

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Insumos Farmacêuticos

**Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas  
como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença  
de Alzheimer**

Karinne Esteves Prado

Tese para obtenção do Título de DOUTOR  
Orientador: Prof. Dr. Roberto Parise Filho

São Paulo  
2022

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Insumos Farmacêuticos

**Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas  
como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença  
de Alzheimer**

Karinne Esteves Prado

Versão corrigida da Tese conforme resolução CoPGr 6018.

Tese para obtenção do Título de DOUTOR  
Orientador: Prof. Dr. Roberto Parise Filho

São Paulo

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

P896s	Prado, Karinne Esteves Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer / Karinne Esteves Prado. - São Paulo, 2022. 142 p.
	Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Parise Filho, Roberto
	1. Doença de Alzheimer. 2. Inibidores de colinesterases. 3. Aminoflavonas. 4. Planejamento de fármacos. 5. Aminoação de Buchwald-Hartwig. I. T. II. Parise Filho, Roberto, orientador.

KARINNE ESTEVES PRADO

**Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer**

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Roberto Parise Filho  
Orientador/ presidente

---

Prof. Dr. Roberto Parise Filho

---

Profa. Dra. Gisele de Freitas Gauze Bandoch

---

Dr. Micael Rodrigues Cunha

---

Dr. Ricardo Augusto Massarico Serafim

São Paulo, 08 de junho de 2022.



## AGRADECIMENTOS

Meu caminho foi agraciado com tantas pessoas especiais que fica difícil descrever o quanto sou grata; todos são igualmente importantes e fazem parte do quebra-cabeça de minha história.

Inicialmente agradeço a fonte criadora e a família ímpar que tenho, em especial minha mãe e meu pai (*in memoriam*) por serem pessoas maravilhosas. Agradeço ao meu companheiro Douglas Tenorio Melo, pela paciência e amor.

Agradeço muito meu orientador, Roberto Parise Filho, que me acolheu em seu grupo de pesquisa e possibilitou que eu seguisse nesse trabalho tão significativo para mim. Nunca irei esquecer o quão fundamental foi ser aceita em sua equipe numa hora tão marcante de minha carreira.

Aos amigos de laboratório, meu mais profundo reconhecimento por ter convivido com pessoas tão dedicadas, amigas e prestativas. Sem a ajuda de vocês não teria concluído esse trabalho. Agradeço em especial a Mariana Darbem, admirável química orgânica que me direcionou inúmeras vezes, Vitor Navarousckas por sempre estar lá para me acudir, Karoline Waitman por seu talentoso desenho que enriqueceu esse trabalho, ao João Vitor e a Lara Gimenez que me proporcionaram elegantes figuras das proteínas.

Aos parceiros de pesquisa da Universidade Estadual de Maringá, Gisele Gauze, Maria Sarragiotto, Andrew Rozada e Juliane de Oliveira pelos ensaios enzimáticos. Aos pesquisadores do Centro de Química Medicinal (CQMED/UNICAMP) Micael Cunha, Gabriela Alves, Katlin Massirer e Rafael Couñago pelas avaliações de citotoxicidade e estudo de *docking*. A Prof<sup>a</sup>. Neuza Hassimotto da FCF/USP pela espectrometria de massas.

Aos funcionários da FCF/USP Mônica Zannini, Maria Inês, Elisabete de Almeida, Charles Brito e David Olimpio.

Aos professores da FCF/USP André Baby, Hélio Stefani, Elizabeth Ferreira, Jeanine Giarolla e Gustavo Trossini.

A professora da Universidade de Lisboa - Amélia Pilar Rauter, por me receber tão bem em seu grupo de pesquisa.

As minhas grandes amigas e amigos que me apoiam a anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 – processo número 88882.377639/2019-01 e processo número 88887.466527/2019-00 (CAPES/PRINT - Edital nº 41/2017)

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 - process number 88882.377639/2019-01 and 88887.466527/2019-00 (CAPES/PRINT - nº 41/2017).

A agência de fomento FAPESP pelo apoio e financiamento do projeto (2017/00689-0).

Por fim, um doutorado não se faz “meramente” em 4 anos, antes é uma construção com aproximadamente 22 anos de estudo, por isso agradeço a todos os docentes que fizeram parte de minha formação.

*Dedico esse trabalho a meu pai, Wellington Prado  
(in memoriam), que sempre acreditou em mim, e que  
de onde estiver me apoiará.*

## RESUMO

PRADO, K. E. **Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer**. 2022. 142 f. Tese – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo caracterizado pela perda progressiva de memória e por deficiências cognitivas. As principais características apresentadas pelos pacientes com DA são as placas senis, os emaranhados neurofibrilares e o déficit de acetilcolina. Essa pesquisa propõe a síntese de novos compostos baseados nas estruturas do fármaco anticolinesterásico donepezila e no núcleo flavona, obtido por simplificação estrutural do composto natural territrema B. As estratégias utilizadas foram a abertura de anel do núcleo benzilpiperidínico, a exploração da porção metoxilada presente na donepezila, e a inserção de grupos funcionais doadores e retiradores de elétrons, substituintes neutros e heteroaromáticos, originando o planejamento de três séries. As condições reacionais foram avaliadas e adaptadas para simplificação de metodologia, e os compostos aminoflavonas foram alcançados utilizando-se metodologia de aminação de Buchwald-Hartwig, com rendimentos pouco apreciáveis a excelente. Os produtos foram caracterizados por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e espectrometria de massas, e as purezas comprovadas por HPLC analítico. Avaliou-se as atividades inibitórias para as enzimas AChE e BuChE a 100  $\mu\text{M}$ ; os compostos mais relevantes frente a AChE foram o 6b com inibição enzimática de 63,40% e  $\text{IC}_{50}$  de 45,21  $\mu\text{M}$ , e o produto 6f com inibição de 60,70% da atividade enzimática e  $\text{IC}_{50}$  de 27,68  $\mu\text{M}$ . A molécula 6c apresentou seletividade para BuChE com atividade inibitória de 39,81%. Estudou-se a citotoxicidade dos produtos em três linhagens tumorigênicas e uma não-tumorigênica. Os compostos 6j e 6m foram citotóxicos nas linhagens tumorais, especialmente para a linhagem PC3, sendo uma estrutura interessante a ser explorada futuramente como possível antineoplásico. O composto 6b exibiu a menor citotoxicidade para a linhagem não-tumorigênica (HEK293T) com viabilidade celular de 96,3%. Estudo de modelagem molecular sugere interações predominantemente hidrofóbicas e uma importante interação de hidrogênio com Phe295. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que apesar de carecer de modificações e aprimoramento molecular, os produtos 6b e 6f surgem como os compostos mais promissores para o desenvolvimento de um potencial fármaco anticolinesterásico.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer. Inibidores de colinesterases. Aminoflavonas. Planejamento de fármacos. Aminação de Buchwald–Hartwig.

## ABSTRACT

PRADO, K. E. **Synthesis of biological evaluation of new aminoflavones designed as potential, anticholinesterases for Alzheimer's disease treatment.** 2022. 142 p. PhD Thesis – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder characterized by progressive memory loss and cognitive impairments. The main features presented by patients with Alzheimer's disease are the senile plaques, the neurofibrillary tangles and acetylcholine deficit. This research proposes the synthesis of new compounds based on the structures of the anticholinesterase drug donepezil and on the flavone core, obtained by structural simplification of the natural compound territremin B. The strategies used were the ring opening of the benzyl-piperidine nucleus, the exploration of the methoxylated portion in donepezil and the addition of electron donating and withdrawing functional groups, neutral substituents and heteroaromatics, resulting in a design of three series. The reactional conditions were evaluated and adapted in order to simplify the methodology and the aminoflavones compounds were obtained by employing the Buchwald-Hartwig amination methodology with good to excellent yields. The products were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR and mass spectrometry and the sample purities were improved by analytic HPLC. The inhibitory activities for the AChE and BuChE enzymes at 100  $\mu\text{M}$  were also evaluated and the most relevant compounds for the AChE were the 6b, with inhibition of 63.40% of cellular activity and  $\text{IC}_{50}$  45.21  $\mu\text{M}$  and the 6f with inhibition of 60.70% of enzymatic activity and  $\text{IC}_{50}$  27.68  $\mu\text{M}$ . Compound 6c presented selectivity for the BuChE with inhibitory activity of 39.81%. The cytotoxicity of the products in three tumorigenic and one non-tumorigenic lineages were also evaluated. Compounds 6j and 6m were cytotoxic in three tumorigenic lineages, especially for the PC3 lineage, being an interesting structure to be exploited in the future as a possible antineoplastic. Compound 6b exhibited the least toxicity for the non-tumorigenic lineage (HEK293T) with cellular viability of 96.3%. Molecular modeling study suggest predominantly hydrophobic interactions and an important hydrogen interaction with Phe295. With the results obtained, it is possible to conclude that although the compounds 6b and 6f lacks modifications and molecular improvement, they appear to be the most promising compounds for the development of an anticholinesterase drugs.

**Keywords:** Alzheimer's Disease. Cholinesterase inhibitors. Aminoflavones. Drug design. Buchwald-Hartwig amination.

## LISTA DE ABREVIACOES

$\lambda$	comprimento de onda
$\mu\text{L}$	microlitro
$\mu\text{m}$	micrmetro
$\mu\text{M}$	micromolar
$\delta$	deslocamento químico
Å	ångström
A172	linhagem de glioblastoma humano
ABRAz	Associação Brasileira de Alzheimer
ACh	acetilcolina
AChE	acetilcolinesterase
ACN	acetonitrila
Ala	alanina
APOE- $\epsilon$ 4	apolipoproteína E
APP	proteína precursora de amiloide
Asn	asparagina
$\beta\text{A}$	beta-amilóide
BACE-1	<i>beta-site APP cleaving enzyme 1</i>
BHE	barreira hematoencefálica
BuChE	butirilcolinesterase
CADD	<i>computer-aided drug design</i>
CAS	<i>catalytic active site</i>
CCD	cromatografia em camada delgada comparativa
$\text{CDCl}_3$	clorofórmio deuterado
CG/EM	cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
ChAT	colina acetiltransferase
ChEs	colinesterases
d	duplete
dd	duplo duplete
DA	doença de Alzheimer
DCM	diclorometano
DMSO	dimetilsulfóxido
DNA	cido desoxirribonucleico
EC	epicatequinas

ECG	epicatequinas gallato
EGC	epigalocatequina
EGCG	epigalocatequina galato
ERO	espécie reativa de oxigênio
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas
FDA	<i>US Food and Drug Administration</i>
GABA	ácido gama-aminobutírico
Gln	glutamina
Glu	glutamato
<i>hAChE</i>	acetilcolinesterase recombinante humana
<i>hBuChE</i>	butirilcolinesterase de soro humano
HEK	linhagem de rim fetal humano
His	histidina
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
iAChE	inibidores de acetilcolinesterase
IC <sub>50</sub>	concentração inibitória 50 %
IS	índice de seletividade
IV	espectroscopia de infravermelho
<i>J</i>	constante de acoplamento
LBDD	<i>ligand-based drug design</i>
Leu	leucina
m	múltiplo
MDA-MB-231	linhagem celular humana de adenocarcinoma mamário
mg	miligrama
MHz	megahertz
mm	milímetros
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2 <i>H</i> -tetrazólio
nbM	núcleo basal de Meynert
nM	nanomolar
NMDA	N-metil D-Aspartato
PAS	<i>peripheral anionic site</i>
PC3	linhagem adenocarcinoma de próstata
PC12	linhagem celular de feocromocitoma da medula suprarrenal de rato
PDB	<i>protein data bank</i>

Phe	fenilalanina
PMB	produto mundial bruto
ppm	partes por milhão
PSEN1	presenilina-1
PSEN2	presenilina-2
psi	<i>pound-force per square inch</i>
q	quarteto
RMN de <sup>13</sup> C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de <sup>1</sup> H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de <sup>19</sup> F	ressonância magnética nuclear de flúor
RNA	ácido ribonucleico
RNA <sub>m</sub>	ácido ribonucleico mensageiro
SBDD	<i>structure-based drug design</i>
Ser	serina
SNC	sistema nervoso central
t	tripleto
T	proteína tau
TFA	ácido trifluoracético
THF	tetraidrofurano
TRB	teritrema B
Trp	triptofano
Tyr	tirosina
UV	irradiação de luz ultravioleta
Val	valina
QSAR	<i>quantitative structure activity relationship</i>
REA	relação entre a estrutura química e a atividade
R <sub>f</sub>	fator de retenção
s	simpleto
WHO	Organização Mundial de Saúde



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparação neuropatológica entre cérebro saudável e cérebro com Alzheimer avançado. ....	21
Figura 2. Fármacos inibidores de AChE aprovados pela FDA. ....	24
Figura 3. Biossíntese de acetilcolina e sua hidrólise. ....	25
Figura 4. Estruturas de alguns anticolinérgicos. ....	27
Figura 5. Diminuição do nível de AChE e presença de BuChE no SNC conforme progressão do Alzheimer. ....	28
Figura 6. Sítio ativo da AChE humana. As Cores representam importantes subsítios de interação com substratos ou ligantes. ....	29
Figura 7. Diferenças na região PAS dos bolsos (A) <i>hAChE</i> (código PDB <b>4EY4</b> ) e (B) <i>hBuChE</i> (código PDB <b>6ZWI</b> ). ....	30
Figura 8. (A) Estrutura co-cristalizada da <i>hAChE</i> em complexo com donepezila (código <b>PDB 4EY7</b> ), (B) Representação das interações em 2D. Carbono em marrom (para o ligante) e verde (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás e esfera vermelha para água. Tracejado verde representa ligação de hidrogênio, tracejado azul representa ligação hidrogênio-água, tracejado cinza representa ligação hidrogênio-carbono e interação de van der waals, tracejado rosa representa interações $\pi$ -stacking. ....	31
Figura 9. Estrutura territrema B. ....	32
Figura 10. (A) Estrutura da <i>hAChE</i> em complexo com territrema B (código PDB <b>4M0F</b> ), (B) Representação das interações em 2D. Carbono em marrom (para o ligante) e verde (para os resíduos) oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás (para os resíduos) e esfera vermelha para água. Tracejado verde representa ligação de hidrogênio, tracejado azul representa ligação hidrogênio-água, tracejado cinza representa ligação hidrogênio-carbono e interação de van der waals, tracejado rosa representa interações $\pi$ -stacking. ....	33
Figura 11. principais subclasses de flavonoides. ....	34
Figura 12. Exemplos de flavonas bioativas naturais: apigenina, crisina, escutelarina e luteolina. ....	34
Figura 13. Exemplo da estrutura base da chalcona, flavanona e da flavona. ....	35
Figura 14. Exemplos de metodologias para sínteses de flavonas. ....	35
Figura 15. <b>A</b> : composto tacrina-4-oxo-4 <i>H</i> -cromeno, <b>B</b> : composto rivastigmina-flavona, <b>C</b> : flavona carboxamida, <b>D</b> : trifluorometilfenil hidroflavona. ....	36
Figura 16. Primeiras publicações da síntese de formação C-N catalisada por paládio. ....	38

Figura 17. Exemplificação da síntese de aminação de Buchwald-Hartwig. ....	40
Figura 18. Hibridação para formação de um novo composto com as estruturas da curcumina e da melatonina. ....	42
Figura 19. Modelo de simplificação molecular da morfina. ....	43
Figura 20. Sobreposição das estruturas da donepezila (código <b>PDB 4EY7</b> ) com a estrutura da territrema B (código <b>PDB 4M0F</b> ) e suas principais interações. Carbono em laranja (para donepezila), verde (para a territrema B) e azul (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás. ....	45
Figura 21. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3b. ....	50
Figura 22. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3b. ....	51
Figura 23. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 4b. ....	53
Figura 24. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 4b. ....	53
Figura 25. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 6n. ....	56
Figura 26. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 6n. ....	57
Figura 27. Efeito dos compostos na viabilidade celular a 100 μM em ordem decrescente de citotoxicidade. Células tratadas com DMSO foram usadas como controle. Os resultados são expressos como células viáveis em relação ao controle (a 100%). Os dados são expressos como média ± desvio padrão de experimentos realizados em triplicata. *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001 ou ****p<0,0001 versus controle (DMSO) pelo teste t. ....	64
Figura 28. Figura das melhores poses obtidas das interações entre <i>hAChE</i> com o composto <b>6f</b> (código <b>PDB 4M0F</b> ). Carbono em azul (para o ligante) e verde (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em azul escuro. Tracejado amarelo representa ligação de hidrogênio. ....	65
Figura 29. Redução do MTT pelas NADH desidrogenases mitocondriais. ....	73

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo da hidrólise da ACh.....	26
Esquema 2. Mecanismo de acoplamento cruzado C-N.....	39
Esquema 3. Planejamento das séries propostas.....	46
Esquema 4. Rota para formação do núcleo chalcônico e formação do núcleo cromenona. ....	48
Esquema 5. Mecanismo proposto para obtenção de chalconas.....	49
Esquema 6. Rendimentos obtidos para as chalconas. ....	50
Esquema 7. Rendimentos obtidos para a formação das flavonas.....	52
Esquema 8. Mecanismo proposto da reação de formação de cromenona.....	52
Esquema 9. Mecanismo proposto para formação das aminofalavonas.....	55
Esquema 10. Estruturas e rendimento dos compostos aminoflavonas obtidos. Os compostos 6p, 6q, 6r, 6s, 6t e 6u, embora planejados, não foi possível sua obtenção .....	58
Esquema 11. Rota sintética para obtenção das chalconas. ....	76
Esquema 12. Rota sintética para obtenção das flavonas. ....	77
Esquema 13. Rota sintética para obtenção das aminoflavonas. ....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Otimização das condições para obtenção da chalcona 3c. ....	49
Tabela 2. Otimização das condições reacionais para obtenção da aminoflavonas 6n.....	54
Tabela 3. Valores de percentual de pureza e faixa de fusão encontrados para os compostos aminoflavonas sintetizados. ....	59
Tabela 4. Valores de inibição medidos para AChE e BuChE referente aos compostos aminoflavonas sintetizados. ....	61
Tabela 5. Efeito na viabilidade celular dos compostos a 100 $\mu$ M.....	63
Tabela 6. Linhagens celulares utilizadas. ....	74

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	18
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	DOENÇA DE ALZHEIMER – CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS, FISIOPATOLOGIA E TERAPIA ATUAL .....	20
2.2	HIPÓTESE COLINÉRGICA.....	24
2.3	INIBIDORES DE COLINESTERASES .....	27
2.4	FLAVONOIDES, FLAVONAS E SEUS DERIVADOS .....	33
2.5.	OBTENÇÃO DE AMINOFLAVONAS.....	37
3.	PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS .....	41
4.	OBJETIVOS.....	44
5.	PLANEJAMENTO DAS SÉRIES PROPOSTAS.....	45
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
6.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO NÚCLEO FLAVONA.....	48
6.2	SÍNTESE DOS COMPOSTOS AMINOFLAVONAS .....	54
6.3	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA <i>IN VITRO</i> .....	60
6.3.1	<b>AChE e BuChE - Concentração inibitória 50% (IC<sub>50</sub>).....</b>	<b>60</b>
6.3.2	<b>Avaliação de citotoxicidade por MTT .....</b>	<b>62</b>
6.4	MODELAGEM MOLECULAR.....	65
7.	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....	67
8.	EXPERIMENTAL.....	69
8.1	DETERMINAÇÃO DA FAIXA DE FUSÃO .....	69
8.2	ESPECTROS DA REGIÃO DE INFRAVERMELHO .....	69
8.3	ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR .....	69
8.4	ANÁLISE DE TEOR DE PUREZA.....	70
8.5	ESPECTROMETRIA DE MASSA .....	70
8.6	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E IC <sub>50</sub> – AChE e BuChE .....	71
8.6.1	<b>Preparo das amostras .....</b>	<b>71</b>
8.6.2	<b>Preparo da solução tampão de fosfato (pH 8) .....</b>	<b>71</b>
8.6.3	<b>Preparo das soluções enzimáticas.....</b>	<b>71</b>
8.6.4	<b>Preparo das soluções dos substratos ATChI e BuTChI .....</b>	<b>72</b>
8.6.5	<b>Preparo do reagente colorimétrico – DTNB.....</b>	<b>72</b>
8.6.6	<b>Ensaio.....</b>	<b>72</b>
8.7	AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE.....	73
8.7.1	<b>Cultura celular .....</b>	<b>73</b>

<b>8.7.2</b>	<b>Avaliação da citotoxicidade por MTT .....</b>	<b>74</b>
8.8	MODELAGEM MOLECULAR .....	74
8.9	PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS .....	76
<b>8.9.1</b>	<b>Condensação de Claisen-Schmidt para obtenção de chalconas.....</b>	<b>76</b>
<b>8.9.2</b>	<b>Ciclização oxidativa para obtenção de flavonas.....</b>	<b>77</b>
<b>8.9.3</b>	<b>Aminação de Buchwald-Hartwig .....</b>	<b>78</b>
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	85
<b>ANEXOS</b> .....		<b>97</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A demência é o declínio das habilidades cognitivas que está associada a desordens no sistema nervoso central (SNC), caracterizado como uma síndrome de natureza crônica e progressiva, na qual ocorre deterioração neuronal. Com o envelhecimento, esse grupo de funções são naturalmente prejudicados, porém em pacientes que sofrem de algum tipo de demência essas deteriorações ocorrem de forma expressiva. A senilidade é considerada como uma das principais causas de incapacidade e dependência entre pessoas idosas; desses, cerca de 60 a 70 % são atribuídos apenas à doença de Alzheimer (DA), a qual é considerada o tipo mais comum de demência (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2017; WHO, 2021; ATTARROSHAN *et al.*, 2021).

A DA é uma doença neurodegenerativa que se evidencia paulatinamente devido a deterioração cognitiva e da memória de curto prazo que ocorre por meio da pluralidade de sintomas neuropsiquiátricos e de comprometimentos comportamentais (BRASIL, Ministério da Saúde, 2021). As manifestações clínicas da DA são caracterizadas por sintomas como: confusão mental, perda de memória, dificuldade de realização de tarefas, baixa capacidade de julgamento, acompanhado por diminuição do controle emocional e, assim, culminando em apatia e depressão (PRINCE *et al.*, 2015). Dados de 2021 estimam que cerca de 55 milhões de pessoas em todo o mundo são afetadas pela DA e devido ao aumento da expectativa de vida supõe-se que esses números cresçam para 78 milhões em 2030 e quase triplique para 139 milhões em 2050 (WHO, 2021). Conforme a Associação Brasileira de Alzheimer (ABRAZ, 2019), estima-se que no Brasil haja cerca de 1,2 milhão de casos.

Em 2019, o custo global estimado para o tratamento da demência foi de US\$ 1,3 trilhão, equivalente a 1,1 % do produto mundial bruto (PMB). A perspectiva para 2030 é de gastos aproximados a US\$ 2,8 trilhões (WHO, 2021).

A fisiopatologia da DA é complexa e não está ainda totalmente elucidada, mas sabe-se que as regiões do cérebro mais afetadas pelas perdas neuronais são aquelas associadas à memória e à cognição, como o caso do neocórtex e do hipocampo (JAGUST, 2018) apresentando evidências bioquímicas como hiperfosforilação da proteína tau, emaranhados neurofibrilares e excitotoxicidade glutamatérgica (DALMAGRO, CAZARIN & ZENAIDE, 2020)

Atualmente a terapia mais utilizada para o tratamento da DA é a anticolinesterásica; entretanto novos fármacos não eram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) desde 2003. Somente em meados de 2021, foi aprovado o aducanumabe, um anticorpo monoclonal, que possui eficácia questionável e custo elevado, gerando discussões no meio científico (HAMPEL *et al.*, 2018; TANZI *et al.*, 2021, MARSHALL *et al.*, 2021).

Assim, nesse contexto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos compostos para o tratamento da DA, visando retardar a evolução da doença e levar melhor qualidade de vida aos pacientes.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 DOENÇA DE ALZHEIMER – CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS, FISIOPATOLOGIA E TERAPIA ATUAL

Em 1901, Alois Alzheimer, então assistente no Hospital Psiquiátrico de Frankfurt, interessou-se pela sintomatologia da paciente Auguste D., que aos 50 anos desenvolveu doença na qual apresentou progressão de distúrbios do sono, distúrbios da memória, agressividade, choro e confusão gradual. Com seu óbito em abril de 1906, Alzheimer pôde investigar a estrutura morfo-histológica do cérebro de Auguste, descobrindo e descrevendo alterações que, mais tarde, foram conhecidas como depósito extracelular de placas senis e agregação intracelular de emaranhados neurofibrilares (HIPPIUS & NEUNDÖRFER, 2003).

Atualmente a DA possui tratamentos paliativos e os acometidos manifestam piora de forma gradativa, apresentando três fases distintas (WANG *et al.*, 2017). Em seu estágio inicial é comum a perda de noção do tempo e a perda de memória recente; no estágio intermediário ocorrem esquecimento de eventos recentes, questionamentos repetitivos, dificuldade de comunicação e necessidade de ajuda para cuidados pessoais. O estágio final é caracterizado pela dificuldade de locomoção e de reconhecimento de pessoas próximas, dependência e agressividade (WHO, 2021).

Embora tenha etiologia multifatorial, um dos fatores mais associado à DA é a idade avançada. A incidência desse distúrbio aumenta exponencialmente após os 65 anos e, a partir disso, a taxa de prevalência quase dobra a cada cinco anos. Entretanto, 9 % dos casos são hereditários e constituídos por pessoas com menos de 65 anos (KIVIPELTO *et al.*, 2018).

Decorrido mais de um século da descoberta e da conceituação da DA, foram conquistados ganhos sobre sua patogênese. Sabe-se que, conforme a progressão da doença, as placas e emaranhados tendem a se espalhar por todo o córtex em um padrão previsível, culminando em diminuição do tamanho do cérebro, conforme exemplificação da Figura 1 (LANEA, HARDYB & SCHOTT, 2018).

De acordo com a *Alzheimer's Association* (2019a), a velocidade desses estágios costuma diferir conforme o indivíduo e, após o início dos sintomas, a média de sobrevivência é de aproximadamente oito anos. Entretanto, há casos que chegam a 20 anos. Fatores como a idade no momento do diagnóstico e comorbidades podem influenciar no desenvolvimento da doença.

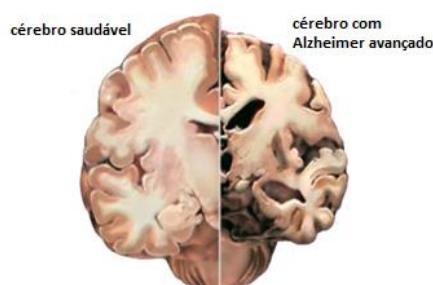


Figura 1. Comparação neuropatológica entre cérebro saudável e cérebro com Alzheimer avançado.  
 Fonte: adaptado de: ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2019b.

