina e as aminas **7a-c** para formação de **33a-c**.

Por fim, a reação de desproteção do grupo amino de **33a-c** foi realizada utilizando uma mistura de ácido trifluoroacético (ATF) e diclorometano, na proporção 1:1, levando a formação de **25a-c** (Esquema 20). Os intermediários foram obtidos com rendimentos entre 75 e 91%. Um ponto importante dessa reação é que não foi necessário purificar os produtos por cromatografia em coluna, pois os produtos são obtidos puros após neutralização da solução com NaHCO_3 . Diferente da desproteção do composto **8** (Esquema 10) que foi realizada com HCl e aquecimento, na desproteção do composto **25** optou-se por uma metodologia mais branda, a fim de evitar uma possível hidrólise do grupo amida.



Esquema 20: Reação de desproteção do grupo amino do composto **33a-c** e formação dos intermediários **25a-c**.

O espectro de RMN de ^1H da tianeptina encontrado na literatura auxiliou na atribuição do espectro do intermediário *N*-alquilaminotianeptina **25a**.¹⁹⁸ No espectro da Figura 34 observa-se o duplete em 7,98 ppm ($J = 2,1$ Hz; H10); o duplete de duplete em 7,49 ppm ($J = 8,3$ e $2,1$ Hz; H12); o simpleto largo em 6,01 ppm (H23, hidrogênio do NH

da amida); o simpleto em 5,01 ppm (H1, importante sinal que auxilia na identificação dos derivados da tianeptina); o simpleto em 3,38 ppm (H8). Além desses sinais, o quarteto em 3,30 ppm ($J = 5,6$ Hz; H24) e o tripleto em 2,83 ppm ($J = 5,6$ Hz; H25) correspondem aos hidrogênios da cadeia espaçadora inserida na reação de acoplamento. Por fim, o multipletto em 2,52 – 2,42 ppm (H16) corresponde ao CH_2 mais próximo do sistema tricíclico. A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **25a** é apresentada na Tabela 7.

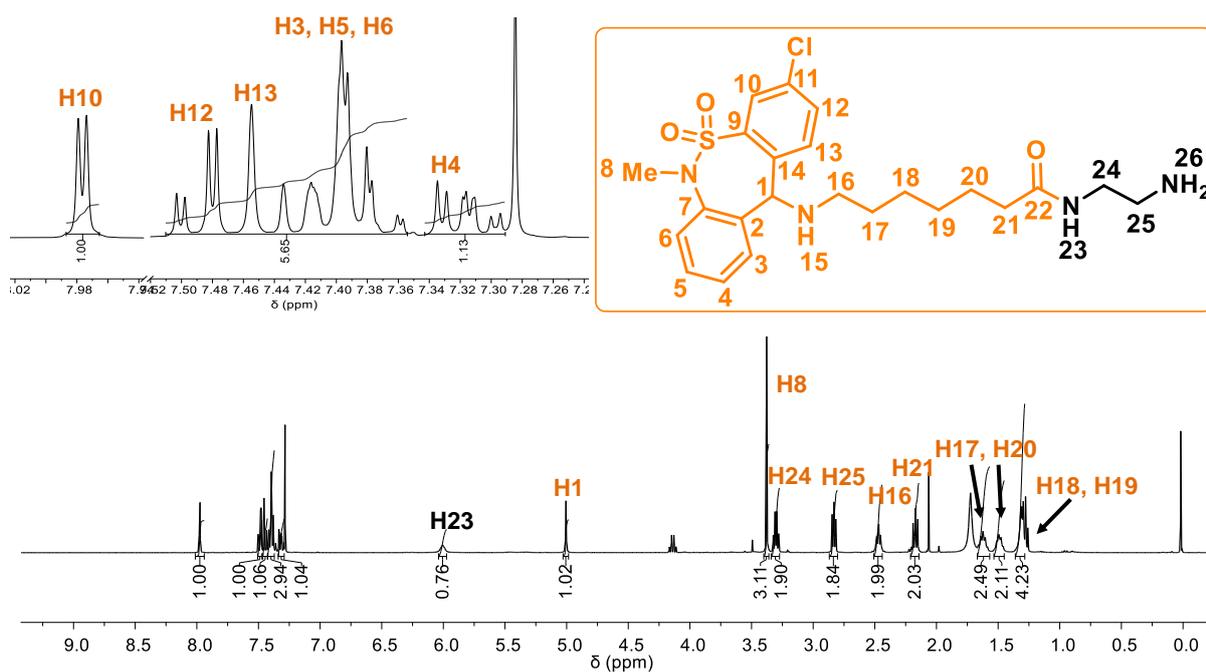
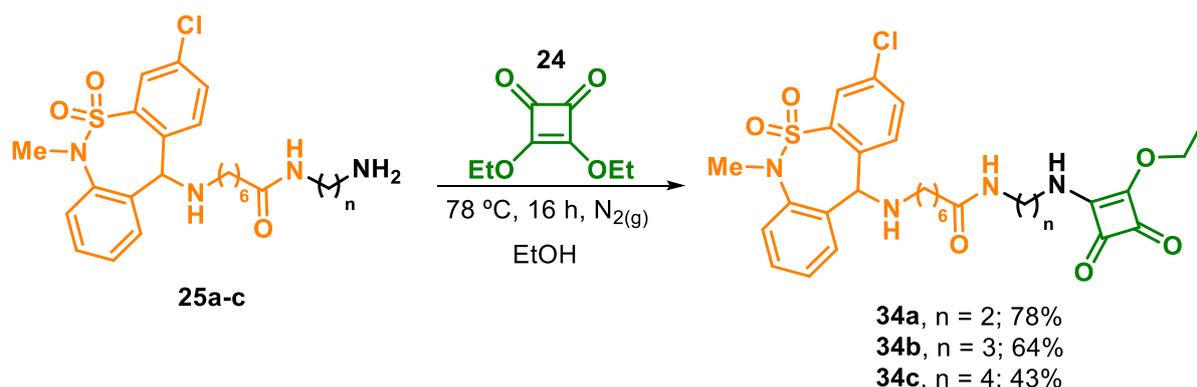


Figura 34: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **25a**.

Tabela 7: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **25a**.

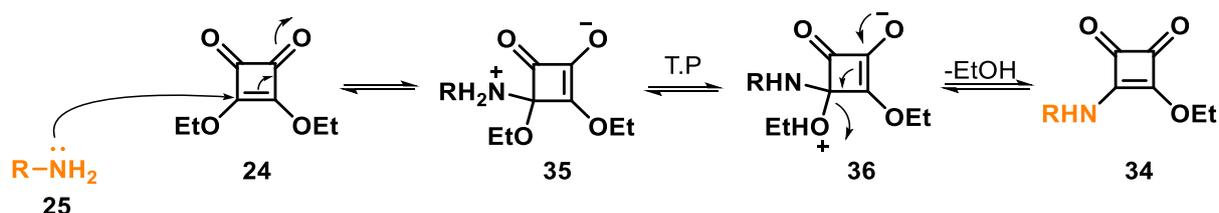
δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
7,98	Dupleto	2,1	1	H10
7,49	Dupleto de dupleto	8,3 e 2,1	1	H12
7,44	Dupleto	8,3	1	H13
7,42 – 7,37	Multipleteo	-	3	H3, H5, H6
7,34 – 7,29	Multipleteo	-	1	H4
6,01	Simpleto largo	-	1	H23 (NH amida)
5,01	Simpleto	-	1	H1
3,38	Simpleto	-	3	H8
3,30	Quarteto	5,6	2	H24
2,83	Tripleteo	5,6	2	H25
2,52 – 2,42	Multipleteo	-	2	H16
2,19	Tripleteo	5,6	2	H21
1,69 – 1,58	Multipleteo	-	2	H17 ou H20
1,54 – 1,46	Multipleteo	-	2	H17 ou H20
1,36 – 1,27	Multipleteo	-	4	H18, H19

Os híbridos tianeptina-monoesquaramida **34a-c** foram obtidos a partir da reação de substituição nucleofílica do tipo ipso entre o dietilesquarato **24** e a *N*-alquilaminotianeptina **25a-c** com rendimentos entre 43 e 78% (Esquema 21). As diferenças de rendimentos podem ser explicadas pelas dificuldades encontradas na purificação dos compostos. Um detalhe experimental importante é a necessidade de adicionar lentamente a amina a 0 °C. Essa adição controlada é realizada a fim de evitar que a amina substitua os dois grupos etoxi do dietilesquarato, levando à formação de um composto dimérico indesejado da tianeptina. Outro fator responsável por evitar a formação dos compostos diméricos é a menor reatividade das esquaramidas, quando comparado ao dietilesquarato de partida.



Esquema 21: Síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida.

O mecanismo de substituição nucleofílica do tipo ipso (Esquema 22) começa com um ataque nucleofílico em ipso da amina **25** ao carbono sp^2 do dietilesquarato **24** e formação do intermediário **35**. Após uma troca protônica, ocorre a restituição da carbonila de **36**, com rearranjo eletrônico e eliminação de EtOH, levando à formação do híbrido tianeptina-monoesquaramida **34**.



Esquema 22: Mecanismo de substituição nucleofílica do tipo ipso para formação dos híbridos tianeptina-monoesquaramida.

O espectro de RMN de ^1H do híbrido **34a** é apresentado na Figura 35. Com relação aos sinais dos H da porção aromática do núcleo tianeptina, não se observa diferenças muito grandes de δ , quando comparado ao espectro do intermediário **25a** (Figura 34). Destacam-se o duplete em 7,95 ppm ($J = 2,1$ Hz; H10); o duplete de duplete em 7,49 ppm ($J = 8,3$ e $2,1$ Hz; H12) e o duplete em 7,44 pp ($J = 8,3$ e $2,1$ Hz; H13). Outros dois sinais bem característicos do sistema tricíclico são o simpleto em 5,00 ppm (H1) e o simpleto em 3,33 ppm (H8). Uma característica importante observada nesses compostos é a presença de rotâmeros. Esses rotâmeros são formados devido à alta barreira energética rotacional da ligação C-N da porção esquaramida do híbrido, fazendo com que duas conformações sejam observadas, a *syn* e a *anti* (Esquema 23). A interconversão entre os dois rotâmeros é lenta, o que possibilita sua detecção no espectro de RMN de ^1H . O desdobramento dos sinais dos hidrogênios H26 e H25 são

reportados na literatura para diferentes monoessquaramidas.^{199, 200} Como observado no espectro, H26 aparece como dois simples largos em 6,73 e 6,66 ppm e H25 como dois multipletos em 3,78 – 3,67 e 3,57 – 3,48 ppm. A completa atribuição do espectro de RMN de ¹H do composto **34a** é apresentada na Tabela 8.

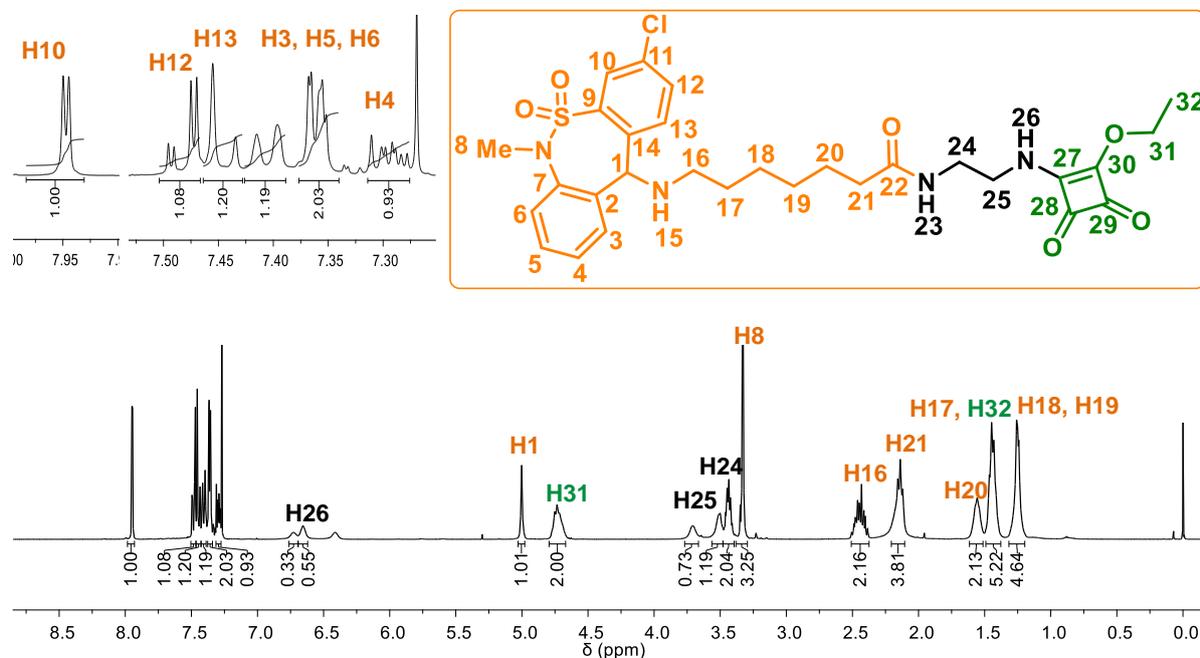
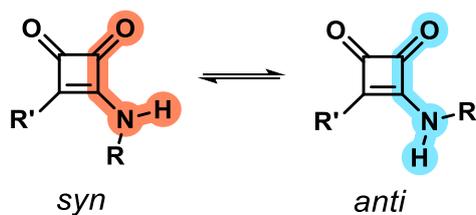


Figura 35: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **31a**.



Esquema 23: Equilíbrio conformacional de monoessquaramidas.

Tabela 8: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **31a**.

δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
7,95	Dupleto	2,1	1	H10
7,48	Dupleto de dupleto	8,3 e 2,1	1	H12
7,44	Dupleto	8,3	1	H13
7,42 – 7,37	Multipleteo	-	3	H3, H5, H6
7,33 – 7,27	Multipleteo	-	1	H4
6,73; 6,66 (rotâmeros)	Simpleto largo	-	1	H26
5,00	Simpleto	-	1	H1
4,81 – 4,66	Multipleteo	-	2	H31
3,78 – 3,67 (rotâmeros)	Multipleteo	-	2	H25
3,47 – 3,38	Multipleteo	-	2	H24
3,33	Simpleto	-	3	H8
2,54 – 2,37	Multipleteo	-	2	H16
2,23 – 2,08	Multipleteo	-	2	H21
1,63 – 1,51	Multipleteo	-	2	H20
1,50 – 1,37	Multipleteo	-	5	H17, H32
1,32 – 1,20	Multipleteo	-	4	H18, H19

Assim como para os intermediários *N*-alquilaminotianeptina **25a-c**, a atribuição dos sinais dos H do núcleo da tianeptina nos híbridos tianeptina-monoesquaramida foi realizada com base nos dados obtidos na literatura.¹⁹⁸ Para a determinação dos demais sinais dos hidrogênios do híbrido **34a**, o espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY (*Correlation Spectroscopy*) foi a ferramenta utilizada. Na Figura 36 estão destacadas as correlações dos hidrogênios H31-H32, presentes no grupo etoxila do núcleo esquárico, e a correlação dos hidrogênios H25-H26, que são os sinais duplicados por conta da presença dos rotâmeros em solução.

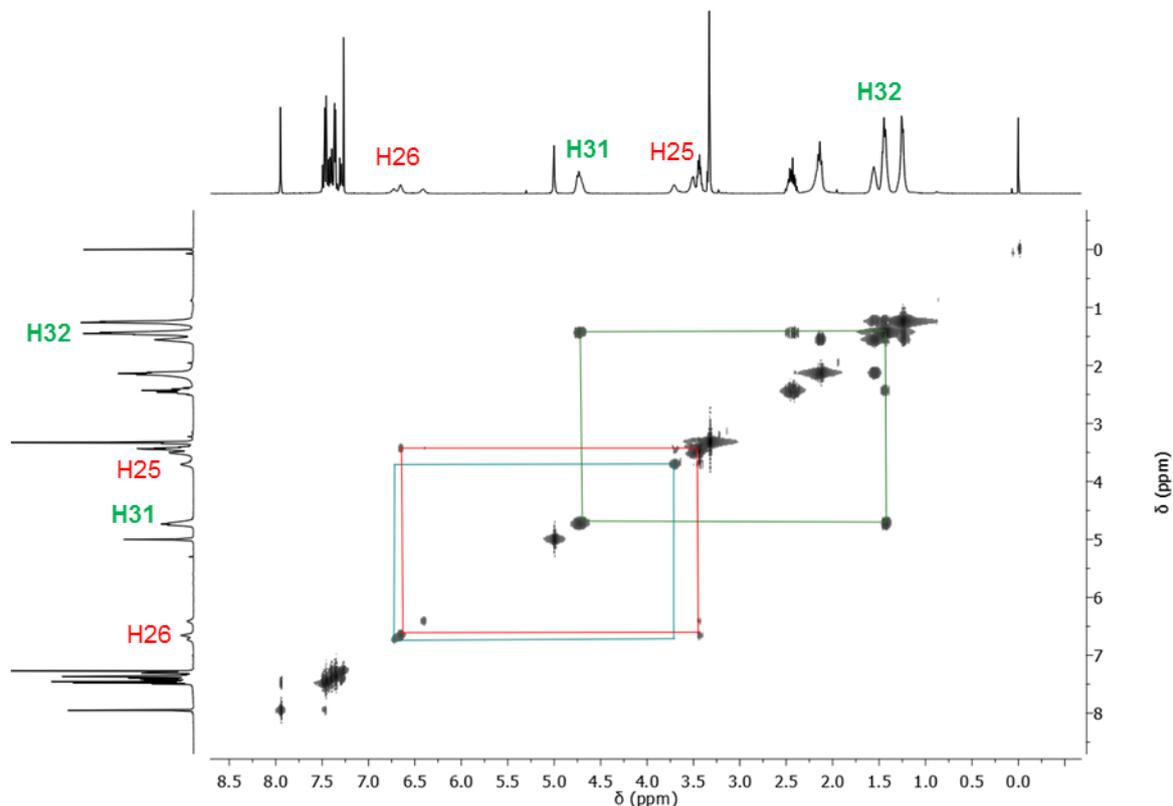


Figura 36: Espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **34a**.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT do híbrido **34a** é apresentado na Figura 37. Destacam-se os quatro carbonos do núcleo esquárico em 189,6 (C29); 182,7 (C28); 177,7 (C30) e 172,7 ppm (C27). O carbono da amida é observado em 174,0 ppm (C22). Do núcleo tianeptina, destacam-se os carbonos em 134,2 (C11); 132,3 (C12); 66,4 (C1) e 38,8 ppm (C8). No espectro de RMN de ^{13}C -APT do composto **34a** também é possível ver o desdobramento causado pela presença de rotâmeros. Esse desdobramento se reflete no C24 que desdobra em dois sinais em 39,8 e 39,5 ppm. O carbono C25 em 44,8 ppm, vizinho ao nitrogênio da esquaramida, não apresenta desdobramento pela presença de rotâmeros. Por fim, outros sinais que merecem destaques aparecem em 69,8 e 15,8 ppm, referentes aos C31 e C32, respectivamente, que são os carbonos da etoxila ligada ao núcleo monoquaramida.

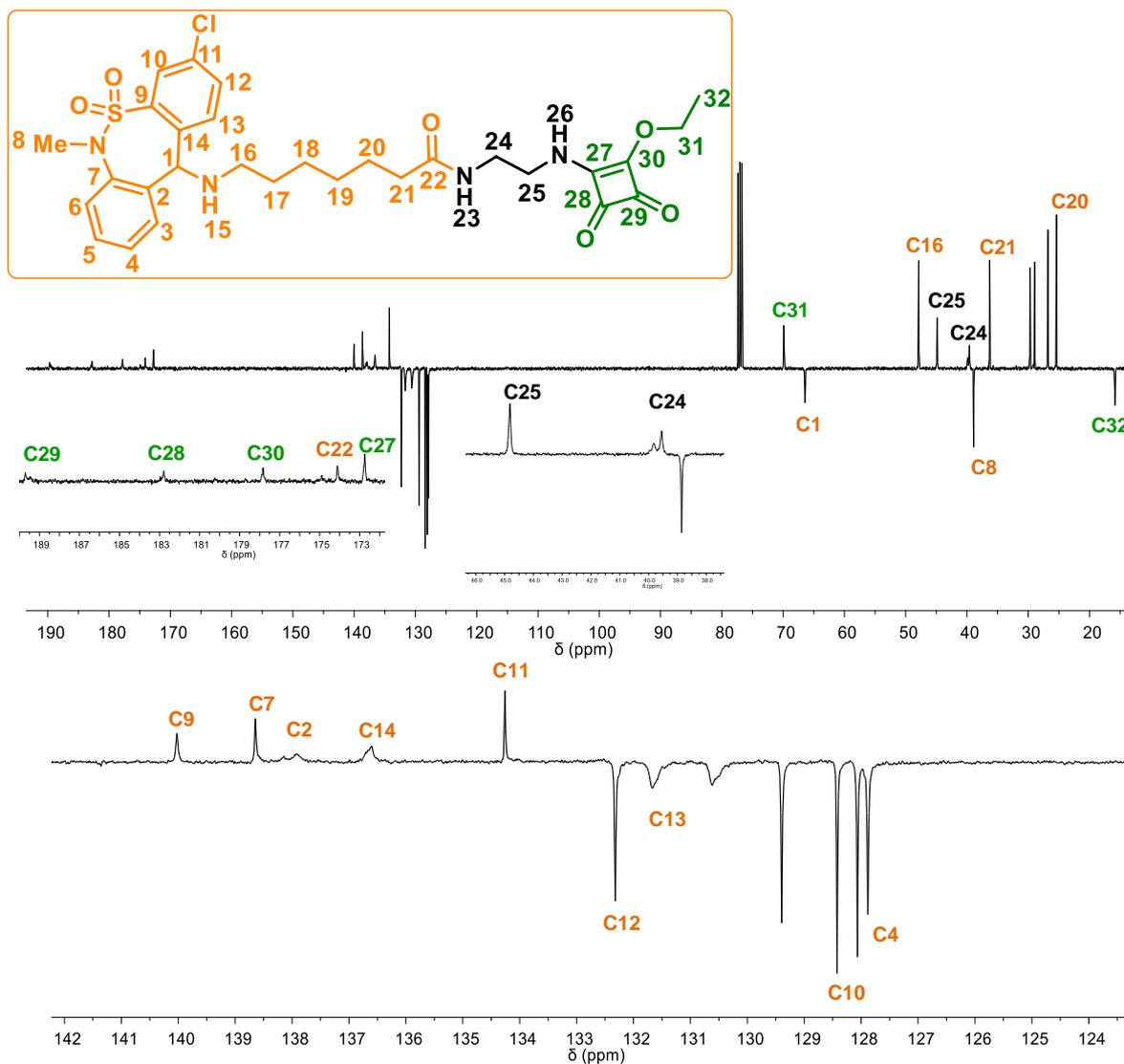


Figura 37: Espectro de RMN de ¹³C-APT (CDCl₃, 400 MHz) do composto **34a**.

A atribuição dos sinais do ¹³C-APT foi realizada utilizando o espectro de RMN bidimensional heteronuclear ¹H - ¹³C HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*) do composto **34a** (Figura 38), onde se verificam os seguintes acoplamentos carbono-hidrogênio: C17-H17, C32-H32, C20-H20, C21-H21, C16-H16, C1-H1, C31-H31, C24-H24, C8-H8, C10-H10, C12-H12, C13-H13 e C4-H4. Vale destacar o acoplamento C25-H25, onde se observa que os dois multipletos referentes ao H25 acoplam com o mesmo C25, indicando a formação dos rotâmeros em solução.

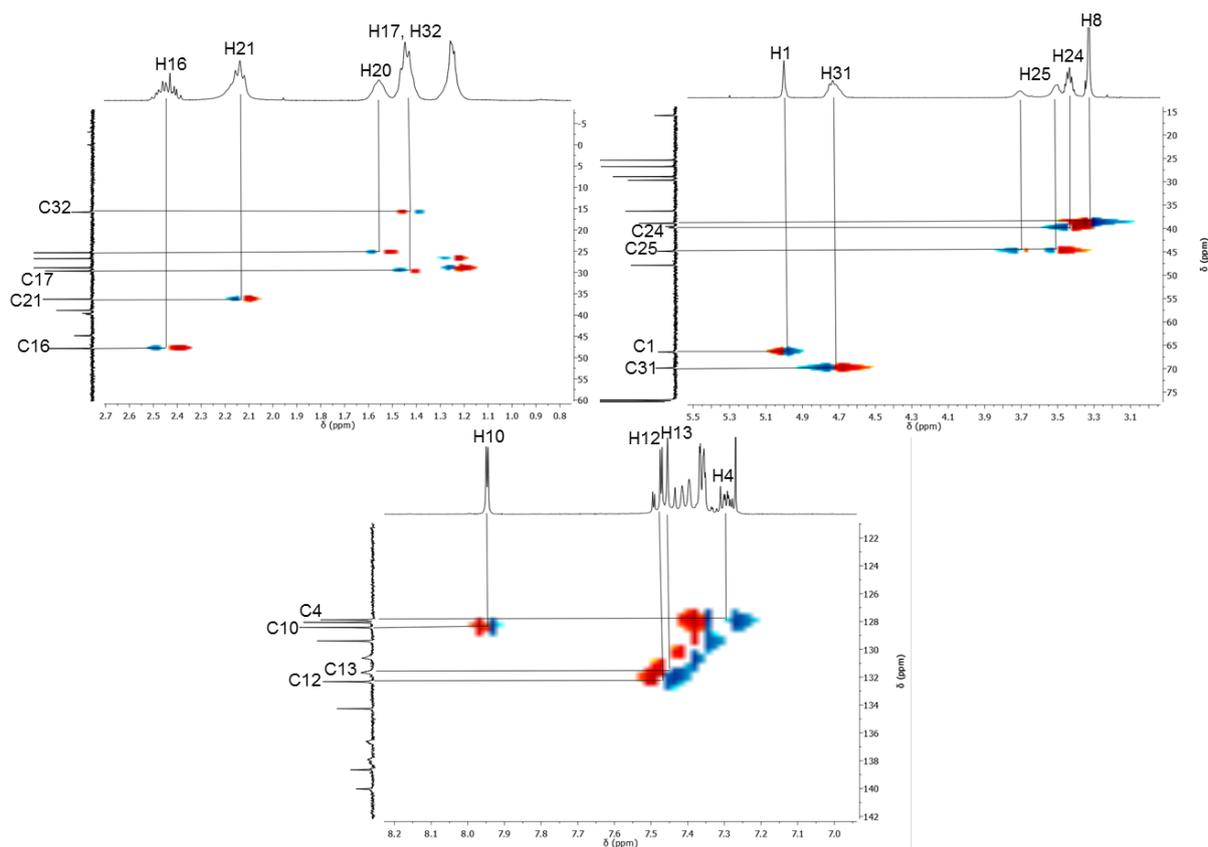
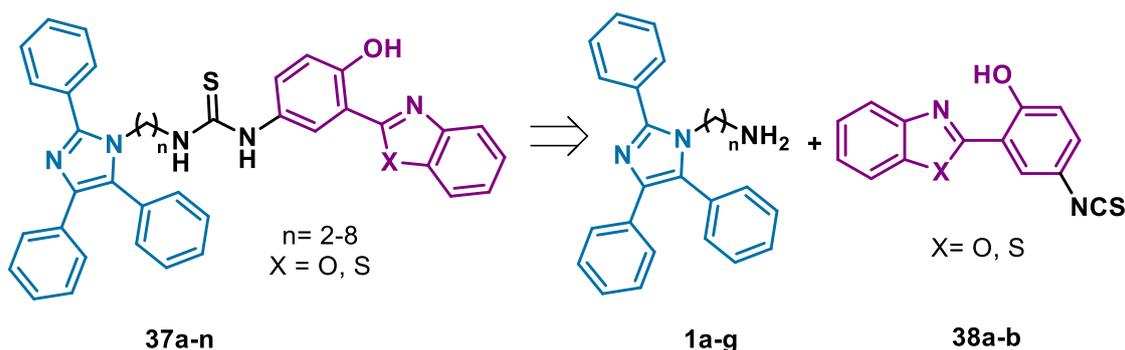


Figura 38: Espectro de RMN bidimensional heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **34a**.

Os híbridos tianeptina-monoesquaramida ainda não foram enviados para análise biológica e modificações estruturais nos híbridos finais podem ser realizadas, aumentando assim a biblioteca de compostos.

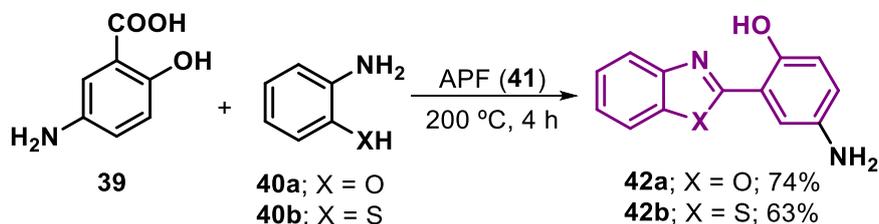
4.4 Híbridos Lofina-Benzazol

A partir da avaliação estrutural dos híbridos lofina-benzazol (**37a-n**, Esquema 24), pode-se observar que os mesmos podem ser obtidos a partir de dois intermediários chave: as *N*-alquilaminolofinas (**1a-g**) e o 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol (**38a-b**). Este último, por sua vez, pode ser obtido em duas etapas reacionais utilizando-se metodologias já descritas na literatura.¹⁰⁸ Assim, a partir desta análise, foram obtidos híbridos derivados do benzoxazol e do benzotiazol.



Esquema 24: Planejamento dos híbridos lofina-benzazol **37a-n**.

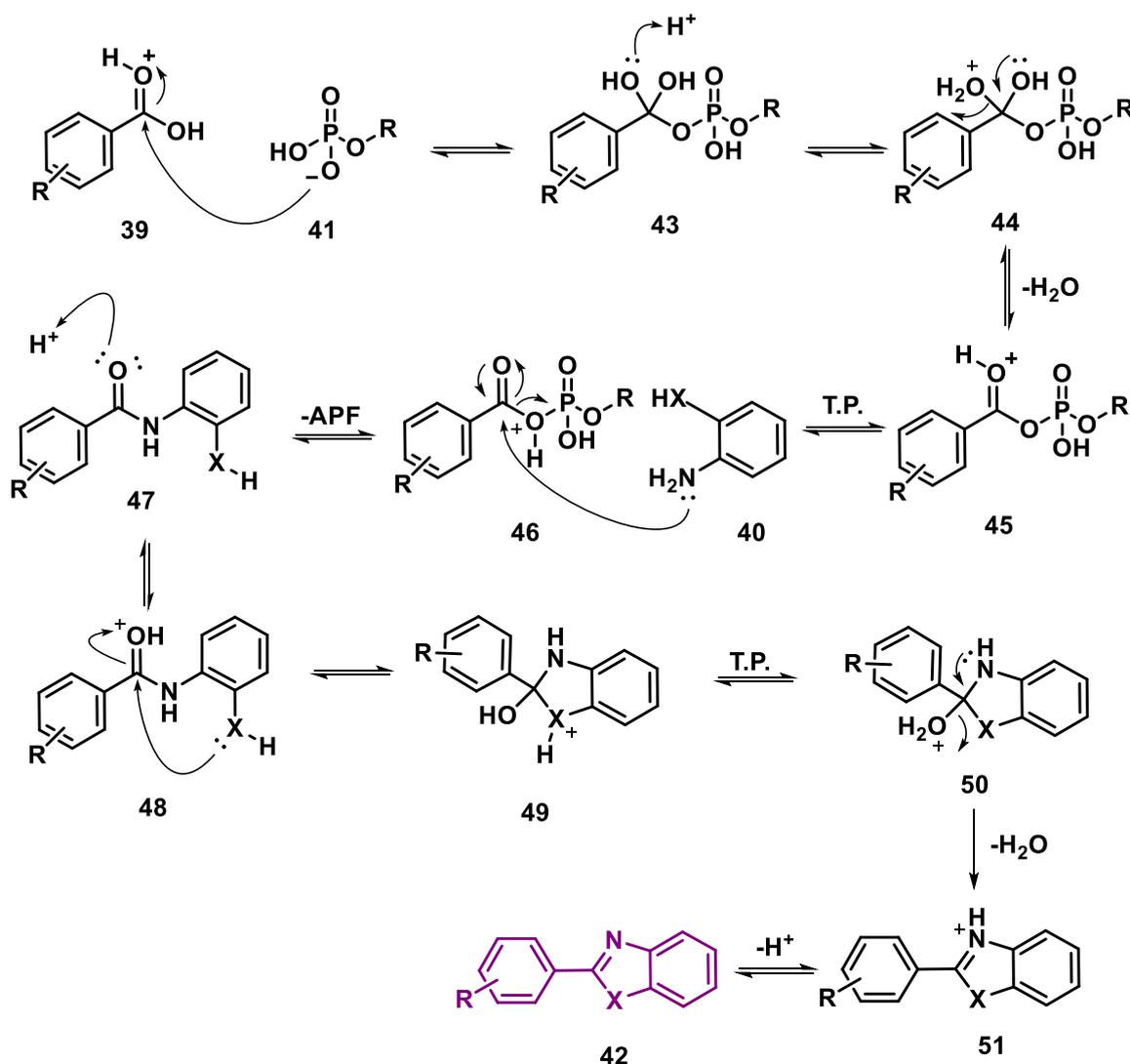
A primeira etapa na síntese do composto **38** consiste na reação entre o ácido 5-aminosalicílico (**39**) e o 2-aminofenol (**40a**) ou o 2-aminotiofenol (**40b**) na presença de ácido polifosfórico (**41**, APF) para formação do respectivo 2-(5'-amino-2'-hidroxifenil)benzazol (**42a-b**, Esquema 25). A reação foi realizada a 200 °C por 4 h, com rendimentos de 74% para o composto **42a** e 63% para o **42b**. O ácido polifosfórico atua como catalisador e solvente de alto ponto de ebulição e estabilidade térmica, promovendo assim, a condensação entre a anilina e o ácido aminobenzoico.



Esquema 25: Síntese do 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol **42a-b**.

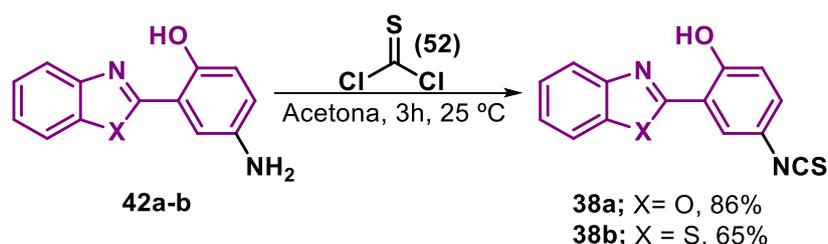
O APF é uma mistura condensada de oligômeros do ácido fosfórico de alta viscosidade e composição complexa. Essas características fazem com que a investigação do mecanismo da reação seja muito difícil. Uma proposta para o

mecanismo de formação do benzoxazol (**42a**) é apresentada no Esquema 26. Nessa proposta, o APF **41** atua como um nucleófilo e realiza uma S_N acílica no ácido benzoico, formando o intermediário tetraédrico **43**, que após protonação forma **44**. A eliminação de água leva a formação do éster de fosfato **45**, que após troca protônica forma **46**. Essa primeira etapa de S_N acílica no ácido benzoico serve para ativar o grupo carbonílico para a segunda etapa, que consiste em uma nova S_N acílica com o nitrogênio do 2-aminofenol **40** atuando como nucleófilo, formando a amida **47**. Em seguida, ocorre a protonação de **47**, formando **48**, que sofre um ataque nucleofílico intramolecular do oxigênio fenólico à carbonila da amida **48** formando o intermediário cíclico **49**, que após troca protônica forma **50**. A eliminação de água de **50** leva a formação do benzazol **51** protonado, que após a neutralização do meio forma o benzazol **42** de interesse.²⁰¹



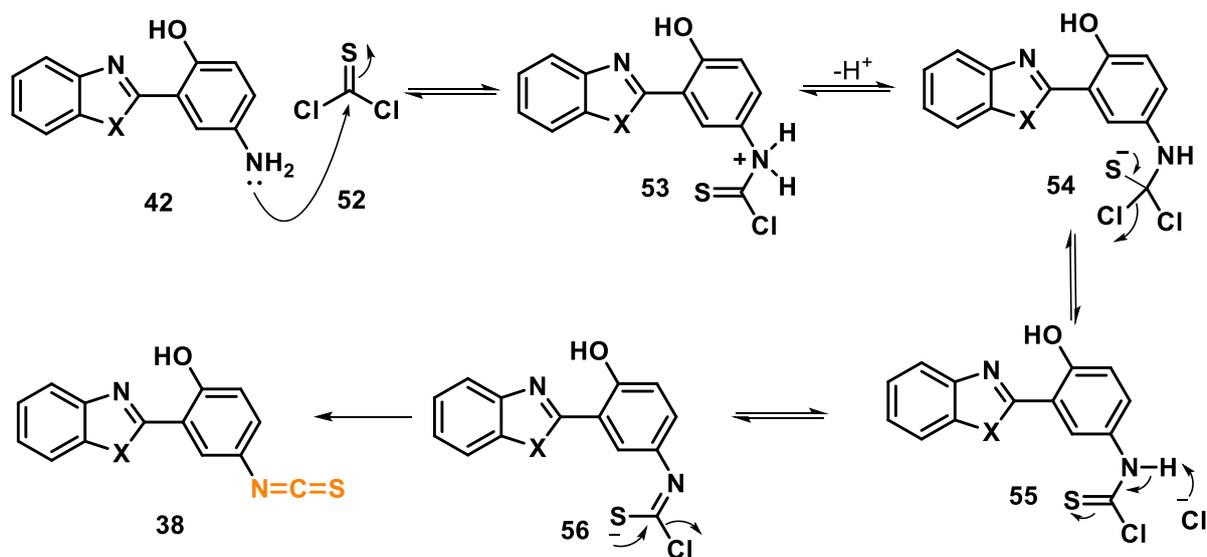
Esquema 26: Proposta de mecanismo para a formação do benzoxazol **42**.

A segunda etapa da síntese do composto **38** consiste na reação do 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol (**42a-b**) com tiossogênio (**52**, Esquema 27), para transformar o grupo amino em um grupo isotiocianato. A reação é realizada em acetona à temperatura ambiente por 3 h. Os rendimentos foram de 86% para o composto **38a** e de 65% para o **38b**.¹⁰⁸ Essa transformação é importante, pois o grupo isotiocianato possibilita a reação com o intermediário *N*-alquilaminolofina (**1**), ligando os dois núcleos de forma covalente por uma função tioureia.



Esquema 27: Síntese do intermediário 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol **38a-b**.

O mecanismo da reação do grupo amino com tiossogênio é apresentado no Esquema 28. A reação começa com o ataque nucleofílico do grupo amino de **42** ao carbono eletrofílico do tiossogênio **52**, levando à formação do intermediário tetraédrico **53**, que após perda de um próton forma o intermediário **54**. A restituição da tionila com eliminação de um cloreto forma o intermediário **55**, que perde um próton para um cloreto do meio formando **56**. Os elétrons do enxofre restituem a ligação dupla C=S, expulsando outro cloreto e formando o composto de interesse **38**.



Esquema 28: Mecanismo de formação do intermediário **38**.

Uma expansão do espectro de RMN de ^1H do composto **38a** é apresentada na Figura 39. A interpretação desse espectro é importante, pois fornece informações para a atribuição do espectro dos híbridos lofina-benzazol. Destacam-se o simpleto em 11,65 ppm, correspondente ao hidrogênio da hidroxila (H5), o duplete em 7,90 ppm com $^4J = 2,6$ Hz (H8), os multipletos em 7,78 – 7,74 ppm (H4) e 7,67 – 7,63 ppm (H1) e o duplete de duplete em 7,31 ppm (H7), com $^3J = 8,9$ Hz e $^4J = 2,6$ Hz. A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **38a** é apresentada na Tabela 9.

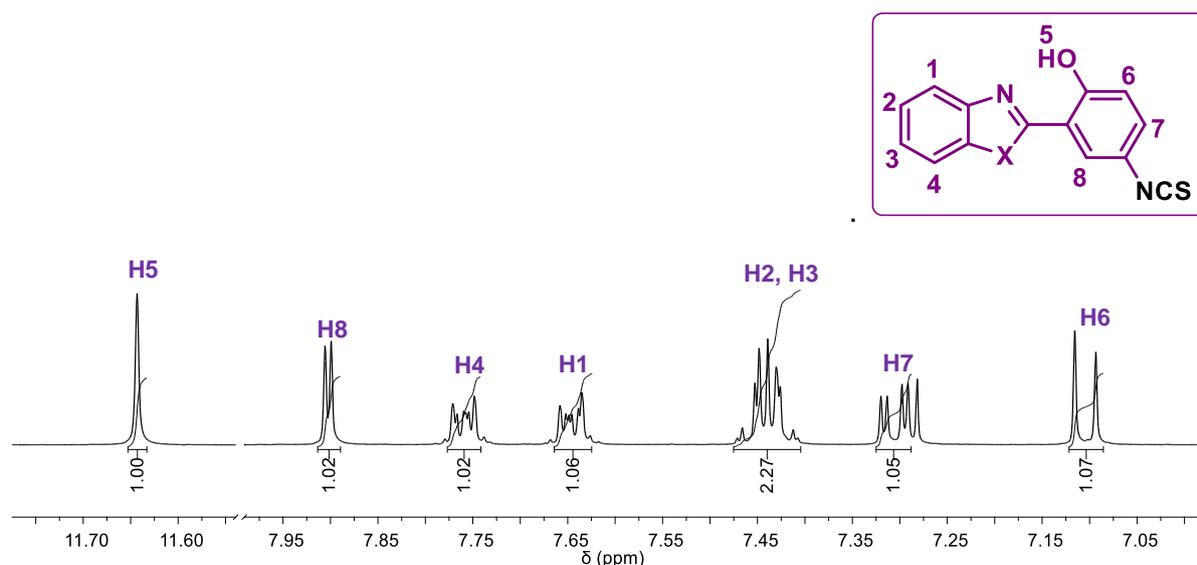


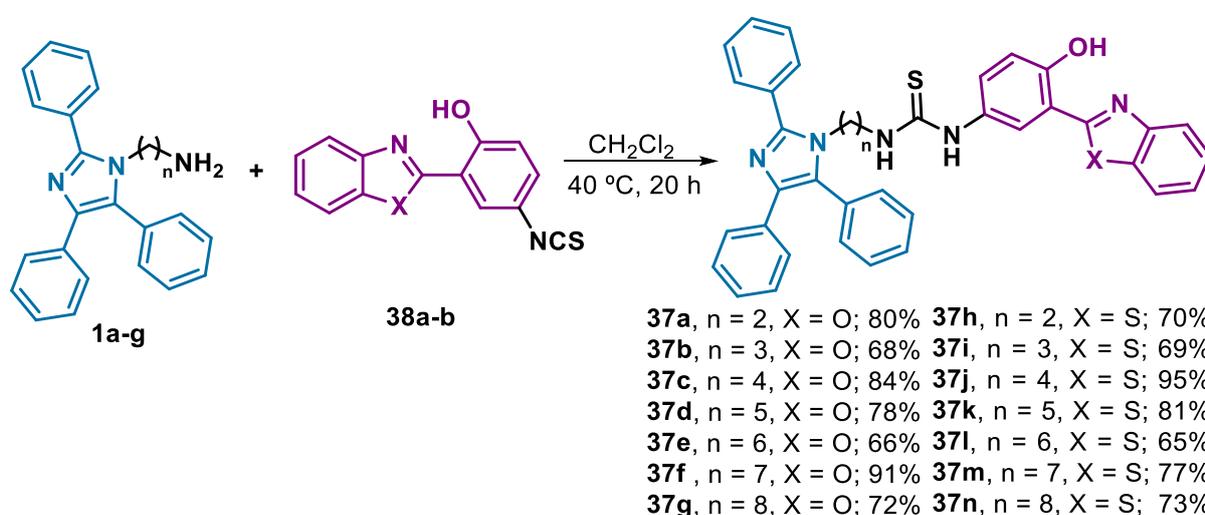
Figura 39: Expansão do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **38a**.

Tabela 9: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **38a**.

δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)	Nº de H	Atribuição
11,64	Simpleto	-	1	H5 (OH)
7,90	Duplete	2,6	1	H8
7,78 – 7,74	Multipletos	-	1	H4
7,67 – 7,63	Multipletos	-	1	H1
7,48 – 7,63	Multipletos	-	2	H2, H3
7,31	Duplete de Duplete	8,9 e 2,6	1	H7
7,10	Duplete	8,9	1	H6

Os híbridos lofina-benzoxazol (**37a-g**) e lofina-benzotiazol (**37h-n**) foram sintetizados através da reação entre o 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol (**38a-b**) e as *N*-alquilaminolofinas (**1a-g**, Esquema 29). Os dois núcleos foram unidos por uma função tioureia, que se forma da adição nucleofílica do grupo amino do composto **1** ao

carbono eletrofílico do grupo isotiocianato, presente no intermediário **38**. A reação foi realizada em refluxo de CH_2Cl_2 por 20 h. Os produtos foram obtidos com bons rendimentos e purificados por cromatografia em coluna. A purificação por cromatografia em coluna não foi utilizada para os compostos **37c** e **37j**. Esses dois compostos, com $n = 4$, apresentaram um comportamento diferente nas condições reacionais utilizadas. Após 2h de reação, era visível a formação de um sólido branco no meio reacional, que foi isolado e provou-se ser o produto da reação. Portanto, os compostos **37c** e **37j** não necessitaram de purificação por cromatografia em coluna, sendo necessário somente lavagens com CH_2Cl_2 seguido de centrifugação para obter o produto puro.



Esquema 29: Síntese dos híbridos lofina-benzoxazol (**37a-g**) e lofina-benzotiazol (**37h-n**).

O espectro de RMN de ^1H do composto **37g** é apresentado na Figura 40. No espectro é possível observar os sinais característicos do núcleo benzoxazol e do núcleo lofina, sem muitas diferenças para seus deslocamentos químicos, quando comparados com os mesmos sinais dos intermediários usados na síntese dos híbridos. Do núcleo benzoxazol, destacam-se o simpleto alargado em 11,56 ppm (H33), o duplete em 7,85 ppm ($J = 2,4$ Hz, H32), os multipletos em 7,75 – 7,70 e 7,59 – 7,54 ppm (H36 e H39, respectivamente) e o duplete de duplete em 7,23 ppm ($J = 8,8$ e 2,5 Hz, H28). Por parte do núcleo lofina, destacam-se o multiplete em 7,67 – 7,63 ppm (H1) e o tripleto em 3,87 ppm ($J = 7,6$ Hz, H16). Vale destacar também, os simpletos largos em 7,98 ppm (H26) e em 5,99 ppm (H24), que correspondem aos H ligados aos nitrogênios da função tiourea e evidenciam a formação do híbrido de interesse. Por fim, o multiplete entre 3,59 - 3,44 ppm (H23) também é um indicativo da formação do híbrido, pois esses hidrogênios aparecem como um tripleto em 2,35 ppm (H2, Tabela 1) no espectro de RMN de ^1H do

intermediário **1**. Essa diferença de deslocamento químico evidencia a formação de uma nova função vizinha a esses hidrogênios, no caso, a formação da função tiourea. A completa atribuição do espectro de RMN de ^1H do composto **37g** é apresentada na Tabela 10.

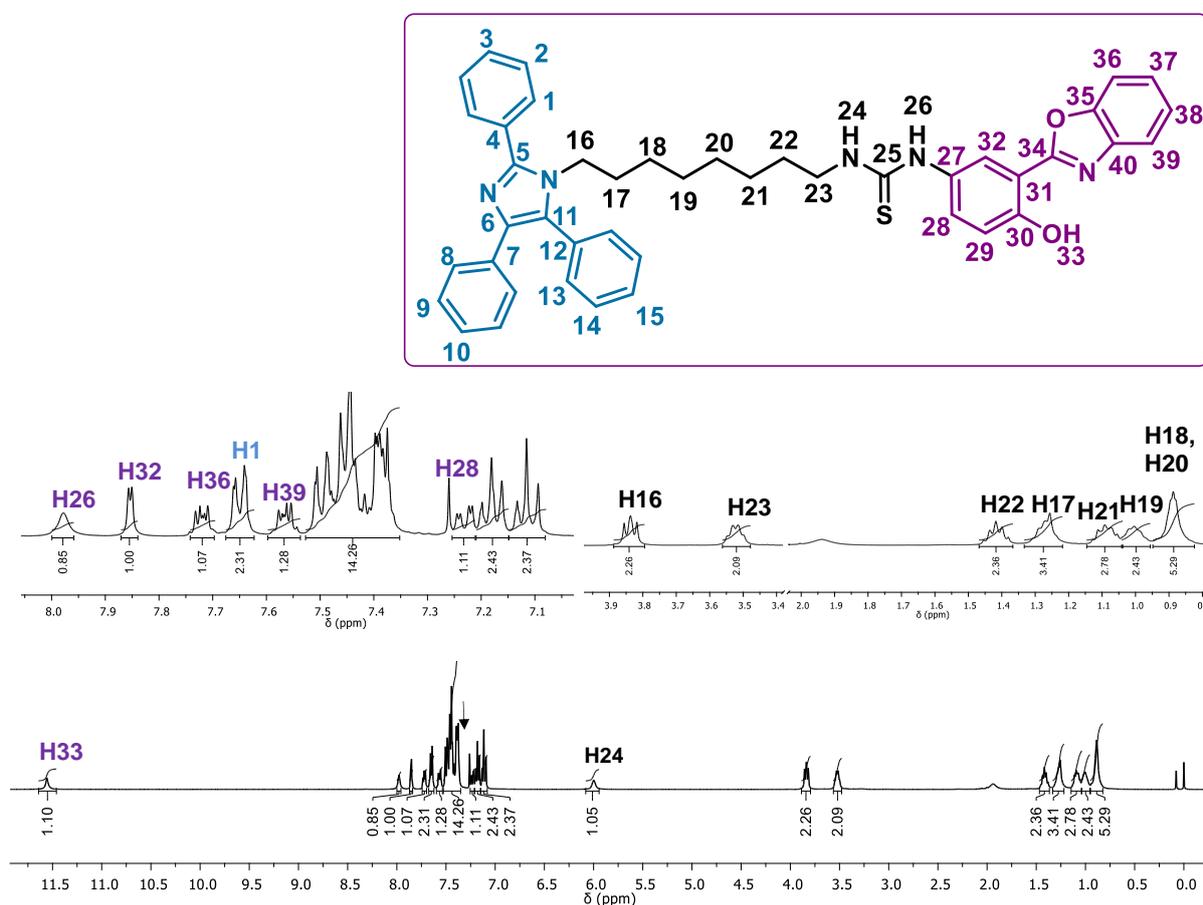
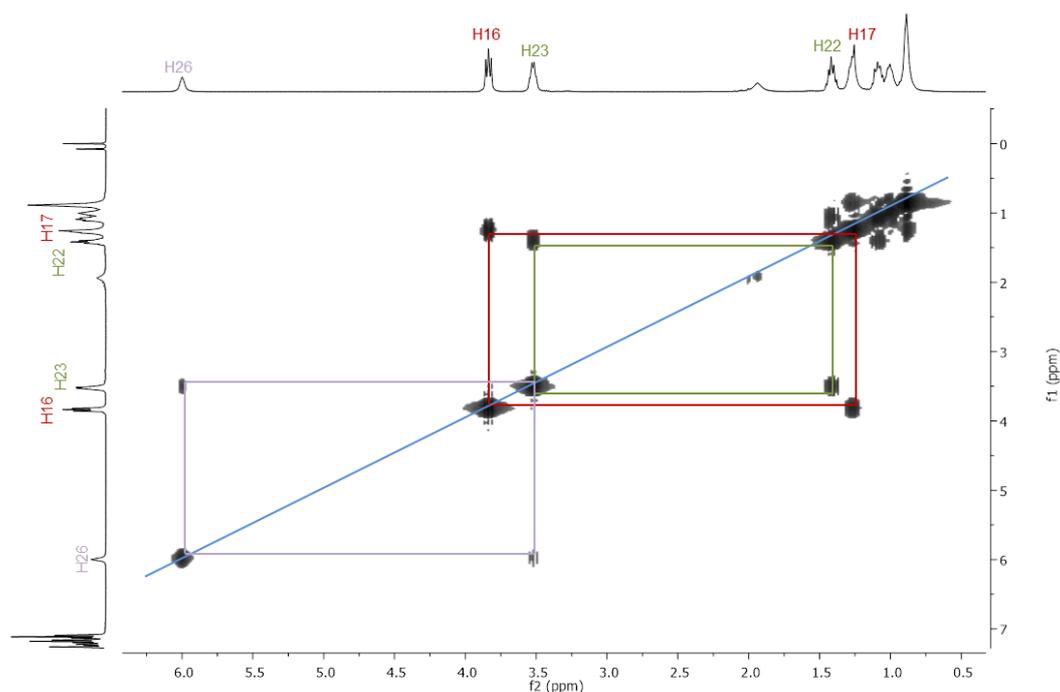


Figura 40: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37g**.

Os hidrogênios da porção aromática de **37g** apresentam sinais bem característicos dos núcleos ao qual pertencem, sendo atribuídos de acordo com a atribuição dos intermediários de origem. No caso dos hidrogênios da cadeia espaçadora, o espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY foi a ferramenta utilizada para a atribuição dos sinais (Figura 41). O sinal do H16, cujo deslocamento é bem conhecido, serviu de ponto de partida para determinar as correlações H16 – H17 e H22 – H23. Observa-se também a correlação entre o singlete largo em 5,99 ppm (H26) e o multipletto em 3,59 – 3,44 ppm (H23), que foi usada para a atribuição do NH ligado a cadeia espaçadora. Essa correlação corrobora a formação da tiourea e a ligação entre os dois núcleos.

Tabela 10: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H do composto **37g**.

δ (ppm)	Multiplicidade	J(Hz)	Nº de H	Atribuição
11,56	Simpleto largo	-	1	H33 (OH)
7,98	Simpleto	-	1	H26 (NH)
7,85	Dupleto	2,4	1	H32
7,75 – 7,70	Multipeto	-	1	H36
7,68 – 7,61	Multipeto	-	2	H1
7,59 – 7,54	Multipeto	-	1	H39
7,53 – 7,37	Multipeto	-	12	H2, H9-H15, H37, H38
7,23	Dupleto de dupleto	8,8 e 2,4	1	H28
7,22 – 7,16	Multipeto	-	2	H8
7,13 – 7,09	Multipeto	-	2	H3, H29
5,99	Simpleto largo	-	1	H24 (NH)
3,87	Tripleto	7,6	2	H16
3,59 – 3,44	Multipeto	-	2	H23
1,49 – 1,38	Multipeto	-	2	H22
1,28 – 1,20	Multipeto	-	2	H17
1,13 – 1,05	Multipeto	-	2	H21
1,02 – 0,94	Multipeto	-	2	H19
0,90 – 0,78	Multipeto	-	4	H18, H20

**Figura 41:** Espectro de RMN ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **37g**.

A formação do híbrido **37g** também foi confirmada por RMN de ^{13}C -APT (Figura 42). O principal sinal que evidencia a formação é o carbono da tionila em 181,5 ppm (C25). Os carbonos característicos do benzoxazol são observados em 131,9 (C28); 125,1 (C32); 119,5 (C36) e 110,7 ppm (C39). Do núcleo lofina se destacam o C5 em 147,7 ppm e o C1 em 129,2 ppm. Os oito carbonos da cadeia metilênica são observados em: 45,5 (C23); 44,6 (C16); 30,2 (C17); 28,9 (C22); 28,7 (C18 ou C20); 28,4 (C19); 26,6 (C21); e 25,9 ppm (C18 ou C20).