Norton e colaboradores (2014), descrevem que fatores psicossociais como a depressão, sentimentos de desesperança, solidão, estresse e distúrbios do sono aumentam o risco de DA. Não obstante, mais estudos e maiores evidências ainda são necessárias para substanciar essas causas.

Problemas como hipertensão, hipercolesterolemia, obesidade na meia-idade, diabetes, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares também são agravantes (QIU *et al.*, 2005, LIGTHART *et al.*, 2010; SOLOMON *et al.*, 2014).

O tabagismo é outro agente associado ao DA. Esse hábito aumenta o estresse oxidativo, podendo gerar efeitos indiretos em vários processos vasculares, inflamatórios e degenerativos. Cerca de 14 % dos casos de DA são atribuíveis a esse agente (CATALDO *et al.*, 2010, DECKERS *et al.*, 2014).

Aos fatores dietéticos são atribuídas capacidades de aumento e/ou redução dos danos em doenças cognitivas, podendo apresentar efeitos cumulativos e sinérgicos. Alimentação deficiente em ômega-3, ácidos graxos poli-insaturados, antioxidantes (vitaminas A, C e E), vitamina D, vitaminas B6 e B12 foram correlacionados ao aumento de riscos, assim como, a alimentação rica destes nutrientes, revela consequência inversa. Os mecanismos propostos incluem efeito sobre o estresse oxidativo, na saúde vascular, na inflamação, integridade da manutenção da membrana neuronal e regulação de fatores neurotróficos (JOSEPH *et al.*, 2009, LA FATA *et al.*, 2014; COLEY *et al.*, 2015).

Os fatores genéticos são comumente associados à DA (BUI & NGUYEN, 2017). Muitos estudos comprovam que familiares de acometidos pelo DA apresentam riscos de herdarem transmissão mendeliana autossômica dominante (SILVA *et al.*, 2014; DURMAZ *et al.*, 2019). Atualmente, três genes são associados ao início precoce da DA e, portanto, mutações na proteína precursora do amiloide (APP), na presenilina-1 (PSEN1) e na presenilina-2 (PSEN2) podem levar ao desenvolvimento da DA antes dos 65 anos. O gene da apolipoproteína E (APOE-ε4) é relacionado à presença da doença após os 65 anos (FRANK & GUPTA, 2005, WOLLMER, 2010; CACCIAGLIA *et al.*, 2018).

Características clássicas encontradas no cérebro de pacientes com DA incluem depósitos de proteína beta-amilóide ( $\beta A$ ), agregação de proteína tau (T), estresse oxidativo, excitotoxicidade induzida por glutamato e diminuição dos níveis de acetilcolina (ACh) (FERNÁNDEZ-BACHILLER *et al.*, 2012; LEÓN *et al.*, 2013; CHEIGNON *et al.*, 2014, LIU *et al.*, 2014). Essas anormalidades levam à ativação de cascatas neurotóxicas e a alterações do citoesqueleto que causam disfunção na transmissão sináptica e morte neuronal (GOEDERT & SPILLANTINI, 2006).

Hipóteses fisiopatológicas foram propostas para elucidar o mecanismo molecular da DA; uma das mais robustas é relacionada à cascata amilóide. Sua base é o peptídeo  $\beta A$  que desempenha papel fundamental na patogênese da DA. Essa proteína é formada pela via amiloidogênica, na qual a APP é sequencialmente clivada pela protease aspártica BACE-1 (do inglês, *beta-site APP cleaving enzyme 1*) ou  $\beta$ -secretase e, posteriormente, pela  $\gamma$ -secretase para produção de fibrilas de  $\beta A$  na sua forma solúvel. Porém, modificações nas estruturas das fibrilas induzem suas agregações formando placas senis insolúveis (ou emaranhados) que não são reconhecidas pelas neuróglia. Esses oligômeros juntamente aos metais, cobre, ferro ou zinco são tóxicos para os neurônios de forma dose-dependente. (SELKOE & HARDY, 2016).

Um aspecto importante na formação dos emaranhados neurofibrilares é a proteína T quando da sua forma anormal hiperfosforilada. Essa proteína é um componente do citoesqueleto neuronal encontrado nos axônios, apresentando importante função na estabilização dos microtúbulos (FICHOU *et al.*, 2019). Essa estabilização é regulada pelo processo de fosforilação e desfosforilação da proteína. Na tauopatia, ela se encontra na forma insolúvel hiperfosforilada perdendo a capacidade de ligar-se aos microtúbulos, promovendo seu rompimento e culminando em depósitos anormais de proteína na forma de filamentos emaranhados helicoidais pareados (WISCHIK; HARRINGTON & STOREY, 2014).

Outro ponto relevante na fisiopatologia da DA são os danos decorrentes do estresse oxidativo. Tanto a deposição da proteína  $\beta A$  quanto a formação dos emaranhados neurofibrilares estão relacionados ao estresse oxidativo e ao aumento da produção de radicais livres (ROBERT *et al.*, 2015). O estresse oxidativo se manifesta por meio da presença de eventos que levam a oxidação proteica, a peroxidação lipídica, a formação de espécie reativa de oxigênio (ERO) e a modificações oxidativas no DNA e RNA. A neurotoxicidade é causada por meio da produção direta dessas espécies reativas, seja por meio da interação da  $\beta A$  com metais de transição ou pela produção das proteínas T hiperfosforiladas (HANE & LEONENKO, 2014; AYTON; LEI & BUSH, 2015).

A neuroinflamação ocorre em resposta ao depósito de  $\beta$ A e é outro dano neuronal progressivo associado à DA. A deposição de  $\beta$ A atua como um potente estimulador do processo neuroinflamatório ativando a micrógliã; gerando a liberação de citocinas inflamatórias e neurotóxicas, EROs, radicais livres e óxido nítrico. Estudos clínicos indicam que o tratamento prolongado com alguns anti-inflamatórios não-esteroides ou substâncias antioxidantes melhoraram os sintomas de pacientes acometidos por esta patologia. Porém, estudos adicionais são requeridos para um melhor entendimento da neuroinflamação na DA e ainda não há consenso sobre o mecanismo envolvido (CUBINKOVA *et al.*, 2018).

Suspeita-se do envolvimento do ácido gama-aminobutírico (GABA) em pacientes com DA, porquanto a doença é assinalada por importante perda de sinapses glutamatérgicas. O GABA é um neurotransmissor inibitório do SNC que participa de sinalizações celulares excitatórias e distúrbios em seu sistema implicam em déficits na regulação da aprendizagem, na memória e na função cognitiva. Sabe-se que neurônios excessivamente estimulados pelo glutamato ocasionam excitotoxicidade, culminando em danos e morte neural. Portanto, bloquear sua neurotransmissão mediada por receptores N-metil D-Aspartato (NMDA) pode prevenir novos danos neurológicos. Porém ainda é necessário identificar se isso ocorre em consequência da patogênese da DA ou é um efeito secundário ocasionada pela neurodegeneração (CANAS *et al.*, 2014; VILLETTE & DUTAR, 2017; ALMASI *et al.*, 2018).

Para além disso, também há perda acentuada de neurônios colinérgicos, assim como a redução da atividade da enzima colina acetiltransferase (ChAT), sugerindo que a maioria das perturbações cognitivas da DA seja provocada pela perda do sistema colinérgico. Essa hipótese baseia-se na observação de uma deficiência do neurotransmissor acetilcolina (ACh) no SNC, o qual está intimamente relacionada à disfunção cognitiva. Sendo assim, dentre os aspectos fisiopatológicos da doença, sugere-se que compostos que exerçam atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE) melhorem a função colinérgica, sendo importantes para o retardamento dos sintomas da doença (LÓPEZ & DEKOSKY, 2003; HAMPEL *et al.*, 2018; BREIJYEH & KARAMAN, 2020; TIAN *et al.*, 2021; TRZECIAK *et al.*, 2021).

Atualmente, os tratamentos terapêuticos para DA são principalmente focados na hipótese colinérgica clássica existindo apenas um antagonista do receptor NMDA (WANG *et al.*, 2020). Na Figura 2, são apresentadas as estruturas dos três fármacos inibidores da acetilcolinesterase: rivastigmina, galantamina e donepezila, aprovados pelo FDA para uso em pacientes. Esses compostos provocam inibição da AChE, reduzindo a degradação da ACh nas fendas sinápticas, proporcionando melhora no quadro clínico dos pacientes com DA (FERNANDES *et al.*, 2016; GALIMBERTI & SCARPINI, 2016).

Apesar de apresentarem melhoras cognitivas, a eficácia destes fármacos é questionável, uma vez que são observados uma variedade de efeitos adversos em decorrência a seu uso, tais como perda de peso, anorexia, náuseas, diarreia, dor abdominal, bradicardia e dores de cabeça (POLINSKY, 1998; SUGIMOTO *et al.*, 2002; BIRKS, FLICKER, 2006; POHANKA, 2012; COLOVIC *et al.*, 2013).

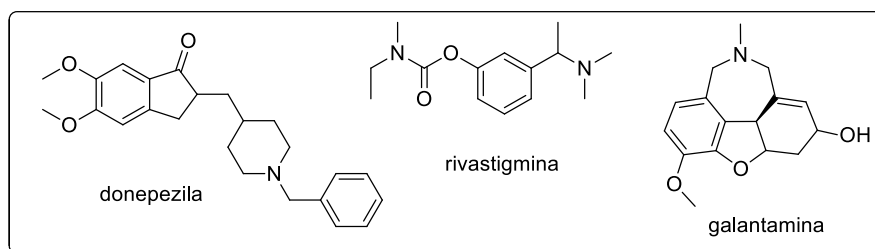


Figura 2. Fármacos inibidores de AChE aprovados pela FDA.  
Fonte: (FERNANDES *et al.*, 2016).

A vulnerabilidade específica do sistema colinérgico da DA ainda não está totalmente elucidada, ademais constatou-se por meio de investigações neuropatológicas e cognitivas, realizadas em diversas espécies, que a DA é uma doença exclusivamente humana. Portanto, experimentos em modelos animais, tais como camundongos transgênicos para humanos, contribuem para uma baixa taxa de sucesso (DRUMMOND & WISNIEWSKI, 2017).

Entretanto, entende-se que a hipótese colinérgica é uma boa estratégia terapêutica e embora não ser um agente modificador, a administração de fármacos que modulem positivamente essa função é de grande interesse para abrandar os sintomas cognitivos, tornando-se assim um dos conceitos mais utilizados para o desenvolvimento de fármacos para DA (MINETT & BERTOLUCCI, 2000; BOHNEN *et al.*, 2018).

## 2.2 HIPÓTESE COLINÉRGICA

Essa abordagem na pesquisa da DA é estabelecida no conceito da neurotransmissão sináptica. Suas bases são constituídas pela descoberta da diminuição dos marcadores pré-sinápticos colinérgicos no córtex cerebral (BOWEN *et al.*, 1976; LI *et al.*, 2017), pela demonstração que os antagonistas colinérgicos prejudicam a memória enquanto os agonistas têm o efeito oposto (DRACHMAN & LEAVITT, 1974). Ademais, a descoberta de que o núcleo basal de Meynert (nbM), fonte da inervação colinérgica cortical, sofre neurodegeneração grave na DA, culmina em declínio da neurotransmissão colinérgica (WHITEHOUSE *et al.*, 1981; Xu *et al.*, 2021).

A ACh é um neurotransmissor do sistema nervoso autônomo, desempenhando papel importante no aprendizado, no caminhar e dormir, na resposta ao estresse e em outros processos mnemônicos. Alterações na regulação colinérgica sugerem que o baixo nível de ACh, especialmente no cérebro, é fator chave em déficits cognitivos e de memória, sendo amplamente associado como biomarcador ao início da DA (TERRY & BUCCAFUSCO, 2003; MILLE *et al.*, 2021).

É importante compreender como processa-se a biossíntese da ACh e sua posterior hidrólise e na Figura 3 ilustra-se a síntese da ACh a partir da colina e da acetil-coenzima A (1). Após sua formação, a ACh é liberada na fenda sináptica, onde poderá ser acoplada aos receptores colinérgicos - nicotínicos ou muscarínicos. Na fenda sináptica, a ACh restante é hidrolisada pela AChE ou pelo co-regulador butirilcolinesterase (BuChE) em colina e acetato (2), cessando sua ação. A colina retorna para o terminal axônio onde novamente será utilizada na produção de ACh (DIAS, 2016, VENTURA *et al.*, 2010; ABDPOUR *et al.*, 2021).

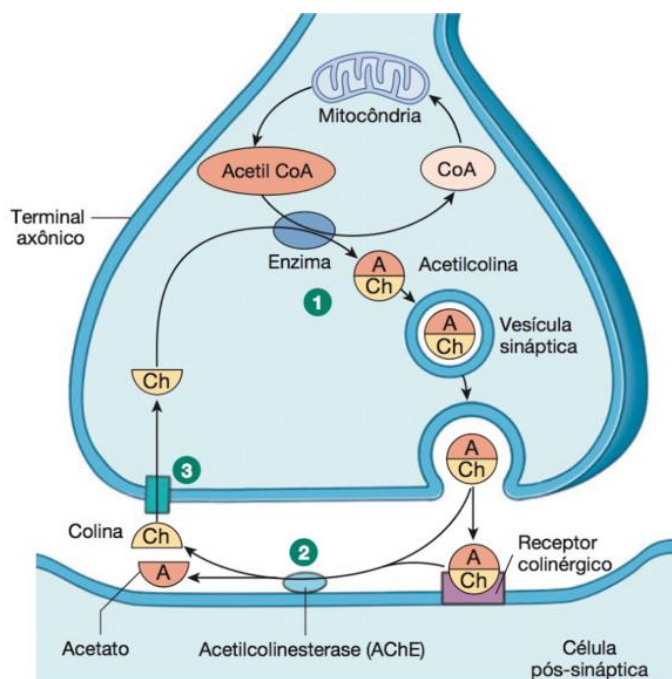
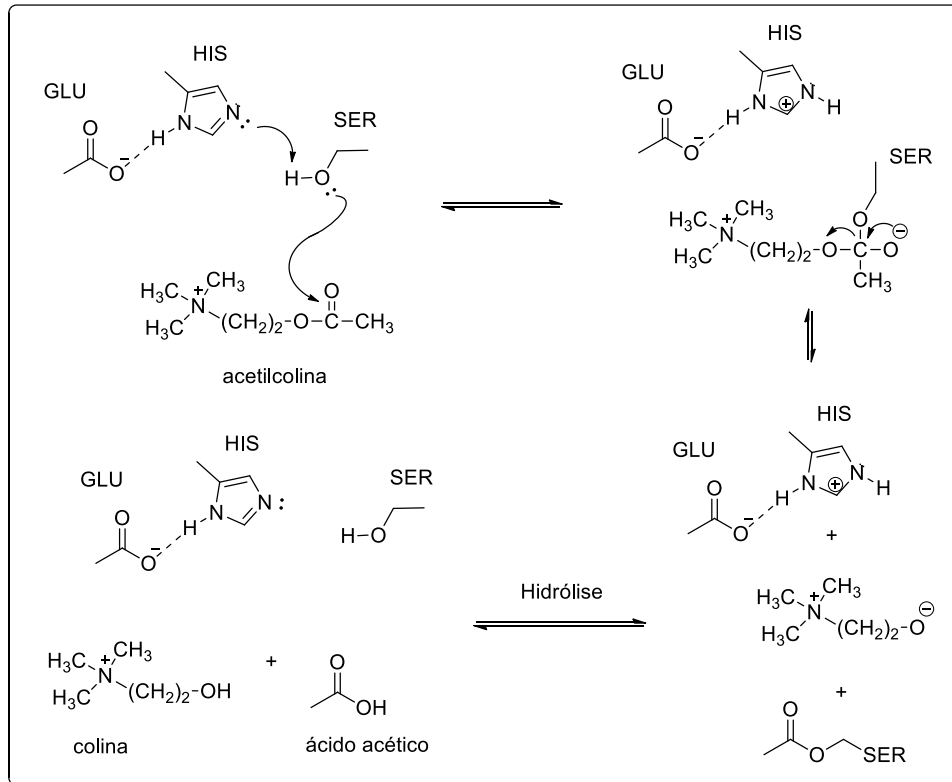


Figura 3. Biossíntese de acetilcolina e sua hidrólise.  
Fonte: adaptado de FLORES, 2020.

O mecanismo reacional de hidrólise é representado no Esquema 1. O grupo hidroxila da serina atua como nucleófilo (ataque à carbonila da ACh) e, simultaneamente, o resíduo de histidina aumenta a nucleofilicidade agindo como um catalisador ácido-base e o resíduo de ácido glutâmico fornece estabilização ao estado de transição (LAN *et al.*, 2017). Essas ligações com o oxigênio da carbonila estabilizam temporariamente o estado de transição que por fim colapsam gerando colina e ácido acético (LEMKE *et al.*, 2008; ZHOU, WANG & ZHANG, 2010; ZHOU *et al.*, 2021).



Esquema 1. Mecanismo da hidrólise da ACh.  
 Fonte: adaptado de SANTOS *et al.*, 2007.

Conhecendo o processo deste neurotransmissor, diversos pesquisadores procuraram validar a hipótese em questão (UUSVAARA *et al.*, 2009; FOX *et al.*, 2014; SALAHUDEEN *et al.*, 2015). Para esse fim, constatou-se que a inibição da AChE induz melhora sintomática e significativa em pacientes com DA (CAVEDO *et al.*, 2017; HAMPEL *et al.*, 2018). Essa proposta foi reforçada por meio de estudos de imuno-histoquímica, de neuroimagem e outras análises que evidenciaram diminuição no número e na densidade de receptores nicotínicos tanto no córtex como no hipocampo destes pacientes, reforçando a necessidade de disponibilizar a ACh na fenda sináptica o maior tempo possível (ELLIS, *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2010).

Curiosamente, argumento adicional é o declínio cognitivo apresentado por jovens e adultos, quando da administração de anticolinérgicos, tal como a escopolamina, apresentando transtorno cognitivo semelhantes aos observados em idosos (SITTIRONNARIT *et al.*, 2011).

As primeiras tentativas de tratamento foram direcionadas para o aumento da produção da ACh. Para isso, foram realizados ensaios com precursores, como a lecitina, colina e acetil-L-carnitina (Figura 4). Paralelamente, também foram utilizados agentes que aumentavam a liberação de ACh, como a besiperidina, linopiridina e a piridin-4-amina (Figura 4). Porém, ambos os ensaios apresentaram resultados terapêuticos insatisfatórios por terem baixa permeabilidade na barreira hematoencefálica (BHE) e apresentarem diversos efeitos colaterais (BARREIRA FILHO &

BARREIRA, 2017).

Como alternativa, administrou-se o próprio neurotransmissor, mas os resultados não foram promissores. Sua ação era não seletiva e produzia efeitos em todos os receptores colinérgicos. Ademais, a ACh é um sal de amônio quaternário, fato que a torna pouco absorvida pelas membranas, ocasionando baixa biodisponibilidade. O grupo éster presente na ACh também é alvo de intenso e rápido metabolismo, o que prejudica, ainda mais, sua administração por via oral (LEMKE *et al.*, 2008).

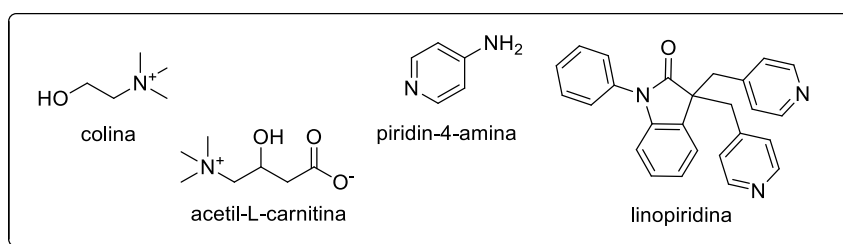


Figura 4. Estruturas de alguns anticolinérgicos.  
Fonte: BARREIRA FILHO & BARREIRA, 2017.

Por fim, os cientistas voltaram os olhos à procura de restaurar a função colinérgica aumentando a disponibilidade de ACh na fenda sináptica mediante uso de compostos que inibissem a AChE. Essa estratégia vem servindo de base para o tratamento e para o desenvolvimento de novos fármacos para DA (MASSOUD & GAUTHIER, 2010).

### 2.3 INIBIDORES DE COLINESTERASES

Os inibidores de colinesterases (iChE) ou anticolinesterásicos (anti-ChE) retardam a degradação metabólica da ACh por meio do bloqueio do sítio ativo da enzima. Essa inibição, aumenta a disponibilidade de ACh na fenda sináptica viabilizando a interação com seus receptores, por consequência, ocorre melhora na atividade colinérgica e retardo no processo degenerativo de neurônios (ANAND & SINGH, 2013; KULSHRESHTHA & PIPLANI, 2016).

São dois os tipos de enzimas colinesterases (ChEs) encontradas no SNC: a acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesterase (BuChE). Em cérebros saudáveis, a ACh é predominantemente decomposta pela AChE, no entanto, com a progressão da DA, ocorre diminuição do nível de AChE no hipocampo para 55-67 % e, em contrapartida, os níveis da BuChE apresentam aumento de 165 % (Figura 5), evidenciando seu papel crítico na regulação da hidrólise da ACh durante o estágio final da DA (MESULAM *et al.*, 2002; DIGHE *et al.*, 2016).



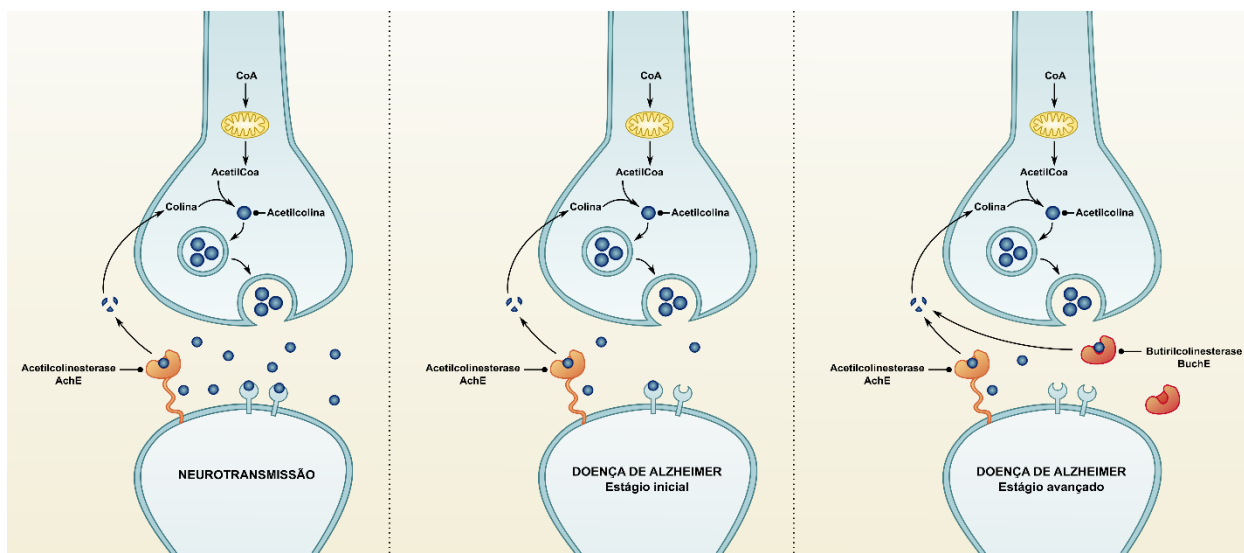


Figura 5. Diminuição do nível de AChE e presença de BuChE no SNC conforme progressão do Alzheimer.  
Fonte: WAITMAN, K. 2021.

Entre os iChE aprovados pela FDA, a tacrina, um fármaco com atividade para ambos AChE e BuChE, foi o primeiro liberado para uso (1993). Esse produto é eficaz entre as fases leve a moderada, entretanto, seu uso na terapêutica foi descontinuado por apresentar hepatotoxicidade significativa e baixa biodisponibilidade após administração oral (CUNNINGHAMA & PASSMORE, 2013; RAGAB *et al.*, 2019).

Fármacos de segunda geração, como a donepezila, a galantamina e a rivastigmina, apresentam baixa incidência de efeitos colaterais, meia-vida prolongada e maior eficácia. A donepezila, aprovada em 1996, é um iAChE, não competitivo e reversível. Quatro anos após, ocorreu a aprovação da rivastigmina, um produto não competitivo, inibidor pseudo-irreversível de AChE e BuChE. O último iAChE aprovado pela agência dos EUA foi a galantamina em 2001, com caráter competitivo e reversível. Dentre todos, a donepezila apresenta menor incidência de efeitos adversos, sendo o único fármaco aprovado para uso em fase avançada (HANSEN *et al.*, 2008; TAN *et al.*, 2014; RAFAEL, GARCIA & MARCO-CONTELLES, 2013; PRZYBYŁOWSKA, *et al.*, 2020). Para além do uso em tratamento sintomático, estudos recentes, lançaram nova perspectiva em relação à donepezila ao documentarem seu potencial efeito neuroprotetor, tais como, proteção contra isquemia, morte celular induzida pelo peptídeo  $\beta$ A e por glutamato. Este efeito contra a neurotoxicidade é importante, pois pode retardar a progressão do comprometimento cognitivo causado pela DA (KIM, *et al.*, 2017; SUTTHAPITAKSAKUL, *et al.*, 2021).

A determinação estrutural do sítio ativo das colinesterases AChE e BuChE, em especial da AChE (Figura 6), abriu portas para o desenvolvimento de novos potenciais fármacos no tratamento da DA. As estruturas gerais são muito semelhantes, contando com quase 65 % de sequências de

aminoácidos homólogos, principalmente por aminoácidos aromáticos (ÖZER *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2017).

Ambas as colinesterases contêm como regiões principais, um sítio catalítico ativo (do inglês *catalytic active site*, CAS) localizado no fundo de um canal profundo e estreito de aproximadamente 20 Å, um bolso de ligação acila e um sítio aniônico periférico (do inglês *peripheral anionic site*, PAS) (KRYGER, SILMAN & SUSSMAN, 1999; GEMMA *et al.*, 2006; LEONETTI *et al.*, 2008; BELLUTI *et al.*, 2011).

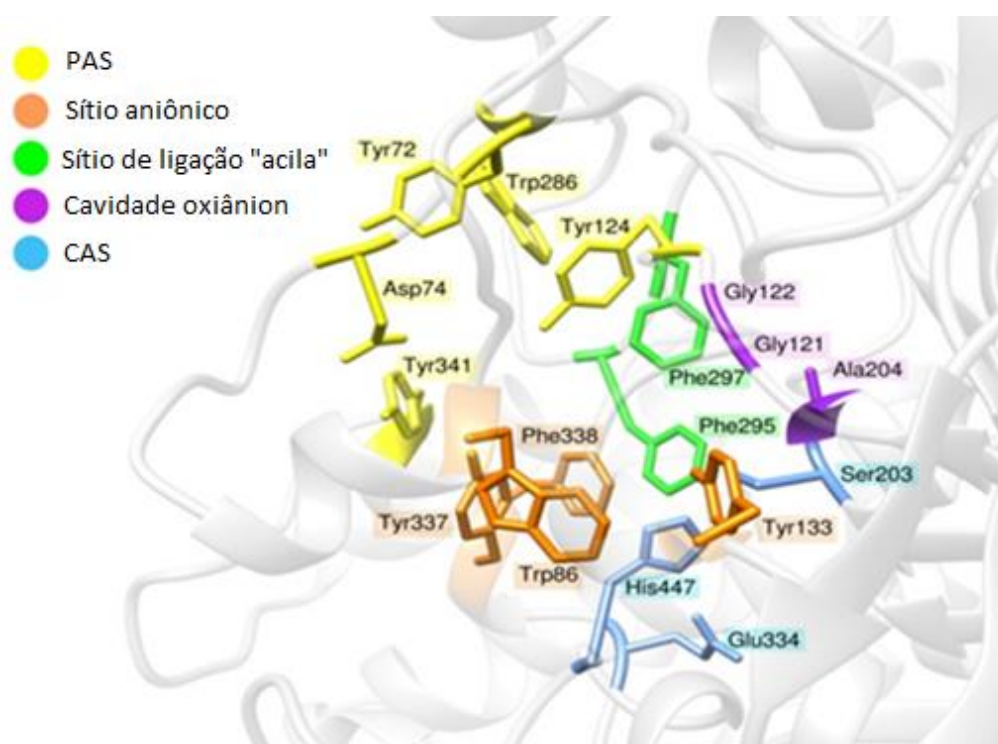


Figura 6. Sítio ativo da AChE humana. As Cores representam importantes subsítios de interação com substratos ou ligantes.

Fonte: adaptado de OCHOAA, RODRIGUEZ & ZULUAGA, 2016.

No entanto, a presença e a extensão dos resíduos dentro do canal são diferentes (Figura 7), especialmente no sítio de ligação acila, local responsável por catalisar o substrato. A título de comparação, o canal do sítio ativo da AChE humana (*hAChE*) compõe-se de 14 aminoácidos aromáticos, enquanto em BuChE humana (*hBuChE*), seis deles são substituídos por aminoácidos alifáticos. As características estruturais dessas enzimas contribuem para uma significativa diversificação conformacional (DIGHE *et al.*, 2016).

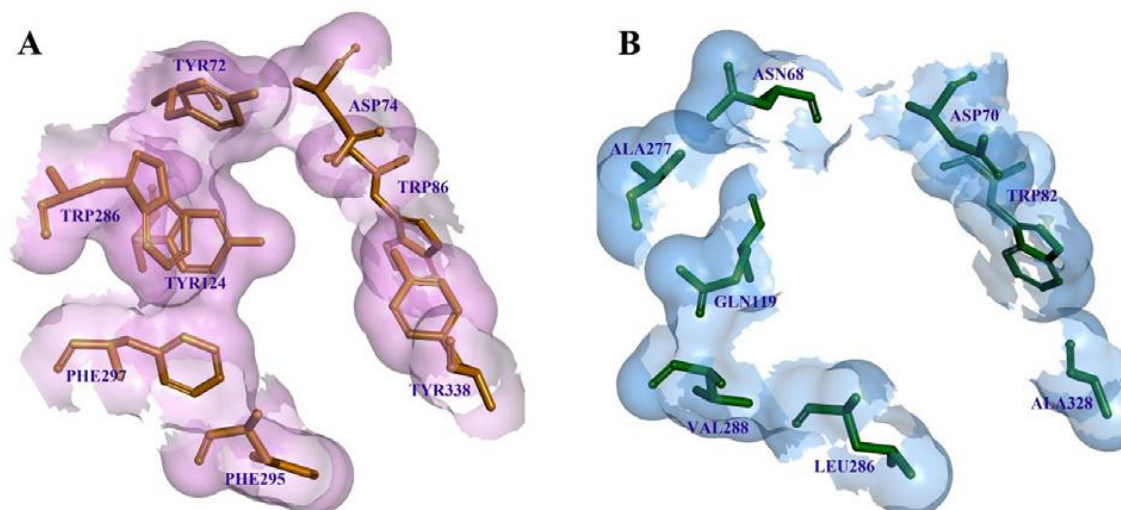


Figura 7. Diferenças na região PAS dos bolsos (A) *hAChE* (código PDB 4EY4) e (B) *hBuChE* (código PDB 6ZWI). Fonte: adaptado de LI *et al.*, 2017.

Na entrada do canal está localizado o PAS, que na *hBuChE* é composto pelos resíduos dos aminoácidos Ala277, Gln119 e Asn68. Contudo, na *hAChE* os resíduos são respectivamente substituídos pelos resíduos hidrofóbicos, Trp286, Tyr124 e Tyr72 (Figura 7). Esse bolso hidrofóbico é apontado por alguns estudos como responsável pela formação de um complexo com os peptídeos  $\beta A$  que culminam em relevantes danos cerebrais. Portanto, compostos com a capacidade de inibir a região PAS da AChE, são vantajosos não apenas porque bloqueiam a entrada de ACh no núcleo catalítico, mas também porque inibem a oligomerização de  $\beta A$  (WIESNER *et al.*, 2007, ÖZER *et al.*, 2013; PUDLO *et al.*, 2014; OCHOAA, RODRIGUEZ & ZULUAGA, 2016).

O CAS da *hAChE* consiste numa tríade catalítica composta pelos aminoácidos Ser203, His447 e Glu334 e, de forma homóloga, as tríades catalíticas da *hBuChE* são compostas pelos aminoácidos Ser198, His438 e Glu325 (OCHOAA, RODRIGUEZ & ZULUAGA, 2016, LI *et al.*, 2017.).

Próximo ao CAS encontra-se um sítio aniônico adicional, que na *hAChE* são constituídos pelos resíduos Trp86, Tyr133, Tyr337 e Phe338. Na *hBuChE* o Tyr337 é substituído por Ala328. Esses aminoácidos são responsáveis por promoverem a interação com o trimetilamônio da ACh através de interações cátion- $\pi$  e fornecem orientação adequada para o substrato dentro do canal (SZEGLETES *et al.*, 1999, JOHNSON & MOORE, 2006; OCHOAA, RODRIGUEZ & ZULUAGA, 2016).

Na região de ligação acila, os aminoácidos de *hAChE* são Phe295 e Phe297, que ocupam parcialmente o espaço, enquanto os de *hBuChE* são dois resíduos de fenilalanina, Leu286 e Val288, de tamanhos menores, mais flexíveis e que propiciam um espaço mais amplo. Essa

diferença é responsável pela forma e tamanho do sítio catalítico, sendo muito relevante para a especificidade do substrato. Consequentemente a *hAChE* possui maior seletividade para moléculas pequenas, tais como ACh, enquanto *hBuChE*, conforme é possível visualizar na Figura 7, permite que substratos maiores se liguem e sejam hidrolisados (BRUS *et al.*, 2014).

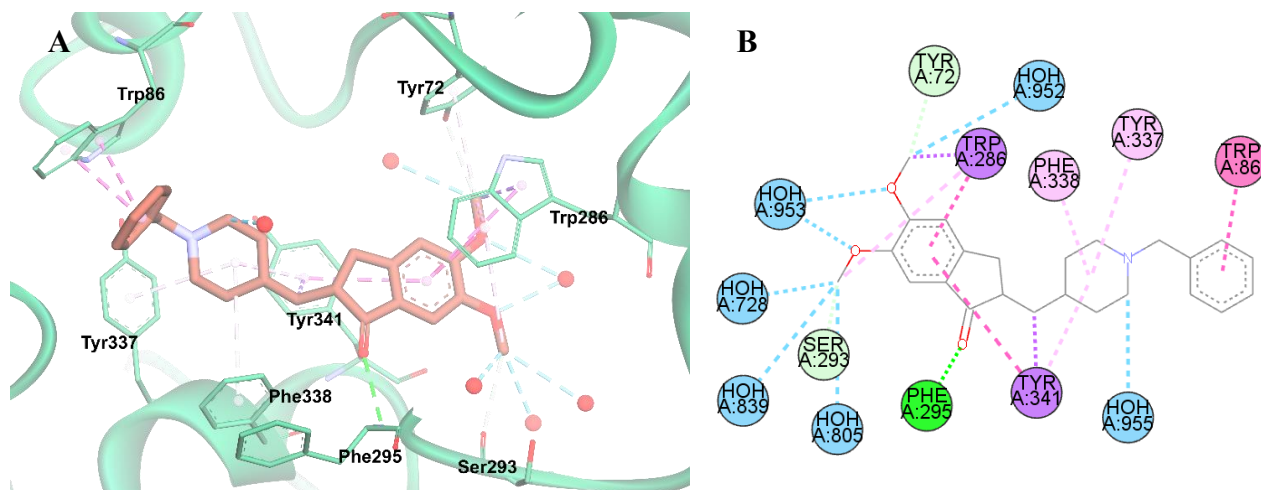


Figura 8. (A) Estrutura co-cristalizada da *hAChE* em complexo com donepezila (código **PDB 4EY7**), (B) Representação das interações em 2D. Carbono em marrom (para o ligante) e verde (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás e esfera vermelha para água. Tracejado verde representa ligação de hidrogênio, tracejado azul representa ligação hidrogênio-água, tracejado cinza representa ligação hidrogênio-carbono e interação de van der Waals, tracejado rosa representa interações  $\pi$ -stacking.  
Fonte: CHEUNG *et al.*, 2012.

Uma característica comum para os fármacos tacrina, rivastigmina e galantamina é que eles impedem a hidrólise do substrato ocupando, principalmente, o sítio CAS. No entanto, conforme demonstrado na Figura 8, a donepezila, interage tanto com o PAS, uma vez que sua porção indadona interage com Trp286 (empilhamento  $\pi$ -stacking) e com a Phe295 (interações de hidrogênio), quanto com o CAS, pela ligação da benzilpiperidina com o Trp86 (empilhamento  $\pi$ -stacking), fator importante para evitar a formação de placas neuríticas (TORRES *et al.*, 2016, JANA, GANESHPURKAR & SINGH, 2018).

Objetivando obter produtos com propriedades neuroprotetoras que apresentem baixa toxicidade, boa penetração na BHE e alta biodisponibilidade, a busca por novos iAChE enveredou para a pesquisa em compostos naturais, isolando e elucidando estruturas com farmacóforos interessantes. Nessa vertente, moléculas oriundas de produtos naturais, servem de inspiração para o planejamento e desenvolvimento de novos fármacos, pois representam fonte de matéria-prima para a descoberta de inúmeros possíveis fármacos (DA ROCHA *et al.*, 2011; MUKHERJEE *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2014).

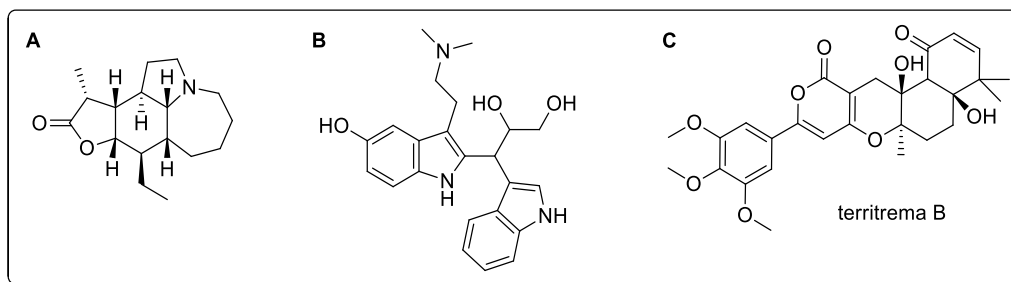


Figura 9. Estrutura territrema B.  
Fonte: ZHAO *et al.*, 2000.

O grupo de Lai (2013), estudou plantas utilizadas na medicina tradicional chinesa e conseguiu isolar um novo alcalóide das raízes de *Stemona sessilifolia*, com 99,6 % de inibição da AChE à 0,1 mg/mL e  $IC_{50}$   $2,1 \pm 0,2 \mu\text{M}$ , a análise cinética indicou que o composto apresenta inibição reversível competitiva, sendo um possível candidato a fármaco na terapêutica da DA (Figura 9A).

Queiroz e colaboradores (2014), estudaram as propriedades anticolinesterásicas da *Tetrapteryx mucronata*, uma parreira encontrada na América Central e América do Sul. O grupo conseguiu isolar e identificar a estrutura de seis novos produtos naturais. Desses, cinco moléculas apresentaram valores de  $IC_{50}$  abaixo de  $15 \mu\text{M}$  na inibição da AChE, e o melhor resultado foi de  $11,7 \mu\text{M} \pm 0,4$  (Figura 9B).

Um dos compostos naturais investigados para o tratamento da DA (Figura 9C) foi descoberto por Ling e colaboradores em 1979. O grupo analisou o arroz estocado em Taiwan descobrindo uma intensa contaminação por fungos, dentre os quais isolou-se o *Aspergillus terreus*. Ao investigar as micotoxinas produzidas por esta espécie, foram isolados dois compostos que apresentavam intensa fluorescência azul após irradiação de luz ultravioleta (UV). Um dos compostos, foi injetado em camundongos e observou-se como principal efeito uma intensa e sustentada indução de tremores (ZHAO *et al.*, 2000, CHEUNG *et al.*, 2013).

Esse metabólito fúngico recebeu o nome de "teritrema B" (TRB) para indicar sua origem biológica de *A. terreus* e suas atividades tremorgênicas induzidas. Com a hipótese de atividade no SNC, diversos autores conseguiram determinar que o composto agia sobre os neurônios motores pré-sinápticos, por meio da inibição seletiva da AChE. A territrema B, mostrou-se um potente iAChE com valores de  $IC_{50}$   $7,6 \text{ nM}$  (LING, 1994; PENG, 1995; CHEN *et al.*, 1999, BUNBAMRUNG *et al.*, 2020).

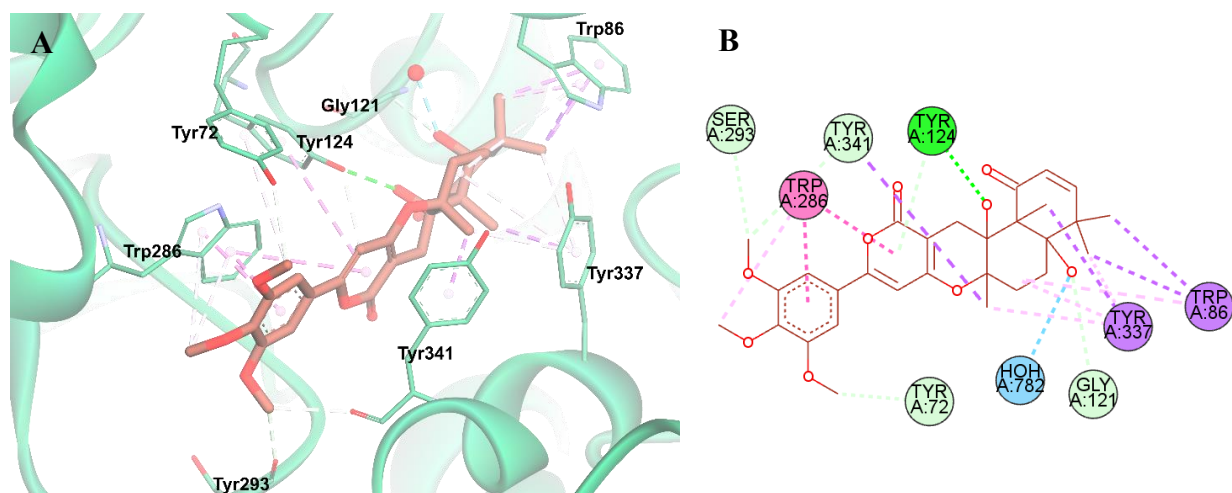


Figura 10. (A) Estrutura da *hAChE* em complexo com territrema B (código PDB **4M0F**), (B) Representação das interações em 2D. Carbono em marrom (para o ligante) e verde (para os resíduos) oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás (para os resíduos) e esfera vermelha para água. Tracejado verde representa ligação de hidrogênio, tracejado azul representa ligação hidrogênio-água, tracejado cinza representa ligação hidrogênio-carbono e interação de van der Waals, tracejado rosa representa interações  $\pi$ -stacking.  
Fonte: CHEUNG *et al.*, 2013.

O estudo desse produto avançou e a estrutura co-cristalizada da TRB com a *hAChE* foi obtida (código PDB: 4M0F; resolução: 2,3 Å), possibilitando explorar seus requisitos estruturais. A TRB interage com o PAS e CAS através de interações hidrofóbicas do tipo van der Waal's (Trp86, Phe297, Tyr337, Phe338 e His447), via empilhamento- $\pi$  ou  $\pi$ -stacking (Trp286 e Tyr341), e ligações de hidrogênio (Tyr72, Ser203 e Tyr124), observa-se, na Figura 10, algumas dessas interações (CHEUNG *et al.*, 2013; JANA, GANESHPURKAR & SINGH, 2018).

Apesar da alta afinidade e seletividade em relação à enzima, até o momento não existe fármaco baseado no arcabouço da TRB. Ademais, esse produto apresenta estrutura de síntese complexa, tornando-a atraente para o desenvolvimento de análogos simplificados que mantenham as interações desejadas com os resíduos de aminoácidos do sítio catalítico da AChE (JIANG *et al.*, 2005).

## 2.4 FLAVONOIDES, FLAVONAS E SEUS DERIVADOS

Os flavonoides são moléculas heterocíclicas contendo oxigênio em seu arranjo estrutural e estão presentes em alimentos e bebidas de origem vegetal, em frutas, legumes, cacau, cereais, chá e vinho. As seis principais subclasses de flavonoides (Figura 11) incluem os (1) flavonóis (por exemplo, kaempferol e quercetina), que estão presentes na cebola, alho-poró e brócolis; (2) flavonas (apigenina e luteolina), presentes na salsa e salsaão; (3) isoflavonas (daidzeína e genisteína), que são encontradas principalmente em soja; (4) flavanonas (hesperetina e naringenina), encontradas em frutas cítricas e tomates; (5) flavanóis (catequina: epicatequinas -



EC, epicatequinas gallato - ECG, epigalocatequina -EGC e epigalocatequina galato - EGCG, que são abundantes no chá verde, vinho tinto e chocolate; e finalmente (6) antocianidinas (pelargonidina, cianidina e malvidina), cuja as fontes incluem frutos e vinho tinto (BEECHER, 2003; BAPTISTA, *et al.*, 2013).

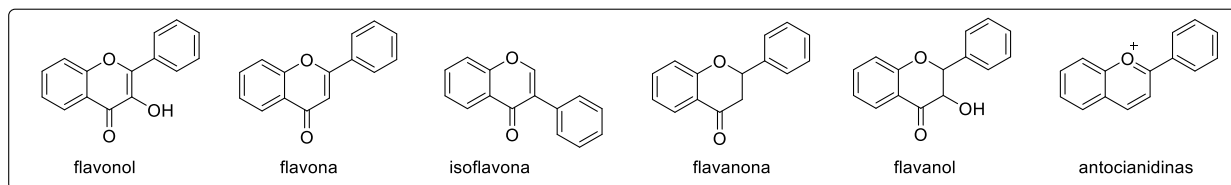


Figura 11. principais subclasses de flavonoides.

Fonte: adaptado de BAPTISTA *et al.*, 2013.

Como exemplo específico, as flavonas (Figura 11), são formadas estruturalmente pela fusão de um anel benzênico a um anel pirânico, apresentando arcabouço 2-fenil-4*H*-cromen-4-ona (MAZIMBA *et al.*, 2011; NAIK, TILVE & KAMAT, 2014.). Devido a sua gama de atividades biológicas, que incluem: atividade antiestrogênica, antioxidante, anti-HIV, antialérgico, leishmanicida, capacidade quelante e efeito neuroprotetor, essa estrutura possui enorme relevância, que a torna interessante para planejamento e síntese de novos compostos bioativos (HAREL *et al.*, 2013, PAUL *et al.*, 2021).

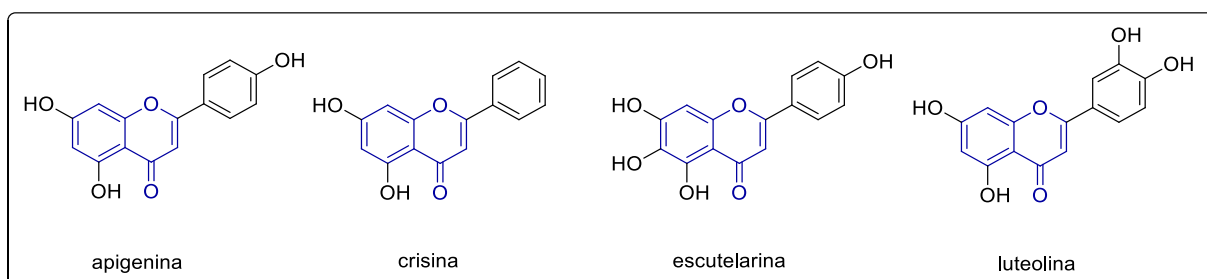


Figura 12. Exemplos de flavonas bioativas naturais: apigenina, crisina, escutelarina e luteolina.

Fonte: SANG *et al.*, 2015b; GANAI *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2021.

Na Figura 12 estão apresentadas as flavonas naturais, apigenina, crisina, escutelarina e luteolina, que foram descritas como potentes moléculas antioxidantes, anti-inflamatórias, com atividades anticâncer, antiviral, antiparasitária, neuroprotetora, entre outras (SANG *et al.*, 2015b; GANAI *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2021).

Algumas flavonas oriundas de fontes naturais apresentaram resultados interessantes no tratamento de vários distúrbios do sistema nervoso central e ajudam a assinalar a relevância dessa estrutura. Zou e colaboradores (2017) isolaram oito triflavonoides da erva *Selaginella doederleinii*. Todos os compostos exibiram inibição de BACE-1 com valores de IC<sub>50</sub> variando de 0,75 a

46,99  $\mu\text{M}$ . O composto 3,5,4'-tri-hidroxi-6,7,3'-trimetoxiflavona purificado da planta *Achillea fragrantissima* preveniu a morte de neurônios induzida por  $\beta\text{A}$  e atenuou o acúmulo intracelular de ROS (TELERMAN *et al*, 2017). Nove flavonas foram isoladas da parte aérea da *Agrimonia pilosa* e os potenciais inibitórios de AChE foram avaliados, apresentando efeitos moderados, com valores de  $\text{IC}_{50}$  variando de  $60,20 \pm 1,09$  a  $92,85 \pm 1,12$   $\mu\text{M}$  (NGUYEN *et al.*, 2017).

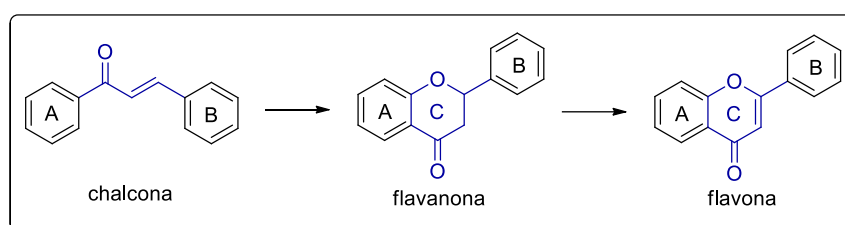


Figura 13. Exemplo da estrutura base da chalcona, flavanona e da flavona.  
Fonte: adaptado de SINGH, KAUR & SILAKARI, 2014.

Biossinteticamente, são o resultado da isomerização da chalcona catalisada pela chalcona isomerase em flavanonas (Figura 13), seguida pela formação da ligação dupla C2-C3 pelas enzimas flavona sintase. Essa sequência de reações leva à formação do anel heterocíclico central pirano C, que conecta os anéis aromáticos A e B encontrados no precursor chalcona (SINGH, KAUR & SILAKARI, 2014; BONIFACE & FERREIRA, 2019).

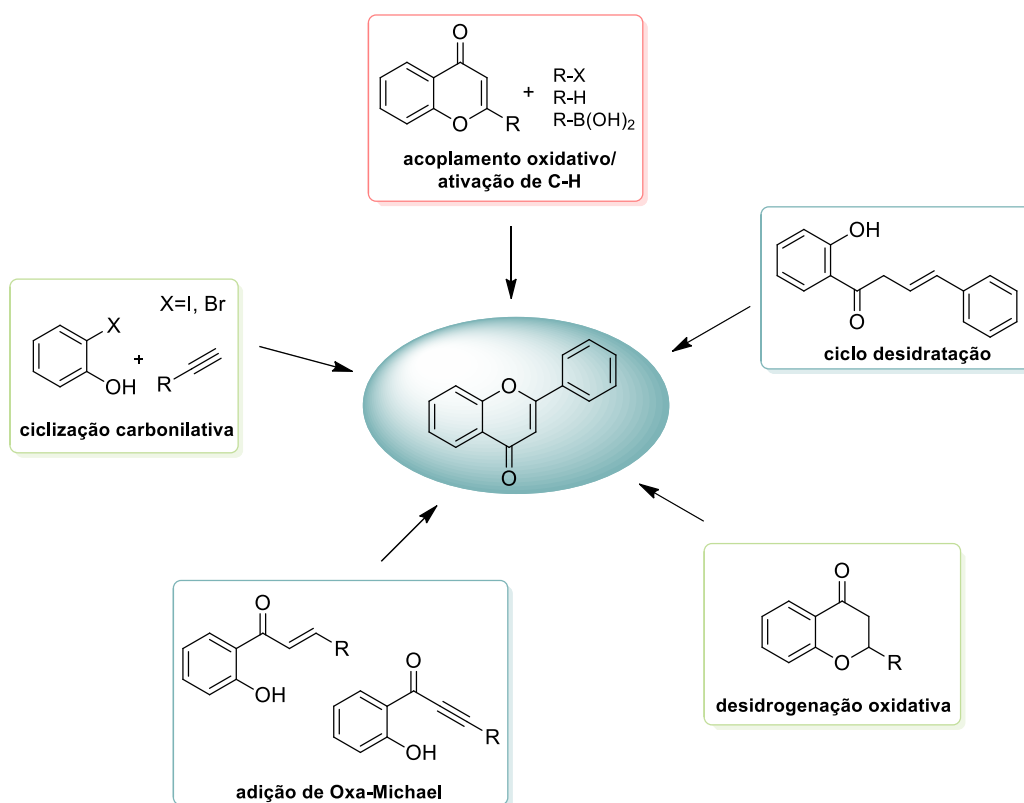


Figura 14. Exemplos de metodologias para sínteses de flavonas.  
Fonte: adaptado de SINGH & SILAKARI, 2018, BONIFACE & FERREIRA, 2019.