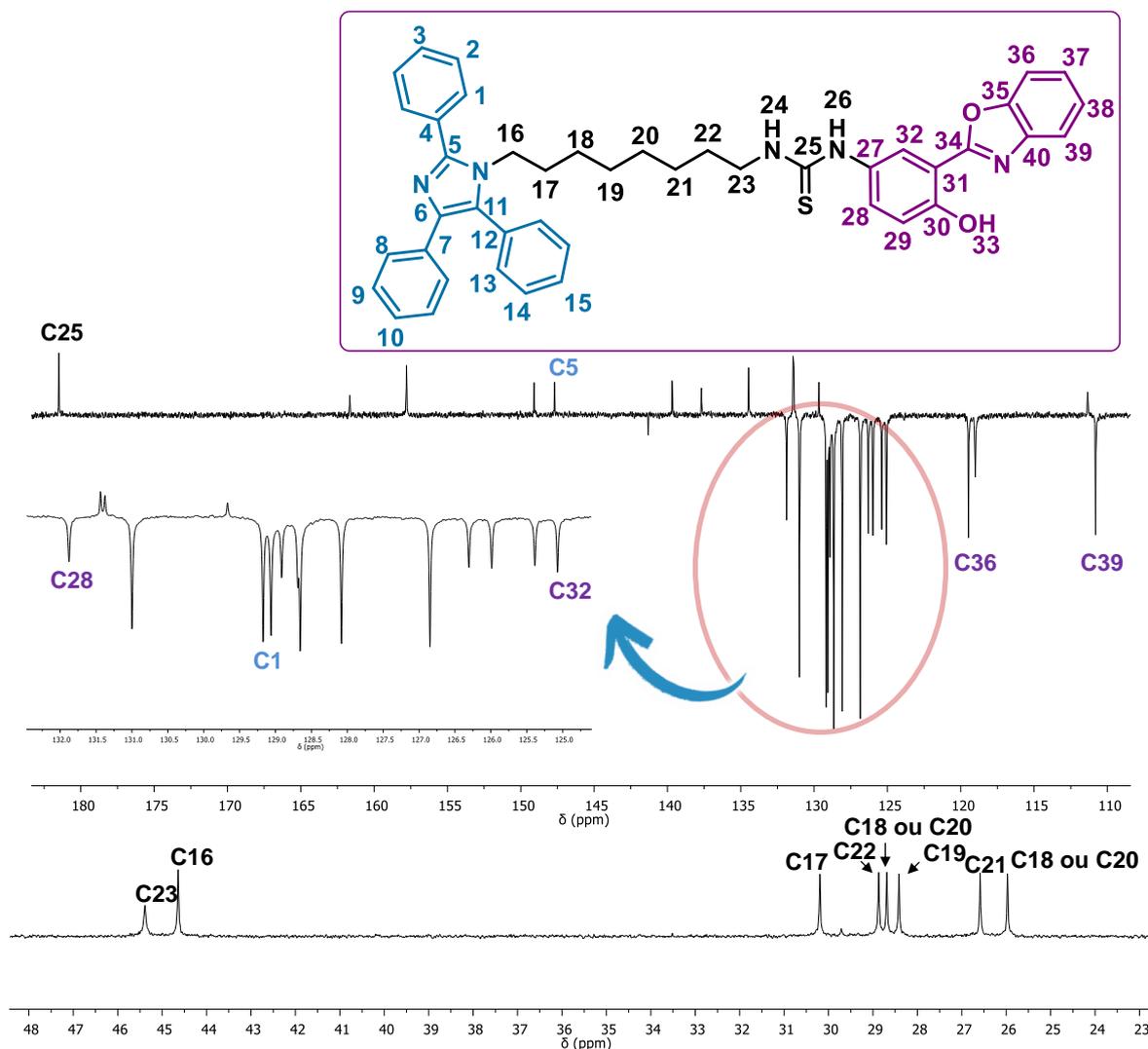


Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37g**.

A interpretação dos sinais do ^{13}C -APT foi realizada utilizando o espectro de RMN bidimensional heteronuclear ^1H - ^{13}C HSQC do composto **37g** (Figura 43), onde se verificam os seguintes acoplamentos carbono-hidrogênio: C16-H16; C23-H23; C22-H22; C17-H17; C21-H21; C19-H19; H18-C18 e H20-C20 (não foi possível identificar

exatamente qual sinal corresponde aos átomos em 18 ou 20). Na região dos sinais aromáticos foi possível determinar as seguintes correlações: C32-H32; C36-H36 e C39-H39; C1-H1 e C28-H28.

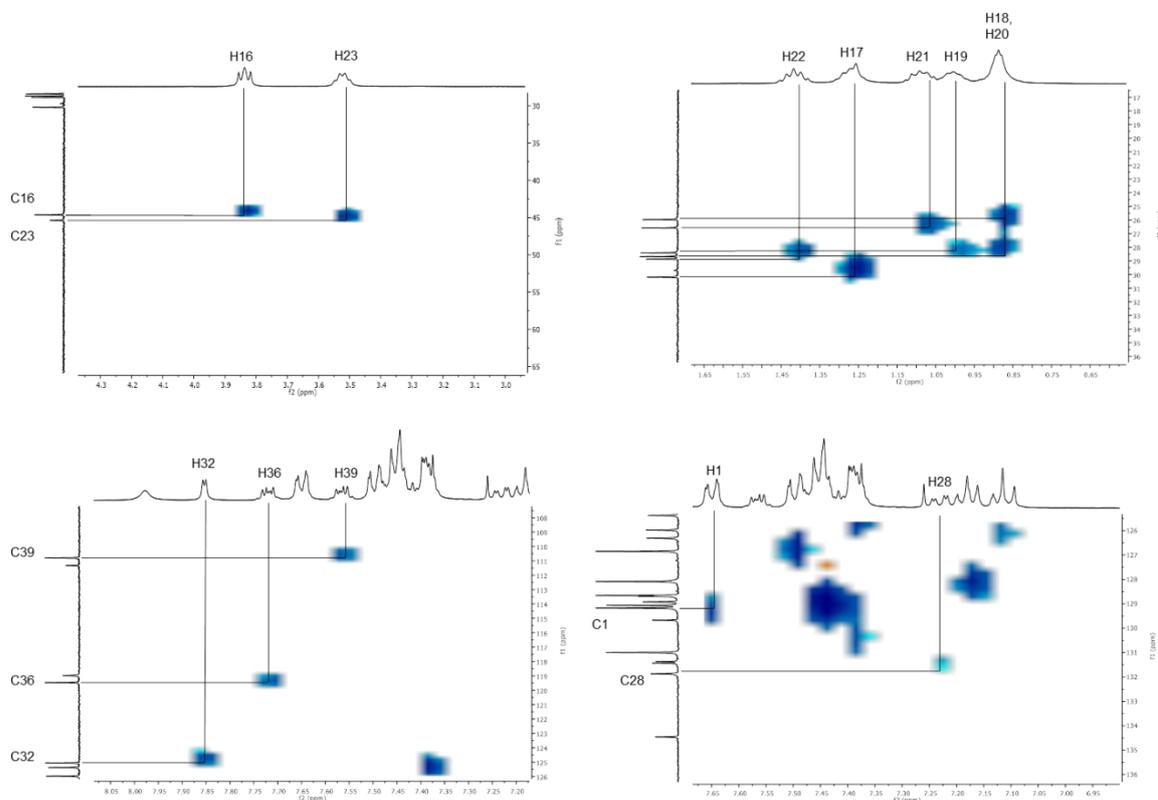


Figura 43: Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **37g**.

Os híbridos sintetizados **37a-n** foram avaliados quanto à capacidade de inibição das enzimas colinesterases. Dessa série de quatorze compostos, somente os híbridos **37c** e **37j** (híbridos com $n = 4$) apresentaram atividade de inibição para a BuChE. Nenhum composto foi ativo para a AChE. O IC_{50} ainda não foi determinado com precisão, mas os valores se encontram em torno de 400 nM para o composto **37c** e em torno de 100 nM para o composto **37j**.

4.4.1 Caracterização fotofísicas dos híbridos lofina-benzazol

A caracterização fotofísica dos híbridos **37a-n** foi realizada através das espectroscopias de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis) e de emissão de fluorescência (EF). Ambas as análises foram realizadas em solução com concentração dos compostos **37a-n** na ordem de 10^{-6} M, utilizando solventes de diferentes constantes dielétricas, a saber: diclorometano (9,1), metanol (32,6) e DMSO (46,7).

A Figura 44 apresenta os espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **37g** e **37h**. A absorção dos compostos se encontra na faixa entre 275-400 nm, onde duas bandas são observadas. Baseado nas propriedades eletrônicas dos núcleos lofina e benzazol isolados,^{5, 202} a banda intensa localizada em 280 nm pode ser relacionada à absorção da lofina, enquanto que a banda em 340 nm pode ser relacionada ao núcleo benzoxazol (350 nm para o núcleo benzotiazol). Não foram observadas diferenças significativas entre os espectros de absorção dos compostos **37a-g** e **37h-n**, indicando que a cadeia espaçadora não tem influência nas propriedades eletrônicas dos cromóforos presentes nas estruturas estudadas. Os espectros de absorção na região do UV-Vis dos demais compostos da série podem ser conferidos nas Figuras A70 e A71 em anexo. Com relação à variação do solvente, para os híbridos **37a-g** (Figura 44A) observa-se um pequeno deslocamento batocrômico em DMSO, cerca de 10 nm. Para os compostos **37h-n** (Figura 44B) não foram observadas diferenças significativas nos máximos de absorção, o que pode estar relacionado a um caráter de transferência de carga quase ausente no estado fundamental. Vale destacar que em DMSO os compostos **37h-n** apresentam uma absorção com deslocamento batocrômico acima de 400 nm. Essa banda é originada da forte interação do composto com DMSO. Cálculos teóricos estão sendo realizados, afim de melhor entender a estabilidade desses compostos em solução, onde resultados preliminares indicam que o DMSO tem a capacidade de abstração do hidrogênio da hidroxila do núcleo fenólico presente nestes compostos. Esse comportamento não foi observado para os híbridos **37a-g**, indicando que o heteroátomo apresenta um papel fundamental na estabilização dos diferentes confôrmeros presentes em solução.

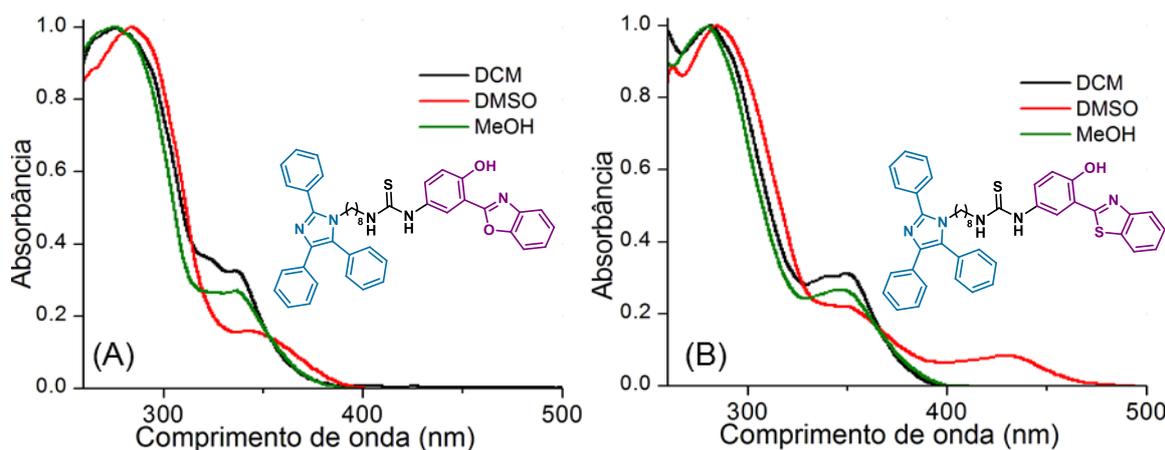


Figura 44: Espectro normalizado de absorção na região do UV-Vis dos compostos **37g** (A) e **37n** (B) nos diferentes solventes estudados.

As relações de Strickler-Berg podem ser aplicadas para compreender melhor as características fotofísicas dos compostos em solução, tendo em vista que permite estabelecer uma relação entre intensidade de absorção e o tempo de vida teórico de um fluoróforo. A partir dos espectros de absorção, os valores de ϵ e a constante de emissão radiativa (k_e^0) podem ser obtidos e relacionados com a força do oscilador responsável pela transição eletrônica (f_e), entendido como um oscilador harmônico monodimensional, que é um dipolo oscilante.^{98, 99} Os dados obtidos a partir da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis dos compostos **37a-n**, como o coeficiente de absorvidade molar (ϵ), a força do oscilador (f_e), a constante de emissão radiativa (k_e^0) e tempo de decaimento de fluorescência puramente radiativo (τ^0) nos três solventes estudados são apresentados nas Tabelas 11 e 12. A partir da relação entre intensidade de absorção e tempo de decaimento de fluorescência das moléculas pode-se obter a constante de emissão radiativa (k_e^0), bem como a força do oscilador (f_e) através das Equações 3 e 4, respectivamente.²⁰³ Nessas equações, a área sob a curva de absorção do gráfico do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) *versus* o número de onda ($\bar{\nu}$) pode ser relacionada às respectivas constantes de emissão radiativa (k_e^0) e força do oscilador (f_e). Ainda, o tempo de decaimento puramente radiativo (τ^0) pode ser definido como $1/k_e^0$.⁹⁸

$$k_e^0 \approx 2.88 \times 10^{-9} \bar{\nu}_0^2 \int \epsilon d\bar{\nu} \quad (3)$$

$$f_e \approx 4.3 \times 10^{-9} \int \epsilon d\bar{\nu} \quad (4)$$

onde $\int \epsilon d\bar{\nu}$ é a área sob a curva do gráfico ϵ ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$) vs. $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) e $\bar{\nu}_0$ é o número de onda do máximo de absorção.

A partir dos dados sumarizados nas Tabelas 11 e 12, observa-se que as bandas apresentam elevados valores para o ϵ ($\times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e para a k_e^0 constante de emissão radiativa (10^7 s^{-1}), indicando que são transições eletrônicas do tipo $^1\pi-\pi^*$, permitidas por simetria e *spin*. Adicionalmente, a magnitude do tempo de decaimento radiativo (τ^0) indica que após a absorção de radiação os derivados em estudo encontram-se no mesmo estado excitado.⁴

Tabela 11: Dados obtidos via espectroscopia de absorção na região do UV-vis para os híbridos **37a-g** obtidos dos espectros de absorção UV-vis, onde ϵ é a absorvidade molar ($10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), f_e é a força do oscilador, k_e^0 é a constante de emissão radiativa (10^7 s^{-1}), τ^0 é o tempo de decaimento radiativo (ns).

Composto	Solvente	λ_{abs}	ϵ	f_e	k_e^0	τ^0
37a	DCM	336	14,8	0,14	8,5	11,7
	DMSO	349	21,2	0,19	11,0	9,1
	MeOH	337	17,4	0,18	10,8	9,2
37b	DCM	335	10,6	0,12	7,1	14,0
	DMSO	346	5,4	0,08	4,9	20,1
	MeOH	336	7,2	0,09	5,1	19,3
37c	DCM	338	17,0	0,16	9,9	10,1
	DMSO	347	13,3	0,19	10,9	9,2
	MeOH	339	7,9	0,09	5,4	18,6
37d	DCM	336	11,5	0,12	6,9	14,5
	DMSO	349	9,5	0,15	8,7	11,5
	MeOH	337	13,9	0,16	9,3	10,7
37e	DCM	338	9,5	0,08	4,9	20,5
	DMSO	347	7,6	0,10	6,1	16,5
	MeOH	336	8,3	0,10	6,1	16,5
37f	DCM	337	11,3	0,11	6,5	15,3
	DMSO	348	6,9	0,09	5,4	18,3
	MeOH	335	12,1	0,14	8,1	12,4
37g	DCM	337	14,3	0,20	12,1	8,2
	DMSO	350	4,3	0,08	4,5	22,2
	MeOH	336	9,4	0,16	9,4	10,7

Tabela 12: Dados obtidos via espectroscopia de absorção na região do UV-vis para os híbridos **37h-n** obtidos dos espectros de absorção UV-vis, onde ϵ é a absorvidade molar ($10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), f_e é a força do oscilador, k_e^0 é a constante de emissão radiativa (10^7 s^{-1}), τ^0 é o tempo de decaimento radiativo (ns).

Composto	Solvente	λ_{abs}	ϵ	f_e	k_e^0	τ^0
37h	DCM	352	10,6	0.11	6.18	16,2
	DMSO	351	6,3	0.09	5.24	19,1
	MeOH	352	7,8	0.11	6.35	15,8
37i	DCM	351	9,9	0,12	6,7	14,9
	DMSO	350	10,6	0,13	7,0	14,2
	MeOH	347	11,0	0,16	9,3	10,7
37j	DCM	350	15,0	0,16	9,0	11,1
	DMSO	351	8,0	0,11	6,1	16,3
	MeOH	349	9,3	0,11	6,1	16,3
37k	DCM	349	9,2	0,10	5,5	18,2
	DMSO	431	16,1	0,21	7,5	13,3
	MeOH	349	10,2	0,11	5,9	16,9
37l	DCM	352	9,3	0,09	5,2	19,4
	DMSO	354	8,2	0,10	5,6	17,9
	MeOH	347	11,1	0,17	9,6	10,4
37m	DCM	353	8,9	0,10	5,4	18,5
	DMSO	351	11,2	0,11	4,1	24,3
	MeOH	432	10,8	0,14	7,6	13,2
37n	DCM	350	9.10	0.10	5.24	19,1
	DMSO	350	9.36	0.14	7.63	13,1
	MeOH	350	8.01	0.11	6.35	15,7

Os espectros de emissão de fluorescência dos compostos **37a-g** foram obtidos utilizando dois comprimentos de onda de excitação, 300 nm referente à absorção da lofina⁵ e 330 nm referente à absorção do benzoxazol.²⁰² Esta abordagem foi realizada a fim de melhor entender a influência de cada núcleo nas propriedades do estado excitados dos híbridos estudados. Vale destacar que, o benzoxazol também tem uma absorção em 300 nm, referente à transição $S_0 \rightarrow S_2$. Diferente do observado para os espectros de absorção na região do UV-Vis, que não apresentaram diferença nos seus formatos e posição dos máximos, os espectros de fluorescência apresentaram

resultados interessantes baseados na polaridade do solvente devido ao processo de ESIPT. Analisando o espectro de **37g** nos diferentes solventes, quando excitado em 300 nm (Figura 45A), observa-se uma dupla emissão de fluorescência, referentes às emissões da lofina (~380 nm) e da forma ceto (emissão ESIPT, ~530 nm). Em DMSO, devido a forte interação desses compostos com o solvente, ocorre um deslocamento hipsocrômico para 480 nm da banda da forma ceto. Vale destacar que a emissão em 380 nm pode ter uma contribuição da forma enol do benzoxazol, uma vez que, essa espécie emite nessa região do espectro. Entretanto, no espectro obtido com excitação em 330 nm (Figura 45B), observa-se majoritariamente a emissão da forma ceto, indicando que essa é a espécie favorecida nesses solventes. Não é observado emissão do núcleo lofina, uma vez que a absorção da lofina em 330 nm é desprezível.⁵ Dessa forma, a forma enol não é favorecida nesses solventes, e a emissão em 380 nm é proveniente majoritariamente do núcleo lofina. Por fim, a emissão observada quando utilizado excitação em 330 nm é responsável pela cor observada na foto tirada sob lâmpada UV de 365 nm da Figura 45C. Os espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **37a-f** podem ser conferidos nas Figuras A72 e A73 em anexo.

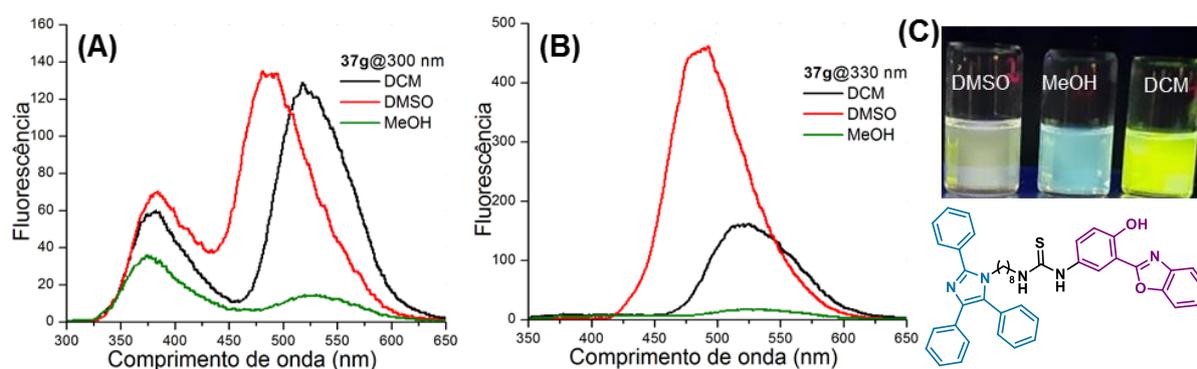


Figura 45: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37g** (A) $\lambda_{exc} = 300$ nm; (B) $\lambda_{exc} = 330$ nm. (C) Foto do composto em solução nos solventes estudados em 365 nm.

Com relação à cadeia metilênica, diferentemente do observado no estado fundamental, observa-se a sua influencia na razão entre as intensidades das emissões em 380/530 nm, como pode ser observado no espectro dos compostos em DCM (Figura 46A). Observa-se que um aumento do tamanho da cadeia espaçadora ocasiona um aumento da intensidade de emissão da lofina. Esse resultado indica que nos híbridos com cadeias espaçadores menores, pode estar ocorrendo uma transferência de energia

do núcleo lofina para o núcleo benzoxazol, ocasionando uma diminuição da emissão da lofina. Dessa forma, estudos adicionais de fluorescência resolvida no tempo serão realizados a fim de melhor entender os processos que estão ocorrendo no estado excitado. Esse comportamento é observado também em DMSO, onde ocorre um aumento da emissão da lofina em cadeias espaçadoras maiores (Figura 46B). Em MeOH, não foi observado esse comportamento (Figura 46C). Por fim, observa-se que, quando utilizado 330 nm como comprimento de onda de excitação, não há influência significativa da cadeia espaçadora nos espectros de emissão dos compostos em DCM e DMSO. (Figura 46D-E). Em MeOH, observa-se, em alguns compostos, o aparecimento da emissão da forma enol em 380 nm, indicando que, em alguns compostos, as formas enol e ceto coexistem no estado excitado (Figura 46F).

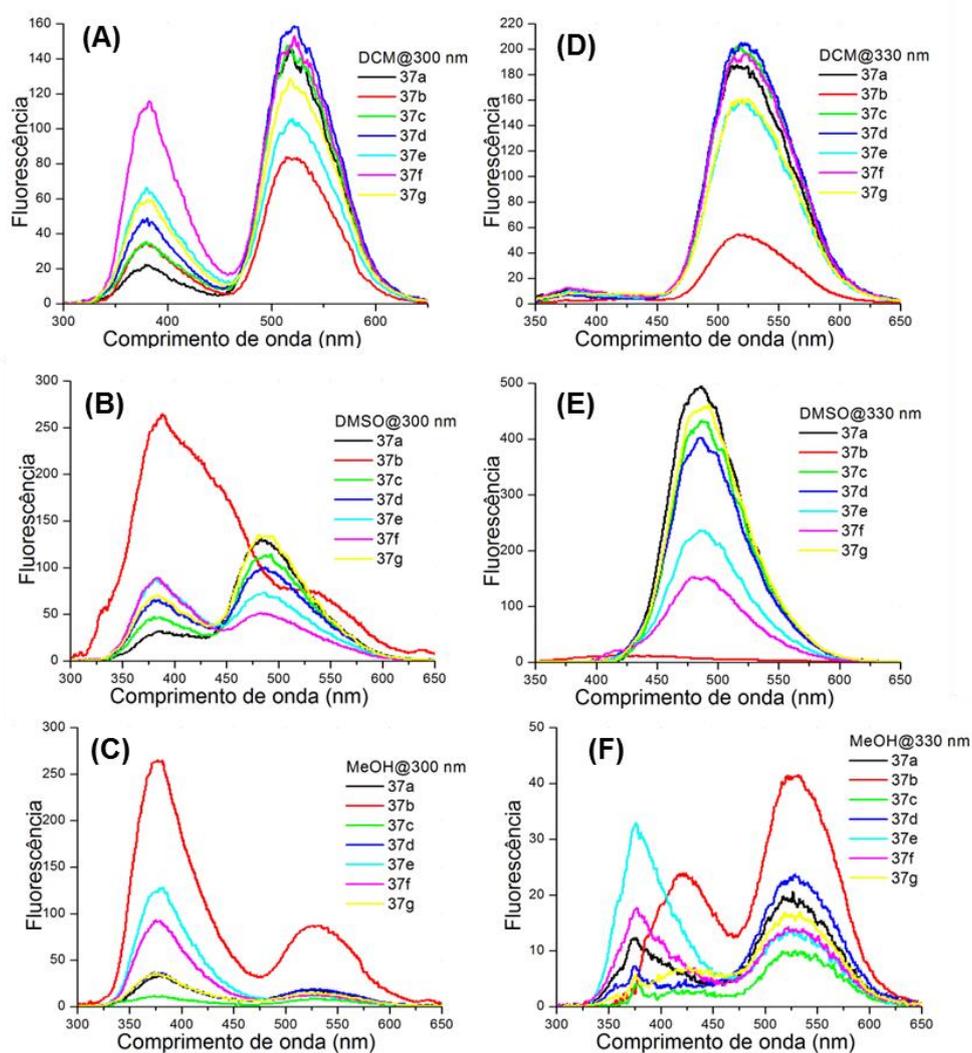


Figura 46: Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **37a-g** em: (A) Diclorometano ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (B) Diclorometano ($\lambda_{exc} = 330$ nm) (C) DMSO ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (D) DMSO ($\lambda_{exc} = 330$ nm); (E) MeOH ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (F) MeOH ($\lambda_{exc} = 330$ nm).

Os espectros de emissão dos derivados do benzotiazol **37h-n** também foram obtidos em dois comprimentos de onda de excitação, 300 nm referente à absorção da lofina⁵ e 350 nm referente à absorção do benzotiazol.²⁰² Analisando o espectro obtido em 300 nm em DCM do composto **37n** (Figura 47A), observa-se a emissão proveniente da lofina em 380 nm e da forma ceto do benzotiazol em 550 nm. Assim como para os compostos **37a-g**, a emissão em 380 nm de **37n** pode ter contribuição da forma enol do benzotiazol, uma vez que, essa espécie emite nessa região do espectro. Entretanto, quando analisado o espectro de emissão em 350 nm (Figura 47B), onde a absorção da lofina pode ser considerada desprezível,⁵ observa-se uma pequena emissão em 380 nm e uma emissão mais intensa em 550 nm. Dessa forma, pode-se concluir que em DCM a forma enol não é favorecida, e que a emissão em 380 nm é proveniente majoritariamente do núcleo lofina. Como observado no espectro de absorção na região do UV-Vis, o composto **37n** apresentou um comportamento peculiar em DMSO, devido a forte interação do benzotiazol com o solvente. No espectro de emissão de fluorescência em 300 nm (Figura 47A), essa interação se caracteriza pelo aparecimento de uma banda de emissão em 450 nm, além da banda de emissão da lofina em 380 nm. Em 350 nm (Figura 47B), somente a banda de emissão em 450 nm é observada. Por fim, em MeOH, não há emissão da forma ceto, indicando que o processo de ES IPT não é favorecido nesse solvente. Dessa forma, em 300 nm, observa-se a emissão da lofina em 380 nm e também um ombro em aproximadamente 475 nm, que surge da interação do benzotiazol com o MeOH, similar ao observado em DMSO. Em 350 nm, somente a banda em 475 nm é observada. A emissão observada nos espectro com excitação em 350 nm é responsável pela cor observada na foto tirada sob lâmpada UV de 365 nm da Figura 47C. Os espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **37h-m** podem ser conferidos nas Figuras A74 e A75 em anexo.

Com relação à cadeia metilênica dos compostos **37h-n**, observa-se uma diferença nos espectros de emissão em DCM (Figura 48A). Nos compostos de cadeias de 2 e 3 metilenos, a emissão da forma ceto é majoritária, enquanto que a emissão da lofina é menos intensa. Nos compostos com cadeias maiores, a emissão da lofina se torna mais intensa. Esse comportamento indica que pode estar havendo transferência de energia da lofina para o benzotiazol nos compostos com cadeias espaçadora de 2 e 3 metilenos. Esse comportamento não foi observado em DMSO e MeOH, indicando que a cadeia espaçadora não influencia na fotofísica desses compostos nesses solventes. (Figura 48B-C). Por fim, observa-se que, quando utilizado 350 nm como comprimento de onda de excitação, não há influência significativa da cadeia espaçadora nos espectros de emissão dos compostos. (Figura 48D-F).

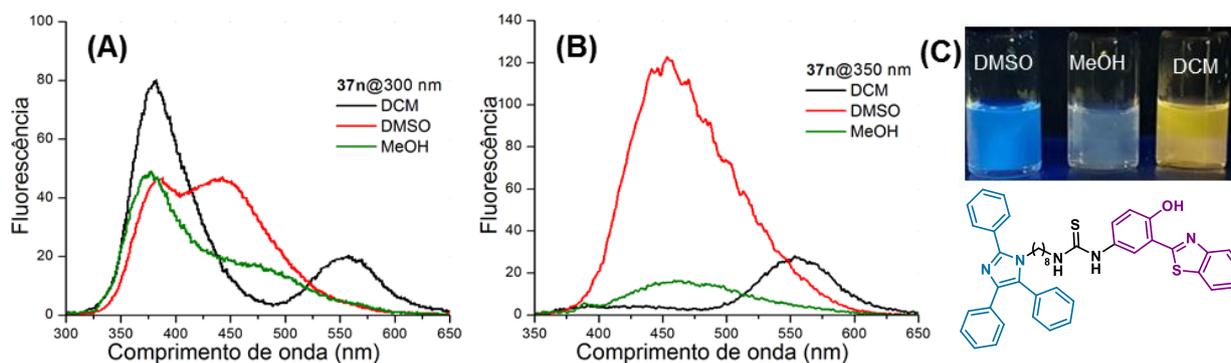


Figura 47: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37n** (A) $\lambda_{exc} = 300$ nm; (B) $\lambda_{exc} = 330$ nm. (C) Foto do composto em solução nos solventes estudados em 365 nm.

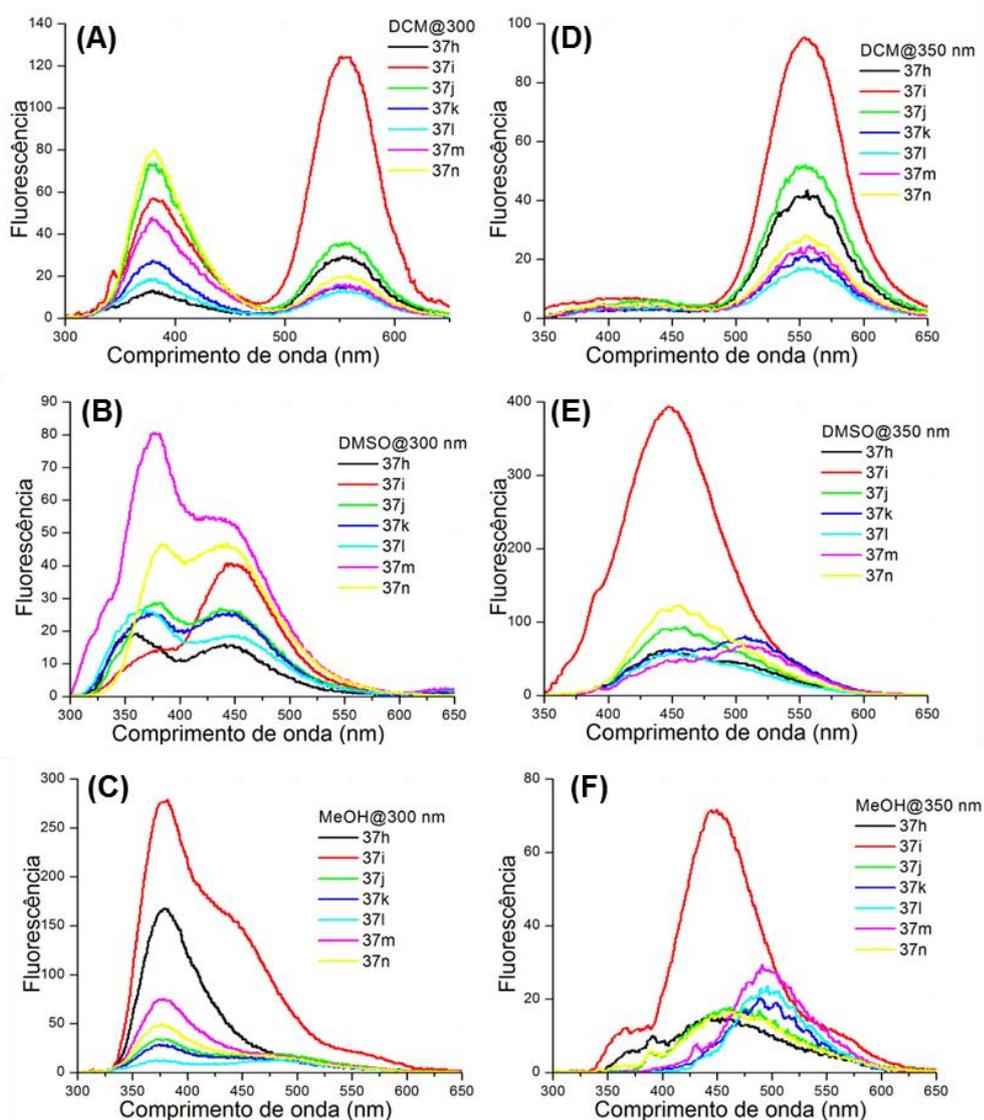


Figura 48: Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **37h-n** em: (A) Diclorometano ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (B) Diclorometano ($\lambda_{exc} = 330$ nm) (C) DMSO ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (D) DMSO ($\lambda_{exc} = 330$ nm); (E) MeOH ($\lambda_{exc} = 300$ nm); (F) MeOH ($\lambda_{exc} = 330$ nm).

Os dados referentes à análise de emissão de fluorescência para cada composto nos três solventes estudados são apresentados nas Tabelas 13 e 14, onde são apresentados os valores calculados para o deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$) e rendimento quântico de fluorescência (Φ_f). Cabe salientar que os compostos que apresentam dupla emissão de fluorescência, apresentarão consequentemente dois deslocamentos de Stokes, devido as diferentes formas presentes no estado excitado. Os grandes valores de deslocamento de Stokes obtidos para a forma ceto estão de acordo com o processo de ESIPT ($\sim 10000\text{ cm}^{-1}$).²⁰⁴ Os rendimentos quânticos apresentaram valores entre 0,4-7%, sendo os maiores valores para os derivados do benzotiazol em DMSO. Embora baixos, os valores também estão de acordo com o esperado para compostos que emitem via processo de ESIPT.²⁰⁵

Tabela 13: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência dos híbridos **37a-g**, onde λ_{abs} e λ_{em} são os máximos de absorção e de emissão, respectivamente (nm), $\Delta\lambda_{ST}$ é o deslocamento de Stokes (cm^{-1}) e Φ_f é o rendimento quântico de fluorescência (%).

Composto	Solvente	λ_{abs}	λ_{em1}	λ_{em2}	$\Delta\lambda_{ST1}$	$\Delta\lambda_{ST2}$	Φ_f
37a	DCM	336	380	518	3446	10456	2,54
	DMSO	349	382	484	2475	7992	1,39
	MeOH	337	378	529	3218	10770	0,68
37b	DCM	335	378	519	3395	10582	2,33
	DMSO	346	388	485	3128	9817	1,52
	MeOH	336	377	530	3236	10894	0,70
37c	DCM	338	378	517	3130	10243	1,98
	DMSO	347	382	487	2640	8284	1,49
	MeOH	339	379	531	3113	10666	0,80
37d	DCM	336	377	519	3236	10494	2,53
	DMSO	349	381	486	2406	8077	1,31
	MeOH	337	376	529	3077	10770	0,57
37e	DCM	338	379	521	3200	10391	1,55
	DMSO	347	381	487	2571	8326	1,84
	MeOH	336	379	529	3376	10858	2,08
37f	DCM	337	380	521	3357	10479	3,66
	DMSO	348	382	487	2557	8201	1,50
	MeOH	335	376	529	3255	10947	1,35
37g	DCM	337	378	517	3218	10331	2,25
	DMSO	350	382	486	2393	7995	3,60
	MeOH	336	377	527	3236	10786	1,01

Tabela 14: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência dos híbridos **37h-n**, onde λ_{abs} e λ_{em} são os máximos de absorção e de emissão, respectivamente (nm), $\Delta\lambda_{ST}$ é o deslocamento de Stokes (cm^{-1}) e Φ_f é o rendimento quântico de fluorescência (%).

Composto	Solvente	λ_{abs}	λ_{em1}	λ_{em2}	$\Delta\lambda_{ST1}$	$\Delta\lambda_{ST2}$	Φ_f
37h	DCM	352	380	556	2093	10424	0.43
	DMSO	351	355	442	321	5866	2.07
	MeOH	352	378	-	1954	-	1.75
37i	DCM	351	380	555	2174	10472	1,05
	DMSO	350	376	447	1975	6200	3,42
	MeOH	347	376	-	2222	-	0,77
37j	DCM	350	377	555	2046	10553	0,94
	DMSO	351	377	447	1964	6200	3,18
	MeOH	349	376	-	2057	-	0,78
37k	DCM	349	379	555	2268	10635	1,08
	DMSO	431	374	443	3536	6280	7,11
	MeOH	349	377	475	2128	7600	0,78
37l	DCM	352	378	554	1954	10325	1,02
	DMSO	354	368	449	1074	5976	3,95
	MeOH	347	377	475	2293	7765	0,76
37m	DCM	353	379	554	1943	10278	0,65
	DMSO	351	376	443	1894	5916	6,13
	MeOH	350	377	471	3377	7340	1,12
37n	DCM	350	380	556	2255	10586	1.23
	DMSO	350	383	441	2461	5896	3.13
	MeOH	350	376	471	1975	7340	0.85

Baseado nesse comportamento fotofísico, a emissão de fluorescência dos compostos **37h** e **37n** foi investigada em diferentes proporções de DCM:DMSO (v/v, Figura 49A-B). Em DCM com excitação de 350 nm, uma emissão dual em ambos os compostos referente às espécies enol e ceto pode ser observado. Com o incremento da concentração de DMSO, esta emissão permanece até cerca de 30% DMSO, com a emissão enol sendo a mais favorecida, com um pequeno deslocamento para o vermelho. A partir dos 30% DMSO, a interação com o DMSO começa a predominar, apresentando uma banda alargada localizada em 450 nm. Conforme já abordado nesta Tese, em DMSO acredita-se ocorrer à formação de uma espécie desprotonada (fenolato), influenciando as propriedades fotofísicas observadas em concentrações de

DMSO acima de 30%. Como mostrado na Figura 49C, a solução dos compostos estudados em DCM:DMSO são incolores na luz normal, não apresentando absorção na região do visível. Entretanto, em DMSO puro, a solução passa a ter uma coloração amarelada devido à forte interação DMSO/híbrido. Por fim, observa-se que a emissão de fluorescência pode ser modulada de acordo com a composição da mistura de solvente, obtendo soluções com emissão de diferentes cores (Figura 49D). Como mostrado na foto em 365 nm, pode-se obter soluções que emitem na região do amarelo/laranja, roxo e azul, utilizando uma simples mistura de solventes. Embora essa emissão multicolorida já seja reportada na literatura para compostos com ESIPT, essa foi a primeira vez que a emissão no roxo foi obtida para esse tipo de composto usando uma simples mistura de solventes, obtida com uma proporção de DCM:DMSO 1:1 (v/v).

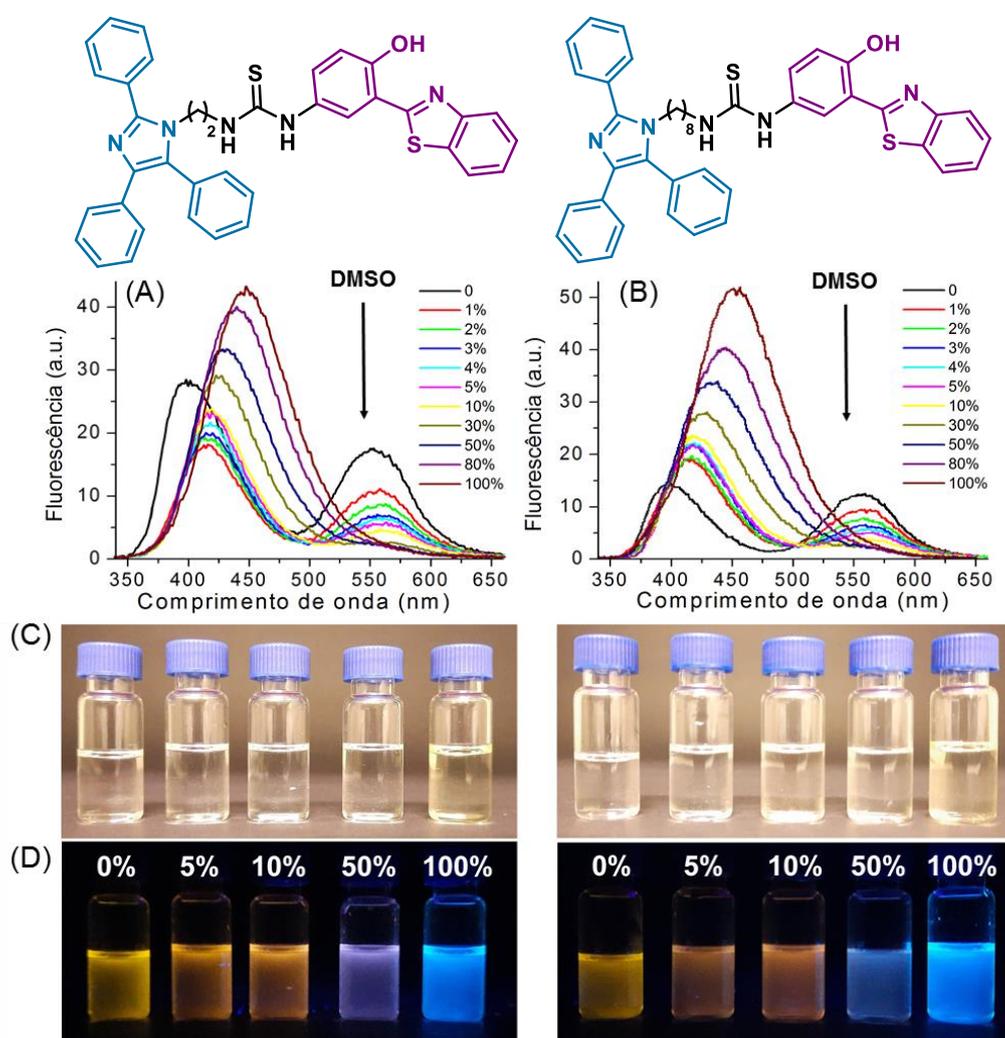


Figura 49: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 37h (A) e 37n (B) em misturas de DCM:DMSO. Imagens das misturas em luz normal (C) e luz UV 365 nm (D).

Para melhor compreender o comportamento destes compostos no estado excitado nas misturas DCM:DMSO, a técnica de fluorescência resolvida no tempo foi utilizada com $\lambda_{exc} = 340$ nm (Figura 50). Esta técnica relaciona a intensidade de fluorescência em razão do tempo. A equação da curva obtida vai fornecer o tempo de vida de fluorescência, que é o tempo médio que os fluoróforos permanecem no estado excitado, antes de descaírem emitindo luz. Os dados relevantes deste estudo estão descritos na Tabela 15. Os resultados mostram que todos os decaimentos obtidos puderam ser ajustados a partir de duas exponenciais, indicando que duas espécies são responsáveis pela emissão de fluorescência observada, dependendo do solvente. Para os compostos **37h** e **37n**, valores em torno de 0,2 e 2,0 ns podem ser obtidos para as misturas na faixa de 0-10% de DMSO. Para ambos os híbridos, o tempo de vida de fluorescência mais longo pode ser atribuído à forma enol e o decaimento mais rápido a forma ceto. Além disso, quando ocorre essa emissão dual, a maior contribuição para o tempo de vida de fluorescência é da forma ceto (~90%). Para realizar essa atribuição dos tempos de vida, experimentos de fluorescência resolvida no tempo utilizando um filtro de 475 nm foram realizados. Utilizou-se como modelo o composto **37h** em proporções de 0-10% DMSO. Utilizando esse filtro em 475 nm somente a emissão da forma ceto é observada e foi obtido um tempo de vida de em torno de 0,2 ns. Em misturas com porcentagem de DMSO acima de 50%, o ajuste biexponencial também foi utilizado. Nessas misturas, a forma enol e a forma proveniente da interação DMSO/híbrido estão presentes com tempos de vida por volta de 0,2 ns e 1,7 ns, respectivamente.

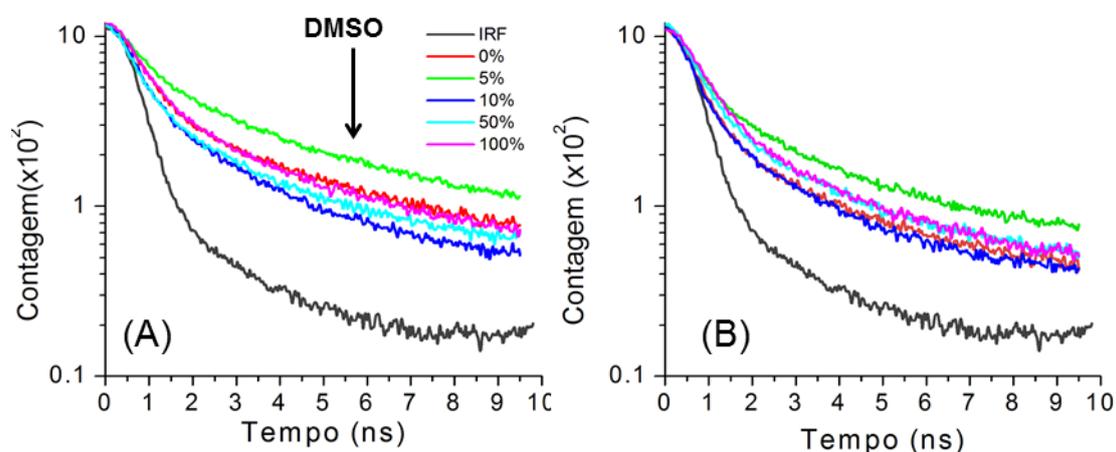


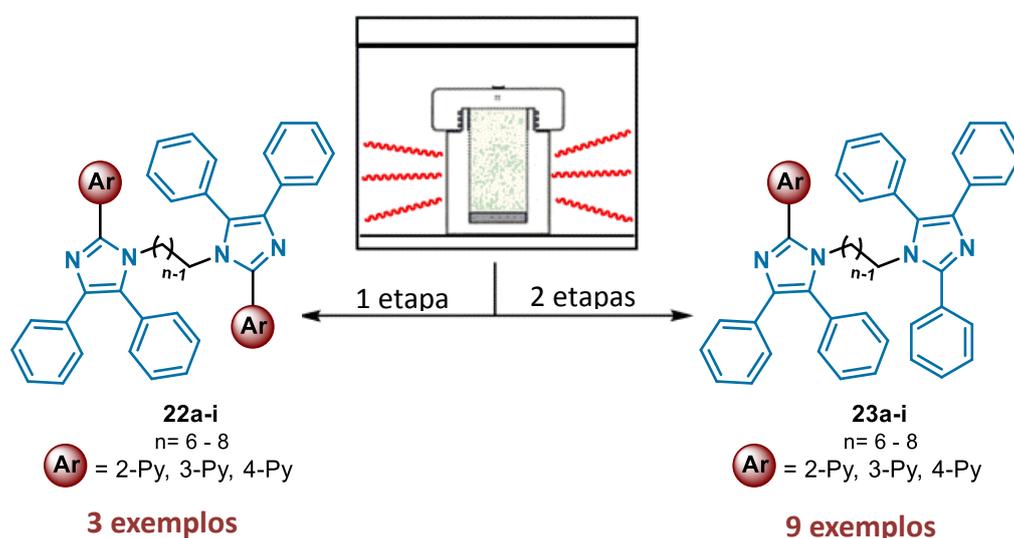
Figura 50: Perfil de decaimento de fluorescência ($\lambda_{exc} = 340$ nm) para os híbridos **37h** (A) e **37n** (B) em diferentes proporções DCM:DMSO (v/v). IRF = instrument response factor.

Tabela 15: Dados obtidos via espectroscopia de emissão de fluorescência resolvida no tempo para os híbridos **37h** e **37n** em soluções de diferentes proporções de DCM:DMSO (v/v), utilizando 340 nm como comprimento de onda de excitação, onde τ é o tempo de vida de fluorescência experimental (ns), A é o fator pré-exponencial e χ^2 indica a qualidade do ajuste exponencial.

Composto	Proporção (%)	τ_1 (ns)	A ₁ (%)	τ_2 (ns)	A ₂ (%)	χ^2
37h	0	2.40	0.2727 (8.905)	0.29	2.79 (91.09)	1.030
	5	2.28	0.4715 (11.92)	0.19	3.485 (88.08)	0.968
	10	1.62	0.3581 (6.332)	0.16	5.297 (93.67)	0.966
	50	0.15	5.457 (94.37)	1.73	0.3257 (5.631)	1.014
	100	0.238	3.287 (89.35)	1.75	0.3919 (10.65)	1.176
37n	0	1.88	0.2025 (5.346)	0.23	3.585 (94.65)	1.089
	5	1.99	0.3434 (5.839)	0.14	5.538 (94.16)	1.052
	10	1.52	0.2736 (3.745)	0.12	7.032 (96.25)	1.025
	50	0.21	3.763 (92.58)	1.68	0.3015 (7.418)	1.148
	100	0.34	2.36 (89.69)	1.88	0.2714 (10.31)	1.051

5 Considerações Finais

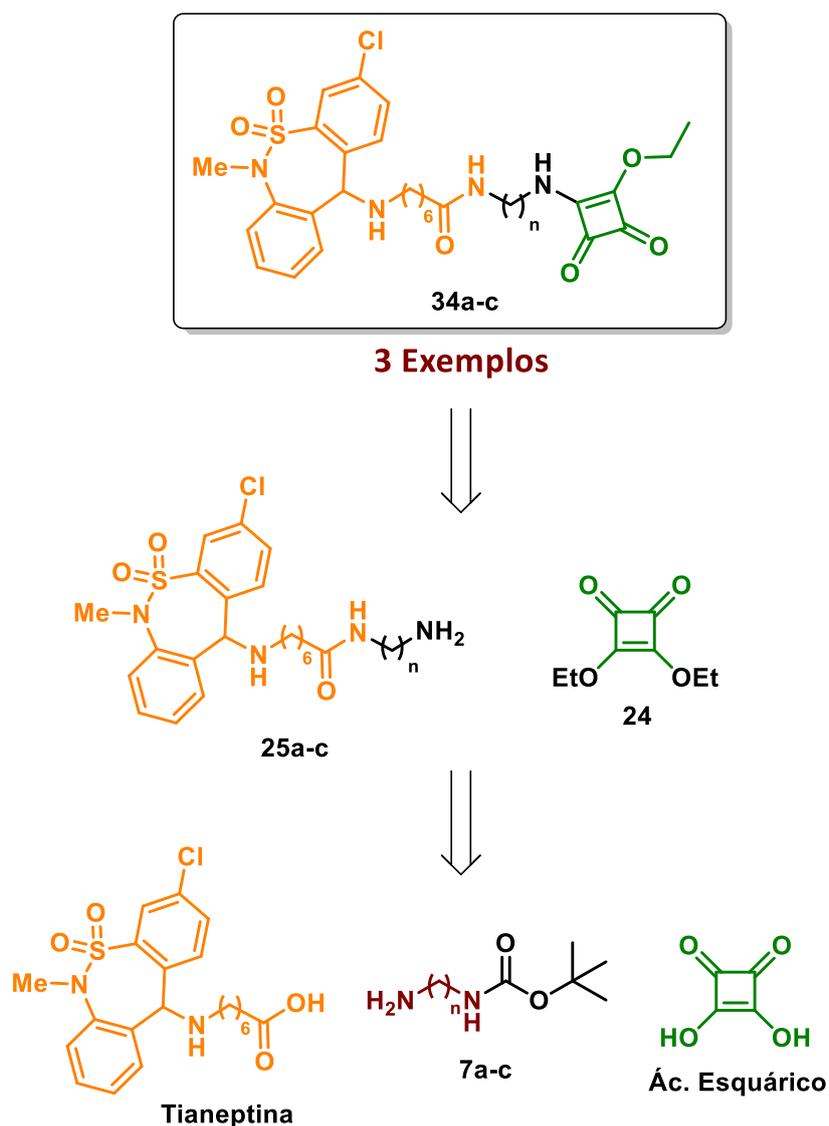
Nesse trabalho foram planejadas e sintetizadas três séries de compostos para atuarem como inibidores das enzimas colinesterases. Foram sintetizados doze dímeros análogos da bis(n)-lofina com rendimentos entre 23 e 49%, através de reações multicomponente utilizando aquecimento por micro-ondas (Esquema 30). Os dímeros foram testados para inibição das colinesterases *in vitro*, utilizando a AChE do peixe *electrophorus electricus* e a BuChE do soro de cavalo. Os dímeros foram altamente seletivos para a BuChE (IC₅₀: 32,25 – 0,03 μM), uma vez que nenhum apresentou atividade para a AChE na concentração de 50 μM. A citotoxicidade em modelos *in vitro* dos dímeros **23b** e **23h** foi avaliada contra células modelos de VERO (células do rim), HepG2 (células hepáticas) e C6 (astroglia). Os compostos não apresentaram efeitos citotóxicos em todas as linhagens celulares na concentração testada (125 μM), sugerindo que os compostos apresentam um bom grau de segurança para uso. Também, realizou-se o estudo de *docking* molecular desses compostos, que mostraram que os dímeros interagem simultaneamente no CAS e no PAS da BuChE. Os resultados das análises biológicas combinado com a simplicidade sintética desses dímeros fazem com que esses compostos sejam excelentes candidatos para aplicação *in vivo*.



Esquema 30: Dímeros análogos da bis(n)-lofina.

Três híbridos tianeptina-monoesquaramida também foram sintetizados (Esquema 31). Para a síntese desses híbridos, desenvolveu-se uma rota sintética para a síntese dos intermediários *N*-alquilaminotianeptina. A etapa chave da síntese dos intermediários foi a reação de acoplamento entre a tianeptina e a 1,*n*-alcanodiamina protegida, onde

foram obtidos os produtos com bons rendimentos (65 – 92%). Os híbridos tianeptina-monoesquaramida foram obtidos a partir da reação de substituição nucleofílica do tipo ipso entre o dietilesquarato e as *N*-alquilaminotianeptina com bons rendimentos (43-78%). Os compostos ainda não foram enviados para análise biológica e modificações estruturais nos híbridos finais podem ser realizadas, aumentando assim a biblioteca de compostos.



Esquema 31: Híbridos tianeptina-monoesquaramida.

Por fim, foram sintetizados quatorze híbridos lofina-benzazol (Figura 51), através da reação entre a *N*-alquilaminolofina e o 2-(5'-isotiocianato-2'-hidroxifenil)benzazol (rendimento 66 – 95%). Dessa série apenas os híbridos com cadeia espaçadora de quatro metilenos **37c** e **37j** inibiram a BuChE com valores de IC₅₀ de 400 e 100 nM,

respectivamente. Realizou-se a caracterização fotofísica de todos os híbridos lofina-benzazol sintetizados através de espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e de emissão de fluorescência em solução. Os híbridos apresentaram duas bandas de emissão de fluorescência, provenientes do núcleo lofina (~380 nm) e da forma ceto do benzazol (520-550 nm). A cadeia espaçadora tem influência na emissão de fluorescência desses compostos, principalmente em DCM, com indicativo de que está ocorrendo transferência de energia do núcleo lofina para o núcleo benzazol. Adicionalmente, a emissão de fluorescência desses compostos pode ser ajustada utilizando uma mistura binária de DCM:DMSO, através de um efeito simultâneo de solvatocromismo e emissão ratiométricas, obtendo emissões de diversas cores, indo do laranja ao azul. Por fim, esses híbridos são promissores compostos para aplicação como sensores ópticos em solução, assim como na aplicação como OLEDs e como agentes em bioimageamento.



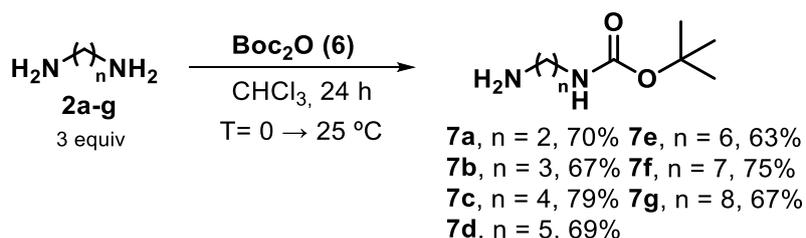
Figura 51: Híbridos lofina-benzazol.