Sinteticamente, as flavonas são tipicamente formadas a partir das chalconas correspondentes, as quais, podem ser sintetizadas por meio das condensações aldólicas de Claisen-Schmidt. Neste caso, uma metodologia de ciclização oxidativa é necessária para completar a síntese, sendo muitas vezes realizada na presença de iodo em DMSO em altas temperaturas (PATEL & SHAH, 2017). Alternativamente, as flavonas podem ser obtidas por meio do rearranjo Baker-Venkataraman, rearranjo de Allan-Robinson, reação de Wittig, rearranjo de Fries ou pela síntese de Auwers (WANG *et al.*, 2018, RAI *et al.*, 2018). Esses métodos sintéticos podem ser classificados como: acoplamento oxidativo/ativação C-H, ciclodesidratação, desidrogenação de flavanonas, adição de oxa-Michael e ciclização carbonilativa (Figura 14) (BONIFACE & FERREIRA, 2019). Também são relatados o uso de diversos catalisadores de paládio, irradiação de micro-ondas e líquidos iônicos (PATHAN *et al.*, 2006, NAIK, TILVE & KAMAT, 2014).

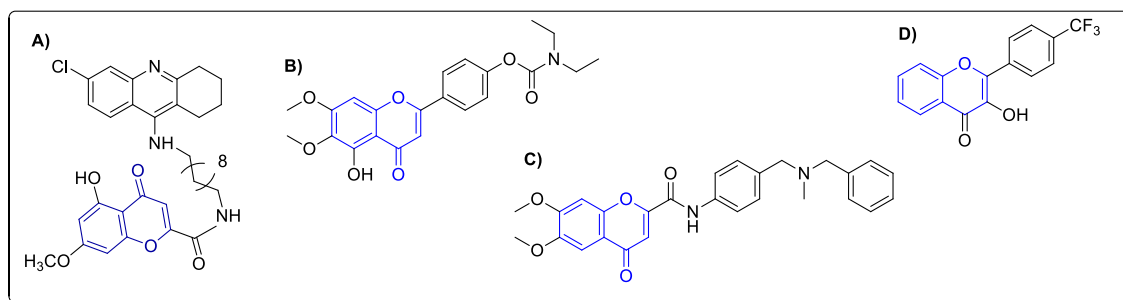


Figura 15. **A:** composto tacrina-4-oxo-4*H*-cromeno, **B:** composto rivastigmina-flavona, **C:** flavona carboxamida, **D:** trifluorometilfenil hidroflavona.

Fonte: adaptado de Fernández-Bachiller *et al.*, 2012, SANG *et al.*, 2015a, Estrada-Valencia *et al.*, 2018, Ghias *et al.*, 2022.

Por apresentar potencial no tratamento da DA, esse arcabouço vem sendo pesquisado para o planejamento de novos fármacos. Um estudo de 2012, realizado por Fernández-Bachiller e colaboradores, utilizou fragmentos de tacrina e arcabouço flavonoide, obtendo nova família de tacrina-4-oxo-4*H*-cromeno para o tratamento da DA (Figura 15A). Os compostos mostraram inibição de *hAChE* e *hBuChE* em concentrações nano e picomolares, bem como atividade antioxidante interessante e capacidade de penetrar no SNC de acordo com a avaliação *in vitro*.

SANG e colaboradores (2015a) planejaram novas moléculas de rivastigmina-flavona, para obtenção de efeitos neuroprotetores, inibindo tanto *AChE* quanto *BuChE*, com valores de  $IC_{50}$  de 0,57 e 22,6  $\mu$ M, respectivamente (Figura 15B). Ademais, revelou boa atividade antioxidante, capacidade quelante seletiva de  $Cu^{2+}$  e  $Al^{3+}$  e efeitos neuroprotetores contra lesão celular PC12 induzida por  $H_2O_2$ . Com a permeabilidade BHC confirmada, o composto exibiu com sucesso efeitos neuroprotetores significativos contra o comprometimento cognitivo induzido por escopolamina em roedores.

Estrada-Valencia e colaboradores (2018), planejaram 13 novos compostos conectando estruturas relacionadas a flavonoides com um fragmento de trabalho pretérito do grupo que apresenta carboxamida em sua estrutura (Figura 15C). Em geral, os produtos exibiram inibição seletiva de *hAChE* ( $IC_{50} = 0,99 - 4,5 \mu M$ ) em comparação com *hBuChE* ( $IC_{50} > 10 \mu M$ ) e eram permeáveis ao SNC de acordo com o ensaio *in vitro* PAMPA-BHE.

Já em 2022, Ghias e colaboradores, sintetizaram duas hidroflavonas com atividade contra *AChE* e *BuChE* (Figura 15D) onde estudos de *docking* indicaram que os compostos apresentam ligação ao sítio ativo catalítico (Trp84), e aos resíduos encontrados no meio do canal da acetilcolinesterase via interações  $\pi - \pi$  e interação de hidrogênio.

As hidroxilas são o grupo funcional mais comum nas estruturas de flavonoides, apresentando alta propensão para a transferência de elétrons, que desempenham tanto papel quelante, quanto de inibidores de radicais livres. Todavia, em relação aos flavonoides, os grupamentos amino são considerados possuidores dos mesmos comportamentos que as hidroxilas, haja vista serem isósteros. O grupo amino proporciona aminoflavonas altamente ativas que dão origem a interações benéficas com aminoácidos presentes no sítio ativo de enzimas e proteínas (HADJERI *et al.*, 2003, KÓNYA *et al.*, 2015).

Os grupos funcionais contendo nitrogênio são componentes onipresentes em moléculas biologicamente ativas. Os fragmentos contendo nitrogênio são particularmente importantes tanto pelo caráter básico do par solitário de elétrons quanto pela capacidade da ligação de hidrogênio do grupo N-H. Talvez o exemplo mais célebre de integração dessas propriedades doadoras e aceitadoras seja nosso DNA. Não obstante essa relevante característica, ainda são escassos os relatos de sínteses e dados biológicos de aminoflavonas encontrados na literatura e podem ser atribuídos às limitações e à complexidade de síntese, particularmente naquelas em que o grupo amino está ligado ao anel A (HILI & YUDIN, 2006, SHIH *et al.*, 2014, THORAT *et al.*, 2021).

Nesse panorama, entende-se que a flavona e as aminoflavonas possuem potencial para a obtenção de compostos com atividade biológica promissora, motivando a pesquisa por novas modificações estruturais para o tratamento da DA. A seguir será tratada de forma mais detalhada possíveis rotas de obtenção de aminoflavonas.

## 2.5. OBTENÇÃO DE AMINOFLAVONAS

As aminoflavonas são uma classe de compostos com um nitrogênio ligado diretamente ao carbono aromático  $sp^2$  e a construção das ligações C-N de compostos aromáticos é considerada um desafio para os químicos medicinais. Tradicionalmente, a formação de aminoflavonas conta

estratégias como nitração seguida por uma etapa de redução, ou substituição nucleofílica aromática de substratos ativados (BARIWALAB & EYCKEN, 2013; KONWAR *et al.*, 2021). Contudo, a introdução do grupo amino de maneira controlada foi extensivamente investigada sendo relatada pela primeira vez por Ullmann e Goldberg há mais de cem anos, em publicação de 1901. Os autores usaram quantidades estequiométricas de sais de cobre para ativar (pseudo) haletos de arila para reagir com nucleófilos de amina (ULLMANN & BIELECKI, 1901; CHO *et al.*, 2011).

Embora essas sejam estratégias úteis, todas essas transformações mostram escopo limitado e tolerância de grupo funcional. A nitração é uma tecnologia econômica e bem estabelecida, mas sofre com a baixa economia de etapas na síntese geral de aminas aromáticas. A substituição nucleofílica aromática requer grupos de retiradores de elétrons para melhorar a reatividade. Os acoplamentos do tipo Ullmann exigem temperaturas elevadas e geram resíduos tóxicos de sais de cobre (SCHOLZ, 2009).

Posteriormente, foram desenvolvidas alternativas mais brandas e imenso progresso foi conquistado, particularmente com as modificações de Chan-Evans-Lam (OKANO *et al.*, 2014) e os sistemas catalíticos desenvolvidos por Bhunia e Ma em 2017, que permitiram reduções da carga e temperatura do catalisador (BHUNIA *et al.*, 2017).

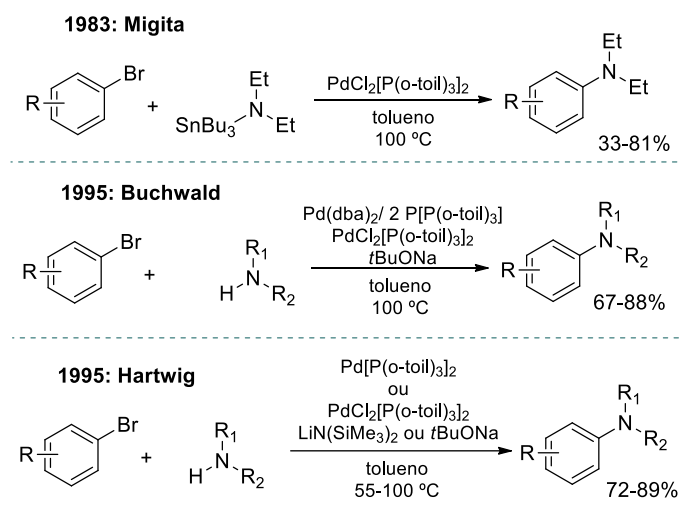
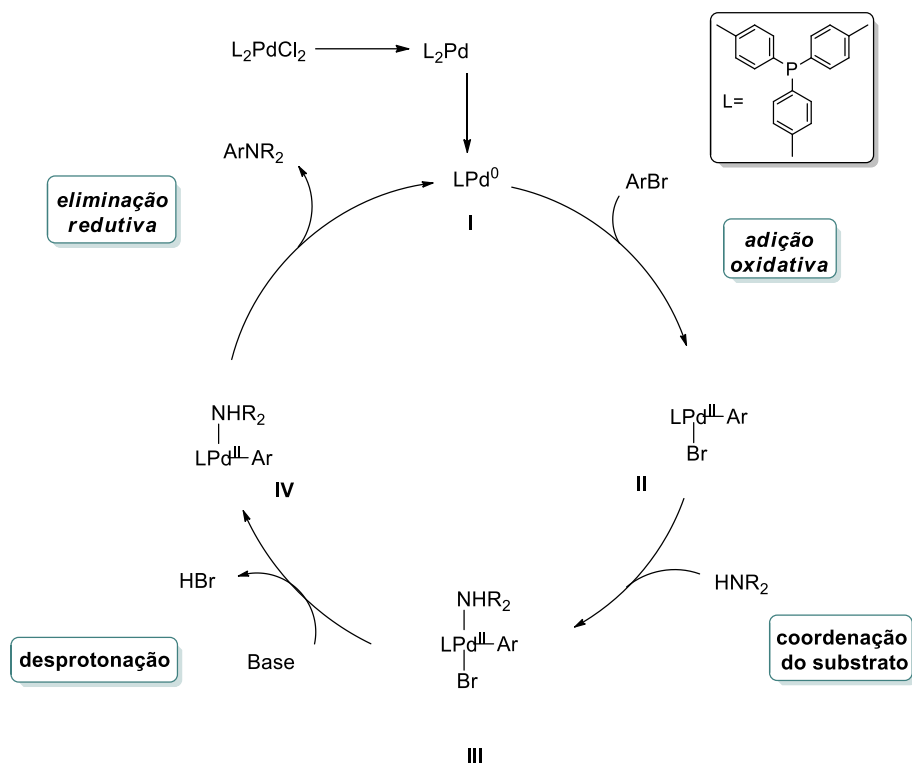


Figura 16. Primeiras publicações da síntese de formação C-N catalisada por paládio.  
Fonte: adaptado de FORERO-CORTEÉS & HAYDL, 2019.

Em 1983, Migita e colaboradores publicam os primeiros estudos sobre o acoplamento catalisado por paládio, utilizando vários brometos de arila e *N,N*-dietilamino-tributil. Em 1994, surgiram dois relatórios independentes, um do grupo Hartwig, que examinou os intermediários da reação e as espécies catalíticas dessa reação, e outro do grupo Buchwald, que descreveu um método aprimorado para evitar a formação de substâncias tóxicas. Um ano depois, Buchwald e Hartwig

relatarem protocolos para reação de acoplamento C–N com formação de aril-amina sem estanho (Figura 16). Essa metodologia hoje é conhecida como aminação de Buchwald-Hartwig (PAUL, PATT & HARTWIG, 1994, GURAM & BUCHWALD, 1994, FORERO-CORTEÉS & HAYDL, 2019).

Os primeiros estudos de Hartwig estabeleceram o mecanismo presente no Esquema 2 usando ligantes do tipo  $P(Ar)_3$ . Na primeira etapa, ocorre a inserção oxidativa da espécie  $Pd(0)$  (I) no substrato haleto de arila que proporciona a espécie dimérica (II). A amina coordenada aumenta significativamente sua acidez, permitindo a desprotonação por uma base impedida, culminando na formação do complexo paládio-amina (IV), que por fim sofre eliminação redutiva para formar a amina arilada e regenerar o catalisador de  $Pd(0)$  (I) (LOUIE & HARTWIG, 1995).



Esquema 2. Mecanismo de acoplamento cruzado C-N.  
Fonte: adaptado de WAMBUA *et al.*, 2021.

Investigações extensivas por ambos os grupos levaram a uma melhor compreensão dos fatores que governam a eficiência da reação, desde o processo de adição oxidativa ao processo de eliminação redutiva, bem como as reações secundárias de eliminação de  $\beta$ -hidreto. A compreensão desses fatores levou ao desenvolvimento racional de um grande número de sistemas catalíticos, melhorando a reatividade e o escopo em comparação com os ligantes  $P(o\text{-tolil})_3$  fosfina usados nas pesquisas iniciais. Essas melhorias levaram a maior robustez da metodologia, tornando essa reação fundamental para a atual química sintética e uma das transformações mais amplamente

utilizadas nas indústrias farmacêutica e agroquímica (Figura 17).

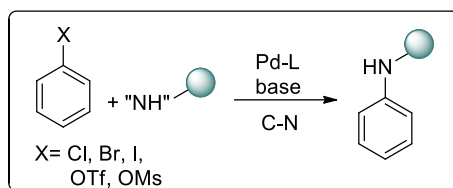


Figura 17. Exemplificação da síntese de aminação de Buchwald-Hartwig.  
Fonte: adaptado de RUIZ-CASTILLO & BUCHWALD, 2016.

### 3. PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

Avanços significativos no planejamento de fármacos e na biologia molecular revolucionaram o planejamento de novos compostos, resultando em progressão de candidatos clínicos bioativos específicos (MERZ JR, RINGE & REYNOLDS, 2010).

É comumente adotado no planejamento de fármacos duas linhas de pesquisa, o SBDD, (do inglês *structure-based drug design*) que é o planejamento baseado na estrutura do receptor e o LBDD, (do inglês *ligand-based drug design*) quando a estrutura do alvo eleito não é conhecida e, nesse caso, o planejamento é baseado na estrutura do ligante (GUIDO, OLIVA & ANDRICOPULO, 2008).

No SBDD as estruturas de alvos macromoleculares ou de complexos do tipo ligante-receptor são conhecidas, portanto o desenvolvimento de novos compostos é por complementariedade molecular ao sítio de ação do receptor. O alvo ideal para o SBDD é aquele que está intimamente ligado à doença e, muitas vezes, as enzimas são excelentes alvos porque os compostos podem ser projetados para encaixarem dentro do bolso catalítico (VAN MONTFORT & WORKMAN, 2017).

Por outro lado, quando a estrutura do alvo não é conhecida, métodos de planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante, LBDD, podem ser utilizados para orientar na modificação dos compostos, explorando propriedades e características de séries de ligantes bioativos (MASON, GOOD & MARTIN, 2001).

Em muitos casos, o uso integrado de estratégias de SBDD e LBDD pode gerar informações úteis no planejamento, por meio da sinergia e complementaridade de conhecimentos entre as estratégias (GUIDO, ANDRICOPULO & OLIVA, 2010).

As moléculas de ligantes conhecidos são estudados para compreender como suas propriedades se correlacionam com a atividade farmacológica desejada. A hipótese por trás do método é que estruturas ou propriedades físico-químicas semelhantes produzem atividade semelhante, leva-se em consideração os modelos farmacofóricos e a relação estrutura-atividade quantitativa (QSAR) (GUNER, CLEMENT & KUROGI, 2004; VERMA & HANSCH, 2009).

As interações intermoleculares presentes entre o ligante e o receptor são importantes para o desenvolvimento de novos fármacos e, portanto, as forças de Van der Waals, as interações de hidrogênio, dentre outras, devem ser analisadas assim como os fatores estereoquímicos tais como as distâncias interatômicas, a flexibilidade conformacional, o volume molecular do ligante e o arranjo espacial entre os grupamentos farmacofóricos (DUARTE, BARREIRO & FRAGA, 2007).

Muito dos fármacos utilizados clinicamente são de origem natural, ou são desenvolvidos por síntese química racionalizada a partir de produtos naturais. No caso de compostos que apresentem limitações de seu isolamento ou que apresentem estruturas de difícil síntese, modificações moleculares são comumente empregadas para otimização de suas propriedades farmacodinâmica e farmacocinética, assim como, para obtenção de estruturas mais facilmente sintetizadas (BARREIRO & FRAGA, 2008; WERMUTH, 2008). Para obtenção desses protótipos otimizados, utilizam-se algumas estratégias de modificações moleculares, entre elas estão o bioisosterismo, a hibridação e a simplificação molecular (BARREIRO & FRAGA, 2008).

O bioisosterismo baseia-se na troca de substituintes ou grupos estruturais de compostos bioativos por outros que possuam similaridades tais como as propriedades físico-químicas, volumes moleculares e distribuição eletrônica (WERMUTH, 2008).

A hibridação molecular é uma ferramenta de conjugação de estruturas ou de grupos farmacofóricos de compostos bioativos distintos em uma única nova molécula, essa junção pode apresentar a atividade de uma das substâncias originais ou conjugar ambas as atividades em uma única molécula, sendo uma alternativa terapêutica para algumas fisiopatologias multifatoriais (GAIKWAD *et al.*, 2012, ZHANG *et al.*, 2022).

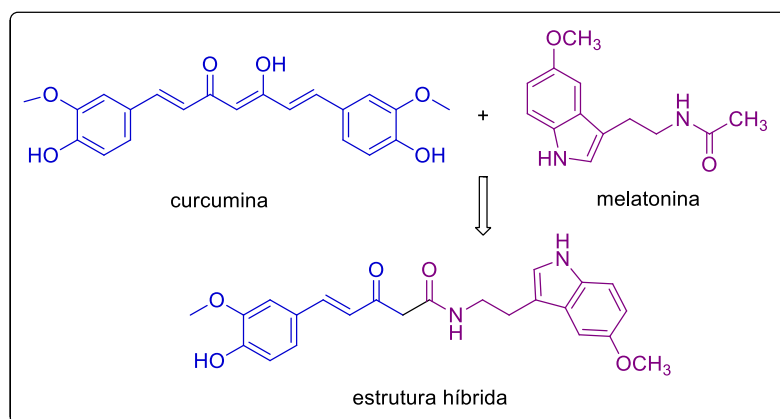


Figura 18. Hibridação para formação de um novo composto com as estruturas da curcumina e da melatonina. Fonte: adaptado de ZHANG *et al.*, 2017.

Pode ser observado na Figura 18, um exemplo de hibridação molecular presente na literatura em que há o planejamento para a formação de um novo composto constituído pelas estruturas do produto natural curcumina e do hormônio melatonina, desenhado para atuar como provável neuroprotetor (ZHANG *et al.*, 2017).

A simplificação molecular é empregada na obtenção de compostos estruturalmente mais simples, a partir de protótipos ativos, estruturalmente complexos. Modificações moleculares planejadas podem resultar em estruturas com peso molecular reduzido, com menor número de

centros quirais e de grupos funcionais, porém preservam ou otimizam os efeitos farmacofóricos do produto original (BARREIRO, 2002).

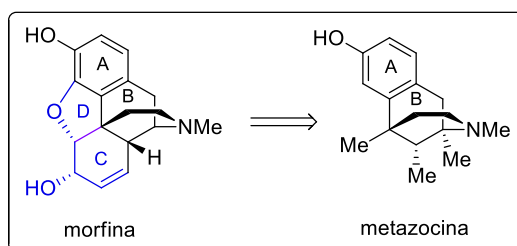


Figura 19. Modelo de simplificação molecular da morfina.  
Fonte: adaptado de BARREIRO, 2009.

O opioide natural morfina é exemplo de aplicação da simplificação molecular bem-sucedido. Originalmente isolado de *Papaver somniferum* em 1804, serviu de base para posteriores otimizações e simplificações de sua complexa estrutura. Ademais, utilizando-se de modificações dos grupos funcionais foi possível compreender seu mecanismo de ação analgésica. Na Figura 19, a estrutura da morfina foi simplificada por meio da retirada dos anéis C e D, porém manteve-se o grupo farmacofórico fenol-alquil-*N*-metil, importante para sua atividade. Essa modificação originou o composto metazocina, que além de ser mais facilmente sintetizado apresenta menor dependência e a mesma atividade analgésica (BARREIRO, 2009).

A simplificação molecular, permite direcionar as modificações moleculares para a remoção de grupos excedentes com a permanência dos grupos farmacofóricos indispensáveis para a terapêutica. Isto posto, estratégias de simplificação molecular são interessantes no planejamento de análogos de produtos naturais.



#### 4. OBJETIVOS

Este trabalho visa à obtenção de novos candidatos a fármacos para o tratamento da DA, com propriedades anticolinesterásicas. Para alcançar esse fim, os seguintes passos foram delineados:

- 1) Planejar racionalmente novos compostos baseados na estrutura do fármaco donepezila e na simplificação para flavona do arcabouço da TRB, utilizando das estratégias de hibridação, simplificação molecular e retroisosterismo;
- 2) Aplicar metodologia de síntese para obtenção dos compostos propostos;
- 3) Avaliar *in vitro* a atividade anticolinesterásica para AChE e BuChE dos análogos sintetizados;
- 4) Avaliar a citotoxicidade dos compostos e possível proteção celular;
- 5) Realizar estudos de *docking* molecular no alvo AChE para elucidação de potenciais modo de interação e auxílio no planejamento de novos compostos.

## 5. PLANEJAMENTO DAS SÉRIES PROPOSTAS

A donepezila, iAChE amplamente utilizado na terapêutica, é um fármaco permeável à barreira hematoencefálica, reversível, não competitivo e têm sido utilizado como protótipo para o desenvolvimento de novos compostos com atividade inibitória sobre a AChE (PUDLO *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2021).

Por outro lado, os flavonoides vêm recebendo cada vez mais atenção por exibirem uma série de atividades biológicas associadas a distúrbios neurológicos, especialmente para DA, indicando que novos derivados de flavonoides são candidatos promissores para a pesquisa de fármacos anti-DA (SPENCER, 2009). O arcabouço do produto natural TRB é um potente inibidor de AChE ( $IC_{50} = 8 \text{ nM}$ ) e apresenta interações promissoras quanto à atividade anticolinesterásica, sendo favorável ponto de partida para planejamento de novos compostos potencialmente ativos. Entretanto, por possuir arcabouço de síntese mais complexa, simplificou-se a porção similar ao núcleo flavona visando otimização de processo, procurando assim, manter as interações relevantes para as propriedades neuroprotetoras.

À vista disso, utilizando-se os dados cristalográficos disponíveis no PDB que norteiam a identificação dos grupos farmacofóricos da donepezila e da territrema B frente à AChE, foram propostas modificações moleculares com o intuito de gerar compostos inéditos, contendo os principais requisitos estruturais para a inibição da AChE.

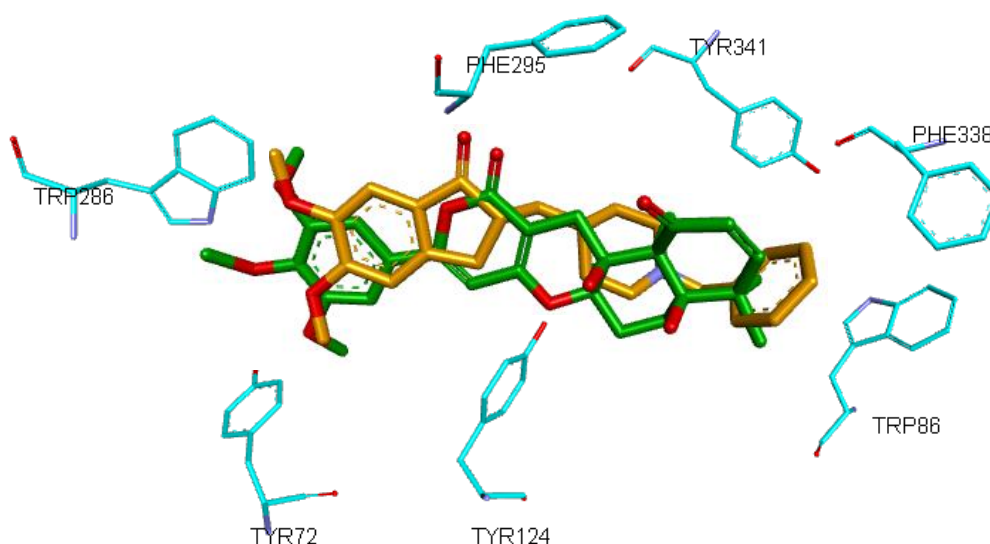
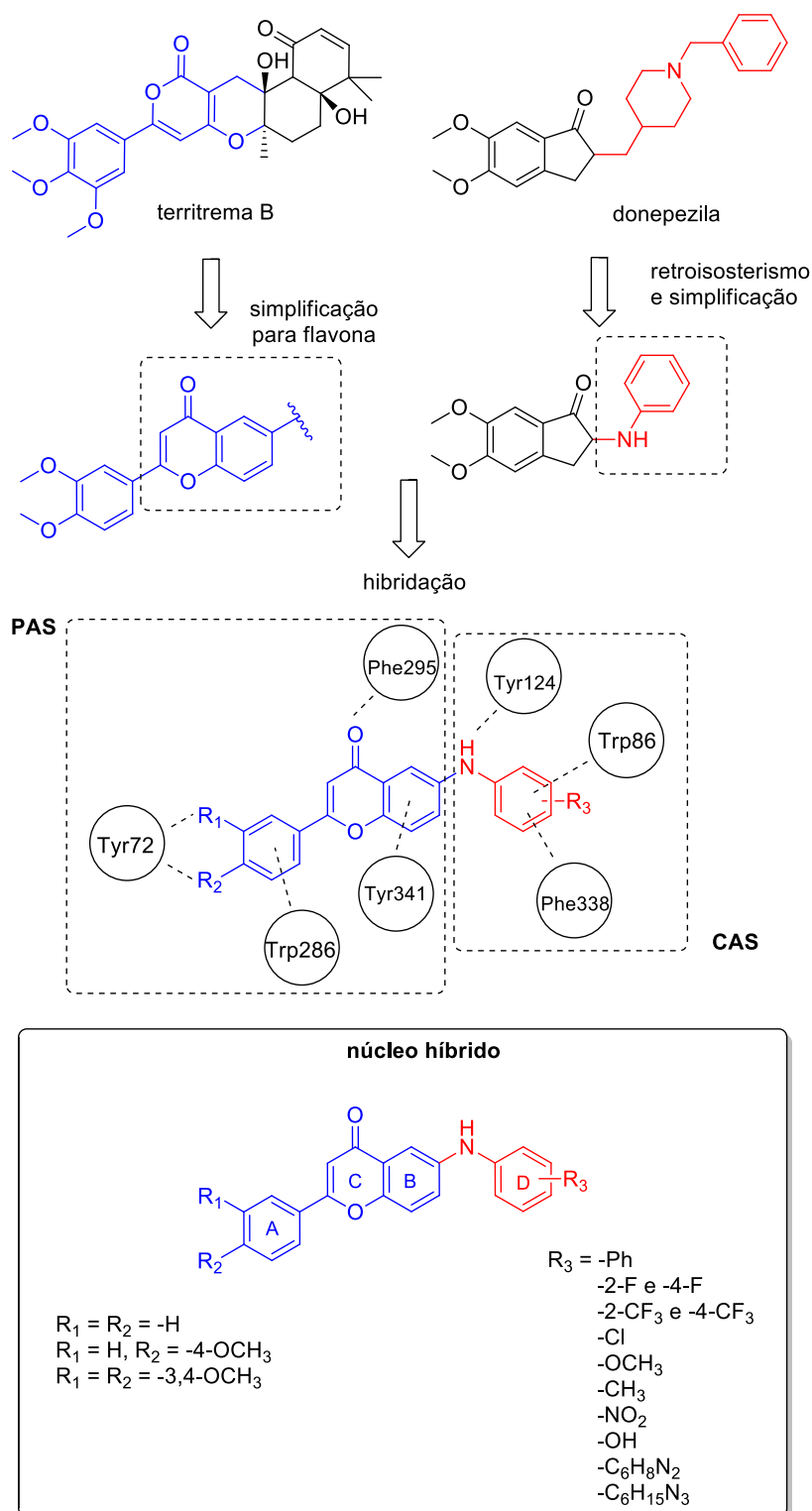


Figura 20. Sobreposição das estruturas da donepezila (código **PDB 4EY7**) com a estrutura da territrema B (código **PDB 4M0F**) e suas principais interações. Carbono em laranja (para donepezila), verde (para a territrema B) e azul (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em lilás.

Fonte: CHEUNG *et al.*, 2012 e 2013.

Na Figura 20 verifica-se por meio da sobreposição das estruturas da donepezila e da TRB, que as duas moléculas exploram a região PAS por meio de interações com o Trp286, e Tyr72, assim como interagem com o CAS, pela interação com o Trp86, Tyr341 e Phe338. Com base nas observações cristalográficas das Figuras 8 e 10, é possível planejar uma nova molécula híbrida que mantenha essas características.



Esquema 3. Planejamento das séries propostas.

As estratégias basearam-se na simplificação molecular do arcabouço químico da TRB por meio da mimetização de sua porção ativa na região CAS do bolso, compondo então estrutura flavona. O núcleo benzilpiperidínico presente na donepezila, passou por retroisosterismo e simplificação com abertura de anel, e posterior inserção desse grupo, no arcabouço flavona e/ou cromenona.

No Esquema 3, estão presentes os planejamentos dos compostos. As moléculas foram projetadas para explorarem a região PAS por meio de interações van der Waal's com o Phe295, ligações de hidrogênio com Tyr72, e empilhamento- $\pi$  com Trp286 e Tyr341, assim como com a região CAS, pela interação do tipo van der Waal's com Phe338, empilhamento- $\pi$  com Trp86, e ligações de hidrogênio com Tyr124.

As séries possuem o núcleo flavona com variações nos substituintes 3 e 4 do anel aromático A. As posições desse grupo farmacofórico são alternadas visando avaliar a resposta da atividade frente as metoxilas, sabidamente importantes para a relação estrutura-atividade, obtendo assim, compostos sem substituição, *meta* e *para*-substituídos.

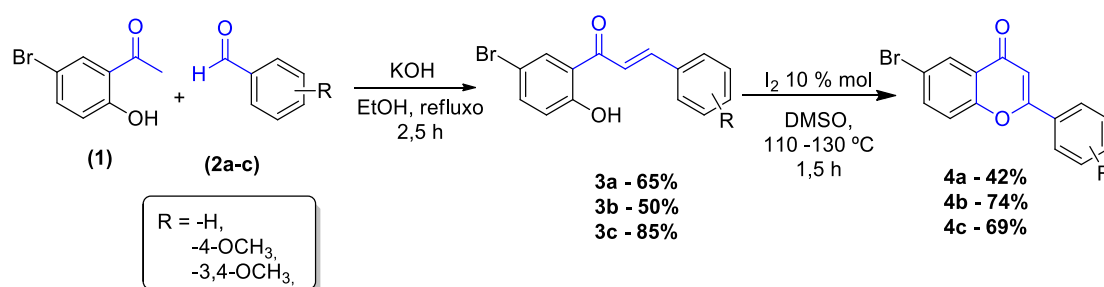
Outro ponto importante é a presença do N-H nas moléculas visando obter aminoflavonas que possam apresentar interações de hidrogênio e a presença do anel aromático D objetivando conservar as interações de empilhamento- $\pi$  com o resíduo Trp86 na região CAS.

Da mesma maneira, a inserção de -2-F e -4-CF<sub>3</sub> nas estruturas, visto que, Omran e colaboradores (2005), publicaram que após realização de testes *in vitro* foi possível observar que a substituição da posição *orto* do anel benzílico por um átomo de flúor aumentou a atividade inibitória, possivelmente causada pela modificação da orientação do anel benzílico de modo que sua interação com o Trp86 é amplificada, sendo um aspecto relevante a ser experimentado.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

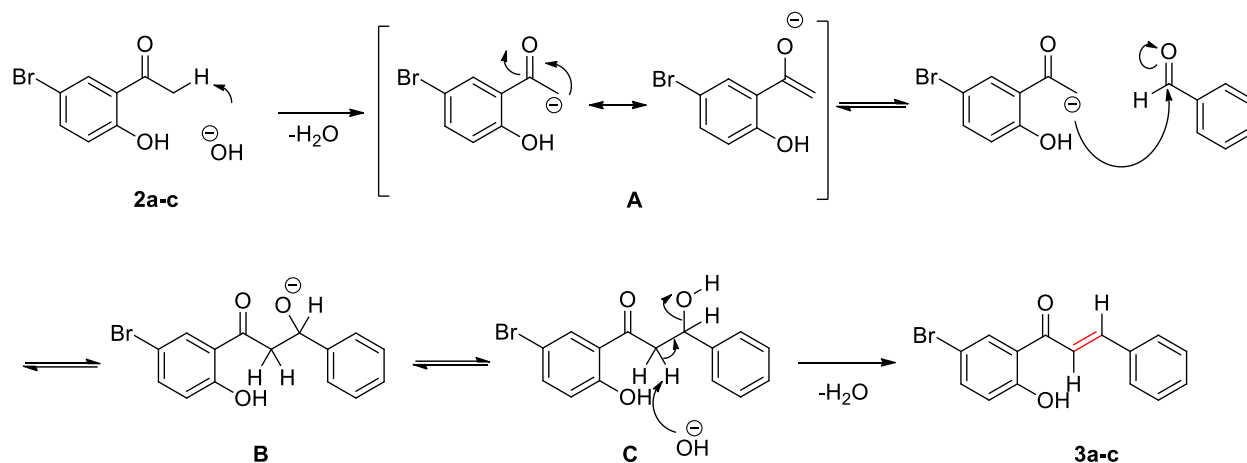
### 6.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO NÚCLEO FLAVONA

Os experimentos iniciaram tendo por base a coleta de informações presentes na literatura sobre rotas de obtenção de flavonas. Algumas rotas sintéticas foram testadas para alcançar a melhor condição. A rota que respondeu às necessidades de formação dos compostos foi a condensação de Claisen-Schmidt. Conforme condições descritas no Esquema 4, realiza-se a condensação de uma molécula de benzaldeído com uma molécula de cetona utilizando solvente polar como etanol e uma base, obtendo o composto  $\alpha,\beta$ -insaturado. Desta forma é possível a obtenção da chalcona que posteriormente sofre ciclização oxidativa com uso de  $I_2$  (LOKHANDE *et al*, 2005, MAZIMBA, *et al*, 2011; YIN, *et al*, 2012; SINGH, KAUR & SILAKARI, 2014).



Esquema 4. Rota para formação do núcleo chalcônico e formação do núcleo cromenona.

A reação de formação das chalconas **3a-c** se inicia com a condensação aldólica, seguida por desidratação. Observa-se no mecanismo detalhado no Esquema 5 que a primeira etapa da reação é a desprotonação da cetona, a base remove o hidrogênio ácido  $\alpha$  para formar um carbânion, que é estabilizado por ressonância (**A**). Por meio de ataque nucleofílico, o carbânion liga-se à carbonila do aldeído, formando o intermediário tetraédrico (**B**). Esse íon alcóxido, abstrai o hidrogênio do meio (**C**), regenera a base e gera o produto da condensação. A formação da enona conjugada ocorre por desidratação, visto que, em condições básicas, um hidrogênio ácido é abstraído da posição  $\alpha$  para resultar em um íon enolato, que por equilíbrio elimina o grupo  $^-OH$ , formando a chalcona. Vale destacar que na etapa de desidratação o isômero *E* tem sua formação preferencial (CAREY & SUNDBERG, 2000).



Esquema 5. Mecanismo proposto para obtenção de chalconas.  
Fonte: adaptado de VOGEL, 1989.

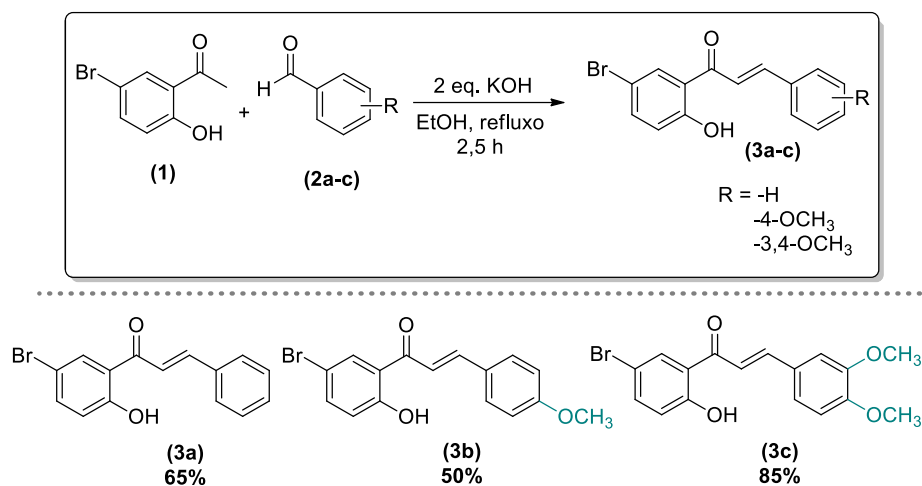
Com essa metodologia foram obtidas as chalconas planejadas e conforme Tabela 1, os rendimentos foram aprimorados com alterações das condições reacionais. Primeiramente, realizou-se reação tal qual descrita na literatura, obtendo-se rendimento baixos. Para verificar a melhor metodologia, o 3,4-dimetoxibenzaldeído foi utilizado como padrão, as reações foram acompanhadas por TLC e variações de condições no tempo reacional e porcentagem de base foram testadas.

Tabela 1. Otimização das condições para obtenção da chalcona 3c.

Entrada	Equiv. KOH	Rendimento (%)	
		2,5 h	6 h
1	0,1 <sup>a</sup>	13	13
2	0,4 <sup>a</sup>	13	5
3	0,1	35	n.a.
4	0,4	56	n.a.
5	1,5	79	68
<b>6</b>	<b>2,0</b>	<b>85</b>	<b>87</b>

n.a. – não avaliado. <sup>a</sup> – solução aquosa. Condições reacional: 5'-Bromo-2'-hidroxiacetofenona (1 mmol), 3,4-dimetoxibenzaldeído (1,1 mmol), etanol absoluto (5 mL).

Observa-se ainda na Tabela 1 que a utilização de 2 equivalentes de KOH gerou bom resultado e que os rendimentos não foram beneficiados com aumento do tempo reacional, portanto algumas entradas não foram analisadas com duração de 6 horas. A melhor condição obtida é apresentada na Tabela 1 - Entrada 6, com tempo reacional de 2,5 horas, tempo que vem de acordo ao documentado por Mazimba e colaboradores (2011). Após definição da melhor condição, a metodologia foi estendida para os outros produtos da série. Segue no Esquema 6 os rendimentos obtidos para as chalconas.



Esquema 6. Rendimentos obtidos para as chalconas.

Condições reacional: 5'-Bromo-2'-hidroxiacetofenona (1 mmol), aldeído (1,1 mmol), KOH (2 equiv.), etanol (5 mL).

Com a adição de dois equivalentes de base houve melhoras significativas nos rendimentos; porquanto será desprotonado primeiramente o hidrogênio mais ácido do meio, que é o da hidroxila fenólica, seguido da desprotonação do hidrogênio  $\alpha$  menos ácido. Portanto, para favorecer maiores rendimentos, faz-se necessário a utilização de excesso de base (COSTA, 2005).

Os compostos obtidos foram submetidos à análise de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  os quais confirmaram a formação dos produtos (Figuras 21 e 22).

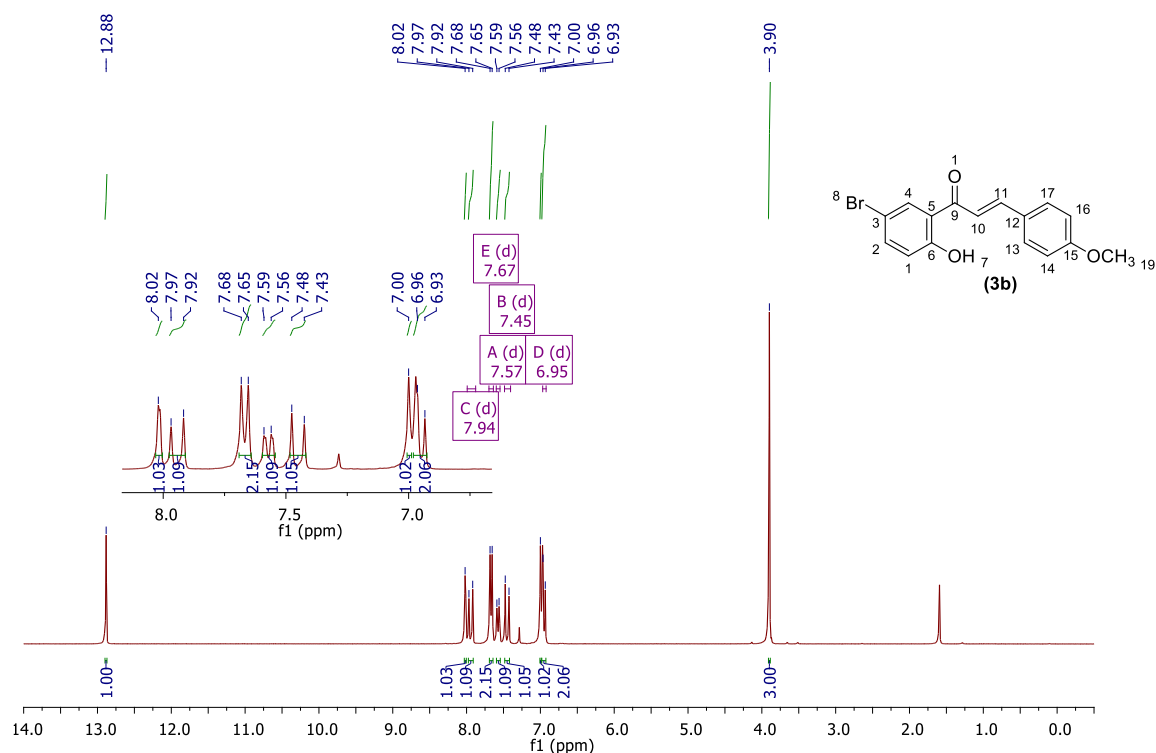


Figura 21. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3b.

Como relatado na literatura, os hidrogênios vinílicos tiveram deslocamentos de  $\delta_H$  7,94 e 7,45 ppm para os H<sub>10</sub> e H<sub>11</sub> respectivamente e as constantes de acoplamento dos hidrogênios vicinais da dupla ligação foram de 15 Hz, corroborando a formação da chalcona e sua configuração *E* (LAMBERT & MAZZOLA, 2004; SPILOVSKA *et al.*, 2017). Observa-se que o hidrogênio da hidroxila fenólica por estar mais desblindado teve deslocamento em  $\delta_H$  12,88 ppm (Figura 21).

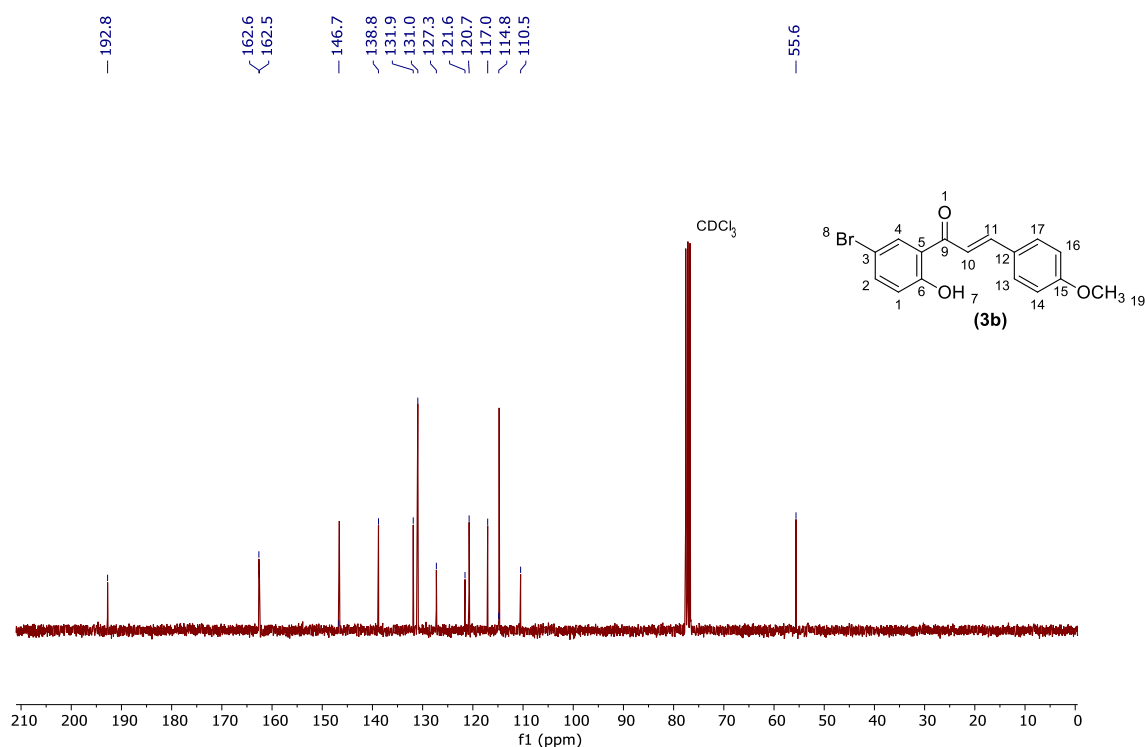
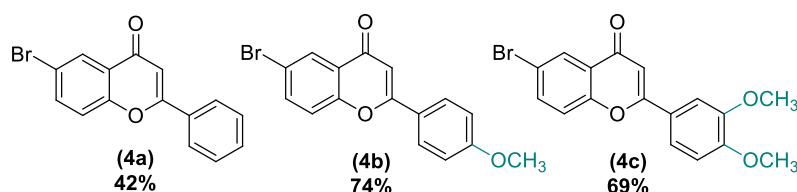
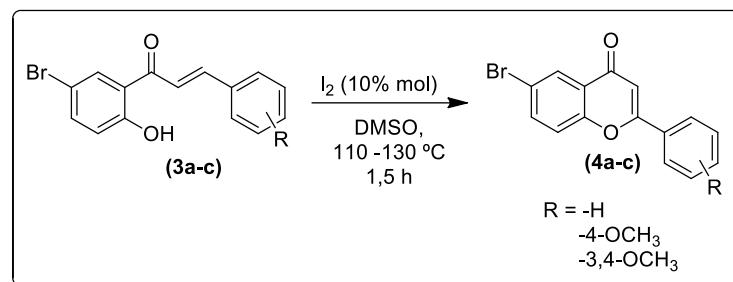


Figura 22. Espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 3b.

No espectro de RMN <sup>13</sup>C (Figura 22), comprova-se a formação do produto pela presença da carbonila de cetona com deslocamento característico em  $\delta_C$  em 192,8 ppm, assim como pela presença dos carbonos da dupla ligação (C<sub>10</sub> e C<sub>11</sub>) com deslocamento em  $\delta_C$  146,7 e 121,6 ppm, respectivamente. A porção metoxila (C<sub>19</sub>) também foi observada na região de  $\delta_C$  55,6 ppm, assim como descrito na literatura (PAVIA *et al.*, 2015).

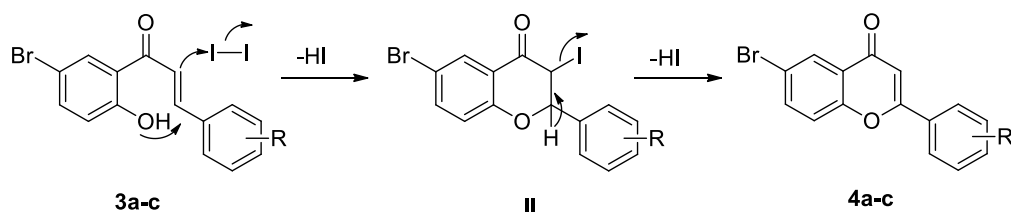
Realizou-se a ciclização das chalconas conforme descrito na literatura, utilizando-se 10 % mol de I<sub>2</sub> e DMSO e os compostos foram obtidos com bons rendimentos conforme observado no Esquema 7 (LOKHANDE *et al.*, 2005).





Esquema 7. Rendimentos obtidos para a formação das flavonas.  
 Condições reacional: chalcona (1 mmol), I<sub>2</sub> (10 %mol), DMSO (3 mL).

O mecanismo proposto para a reação de ciclização da chalcona (Esquema 8) segue pela adição intramolecular de oxo-Michael, gerando um enolato que é capturado pelo I<sub>2</sub>, dando o intermediário II. Uma reação de eliminação se prossegue gerando as flavonas 4a-c desejadas (MASESANE, 2015).



Esquema 8. Mecanismo proposto da reação de formação de cromenona.  
 Fonte: MASESANE, 2015.

Os compostos foram isolados por meio de coluna cromatográfica e suas estruturas confirmadas por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (Figuras 23 e 24). A ciclização da chalcona é corroborada pela ausência dos sinais característicos dos materiais de partida. As constantes de acoplamento dos H<sub>10</sub> e H<sub>11</sub> da dupla ligação em 15 Hz, não estão mais presentes. Pelo fechamento do anel, o H<sub>10</sub> passa a ser um carbono quaternário (sem presença de hidrogênio) não gerando sinal no espectro e o H<sub>11</sub> passa a apresentar um simpleto referente a 1H com deslocamento em δ<sub>H</sub> 6,64 ppm. O deslocamento de δ<sub>H</sub> 12,88 ppm referente à hidroxila fenólica também não é observada (Figura 23).

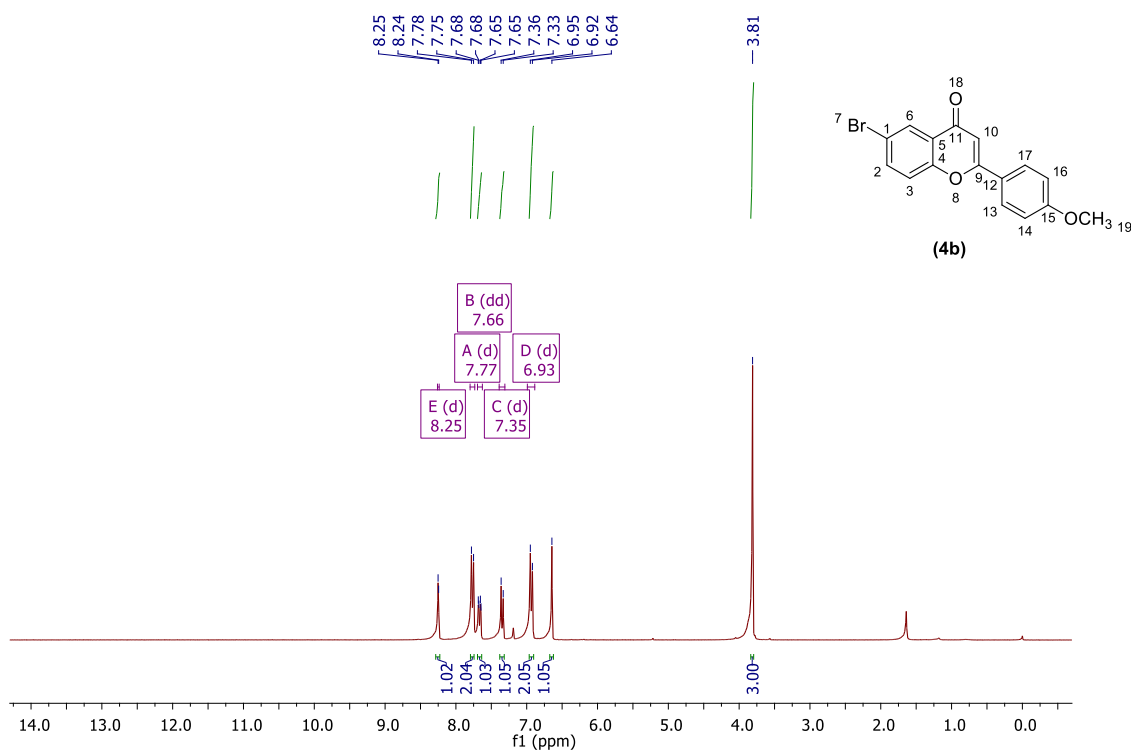


Figura 23. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 4b.