6 Procedimento Experimental

6.1 Materiais e Métodos

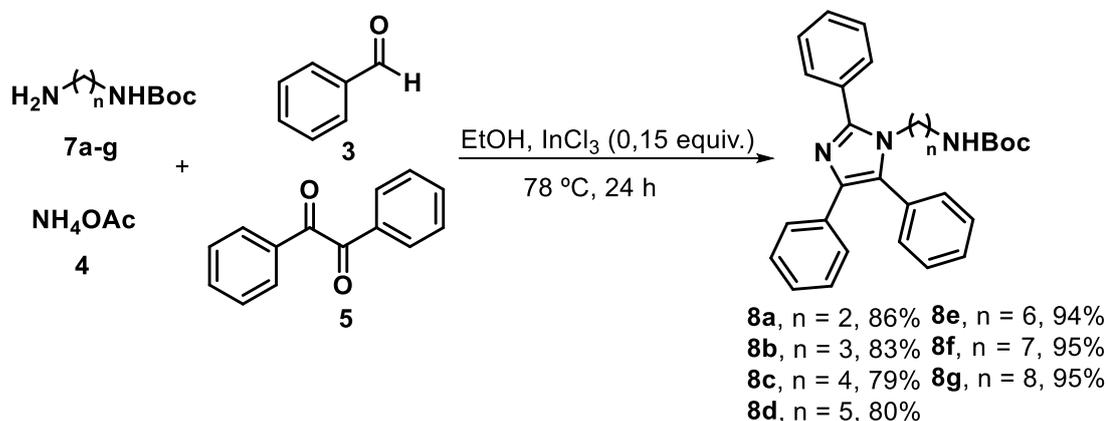
Os pontos de fusão foram determinados em tubos capilares de vidro abertos em um equipamento Büchi M-565. Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro Varian 640-IR em pastilhas de KBr ou no composto puro. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C -APT foram obtidos no espectrômetro Varian VNMR5 modelo INOVA, 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, e no espectrômetro Bruker BioSpin, 400 MHz e 100 MHz, respectivamente. Os deslocamentos químicos (δ) são dados em partes por milhão (ppm) a partir do sinal do tetrametilsilano ($\delta = 0,00$ ppm) como padrão interno para o RMN de ^1H ou a partir do sinal do solvente, CDCl_3 ($\delta = 77,00$ ppm) ou DMSO-d_6 (39,51 ppm) para o RMN de ^{13}C -APT; as multiplicidades são dadas como s (simpleto), d (duplete), dd (duplete de dublete), t (triplete), m (multiplete) ou sl (simpleto largo); as constantes de acoplamento (J) são dadas em Hz. Os dados de Espectrometria de Massas de Alta Resolução com Ionização Eletrospray (*High Resolution Mass Spectrometry with Eletrospray Ionization - HRMS-ESI*), em modo positivo, foram obtidos em um equipamento UHPLC-QTOF/MS Bruker Impact II. As purificações por cromatografia em coluna foram realizadas empregando como fase estacionária sílica gel 60 Å (70 – 230 mesh). Os espectros de absorção na região do UV-Visível foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450PC em concentrações de 10^{-6}M . Os espectros de emissão de fluorescência estacionária foram obtidos em um espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC. As medidas de absorção e emissão foram realizadas à temperatura ambiente em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Para a determinação do rendimento quântico dos compostos foi utilizado sulfato de quinina como padrão, em solução de H_2SO_4 0,5 M.¹⁰⁶ As análises de fluorescência resolvida no tempo foram realizadas em um espectrofotômetro EasyLife V, utilizando Ludox como IRF. As análises de cromatografia em camada delgada foram realizadas em placas de alumínio com camada de 0,2 mm de sílica gel 60F-254 (Macherey-Nagel). Os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich, Acros Organics e TCI. Os solventes utilizados, de grau P.A., foram obtidos da Nuclear e o isopropanol, de grau HPLC, da Tedia. A nomenclatura dos compostos foi escrita baseando-se no programa ChemDraw Ultra 14.0 (ChemBioOffice 2014), considerada a tradução do inglês.

6.1.1 Procedimento geral para a preparação do (*n*-alquilamino)carbamato de *tert*-butila (7a-g).



Dissolveu-se a 1,*n*-alquildiamina (**2a-g**; 3,0 equiv, 39,0 mmol) em 240 mL de clorofórmio em um balão de fundo redondo. Em seguida, utilizando um funil de adição, adicionou-se gota a gota a 0 °C, o dicarbonato de di-*tert*-butila (**6**, Boc₂O; 1,0 equiv, 13,0 mmol) dissolvido em 18 mL de clorofórmio. Após a adição, a reação ficou à temperatura ambiente por 18 h. Ao final do tempo reacional, filtrou-se o sólido branco formado e o líquido remanescente foi removido em evaporador rotatório. O óleo obtido foi dissolvido em AcOEt e lavado com solução saturada de NaCl (3x35 mL). O extrato orgânico foi seco com Na₂SO₄ e o solvente evaporado em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando-se como fase móvel CHCl₃:MeOH:Et₃N (95:4:1).

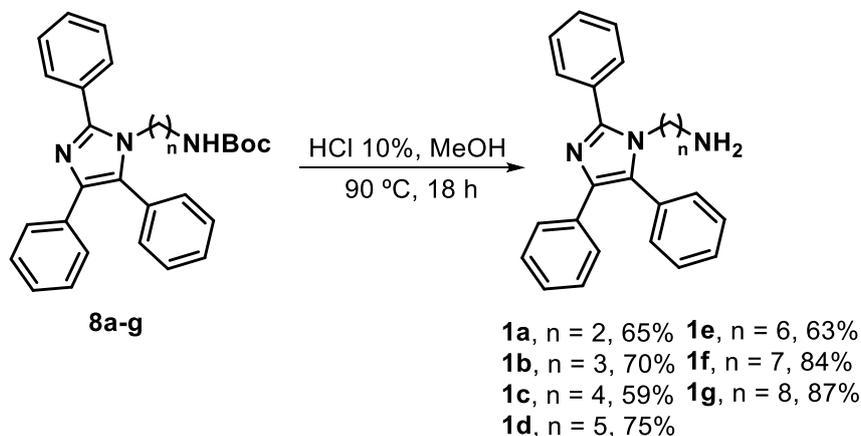
6.1.2 Procedimento geral para a preparação das *N*-alquilaminolofinas protegidas (8a-g).



Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo, misturou-se a (*n*-alquilamino)carbamato de *tert*-butila (**7a-g**; 2,5 mmol), o benzaldeído (**3**; 2,5 mmol), o acetato de amônio (**4**; 2,5 mmol), o benzil (**5**; 2,5 mmol), o InCl₃ (0,4 mmol) e o EtOH (3 mL). A mistura foi refluxada a 78 °C por 12 h. Após esse tempo, adicionou-se mais 2,5 mmol de benzaldeído, de benzil e de acetato de amônio e a mistura ficou em refluxo por mais 12 h. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel

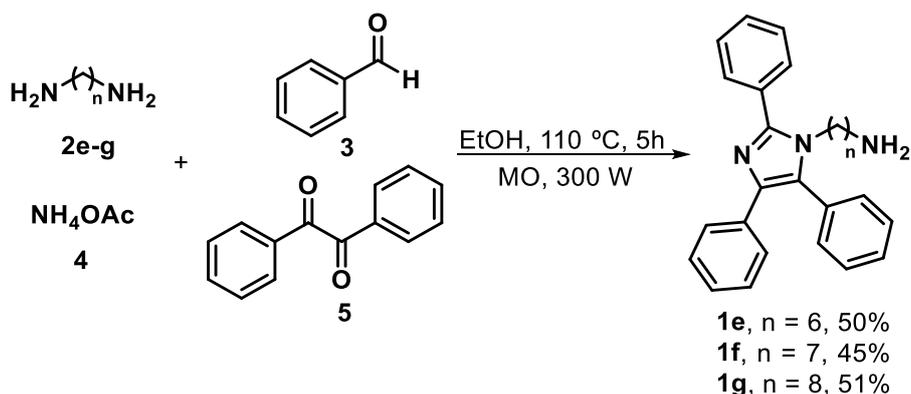
utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1).

6.1.3 Procedimento geral para a preparação das *N*-alquilaminolofinas (1a-g), a partir da desproteção de 8a-g.



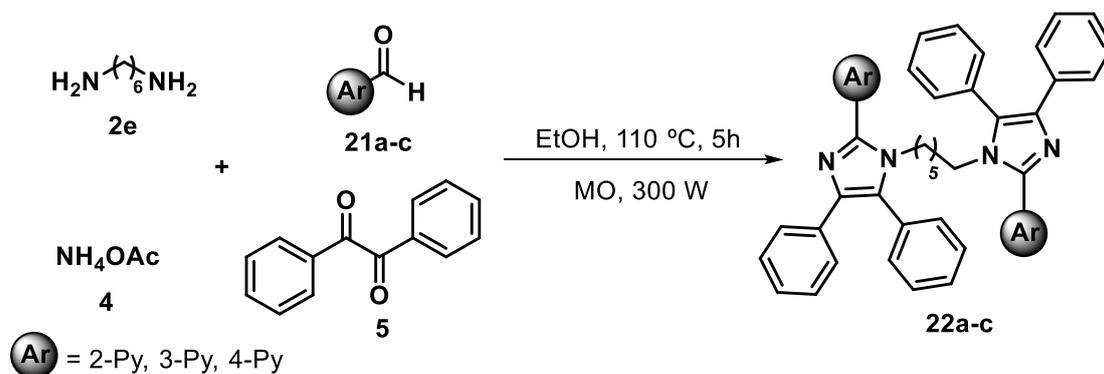
Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo, o (*n*-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)alquil)carbamato de *tert*-butila (**8a-g**; 1,8 mmol) foi dissolvido em 80 mL de MeOH. A essa solução, adicionou-se 8 mL de uma solução aquosa 10% de HCl. A reação ficou em refluxo por 18 h a 90 °C. Após o tempo reacional, evaporou-se parte do metanol e adicionou-se uma solução de Na₂CO₃ 10% até pH 11. A seguir, adicionou-se 20 mL de H₂O e 25 mL de CHCl₃ e separou-se as fases. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2 h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente CHCl₃:MeOH:NH₄OH (90:9,5:0,5).

6.1.4 Procedimento geral para a preparação das *N*-alquilaminolofinas utilizando micro-ondas (1e-g).



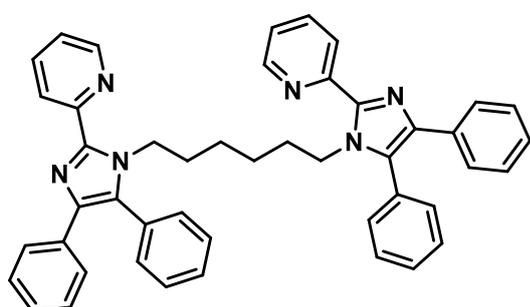
A mistura de 1,n-alkanodiamina (**2e-g**; 1,0 mmol), benzaldeído (**3**; 1,0 mmol), acetato de amônio (**4**; 1,0 mmol), benzil (**5**; 1,0 mmol), e EtOH (2,5 mL) foi colocada em um frasco de teflon compatível com o reator de micro-ondas e o programa de aquecimento foi iniciado. Utilizou-se uma rampa de aquecimento de 30 a 110 °C em 15 min. Após, a temperatura foi mantida a 110 °C por 1 h. Esse programa foi realizado cinco vezes, para completar 5h de reação. Após o tempo reacional, evaporou-se o etanol, adicionou-se 20 mL de DCM e lavou-se a fase orgânica com solução saturada de NaCl (1x10 mL) e com água deionizada (1x10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2 h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente CHCl₃:MeOH:NH₄OH (90:9:1).

6.1.5 Procedimento geral para a preparação dos homodímeros bis(n)-lofina (**22a-c**)



A mistura de 1,6-hexanodiamina (**2e**; 0,45 mmol), acetato de amônio (**4**; 0,90 mmol), benzil (**5**; 0,90 mmol) e 2-, 3-, ou 4-piridinocarboxaldeído (**21a-c**; 0,90 mmol) em etanol absoluto (3,5 mL) foi colocada em um frasco de teflon compatível com o reator de micro-ondas e o programa de aquecimento foi iniciado. Foi utilizada uma rampa de aquecimento de 30 a 110 °C em 15 min. Após, a temperatura foi mantida a 110 °C por 1 h. Esse programa foi realizado cinco vezes, para completar 5 h de reação. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt na proporção 90:10 com eluição por gradiente até 0:100.

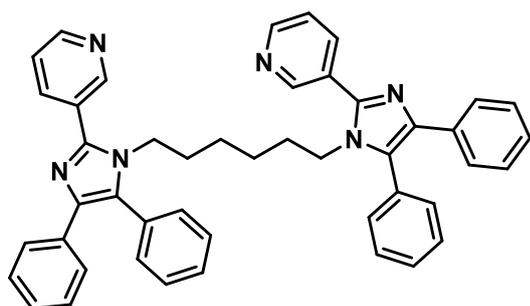
1,6-bis(4,5-difenil-2-(piridin-2-il)-1*H*-imidazol-1-il)hexano (**22a**).



Sólido amarelo. Rendimento 39%. Ponto de fusão: 75 - 76 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3052, 2935, 2849, 1582, 1458, 788, 703. RMN de ¹H

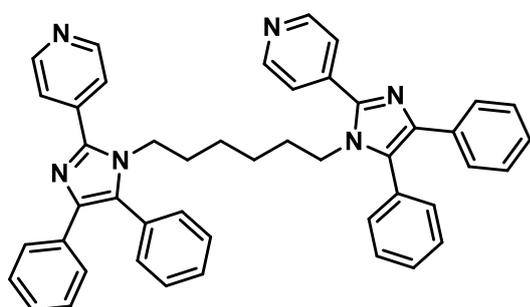
(400 MHz; CDCl₃) δ 8,55 – 8,50 (m; 2H); 8,41 (d; *J* = 8,0 Hz; 2H); 7,81 (td; *J* = 8,0; 1,8 Hz; 2H); 7,58 – 7,50 (m; 4H); 7,48 – 7,43 (m; 6H); 7,39 – 7,33 (m; 4H); 7,27 – 7,21 (m; 6H); 7,20 – 7,14 (m; 2H); 4,36 (t; *J* = 7,6 Hz; 4H); 1,50 – 1,35 (m; 4H); 0,98 – 0,87 (m; 4H). RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃) δ 150,7; 148,3; 144,0; 137,7; 136,6; 134,2; 131,6; 131,1; 131,0; 129,0; 128,8; 128,1; 126,8; 126,4; 123,6; 122,5; 45,2; 30,6; 25,6. HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 677,3387 encontrado 677,3386.

1,6-bis(4,5-difenil-2-(piridin-3-il)-1*H*-imidazol-1-il)hexano (**22b**):



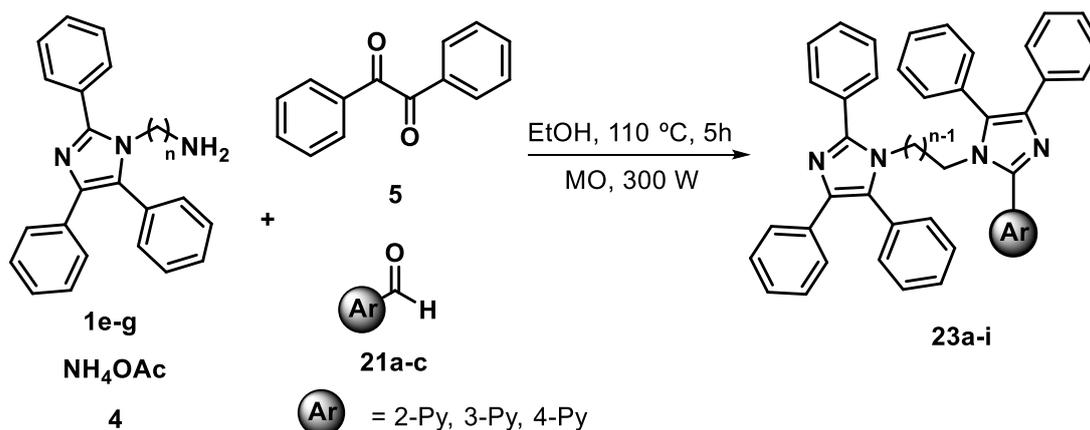
Sólido branco. Rendimento 37%. Ponto de fusão: 194 - 195 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3043, 2927, 2857, 1473, 773, 696. RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 8,91 – 8,85 (m; 2H); 8,69 (dd; *J* = 4,8; 1,7 Hz; 2H); 8,08 (dt; *J* = 7,9; 1,7 Hz; 2H); 7,54 – 7,49 (m; 4H); 7,49 – 7,42 (m; 8H); 7,37 – 7,32 (m; 4H); 7,26 – 7,14 (m; 6H); 3,79 (t; *J* = 7,6 Hz; 4H); 1,22 – 1,11 (m; 4H); 0,70 – 0,61 (m; 4H). RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃) δ 149,8; 149,3; 144,3; 138,4; 136,7; 134,0; 130,9; 130,8; 130,2; 129,2; 128,9; 128,2; 127,5; 126,7; 126,6; 123,6; 44,5; 30,1; 25,3. HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 677,3387 encontrado 677,3381.

1,6-bis(4,5-difenil-2-(piridin-4-il)-1*H*-imidazol-1-il)hexano (**22c**).



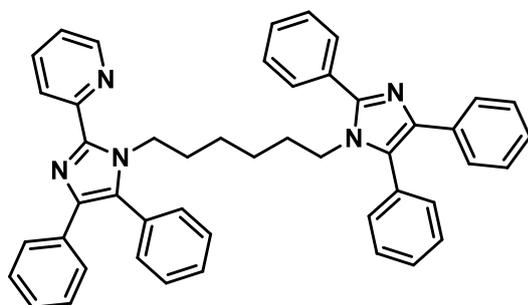
Sólido branco. Rendimento 33%. Ponto de fusão: 200 - 201 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3043, 2927, 2857, 1597, 835, 765, 703. RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 8,76 – 8,69 (m; 4H); 7,63 – 7,58 (m; 4H); 7,53 – 7,43 (m; 10H); 7,38 – 7,32 (m; 4H); 7,27 – 7,15 (m; 6H); 3,84 (t; *J* = 7,6 Hz; 4H); 1,24 – 1,12 (m; 4H); 0,74 – 0,64 (m; 4H). RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃) δ 150,3; 144,5; 138,8; 133,9; 131,0; 130,8; 130,7; 129,2; 129,0; 128,1; 126,7; 126,7; 122,8; 44,6; 30,1; 25,3. HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 677,3387 encontrado 677,3382.

6.1.6 Procedimento geral para a preparação dos heterodímeros bis(*n*)-lofina (**23a-i**)



A mistura de *N*-alquilaminolofina (**1e-g**; 0,45 mmol), acetato de amônio (**4**; 0,45 mmol), benzil (**5**; 0,45 mmol) e 2-, 3-, ou 4-piridinocarboxaldeído (**21a-c**; 0,45 mmol) em etanol absoluto (3,5 mL) foi colocada em um frasco de teflon compatível com o reator de micro-ondas e o programa de aquecimento foi iniciado. Foi utilizada uma rampa de aquecimento de 30 a 110 °C em 15 min. Após, a temperatura foi mantida a 110 °C por 1 h. Esse programa foi realizado cinco vezes, para completar 5 h de reação. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt na proporção 90:10 com eluição por gradiente até 0:100.

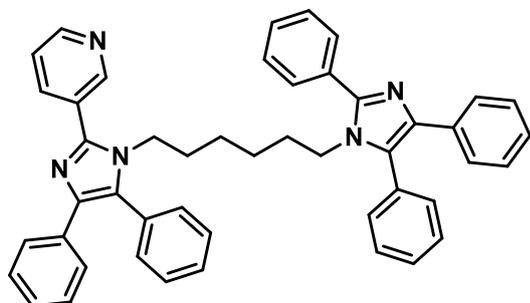
2-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23a**)



Sólido amarelo. Rendimento 37%. Ponto de fusão: 78 - 79 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3059, 2926, 2857, 1586, 1464, 771, 691. RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 8,52 – 8,49 (m; 1H) ; 8,35 – 8,31 (m; 1H); 7,77 (td; *J* = 7,6; 2,0 Hz; 1H); 7,66 – 7,61 (m; 2H); 7,54 – 7,48 (m; 4H); 7,47 – 7,39 (m; 9H); 7,37 – 7,30 (m; 4H); 7,23 – 7,10 (m; 7H); 4,29 (t; *J* = 7,6 Hz; 2H); 3,78 (t; *J* = 7,6 Hz; 2H); 1,38 – 1,27 (m; 2H); 1,24 – 1,13 (m; 2H); 0,81 – 0,70 (m; 4H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 151,0; 148,2; 147,6; 144,0; 137,9; 137,7; 136,6; 134,5; 131,6; 131,5; 131,4; 131,2; 131,1; 130,9; 129,8; 129,5; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,7; 128,6;

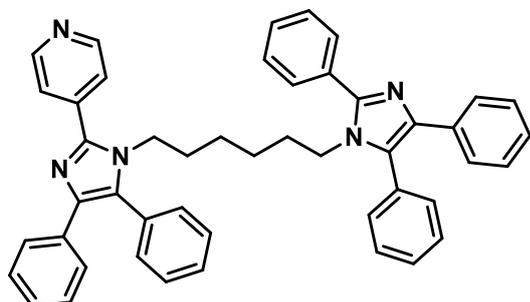
128,5; 128,1; 128,0; 126,8; 126,7; 126,3; 126,2; 123,4; 122,4; 45,0; 44,5; 30,5; 30,1; 25,5; 25,4. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 676,3435 encontrado 676,3416.

3-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23b**)



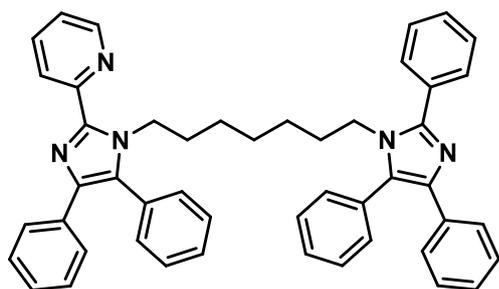
Sólido amarelo. Rendimento 25%. Ponto de fusão: 167 - 168 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3059, 2927, 2857, 1480, 773, 687. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,92 – 8,86 (m; 1H); 8,68 (dd; $J = 4,8; 1,6$ Hz; 1H); 8,05 – 8,00 (m; 1H); 7,65 – 7,61 (m; 2H); 7,54 – 7,49 (m; 4H); 7,48 – 7,40 (m; 10H); 7,38 – 7,32 (m; 4H); 7,26 – 7,12 (m; 6H); 3,82 – 3,71 (m; 4H); 1,19 – 1,06 (m; 4H); 0,71 – 0,55 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 149,7; 149,3; 147,6; 144,3; 138,5; 137,7; 136,6; 134,4; 134,1; 131,4; 131,3; 131,0; 130,9; 130,8; 130,2; 129,5; 129,1; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,6; 128,5; 128,1; 128,0; 127,7; 126,8; 126,7; 126,5; 126,3; 123,5; 44,6; 44,3; 30,1; 29,9; 25,3; 25,3. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 676,3435 encontrado 676,3424.

4-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23c**)



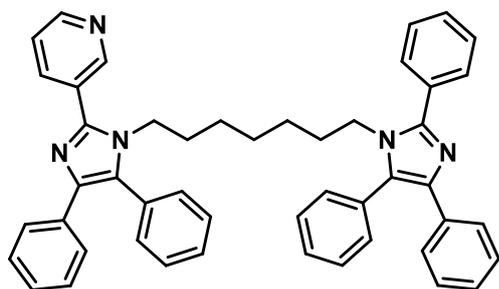
Sólido amarelo. Rendimento 28%. Ponto de fusão: 202 - 203 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3052, 2927, 2849, 1597, 773, 703. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,71 – 8,68 (m; 2H); 7,63 – 7,59 (m; 2H); 7,59 – 7,57 (m; 2H); 7,52 – 7,39 (m; 13H); 7,36 – 7,29 (m; 4H); 7,24 – 7,10 (m; 6H); 3,83 – 3,72 (m; 4H); 1,18 – 1,06 (m; 4H); 0,68 – 0,57 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 150,2; 147,6; 144,4; 138,8; 138,7; 137,7; 134,4; 134,0; 131,4; 131,3; 131,0; 130,9; 130,8; 130,7; 129,4; 129,1; 129,1; 129,0; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 126,7; 126,6; 126,3; 122,8; 44,6; 44,3; 30,1; 29,9; 25,3; 25,3. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 676,3435 encontrado 676,3420.

2-(4,5-difenil-1-(7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23d**)



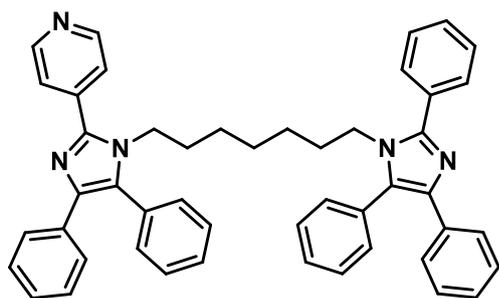
Sólido amarelo. Rendimento 49%. Ponto de fusão: 165 - 166 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3052, 2935, 2849, 1589, 781, 696. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,55 – 8,52 (m; 1H); 8,35 (dt; $J = 8,0$; 1,0 Hz; 1H); 7,79 (td; $J = 7,6$; 2,0 Hz; 1H); 7,70 – 7,65 (m; 2H); 7,56 – 7,50 (m; 4H); 7,49 – 7,42 (m; 9H); 7,42 – 7,35 (m; 4H); 7,26 – 7,19 (m; 5H); 7,18 – 7,13 (m; 2H); 4,36 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,83 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,45 – 1,35 (m; 2H); 1,30 – 1,19 (m; 2H); 0,91 – 0,83 (m; 2H); 0,81 – 0,72 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 151,0; 148,2; 147,6; 144,1; 137,9; 137,7; 136,6; 134,5; 131,6; 131,5; 131,4; 131,3; 131,2; 131,0; 129,5; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,7; 128,6; 128,1; 128,0; 126,8; 126,7; 126,3; 126,2; 123,4; 122,4; 45,1; 44,5; 30,6; 30,2; 27,8; 26,0; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 690,3591 encontrado 690,3586.

3-(4,5-difenil-1-(7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23e**)



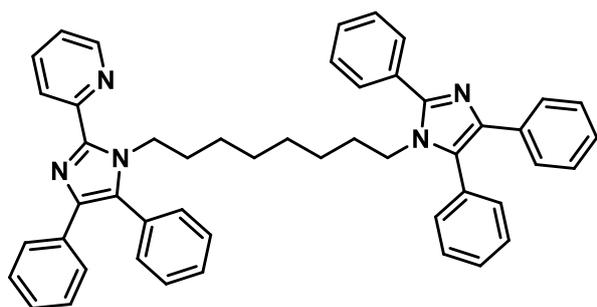
Sólido amarelo. Rendimento 23%. Ponto de fusão: 78 - 79 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3432, 3053, 2939, 2843, 1491, 786, 700. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,92 (d; $J = 1,8$ Hz; 1H); 8,68 (dd; $J = 4,8$; 1,8 Hz; 1H); 8,05 (dt; $J = 7,9$; 1,8 Hz; 1H); 7,69 – 7,62 (m; 2H); 7,57 – 7,34 (m; 18H); 7,26 – 7,12 (m; 6H); 3,81 (t; $J = 7,6$ Hz; 4H); 1,27 – 1,13 (m; 4H); 0,82 – 0,61 (m; 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 149,7; 149,4; 147,6; 144,3; 138,5; 137,7; 136,6; 134,5; 134,1; 131,5; 131,4; 131,0; 130,9; 130,8; 130,2; 129,5; 129,2; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 127,7; 126,8; 126,7; 126,5; 126,2; 123,5; 44,7; 44,4; 30,3; 30,0; 27,6; 25,8; 25,7. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 690,3591 encontrado 690,3588.

4-(4,5-difenil-1-(7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23f**)



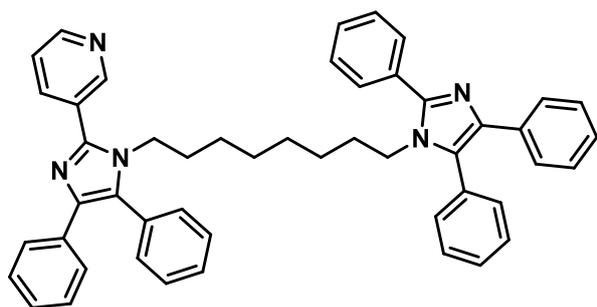
Sólido amarelo. Rendimento 26%. Ponto de fusão: 152 - 153 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3043, 2919, 2857, 1597, 781, 687. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,75 - 8,71 (m; 2H); 7,68 - 7,62 (m; 4H); 7,55 - 7,42 (m; 13H); 7,41 - 7,34 (m; 4H); 7,26 - 7,12 (m; 6H); 3,92 - 3,79 (m; 4H); 1,31 - 1,14 (m; 4H); 0,80 - 0,61 (m; 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3) δ 150,2; 147,6; 144,4; 138,9; 138,8; 137,7; 134,5; 134,0; 131,5; 131,0; 130,9; 130,9; 130,8; 129,5; 129,2; 129,1; 129,0; 129,0; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 126,7; 126,6; 126,2; 122,8; 44,7; 44,4; 30,2; 30,0; 27,7; 25,8; 25,7. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 690,3591 encontrado 690,3592.

2-(4,5-difenil-1-(8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23g**)



Sólido amarelo. Rendimento 35%. Ponto de fusão: 115 - 116 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3043, 2927, 2849, 1589, 1504, 788, 703. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,58 - 8,54 (m; 1H); 8,36 (dt; $J = 8,0; 1,0$ Hz; 1H); 7,80 (td; $J = 7,6; 2,0$ Hz; 1H); 7,72 - 7,66 (m; 2H); 7,57 - 7,51 (m; 4H); 7,50 - 7,36 (m; 13H); 7,26 - 7,19 (m; 5H); 7,18 - 7,12 (m; 2H); 4,41 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,86 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,51 - 1,40 (m; 2H); 1,34 - 1,21 (m; 3H); 0,99 - 0,89 (m; 2H); 0,87 - 0,74 (m; 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 151,1; 148,2; 147,6; 144,1; 137,9; 137,7; 136,5; 134,6; 134,5; 131,7; 131,6; 131,5; 131,3; 131,2; 131,0; 129,6; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,7; 128,6; 128,1; 128,0; 126,8; 126,7; 126,3; 126,2; 123,5; 122,4; 45,2; 44,6; 30,7; 30,2; 28,3; 28,2; 26,1; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 704,3748 encontrado 704,3739.

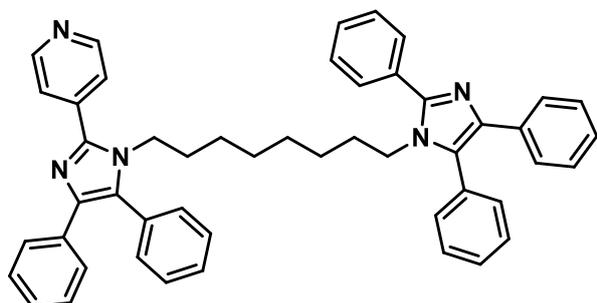
3-(4,5-difenil-1-(8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**23h**)



Sólido amarelo. Rendimento 31%. Ponto de fusão: 140 - 141 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3059, 2926, 2852, 1475, 760, 696. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,95 - 8,93 (m; 1H); 8,68 (dd; $J = 4,8; 1,8$ Hz;

1H); 8,07 (dt; $J = 8,0; 1,8$ Hz; 1H); 7,70 – 7,66 (m; 2H); 7,55 – 7,51 (m; 4H); 7,50 – 7,38 (m; 14H); 7,26 – 7,12 (m; 6H); 3,89 – 3,81 (m; 4H); 1,32 – 1,19 (m; 5H); 0,86 – 0,68 (m; 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 149,7; 149,4; 147,6; 144,3; 138,5; 137,7; 136,6; 134,5; 134,2; 131,6; 131,5; 131,1; 131,0; 130,9; 130,3; 129,5; 129,2; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 127,7; 126,8; 126,7; 126,5; 126,2; 123,5; 44,7; 44,5; 30,4; 30,1; 28,2; 28,1; 25,9; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 704,3748 encontrado 704,3729.

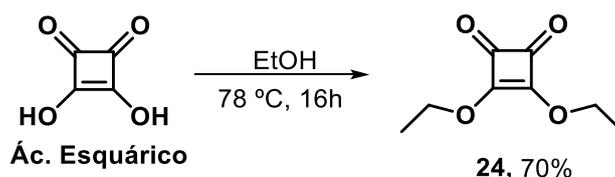
4-(4,5-difenil-1-(8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)-1H-imidazol-2-il)piridina (**23i**)



Sólido amarelo. Rendimento 47%. Ponto de fusão: 140 - 141 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3043, 2927, 2842, 1597, 773, 703. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 8,76 – 8,71 (m; 2H); 7,71 – 7,64 (m; 4H); 7,56 – 7,37 (m; 17H); 7,26 – 7,12 (m; 6H); 3,95 –

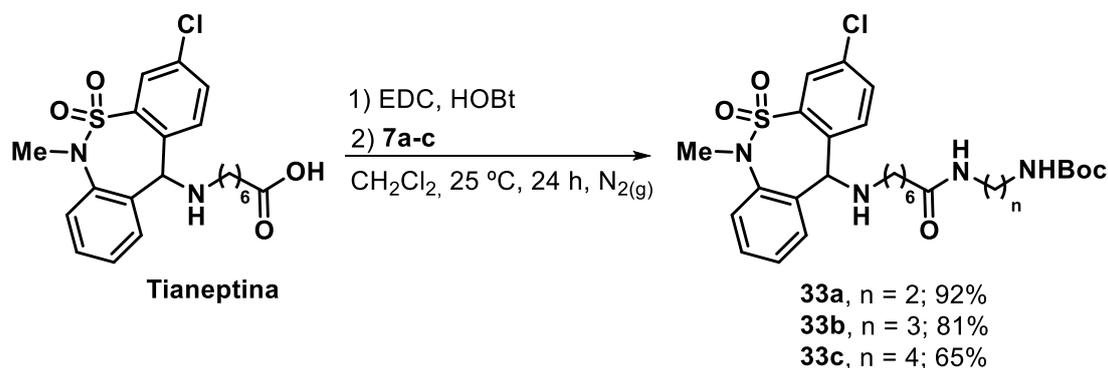
3,82 (m; 4H); 1,36 – 1,19 (m; 4H); 0,89 – 0,68 (m; 8H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 150,2; 147,5; 144,4; 138,9; 138,7; 137,5; 134,3; 134,0; 131,4; 131,2; 131,1; 131,0; 130,9; 130,8; 129,5; 129,2; 129,1; 129,0; 129,0; 128,9; 128,7; 128,6; 128,1; 128,0; 126,9; 126,8; 126,6; 126,3; 122,9; 44,8; 44,6; 30,3; 30,1; 28,2; 28,1; 25,9; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 704,3748 encontrado 704,3747.

6.1.7 Procedimento geral para a síntese da 3,4-dietoxiciclobut-3-eno-1,2-diona (**24**)



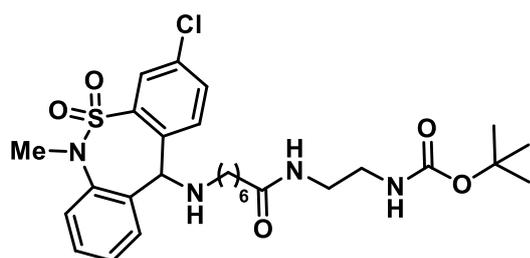
Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo, uma suspensão do ácido esquárico (5,3 mmol) em EtOH (6 mL) foi refluxada por 4 h sob atmosfera de nitrogênio. O solvente foi removido sob pressão reduzida. A pasta branca resultante foi suspensa novamente em EtOH (6 mL) e a mistura resultante foi refluxada por mais 4 h. O solvente foi novamente removido sob pressão reduzida e o mesmo procedimento foi repetido quatro vezes, totalizando 16 h de reação. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt na proporção 90:10 com eluição por gradiente até 70:30.

6.1.8 Procedimento geral para a preparação da *N*-Alquilaminotianeptina protegida (33a-c)



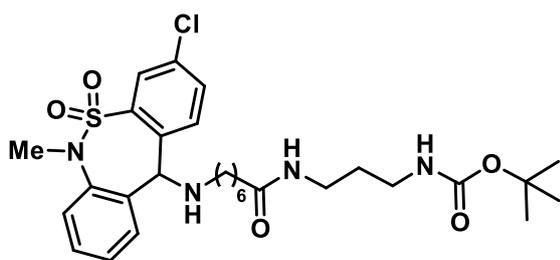
Em um balão de fundo redondo, a tianeptina (0,80 mmol), o EDC (0,80 mmol) e o HOBT (0,80 mmol) foram dissolvidos em CH_2Cl_2 anidro (4,0 mL). A mistura foi deixada em agitação sob atmosfera de nitrogênio, à temperatura ambiente, por 2 h. O (*n*-alquilamino)carbamato de *tert*-butila **7a-c** (0,73 mmol) apropriado foi dissolvido em CH_2Cl_2 anidro (0,4 mL) e adicionado aos outros reagentes. A reação ocorreu com agitação constante sob atmosfera de nitrogênio, à temperatura ambiente por 24 h. Decorrido esse período, lavou-se a mistura com água (0,2 mL). A mistura foi seca com Na_2SO_4 , filtrada e o solvente removido à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção 80:19:1 com eluição por gradiente até 0:99:1.

Carbamato de *tert*-butila (2-(7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrobenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)heptanamido)etil) (**33a**)



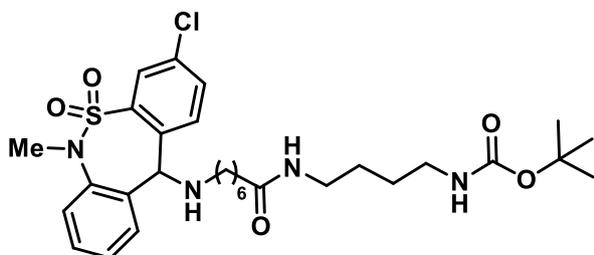
Sólido branco. Rendimento: 92%. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 7,50 – 7,34 (m; 5H); 7,33 – 7,27 (m; 1H); 6,14 (sl; 1H); 4,99 (s; 1H); 4,91 (sl; 1H); 3,37 (s; 3H); 3,35 – 3,30 (m; 2H); 3,29 – 3,22 (m; 2H); 2,45 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 2,14 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,78 (sl; 1H); 1,64 – 1,54 (m; 2H); 1,50 – 1,46 (m; 2H); 1,43 (s; 9H); 1,35 – 1,25 (m; 4H). RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl_3) δ 173,6; 156,9; 140,2; 138,5; 138,4; 136,8; 134,1; 132,1; 131,2; 130,0; 129,3; 128,3; 128,0; 127,9; 79,6; 66,1; 47,9; 40,6; 40,2; 38,6; 36,4; 29,7; 29,0; 28,3; 26,8; 25,4.

Carbamato de *tert*-butila (3-(7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrobenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)heptanamido)propil) (**33b**)



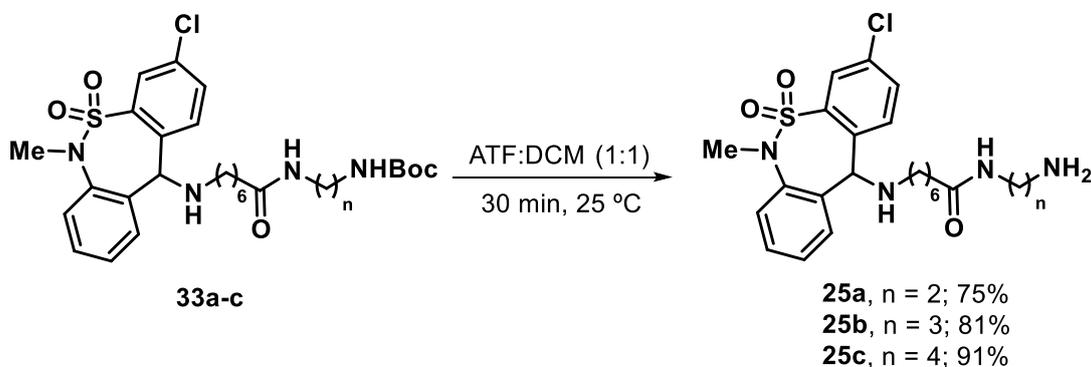
Sólido branco. Rendimento: 81%. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 7,96 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 7,50 – 7,34 (m; 5H); 7,33 – 7,27 (m; 1H); 6,17 (sl; 1H); 5,00 (s; 1H); 4,92 (sl; 1H); 3,37 (s; 3H); 3,27 (q; $J = 6,4$ Hz; 2H); 3,15 (q; $J = 6,4$ Hz; 2H); 2,45 (t; $J = 6,4$ Hz; 2H); 2,15 (t; $J = 6,4$ Hz; 2H); 1,82 (sl; 1H); 1,68 – 1,56 (m; 4H); 1,53 – 1,45 (m; 2H); 1,43 (s; 9H); 1,36 – 1,27 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 173,4; 156,7; 140,2; 138,6; 138,4; 136,8; 134,2; 132,2; 131,2; 130,1; 129,3; 128,4; 128,1; 127,9; 79,3; 66,2; 48,0; 38,7; 36,9; 36,6; 35,6; 30,2; 29,8; 29,0; 28,4; 26,9; 25,6.

Carbamato de *tert*-butila (4-(7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]thiazepin-11-il)amino)heptanamido)butil) (33c)



Sólido branco. Rendimento: 65%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 7,49 – 7,34 (m; 5H); 7,32 – 7,27 (m; 1H); 5,70 (sl; 1H); 4,99 (s; 1H); 4,64 (sl; 1H); 3,36 (s; 3H); 3,29 – 3,21 (m; 2H); 3,16 – 3,06 (m; 2H); 2,52 – 2,38 (m; 2H); 2,12 (t; $J = 7,2$ Hz; 2H); 1,78 (sl; 1H); 1,64 – 1,55 (m; 2H); 1,53 – 1,45 (m; 5H); 1,44 (s; 9H); 1,31 – 1,25 (m; 5H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 173,0; 156,1; 140,1; 138,4; 136,8; 134,1; 132,1; 131,2; 130,1; 129,3; 128,3; 128,0; 127,9; 79,1; 66,2; 47,9; 40,0; 39,0; 38,6; 36,5; 29,7; 29,0; 28,3; 27,5; 26,8; 26,6; 25,5.

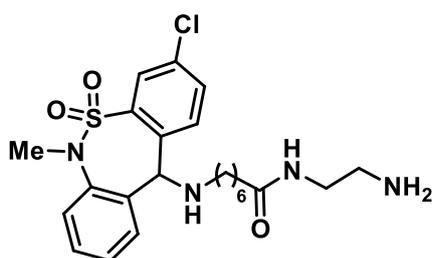
6.1.9 Procedimento geral para a preparação das *N*-Alquilaminotianeptina (25a-c)



Em um balão de fundo redondo, dissolveu-se a *N*-alquilaminotianeptina protegida (**33a-c**; 0,34 mmol) em CH_2Cl_2 (1 mL) e resfriou-se a solução à 0 °C. À solução foi adicionado o ATF (1 mL) dissolvido em DCM (1 mL). A solução ficou em agitação a 0 °C

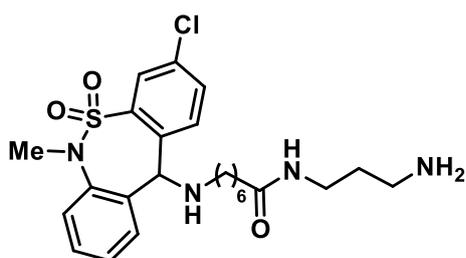
por 5 min. Após, a solução permaneceu em agitação por mais 25 min a 25 °C. A completa conversão do material de partida foi verificada por CCD, usando AcOEt como eluente. Após o tempo reacional, o solvente foi evaporado, o sólido suspenso em AcOEt (20 mL) e lavado com solução saturada de NaHCO₃ (20 mL). Em seguida o AcOEt foi seco com MgSO₄ e o solvente evaporado em rotaevaporador. O produto foi obtido puro sem a necessidade de purificação.

N-(2-aminoetil)-7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)heptanamida (**25a**)



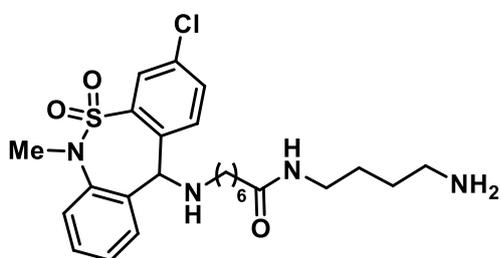
Sólido branco. Rendimento: 75%. ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃) δ 7,98 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 7,51 – 7,35 (m; 5H); 7,34 – 7,29 (m; 1H); 6,01 (sl; 1H); 5,01 (s; 1H); 3,38 (s; 3H); 3,30 (q; *J* = 6,0 Hz; 2H); 2,83 (t; *J* = 6,0 Hz; 2H); 2,53 – 2,43 (m; 2H); 2,17 (t; *J* = 7,6 Hz; 2H); 1,68 – 1,57 (m; 2H); 1,55 – 1,43 (m; 2H); 1,40 – 1,27 (m; 4H).

N-(3-aminopropil)-7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)heptanamida (**25b**)



Sólido branco. Rendimento: 81%. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,96 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 7,50 (dd; *J* = 8,2 e 2,1 Hz; 1H); 7,45 (d; *J* = 8,2 Hz; 1H); 7,42 (d; *J* = 7,5 Hz; 1H); 7,38 – 7,36 (m; 2H); 7,33 – 7,29 (m; 1H); 6,78 (sl; 1H); 5,00 (s; 1H); 3,33 (s; 3H); 3,28 – 3,22 (m; 4H); 2,53 – 2,38 (m; 2H); 2,14 (t; *J* = 7,3 Hz; 2H); 1,62 – 1,50 (m; 2H); 1,50 – 1,42 (m; 2H); 1,34 – 1,24 (m; 6H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 174,7; 139,9; 138,6; 137,9; 136,6; 134,2; 132,3; 131,7; 130,7; 129,4; 128,4; 128,1; 127,8; 66,5; 47,9; 38,9; 36,4; 36,2; 29,7; 28,9; 26,8; 25,5.

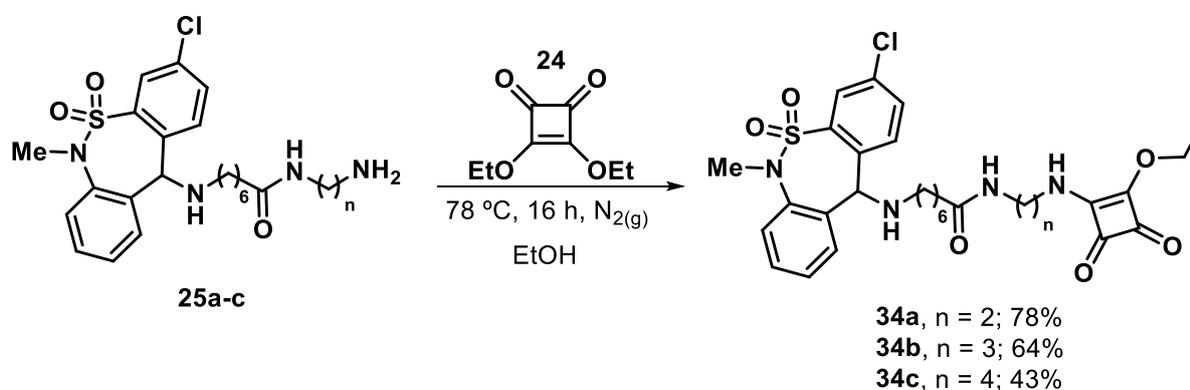
N-(4-aminobutil)-7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)heptanamida (**25c**).



Sólido branco. Rendimento: 91%. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 7,53

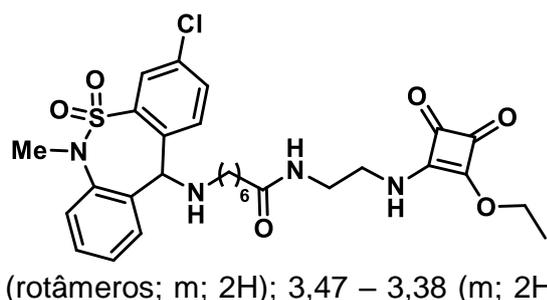
– 7,35 (m; 5H); 7,35 – 7,29 (m; 1H); 6,44 (t; $J = 5,8$ Hz; 1H); 5,01 (s; 1H); 3,32 (s; 3H); 3,23 – 3,14 (m; 2H); 2,87 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 2,52 – 2,38 (m; 2H); 2,12 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 1,69 – 1,60 (m; 2H); 1,60 – 1,41 (m; 6H); 1,36 – 1,23 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 174,2; 139,8; 138,6; 137,5; 136,4; 134,2; 132,3; 131,8; 130,8; 129,4; 128,3; 128,0; 127,8; 66,5; 47,8; 39,4; 38,9; 38,4; 36,2; 29,6; 28,9; 26,8; 26,1; 25,4; 24,8.

6.1.10 Procedimento geral para a síntese dos híbridos tianeptina-monoesquaramida (**34a-c**).



Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo, o dietilesquarato (**24**, 0,56 mmol) foi solubilizado em EtOH (2,5 mL). Em seguida, uma solução da *N*-alquilaminotianeptina (**25a-c**; 0,56 mmol) em EtOH (2,5 mL) foi adicionada gota a gota à 0 °C. A solução resultante foi refluxada a 78 °C sob atmosfera inerte por 16 h. Após, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ na proporção 98:2 com eluição por gradiente até 93:7.

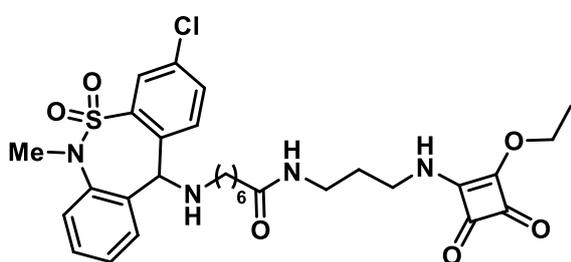
7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)-*N*-(2-((2-etoxi-3,4-dioxociclobut-1-en-1-il)amino)etil)heptanamida (**34a**).



Sólido branco. Rendimento: 78%. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 7,95 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 7,51 – 7,34 (m; 5H); 7,33 – 7,27 (m; 1H); 6,73 e 6,66 (rotâmeros; sl; 1H); 5,00 (s; 1H); 4,81 – 4,66 (m; 2H); 3,78 – 3,67 e 3,57 – 3,48 (rotâmeros; m; 2H); 3,47 – 3,38 (m; 2H); 3,33 (s; 3H); 2,54 – 2,37 (m; 2H); 2,23 – 2,08

(m; 2H); 1,63 – 1,51 (m; 2H); 1,51 – 1,37 (m; 5H); 1,32 – 1,20 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 189,6; 182,7; 177,7; 174,0; 172,6; 139,9; 138,5; 137,8; 136,5; 134,2; 132,2; 131,6; 130,5; 129,3; 128,3; 128,0; 127,8; 69,8; 66,3; 47,8; 44,8; 39,8 e 39,5 (rotâmeros); 38,8; 36,2; 29,6; 28,8; 26,7; 25,3; 15,8.

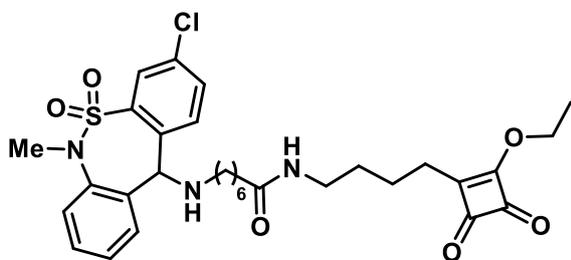
7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)-*N*-(3-((2-etoxi-3,4-dioxociclobut-1-en-1-il)amino)propil)heptanamida (**34b**).



Sólido branco. Rendimento: 64%. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 7,97 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 7,54 – 7,35 (m; 5H); 7,34 – 7,30 (m; 1H); 6,95 (sl; 1H); 6,20 e 6,08 (rotâmeros; sl; 1H); 5,01 (s; 1H); 4,81 – 4,72 (m; 2H); 3,67 – 3,58 e 3,45 – 3,38 (rotâmeros; m; 2H); 3,38

– 3,29 (m; 5H); 2,55 – 2,38 (m; 2H); 2,25 – 2,13 (m; 2H); 1,77 – 1,67 (m; 2H); 1,62 (s; 2H); 1,53 – 1,40 (m; 5H); 1,35 – 1,23 (m; 5H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 189,3; 183,0; 177,8 e 177,0 (rotâmeros); 174,9 e 174,3 (rotâmeros); 172,6; 140,0 e 139,9 (rotâmeros); 138,6 e 138,5 (rotâmeros); 138,1 e 137,8 (rotâmeros); 136,7 e 136,6 (rotâmeros); 134,2; 132,3; 131,7 e 131,6 (rotâmeros); 130,7 e 130,5 (rotâmeros); 129,4; 128,4; 128,1; 127,9; 69,6; 66,4; 47,9; 41,5 e 40,6 (rotâmeros); 39,0 e 38,9 (rotâmeros); 36,4 e 36,3 (rotâmeros); 35,8 e 35,1 (rotâmeros); 31,2 e 30,6 (rotâmeros); 29,7; 28,9; 26,8 e 26,8 (rotâmeros); 25,6 e 25,5 (rotâmeros); 15,9 e 15,8 (rotâmeros).

7-((3-cloro-6-metil-5,5-dioxido-6,11-diidrodibenzo[*c,f*][1,2]tiazepin-11-il)amino)-*N*-(4-((2-etoxi-3,4-dioxociclobut-1-en-1-il)amino)butil)heptanamida (**34c**).

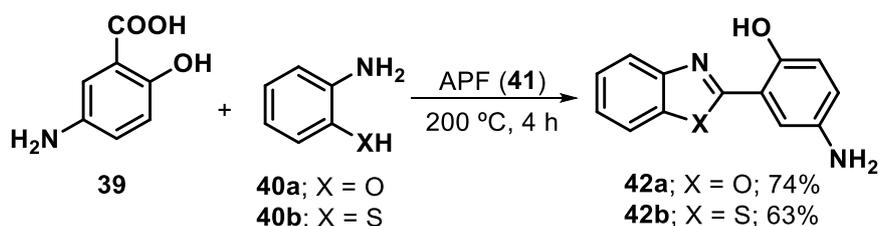


Sólido branco. Rendimento: 43%. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,95 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,51 – 7,39 (m, 3H), 7,38 – 7,34 (m, 2H), 7,33 – 7,27 (m, 1H), 6,17 (sl, 1H), 6,10 (sl, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,84 – 4,67 (m, 2H), 3,66 – 3,55 e 3,44 – 3,37 (rotâmeros; m, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,27 – 3,17 (m, 2H), 2,60 – 2,34 (m, 4H), 2,13 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,67

– 1,50 (m, 4H), 1,50 – 1,40 (m, 5H), 1,32 – 1,18 (m, 5H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

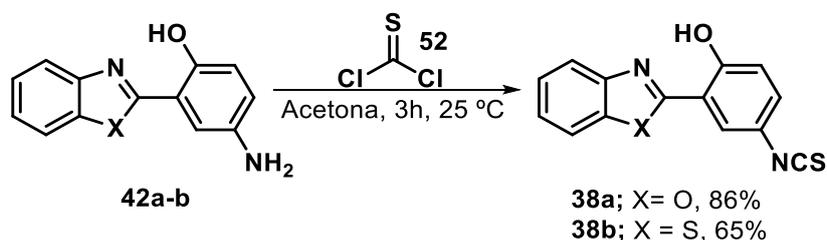
δ 189,5 e 189,0 (rotâmeros); 183,0 e 182,7 (rotâmeros); 177,5 e 177,3 (rotâmeros); 173,6 e 173,5 (rotâmeros); 172,8 e 172,5 (rotâmeros); 139,9; 138,7; 137,7 e 137,4 (rotâmeros); 136,5 e 136,3 (rotâmeros); 134,3; 132,3; 131,9 e 131,8 (rotâmeros); 130,8 e 130,6 (rotâmeros); 129,4; 128,4; 128,0; 127,8; 69,7; 66,5; 47,7; 44,2 e 44,0 (rotâmeros); 39,0; 38,6 e 38,4 (rotâmeros); 36,3; 29,7 e 29,6 (rotâmeros); 28,9; 27,9 e 27,5 (rotâmeros); 26,7; 26,4 e 26,3 (rotâmeros); 25,5; 15,9.