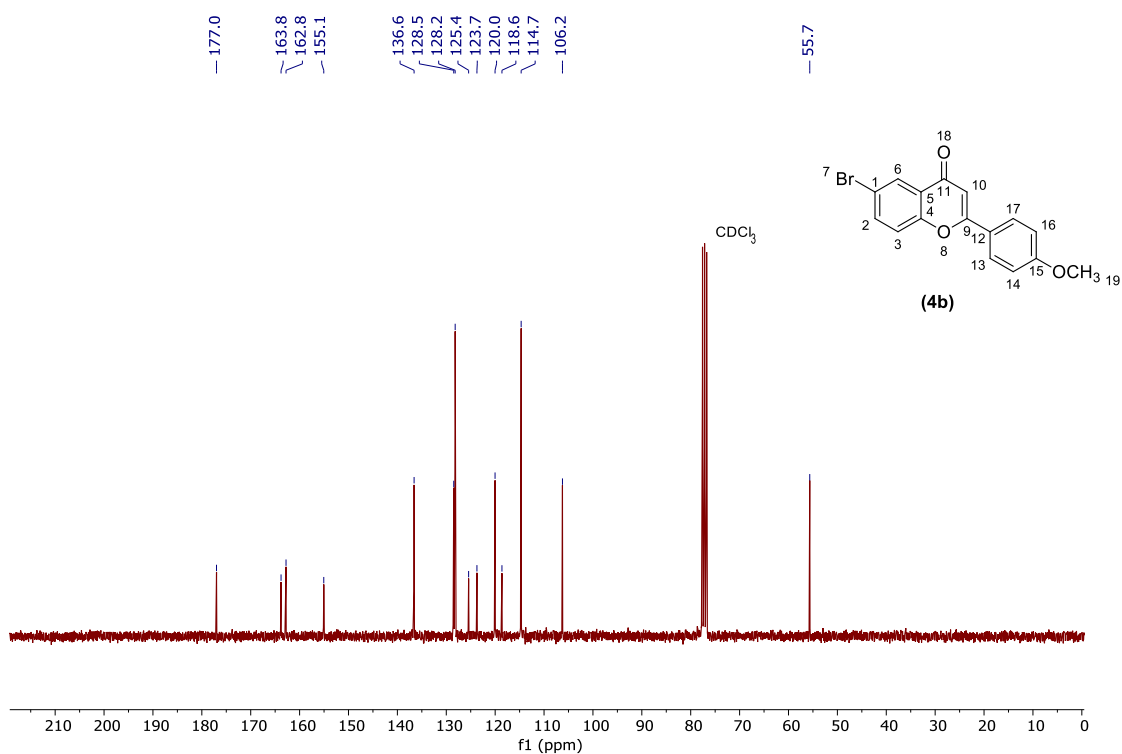


Figura 24. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 4b.

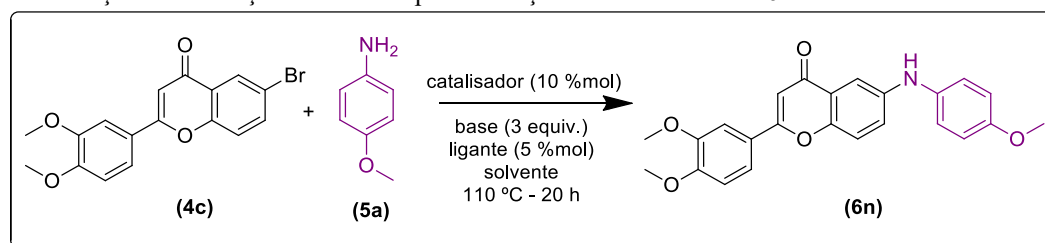
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 24), novamente comprova-se a formação do produto pela alteração do deslocamento da carbonila que se encontra pouco mais blindada. Seu deslocamento passa de  $\delta_{\text{C}}$  192,6 ppm na chalcona para  $\delta_{\text{C}}$  177,0 ppm na flavona. Os carbonos da dupla ligação,

C<sub>9</sub> e C<sub>10</sub>, alteram seus deslocamentos de  $\delta_C$  146,7 e 121,6 ppm para  $\delta_C$  155,1 e 106,2 ppm respectivamente. Assim como esperado, a porção metoxila (C<sub>19</sub>) foi observada na região de  $\delta_C$  55,7 ppm, mesma região de seu material de partida.

## 6.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS AMINOFLAVONAS

Para a obtenção dos compostos aminoflavonas utilizou-se dois diferentes métodos de acoplamento descritos na literatura: acoplamento de Ullmann conforme publicado por Ribas & Guell (2014) e aminação de Buchwald-Hartwig catalisado por paládio (RUIZ-CASTILLO & BUCHWALD, 2016).

Tabela 2. Otimização das condições reacionais para obtenção da aminoflavonas 6n.



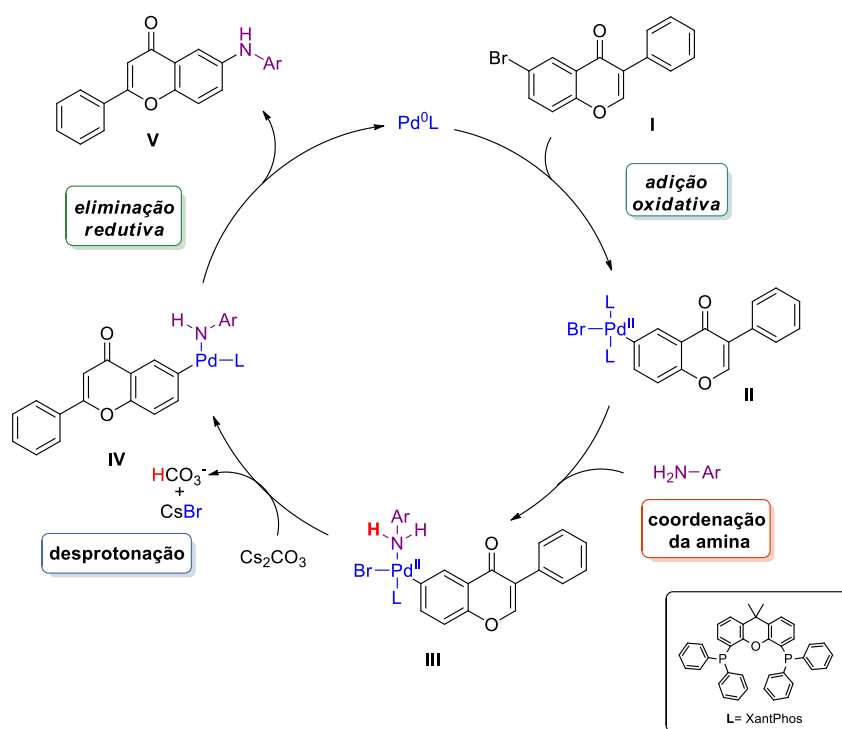
Entrada <sup>a</sup>	Catalisador	Ligante	Base	Solvente	Rendim. %
1	CuI	-	CsF	tolueno	0
2	CuI	-	CsF	DMSO	0
3	CuI	-	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	tolueno	0
4	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	CsF	tolueno	0
5	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	DavePhos	CsF	tolueno	0
6	<b>Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub></b>	<b>XantPhos</b>	<b>Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	<b>tolueno</b>	<b>77</b>
7	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	DavePhos	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	tolueno	75
8	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	NaOtBu	tolueno	traços
9	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	tolueno	32
10	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	THF	35
11	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	NaOtBu	THF	traços
12	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub>	XantPhos	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	THF	traços
13	PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	XantPhos	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	tolueno	20
14	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	-	NaOtBu	tolueno	traços
15	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	-	NaOtBu	THF	traços

<sup>a</sup> Condições reacional: catalisador (10 mol %), ligante (5 %mol), *p*-anisidina (1,1 equiv.), base (3 equiv.), solvente (5 mL).

Para iniciar o estudo da melhor condição reacional utilizou-se de catalisadores de cobre. Conforme verifica-se na Tabela 2, para essas condições (Entradas 1-3) não ocorreu a formação dos produtos desejados, porém quando da utilização de catalisadores de paládio, a reação de aminação forneceu melhores resultados.

Nessa padronização, estudou-se a ação de bases orgânicas e inorgânicas, onde os resultados obtidos com a utilização do  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  foram as mais interessantes. Ademais, examinou-se a combinação de complexos de paládio, iniciando-se pelo catalisador  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , com ligantes mono e bidentados, em que os melhores resultados foram obtidos com o ligante bidentado XantPhos. Este produto é rico em elétrons e não apresenta impedimento estérico (HADEI *et al.*, 2005), o que pode justificar o melhor desempenho obtido, visto que Hamann e Hartwig (1998) informam que essa espécie, aumenta a energia do intermediário facilitando a etapa de eliminação redutiva do ciclo catalítico. Completando a triagem, verificou-se que o solvente tolueno, de caráter apolar, forneceu o melhor rendimento quando comparado com os solventes polares, THF e DMSO; consta na literatura que solventes apolares solvatam os compostos sem interromper as transformações químicas envolvidas no ciclo catalítico. Entretanto, solventes polares possuem a capacidade de afetar a formação de intermediários organometálicos em decorrência da coordenação ao centro metálico do complexo (BURHARDT, *et al.* 2014). Em suma, esses ensaios possibilitaram a escolha da Entrada 6 da Tabela 2 como a condição ideal.

Para melhor entender o mecanismo de formação das aminoflavonas, segue Esquema 9.



Esquema 9. Mecanismo proposto para formação das aminoflavonas.

Os primeiros estudos de Hartwig estabeleceram que o mecanismo descrito no Esquema 9, inicia-se com a inserção oxidativa de Pd(0) (**I**) no substrato de haleto de arila proporcionando uma espécie do tipo **II**. A coordenação da amina aumenta significativamente a acidez, permitindo sua desprotonação por uma base, formando complexo amida de paládio (**IV**), que sofre eliminação redutiva (**V**) para dar o produto amina arilada e regenerar o catalisador de Pd(0) (**I**) (LOUIE & HARTWIG, 1995, FORERO-CORTEÉS & HAYDL, 2019).

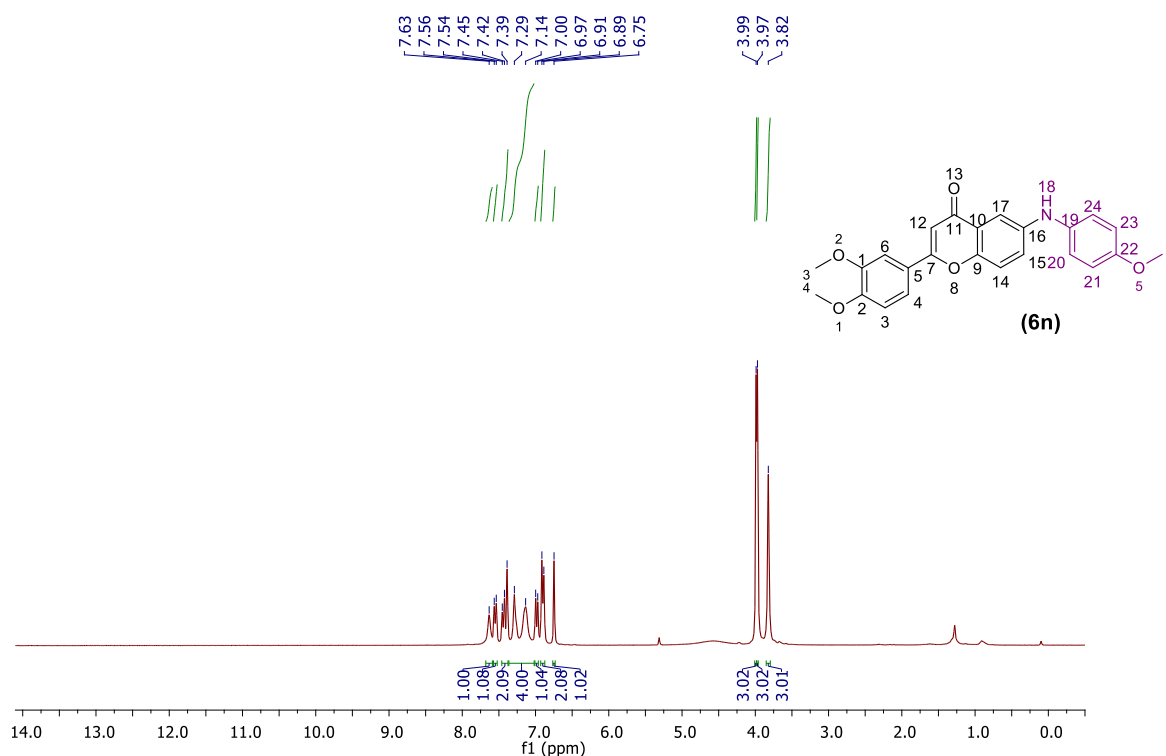


Figura 25. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 6n.

Conforme observa-se na Figura 25, a formação do composto foi comprovada por espectro de RMN  $^1\text{H}$ . É possível notar dois simpletos com deslocamento de  $\delta_{\text{H}}$  3,98 ppm referentes a 6H da porção metila ligada ao anel flavona, um simpleto com deslocamento de  $\delta_{\text{H}}$  3,82 ppm referente a 3H presente porção metoxila ligada ao anel da anilina, um simpleto em 7,63 ppm referente a 1H ligado ao nitrogênio localizado na porção do acoplamento e um simpleto em 6,75 ppm referente a 1H presente no carbono adjacente à carbonila.

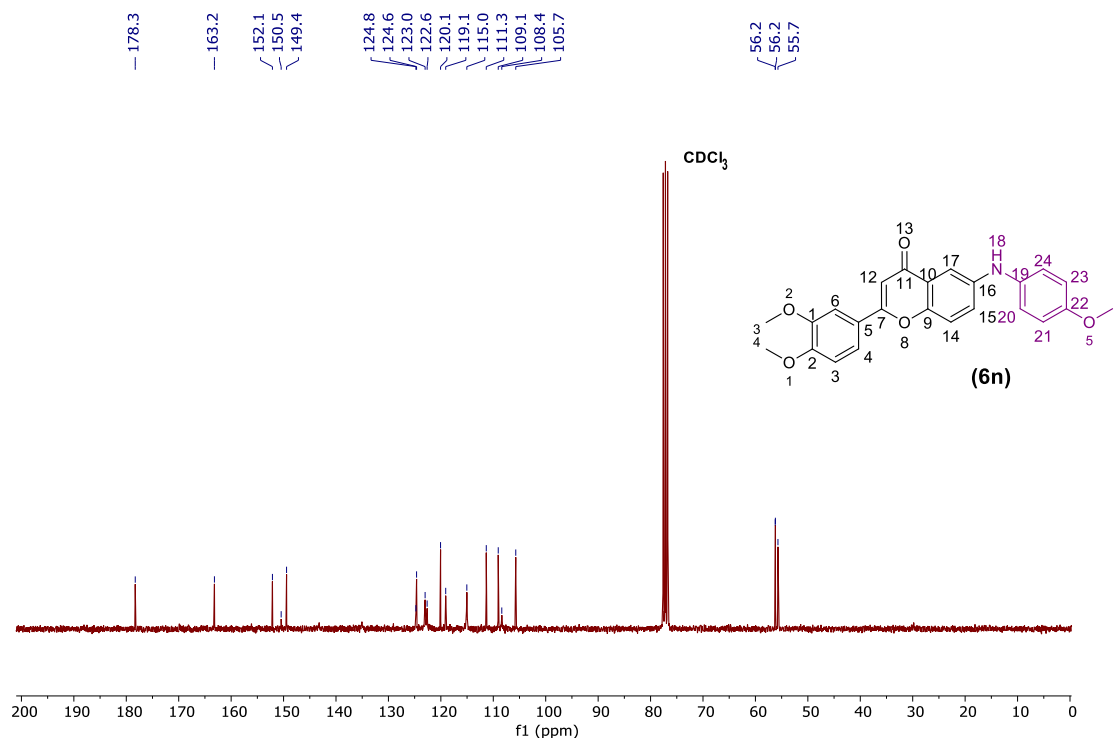
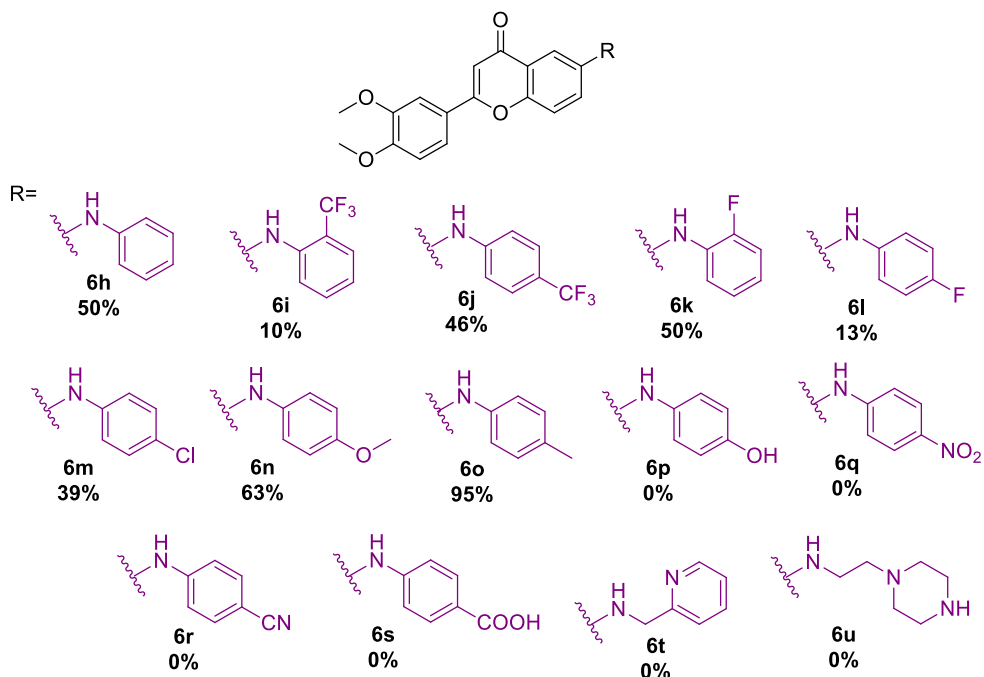
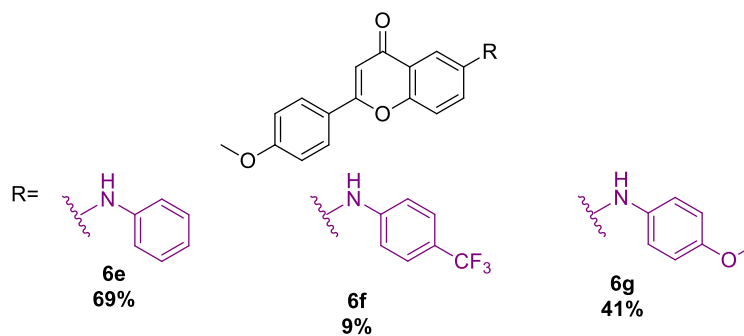
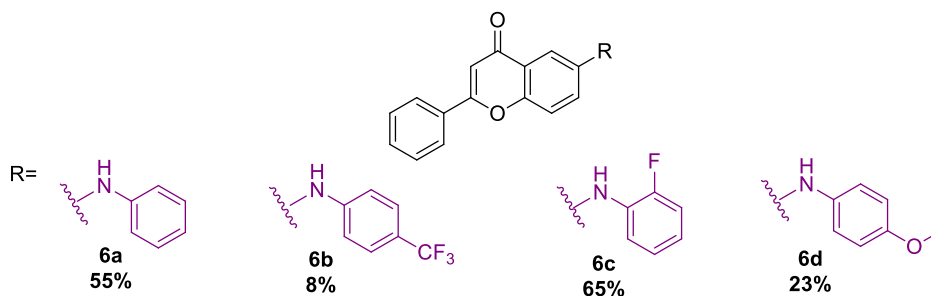
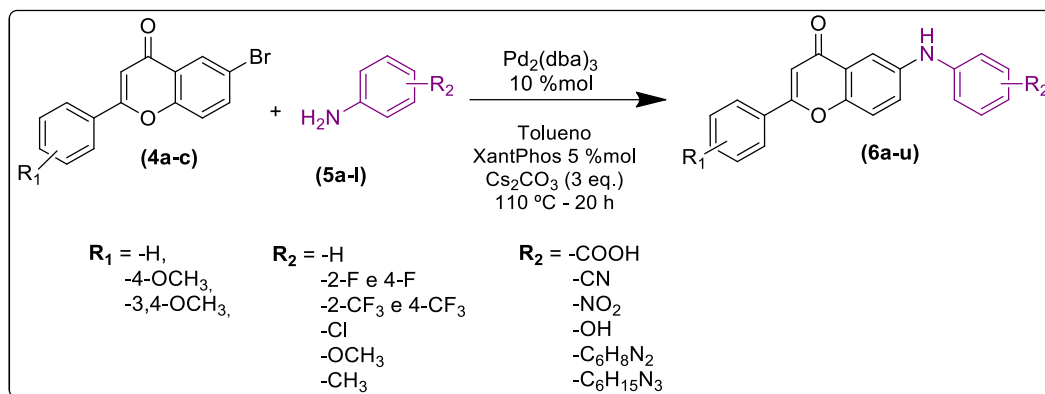


Figura 26. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 6n.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , presente na Figura 26, mais uma vez corrobora a formação da molécula. Com deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  56,2 ppm encontram-se dois sinais para 2C do carbono metílico presente na porção flavona, deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  55,7 ppm, referente ao carbono metílico mais blindado presente na porção Ar-NH, deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  105,7 ppm característico para carbono vicinal à carbonila, deslocamento de  $\delta_{\text{C}}$  178,3 ppm característico para carbono de carbonilas e dois deslocamentos em  $\delta_{\text{C}}$  149,3–152 ppm para os carbonos presentes no acoplamento da flavona com a *p*-anisidina.

A metodologia otimizada foi estendida para as sínteses das demais aminoflavonas, que foram obtidas com rendimentos entre pouco apreciáveis e excelentes (Esquema 10).



Esquema 10. Estruturas e rendimento dos compostos aminoflavonas obtidos. Os compostos 6p, 6q, 6r, 6s, 6t e 6u, embora planejados, não foi possível sua obtenção.

Foram obtidos 15 compostos aminoflavonas, utilizando os intermediários **4a-c**. Os compostos foram funcionalizados com substituintes doadores, retiradores de elétrons e heteroaromáticos. Nota-se que os rendimentos foram razoáveis para os substituintes fenila (**6a**, **6e** e **6h**) com valores entre 50-69 %. Os resultados foram baixos para os retiradores de elétrons, como exemplo a molécula (**6b**) que foi obtida com rendimento de 8 %, assim como reações com os substituintes -COOH, -NO<sub>2</sub>, -CN e os heteroaromáticos 2-picolilamina e 1-(2-aminoetil) piperazina não ocorreram, sobrando materiais de partida e formação de subprodutos.

Os melhores rendimentos foram obtidos para os compostos com substituintes doadores de elétrons (**6d**, **6g**, **6n** e **6o**), dentre esses o (**6o**) apresentou 95 % de rendimento. Outro fato observado é que os substituintes doadores de elétrons viabilizaram a menor formação de subprodutos, o que facilitou a purificação.

A obtenção de todos os produtos sintetizados foi novamente corroborada por espectrometria de massa, presentes para consulta nos anexos. A avaliação de pureza foi conduzida por HPLC, onde apresentaram alto percentual de pureza (Tabela 3), confirmando os dados observados pela faixa de fusão que em nenhuma das moléculas ultrapassou 1 °C de variação; desta maneira as moléculas são aptas para prosseguir com as avaliações *in vitro*.

Tabela 3. Valores de percentual de pureza e faixa de fusão encontrados para os compostos aminoflavonas sintetizados.

Composto	pureza HPLC (%)	Faixa de fusão (°C)
<b>6a</b>	99,11	193,1 – 193,9
<b>6b</b>	98,15	241,3 – 241,7
<b>6c</b>	99,16	193,6 – 193,9
<b>6d</b>	99,71	166,9 – 167,4
<b>6e</b>	96,77	176,7 – 177,1
<b>6f</b>	95,39	200,3 – 201,0
<b>6g</b>	99,57	196,4 – 196,8
<b>6h</b>	99,08	197,2 – 197,5
<b>6i</b>	98,78	214,8 – 215,2
<b>6j</b>	99,08	221,4 – 221,9
<b>6k</b>	98,93	172,9 – 173,5
<b>6l</b>	98,13	190,7 – 191,6
<b>6m</b>	99,73	201,3 – 201,8
<b>6n</b>	98,23	204,6 - 205
<b>6o</b>	98,43	187,1 – 187,4



### 6.3 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *IN VITRO*

A avaliação da atividade de inibição enzimática de AChE e BuChE e a determinação da concentração inibitória média (IC<sub>50</sub>) foram realizadas em colaboração com a Universidade Estadual de Maringá, orientados pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisele de Freitas Gauze - Grupo ECO-DM e pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Helena Sarragiotto - Laboratório GSPN, com realização do doutorando Andrew Matheus Frederico Rozada e da mestrandia Juliane Barros de Oliveira, ambos do grupo ECO-DM.

Os ensaio de avaliação de citotoxicidade por MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2*H*-tetrazólio) e o estudo de modelagem molecular ocorreram em colaboração com o Centro de Química Medicinal (CQMED/UNICAMP), supervisionados pelos pesquisadores Dr<sup>a</sup>. Katlin B. Massirer e Dr. Rafael Couñago, e realizados pela pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Gabriela Alves e pelo pesquisador Dr. Micael R. Cunha, respectivamente.