6.1.11 Procedimento geral para a preparação 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol (42a-b).



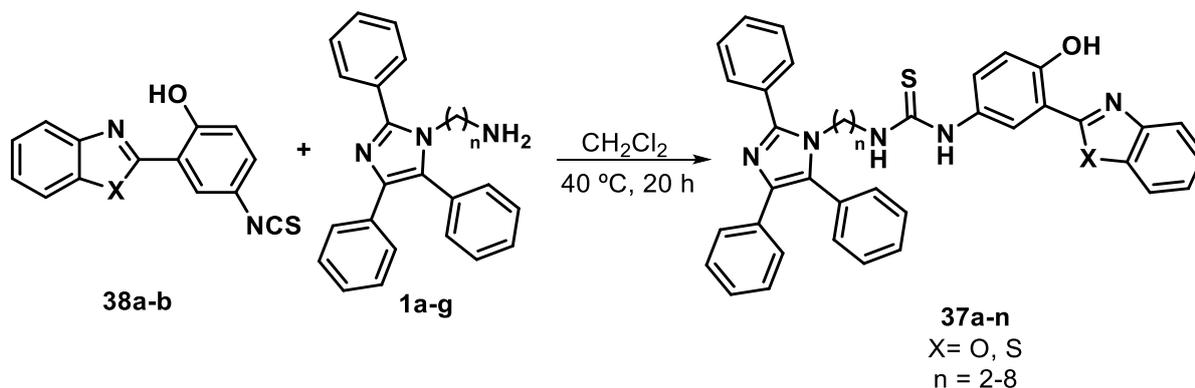
Em um balão de fundo redondo, o ácido polifosfórico (**41**; 50 mL) foi aquecido até 100 °C. Em seguida, adicionou-se o ácido 5-aminosalicílico (**39**, 19,5 mmol) e o 2-aminofenol (**40a**, 19,5 mmol) ou o 2-aminotiofenol (**40b**, 19,5 mmol). Após, a mistura foi aquecida a 200 °C por 4 h. Após o tempo reacional, a mistura foi vertida em um banho de gelo e deixada em repouso por 18 h. A solução resultante foi neutralizada com Na_2CO_3 sólido e filtrada em funil de Büchner. O sólido bruto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando como eluente CH_2Cl_2 .

6.1.12 Procedimento geral para a preparação do 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol (38a-b).



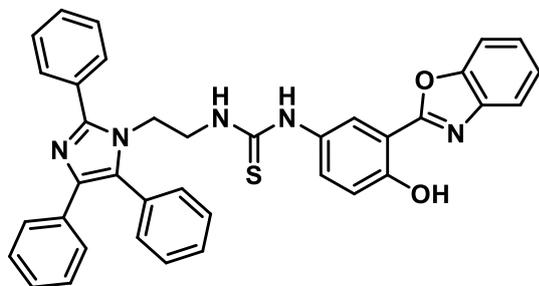
Em um balão de fundo redondo, o 2-(5-amino-2'-hidroxifenil)benzazol (**42a-b**, 6,3 mmol) foi dissolvido em acetona (50 mL) e a solução foi resfriada à 0 °C. Em seguida, utilizando um funil de adição, adicionou-se lentamente uma solução do tiosfênio em acetona (**52**; 6,3 mmol de tiosfênio em 50 mL de acetona). A reação procedeu a 25 °C por 3 h. Após o tempo reacional, filtrou-se o sólido formado em funil de Büchner e o produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica, utilizando como eluente CH_2Cl_2 .

6.1.13 Procedimento geral para a preparação dos híbridos lofina-benzazol (37a-n)



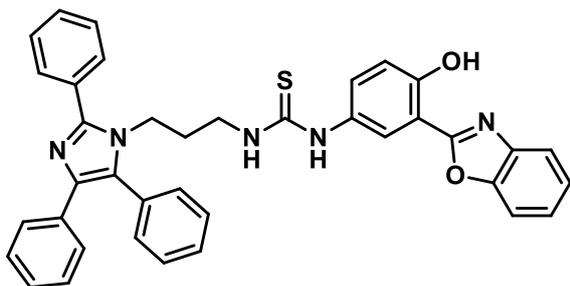
Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo, a mistura da *N*-alquilaminolofina (**1a-g**; 0,17 mmol) com o 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol (**38a-b**; 0,17 mmol), em CH₂Cl₂ (2 mL), foi mantida em refluxo à 40 °C por 20 h. Após o tempo reacional, o solvente foi evaporado em rotaevaporador e o produto bruto purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1). Para os híbridos **37c** e **37j**, após o tempo reacional, o sólido formado foi centrifugado, separado do sobrenadante e seco em bomba de alto vácuo.

1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(2-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)etil)tiourea (**37a**).



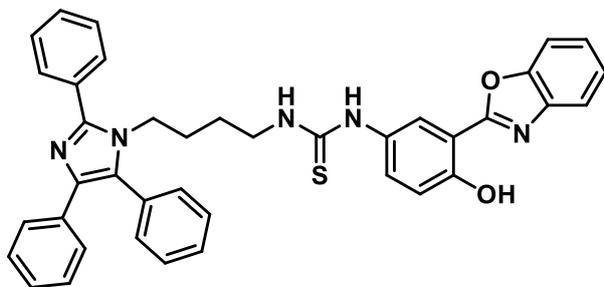
Sólido branco. Rendimento 80%. Ponto de fusão: 190-191 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3350, 3141, 2946, 2340, 1741, 1531, 1221. RMN de ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 11,09 (sl; 1H); 9,31 (sl; 1H); 7,95 (sl; 1H); 7,90 – 7,85 (m; 2H); 7,83 – 7,78 (m; 2H); 7,60 – 7,39 (m; 12H); 7,31 (dd; *J* = 8,8; 2,6 Hz; 1H); 7,20 (t; *J* = 10,2; 2H); 7,16 – 7,10 (m; 1H); 7,08 (d; *J* = 8,8 Hz; 1H); 4,24 (t; *J* = 5,9 Hz; 2H); 3,47 – 3,38 (m; 2H). RMN de ¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) δ 181,7; 162,4; 155,3; 149,2; 147,5; 139,9; 137,0; 135,1; 131,7; 131,5; 131,5; 131,3; 130,4; 129,6; 129,4; 129,3; 129,1; 129,0; 128,5; 126,5; 126,4; 126,4; 125,8; 123,7; 119,7; 117,6; 111,5; 110,2; 44,1; 43,8. HRMS-ESI: calculado [M - H]⁺ 608,2115 encontrado 608,2105.

1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(3-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)propil)tiourea (**37b**)



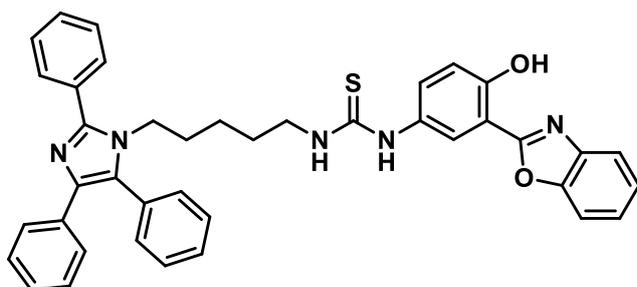
Sólido branco. Rendimento 68%. RMN de ^1H (400 MHz; DMSO-*d*6) δ 11,10 (s; 1H); 7,95 – 7,81 (m; 3H); 7,79 – 7,70 (m; 1H); 7,61 – 7,44 (m; 11H); 7,44 – 7,35 (m; 2H); 7,29 (s; 1H); 7,24 – 7,16 (m; 2H); 7,17 – 7,07 (m; 1H); 3,96 (t; $J = 7,8$ Hz; 2H); 3,24 – 3,15 (m; 2H); 1,75 – 1,64 (m; 2H). RMN de ^{13}C (100 MHz; DMSO-*d*6) δ 181,32; 162,38; 155,46; 149,27; 147,06; 139,96; 137,09; 135,10; 131,46; 131,40; 131,37; 130,25; 129,66; 129,43; 129,21; 129,16; 128,52; 126,60; 126,52; 126,46; 125,88; 123,93; 119,74; 117,89; 111,52; 110,51; 42,90; 41,46; 30,30.

1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butil)tiourea (**37c**).



Sólido branco. Rendimento 84%. Ponto de fusão: 217-218 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3280, 3024, 2953, 1741, 1508, 1244. RMN de ^1H (400 MHz; DMSO-*d*6) δ 11,07 (sl; 1H); 9,37 (sl; 1H); 7,96 (d; $J = 2,6$ Hz; 1H); 7,89 – 7,84 (m; 1H); 7,83 – 7,79 (m; $J = 5,2$; 3,0 Hz; 1H); 7,78 – 7,72 (m; 2H); 7,60 – 7,46 (m; 11H); 7,44 – 7,40 (m; 2H); 7,35 (d; $J = 7,1$ Hz; 1H); 7,24 – 7,17 (m; 2H); 7,15 – 7,10 (m; 1H); 7,09 (d; $J = 8,8$ Hz; 1H); 3,96 (t; $J = 7,3$ Hz; 2H); 3,19 – 3,11 (m; 2H); 1,40 – 1,26 (m; 2H); 1,24 – 1,11 (m; 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz; DMSO-*d*6; 50 °C) δ 181,4; 162,4; 155,3; 149,2; 147,2; 139,9; 137,1; 135,1; 131,9; 131,7; 131,5; 131,3; 131,1; 130,2; 129,5; 129,3; 129,1; 129,1; 129,0; 128,4; 126,5; 126,5; 126,3; 125,7; 123,7; 119,6; 117,7; 111,4; 110,4; 44,6; 43,4; 27,7; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 636,2428 encontrado 636,2433.

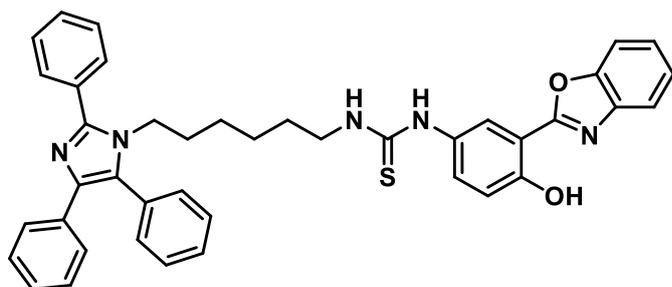
1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)tiourea (**37d**).



Sólido branco. Rendimento 78%. Ponto de fusão: 110-111 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3218, 3031, 2922, 1741, 1500, 1229. RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ 11,62 (sl; 1H); 7,83 (d; $J = 2,4$ Hz; 1H); 7,78 – 7,73 (m; 1H); 7,68 – 7,57 (m; 4H); 7,52 – 7,34 (m; 13H); 7,22 – 7,09 (m; 5H); 5,70 (t; $J = 5,2$ Hz; 1H); 3,95 –

3,77 (m; 2H); 3,42 – 3,30 (m; 2H); 1,40 – 1,25 (m; 2H); 1,18 (m; 2H); 1,01 – 0,84 (m; 2H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 181,4; 161,6; 157,7; 149,0; 147,6; 139,6; 137,6; 134,1; 131,8; 131,2; 131,0; 130,9; 129,6; 129,1; 129,1; 129,0; 129,0; 128,7; 128,7; 128,1; 127,9; 126,8; 126,4; 126,0; 125,4; 125,0; 119,4; 118,9; 111,2; 110,8; 44,7; 44,4; 29,9; 28,1; 23,3. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 650,2584 encontrado 650,2585.

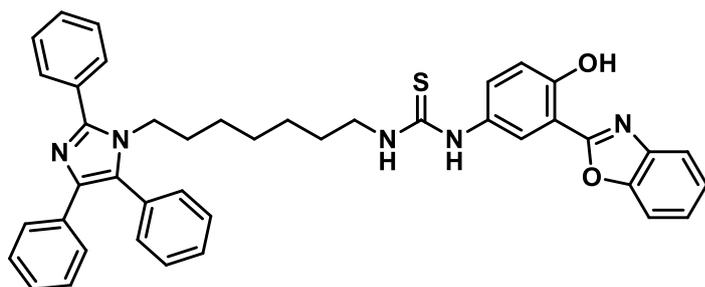
1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)tiourea (**37e**).



Sólido branco. Rendimento 66%.
Ponto de fusão: 107-108 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3241, 3047, 2931, 1741, 1508, 1236. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,64 (s, 1H), 7,87 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,79-7,75 (m, 1H),

7,71 (sl, 1H), 7,69-7,63 (m, 2H), 7,62-7,57 (m, 1H), 7,54-7,36 (m, 12H), 7,25 (dd, $J = 2,4$ e 8,8 Hz, 1H), 7,22-7,12 (m, 4H), 5,82 (sl, 1H), 3,87 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 3,48 – 3,43 (m, 2H), 1,39 – 1,24 (m, 4H), 1,00 – 0,90 (m, 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 181,5; 161,7; 157,6; 149,0; 139,7; 137,7; 134,3; 131,8; 131,2; 130,9; 129,6; 129,2; 129,1; 129,0; 128,8; 128,7; 128,1; 126,9; 126,4; 125,9; 125,4; 124,9; 119,4; 118,8; 111,2; 110,8; 45,0; 44,5; 30,1; 28,6; 25,8; 25,7. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 664,2741 encontrado 664,2744.

1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)tiourea (**37f**).

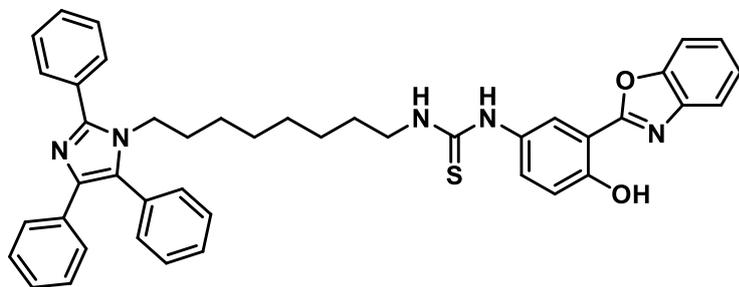


Sólido branco. Rendimento 91%.
Ponto de fusão: 109-110 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3218, 3031, 2931, 1741, 1508, 1205. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 11,60 (sl; 1H); 7,88 (d; $J = 2,5$ Hz; 1H); 7,84 (sl; 1H);

7,79 – 7,74 (m; 1H); 7,70 – 7,65 (m; 2H); 7,62 – 7,57 (m; 1H); 7,55 – 7,38 (m; 13H); 7,26 (dd; $J = 8,8$ e 2,6 Hz; 1H); 7,23 – 7,17 (m; 2H); 7,16 – 7,11 (m; 2H); 5,92 (sl; 1H); 3,86 (t; $J = 7,2$ Hz 2H); 3,59 – 3,46 (m; 2H); 1,43 – 1,35 (m; 2H); 1,35 – 1,26 (m; 2H); 1,09 – 1,00 (m; 2H); 0,99 – 0,88 (m; 4H). RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3) δ 181,4; 161,6; 157,5; 149,0; 147,6; 139,6; 137,6; 134,4; 131,7; 131,3; 131,2; 130,9; 129,6; 129,1; 129,0; 128,9; 128,6; 128,6; 128,2; 128,0; 126,8; 126,2; 125,8; 125,3; 124,9; 119,3; 118,7;

111,1; 110,7; 45,1; 44,5; 30,1; 28,7; 28,1; 26,3; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 678,2897 encontrado 678,2904.

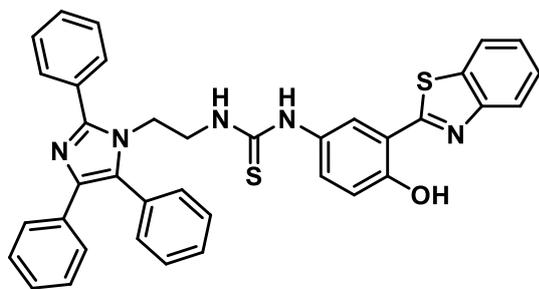
1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)tioureia (**37g**).



Sólido branco. Rendimento 72%. Ponto de fusão: 95-96 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3203, 3039, 2915, 1741, 1539, 1236. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 11,56 (sl, 1H), 7,98 (sl, 1H),

7,85 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, 1H), 7,75 – 7,70 (m, 1H), 7,68 – 7,61 (m, 2H), 7,59 – 7,54 (m, 1H), 7,53 – 7,37 (m, 12H), 7,23 (dd, $J = 8,8$ e $2,4$ Hz, 1H), 7,22 – 7,16 (m, 2H), 7,13 – 7,09 (m, 2H), 5,99 (sl, 1H), 3,89 – 3,77 (m, 2H), 3,59 – 3,44 (m, 2H), 1,49 – 1,38 (m, 2H), 1,28 – 1,20 (m, 2H), 1,13 – 1,05 (m, 2H) 1,02 – 0,94 (m, 2H), 0,90 – 0,78 (m, 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 181,4; 161,7; 157,8; 149,1; 147,7; 139,7; 137,6; 134,4; 131,9; 131,4; 131,3; 130,9; 129,7; 129,2; 129,1; 128,9; 128,7; 128,6; 128,0; 126,8; 126,3; 125,9; 125,4; 125,0; 119,5; 118,9; 45,4; 44,3; 30,2; 28,8; 28,6; 28,4; 26,6; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 692,3054 encontrado 692,3054.

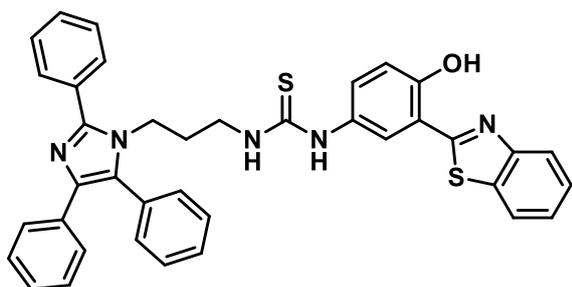
1-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(2-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)etil)tioureia (**37h**).



Sólido amarelo. Rendimento 70%. Ponto de fusão: 188-189 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3343, 3156, 2938, 1741, 1531, 1189. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 12,63 (sl; 1H); 8,00 (d; $J = 8,2$ Hz; 1H); 7,86 (d; $J = 8,0$ Hz; 1H); 7,76 (sl; 1H); 7,67 – 7,60 (m; 2H); 7,53 (t; $J = 7,7$ Hz;

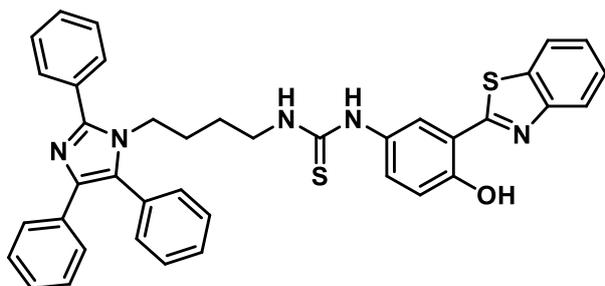
1H); 7,49 – 7,36 (m; 9H); 7,36 – 7,32 (m; 2H); 7,19 – 7,07 (m; 3H); 7,01 (dd; $J = 8,6$ e $2,2$ Hz; 1H); 6,97 – 6,90 (m; 1H); 5,76 (sl; 1H); 4,26 (t; $J = 5,7$ Hz; 2H); 3,51 – 3,41 (m; 2H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 182,0; 167,9; 156,6; 151,5; 148,2; 137,9; 133,9; 132,5; 130,9; 130,6; 130,4; 130,4; 129,8; 129,3; 129,2; 129,1; 129,0; 128,8; 128,2; 126,9; 126,7; 126,6; 125,9; 125,7; 122,3; 121,6; 118,8; 117,0; 44,1; 43,7. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 624,1886 encontrado 624,1885.

1-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(3-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)propil)tiourea (**37i**).



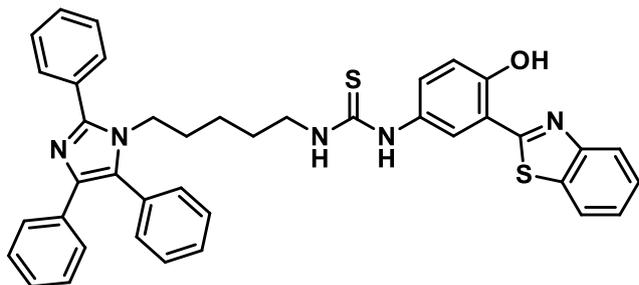
Sólido amarelo. Rendimento 69%. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 12,74 (s; 1H); 8,06 (d; $J = 8,2$ Hz; 1H); 7,97 (d; $J = 8,2$ Hz; 1H); 7,72 – 7,65 (m; 3H); 7,63 – 7,54 (m; 2H); 7,54 – 7,36 (m; 19H); 7,26 – 7,08 (m; 5H); 6,99 (dd; $J = 8,7$ e $2,1$ Hz; 1H); 5,47 (s; 1H); 4,01 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,39 – 3,30 (m; 3H); 1,77 – 1,66 (m; 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 181,82; 167,79; 157,33; 151,59; 147,60; 138,02; 134,24; 132,55; 131,08; 131,01; 130,94; 130,83; 129,49; 129,22; 129,13; 129,07; 128,83; 128,81; 128,09; 127,22; 127,13; 126,84; 126,42; 126,20; 122,46; 121,72; 119,54; 117,57; 42,38; 42,22; 30,30.

1-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butil)tiourea (**37j**).



Sólido amarelo. Rendimento 95%. Ponto de fusão: 210-211 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3296, 3031, 2946, 1539, 1500, 1229. RMN de ^1H (400 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,47 (sl; 1H); 9,32 (sl; 1H); 8,14 (d; $J = 7,9$; 1H); 8,08 (d; $J = 2,6$ Hz; 1H); 8,01 (d; $J = 8,0$ Hz; 1H); 7,78 – 7,71 (m; 2H); 7,60 – 7,38 (m; 13H); 7,27 (dd; $J = 8,5$ e $1,7$ Hz; 1H); 7,23 – 7,16 (m; 2H); 7,15 – 7,09 (m; 1H); 7,03 (d; $J = 8,7$ Hz; 1H); 3,95 (t; $J = 7,3$ Hz; 2H); 3,20 – 3,11 (m; 2H); 1,38 – 1,26 (m; 2H); 1,22 – 1,11 (m; 2H). RMN de ^{13}C (100 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 181,2; 164,9; 154,2; 151,9; 147,2; 137,0; 135,1; 134,9; 131,6; 131,4; 131,3; 130,2; 129,6; 129,4; 129,2; 129,1; 128,5; 126,9; 126,5; 125,5; 124,8; 122,5; 122,4; 118,7; 117,5; 44,6; 43,4; 27,7; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 652,2199 encontrado 652,2199.

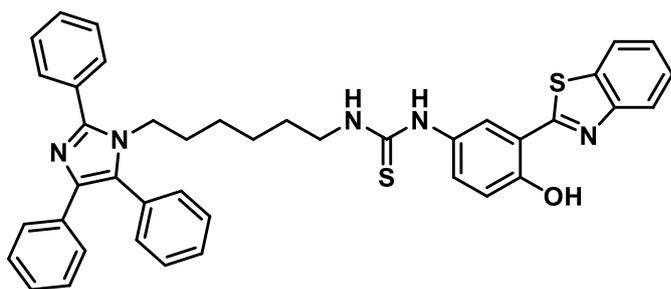
1-(3-(benzo[d]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)tiourea (**37k**).



Sólido amarelo. Rendimento 81%. Ponto de fusão: 118-119 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3241, 3024, 2931, 1741, 1500, 1205. RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ 12,68 (sl; 1H); 8,02 (d; $J = 8,0$ Hz; 1H); 7,91 (d; $J = 8,0$ Hz; 1H); 7,70 –

7,30 (m; 16H); 7,24 – 7,02 (m; 5H); 5,71 (s; 1H); 3,87 (t; $J = 6,9$ Hz; 2H); 3,42 – 3,30 (m; 2H); 1,41 – 1,11 (m; 4H); 1,01 – 0,86 (m; 2H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 181,4; 167,8; 157,1; 151,6; 147,6; 137,6; 134,2; 132,5; 131,2; 131,1; 130,9; 129,5; 129,1; 129,1; 129,0; 128,7; 128,5; 128,1; 127,6; 127,2; 127,0; 126,8; 126,4; 126,3; 126,1; 122,4; 121,7; 119,3; 117,4; 44,8; 44,4; 29,9; 29,7; 28,1; 23,3. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 666,2356 encontrado 666,2360.

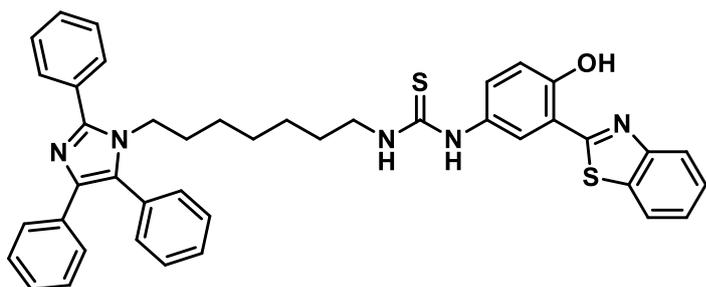
1-(3-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)tioureia (**37l**).



Sólido amarelo. Rendimento 65%. Ponto de fusão: 104-105 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3381, 3047, 2931, 1555, 1267. RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 12,69 (sl; 1H); 8,01 (d; $J = 8,1$ Hz; 1H); 7,90 (d; $J = 7,8$ Hz; 1H);

7,68 – 7,62 (m; 3H); 7,58 – 7,34 (m; 13H); 7,22 – 7,15 (m; 3H); 7,15 – 7,09 (m; 2H); 5,79 (sl; 1H); 3,85 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,49 – 3,38 (m; 2H); 1,36 – 1,21 (m; 4H); 1,02 – 0,91 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 181,3; 167,8; 157,1; 151,5; 147,6; 137,6; 134,3; 132,5; 131,3; 131,2; 130,9; 129,6; 129,1; 129,1; 128,9; 128,7; 128,5; 128,1; 127,6; 127,2; 127,0; 126,8; 126,3; 126,2; 126,1; 122,3; 121,6; 119,3; 117,4; 45,1; 44,5; 30,1; 28,5; 25,8; 25,7. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 680,2512 encontrado 680,2511.

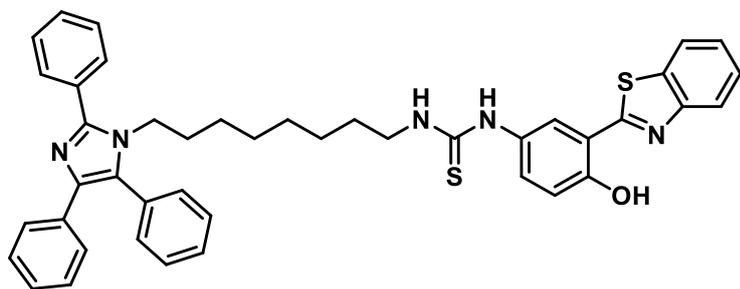
1-(3-(benzo[*d*]tiazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)tioureia (**37m**).



Sólido amarelo. Rendimento 77%. Ponto de fusão: 109-110 °C. FTIR (KBr) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3249, 3031, 2931, 1734, 1500, 1244. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 12,69 (sl; 1H); 8,03 (d; $J = 7,9$ Hz; 1H); 7,92 (d; $J = 7,4$

Hz; 1H); 7,72 (sl; 1H); 7,70 – 7,65 (m; 2H); 7,59 – 7,39 (m; 13H); 7,24 – 7,17 (m; 3H); 7,17 – 7,10 (m; 2H); 5,86 (sl; 1H); 3,87 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,59 – 3,46 (m; 2H); 1,46 – 1,36 (m; 2H); 1,36 – 1,24 (m; 2H); 1,14 – 0,87 (m; 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz; CDCl_3) δ 181,4; 168,0; 157,0; 151,6; 147,7; 137,7; 134,5; 132,6; 131,4; 131,3; 131,0; 130,9; 129,7; 129,2; 129,1; 129,0; 128,8; 128,7; 128,1; 127,0; 126,9; 126,4; 126,2; 126,1; 122,4; 121,7; 119,3; 117,4; 45,2; 44,6; 30,2; 28,8; 28,2; 26,4; 26,1. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 694,2669 encontrado 694,2666.

1-(3-(benzo[d]oxazol-2-il)-4-hidroxifenil)-3-(8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)tiourea (37n).



Sólido amarelo. Rendimento:

73%. Ponto de fusão: 92-93 °C.

FTIR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3374, 3055, 2938, 1672, 1563, 1252.

RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ 12,62 (sl; 1H); 8,02 – 7,94 (m;

2H); 7,89 – 7,84 (m; 1H); 7,68 – 7,63 (m; 2H); 7,56 – 7,36 (m; 12H); 7,23 – 7,05 (m; 5H); 6,00 (sl; 1H); 3,84 (t; $J = 7,8$ Hz; 2H); 3,56 – 3,49 (m; 2H); 1,48 – 1,38 (m; 2H); 1,33 – 1,23 (m; 2H); 1,13 – 0,96 (m; 4H); 0,94 – 0,84 (m; 4H). RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) δ 181,4; 167,9; 157,1; 151,6; 147,6; 137,6; 134,4; 132,5; 131,4; 131,3; 132,0; 130,9; 129,6; 129,1; 129,0; 128,9; 128,7; 128,6; 128,0; 127,8; 127,0; 126,8; 126,3; 126,2; 126,0; 122,3; 121,6; 119,3; 117,4; 45,3; 44,6; 30,2; 28,9; 28,7; 28,4; 26,6; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 708,2826 encontrado 708,2825.

6.1.14 Procedimento do ensaio de inibição das colinesterases

AChE do peixe *Electrophorus electricus* e a BuChE do soro de cavalo foram utilizados como fonte das colinesterases. As atividades de inibição foram medidas *in vitro* pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Ellman, com algumas modificações. As enzimas liofilizadas, AChE 500 U e BuChE 300 U, foram dissolvidas em tampão fosfato A (8mM K_2HPO_4 , 2,3mM NaH_2PO_4) para obter uma solução mãe de 5 e 3 U mL^{-1} , respectivamente. Em seguida, realizou-se a diluição da solução mãe das enzimas com tampão fosfato B (8 mM K_2HPO_4 , 2,3 mM NaH_2PO_4 , 0,15 M NaCl, 0,05% Tween 20, pH7,6) para produzir uma solução 0,5 e 0,3 U mL^{-1} , respectivamente. As amostras foram dissolvidas em tampão fosfato B com 1,25% de CHCl_3 e 13,75% de MeOH como co-solventes na mistura. 300 μL da solução da enzima e 300 μL da solução da amostra foram misturados em um tubo de teste e incubados a temperatura ambiente. A reação começou adicionando 600 μL da solução substrato (0,5 mM DTNB, 0,6 mM iodeto de acetilcolina/iodeto de butirilticolina, 0,1 M NaH_2PO_4 , pH 7,5), e a absorbância foi lida a 405 nm por 120 s a 25 °C. A atividade da enzima foi calculada por comparação da velocidade de reação da amostra com a do branco. Todas as reações foram realizadas em triplicatas, e o IC_{50} foi determinado usando o GraphPad Prism 5. Tacrina (99%) foi usada como inibidor de referência.

6.1.15 Procedimento do ensaio de citotoxicidade em modelos *in vitro*

As linhagens celulares VERO, HepG2 e C6 foram compradas da BCRJ (Banco de células do Rio de Janeiro). Todas as células foram mantidas no meio Dulbecco (DMEM) suplementado com 10% de soro bovino fetal (FBS, células Vero e HepG2) ou 5% FBS (células C6), 0,5% anfotericina B $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, 0,5% penicilina 100IU mL^{-1} e estreptomicina 10mg mL^{-1} , a 37°C , em uma atmosfera úmida contendo 5% de CO_2 . As células foram cultivadas em uma placa de 96 poços e incubadas por 24 h. Para os estudos de citotoxicidade, os compostos selecionados foram dissolvidos no meio de cultura contendo 0,5% de DMSO, e as células foram expostas a eles em concentrações acima de $125 \mu\text{M}$ (22b e 23h) ou $500 \mu\text{M}$ (tacrina), por 24 h. A viabilidade celular foi determinada pelo método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazól). Pelo menos três experimentos independentes foram realizados em triplicata para cada teste ($n = 3$). Os resultados foram expressos como IC_{50} comparando com o controle (veículo DMSO a 50%). O software GraphPad Prism foi utilizado na análise estatística.

7 Referências

1. A. Siwach and P. K. Verma, *Bmc Chem.* **2021**, 15, Artigo N° 12.
2. S. Bansal, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2021**, 18, 383-397.
3. R. B. Orfao, J. Alves and F. H. Bartoloni, *J. Fluoresc.* **2016**, 26, 1373-1380.
4. N. P. Debia, J. J. P. Rodriguez, C. H. da Silveira, O. A. Chaves, B. A. Iglesias, F. S. Rodembusch and D. S. Ludtke, *J. Mol. Liq.*, **2020**, 309, 113092.
5. J. P. B. Lopes, V. S. Camara, D. Russowsky, F. D. Santos, R. Beal, P. A. Nogara, J. B. T. da Rocha, P. F. B. Goncalves, F. S. Rodembusch and M. A. Ceschi, *New J. Chem.*, **2018**, 42, 17126-17137.
6. T. I. Uzabay, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **2008**, 32, 915-924.
7. M. A. Ceschi, J. S. da Costa, J. P. B. Lopes, V. S. Camara, L. F. Campo, A. C. D. Borges, C. A. S. Goncalves, D. F. de Souza, E. L. Konrath, A. L. M. Karl, I. A. Guedes and L. E. Dardenne, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 121, 758-772.
8. J. S. da Costa, J. P. B. Lopes, D. Russowsky, C. L. Petzhold, A. C. de Amorim Borges, M. A. Ceschi, E. Konrath, C. Batassini, P. S. Lunardi and C. A. S. Goncalves, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 62, 556-563.
9. N. Salehi, B. B. F. Mirjalili, H. Nadri, Z. Abdolahi, H. Forootanfar, A. Samzadeh-Kermani, T. T. Kucukkilinc, B. Ayazgok, S. Emami, I. Haririan, M. Sharifzadeh, A. Foroumadi and M. Khoobi, *Bioorg. Chem.* **2019**, 83, 559-568.
10. A. Milelli, A. De Simone, N. Ticchi, H. H. Chen, N. Betari, V. Andrisano and V. Tumiatti, *Curr. Med. Chem.* **2017**, 24, 3522-3546.
11. G. C. Alexander, S. Emerson and A. S. Kesselheim, *J. Am. Med. Assoc.* **2021**, 325, 1717-1718.
12. A. Mullard, *Nature*, **2021**, 594, 309-310.
13. Alzheimer's Association, *Alzheimers & Dementia*, **2020**, 16, 391-460.
14. S. Andrade, M. J. Ramalho, J. A. Loureiro and M. D. Pereira, *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 2313.
15. R. M. Ransohoff, *Science*, **2016**, 353, 777-783.
16. Y. T. Wu, A. S. Beiser, M. M. B. Breteler, L. Fratiglioni, C. Helmer, H. C. Hendrie, H. Honda, M. A. Ikram, K. M. Langa, A. Lobo, F. E. Matthews, T. Ohara, K. Peres, C. Qiu, S. Seshadri, B. M. Sjolund, I. Skoog and C. Brayne, *Nat. Rev. Neurol.* **2017**, 13, 327-379.
17. M. Prince, A. Comas-Herrera, M. Knapp, M. Guerchet and M. Karagiannidou, *World Alzheimer Report 2016: Improving healthcare for people living with dementia. C overage, Quality and costs now and in the future* London, **2016**.

18. E. Nichols, C. E. I. Szoeki, S. E. Vollset, N. Abbasi, F. Abd-Allah, J. Abdela, M. T. E. Aichour, R. O. Akinyemi, F. Alahdab, S. W. Asgedom, A. Awasthi, S. L. Barker-Collo, B. T. Baune, Y. Bejot, A. B. Belachew, D. A. Bennett, B. Biadgo, A. Bijani, M. S. B. Sayeed, C. Brayne, D. O. Carpenter, F. Carvalho, F. Catala-Lopez, E. Cerin, J. Y. J. Choi, A. K. Dang, M. G. Degefa, S. Djalalinia, M. Dubey, E. E. Duken, D. Edvardsson, M. Endres, S. Eskandarieh, A. Faro, F. Farzadfar, S. M. Fereshtehnejad, E. Fernandes, I. Filip, F. Fischer, A. K. Gebre, D. Geremew, M. Ghasemi-Kasman, E. V. Gnedovskaya, R. Gupta, V. Hachinski, T. B. Hagos, S. Hamidi, G. J. Hankey, J. M. Haro, S. I. Hay, S. S. N. Irvani, R. P. Jha, J. B. Jonas, R. Kalani, A. Karch, A. Kasaeian, Y. S. Khader, I. A. Khalil, E. A. Khan, T. Khanna, T. A. M. Khoja, J. Khubchandani, A. Kisa, K. Kissimova-Skarbek, M. Kivimaki, A. Koyanagi, K. J. Krohn, G. Logroscino, S. Lorkowski, M. Majdan, R. Malekzadeh, W. Marz, J. Massano, G. Mengistu, A. Meretoja, M. Mohammadi, M. Mohammadi-Khanaposhtani, A. H. Mokdad, S. Mondello, G. Moradi, G. Nagel, M. Naghavi, G. Naik, L. H. Nguyen, T. H. Nguyen, Y. L. Nirayo, M. R. Nixon, R. Ofori-Asenso, F. A. Ogbo, A. T. Olagunju, M. O. Owolabi, S. Panda-Jonas, V. M. A. Passos, D. M. Pereira, G. D. Pinilla-Monsalve, M. A. Piradov, C. D. Pond, H. Poustchi, M. Qorbani, A. Radfar, R. C. Reiner, S. R. Robinson, G. Roshandel, A. Rostami, T. C. Russ, P. S. Sachdev, H. Safari, S. Safiri, R. Sahathevan, Y. Salimi, M. Satpathy, M. Sawhney, M. Saylan, S. G. Sepanlou, A. Shafieesabet, M. A. Shaikh, M. A. Sahraian, M. Shigematsu, R. Shiri, I. Shiue, J. P. Silva, M. Smith, S. Sobhani, D. J. Stein, R. Tabares-Seisdedos, M. R. Tovani-Palone, B. X. Tran, T. T. Tran, A. T. Tsegay, I. Ullah, N. Venketasubramanian, V. Vlassov, Y. P. Wang, J. Weiss, R. Westerman, T. Wijeratne, G. M. A. Wyper, Y. Yano, E. M. Yimer, N. Yonemoto, M. Yousefifard, Z. Zaidi, Z. Zare, V. L. Feigin, T. Vos and C. J. L. Murray, *Lancet Neurol.* **2019**, 18, 88-106.
19. N. E. H. Hammoudi, W. Sobhi, A. Attoui, T. Lemaoui, A. Erto and Y. Benguerba, *J. Mol. Struct.* **2021**, 1229, 129845.
20. A. De Falco, D. S. Cukierman, R. A. Hauser-Davis and N. A. Rey, *Quim. Nova* **2016**, 39, 63-80.
21. A. Kumar, A. Singh and Ekavali, *Pharmacol. Rep.* **2015**, 67, 195-203.
22. B. M. McGleenon, K. B. Dynan and A. P. Passmore, *British J. Clin. Pharmacol.* **1999**, 48, 471-480
23. H. W. Querfurth and F. M. LaFerla, *N. Engl. J. Med.* **2010**, 362, 329-344.
24. K. Sharma, *Mol. Med. Rep.* **2019**, 20, 1479-1487.

25. J. A. Hardy and G. A. Higgins, *Science*, **1992**, 256, 184-185.
26. F. Kametani and M. Hasegawa, *Front. Neurosci.* **2018**, 12. Artigo N° 25.
27. E. Giacobini and G. Gold, *Nature Rev. Neurol.* **2013**, 9, 677-686.
28. D. J. Selkoe and J. Hardy, *Embo Mol. Med.* **2016**, 8, 595-608.
29. W. Araki and F. Kametani, *Antioxidants*, 2022, **11**, 132.
30. J. W. Arndt, F. Qian, B. A. Smith, C. Quan, K. P. Kilambi, M. W. Bush, T. Walz, R. B. Pepinsky, T. Bussiere, S. Hamann, T. O. Cameron and P. H. Weinreb, *Sci. Rep.*, **2018**, 8. Artigo N° 6412.
31. L. K. Huang, S. P. Chao and C. J. Hu, *J. Biomed. Sci.* **2020**, 27. Artigo N° 18.
32. A. Mullard, *Nature*, 2021, **599**, 544-545.
33. I. Khlistunova, J. Biernat, Y. Wang, M. Pickhardt, M. V. Bergen, Z. Gazova, E. Mandelkow and E. M. Mandelkow, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 1205-1214.
34. J. Gotz, A. Ittner and L. M. Ittner, *Br. J. Pharmacol.* **2012**, 165, 1246-1259.
35. K. Hochgrafe, A. Sydow, D. Matenia, D. Cadinu, S. Konen, O. Petrova, M. Pickhardt, P. Goll, F. Morellini, E. Mandelkow and E. M. Mandelkow, *Acta Neuropathol. Comm.* **2015**, 3. Artigo N° 25.
36. S. Gauthier, H. H. Feldman, L. S. Schneider, G. K. Wilcock, G. B. Frisoni, J. H. Hardlund, H. J. Moebius, P. Bentham, K. A. Kook, D. J. Wischik, B. O. Schelter, C. S. Davis, R. T. Staff, L. Bracoud, K. Shamsi, J. M. D. Storey, C. R. Harrington and C. M. Wischik, *Lancet* **2016**, 388, 2873-2884.
37. W. Noble, E. Planel, C. Zehr, V. Olm, J. Meyerson, F. Suleman, K. Gaynor, L. Wang, J. LaFrancois, B. Feinstein, M. Burns, P. Krishnamurthy, Y. Wen, R. Bhat, J. Lewis, D. Dickson and K. Duff, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, 102, 6990-6995.
38. S. Le Corre, H. W. Klafki, N. Plesnila, G. Hubinger, A. Obermeier, H. Sahagun, B. Monse, P. Seneci, J. Lewis, J. Eriksen, C. Zehr, M. Yue, E. McGowan, D. W. Dickson, M. Hutton and H. M. Roder, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, 103, 9673-9678
39. H. Hampel, L. S. Schneider, E. Giacobini, M. Kivipelto, S. Sindi, B. Dubois, K. Broich, R. Nistico, P. S. Aisen and S. Lista, *Expert Rev. Neurother.* **2015**, 15, 83-105.
40. T. Guo, W. Noble and D. P. Hanger, *Acta Neuropathol.* **2017**, 133, 665-704.
41. L. A. Craig, N. S. Hong and R. J. McDonald, *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2011**, 35, 1397-1409.
42. R. T. Bartus, R. L. Dean, B. Beer and A. S. Lipka, *Science* **1982**, 217, 408-417.

43. V. Douchamps and C. Mathis, *Behav. Pharmacol.* **2017**, 28, 112-123.
44. H. Wang and H. Zhang, *Acs Chem. Neurosci.* **2019**, 10, 852-862.
45. T. H. Ferreira-Vieira, I. M. Guimaraes, F. R. Silva and F. M. Ribeiro, *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, 14, 101-115.
46. L. G. Patrick, *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, United States, First edn., **2009**.
47. M. F. Bear, B. W. Connors and M. A. Paradiso, *Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso*, Artmed, Porto Alegre, 3ª edição edn., **2010**.
48. D. L. Nelson and M. M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, Artmed, Porto Alegre, 5ª Edição edn., **2011**.
49. E. Scarpini, P. Scheltens and H. Feldman, *Lancet Neurol.* **2003**, 2, 539-547.
50. R. T. Bartus, *Exp. Neurol.* **2000**, 163, 495-529.
51. L. Pezzementi and A. Chatonnet, *Chem.-Biol. Interact.* **2010**, 187, 27-33.
52. C. N. Pope and S. Brimijoin, *Biochem. Pharmacol.* **2018**, 153, 205-216.
53. H. Dvir, I. Silman, M. Harel, T. L. Rosenberry and J. L. Sussman, *Chem.-Biol. Interact.* **2010**, 187, 10-22.
54. A. Alvarez, C. Opazo, R. Alarcon, J. Garrido and N. C. Inestrosa, *J. Mol. Biol.* **1997**, 272, 348-361
55. I. R. Macdonald, S. P. Maxwell, G. A. Reid, M. K. Cash, D. R. Debay and S. Darvesh, *J. Alzheimers Dis.* **2017**, 58, 491-504.
56. S. L. Primo-Parmo, C. F. Bartels, B. Wiersema, A. F. L. van der Spek, J. W. Innis and B. N. La Du, *Am. J. Hum. Genet.* **1996**, 58, 52-64.
57. O. Lockridge, *Pharmacol. Ther.* **2015**, 148, 34-46.
58. C. E. Mattes, T. J. Lynch, A. Singh, R. M. Bradley, P. A. Kellaris, R. O. Brady and K. L. Dretchen, *Toxicol. Appl Pharmacol.* **1997**, 145, 372-380.
59. P. Masson and O. Lockridge, *Archiv. Biochem. Biophys.* **2010**, 494, 107-120.
60. S. H. Yang, Q. Sun, H. Xiong, S. Y. Liu, B. Moosavi, W. C. Yang and G. F. Yang, *Chem. Comm.* **2017**, 53, 3952-3955.
61. Q. Li, H. Yang, Y. Chen and H. Sun, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 132, 294-309.
62. V. K. Ramanan, S. L. Risacher, K. Nho, S. Kim, S. Swaminathan, L. Shen, T. M. Foroud, H. Hakonarson, M. J. Huentelman, P. S. Aisen, R. C. Petersen, R. C. Green, C. R. Jack, R. A. Koeppe, W. J. Jagust, M. W. Weiner, A. J. Saykin and I. Alzheimer's Dis Neuroimaging, *Mol. Psychiatry* **2014**, 19, 351-357.
63. D. R. DeBay, G. A. Reid, I. R. Macdonald, G. Mawko, S. Burrell, E. Martin, C. V. Bowen and S. Darvesh, *Brain Res.* **2017**, 1671, 102-110.

64. M. R. Leung and T. Zeev-Ben-Mordehai, *J. Neurochem.* **2021**, 158, 1236-1243.
65. M. R. Leung, L. S. van Bezouwen, L. M. Schopfer, J. L. Sussman, I. Silman, O. Lockridge and T. Zeev-Ben-Mordehai, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, 115, 13270-13275.
66. K. M. Boyko, T. N. Baymukhametov, Y. M. Chesnokov, M. Hons, S. V. Lushchekina, P. V. Konarev, A. V. Lipkin, A. L. Vasiliev, P. Masson, V. O. Popov and M. V. Kovalchuk, *Biochimie* **2019**, 156, 196-205.
67. J. L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker and I. Silman, *Science*, **1991**, 253, 872-879.
68. T. L. Rosenberry, X. Brazzolotto, I. R. Macdonald, M. Wandhammer, M. Trovaslet-Leroy, S. Darvesh and F. Nachon, *Molecules* **2017**, 22, 2098.
69. M. Bajda, A. Wieckowska, M. Hebda, N. Guzior, C. A. Sotriffer and B. Malawska, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 5608-5632.
70. G. Johnson and S. W. Moore, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, 12, 217-225.
71. P. J. Houghton, Y. Ren and M. J. Howes, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 181-199.
72. Y. Zhang, J. Kua and J. A. McCammon, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10572-10577.
73. M. Pohanka, *Biomed. Pap.-Olomouc* **2011**, 155, 219-229.
74. R. T. Delfino, T. S. Ribeiro and J. D. Figueroa-Villar, *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, 20, 407-428.
75. B. Brus, U. Kosak, S. Turk, A. Pisljar, N. Coquelle, J. Kos, J. Stojan, J. P. Colletier and S. Gobec, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 8167-8179.
76. A. De Falco, D. S. Cukierman, R. A. Hauser-Davis and N. A. Rey, *Quím. Nova* **2016**, 39, 63-80.
77. H. Xu, S. Garcia-Ptacek, L. Jonsson, A. Wimo, P. Nordstrom and M. Eriksdotter, *Neurology* **2021**, 96, 2220-2230.
78. P. Anand and B. Singh, *Archiv. Pharm. Res.* **2013**, 36, 375-399.
79. Y. P. Pang, P. Quiram, T. Jelacic, F. Hong and S. Brimijoin, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 23646-23649.
80. W. Li, M. Mak, H. Jiang, Q. Wang, Y. Pang, K. Chen and Y. Han, *Neurotherapeutics* **2009**, 6, 187-201.
81. L. Heller, M. Kahnt, A. Loesche, P. Grabandt, S. Schwarz, W. Brandt and R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 126, 652-668.

82. D. A. S. Yamazaki, A. A. Candido, M. C. Bagatin, M. Machinski Jr, S. A. G. Mossini, R. M. Pontes, F. A. Rosa, E. A. Basso and G. F. Gauze, *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, 27, 1616-1625.
83. O. Unsal-Tan, K. Ozadali-Sari, B. Ayazgok, T. T. Kucukkilinc and A. Balkan, *Med. Chem. Res.* **2017**, 26, 1506-1515.
84. Q. S. Yu, H. W. Holloway, J. L. Flippen-Anderson, B. Hoffman, A. Brossi and N. H. Greig, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 4062-4071.
85. E. H. Rydberg, B. Brumshtein, H. M. Greenblatt, D. M. Wong, D. Shaya, L. D. Williams, P. R. Carrier, Y. P. Pang, I. Silman and J. L. Sussman, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 5491-5500.
86. A. Rampa, F. Belluti, S. Gobbi and A. Bisi, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, 11, 2716-2730.
87. D. Dolles, M. Nimczick, M. Scheiner, J. Ramler, P. Stadtmuller, E. Sawatzky, A. Drakopoulos, C. Sotriffer, H. J. Wittmann, A. Strasser and M. Decker, *ChemMedChem*, **2016**, 11, 1270-1283.
88. S. Y. Li, X. B. Wang and L. Y. Kong, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 71, 36-45.
89. T. Su, S. Xie, H. Wei, J. Yan, L. Huang and X. Li, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 5830-5840.
90. L. F. Pan, X. B. Wang, S. S. Xie, S. Y. Li and L. Y. Kong, *MedChemComm*, **2014**, 5, 609-616.
91. S. S. Xie, J. S. Lan, X. B. Wang, N. Jiang, G. Dong, Z. R. Li, K. D. G. Wang, P. P. Guo and L. Y. Kong, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 93, 42-50.
92. L. Wang, G. Esteban, M. Ojima, O. M. Bautista-Aguilera, T. Inokuchi, I. Moraleda, I. Iriepa, A. Samadi, M. B. H. Youdim, A. Romero, E. Soriano, R. Herrero, A. P. F. Fernandez, R. M. Murillo, J. Marco-Contelles and M. Unzeta, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 80, 543-561.
93. O. M. Soltan, M. E. Shoman, S. A. Abdel-Aziz, A. Narumi, H. Konno and M. Abdel-Aziz, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, 225, 113768.
94. G. F. Makhaeva, N. V. Kovaleva, N. P. Boltneva, S. V. Lushchekina, T. Y. Astakhova, E. V. Rudakova, A. N. Proshin, I. V. Serkov, E. V. Radchenko, V. A. Palyulin, S. O. Bachurin and R. J. Richardson, *Molecules* **2020**, 25, 3915.
95. A. Singh, S. Sharma, S. Arora, S. Attri, P. Kaur, H. K. Gulati, K. Bhagat, N. Kumar, H. Singh, J. V. Singh and P. M. S. Bedi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30, 127477.

96. O. M. Bautista-Aguilera, G. Esteban, I. Bolea, K. Nikolic, D. Agbaba, I. Moraleda, I. Iriepa, A. Samadi, E. Soriano, M. Unzeta and J. Marco-Contelles, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 75, 82-95.
97. B. Wardle, *Principles and Applications of Photochemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, United Kingdom, First edn., **2009**.
98. B. Valeur, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VHC Verlag GmbH, Germany, **2001**.
99. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Third ed.; Springer: USA, **2006**.
100. R. Parkesh, E. B. Veale and T. Gunnlaugsson, in *Chemosensors: Principles, Strategies and Applications*, eds. B. Wang and E. V. Anslyn, John Wiley & Sons, Inc., First edn., **2011**.
101. M. Kasha, *Discussions of the Faraday Society* **1950**, 14-19.
102. Y. Zhou, G. Baryshnikov, X. Li, M. Zhu, H. Agren and L. Zhu, *Chem. Mat.* **2018**, 30, 8008-8016.
103. A. P. Demchenko, V. I. Tomin and P. T. Chou, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 13353-13381.
104. L. Shi, C. Yan, Z. Guo, W. Chi, J. Wei, W. Liu, X. Liu, H. Tian and W. H. Zhu, *Nature Comm.* **2020**, 11. Artigo N° 793.
105. H. Qian, M. E. Cousins, E. H. Horak, A. Wakefield, M. D. Liptak and I. Aprahamian, *Nat. Chem.* **2017**, 9, 83-87.
106. C. Wurth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles and U. Resch-Genger, *Nat. Protoc.* **2013**, 8, 1535-1550.
107. A. Weller, *Naturwissenschaften*, **1955**, 42, 175-176.
108. F. S. Rodembusch, F. P. Leusin, L. F. C. Medina, A. Brandelli and V. Stefani, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, 4, 254-259.
109. M. L. Odyniec, S. J. Park, J. E. Gardiner, E. C. Webb, A. C. Sedgwick, J. Yoon, S. D. Bull, H. M. Kim and T. D. James, *Chem. Sci.* **2020**, 11, 7329-7334.
110. F. S. Santos, E. Ramasamy, V. Ramamurthy and F. S. Rodembusch, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2016**, 317, 175-185.
111. I. Kaur, Shivani, P. Kaur and K. Singh, *Dyes Pigm.* **2020**, 176, 108198.
112. P. T. Chou, Y. C. Chen, W. S. Yu, Y. H. Chou, C. Y. Wei and Y. M. Cheng, *J. Phys. Chem. A* **2001**, 105, 1731-1740.
113. L. A. Baker, M. D. Horbury, S. E. Greenough, M. N. R. Ashfold and V. G. Stavros, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2015**, 14, 1814-1820.

114. D. Ghosh, S. Batuta, S. Das, N. A. Begum and D. Mandal, *J. Phys. Chem. B* **2015**, 119, 5650-5661.
115. S. J. Schmidtke, D. F. Underwood and D. A. Blank, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8620-8621.
116. M. J. Paterson, M. A. Robb, L. Blancafort and A. D. DeBellis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 2912-2922.
117. E. Hadjoudis and I. M. Mavridis, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 579-588.
118. T. Kroetz, P. A. Nogara, F. S. Santos, L. C. da Luz, V. S. Camara, J. B. T. da Rocha, A. G. Dal-Bo and F. S. Rodembusch, *Molecules* **2021**, 26, 6728.
119. C. S. Abeywickrama, K. A. Bertman, L. J. McDonald, N. Alexander, D. Dahal, H. J. Baumann, C. R. Salmon, C. Wesdemiotis, M. Konopka, C. A. Tessier and Y. Pang, *J. Mat. Chem. B* **2019**, 7, 7502-7514.
120. X. Jin, X. Sun, X. Di, X. Zhang, H. Huang, J. Liu, P. Ji and H. Zhu, *Sens. Actuators B* **2016**, 224, 209-216.
121. A. C. Sedgwick, L. Wu, H. H. Han, S. D. Bull, X. P. He, T. D. James, J. L. Sessler, B. Z. Tang, H. Tian and J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, 47, 8842-8880.
122. K. I. Hong, S. H. Park, S. M. Lee, I. Shin and W. D. Jang, *Sens. Actuators B* **2019**, 286, 148-153.
123. E. S. Moraes, L. G. T. A. Duarte, J. C. Germino and T. D. Z. Atvars, *J. Phys. Chem. C*, **2020**, 124, 22406-22415.
124. Q. Zheng, F. Ding, X. Hu, J. Feng, J. Shen and X. He, *Bioorg. Chem.* **2021**, 109, 104746.
125. L. Chen, S. J. Park, D. Wu, H. M. Kim and J. Yoon, *Dyes Pigm.* **2018**, 158, 526-532.
126. C. B. da Silva, E. S. Gil, F. S. Santos, A. M. Moras, L. Steffens, P. F. B. Goncalves, D. J. Moura, D. S. Ludtke and F. S. Rodembusch, *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 15210-15224.
127. J. Wang, H. Baumann, X. Bi, L. P. Shriver, Z. Zhang and Y. Pang, *Bioorg. Chem.* **2020**, 96, 103585.
128. M. H. Lee, J. S. Kim and J. L. Sessler, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 4185-4191.
129. X. Qin, X. Yang, L. Du and M. Li, *RSC Med. Chem.* **2021**, 12, 1826-1838.
130. A. Verma, S. Joshi and D. Singh, *J. Chem.* **2013**, 2013. Artigo N° 329412.
131. J. H. Wikel, C. J. Paget, D. C. DeLong, J. D. Nelson, C. Y. E. Wu, J. W. Paschal, A. Dinner, R. J. Templeton, M. O. Chaney, N. D. Jones and J. W. Chamberlin, *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 368-372.

132. S. A. Forman, *Anesthesiology*, **2011**, 114, 695-707.
133. A. S. Alpan, S. Parlar, L. Carlino, A. H. Tarikogullari, V. Alptuzun and H. S. Gunes, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 4928-4937.
134. J. Liu, J. Qiu, M. Wang, L. Wang, L. Su, J. Gao, Q. Gu, J. Xu, S. L. Huang, L. Q. Gu, Z. S. Huang and D. Li, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2014**, 1840, 2886-2903.
135. J. Alves, A. Boaro, J. S. da Silva, T. L. Ferreira, V. B. Keslerek, C. A. Cabral, R. B. Orfao Jr, L. F. M. L. Ciscato and F. H. Bartoloni, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2015**, 14, 320-328.
136. S. Hatano and J. Abe, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 5855-5860.
137. M. Tsunenaga, H. Iga and M. Kimura, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 1877-1880.
138. A. Boaro, R. A. Reis, C. S. Silva, D. U. Melo, A. G. G. C. Pinto and F. H. Bartoloni, *J. Org. Chem.* **2021**, 86, 6633-6647.
139. N. Kishikawa, K. Ohyama, A. Saiki, A. Matsuo, M. F. B. Ali, M. Wada, K. Nakashima and N. Kuroda, *Anal. Chim. Acta* **2013**, 780, 1-6.
140. J. P. B. Lopes, L. Silva, M. A. Ceschi, D. S. Ludtke, A. R. Zimmer, T. C. Ruaro, R. F. Dantas, C. M. C. de Salles, F. P. Silva Jr, M. R. Senger, G. Barbosa, L. M. Lima, I. A. Guedes and L. E. Dardenne, *MedChemComm* **2019**, 10, 2089-2101.
141. N. Rani, A. Sharma and R. Singh, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2015**, 12, 34-65.
142. J. A. H. Munoz, J. J. Junior and F. M. da Silva, *Curr. Org. Synth.* **2014**, 11, 824-834.
143. M. M. Heravi, F. Derikvand and F. F. Bamoharram, *J. Mol. Catal. A* **2007**, 263, 112-114.
144. S. Balalaie and A. Arabanian, *Green Chem.* **2000**, 2, 274-276.
145. S. Das Sharma, P. Hazarika and D. Konwar, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 2216-2220.
146. C. G. Mortimer, G. Wells, J. P. Crochard, E. L. Stone, T. D. Bradshaw, M. F. G. Stevens and A. D. Westwell, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 179-185.
147. L. Keurulainen, O. Salin, A. Siiskonen, J. M. Kern, J. Alvesalo, P. Kiuru, M. Maass, J. Yli-Kauhaluoma and P. Vuorela, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 7664-7674.
148. J. Senger, J. Melesina, M. Marek, C. Romier, I. Oehme, O. Witt, W. Sippl and M. Jung, *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 1545-1555.
149. R. D. Carpenter and M. J. Kurth, *Nat. Prot.* **2010**, 5, 1731-1736.
150. Y. Wu, H. Xu, J. Yang, J. Li, W. Liang, J. Sun, H. Wang and B. Xu, *New J. Chem.* **2015**, 39, 8908-8914.

151. M. T. Gabr, N. S. El-Gohary, E. R. El-Bendary and M. M. El-Kerdawy, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 85, 576-592.
152. I. Yildiz-Oren, I. Yalcin, E. Aki-Sener and N. Ucarturk, *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39, 291-298.
153. N. H. Nam, D. P. T. P. Dung and P. T. Thuong, *Med. Chem.* **2011**, 7, 127-134.
154. L. Huang, W. Zhang, X. Zhang, L. Yin, B. Chen and J. Song, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 5299-5305.
155. K. D. Rynearson, B. Charrette, C. Gabriel, J. Moreno, M. A. Boerneke, S. M. Dibrov and T. Hermann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 3521-3525.
156. K. Serdons, D. Vanderghinste, M. V. Eeckhoudt, P. Borghgraef, H. Kung, F. V. Leuven, T. de Groot, G. Bormans and A. Verbruggen, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2009**, 52, 473-481.
157. H. Watanabe, M. Ono, S. Iikuni, H. Kimura, Y. Okamoto, M. Ihara and H. Saji, *RSC Adv.* **2015**, 5, 1009-1015.
158. I. Diner, J. Dooyema, M. Gearing, L. C. Walker and N. T. Seyfried, *Bioconjugate Chem.* **2017**, 28, 2627-2637.
159. R. S. Keri, C. Quintanova, S. M. Marques, A. R. Esteves, S. M. Cardoso and M. A. Santos, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 4559-4569.
160. S. Mondal, R. Raza and K. Ghosh, *New J. Chem.* **2019**, 43, 10509-10516.
161. E. Horak, P. Kassal and I. M. Steinberg, *Supramol. Chem.* **2018**, 30, 838-857.
162. E. S. Gil, C. B. da Silva, P. A. Nogara, C. H. da Silveira, J. B. T. da Rocha, B. A. Iglesias, D. S. Ludtke, P. F. B. Goncalves and F. S. Rodembusch, *J. Mol. Liq.* **2020**, 297, 111710.
163. V. P. de Souza, F. S. Santos, F. S. Rodembusch, C. B. Braga, C. Ornelas, R. A. Pilli and D. Russowsky, *New J. Chem.* **2020**, 44, 12440-12451.
164. N. P. Prajapati, R. H. Vekariya, M. A. Borad and H. D. Patel, *RSC Adv.* **2014**, 4, 60176-60208.
165. S. Rajasekhar, B. Maiti and K. Chanda, *Synlett* **2017**, 28, 521-541.
166. S. Noel, S. Cadet, E. Gras and C. Hureau, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 7747-7762.
167. B. Wang, Y. Zhang, P. Li and L. Wang, *Chin. J. Chem.* **2010**, 28, 1697-1703.
168. K. Seth, P. Purohit and A. K. Chakraborti, *Curr. Med. Chem.* **2017**, 24, 4638-4676.
169. M. M. Gassaway, M. L. Rives, A. C. Kruegel, J. A. Javitch and D. Sames, *Transl Psychiatry*, **2014**, 4. Artigo N° 411.
170. B. S. McEwen, S. Chattarji, D. M. Diamond, T. M. Jay, L. P. Reagan, P. Svenningsson and E. Fuchs, *Mol. Psychiatry* **2010**, 15, 237-249.

171. T. M. Sobow, M. Maczkiewicz and I. Kloszewska, *Int. J. Geriatric Psychiatry* **2001**, 16, 1108-1109.
172. W. Rushton, B. Whitworth, J. Brown, M. Kurz and J. Rivera, *Clinical Toxicol.* **2021**, 59, 152-157.
173. W. N. Zhao, B. Ghosh, M. Tyler, J. Lalonde, N. F. Joseph, N. Kosaric, D. M. Fass, L. H. Tsai, R. Mazitschek and S. J. Haggarty, *ACS Chem. Neurosci.* **2018**, 9, 2262-2273.
174. C. C. Sanchez-Mateo, V. Darias, L. M. Albertos and M. A. Exposito-Orta, *Arzneimittelforschung-Drug Res.* **2003**, 53, 12-20.
175. F. A. Soares, M. A. Ceschi, D. B. Franceschini, V. P. do Canto, P. A. Netz and L. F. Campo, *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, 30, 2125-2135.
176. G. Berecz, A. Dancso, D. R. Nemeth, L. Kiss, G. Simig and B. Volk, *Synthesis-Stuttgart*, **2022**, 54, A-I.
177. R. I. Storer, C. Aciro and L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 2330-2346.
178. F. R. Wurm and H. A. Klok, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 8220-8236.
179. P. V. R. Schleyer, K. Najafian, B. Kiran and H. Jiao, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 426-431.
180. D. Quinonero, A. Frontera, P. Ballester and P. M. Deya, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 2001-2005.
181. P. Chauhan, S. Mahajan, U. Kaya, D. Hack and D. Enders, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 253-281.
182. W. A. Kinney, M. Abou-Gharbia, D. T. Garrison, J. Schmid, D. M. Kowal, D. R. Bramlett, T. L. Miller, R. P. Tasse, M. M. Zaleska and J. A. Moyer, *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 236-246.
183. M. P. Dwyer, Y. Yu, J. Chao, C. Aki, J. Chao, P. Biju, V. Girijavallabhan, D. Rindgen, R. Bond, R. Mayer-Ezel, J. Jakway, R. W. Hipkin, J. Fossetta, W. Gonsiorek, H. Bian, X. Fan, C. Terminelli, J. Fine, D. Lundell, J. R. Merritt, L. L. Rokosz, B. Kaiser, G. Li, W. Wang, T. Stauffer, L. Ozgur, J. Baldwin and A. G. Taveras, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 7603-7606.
184. F. Lovering, S. Kirincich, W. Wang, K. Combs, L. Resnick, J. E. Sabalski, J. Butera, J. Liu, K. Parris and J. B. Telliez, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 3342-3351.
185. S. J. Tantry, S. D. Markad, V. Shinde, J. Bhat, G. Balakrishnan, A. K. Gupta, A. Ambady, A. Raichurkar, C. Kedari, S. Sharma, N. V. Mudugal, A. Narayan, C. N. N. Kumar, R. Nanduri, S. Bharath, J. Reddy, V. Panduga, K. R. Prabhakar, K.

- Kandaswamy, R. Saralaya, P. Kaur, N. Dinesh, S. Gupta, K. Rich, D. Murray, H. Plant, M. Preston, H. Ashton, D. Plant, J. Walsh, P. Alcock, K. Naylor, M. Collier, J. Whiteaker, R. E. McLaughlin, M. Mallya, M. Panda, S. Rudrapatna, V. Ramachandran, R. Shandil, V. K. Sambandamurthy, K. Mdluli, C. B. Cooper, H. Rubin, T. Yano, P. Iyer, S. Narayanan, S. Kavanagh, K. Mukherjee, V. Balasubramanian, V. P. Hosagrahara, S. Solapure, S. Ravishankar and S. Hameed, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 1379-1399.
186. F. Olmo, C. Rotger, I. Ramirez-Macias, L. Martinez, C. Marin, L. Carreras, K. Urbanova, M. Vega, G. Chaves-Lemaur, A. Sampedro, M. J. Rosales, M. Sanchez-Moreno and A. Costa, *J. Med. Chem.* 2014, **57**, 987-999.
187. Z. Y. Liu, Y. M. Wang, Y. X. Han, L. Liu, J. Jin, H. Yi, Z. R. Li, J. D. Jiang and D. W. Boykin, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 65, 187-194.
188. K. A. Agnew-Francis and C. M. Williams, *Chem. Rev.* **2020**, 120, 11616-11650.
189. B. Svobodova, E. Mezeiova, V. Hepnarova, M. Hrabnova, L. Muckova, T. Kobrlova, D. Jun, O. Soukup, M. L. Jimeno, J. Marco-Contelles and J. Korabecny, *Biomolecules*, **2019**, 9, 379.
190. M. A. Ceschi, R. Pilotti, J. P. B. Lopes, H. Dapont, J. B. T. da Rocha, B. A. Afolabi, I. A. Guedes and L. E. Dardenne, *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, 31, 857-866.
191. J. S. da Costa, Síntese de compostos híbridos tacrina-lofina, tacrina-tianeptina e dímeros bis(n)-lofinas com potencial aplicação no tratamento da doença de Alzheimer. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, **2014**.
192. C. Dardonville, C. Fernandez-Fernandez, S. L. Gibbons, G. J. Ryan, N. Jagerovic, A. M. Gabilondo, J. J. Meana and L. F. Callado, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 6570-6580.
193. V. S. Camara, A. J. Soares, B. Biscussi, A. P. Murray, I. A. Guedes, L. E. Dardenne, T. C. Ruaro, A. R. Zimmer and M. A. Ceschi, *J. Braz. Chem. Soc.* **2021**, 32, 1173-1185.
194. B. Biscussi, Derivados semisintéticos y análogos de compuestos naturales como agentes multifuncionales para la terapia de Alzheimer. Tese de Doutorado, Universidad Nacional del Sur, Argentina, **2020**.
195. G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres and R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88-95.
196. C. A. G. N. Montalbetti and V. Falque, *Tetrahedron*, **2005**, 65, 10827-10852.
197. E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 606-631.

198. N. Platzner, J. P. Bouchet, C. Malen, C. Labrid and E. Mocaer, *Magn. Reson. Chem.* **1992**, 30, 1212-1219.
199. M. C. Rotger, M. N. Pina, A. Frontera, G. Martorell, P. Ballester, P. M. Deya and A. Costa, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 2302-2308.
200. Y. Zhang, M. Jumppanen, M. M. Maksimainen, S. Auno, Z. Awol, L. Ghemtio, H. Venkannagari, L. Lehtio, J. Yli-Kauhaluoma, H. Xhaard and G. B. Gennas, *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, 26, 1588-1597.
201. Y. H. So, J. P. Heeschen, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 3552-3561.
202. F. S. Rodembusch, F. P. Leusin, L. F. Campo and V. Stefani, *J. Lumin.* **2007**, 126, 728-734.
203. S. J. Strickler and R. A. Berg, *J. Chem. Phys.* **1962**, 37, 814-819.
204. J. F. Berbigier, L. Duarte, M. F. Zawacki, B. B. de Araujo, C. D. Santos, T. D. Z. Atvars, P. F. B. Goncalves, C. L. Petzhold and F. S. Rodembusch, *ACS Appl. Polym. Mater.* **2020**, 2, 1406-1416.
205. F. S. Santos, E. Ramasamy, V. Ramamurthy and F. S. Rodembusch, *J. Mater. Chem. C* **2016**, 4, 2820-2827.

Anexos

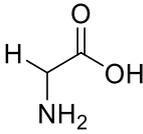
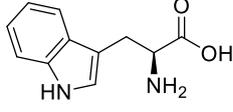
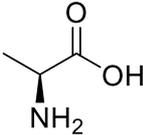
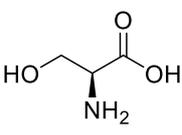
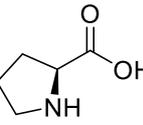
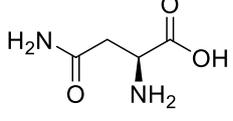
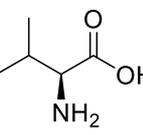
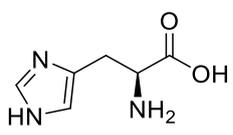
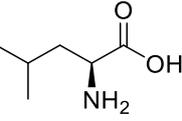
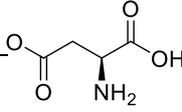
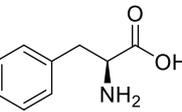
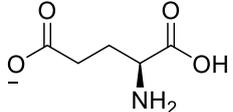
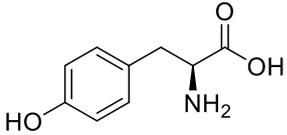
Sumário Anexo

Tabela A1: Abreviatura e estrutura dos aminoácidos presentes nessa Tese.....	140
Figura A1: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 22a	140
Figura A2: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 22a	140
Figura A3: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 22b	141
Figura A4: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 22b	141
Figura A5: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 22c	142
Figura A6: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 22c	142
Figura A7: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23a	143
Figura A8: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23a	143
Figura A9: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23b	144
Figura A10: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23b	144
Figura A11: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23c	145
Figura A12: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23c	145
Figura A13: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23d	146
Figura A14: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23d	146
Figura A15: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23e	147
Figura A16: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23e	147
Figura A17: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23f	148
Figura A18: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23f	148
Figura A19: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23g	149
Figura A20: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23g	149
Figura A21: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23h	150
Figura A22: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23h	150
Figura A23: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23i	151
Figura A24: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23i	151
Figura A25: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 30a	152
Figura A26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 33a	152
Figura A27: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 33b	153
Figura A28: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 33b	153
Figura A29: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 33c	154
Figura A30: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 33c	154
Figura A31: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 25a	155
Figura A32: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 25b	156
Figura A33: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 25b	156

Figura A34: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 25c	157
Figura A35: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 25c	157
Figura A36: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 34a	158
Figura A37: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 34a	158
Figura A38: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 34b	159
Figura A39: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 34b	159
Figura A40: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 34c	160
Figura A41: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 34c	160
Figura A42: Espectro de RMN de ^1H (DMSO-d6, 400 MHz) do composto 37a	161
Figura A43: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (DMSO-d6, 100 MHz) do composto 37a ...	161
Figura A44: Espectro de RMN de ^1H (DMSO-d6, 400 MHz) do composto 37b	162
Figura A45: Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO-d6, 100 MHz) do composto 37b	162
Figura A46: Espectro de RMN de ^1H (DMSO-d6, 400 MHz) do composto 37c	163
Figura A47: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (DMSO-d6, 100 MHz) do composto 37c ...	163
Figura A48: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37d	164
Figura A49: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37d	164
Figura A50: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37e	165
Figura A51: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37e	165
Figura A52: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37f	166
Figura A53: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37f	166
Figura A54: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37g	167
Figura A55: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37g	167
Figura A56: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37h	168
Figura A57: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37h	168
Figura A58: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37i	169
Figura A59: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37i	169
Figura A60: Espectro de RMN de ^1H (DMSO-d6, 400 MHz) do composto 37j	170
Figura A61: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (DMSO-d6, 100 MHz) do composto 37j	170
Figura A62: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37k	171
Figura A63: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37k	171
Figura A64: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37l	172
Figura A65: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37l	172
Figura A66: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37m	173
Figura A67: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37m	173
Figura A68: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 37n	174

Figura A69: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 37n	174
Figura A70: Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos 37a-f	175
Figura A71: Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos 37h-m	176
Figura A72: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37a-f . $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$	177
Figura A73: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37a-f . $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$	178
Figura A74: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37h-m . $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$	179
Figura A75: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto 37h-m . $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$	180

Tabela A1: Abreviatura e estrutura dos aminoácidos presentes nessa Tese.

Aminoácido	Abreviatura	Estrutura	Aminoácido	Abreviatura	Estrutura
Glicina	Gly (G)		Triptofano	Trp (W)	
Alanina	Ala (A)		Serina	Ser (S)	
Prolina	Pro (P)		Asparagina	Asn (N)	
Valina	Val (V)		Histidina	His (H)	
Leucina	Leu (L)		Aspartato	Asp (D)	
Fenilalanina	Phe (F)		Glutamato	Glu (E)	
Tirosina	Tyr (Y)				

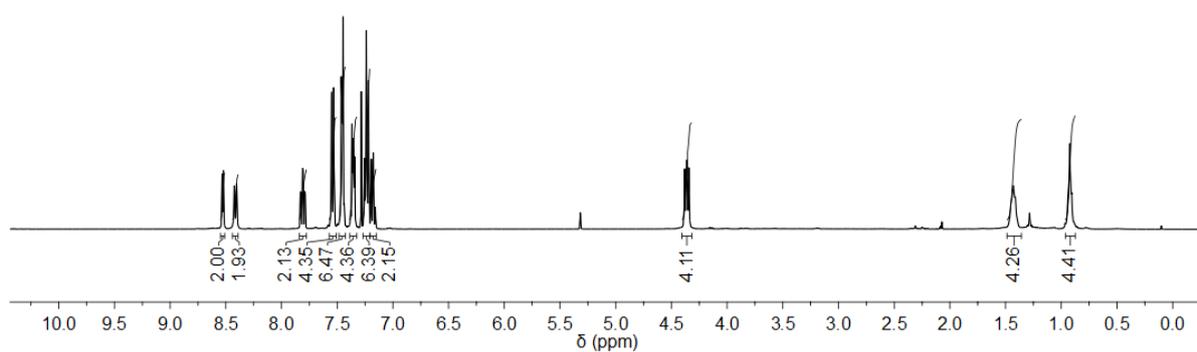
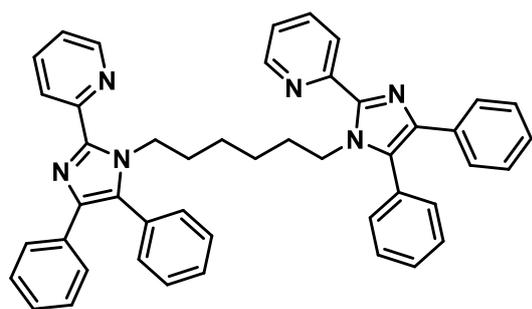


Figura A1: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **22a**.

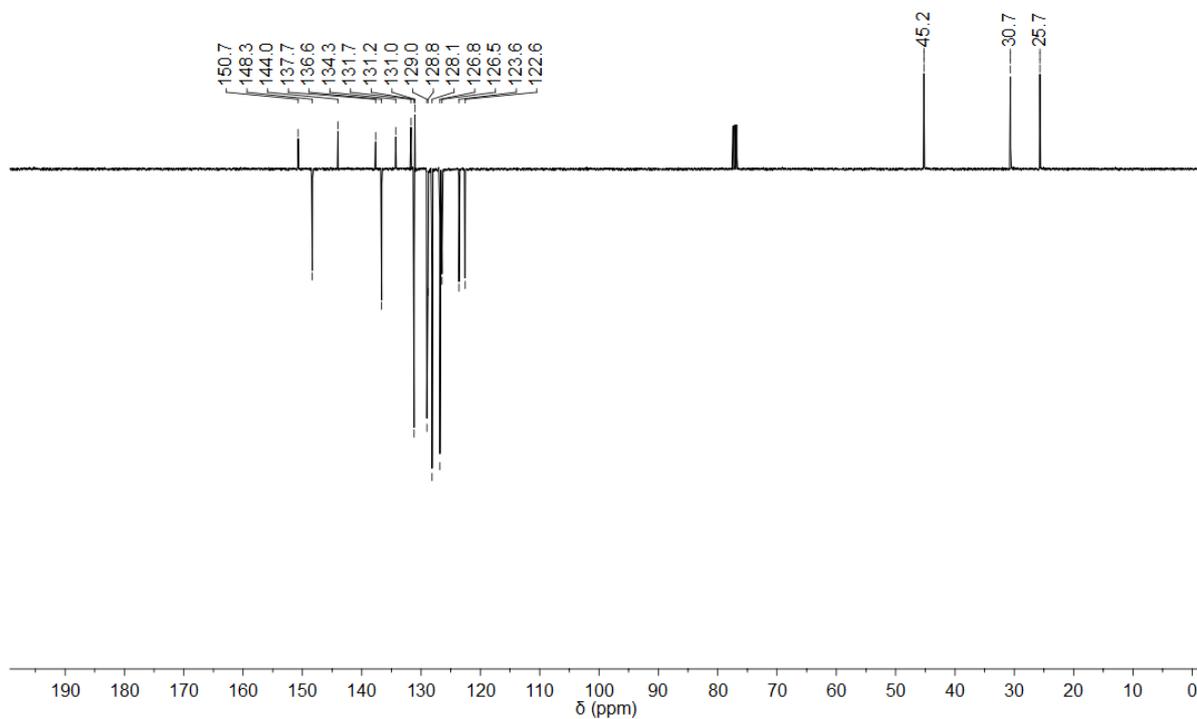


Figura A2: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **22a**.

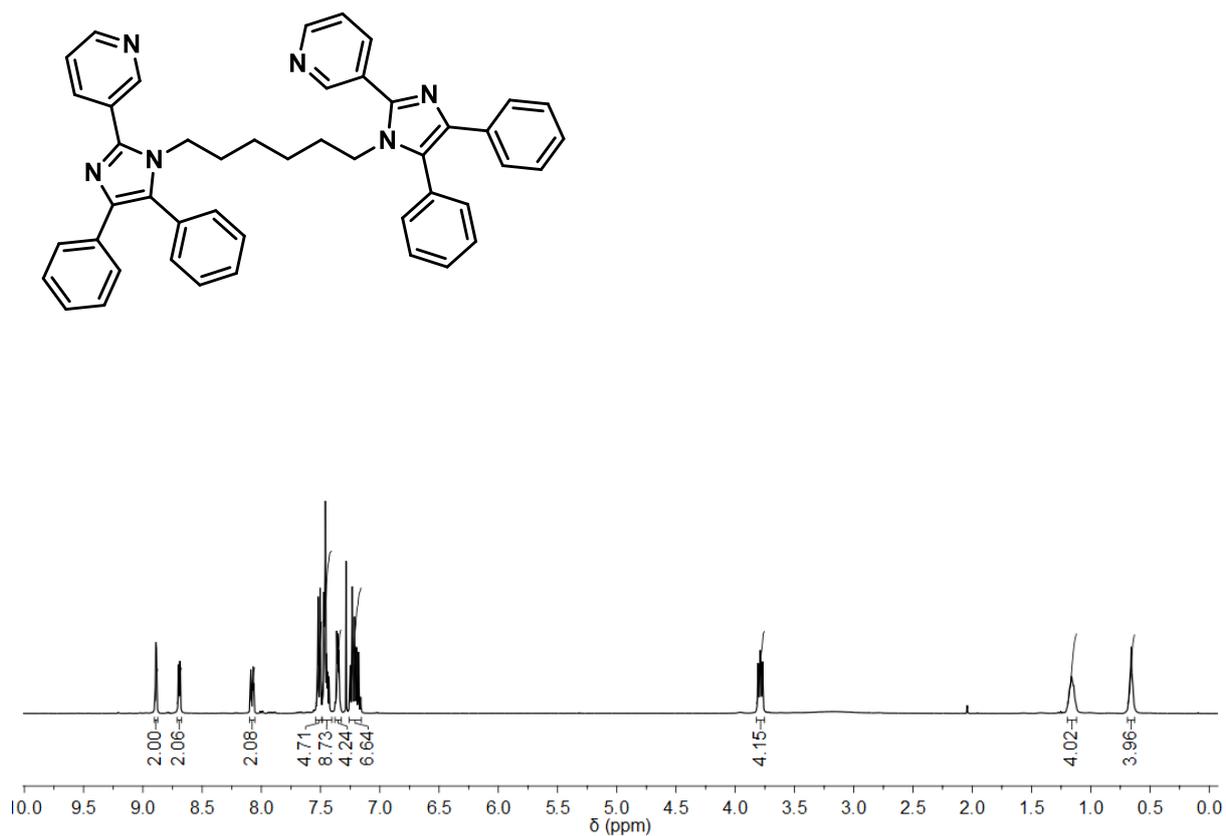


Figura A3: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **22b**

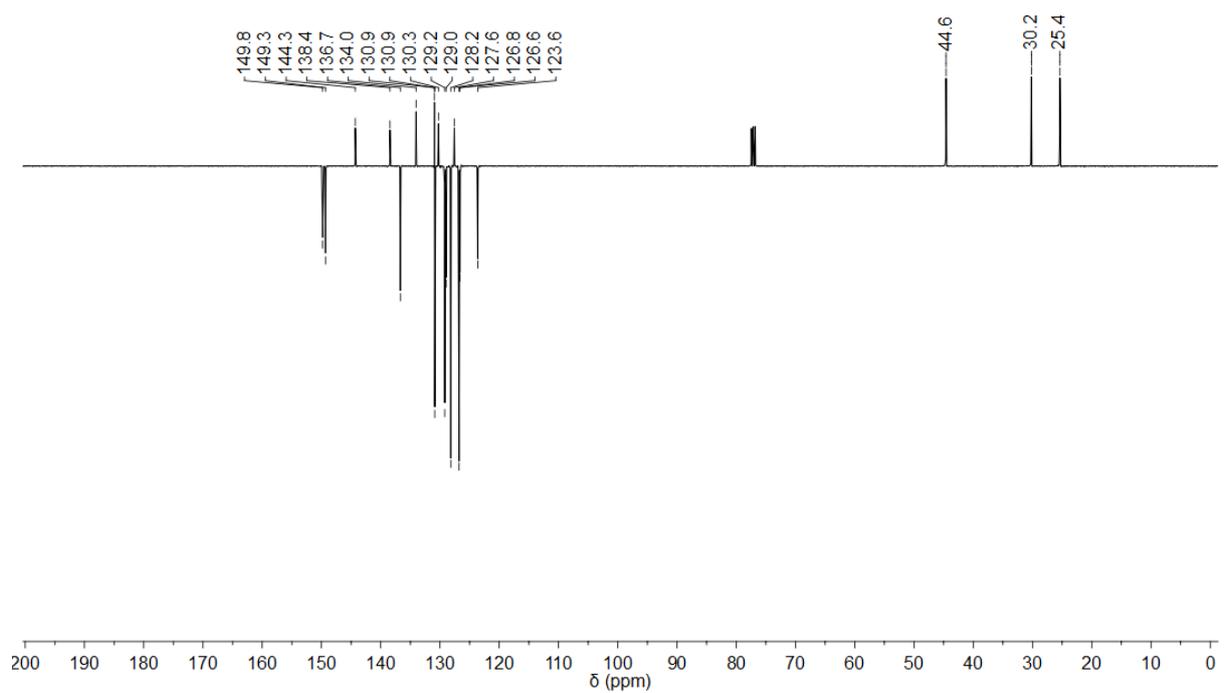


Figura A4: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **22b**.

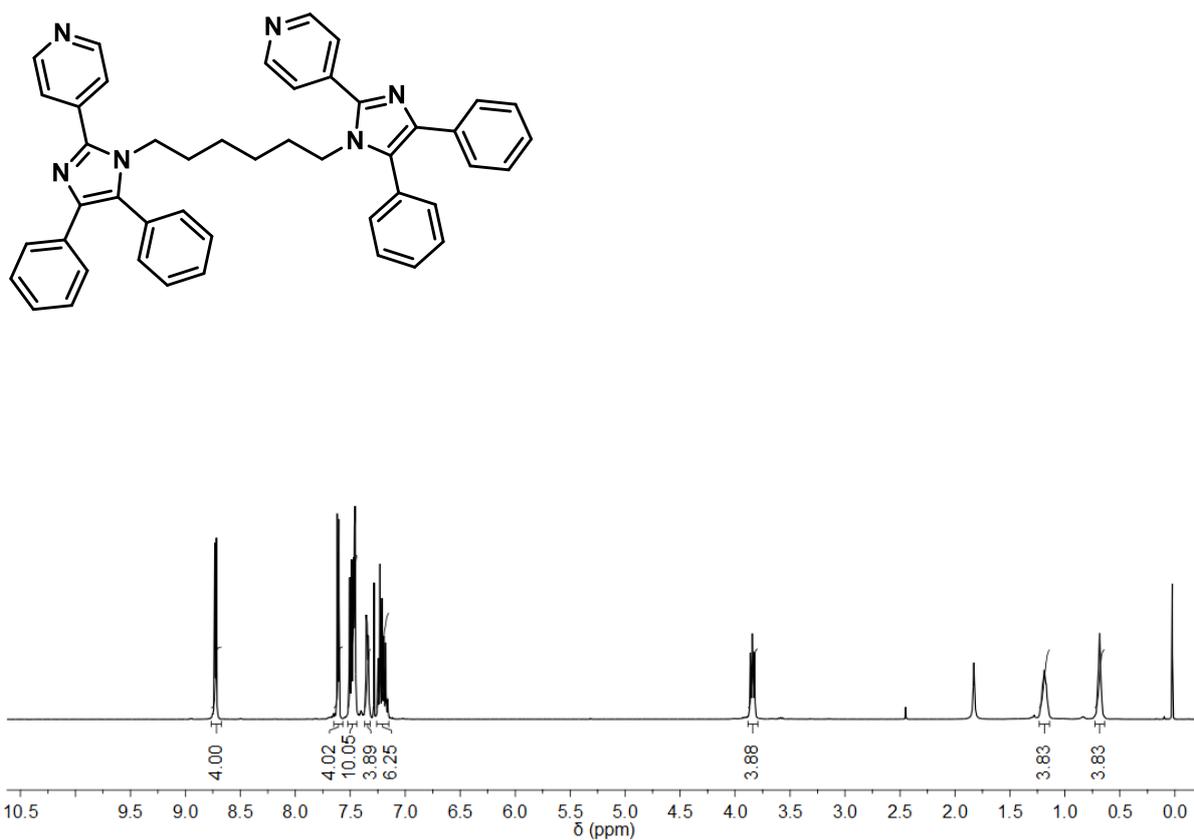


Figura A5: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **22c**.

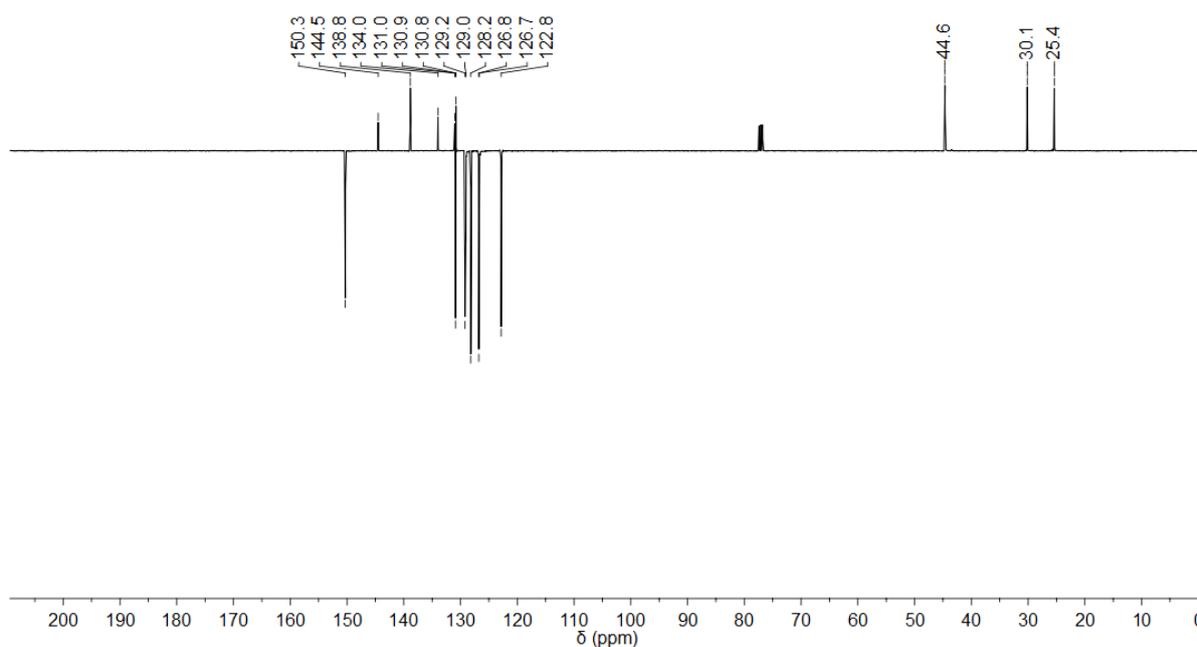


Figura A6: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **22c**.

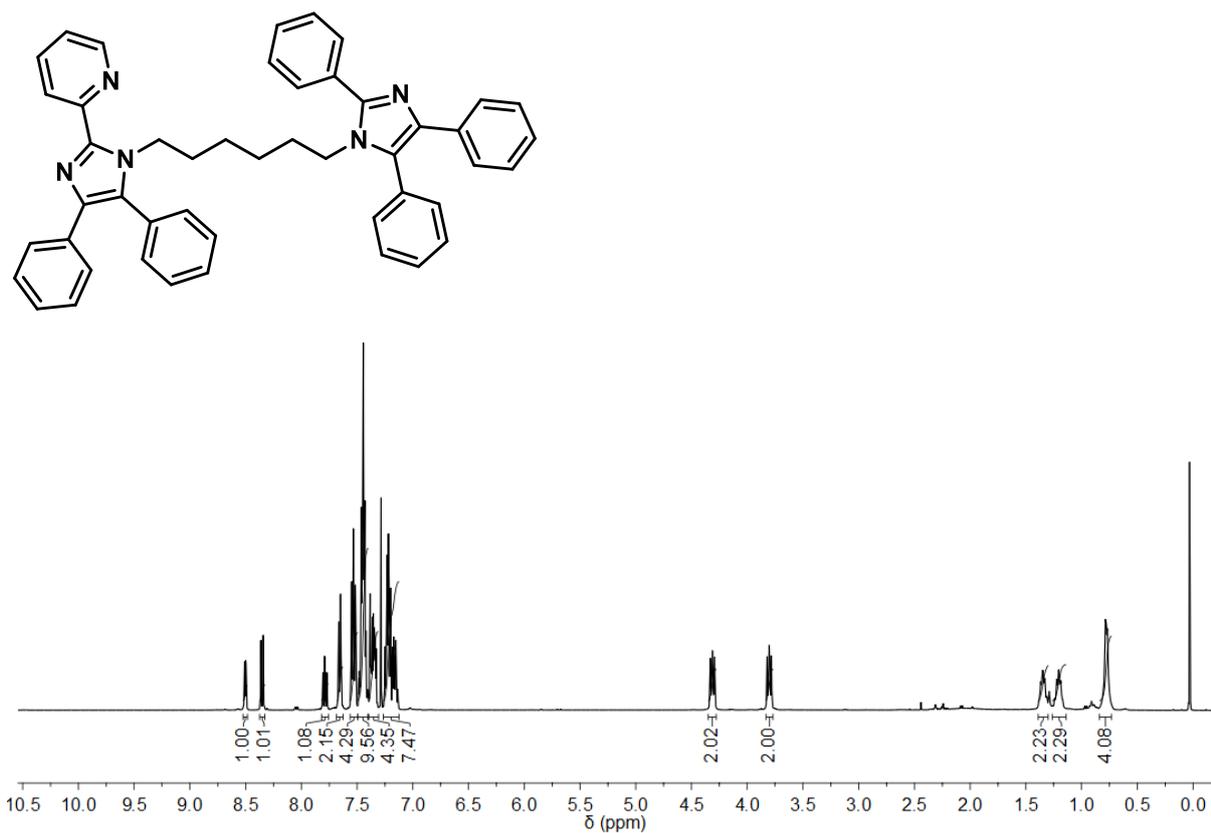


Figura A7: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23a**.

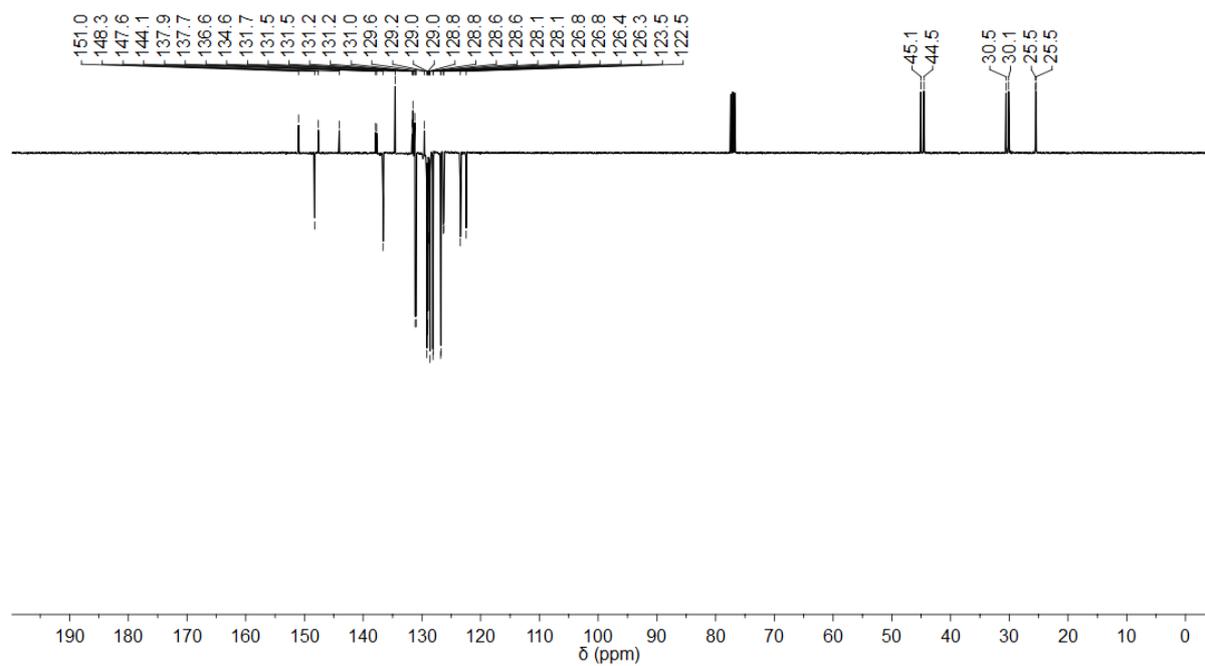


Figura A8: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23a**.

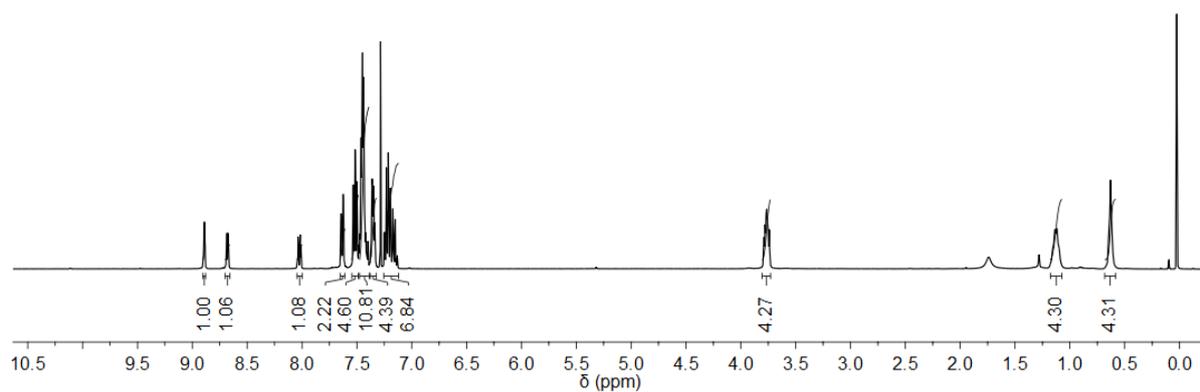
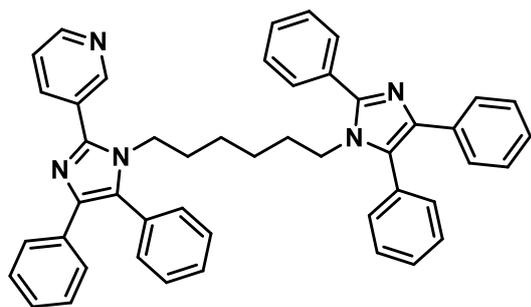


Figura A9: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23b**.

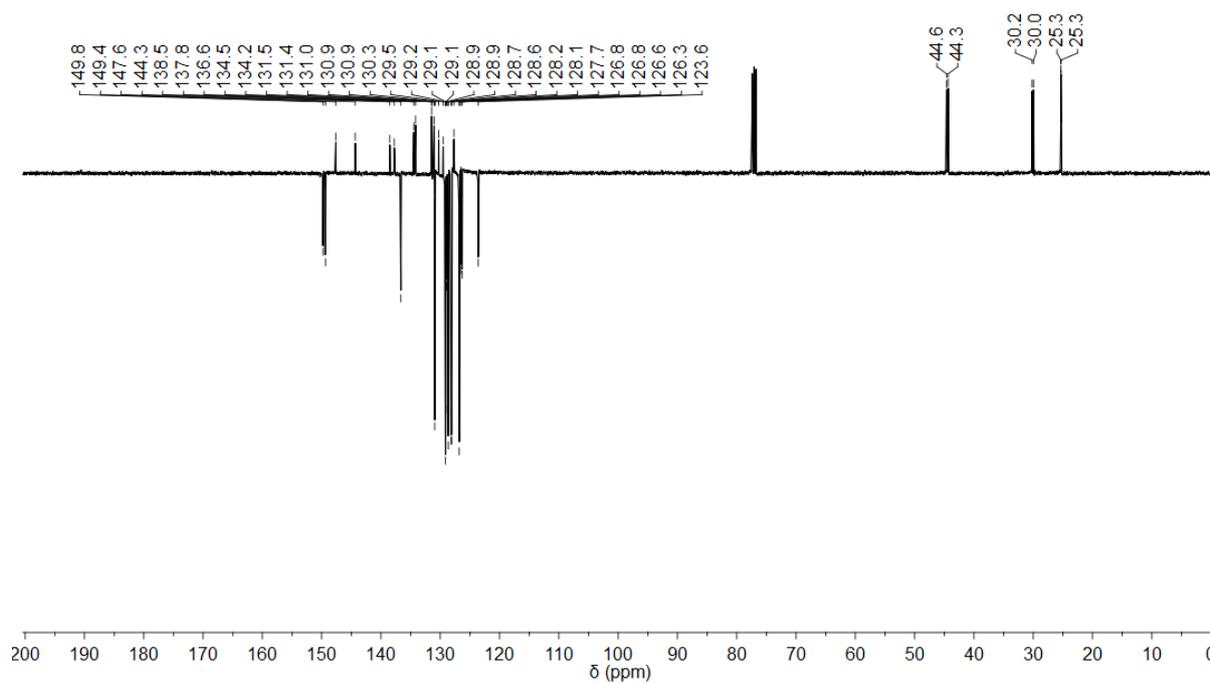


Figura A10: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23b**.

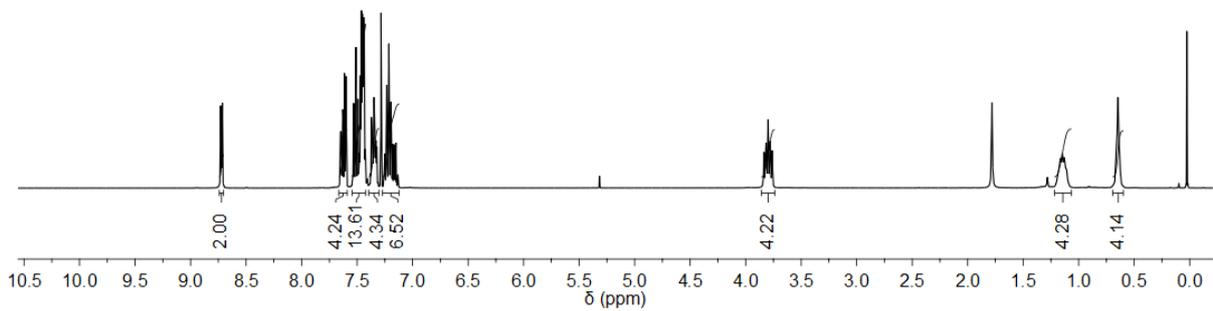
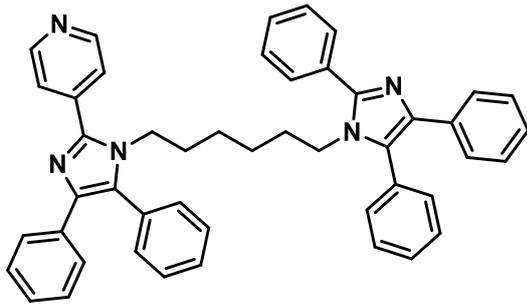


Figura A11: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23c**.

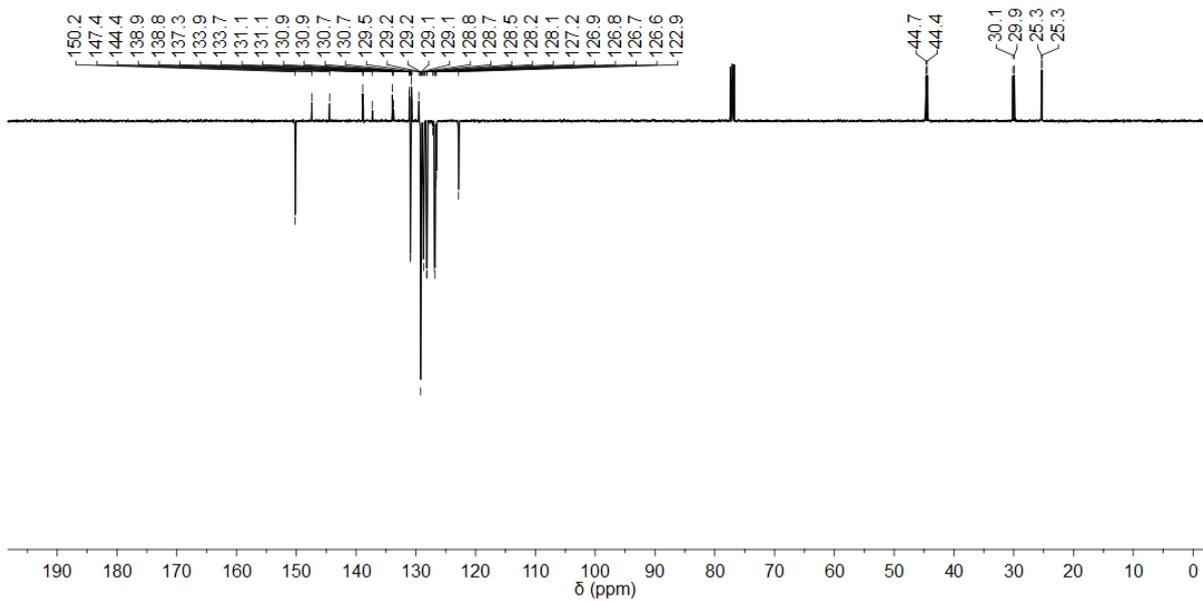


Figura A12: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23c**.

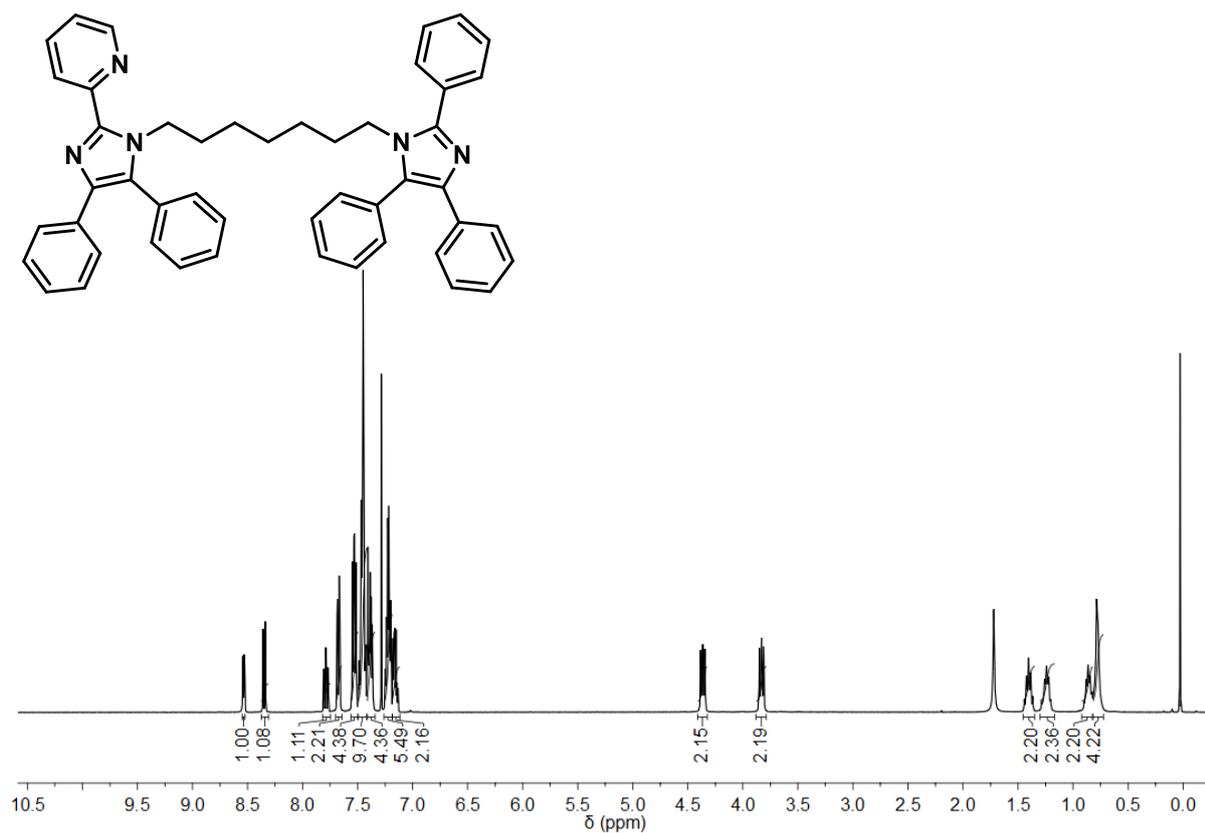


Figura A13: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **23d**.

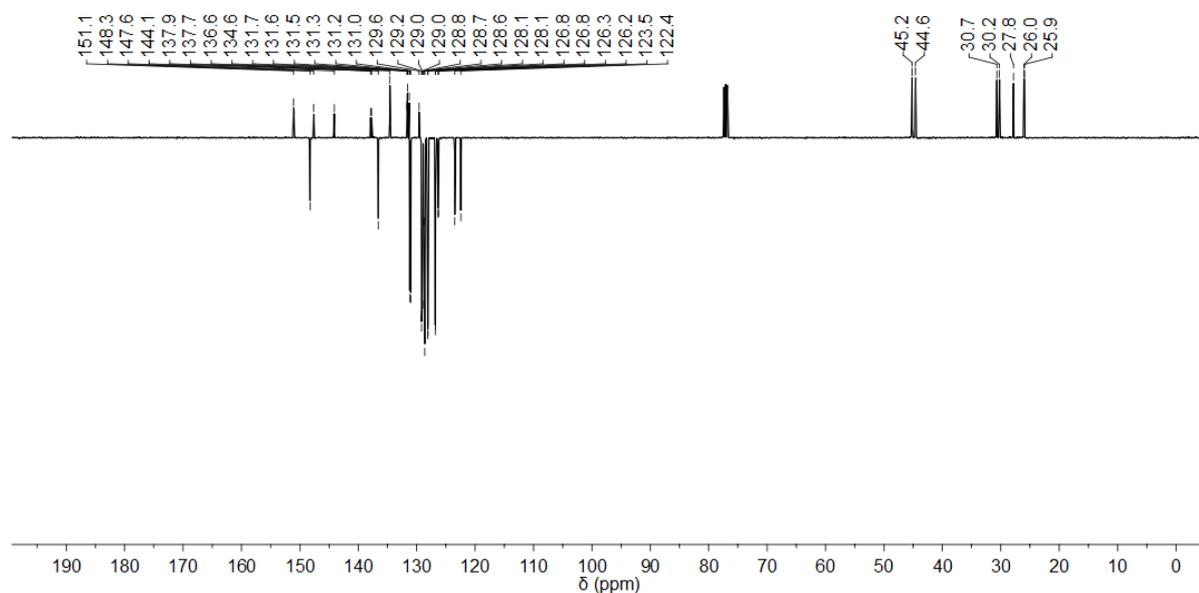


Figura A14: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **23d**.

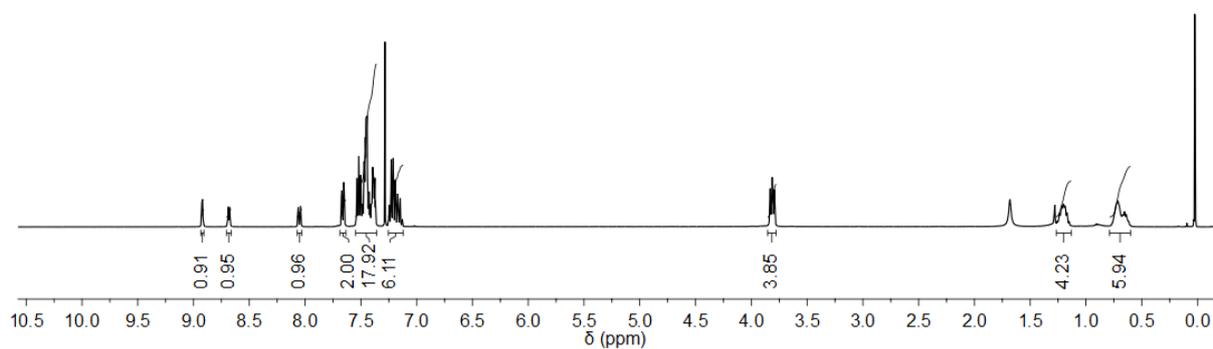
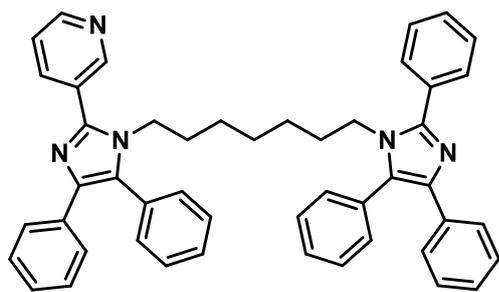


Figura A15: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 23e.