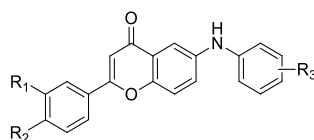
#### 6.3.1 AChE e BuChE - Concentração inibitória 50% (IC<sub>50</sub>)

Para avaliar a atividade anticolinesterásica dos compostos obtidos, foram realizados ensaios enzimáticos utilizando o método de espectrofotométrico de Ellman modificado (Ellman, *et al.*, 1961). Os compostos foram inicialmente testados na concentração de 100 µM, para AChE e BuChE. Esse parâmetro foi utilizado em razão de quiçá os resultados não fossem satisfatórios em altas concentração do mesmo modo não apresentariam bons resultados em concentrações menores. Para os compostos que apresentaram porcentagem de inibição maiores que 50% foram realizados ensaios para determinar os valores de IC<sub>50</sub>. Além disso, foram determinados os valores de IC<sub>50</sub> da donepezila, composto de referência, para fins de comparação (Tabela 4).

A Tabela 4 está organizada para melhor visualização dos análogos, portanto, o primeiro critério aplicado foram os substituintes presentes na porção R<sub>3</sub> do anel benzênico, seguido pelas metoxilas presentes ou não na porção R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> da estrutura.

Os compostos apresentaram-se pouco solúveis e muitos precipitaram durante a incubação, o que prejudicou a realização das análises e a obtenção de resultados. Não é possível afirmar se as moléculas que não apresentaram atividade, de fato não a possuem, ou deu-se em virtude dos problemas encontrados. Porém, com as informações descritas na Tabela 4, é possível fazer determinadas considerações sobre a relação estrutura-atividade dessa classe de compostos.

Tabela 4. Valores de inibição medidos para AChE e BuChE referente aos compostos aminoflavonas sintetizados.



Entrada	Composto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	AChE		BuChE	
					% inibição (100 μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	% inibição (100 μM)	IC <sub>50</sub> (μM)
1	6b	H	H	4-CF <sub>3</sub>	63,40 ±1,81	45,41±2,16	35,03 ±6,70	>100
2	6f	H	OCH <sub>3</sub>	4-CF <sub>3</sub>	60,73 ±4,34	27,68 ±3,66	-	>100
3	6j	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4-CF <sub>3</sub>	22,27 ±6,29	>100	-	>100
4	6a	H	H	H	-	>100	-	>100
5	6e	H	OCH <sub>3</sub>	H	-	>100	-	>100
6	6h	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	-	>100	-	>100
7	6d	H	H	4-OCH <sub>3</sub>	9,72 ±0,92	>100	-	>100
8	6g	H	OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	12,57 ±3,40	>100	-	>100
9	6n	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	-	>100	17,86 ±2,26	>100
10	6k	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	2-F	11,65 ±10,01	>100	-	>100
11	6c	H	H	2-F	12,81 ±2,16	>100	39,81 ±3,52	>100
12	6l	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4-F	-	>100	-	>100
13	6i	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	2-CF <sub>3</sub>	-	>100	-	>100
14	6o	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4-CH <sub>3</sub>	-	>100	-	>100
15	6m	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4-Cl	40,73 ±5,75	>100	-	>100
16	donepezila					0,01 ±0,003		3,54 ± 0,54

- valores não encontrados

Os compostos com resultados mais promissores são o **6b** e o **6f** (Entrada 1 e 2) com inibição para AChE de 63,40% e 60,73% respectivamente, na concentração de 100 μM. Os dois produtos seguiram para avaliação de concentração inibitória onde o **6b** apresentou IC<sub>50</sub> de 45 μM, e o produto **6f** IC<sub>50</sub> de 27,7 μM. Porém, os valores medidos para as moléculas sintetizadas são inferiores aos valores da donepezila (IC<sub>50</sub> 0,01 μM) utilizada como referência, indicando que modificações moleculares devem ser realizadas no objetivo de obter compostos mais ativos.

Motivados por explorar a influência da inserção de flúor na atividade das moléculas planejadas, sintetizou-se compostos com os substituintes fluorados em R<sub>3</sub>. Nota-se na Tabela 4, que para AChE, essas modificações em geral foram positivas. Observa-se que os substituintes com apenas um átomo de flúor exibem resultados inferiores quando comparado ao -4-CF<sub>3</sub> (Entradas 1-3 e 10-11), portanto a inserção de -4-CF<sub>3</sub> foi benéfica para esses compostos. É descrito na literatura que a inserção de flúor é uma estratégia interessante para obtenção de iAChE, pois é esperado que essa modificação prolongue o tempo de interação com o alvo reduzindo os efeitos colaterais e obtendo melhores valores de atividade em AChE (ZHOU *et al.*, 2016).

Observa-se nas Entradas 1-3, que ao manter-se o substituinte -4-CF<sub>3</sub> na posição R<sub>3</sub>, a potência inibitória para AChE diminui conforme a inserção dos grupos metoxilas no anel aromático presente na porção flavona. Esse efeito é verificado nos composto **6b**, **6f** e **6j** com

valores de inibição a 100  $\mu\text{M}$  de 63%, 60% e 22%, respectivamente. Em função do arranjo estrutural do fármaco donepezila, esperou-se que a presença de dimetoxi fosse benéfica para a atividade inibitória. Porém Zhou e colaboradores (2021) relataram que a retirada de um grupo metoxi principalmente da posição R<sub>1</sub>, melhora a atividade anticolinesterásica, o que vem ao encontro dos resultados encontrados.

O produto **6c** (Entrada 11) apresentou seletividade para inibição de BuChE. Esse dado corrobora as informações descritas por Lan e colaboradores em publicação de 2017, na qual relatam que sintetizaram análogos de donepezila onde o produto com a substituição flúor (-F) no anel benzênico apresentou seletividade para BuChE em relação a AChE. Os autores também conseguiram observar que compostos com flúor são mais potentes do que os substituintes -H, -CH<sub>3</sub> e -Br; destacaram ainda que estes grupos parecem ser prejudiciais para a atividade inibitória.

Na Entrada 15 estão os resultados da molécula **6m**, exemplar com a presença de cloro em sua estrutura. Esse produto apresentou comportamento similar tanto para AChE (40,7%) quanto para BuChE (42,7%), não sendo seletivo para nenhuma das enzimas.

Por fim, doadores de elétrons não resultaram em bons resultados de inibição enquanto os retiradores foram os mais ativos.

### 6.3.2 Avaliação de citotoxicidade por MTT

Ensaio por MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina) é um teste colorimétrico capaz de medir citotoxicidade, proliferação e ativação celular (MOSMANN, 1983). Este teste é frequentemente utilizado como triagem de primeiro nível, para selecionar entre análogos ou formulações, sendo especialmente necessário para avaliar o efeito neuroprotetor nas células, o que o torna uma ferramenta útil de seleção de potenciais fármacos para o tratamento da DA (NORDBERG, *et al.*, 2015).

Para avaliar a ação citotóxica dos compostos, foram utilizadas quatro linhagens celulares diferentes, sendo três tumorigênicas (A172, MDA-MB-231 e PC3) e uma não-tumorigênica imortalizada (HEK293T). Para identificar os compostos que apresentam citotoxicidade quando administrados em altas concentrações, realizou-se a triagem na concentração de 100  $\mu\text{M}$ . Compostos que apresentassem alta viabilidade celular nestes valores seriam considerados não-tóxicos. Os valores obtidos estão presentes na Tabela 5.

Tabela 5. Efeito na viabilidade celular dos compostos a 100  $\mu$ M.

Compostos	% viabilidade celular - 100 $\mu$ M**			
	A172	MDA-MB-231	PC3	HEK293T
veículo*	100 $\pm$ 7,8	100 $\pm$ 2,9	100 $\pm$ 12,1	100 $\pm$ 6,5
6a	74,4 $\pm$ 5,4	92,1 $\pm$ 6,6	74,2 $\pm$ 4,4	43,7 $\pm$ 3,4
<b>6b</b>	<b>93,9 <math>\pm</math> 6,2</b>	<b>96,9 <math>\pm</math> 4,2</b>	<b>84,3 <math>\pm</math> 2,6</b>	<b>96,3 <math>\pm</math> 5,8</b>
6c	85,1 $\pm$ 6,3	97,5 $\pm$ 9,0	41,9 $\pm$ 1,7	35,2 $\pm$ 1,3
6d	100,7 $\pm$ 6,0	95,9 $\pm$ 4,1	74,4 $\pm$ 4,7	41,1 $\pm$ 0,5
6e	109 $\pm$ 9,4	95,7 $\pm$ 9,6	83,2 $\pm$ 4,4	59 $\pm$ 2,8
<b>6f</b>	<b>99,3 <math>\pm</math> 2,5</b>	<b>99,2 <math>\pm</math> 3,1</b>	<b>86,4 <math>\pm</math> 6,0</b>	<b>61,7 <math>\pm</math> 2,6</b>
6g	97,5 $\pm$ 4,0	107,8 $\pm$ 7,0	84,1 $\pm$ 8,3	70 $\pm$ 1,9
6h	74,1 $\pm$ 4,3	84,7 $\pm$ 11,8	48 $\pm$ 2,8	38,9 $\pm$ 3,3
6i	87,3 $\pm$ 2,3	93,6 $\pm$ 7,5	69,5 $\pm$ 2,0	53,6 $\pm$ 1,6
6j	47,7 $\pm$ 1,2	39,7 $\pm$ 1,2	23,6 $\pm$ 1,5	47 $\pm$ 1,4
6k	68,8 $\pm$ 1,7	84,7 $\pm$ 7,5	31,9 $\pm$ 1,2	37 $\pm$ 2,2
6l	122,2 $\pm$ 8,0	125,6 $\pm$ 5,4	109,5 $\pm$ 4,3	46,4 $\pm$ 3,4
6m	55,1 $\pm$ 4,9	42,4 $\pm$ 3,7	24,8 $\pm$ 1,0	51,2 $\pm$ 3,6
6n	84,4 $\pm$ 4,8	93,9 $\pm$ 3,8	90,3 $\pm$ 5,0	60,2 $\pm$ 4,2
6o	66,8 $\pm$ 2,2	79,5 $\pm$ 9,5	93,2 $\pm$ 10,0	42 $\pm$ 1,0

\*DMSO

\*\* metodologia de MTT

Para melhor visualização da atividade dos compostos, segue na Figura 27 os resultados obtidos em ordem crescente, do mais para o menos citotóxico para cada linhagem avaliada.

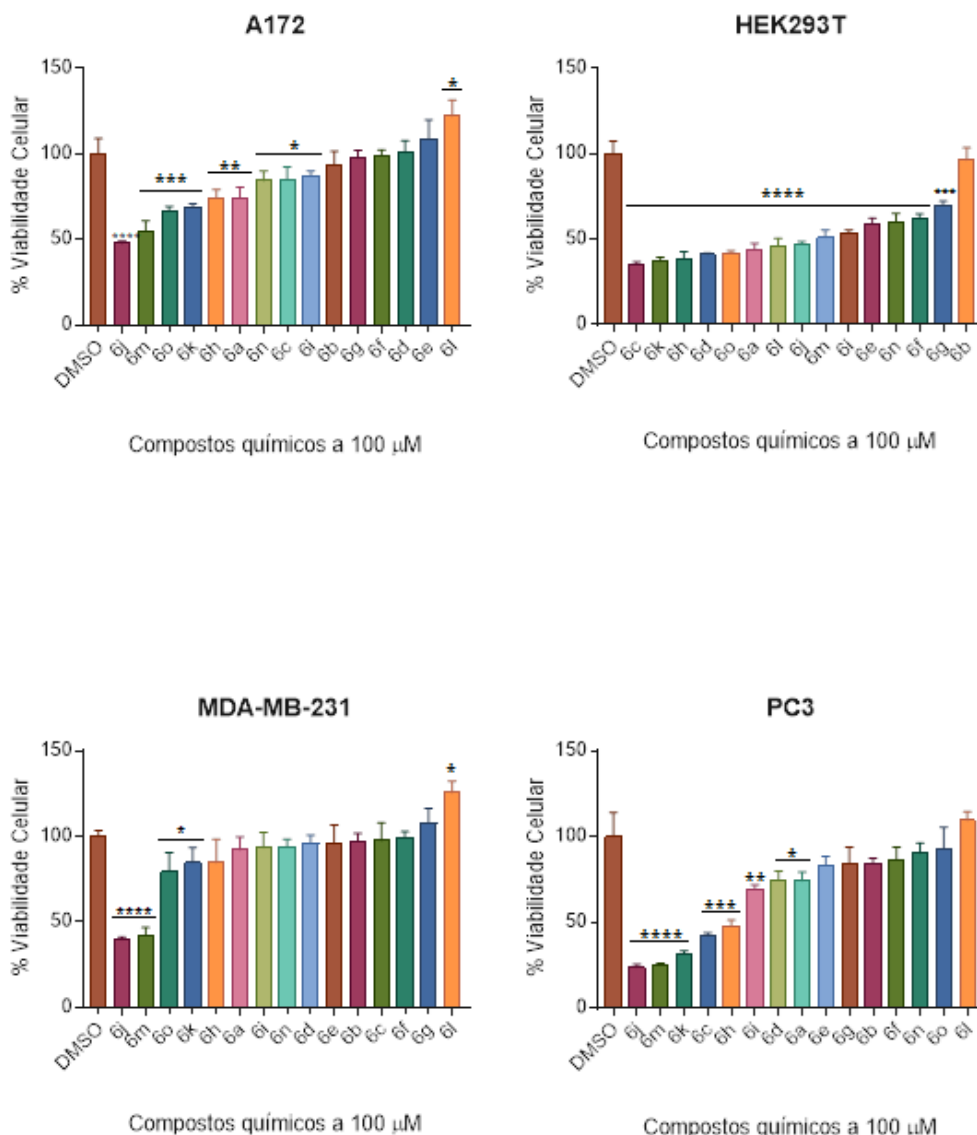


Figura 27. Efeito dos compostos na viabilidade celular a 100  $\mu\text{M}$  em ordem decrescente de citotoxicidade. Células tratadas com DMSO foram usadas como controle. Os resultados são expressos como células viáveis em relação ao controle (a 100%). Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão de experimentos realizados em triplicata. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  ou \*\*\*\* $p < 0,0001$  versus controle (DMSO) pelo teste t.

Para este conjunto de análise (Tabela 5 e Figura 27), na linhagem não tumorigênica - HEK293T (rim fetal humano), o composto **6b** apresentou a menor citotoxicidade da série, com 96,3% de viabilidade celular, resultado promissor, visto que um bom fármaco no tratamento de DA não deve afetar a integridade celular. Por outro lado, as moléculas **6c** e **6k**, são os compostos mais citotóxicos, com viabilidade de 35,2% e 37%, respectivamente; os produtos **6h**, **6d**, **6o**, **6a**, **6l** e **6j** também apresentaram alta citotoxicidade com menos de 50% de viabilidade celular. Observa-se que o composto com menor citotoxicidade possui substituinte -4- $\text{CF}_3$ , enquanto as duas moléculas com maior citotoxicidade apresentam substituinte -2-F. Esse resultado sugere que a inserção de flúor na posição *orto* pode levar a efeitos tóxicos. Apesar do produto **6b** ter baixa

citotoxicidade, não é possível afirmar que somente a presença de  $-4\text{-CF}_3$  na molécula seja responsável por essa característica, visto que o **6j**, com 47% de viabilidade celular, apresenta o mesmo substituinte, diferindo na estrutura quanto a presença ou não do grupo metoxi na porção flavona.

Os compostos também foram avaliados frente a três linhagens tumorigênicas - adenocarcinoma de próstata (PC3), de mama (MDA-MB-231) e glioblastoma (A172). O composto menos citotóxico em todas as linhagens tumorigênicas foi o composto **6l**, com medições similares ao veículo DMSO para todas as linhagens ensaiadas. Os produtos **6j** e **6m** são os mais promissores para atuarem como anticancerígenos, diminuindo a porcentagem de viabilidade celular em todas as linhagens experimentadas. A linhagem de adenocarcinoma (PC3), foi a mais suscetível aos dois compostos, com viabilidade celular de 23,6% para o **6j** e de 24,8% para o **6m**. Estruturalmente, os dois compostos com maior capacidade de ação anticancerígena possuem os substituintes  $-4\text{-CF}_3$  e  $-4\text{-Cl}$ . No entanto, o substituinte  $-4\text{-F}$  está presente na molécula que não apresentou citotoxicidade para as linhagens tumorigênicas testadas.

#### 6.4 MODELAGEM MOLECULAR

Para entender a possível forma de interagir com a AChE, o composto **6f**, um dos mais promissores obtidos, foi submetido aos estudos de modelagem molecular; e as imagens das poses de interação estão apresentadas na Figura 28.

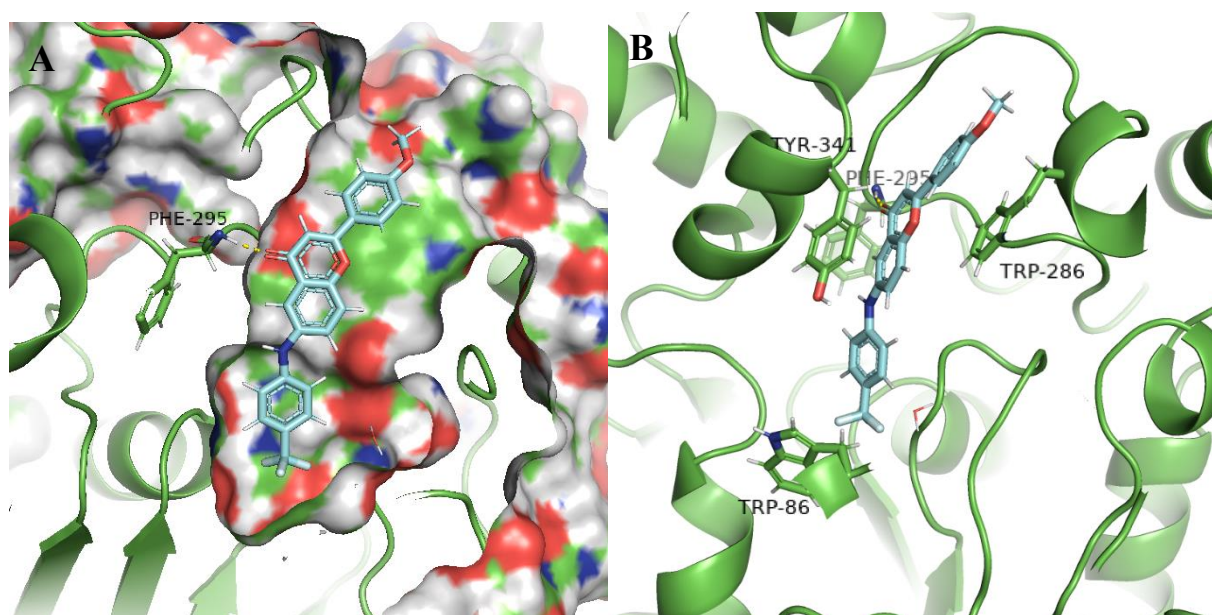


Figura 28. Figura das melhores poses obtidas das interações entre *hAChE* com o composto **6f** (código PDB 4M0F). Carbono em azul (para o ligante) e verde (para os resíduos), oxigênio em vermelho, nitrogênio em azul escuro. Tracejado amarelo representa ligação de hidrogênio.

Conforme apresentado na Figura 28, é possível sugerir que o composto apresenta majoritariamente interações hidrofóbicas com a Ache. As principais interações são: tipo Van der Waals entre o -4-CF<sub>3</sub> e o resíduo Trp86, do tipo  $\pi$ -stacking entre o *p*-metoxibenzeno e Trp286 e, por fim, entre o núcleo flavona e Tyr341. Por meio do oxigênio do grupo carbonila da flavona, observa-se uma ligação de hidrogênio com o *backbone* do resíduo Phe295, o que sugere que a atividade do composto ocorre pela preservação dessa interação, que ao se inserir na região catalítica da AChE, pode causar bloqueio de sua atividade.

## 7. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Foram planejados e sintetizados novos compostos baseados na estrutura do fármaco donepezila e na simplificação molecular do composto natural territrema B, para obtenção de moléculas aminoflavonas. Os compostos obtidos tiveram sua atividade anticolinesterásica avaliada contra as enzimas AChE e BuChE, assim como porcentagem de viabilidade celular.

A síntese dos intermediários chalcona e flavona (cromenona) apresentaram bons rendimentos, requerendo ajustes em sua estequiometria. Os compostos aminoflavonas representaram um desafio a mais que após serem superados, proporcionaram 15 moléculas, destas 13 inéditas, com rendimentos entre pouco apreciáveis e excelente (8,4 – 95 %), exceto seis compostos planejados que não foram obtidos. A formação de todos os produtos foi confirmada por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , espectrometria de massa e de infravermelho, quando pertinente RMN de  $^{19}\text{F}$  também foi realizado, a caracterização foi complementada por medição da faixa de fusão e a pureza dos compostos comprovada por cromatografia líquida.

A avaliação de inibição para AChE e BuChE apresentou dificuldades em relação a solubilização dos compostos. Por consequência, diversas lacunas não puderam ser respondidas. Os valores exequíveis indicam que a combinação dos substituintes monometoxilado e/ou sem metoxilas com o substituinte -4-CF<sub>3</sub> (**6b** e **6f**) são os mais promissores para inibição de AChE com IC<sub>50</sub> de 45,41  $\mu\text{M}$  para o **6b** e 27,68  $\mu\text{M}$  para o **6f**. O produto **6c** indicou maior afinidade para inibição de BuChE com valor de 39,81% a concentração de 100  $\mu\text{M}$ .

Os ensaios de avaliação de citotoxicidade por MTT foram realizados utilizando três linhagens celulares tumorais (A172, MDA-MB-231 e PC-3) e uma não tumoral imortalizada (HEK293T), em concentração de 100  $\mu\text{M}$ . O produto **6b** apresentou baixo potencial de afetar a viabilidade celular da linhagem não-tumoral.

Estudo de modelagem molecular sugere que a atividade apresentada pelo produto **6f** foi possível pelas interações hidrofóbicas realizadas no canal catalítico e, ademais, por uma interação de hidrogênio com o resíduo Phe295 que mimetiza pontos de interação como os do fármaco referência, donepezila.

Mesmo que não se tenha a totalidade dos resultados, é possível concluir que os compostos possuem potencial anticolinesterásico e podem ser explorados. Pelo conjunto dos dados obtidos, entende-se que os compostos **6b** e **6f** são os mais promissores, pois tanto possuem resultados de IC<sub>50</sub> frente a AChE quanto evidenciam as melhores porcentagem de viabilidade celular.

Perspectivas incluem a otimização das estruturas para angariar melhor solubilidade, adição de tensoativos ou redução do tamanho de partícula por meio da obtenção de nanocristais.



Modificações na molécula com a inserção de diferentes grupos funcionais, assim como explorar os substituintes flúor e triflúor em diferentes posições e a criação de compostos com maior flexibilidade conformacional por meio de linker com caráter alifático, particularmente no grupo anilínico, são pontos relevantes a se explorar. Estudos de reposicionamento também podem ser sugeridos, visto que os compostos aqui obtidos apresentaram interessante ação citotóxica em diferentes linhagens tumorigênicas.

## 8. EXPERIMENTAL

As reações foram monitoradas por cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60 GF<sub>254</sub> (Merck®), 0,20 mm de espessura. As revelações das cromatoplacas foram efetuadas pela inspeção em câmara com emissão de luz ultravioleta (UV) com comprimento de  $\lambda = 254$  e 366 nm, com posterior utilização de câmara de revelação com iodo e solução ácida de vanilina. Utilizou-se para as extrações soluções saturadas de NaCl e de tiosulfato de sódio. Para a cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 60 (230-400 mesh). Em todas as purificações por procedimentos cromatográficos foram utilizados sistemas de gradiente de polaridade de solventes. Os solventes foram purificados por destilação conforme técnica encontrada na literatura (ARMAREGO & CHAI, 2003), salvo os produtos de qualidade HPLC. Solventes anidros foram acondicionados em presença de peneira molecular tipo 3Å. Reações sensíveis a umidade e ao ar, foram conduzidas em tubos sob atmosfera inerte (N<sub>2</sub>).

### 8.1 DETERMINAÇÃO DA FAIXA DE FUSÃO

A faixa de fusão dos compostos foi determinado em aparelho modelo M565, da marca Büchi presente no Laboratório de Planejamento e Síntese de Químioterápicos Potencialmente Ativos em Doenças Negligenciadas (LAPEN/USP) coordenado pela prof. Dra. Elizabeth Igne Ferreira.

### 8.2 ESPECTROS DA REGIÃO DE INFRAVERMELHO

Os espectros da região de infravermelho foram obtidos no laboratório de compostos heterocíclicos do prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani da FCF/USP EM equipamento Cary 630 FTIR da Agilent Technologies, sendo relatados em comprimentos de onda ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>).

### 8.3 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

As análises estruturais de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H (300 MHz), de <sup>13</sup>C (75 MHz), <sup>19</sup>F (282 MHz) foram realizadas na Central de Análises do departamento de Ciências Farmacêutica da USP em aparelho da marca Bruker, modelo Advanced DPX-300. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) sendo referenciados quando em relação ao DMSO-d<sub>6</sub> em 2,55 ppm (<sup>1</sup>H) e 39,520 ppm (<sup>13</sup>C), e em 77,160

ppm ( $^{13}\text{C}$ ) quando do uso de  $\text{CDCl}_3$ , a constante de acoplamento ( $J$ ) está expressa em Hertz (Hz). As abreviações para designar multiplicidade de sinais são: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), dd (duplo duplete) e m (multiplete).

#### 8.4 ANÁLISE DE TEOR DE PUREZA

As análises de pureza das moléculas sintetizadas ocorreram nas estruturas da Central Analítica do departamento de Ciências Farmacêutica da USP. Foi utilizado cromatografia líquida de alta eficiência, em sistema de coluna líquida-sólida. Empregou-se o cromatógrafo Shimadzu Proeminence<sup>®</sup>, com coluna analítica Zorbax SB-Phenyl<sup>®</sup> (5 $\mu\text{m}$ , 150x4,6 mm). As amostras foram diluídas a 0,25 mg/mL. A detecção foi conduzida por luz ultravioleta (UV) em 264 nm. O volume de injeção foi de 7  $\mu\text{L}$ . Como sistema eluente utilizou-se água deionizada e acetonitrila (ACN), ambos com 0,1 % de ácido trifluoracético (TFA), com fluxo de 1 mL/minuto. A corrida cromatográfica iniciou-se com 5% da mistura de ACN/TFA, após 10 minutos passou a 100 % da mistura. Decorridos 15 minutos, a concentração de ACN/TFA foi reduzida para 50 %, em 20 minutos caiu para 25 %, finalizando em 25 minutos com 0 %.