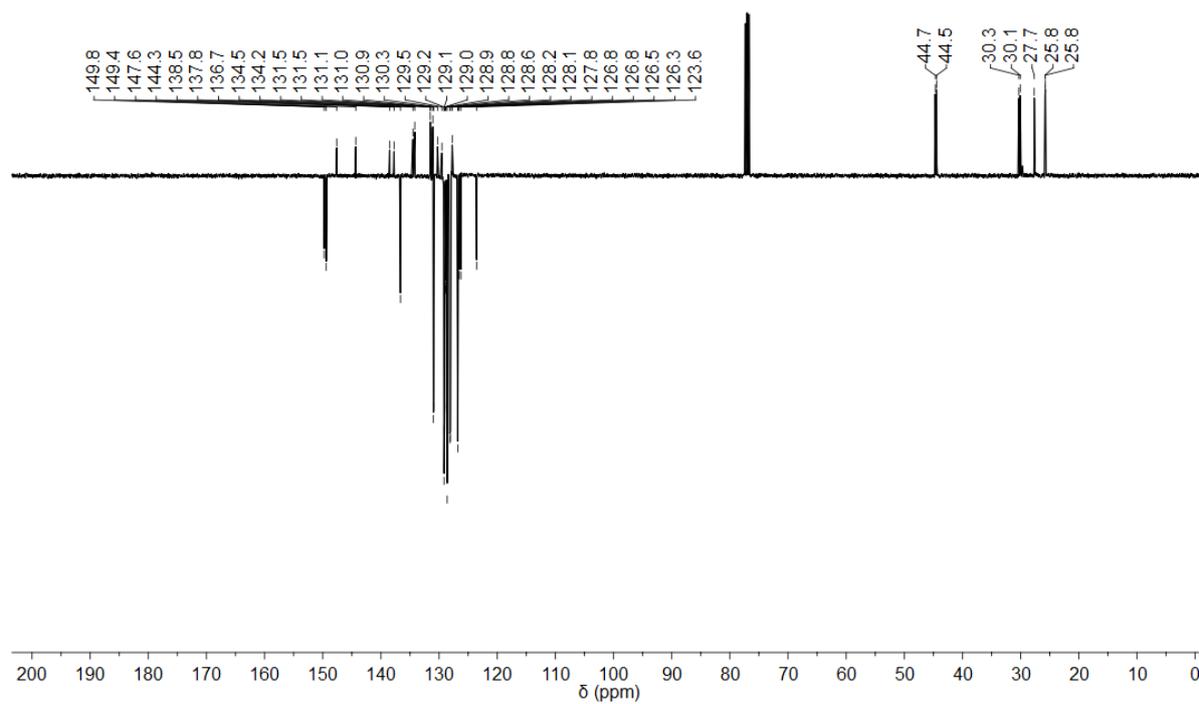


Figura A16: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto 23e.

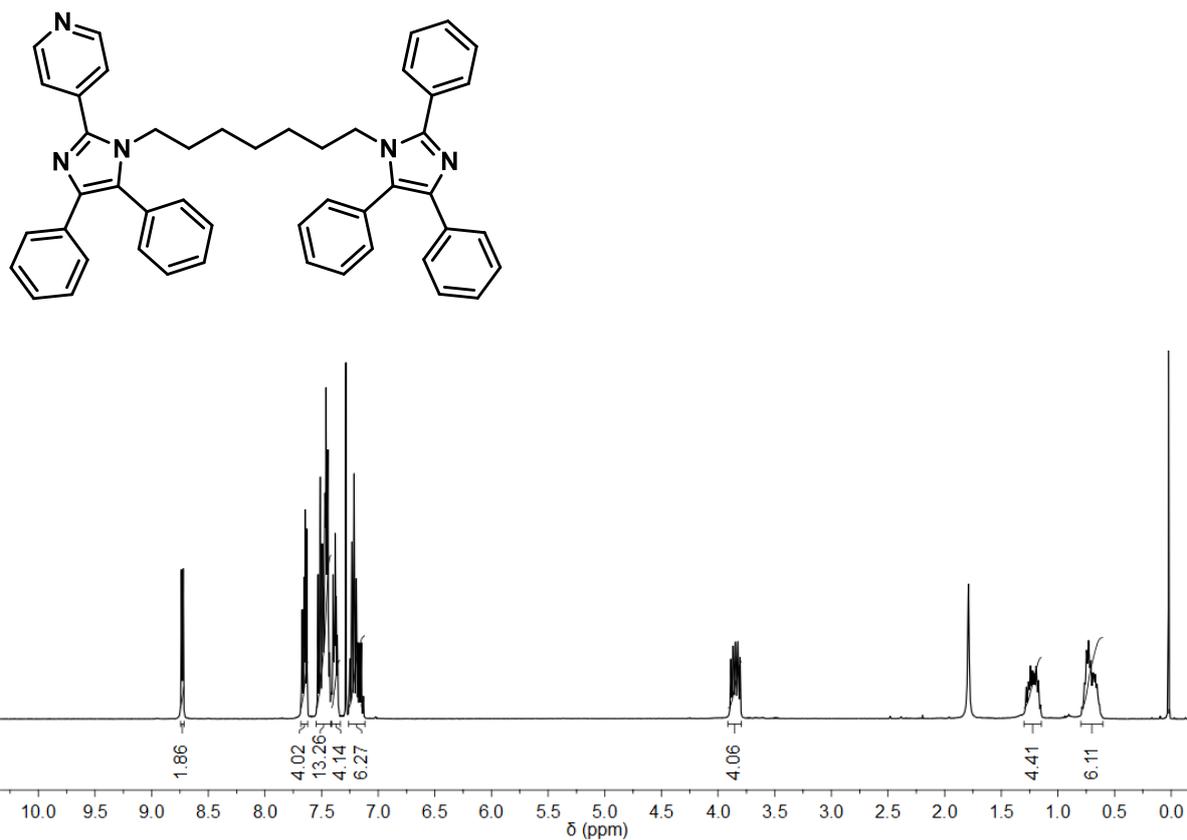


Figura A17: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23f**.

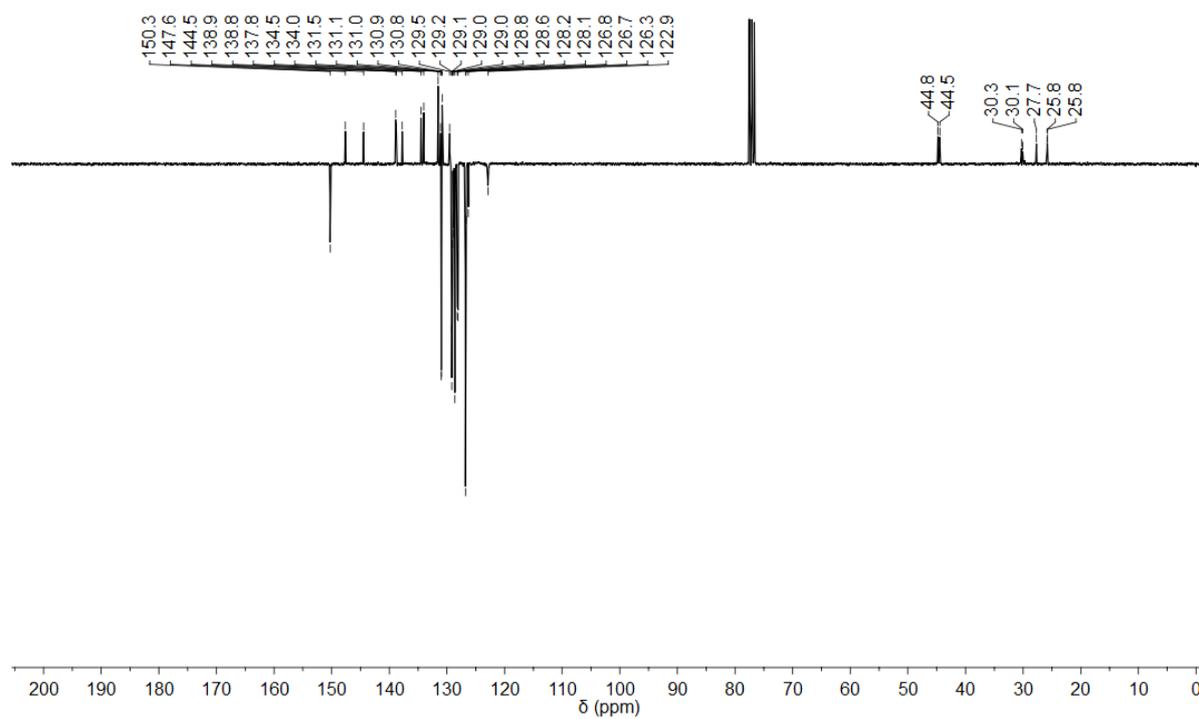


Figura A18: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23f**.

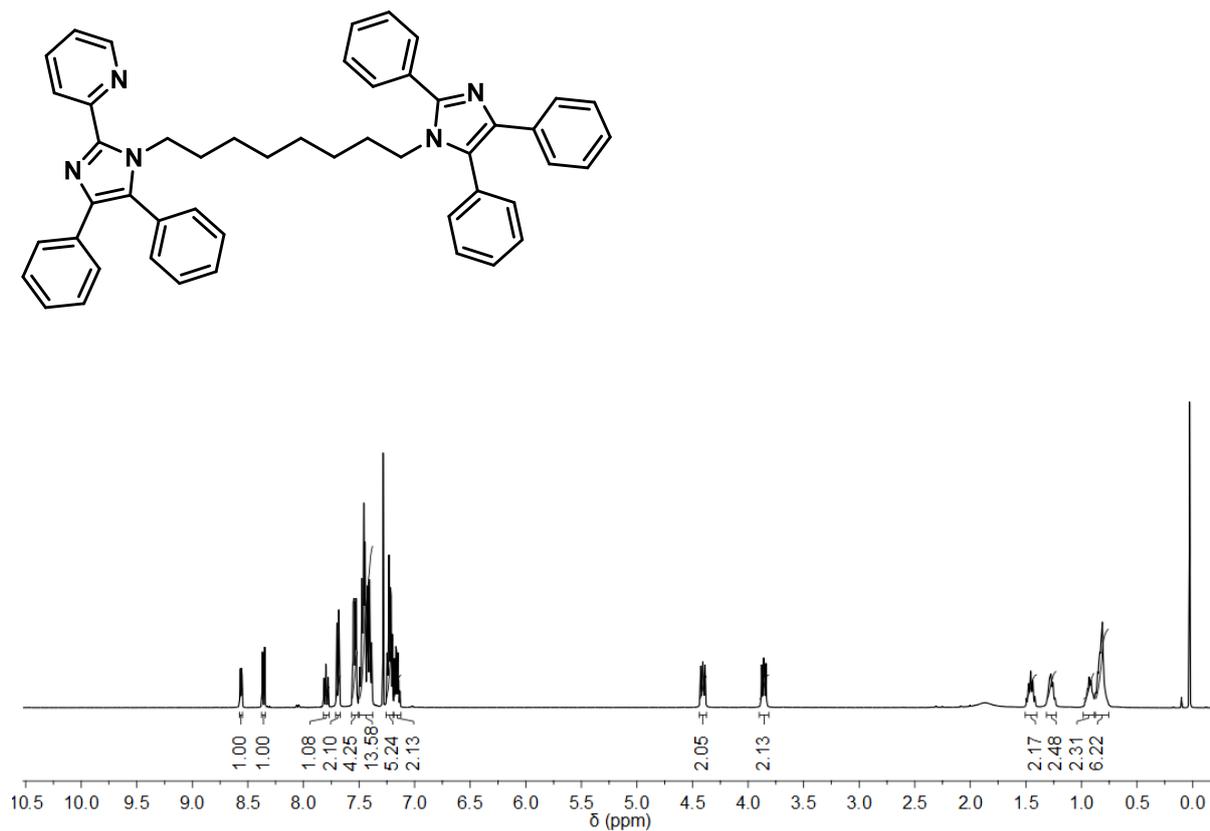


Figura A19: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23g**.

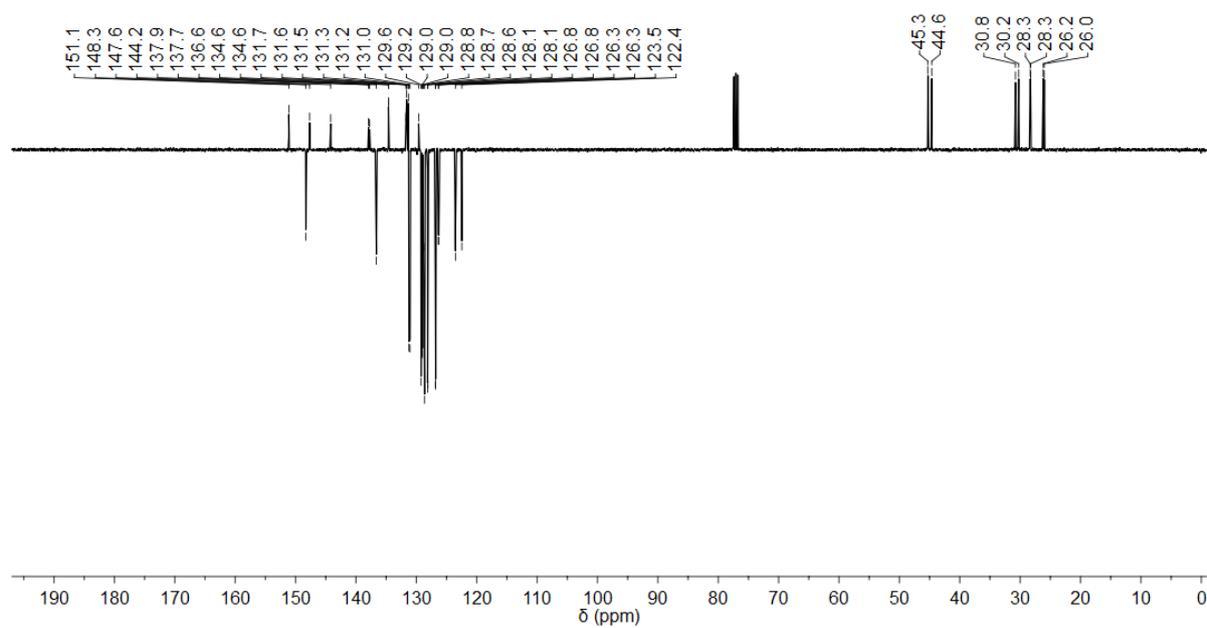


Figura A20: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23g**.

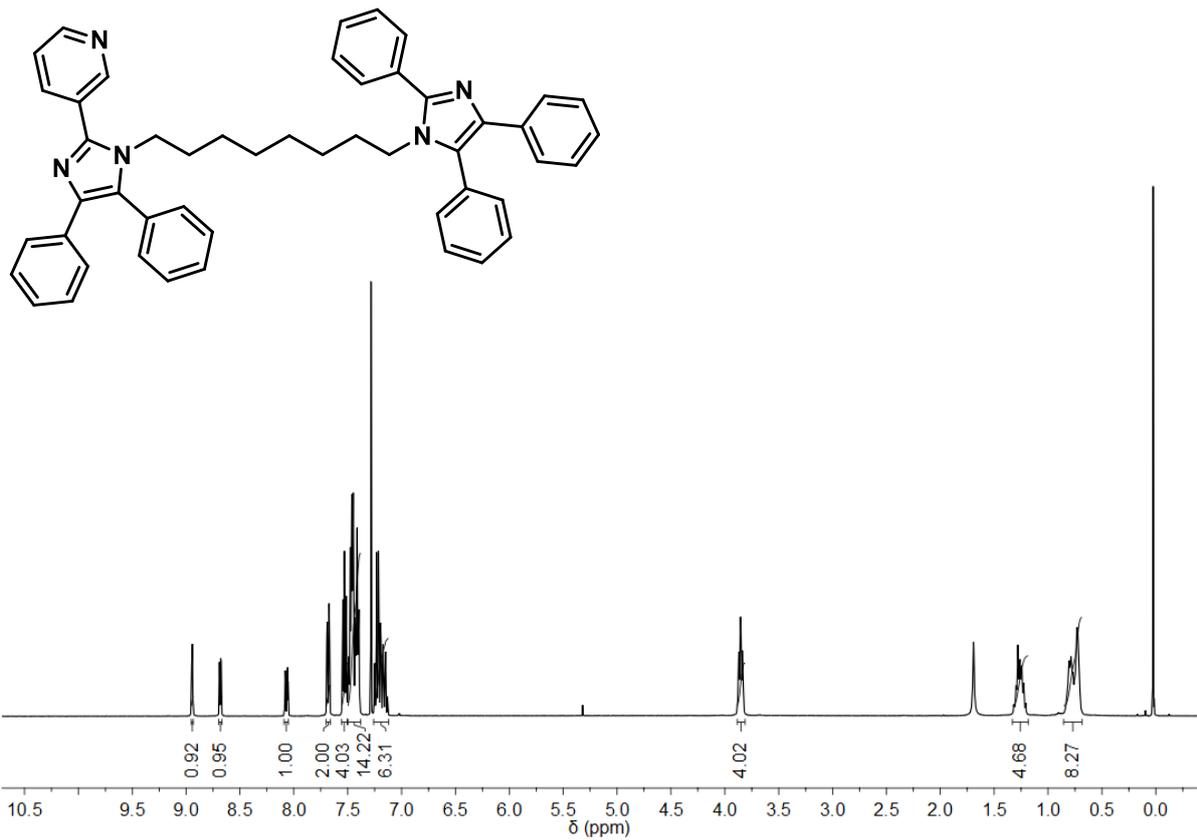


Figura A21: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23h**.

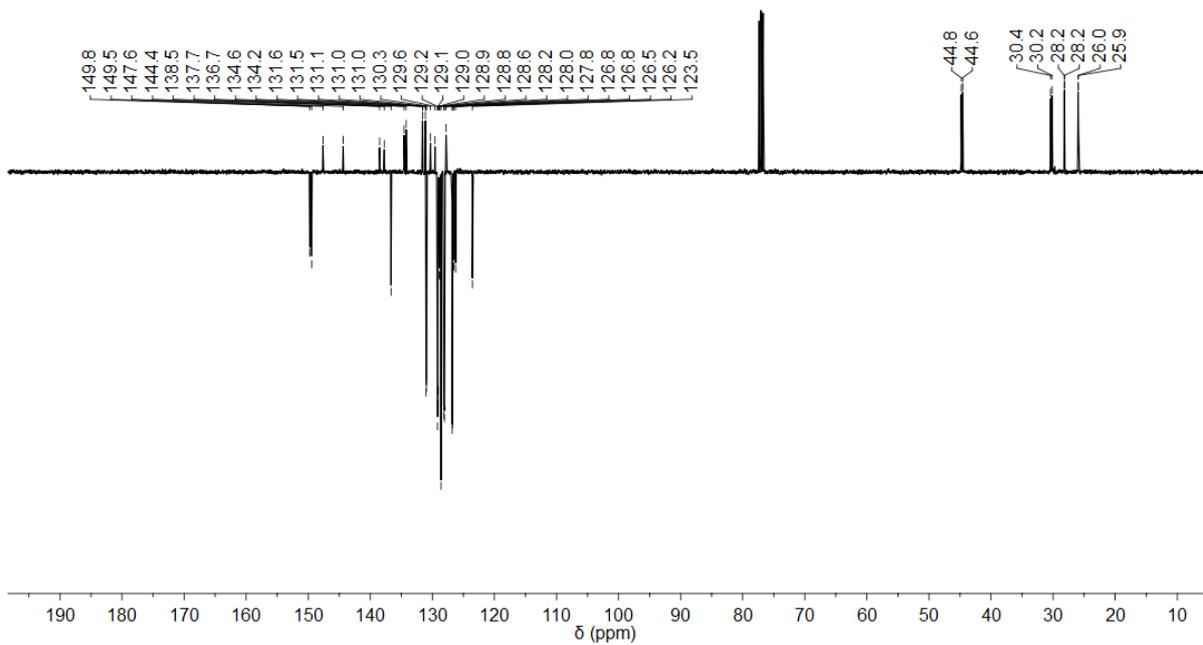


Figura A22: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23h**.

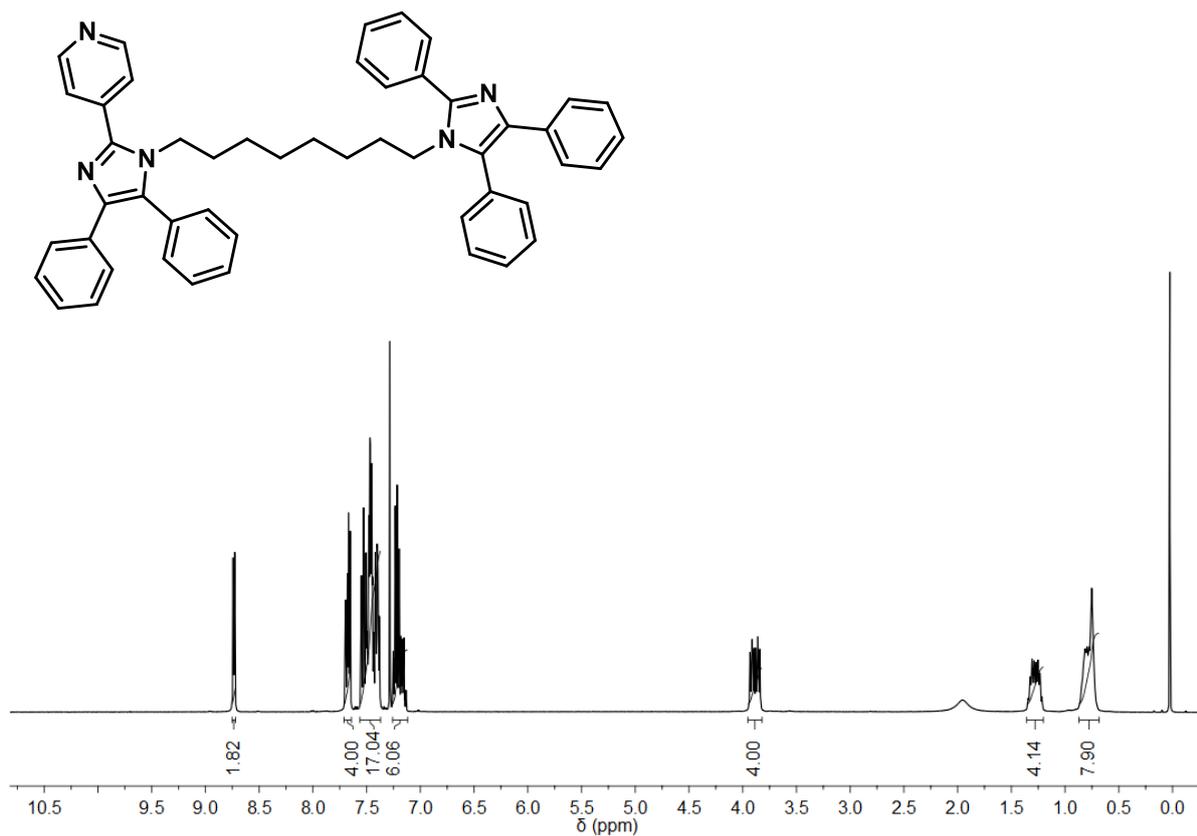


Figura A23: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **23i**.

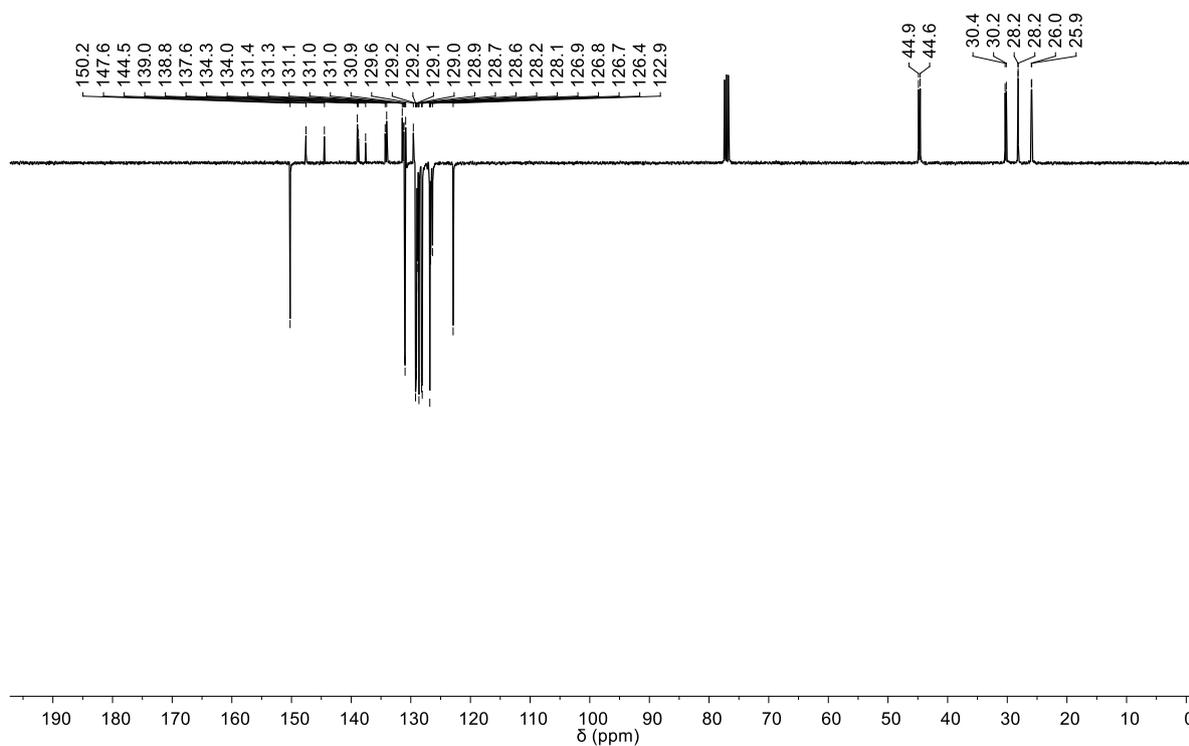


Figura A24: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **23i**.

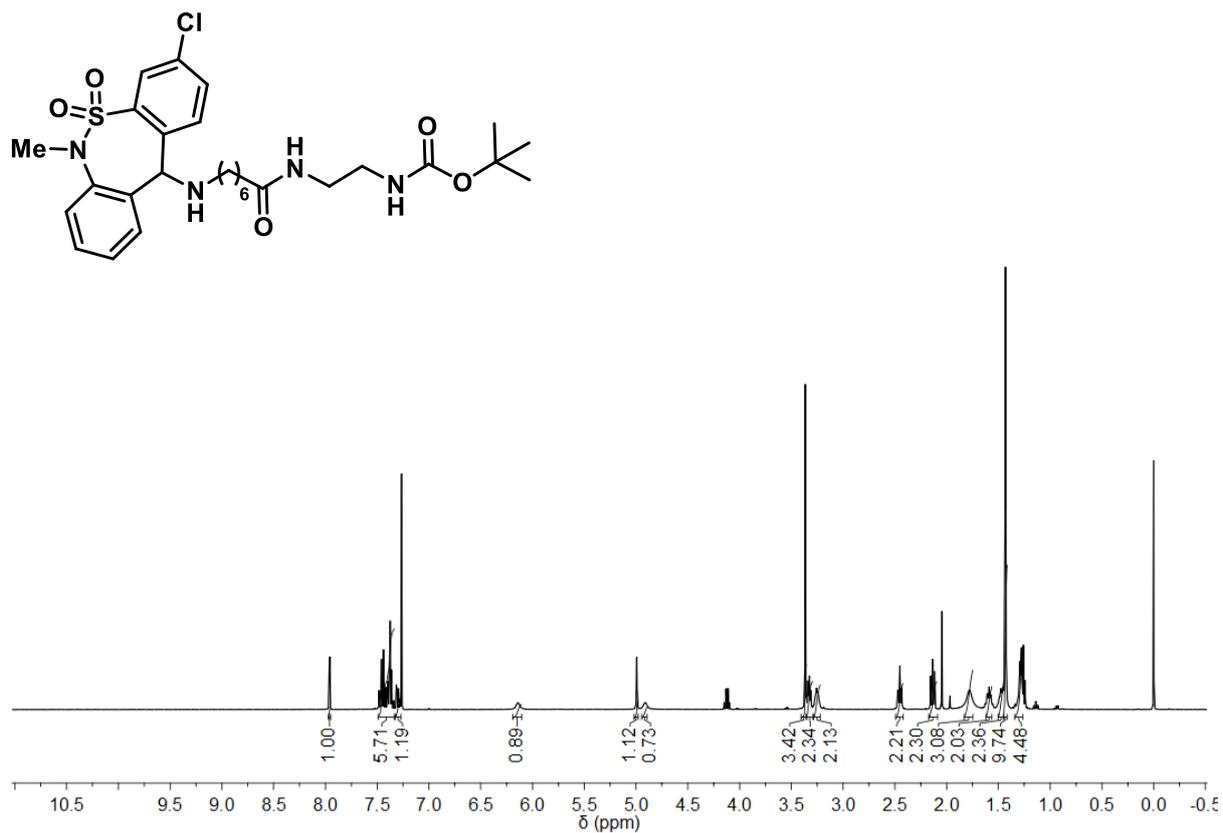


Figura A25: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **33a**.

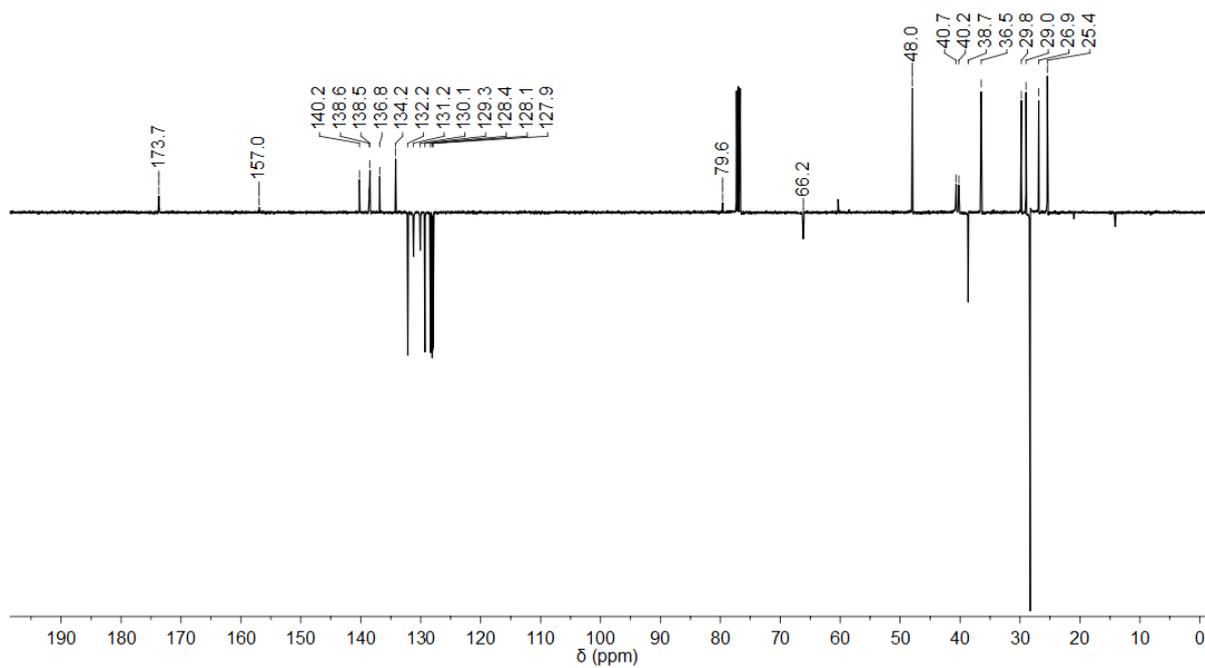


Figura A26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **33a**.

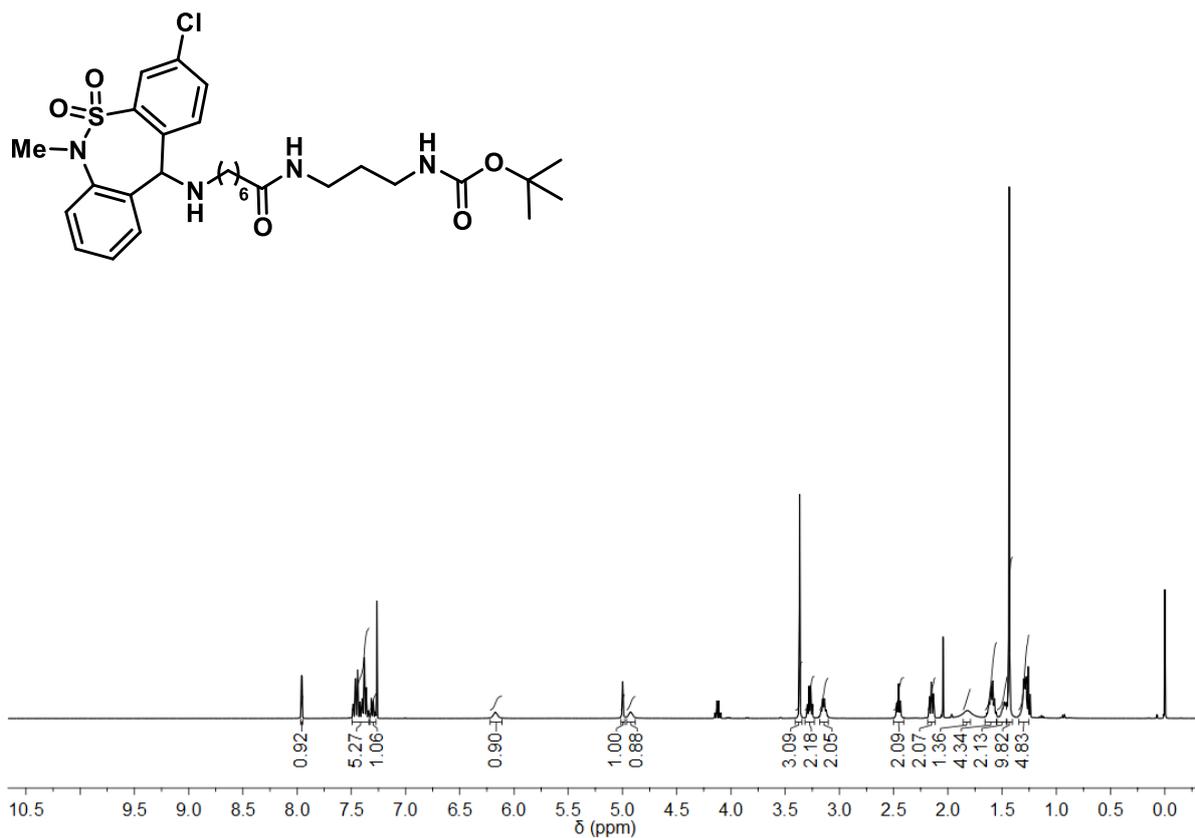


Figura A27: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **33b**.

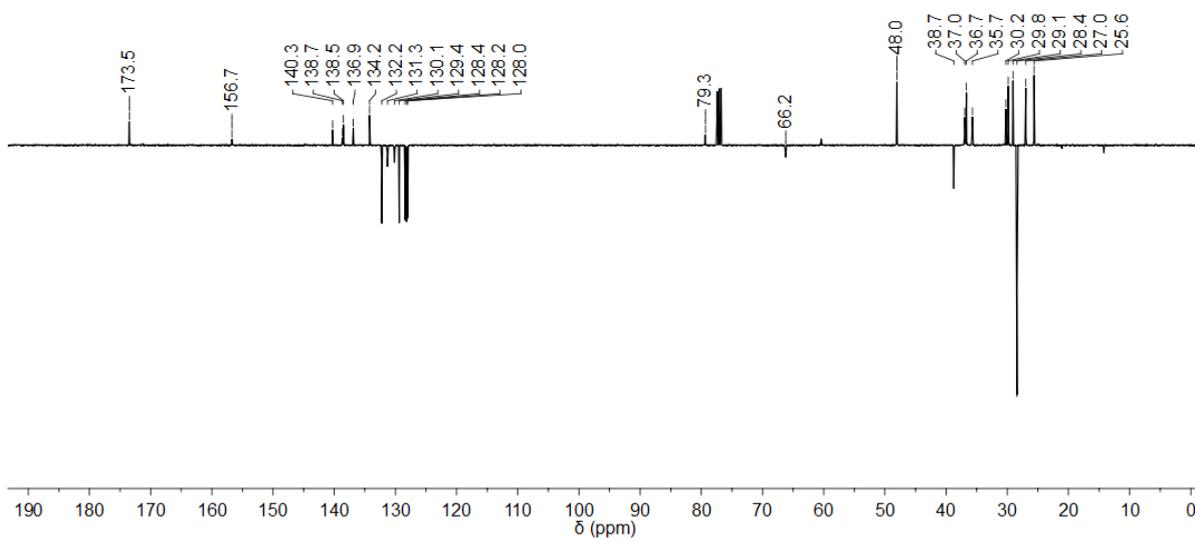


Figura A28: Espectro de RMN de ¹³C-APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **33b**.

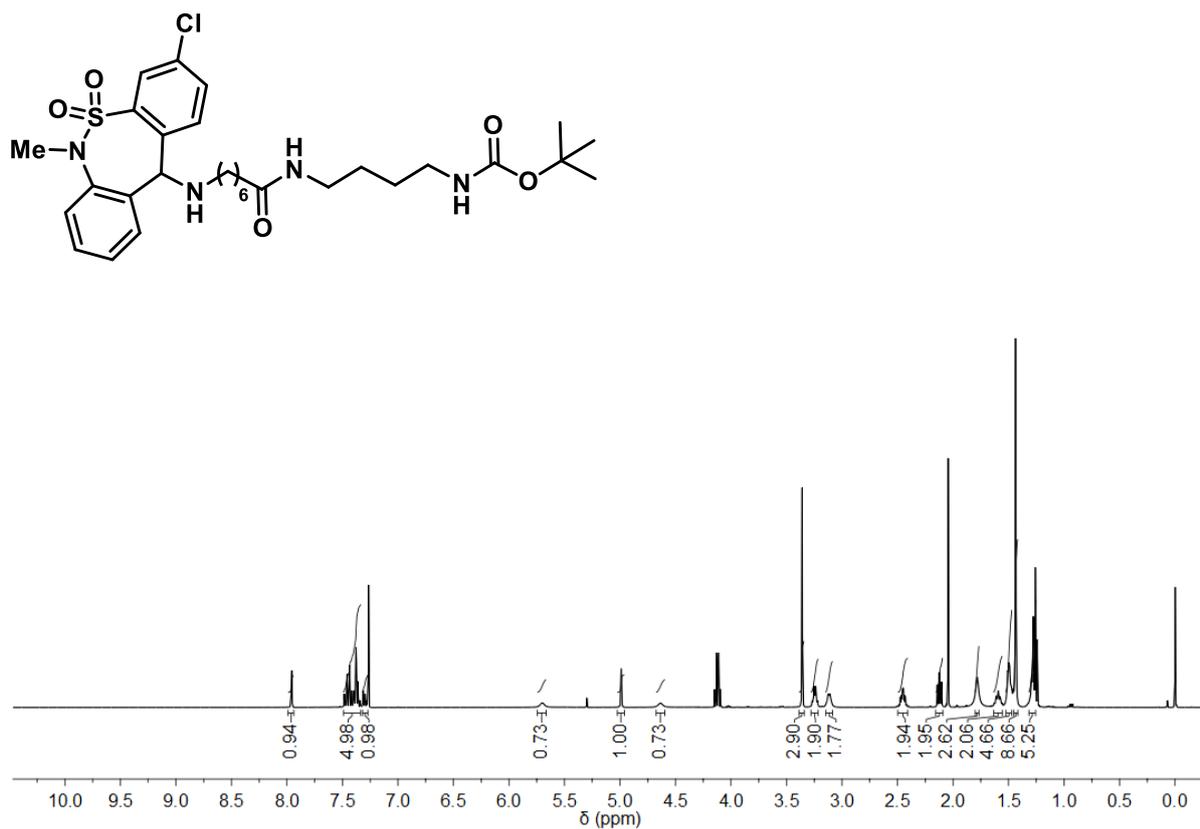


Figura A29: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **33c**.

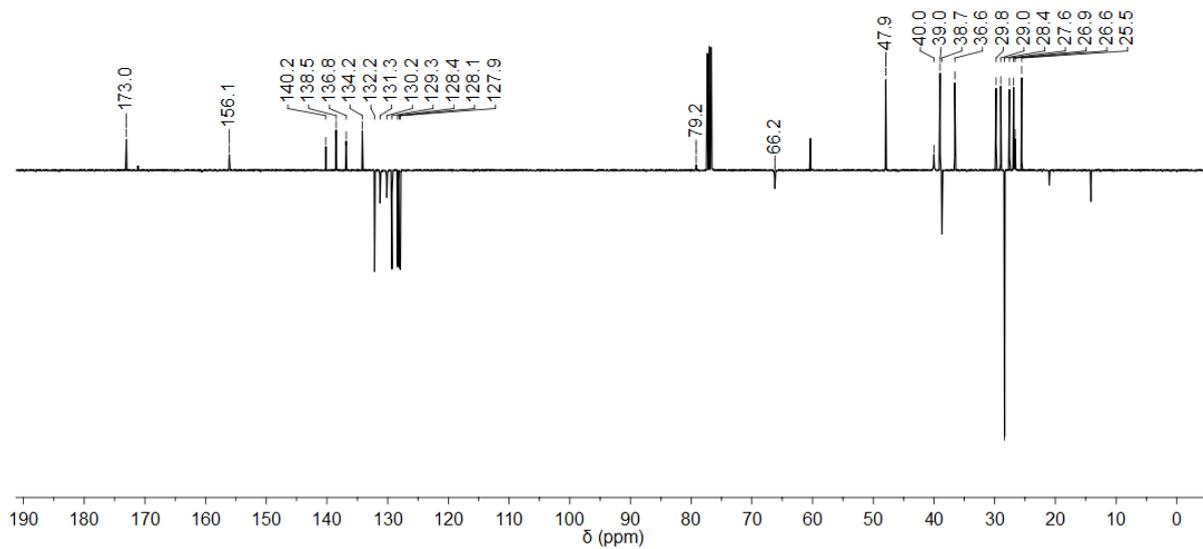


Figura A30: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **33c**.

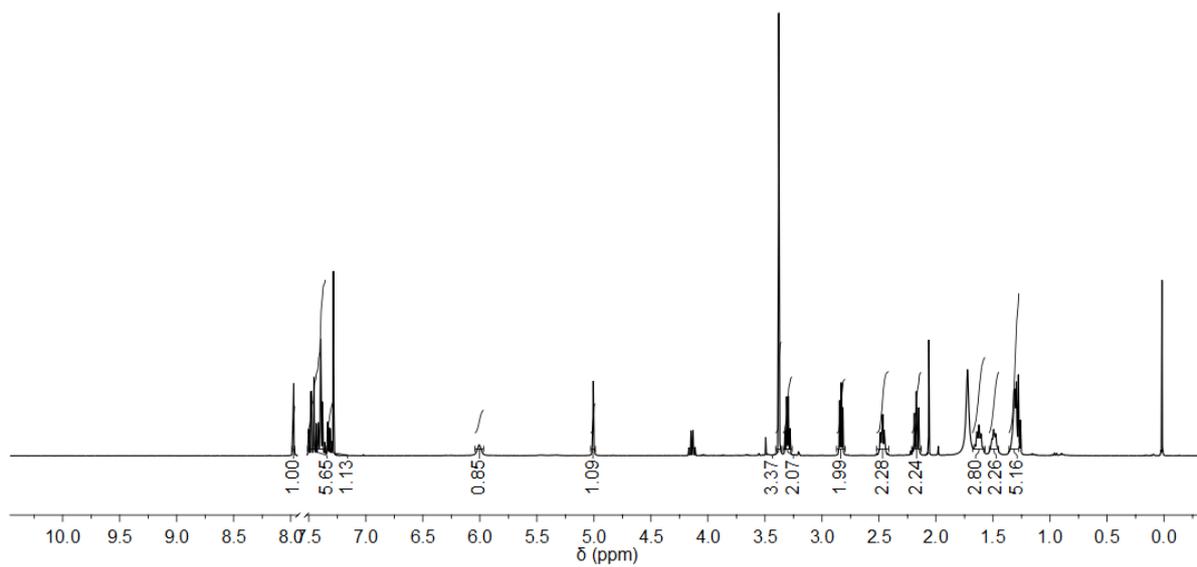
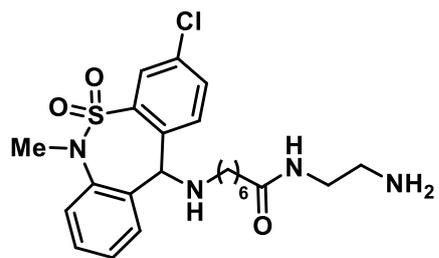


Figura A31: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **25a**.

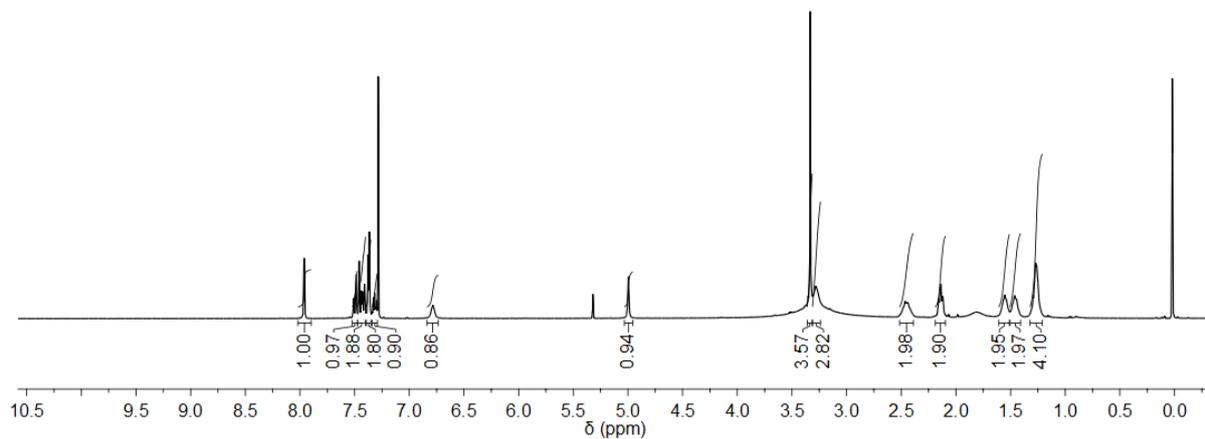
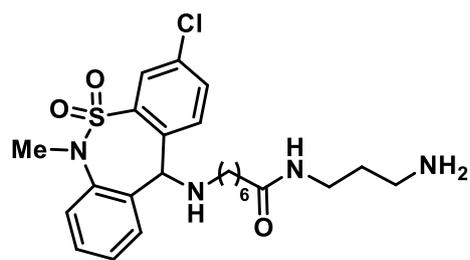


Figura A32: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **25b**.

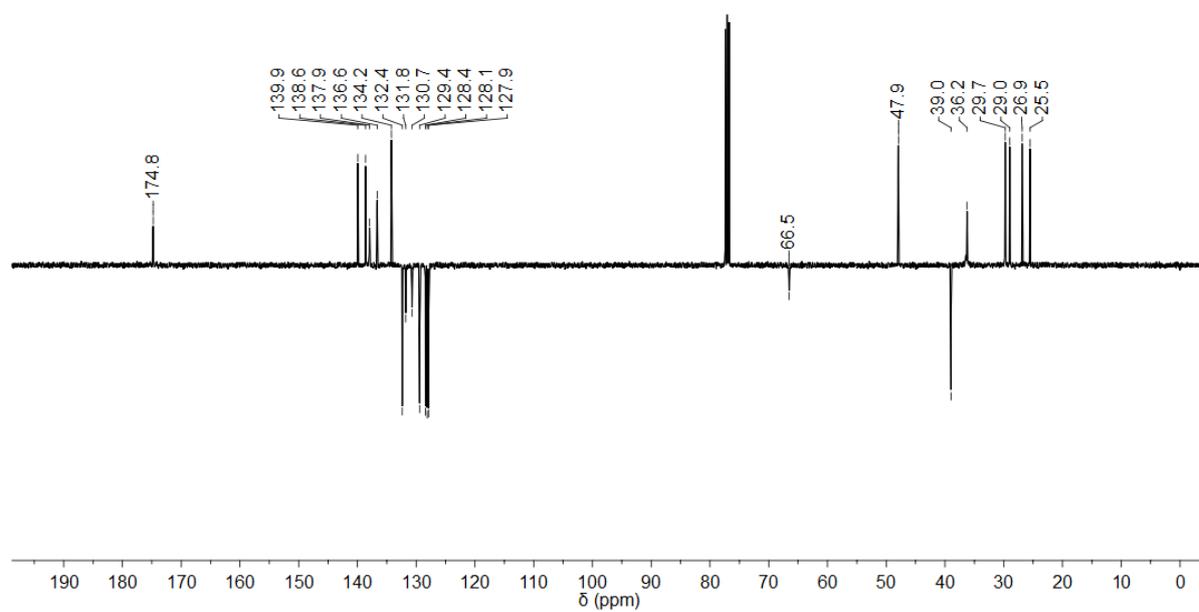


Figura A33: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **25b**.

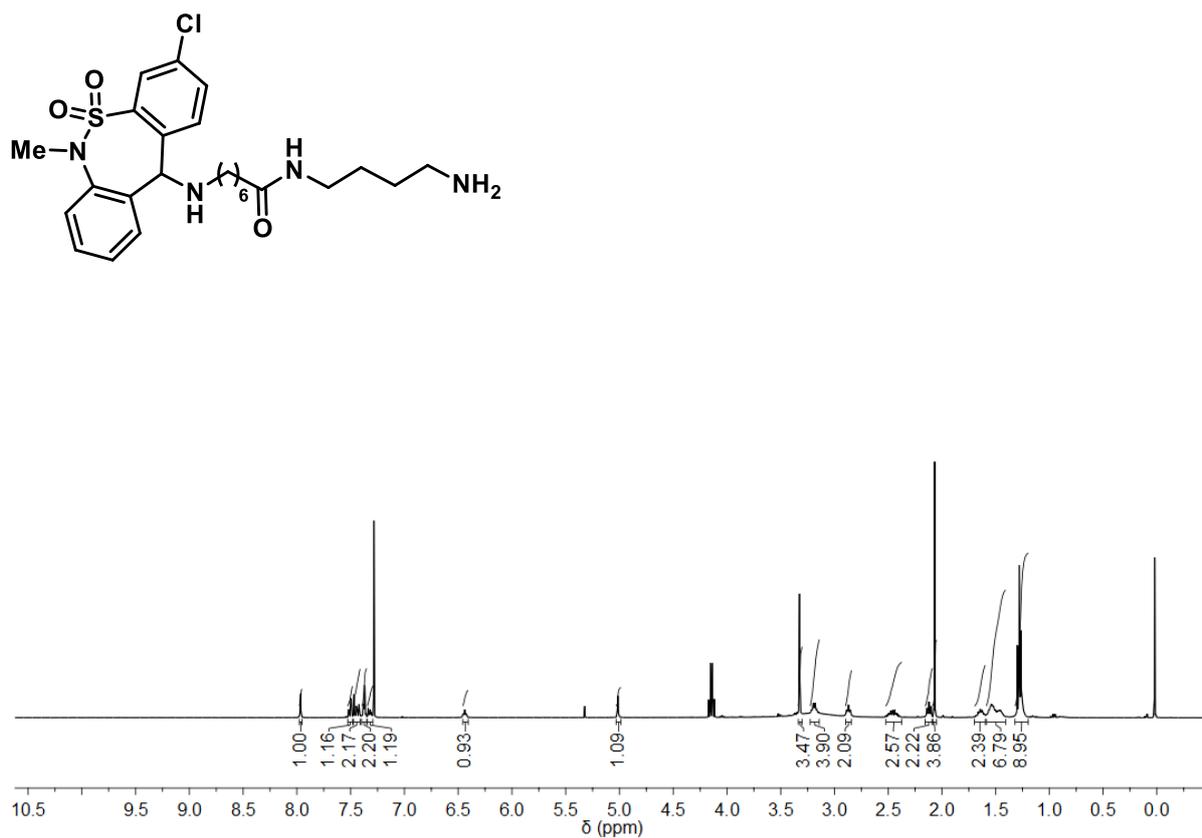


Figura A34: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **25c**.

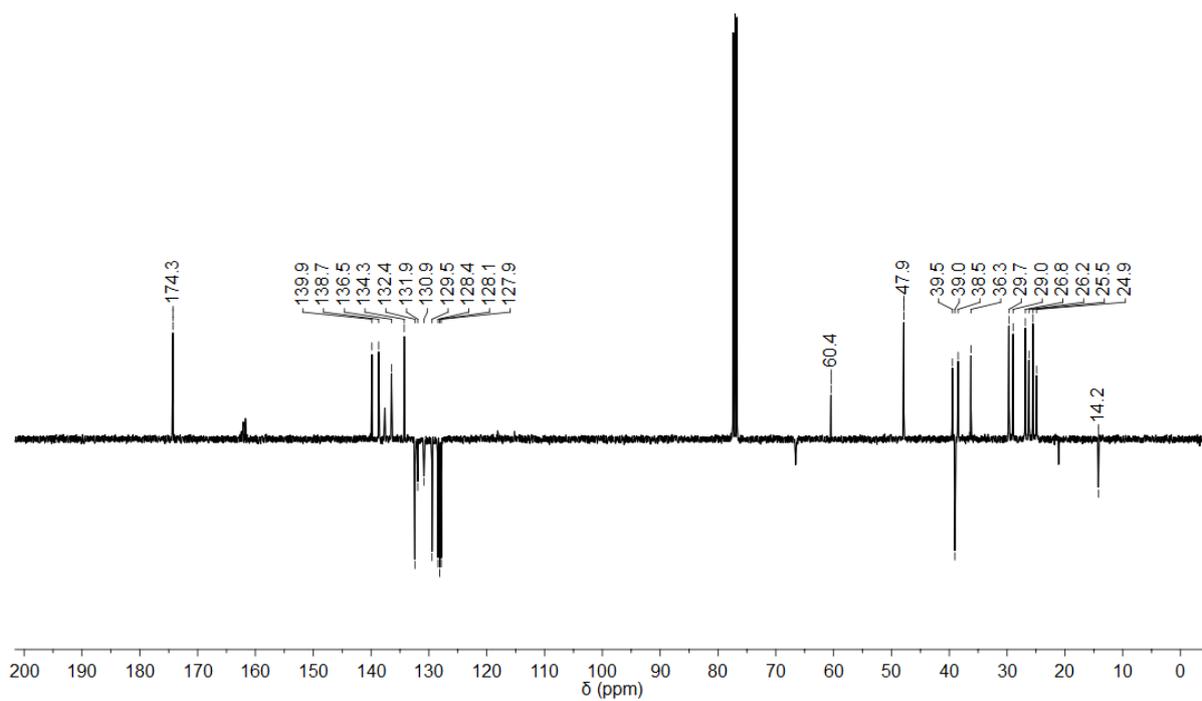


Figura A35: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **25c**.

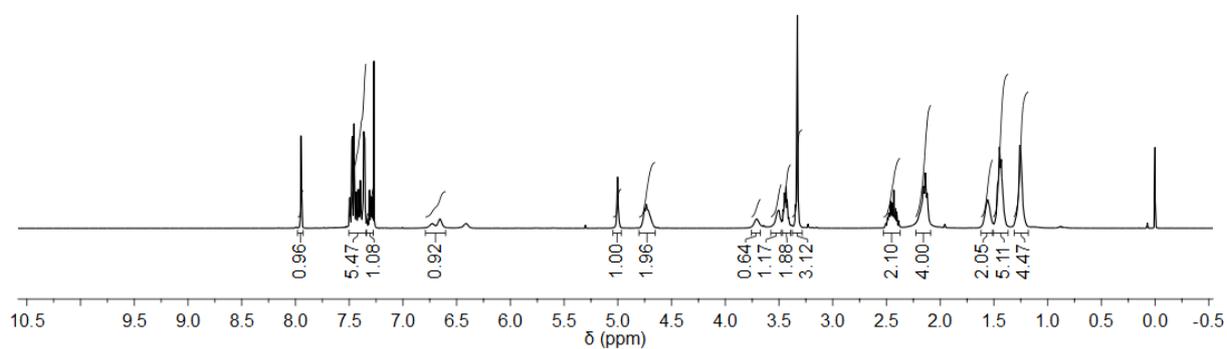
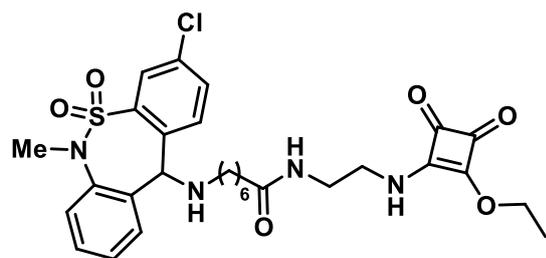


Figura A36: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **34a**.

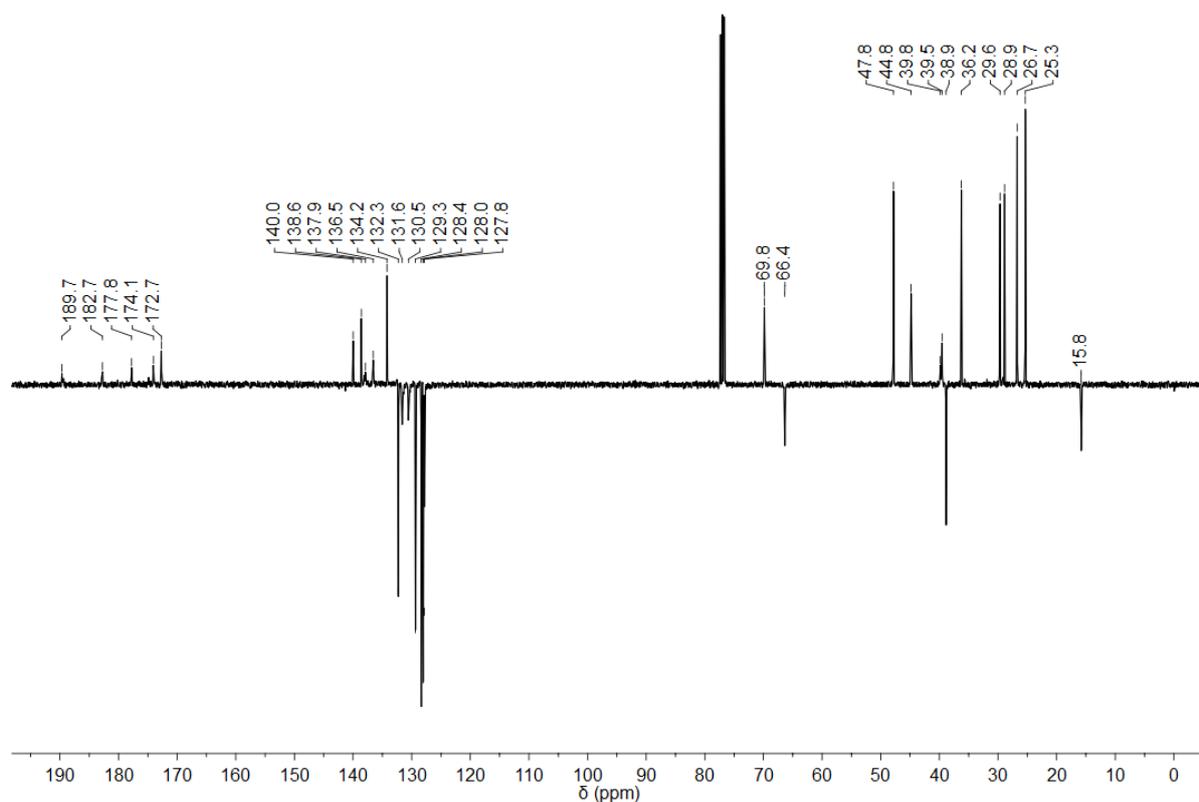


Figura A37: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **34a**.

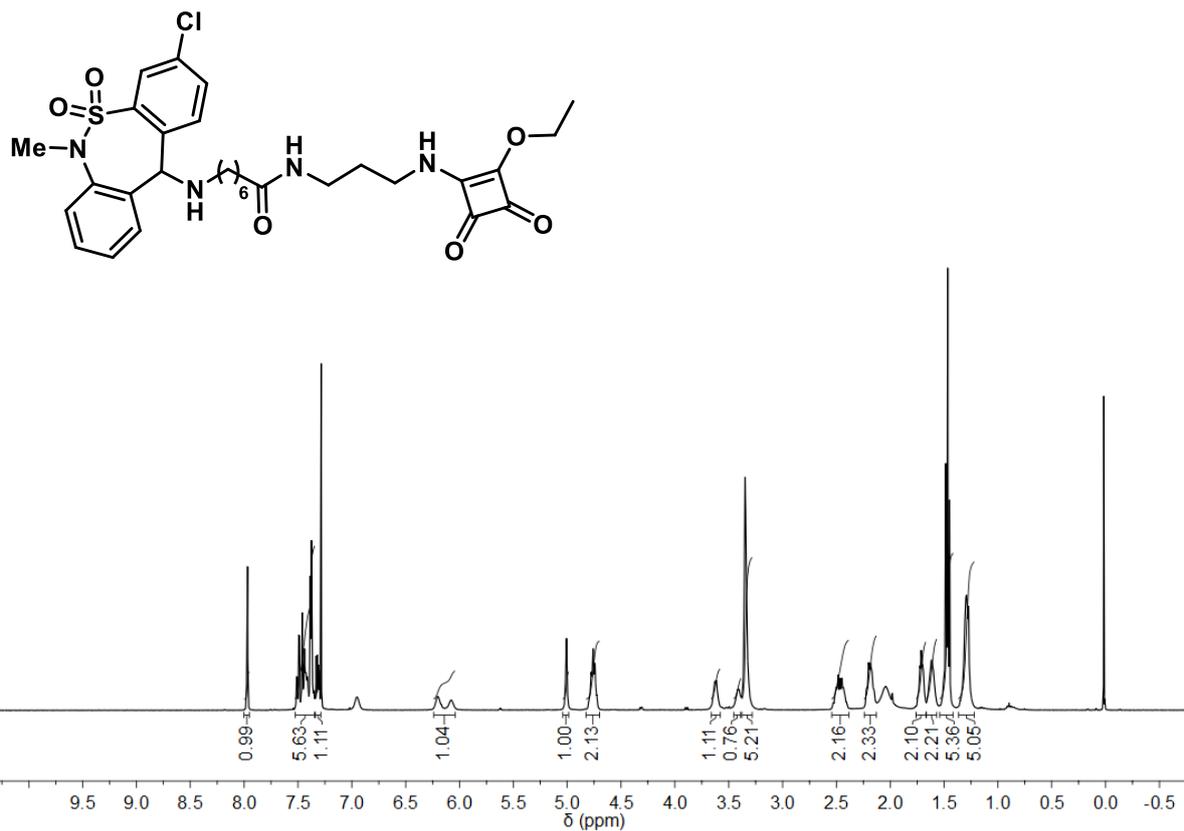


Figura A38: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **34b**.

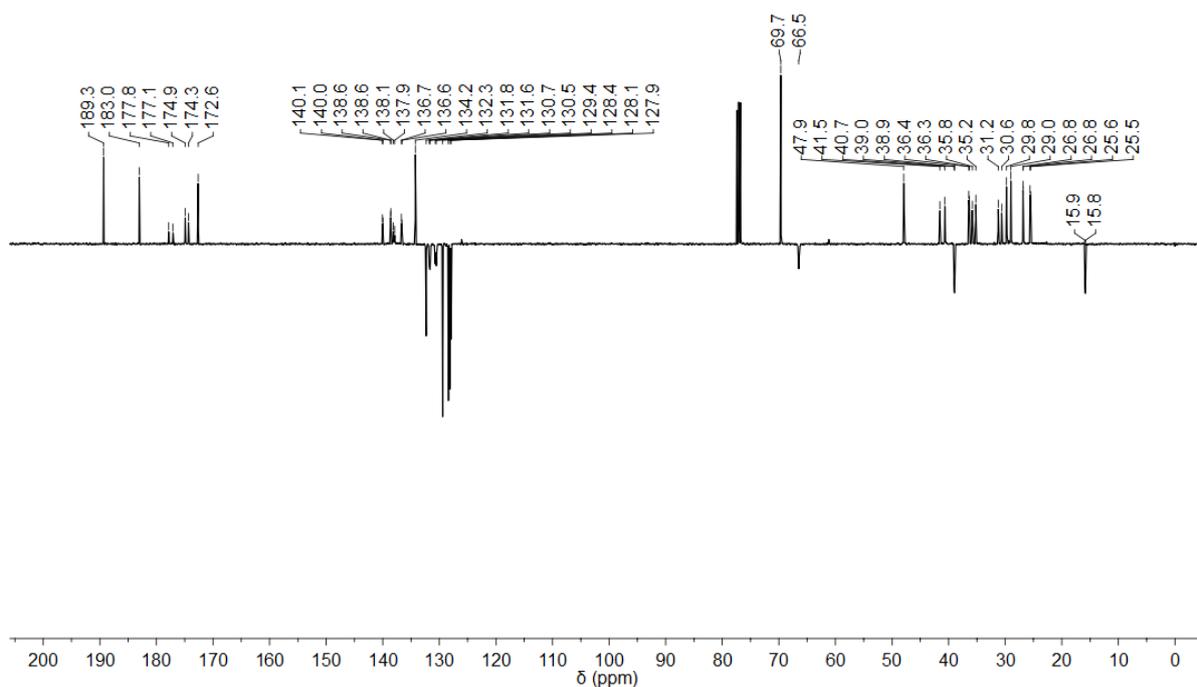


Figura A39: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **34b**.

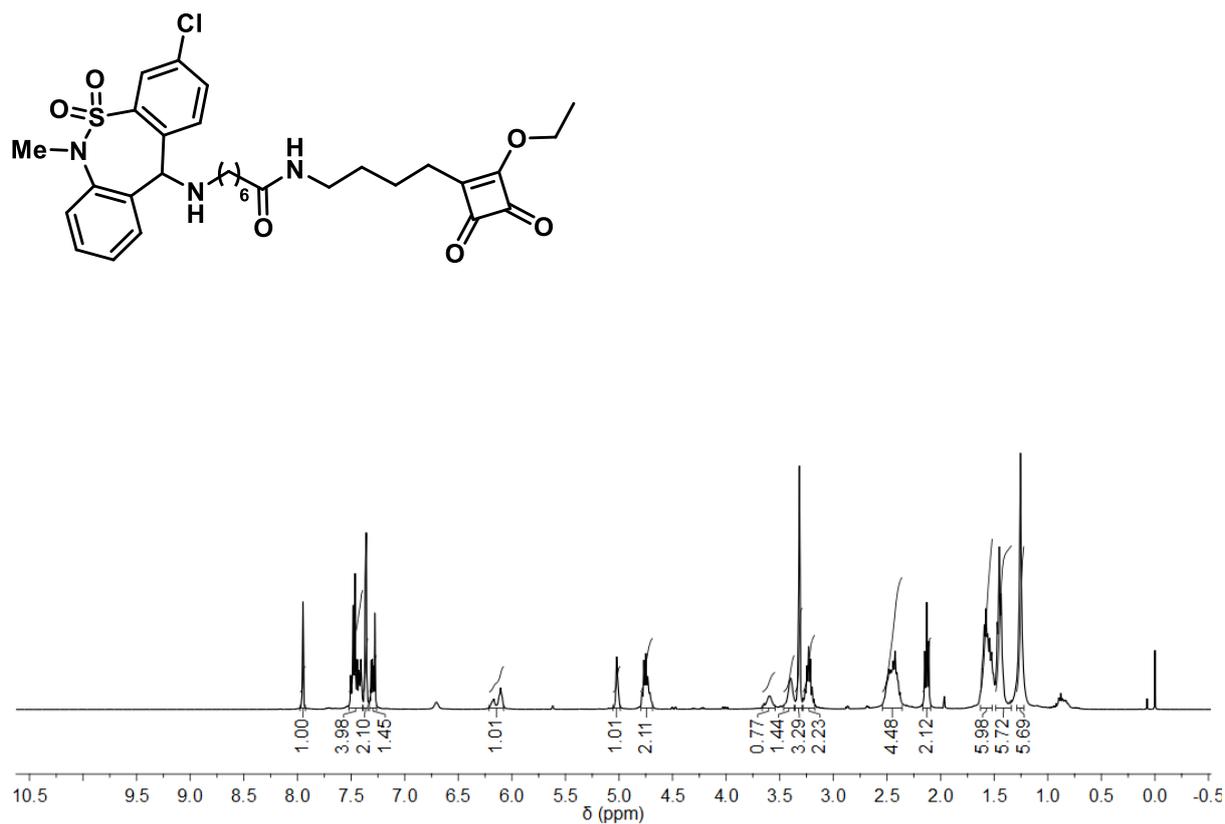


Figura A40: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **34c**.

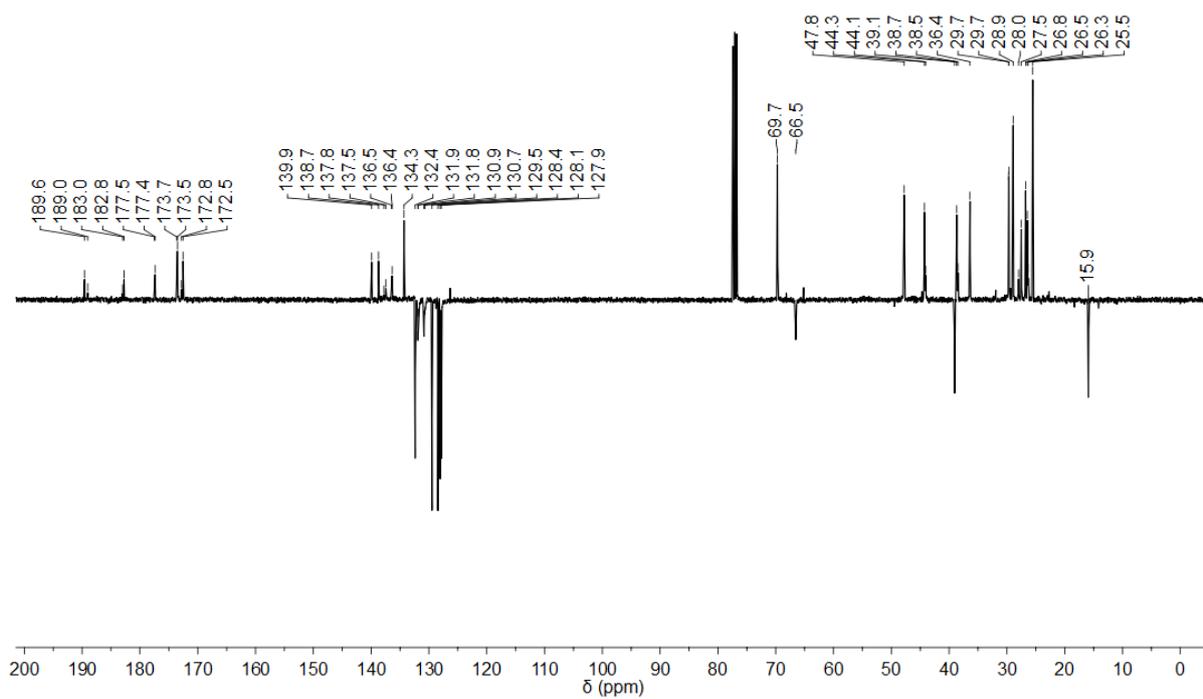


Figura A41: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **34c**.

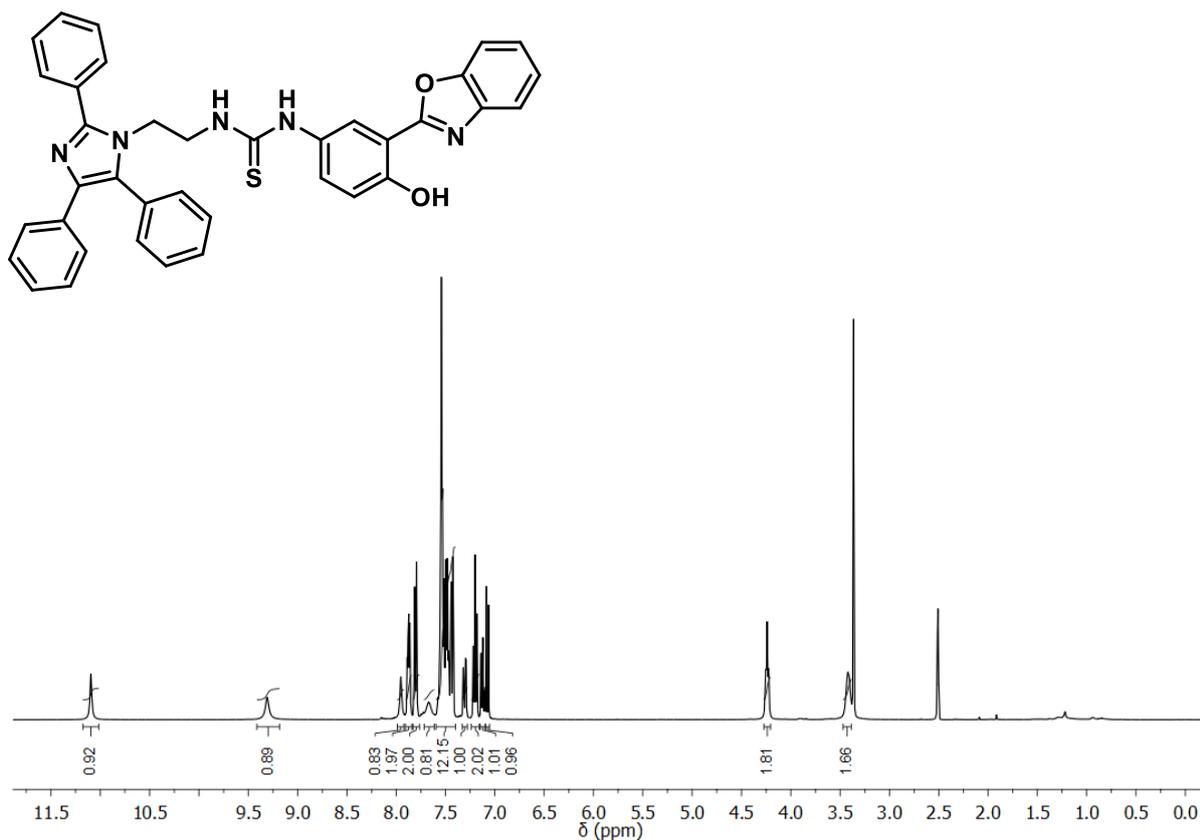


Figura A42: Espectro de RMN de ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do composto 37a.

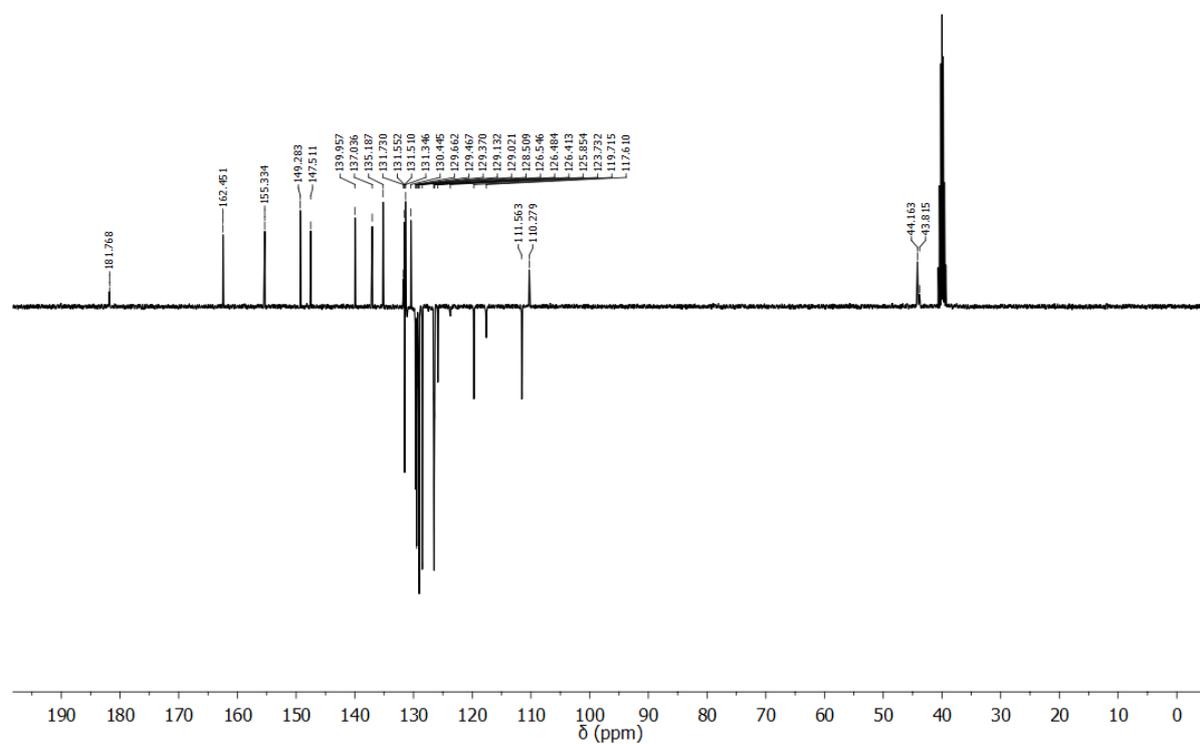


Figura A43: Espectro de RMN de ¹³C-APT (DMSO-d₆, 100 MHz) do composto 37a.

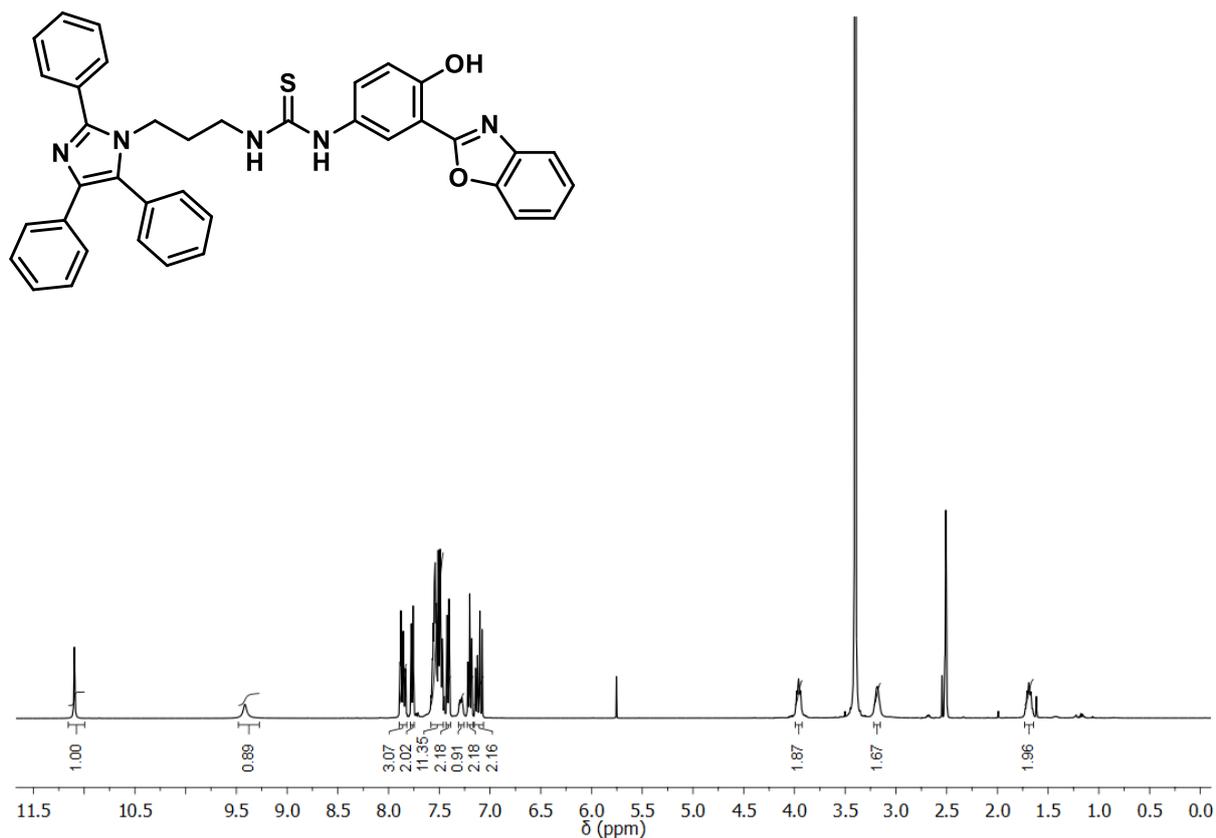


Figura A44: Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **37b**.

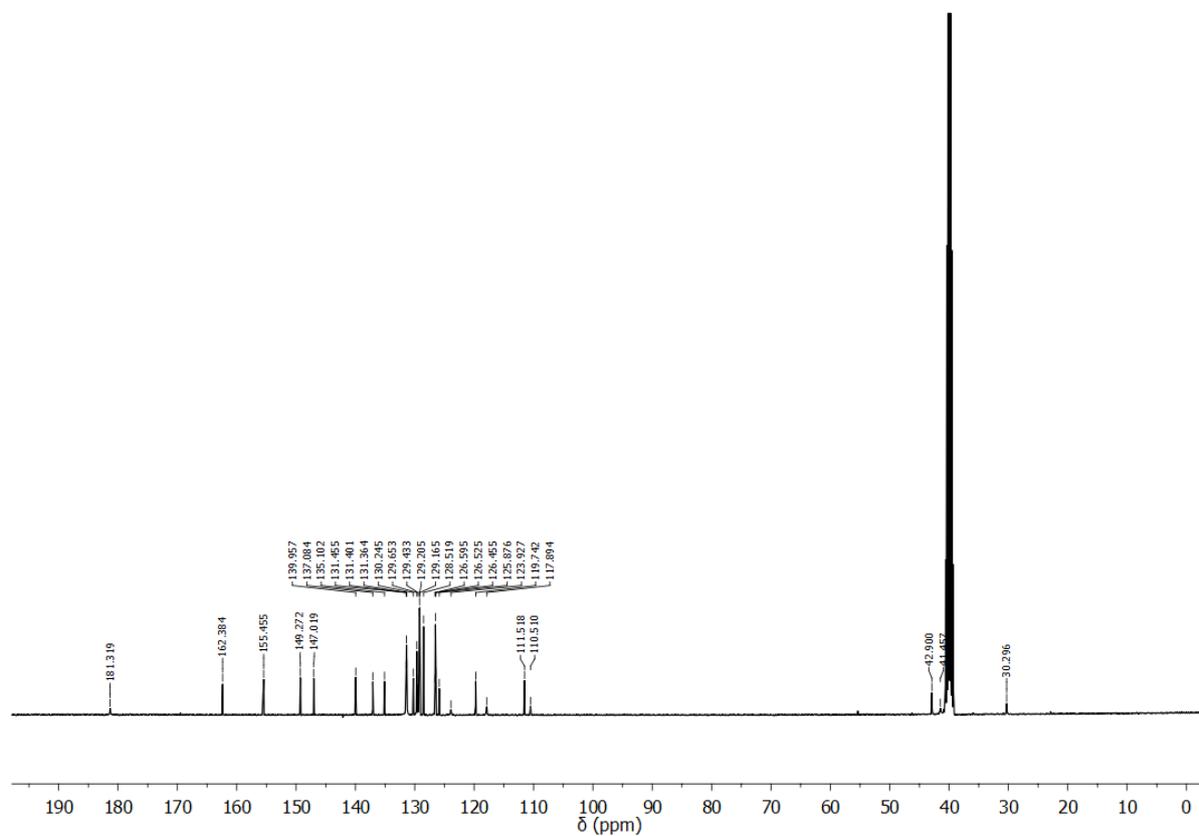


Figura A45: Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **37b**.

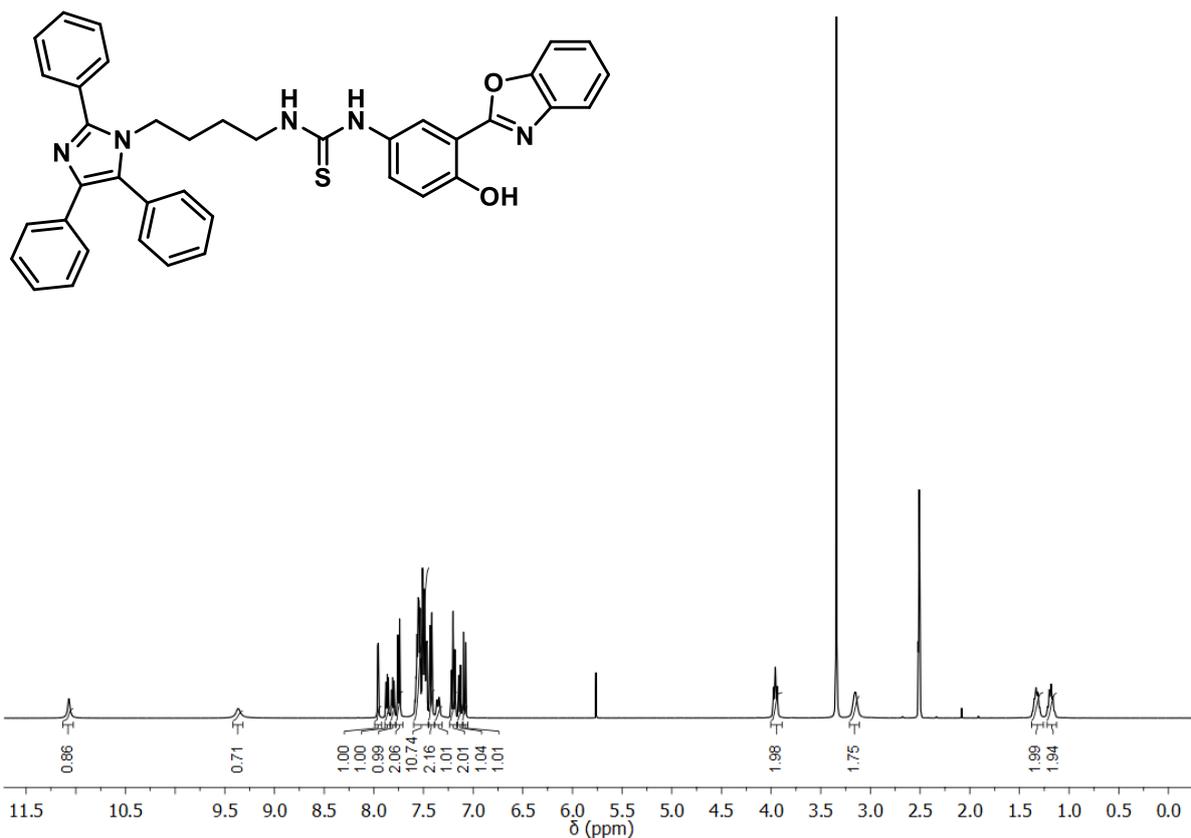


Figura A46: Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **37c**.

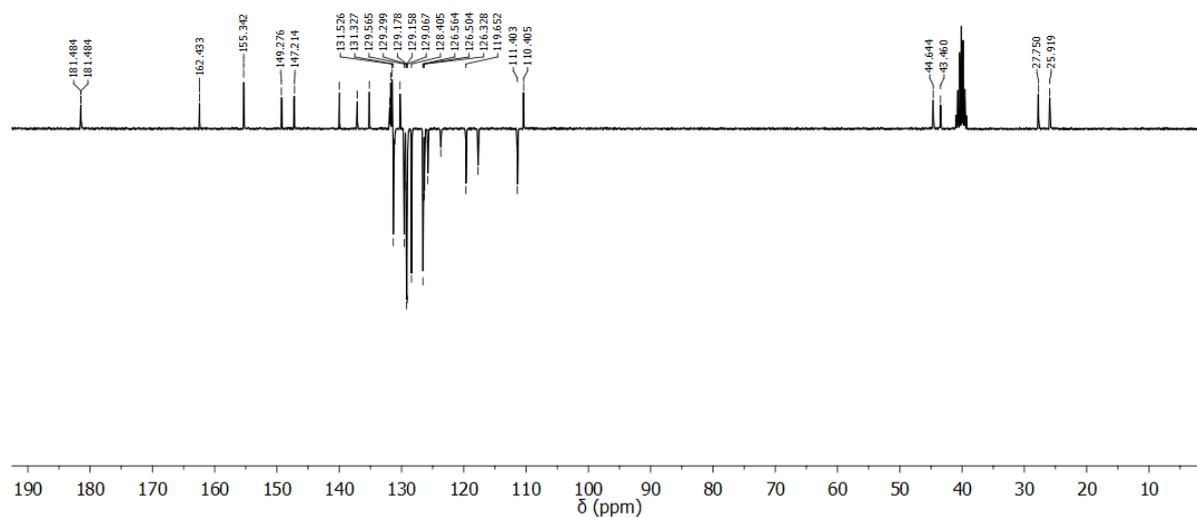


Figura A47: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **37c**.

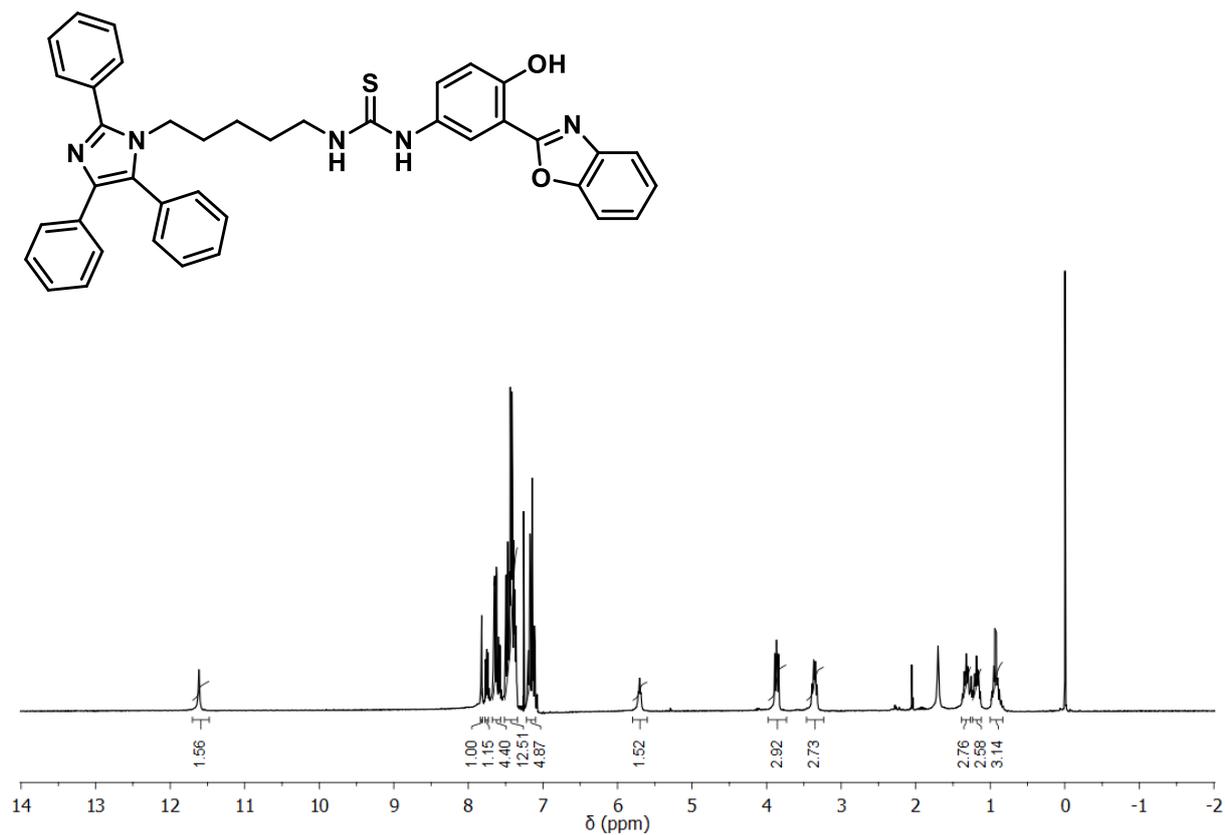


Figura A48: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37d**.

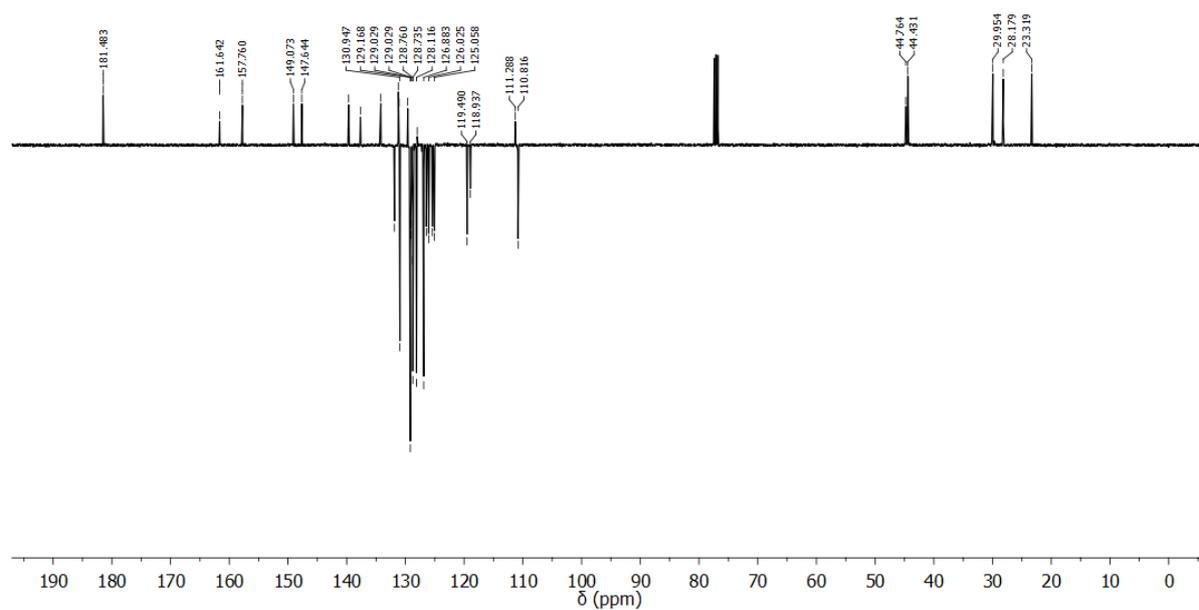


Figura A49: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37d**.

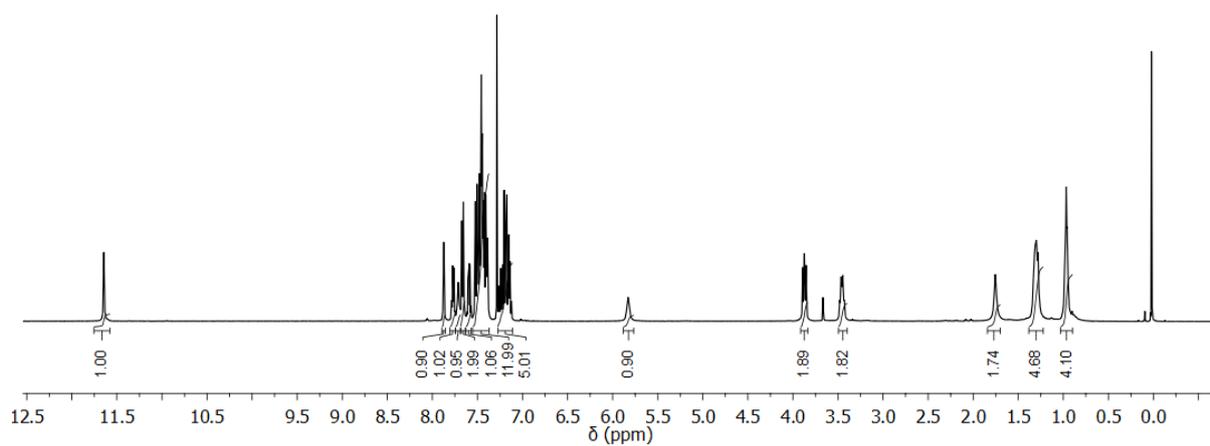
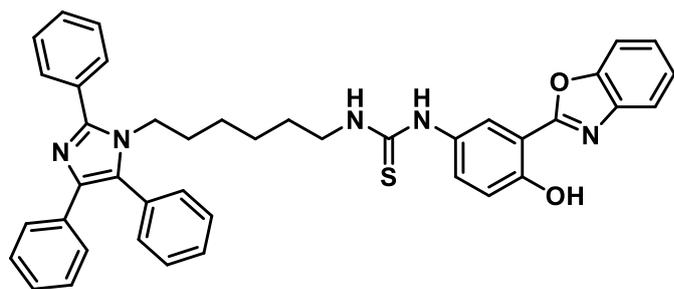


Figura A50: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37e**.

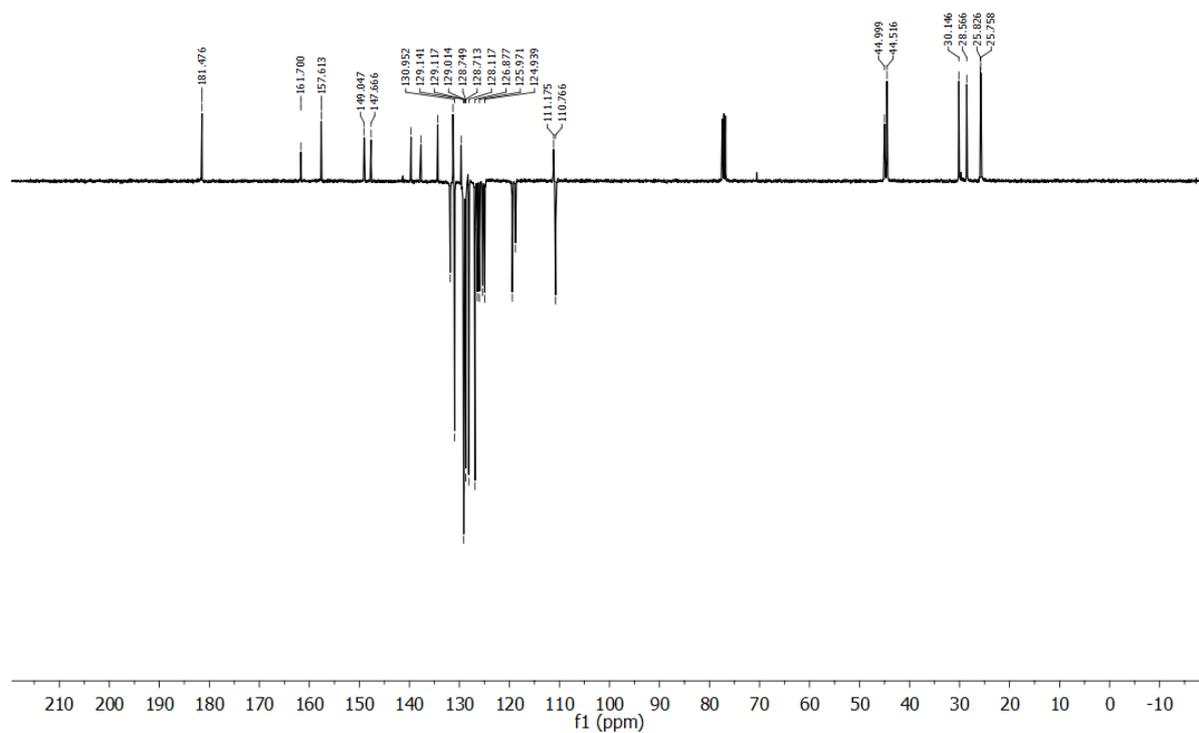


Figura A51: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37e**.

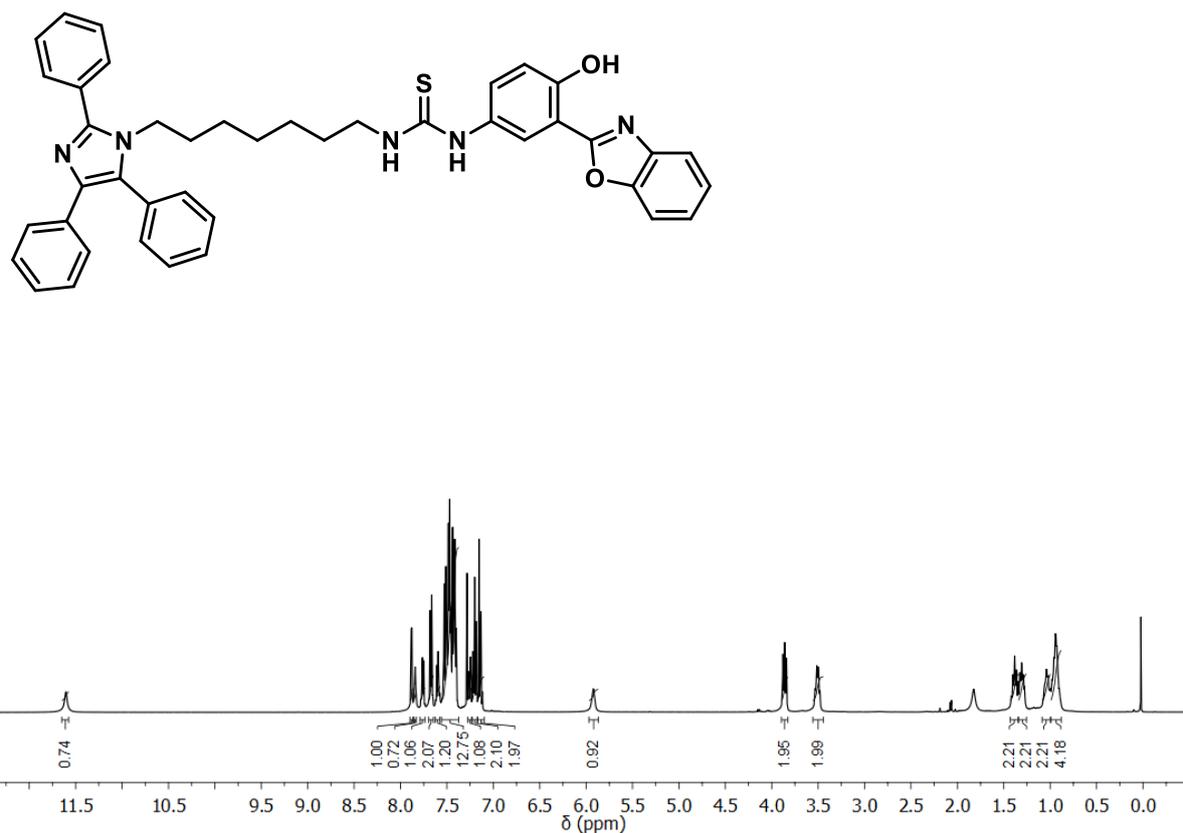


Figura A52: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **37f**.

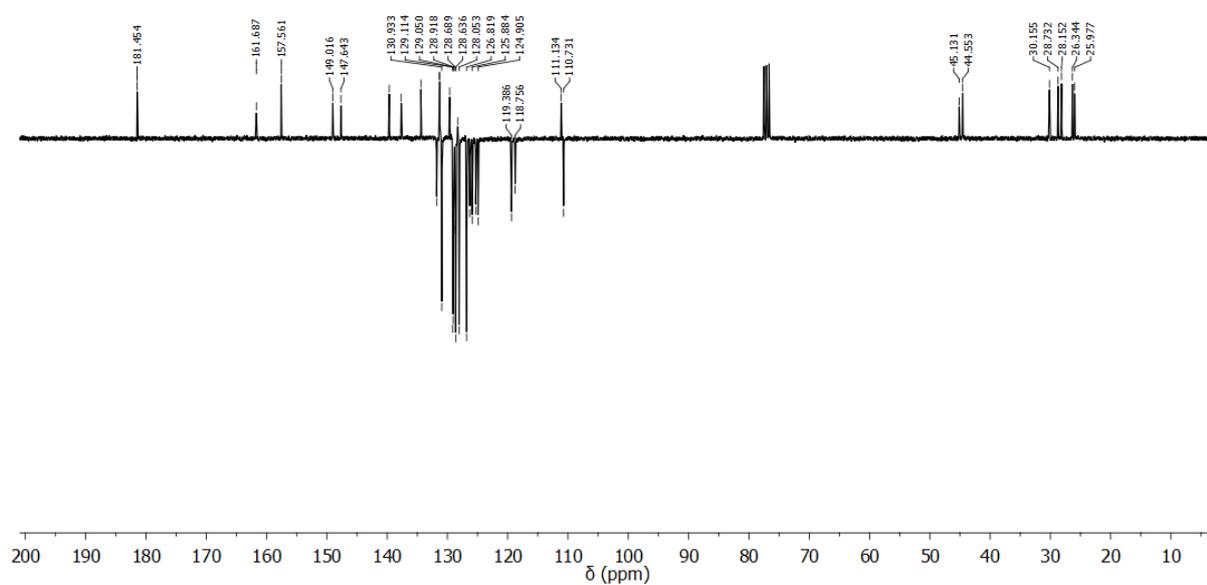


Figura A53: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **37f**.

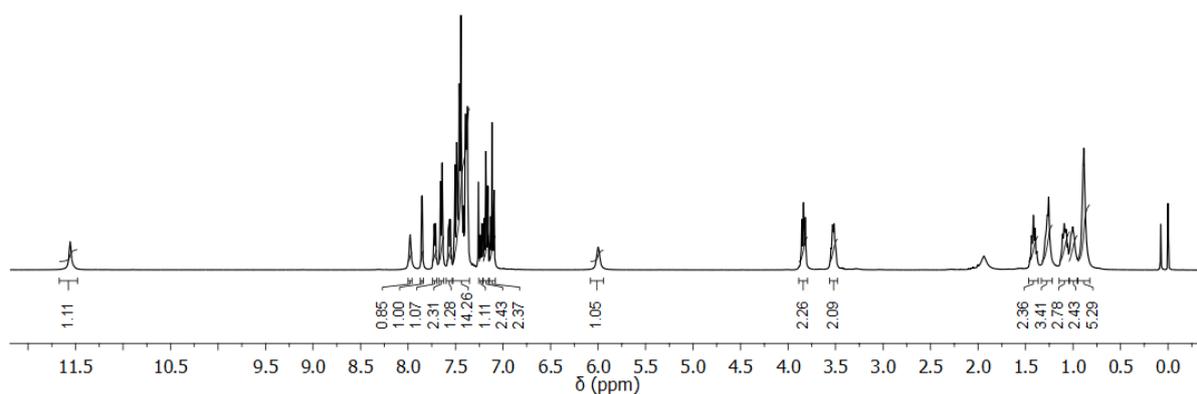
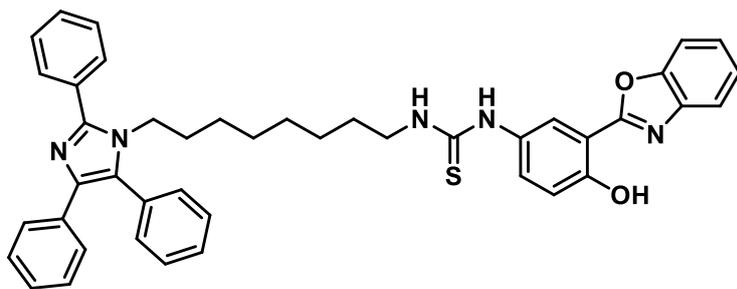


Figura A54: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37g**.

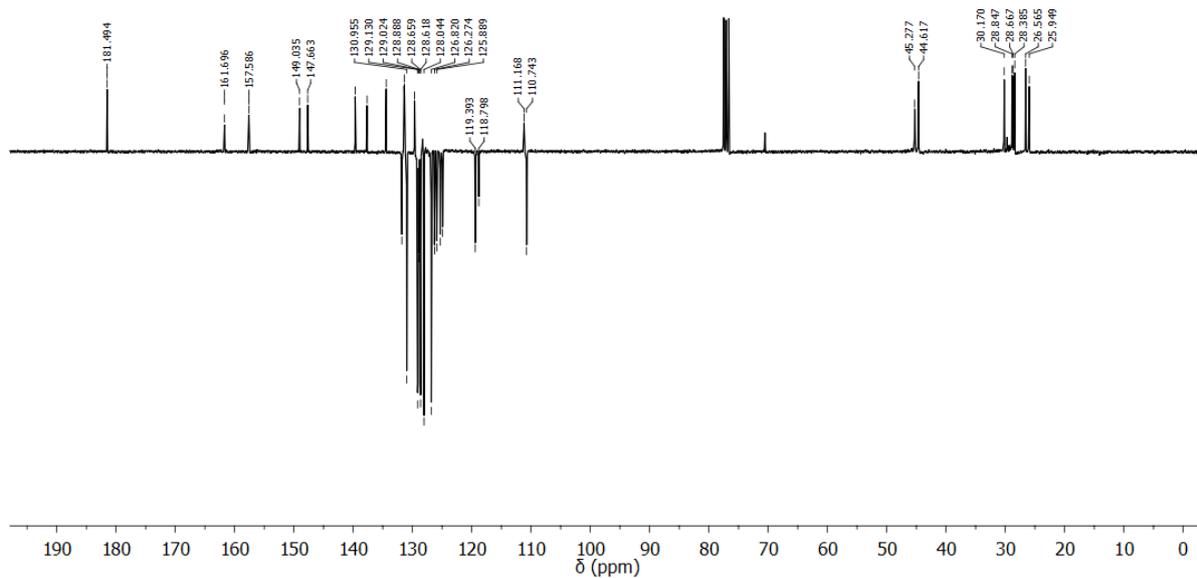


Figura A55: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37g**.

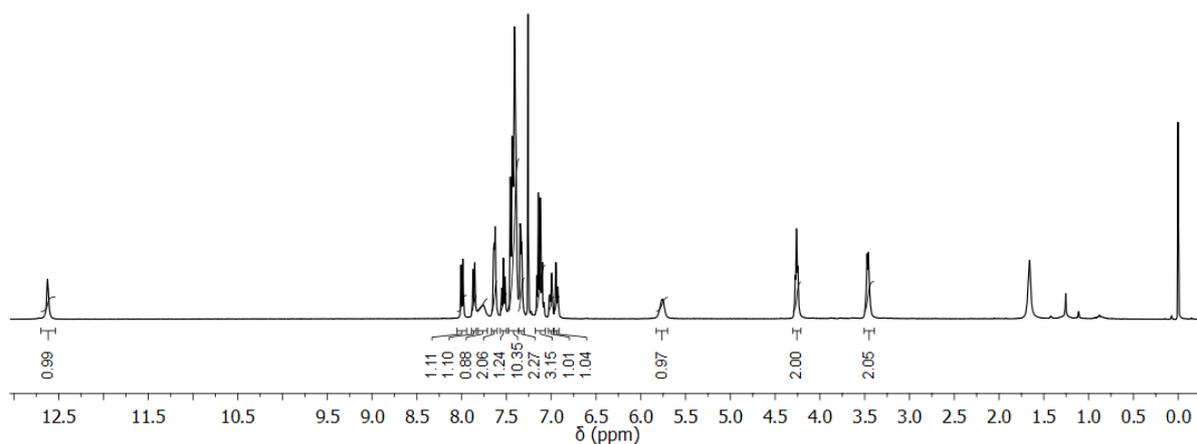
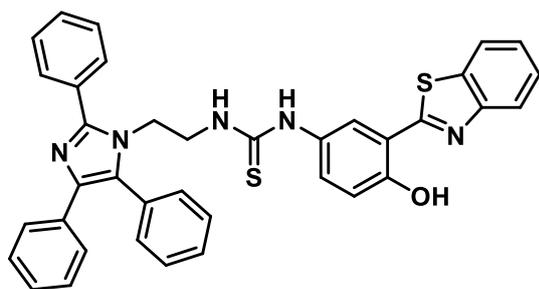


Figura A56: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37h**.

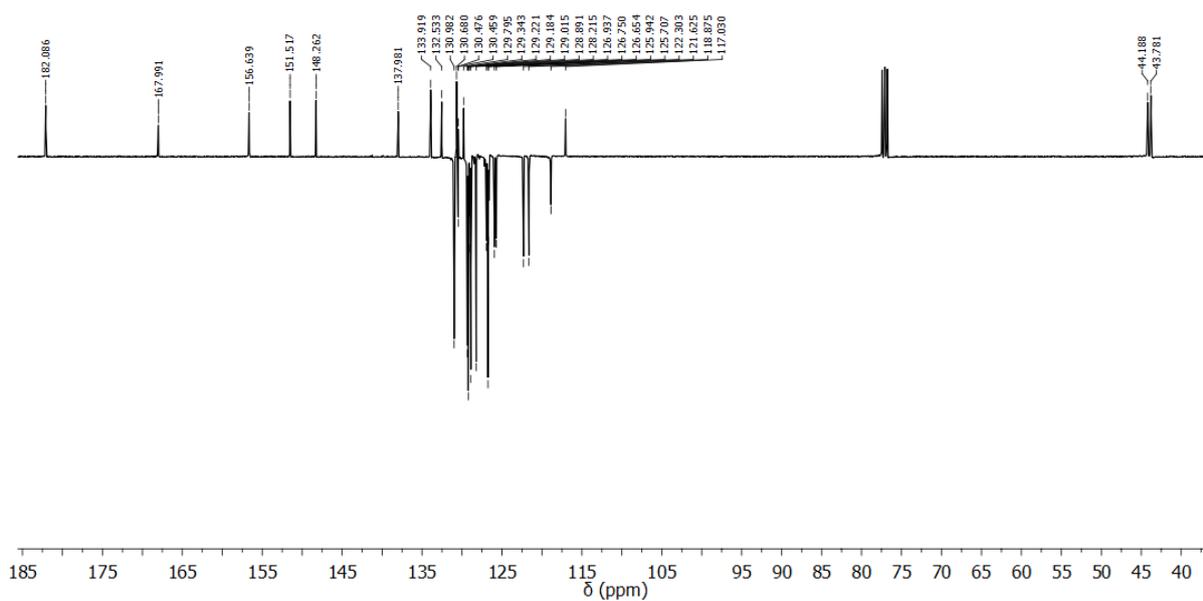


Figura A57: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37h**.

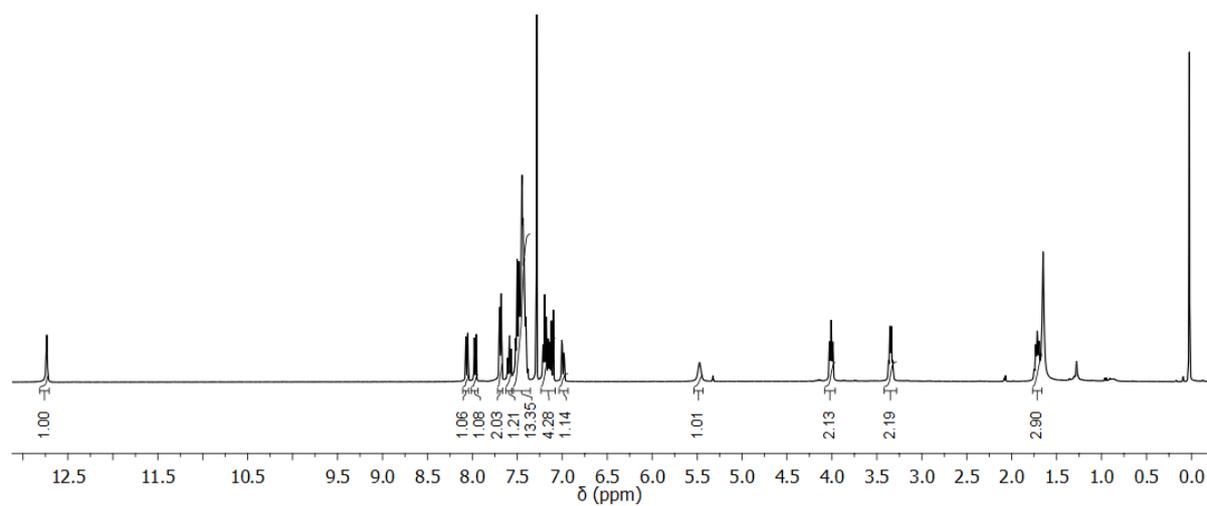
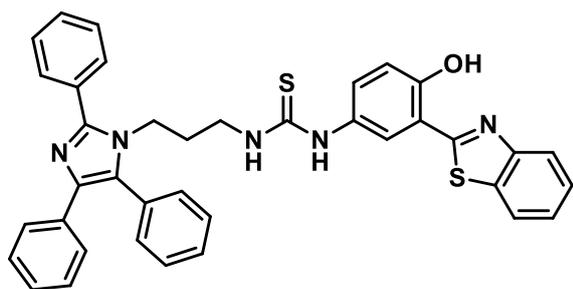


Figura A58: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37i**.

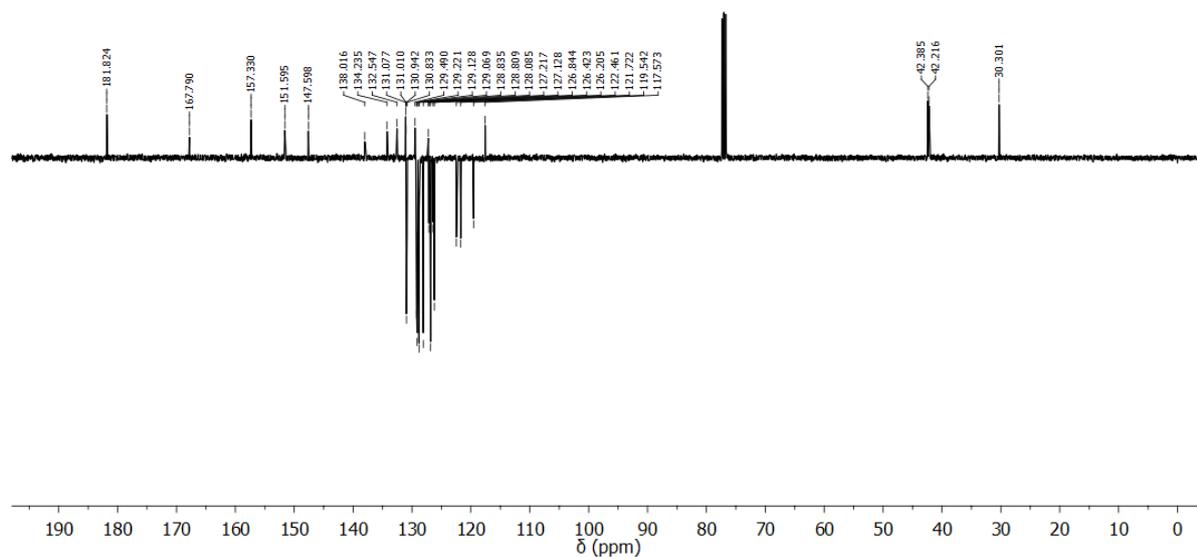


Figura A59: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37i**.

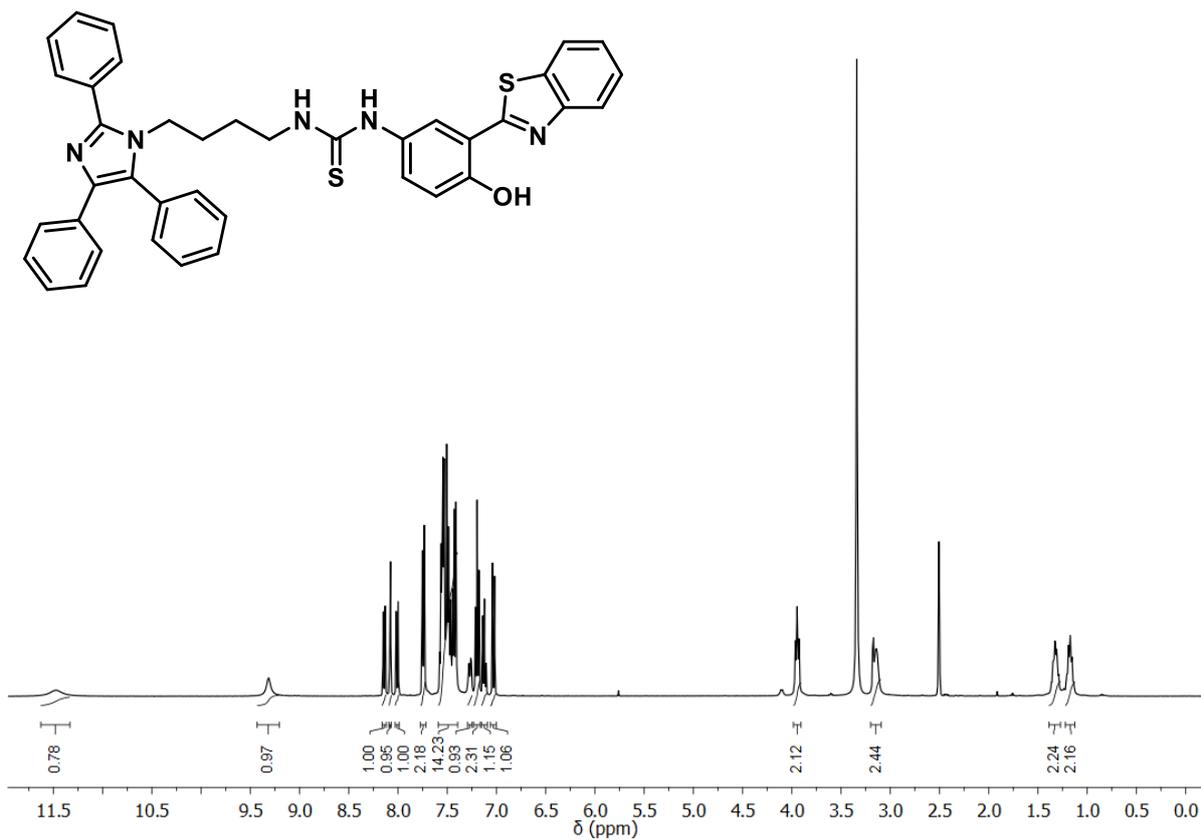


Figura A60: Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **37j**.

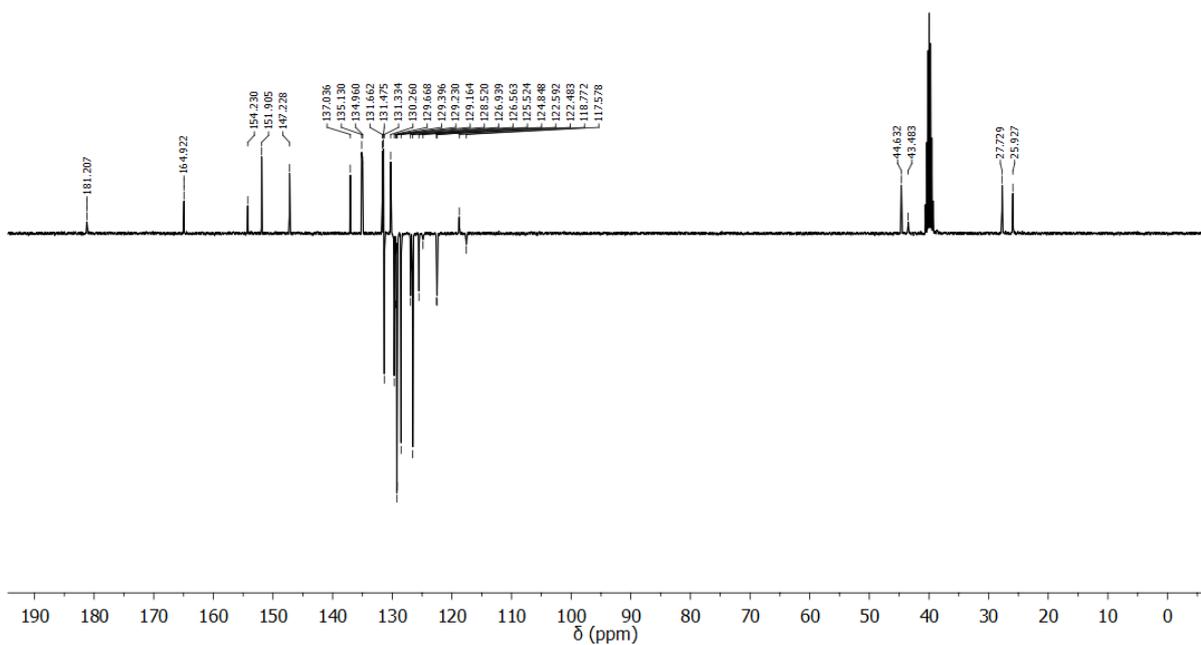


Figura A61: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **37j**.

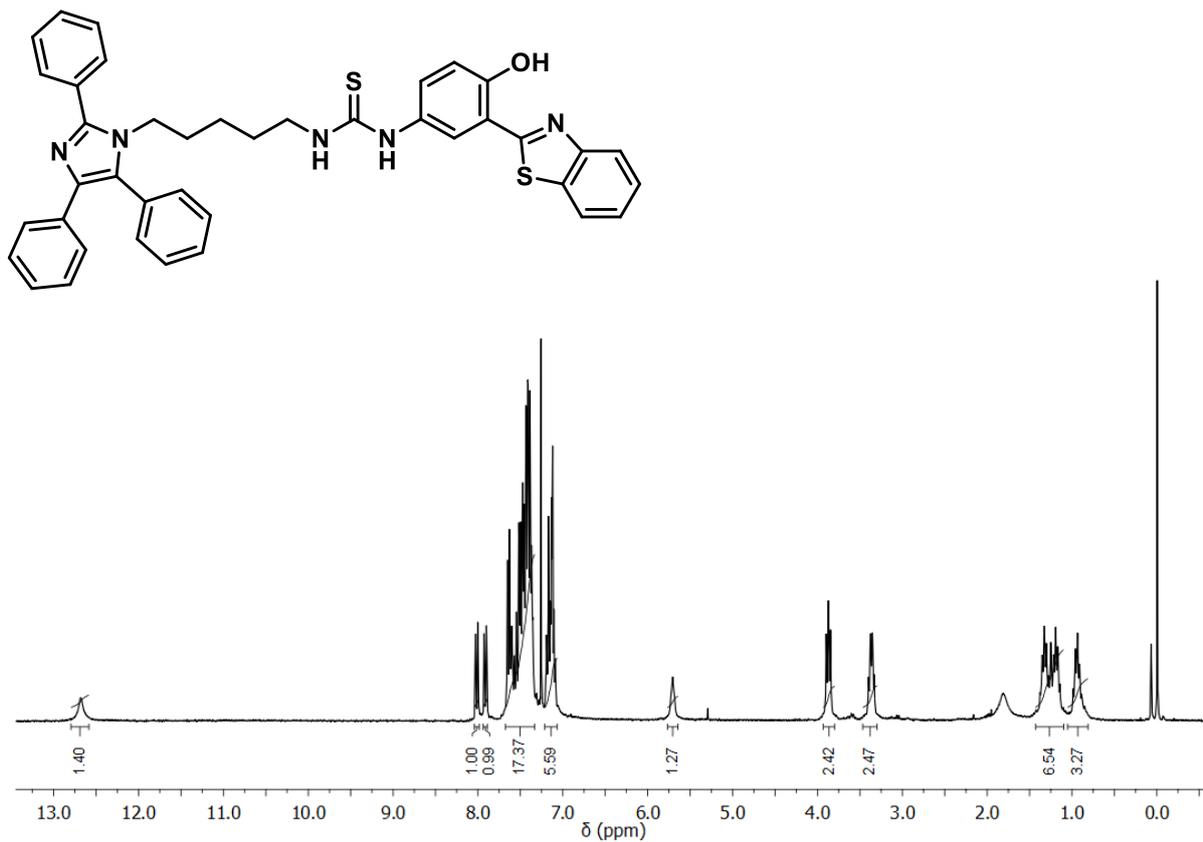


Figura A62: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37k**.

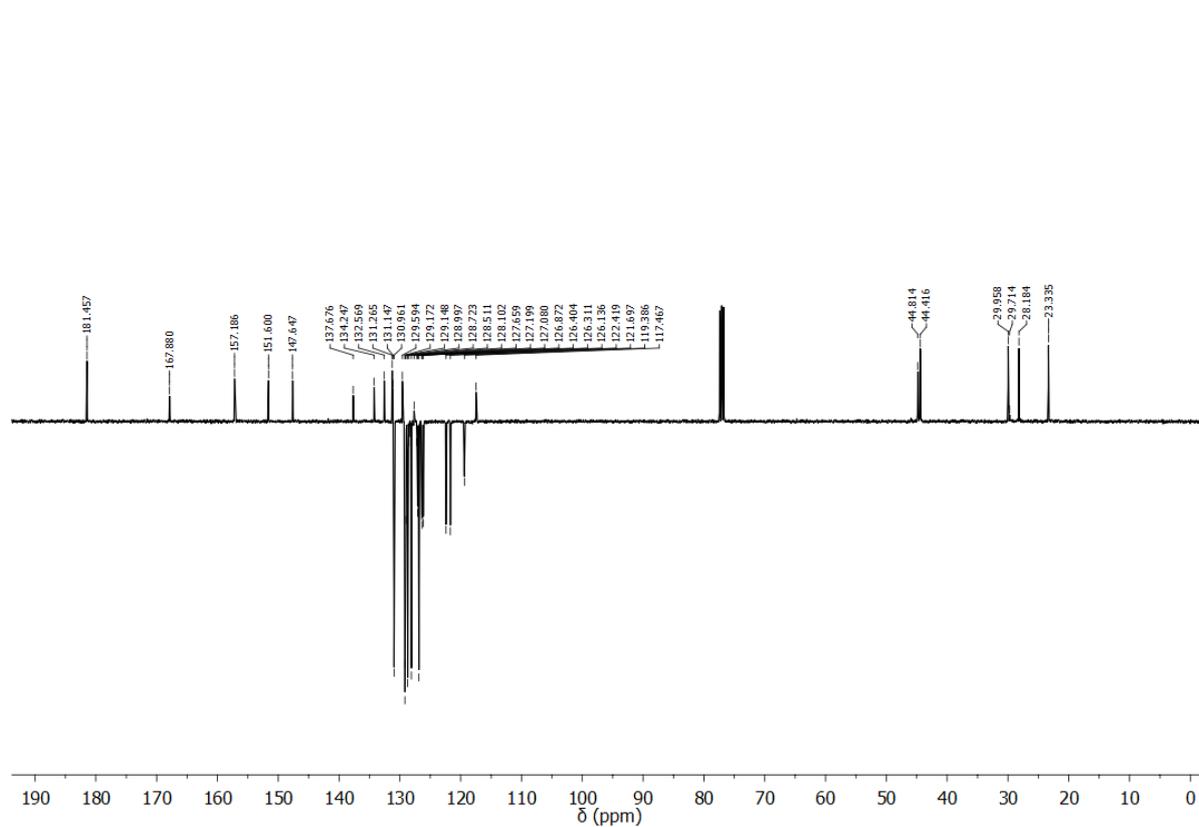


Figura A63: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37k**.

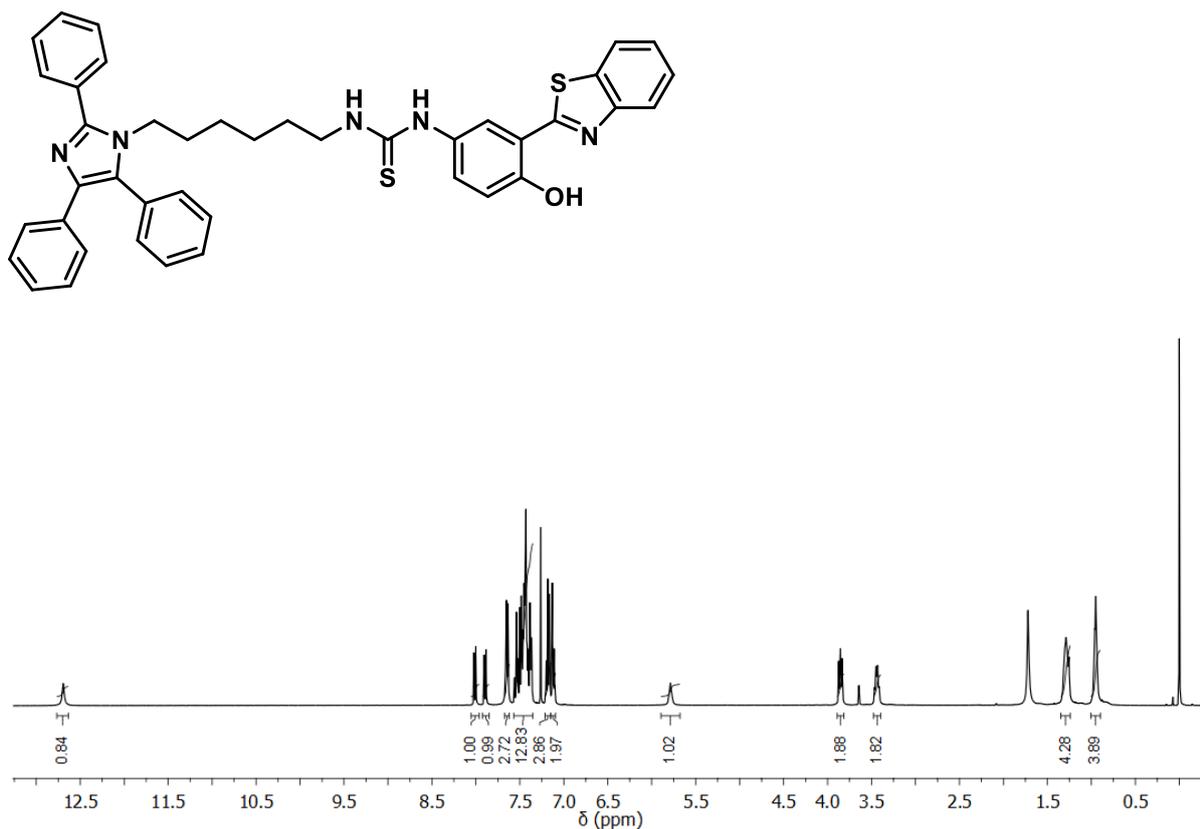


Figura A64: Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **371**.

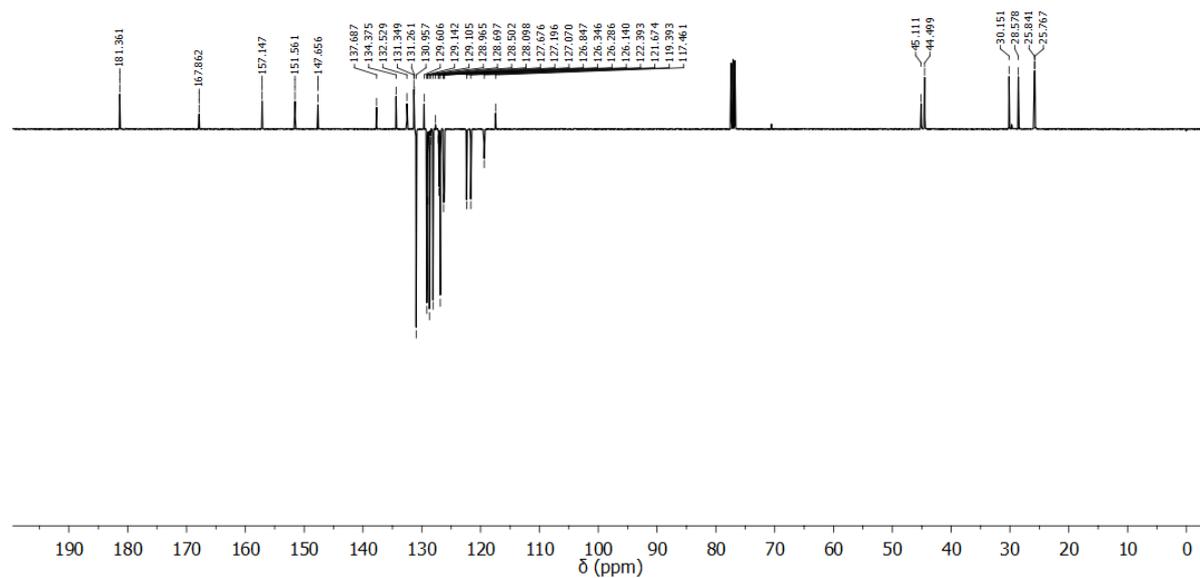


Figura A65: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl₃, 100 MHz) do composto **371**.

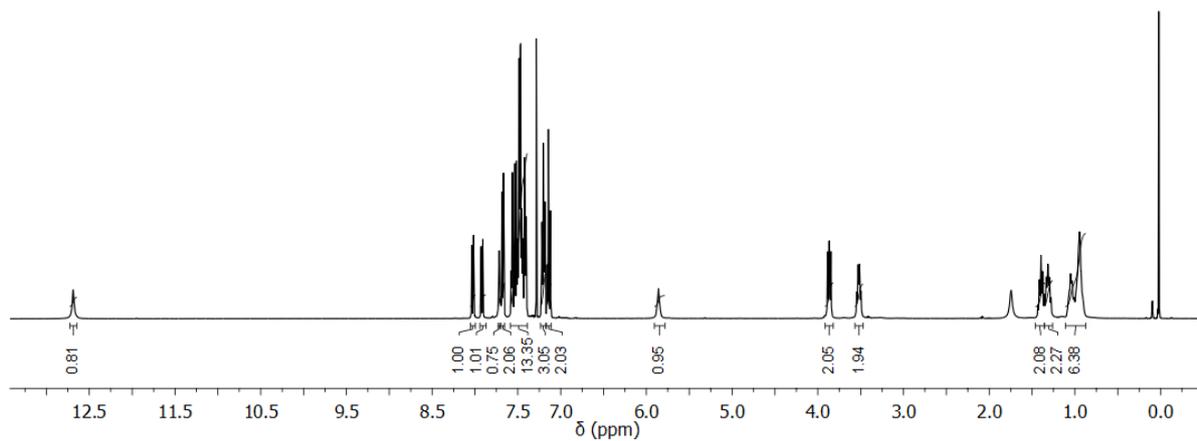
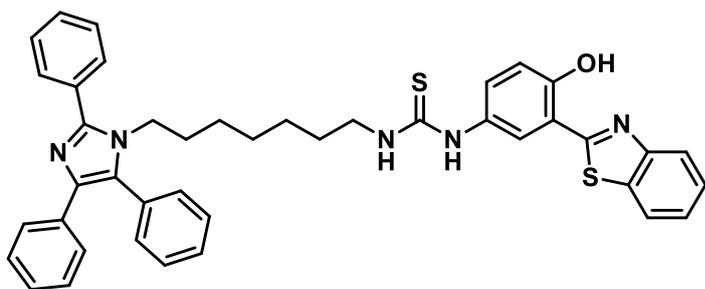


Figura A66: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37m**.

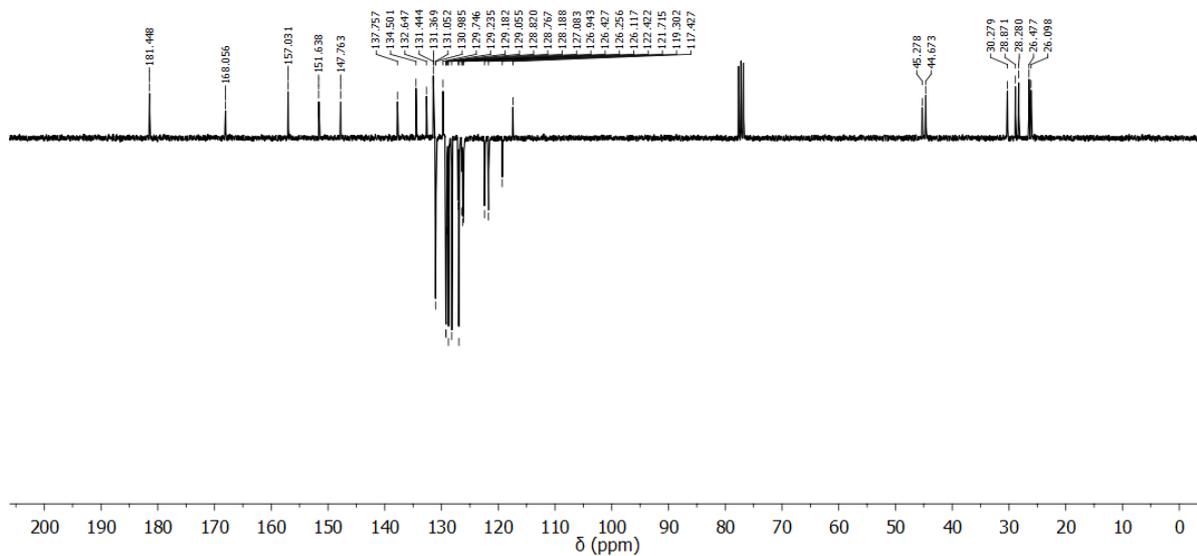


Figura A67: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37m**.

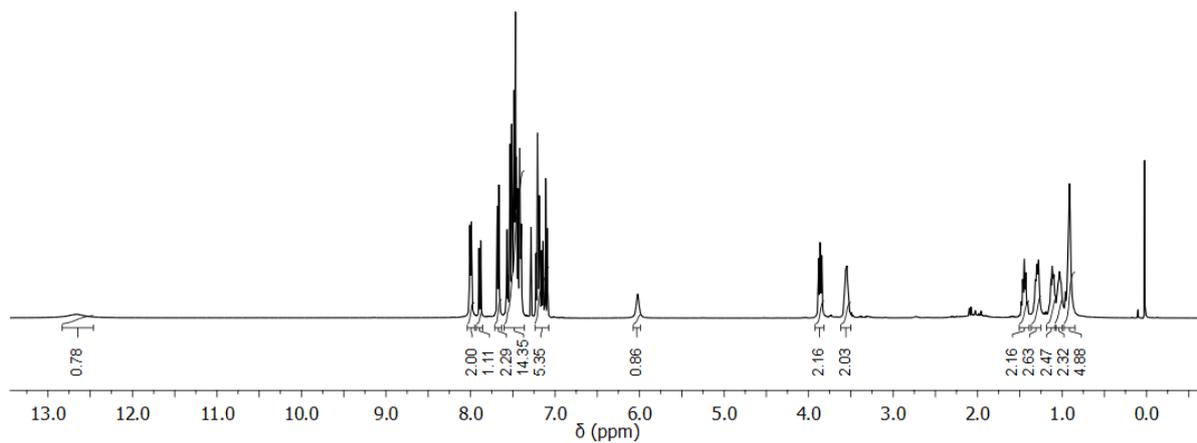
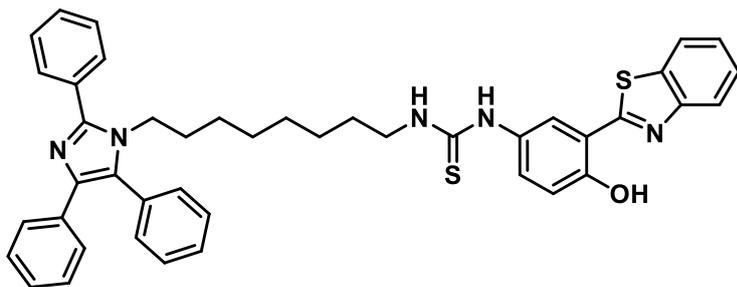


Figura A68: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **37n**.

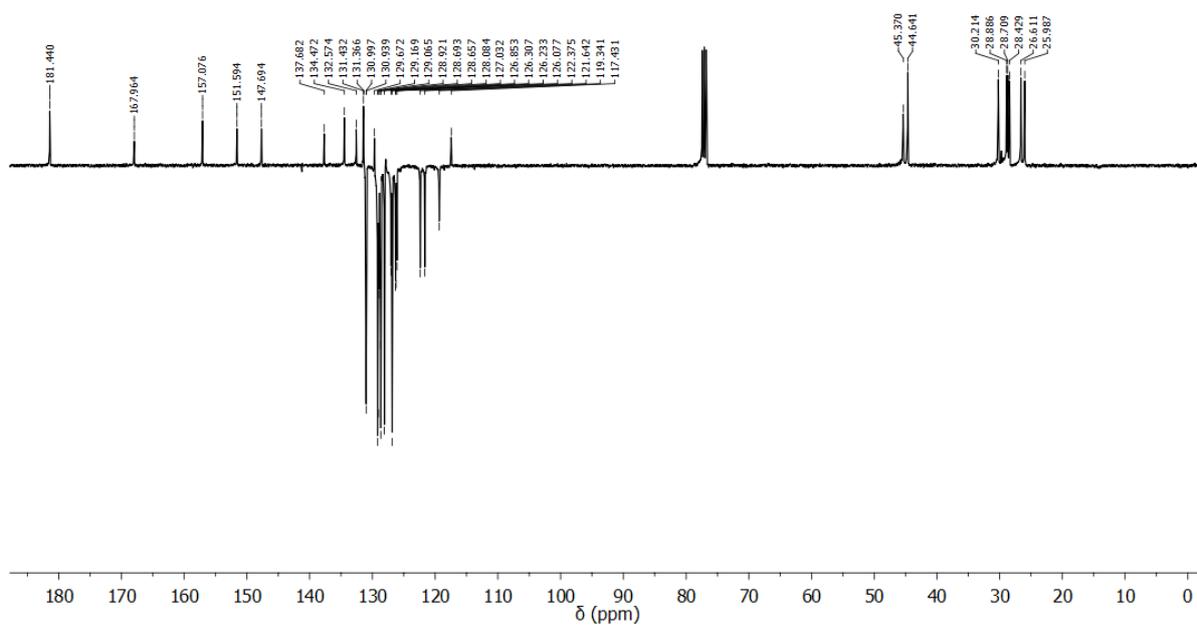


Figura A69: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (CDCl_3 , 100 MHz) do composto **37n**.

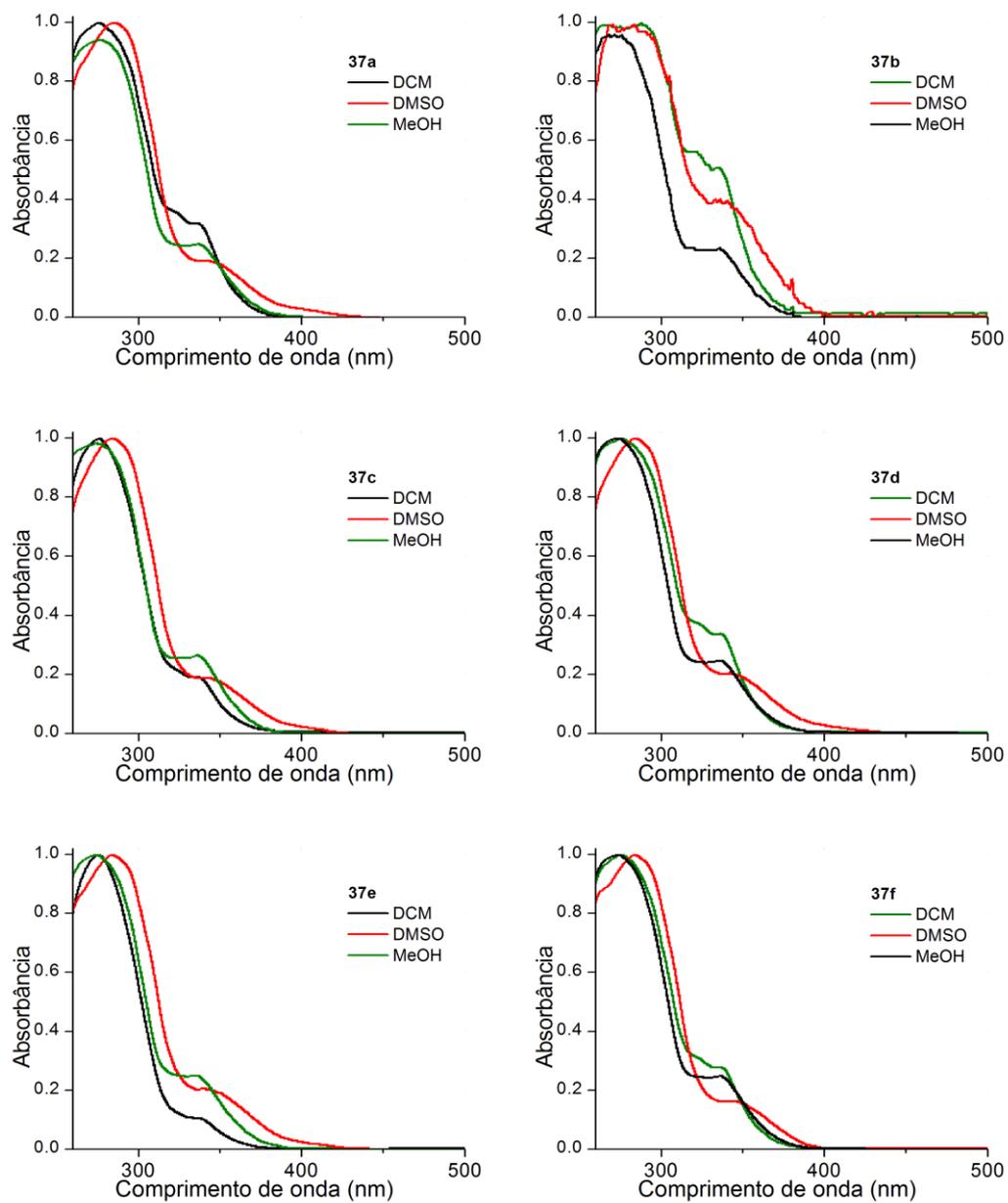


Figura A70: Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos **37a-f**.

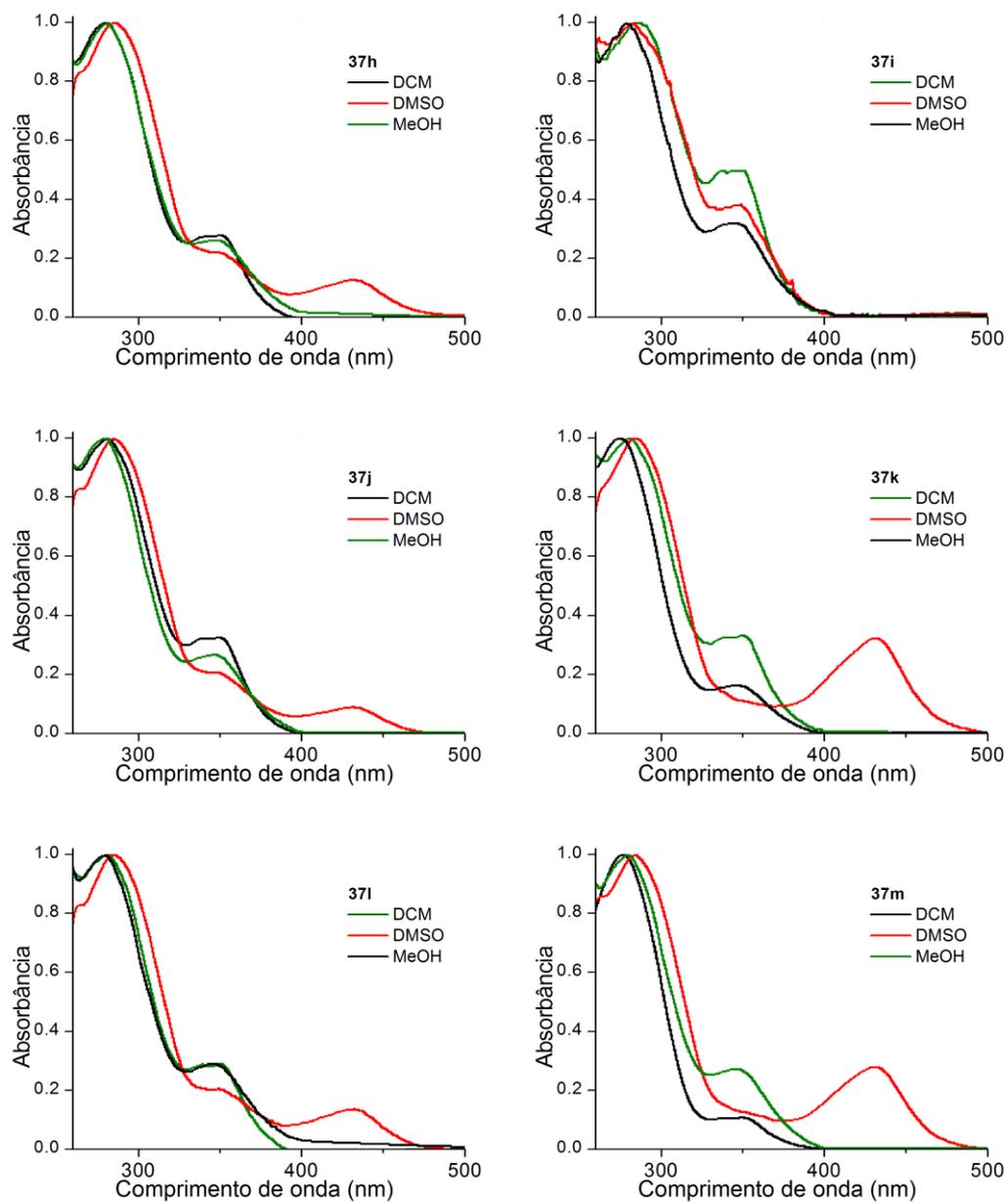


Figura A71: Espectro de absorção na região do UV-Vis dos compostos **37h-m**.

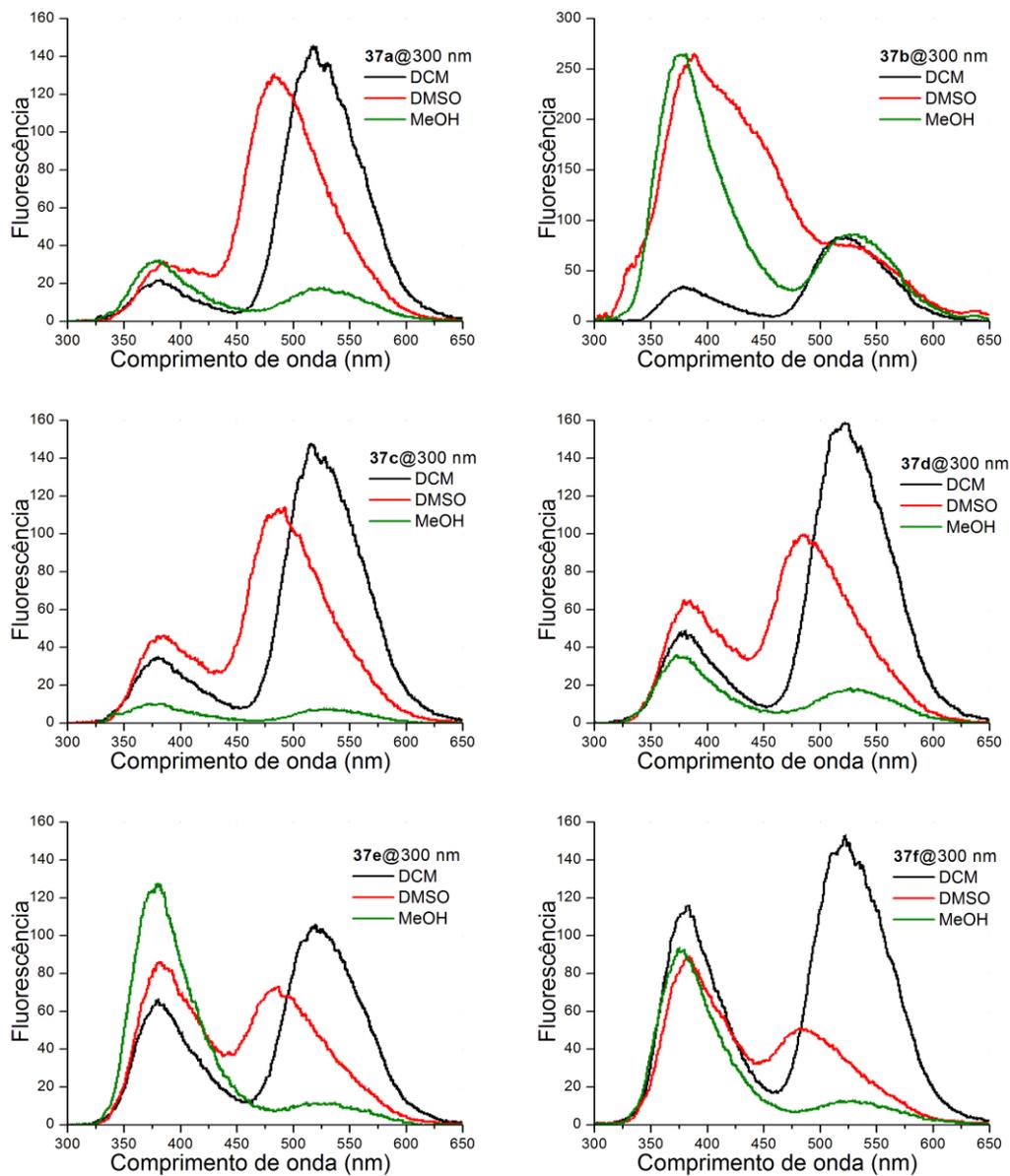


Figura A72: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37a-f**. $\lambda_{exc} = 300$ nm.

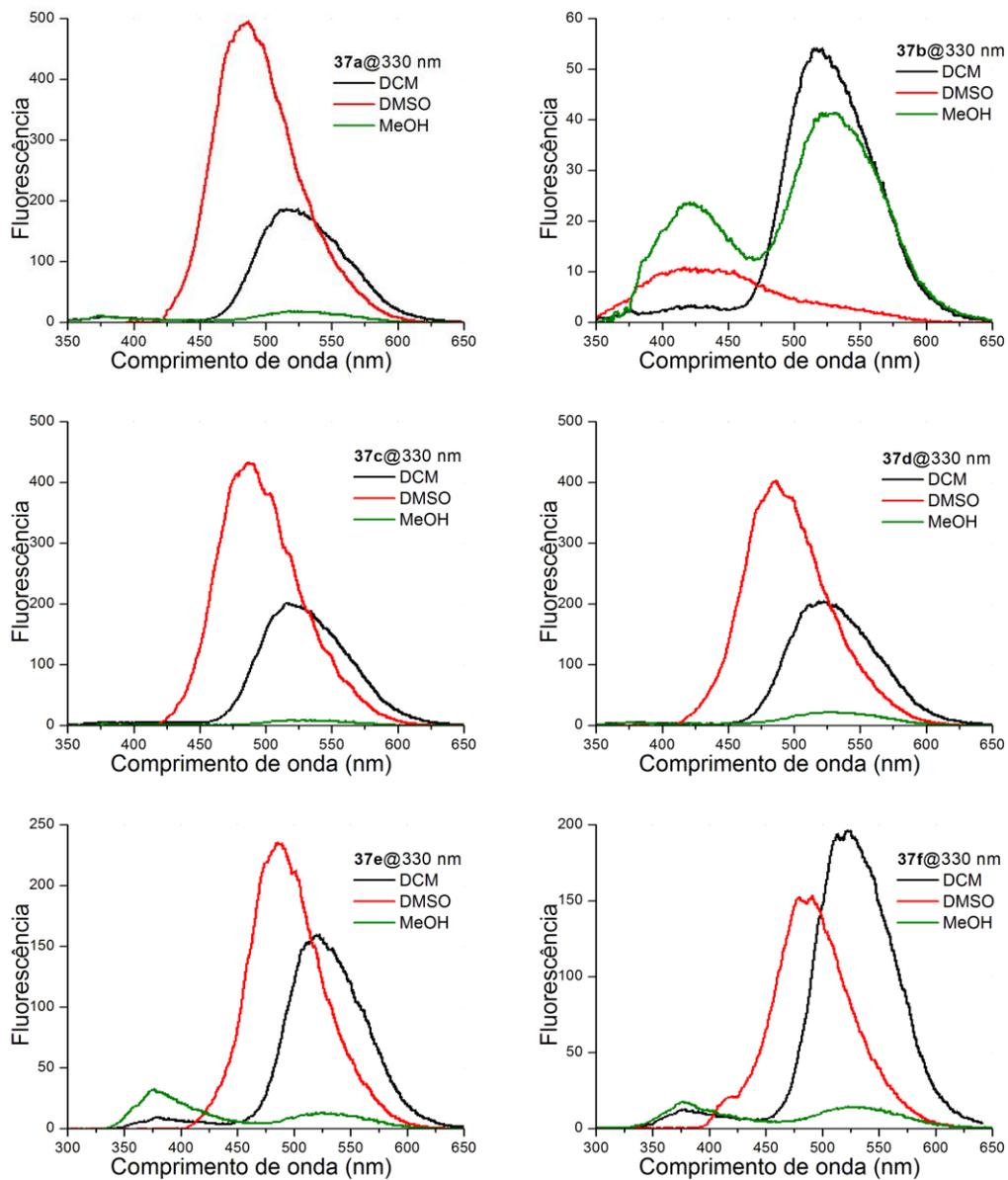


Figura A73: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37a-f**. $\lambda_{exc} = 330$ nm.

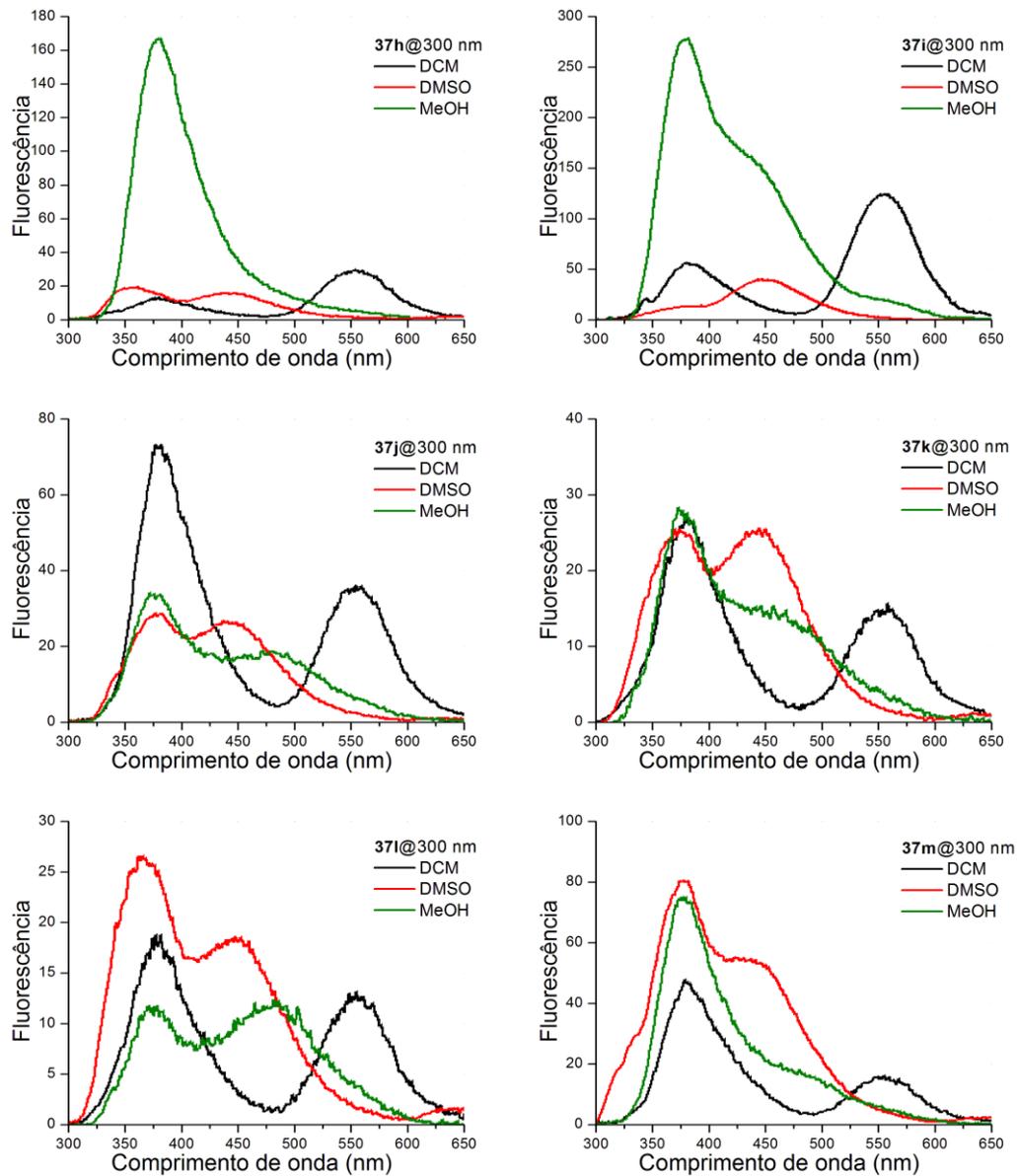


Figura A74: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37h-m**. $\lambda_{exc} = 300$ nm

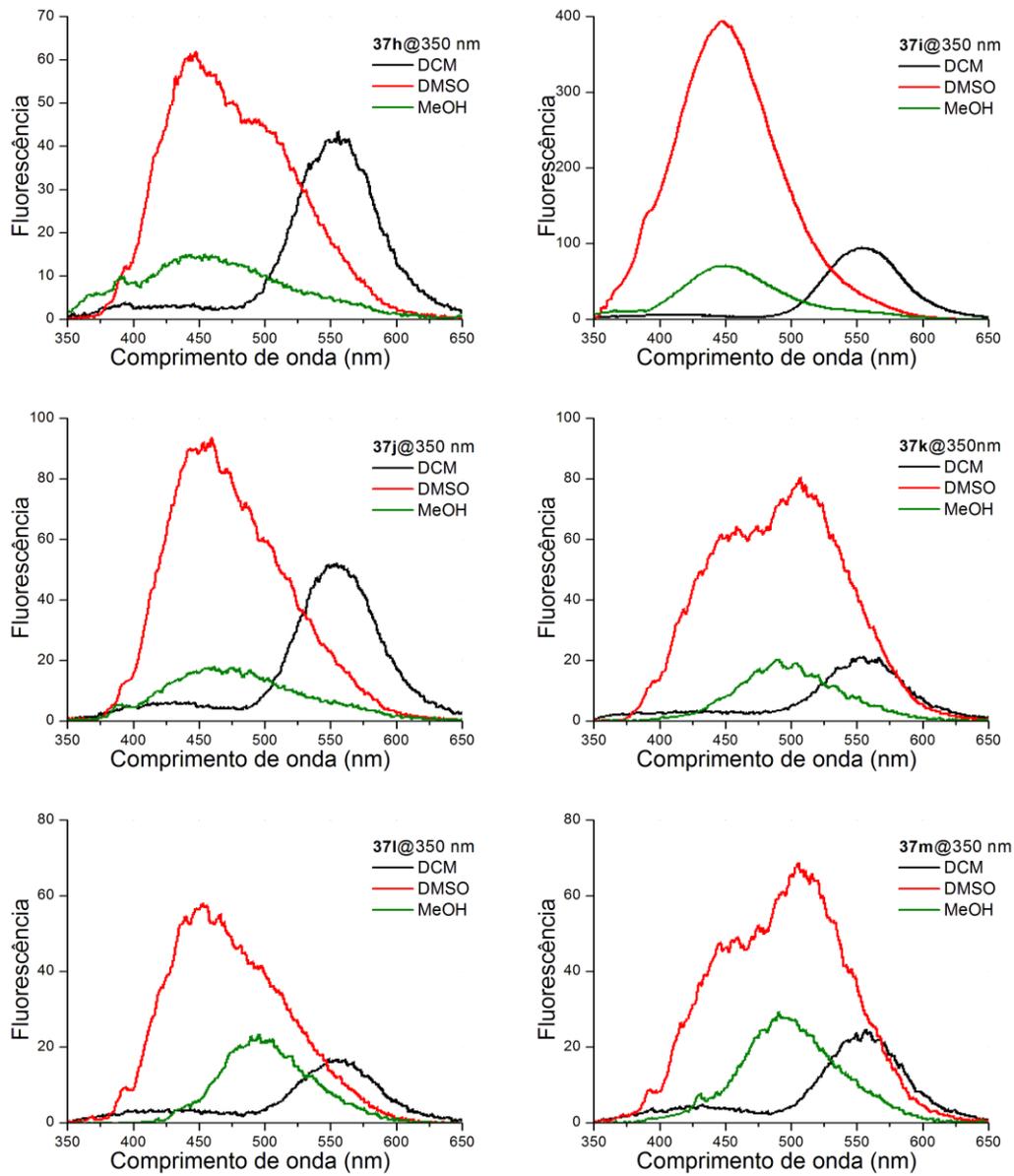


Figura A75: Espectros de emissão de fluorescência nos diferentes solventes estudados do composto **37h-m**. $\lambda_{exc} = 350 \text{ nm}$