#### 8.5 ESPECTROMETRIA DE MASSA

A medição das razões massa/carga dos compostos aminoflavonas foi realizada no laboratório de pesquisa da Profa. Dra. Neuza Hassimotto da Faculdade Ciências Farmacêutica da USP. Os espectros foram obtidos utilizando um micrOTOF QII / ESI-TOF da Bruker Daltonics<sup>®</sup>. Os mesmos foram analisados por meio de cromatografia líquida de alta performance (Prominence liquid chromatography, Shimadzu<sup>®</sup>) acoplado a um espectrômetro de massa Q-TOF, modelo compacto da Bruker Daltonics GmbH<sup>®</sup>, com interface de ionização por eletrospray. Os compostos foram dissolvidos em DMSO, separados usando coluna Luna C<sub>18</sub> (3  $\mu\text{m}$ , 100 Å, 150x3 mm da marca Phenomenex<sup>®</sup>) utilizando como fase móvel 0,1 % de ácido fórmico em água deionizada (A) e 0,1 % de ácido fórmico em acetonitrila (B) com taxa de fluxo de 0,4 mL/min. O programa de gradiente foi: 30% B no início, 100% B entre 3-6 min., retornando a 30 % B em 6,01 min. e finalizando a corrida com tempo total de 11 min. O volume de injeção foi de 20  $\mu\text{L}$ , a temperatura da coluna foi mantida a 40 °C. O instrumento Q-TOF/MS foi operado em modo positivo usando os seguintes parâmetros: temperatura da fonte de gás iônico ( $\text{N}_2$ ) 200 °C; pressão do nebulizador 45 psi; e voltagem no capilar de 2.800 V. O espectrômetro de massas foi operado no modo de varredura MS. O formato de sódio foi usado como calibração de massa interna.

## 8.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E IC<sub>50</sub> – AChE e BuChE

A atividade inibitória dos novos derivados aminoflavonas frente à AChE de *Electrophorus electricus*, enguia elétrica, (eeAChE, Tipo VI-S, Sigma-Aldrich, lote: 041M7009V) e à BuChE de equino (eqBuChE, Sigma-Aldrich, lote: SLBB2114V) foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Ellman e colaboradores (1961) modificado. Medidas de absorvância no comprimento de onda de 412 nm foram realizadas em equipamento leitor de microplacas Flex Station, utilizando placas de poliestireno com 96 poços.

### 8.6.1 Preparo das amostras

Soluções mães dos compostos sintetizados (2000  $\mu\text{M}$ ), foram preparadas em metanol e, subsequentemente, diluídas para as concentrações de 100 e 1000  $\mu\text{M}$ . Para determinação dos valores de IC<sub>50</sub>, a partir das soluções mães foram preparadas diluições em diferentes concentrações. Como controle positivo foi utilizada a donepezila, preparada em água ultrapura.

### 8.6.2 Preparo da solução tampão de fosfato (pH 8)

Uma solução 0,0136 g mL<sup>-1</sup> de fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) foi preparada em água milli-Q. Em seguida, o pH foi ajustado para 8, utilizando-se uma solução concentrada de KOH.

### 8.6.3 Preparo das soluções enzimáticas

Uma solução estoque 50 U mL<sup>-1</sup> da eeAChE foi preparada em tampão de fosfato (pH 8,0) e, posteriormente foi diluída no mesmo tampão, para obtenção de uma solução 0,23 U mL<sup>-1</sup>. Procedimento semelhante foi usado para a preparação da solução enzimática da eqBuChE. Uma solução estoque 1,32 U mL<sup>-1</sup> da eqBuChE foi preparada em tampão e, em seguida, foi diluída para a concentração de 0,23 U mL<sup>-1</sup>.

#### 8.6.4 Preparo das soluções dos substratos ATChI e BuTChI

Os substratos iodeto de acetiltiocolina (ATChI) e iodeto de butiriltiocolina (BuTChI) foram preparados em água milli-Q nas concentrações de 5 mM.

#### 8.6.5 Preparo do reagente colorimétrico – DTNB

Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB ou reagente de Ellman), na concentração de 0,45 mM, foi preparado em tampão de fostato (pH 8,0) na presença de 0,6 mg de bicarbonato de sódio.

#### 8.6.6 Ensaio

Nos poços da microplaca foram adicionados os seguintes reagentes:

- 125 µL da solução do reagente de Ellman (DTNB)
- 50 µL de tampão
- 25 µL da solução de amostra ou MeOH (controle)
- 25 µL da solução enzimática (AChE ou BuChE)

Em seguida, a microplaca foi incubada durante 15 minutos sob agitação, a 30 °C, sendo realizadas leituras de absorbância, a cada 1 minuto, no comprimento de onda de 412 nm. Após a incubação, 25 µL de substrato (ATChI ou BuTChI) foram adicionados em cada poço e a absorbância novamente monitorada em intervalos de 1 minuto, durante 4 minutos no comprimento de onda de 412 nm. Os valores de absorbância da incubação no tempo de 15 minutos foram utilizados como branco. As porcentagens de inibição foram calculadas comparando-se as absorbâncias, referentes ao tempo de 4 minutos, das amostras ( $Abs_{amostra}$ ) com a do controle ( $Abs_{controle}$ ) por meio da fórmula:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{[Abs_{controle} - Abs_{amostra}]}{Abs_{controle}} \times 100$$

Sendo,  $Abs_{controle}$  a reação enzimática na ausência de inibidores utilizando apenas o solvente em que as amostras foram preparadas e a  $Abs_{amostra}$  a reação enzimática na presença de diferentes concentrações das amostras.

## 8.7 AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE

Os ensaio de avaliação de citotoxicidade por MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) ocorreram em colaboração com o Centro de Química Medicinal (CQMED/UNICAMP).

O ensaio MTT é utilizado para medir a atividade metabólica celular como um indicador de viabilidade celular, proliferação e citotoxicidade. Este ensaio colorimétrico é baseado na redução de um sal de tetrazólio amarelo (MTT) a cristais de formazan roxo pelas NADH desidrogenases mitocondriais que clivam o anel tetrazólico (Figura 29). Aos cristais insolúveis de formazan é adicionado uma solução apropriada para lisar as células e solubilizar os cristais coloridos, a solução colorida resultante é quantificada medindo a absorbância entre 500-600 nanômetros usando um espectrofotômetro multi-poços. Quanto mais escura a solução, maior o número de células viáveis e metabolicamente ativas, pois a quantidade de formazan formado é diretamente proporcional à viabilidade celular (SANJUAN, *et al.*, 2020)

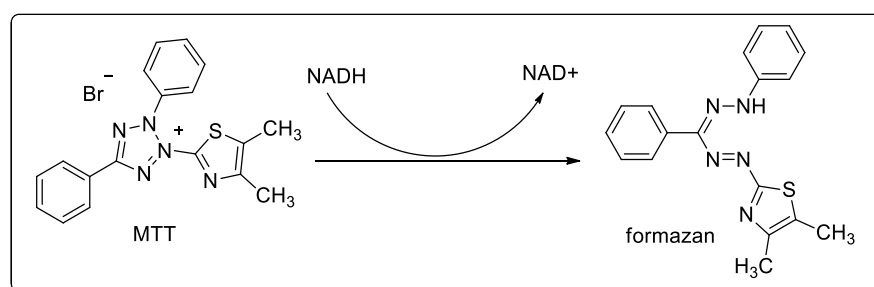


Figura 29. Redução do MTT pelas NADH desidrogenases mitocondriais  
Fonte: adaptado de MAGALHÃES *et al.*, 2018

### 8.7.1 Cultura celular

Foram utilizadas as células das linhagens HEK293T, PC3, A172 e MDA-MB-231 (Tabela 6) cultivados em meio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 10% de soro fetal bovino contendo antibióticos 1% de penicilina/estreptomicina em pH 7,2 e 37 °C sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

Tabela 6. Linhagens celulares utilizadas.

<b>Linha celular humana</b>	<b>Origem biológica</b>
HEK293T	rim (fetal)
PC3	Adenocarcinoma de próstata caucasiano
A172	Glioblastoma
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama

### 8.7.2 Avaliação da citotoxicidade por MTT

As células foram semeadas a uma densidade de  $1 \times 10^5$  células por poço em placas de 96 poços em 100  $\mu$ L de meio de cultura. As células não tratadas receberam apenas meio e solvente (DMSO a 0,1% como concentração final). Todas as células foram tratadas com quinze compostos químicos diferentes na concentração de 100  $\mu$ M por um período de 48 h. O MTT foi primeiro preparado como uma solução estoque de 5 mg/mL em solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,2). Ao final do período de tratamento (48 h), 10  $\mu$ L de solução de MTT foram adicionados a cada poço. Após incubação por 3 h a 37°C, 100  $\mu$ L de DMSO foram adicionados a cada poço e a absorbância foi medida em um leitor de placas a 540 nm. As células viáveis produziram um produto formazan azul escuro, ao passo que tal coloração não se formou nas células mortas. A porcentagem de células viáveis foi calculada usando a seguinte fórmula: (%) =  $[100 \times (\text{abs amostra}) / (\text{abs controle})]$ . Todos os dados numéricos foram obtidos de três experimentos independentes.

## 8.8 MODELAGEM MOLECULAR

O composto **6f** foi construído no programa ChemDraw Professional (PerkinElmer, Inc.) e salvo em formato sdf. A estrutura tridimensional foi criada e minimizada utilizando as configurações padrão disponível no ligprep (Schrödinger LLC). Brevemente, foi utilizado o campo de força OPLS3e e as cargas foram calculadas para pH  $7.0 \pm 2.0$ . A proteína 4M0F (Acetilcolinesterase humana co-cristalizada com a territrema B) foi preparada (adição de cadeias laterais faltantes, otimização de ligações de hidrogênio, minimização de átomos pesados) utilizando as configurações padrão de preparação de proteína disponível no pacote Maestro (Schrödinger, Inc.). O estudo de ancoramento molecular foi realizado no sítio ativo da enzima, numa caixa ao redor do ligante nativo (territrema B). Utilizou-se a precisão padrão de ancoramento

(SP – “Standard Precision”), o ligante foi tratado como flexível e a inversão de nitrogênios foi utilizada.

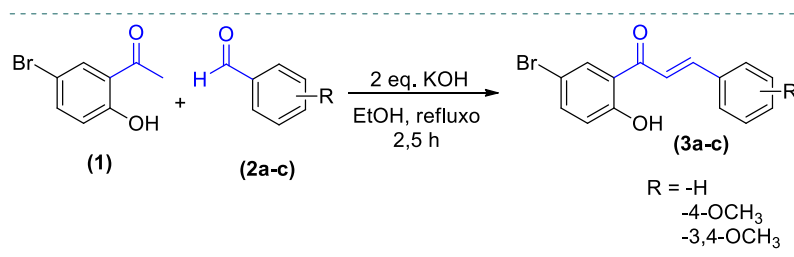
Após o ancoramento e inspeção visual, o complexo proteína-ligante foi energeticamente minimizado, utilizando o campo de força OPLS2005 (constante dielétrica: 1.0; solvente: água; gradiente conjugado; Polak–Ribière; Limite de convergência: 0.5) disponível no MacroModel (Schrödinger LLC). A pose foi novamente inspecionada e as interações foram anotadas para melhor visualização utilizando o programa Pymol.



## 8.9 PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

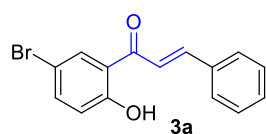
Nesse tópico serão descritos os métodos sintéticos utilizados para a obtenção dos intermediários e dos compostos aminoflavonas, assim como os dados experimentais observados.

### 8.9.1 Condensação de Claisen-Schmidt para obtenção de chalconas

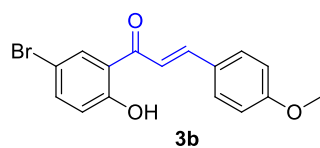


Esquema 11. Rota sintética para obtenção das chalconas.  
 Fonte: MAZIMBA, *et al.*, 2011.

Em um tubo de ensaio foram adicionados o aldeído (1,1 mmol, 1.1 eq.), a hidroxiacetofenona (1 mmol, 1 eq.), o etanol (6 mL) e o KOH sólido (2 mmol, 2 eq.). A reação foi mantida em refluxo com agitação constante por 2,5 horas. A fase orgânica foi extraída em funil de separação com H<sub>2</sub>O e acetato de etila (3x 30 mL), e seca com MgSO<sub>4</sub>. Após filtração, o solvente foi rotaevaporado, e o produto final foi purificado por recristalização com metanol.

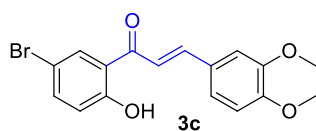


O produto **3a**, (*E*)-1-(5-bromo-2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona, CAS 132972-15-7, foi obtido como um sólido amarelo (151 mg, 1 mmol, 53 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 12.75 (s, 1H, OH), 8.03 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 15 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.60 - 7.49 (dd, *J* = 15 e 6 Hz, 2H, H<sub>10</sub> e H<sub>15</sub>), 6.96 (d, *J* = 9 Hz, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 192.9 (C=O), 162.7, 146.7, 139.1 (C=C), 134.5, 132.0, 131.4, 129.2, 129.0, 127.7, 121.4, 120.8 (C=C), 119.6, 110.6. **Faixa de fusão:** 103,1 – 104,2 °C.



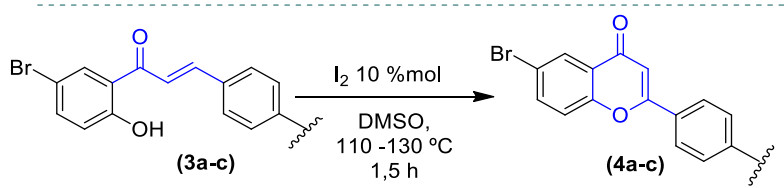
O produto **3b**, (*E*)-1-(5-bromo-2-hidroxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona, CAS 132972-33-9, foi obtido como sólido amarelo (166 mg, 1 mmol, 50 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 12.88 (s, 1H, OH), 8.02 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 15 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 15 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.95 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (75

MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 192.8 (C=O), 162.6, 162.5, 146.7, 138.8 (C=C), 131.9, 131.0, 127.3, 121.6 (C=C), 120.7, 117.0, 114.8, 110.5, 55.6 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 112 – 112,6 °C.



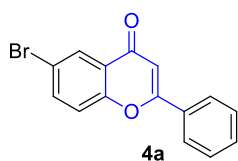
O produto **3c**, (*E*)-1-(5-bromo-2-hidroxifenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona, CAS 56492-66-1, foi obtido como sólido amarelo escuro (286 mg, 1 mmol, 85 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 12.87 s, 1H, OH), 8.02, 7.92 (d, *J* = 15 Hz, 1H, C=C), 7.57 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 15 Hz, 1H, C=C), 7.30 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.94 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.98 (d, *J* = 9 Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 192.7 (C=O), 162.6, 152.3, 149.6, 147.0, 138.8 (C=C), 131.8, 127.5, 124.1, 121.5 (C=C), 120.7, 117.2, 111.4, 110.7, 110.4, 56.2 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 127,2 – 127,9 °C.

### 8.9.2 Ciclização oxidativa para obtenção de flavonas

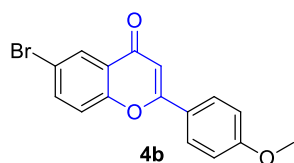


Esquema 12. Rota sintética para obtenção das flavonas.  
Fonte: LOKHANDE *et al*, 2005.

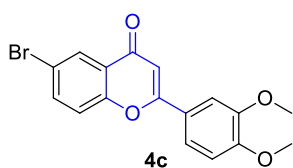
Em balão monotubulado, foram adicionados a chalcona (1 mmol), o I<sub>2</sub> (10 mol %) e o DMSO anidro (5 mL). A reação foi mantida em agitação constante e atmosfera inerte por 1,5 horas com temperatura entre 110-130 °C. A fase orgânica foi extraída em funil de separação com solução concentrada de tiosulfato de sódio e acetato de etila (3x 30 mL), e seca com MgSO<sub>4</sub>. Após filtração, o solvente foi rotaevaporado, e o produto final foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando como eluentes os solventes acetato de etila/hexano (8:2).



O produto **4a**, 6-bromo-2-fenil-4*H*-cromen-4-ona, CAS 1218-80-0, foi obtido como sólido branco (126 mg, 1 mmol, 42 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 8.40 (s, 1H), 7.96 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.60 - 7.58 (m, 3H), 7.52 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.90 (s, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 177.1 (C=O), 163.9, 155.1, 136.9, 132.0, 131.5, 129.3, 128.5, 126.5, 125.4, 120.2, 118.8, 107.6. **Faixa de fusão:** 195,4 – 195,6 °C, literatura: 190 °C.

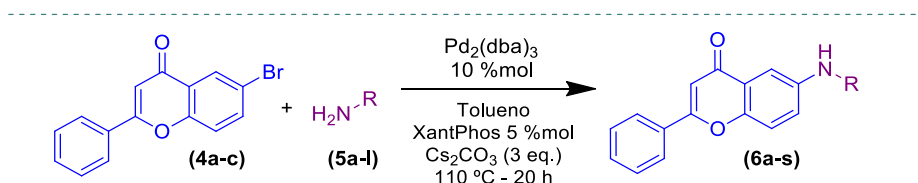


O produto **4b**, 6-bromo-2-(4-metoxifenil)-4*H*-cromen-4-ona, CAS 89112-86-7, foi obtido como sólido branco (74 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 8.25 (d, *J* = 3 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.66 (dd, *J* = 9, 2.4 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 6.64 (s, 1H), 3.81 (s, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 177.0 (C=O), 163.8, 162.8, 155.0, 136.6, 128.5, 128.2, 125.4, 123.7, 120.0, 118.6, 114.7, 106.2, 55.7 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 195,4 – 195,6 °C, literatura: 192 – 193 °C.



O produto **4c**, 6-bromo-2-(3,4-dimetoxifenil)-4*H*-cromen-4-ona, CAS 89112-86-7, foi obtido como sólido amarelo claro (248 mg, 1 mmol, 69 %). **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 8.25 (s, 1H), 7.67 (dd, *J* = 9 e 2 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 9 e 2 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 6.90 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 3.89 (d, *J* = 3 Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 178.3 (C=O), 163.1, 152.0, 151.0, 149.3, 142.4, 141.1, 124.9, 124.5, 124.1, 122.0, 120.0, 119.1, 118.5, 111.2, 110.8, 108.8, 105.9, 56.2 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 199,4 – 200,4 °C.

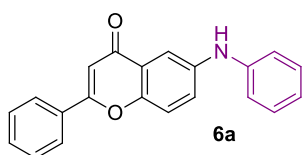
### 8.9.3 Aminoação de Buchwald-Hartwig



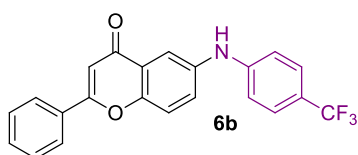
Esquema 13. Rota sintética para obtenção das aminoflavonas.  
Fonte: RUIZ-CASTILLO & BUCHWALD, 2016.

Em um tubo de ensaio previamente seco em estufa a 120 °C e resfriado em dessecador, foram adicionados os compostos sólidos: flavona (1 mmol), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (10 %mol), XantPhos (5 %mol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 equiv.), e anilina (1,1 mmol) quando sólida. O Tubo foi lacrado com septo, e por meio de uma agulha o sistema foi deixado no vácuo por 1 hora, tomando o cuidado de aquecer o tubo com soprador térmico para a retirada de umidade. Após esse período, adicionou-se ao sistema os produtos líquidos: tolueno anidro (5 mL) e anilina líquida (1,1 mmol). A reação foi mantida em agitação constante e atmosfera inerte por 20 horas à 110 °C. Os sólidos foram removidos por filtração a vácuo em funil de Buechner com placa porosa filtrante, e os produtos do

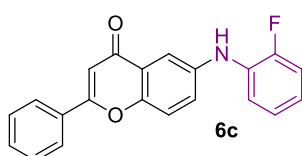
meio reacional foram concentrados por meio da retirada de solvente em rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando sistema de gradiente. Iniciando-se com o gradiente hexano/diclorometano (9:1 até 100 % de diclorometano) e finalizando com a mistura diclorometano /metanol (1 %).



O produto **6a**, 2-fenil-6-(fenilamino)-4*H*-cromen-4-ona, CAS 1644565-49-0, foi obtido como um sólido amarelo (120 mg, 0,7 mmol, 55%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 9.00 (s, N-H), 8.10 (d, *J* = 3 Hz, 2H), 7.78 - 7.74 (m, 2H), 7.60 - 7.58 (m, 7H), 7.23 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 6.99 (s, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 176.86 (C=O), 162.45, 150.78, 146.81, 139.55, 131.78, 131.29, 129.17, 126.74, 126.70, 126.32, 125.90, 124.11, 119.93, 115.45, 110.81, 106.29. **Faixa de fusão:** 193,1 – 193,9 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1566 e 1540 (C=O), 3019 (Ar-CH), 3175 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>: [M-H]<sup>+</sup> *m/z* 314.11029, encontrado 314,1170. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,579 min; **pureza:** 99,1%.

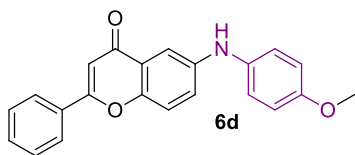


O produto **6b**, 2-fenil-6-((4- (trifluorometil)fenil)amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo dourado (32 mg, 1 mmol, 8,4%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 9.00 (s, N-H), 8.10 (d, *J* = 3 Hz, 2H), 7.77- 7.75 (m, 2H), 7.60 – 7.58 (m, 6H), 7.23 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 7.00 (s, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 176.7 (C=O), 162.3, 150.7, 146.7, 139.5, 131.7, 131.2, 129.1, 126.6 (q, *J* = 7,5 Hz, C-F<sub>3</sub>), 126.2, 125.8, 124.0, 123, 122.9, 119.8, 119.7, 119.3, 115.4, 110.7, 106.2. **RMN de <sup>19</sup>F** (282 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): -58,2. **Faixa de fusão:** 241,3 – 241,7 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1559 e 1544 (C=O), 3021 (Ar-CH), 3166 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>22</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: [M-H]<sup>+</sup> *m/z* 382,09766, encontrado 382,1058. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,986 min; **pureza:** 98,1%.

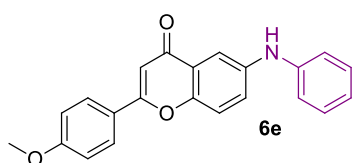


O produto **6c**, 6-((2-fluorofenil)amino)-2-fenil-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (128 mg, 0,6 mmol, 65%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 8.31 (s, N-H), 8.06 (d, *J* = 3 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.58 (s, 3H), 7.45 (s, 2H), 7.38 – 7.33 (m, 3H), 7.25 (d, *J* = 9 Hz, 1H) , 7.19 – 7.14 (m, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.94 (s, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 177 (C=O), 162.2, 154.3 (d, *J* = 243.1 Hz, C-F), 149.9, 141.8, 131.6, 131.4, 130.1 (d, *J* = 11.4 Hz), 129.1, 126.2, 125, 124.90, 124, 123.9, 123 (d, *J* = 7.5 Hz), 121.4, 121.3, 119.5, 116.2 (d, *J* = 19.3 Hz), 107.6, 106.1. **RMN de <sup>19</sup>F** (282 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): -126.

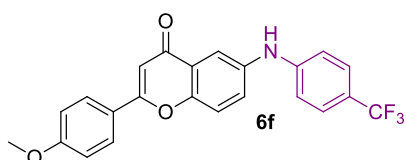
**Faixa de fusão:** 193,6 – 193,9 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1585 e 1580 (C=O), 3024 (Ar-CH), 3144 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{FNO}_2$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  332.10086, encontrado 332,1068. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,490 min; **pureza:** 99,2%.



O produto **6d**, 6-((4-metoxifenil)amino)-2-fenil-4H-cromen-4-ona, CAS 1644565-51-4, foi obtido como um sólido laranja (40 mg, 0,5 mmol, 23%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 8.20 (s, N-H), 8.07 (d,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 7.65 - 7.58 (m, 4H), 7.43 (s, 1H), 7.36 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 6.94 (d,  $J = 9$  Hz, 3H), 3.75 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 176.9 (C=O), 161.9, 154.6, 149, 143.5, 135, 131.5, 131.4, 129, 126.11 124.1, 122.7, 121.6, 119.4, 114.7, 105.9, 104.9, 55.2 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 166,9 – 167,4 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1568 e 1553 (C=O), 3023 (Ar-CH), 3179 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  343,12086, encontrado 344,1280. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,518 min; **pureza:** 99,7%.

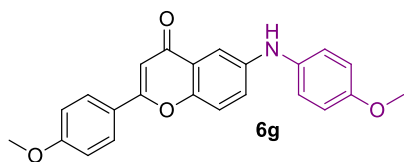


O produto **6e**, 2-(4-metoxifenil)-6-(fenilamino)-4H-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (165 mg, 0,7 mmol, 69%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 8.47 (s, N-H), 8.03 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.67 - 7.62 (m, 3H), 7.48 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 7.30 (t,  $J = 9$  Hz, 1H), 7.16 - 7.10 (m, 4H), 6.92 (t,  $J = 6$  Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 3.86 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 176.7 (C=O), 162.2, 161.9, 149.6, 142.6, 141.4, 129.3, 128, 124.0, 123.8, 123.5, 120.7, 119.4, 117.6, 114.5, 107.5, 104.6, 55.5 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 176,7 – 177,1 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1560 e 1546 (C=O), 3033 (Ar-CH), 3175 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  344.12086, encontrado 344,1276. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,636 min; **pureza:** 96,8%.

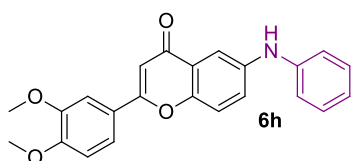


O produto **6f**, 2-(4-metoxifenil)-6-((4-(trifluorometil)fenil)amino)-4H-cromen-4-ona foi obtido como um sólido amarelo (25 mg, 0,7 mmol, 9%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 8.95 (s, N-H), 8.00 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 7.72 - 7.67 (m, 2H), 7.56 (d,  $J = 6$  Hz, 3H), 7.21 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 7.08 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 6.86 (s, 1H), 3.83 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 176.5 (C=O), 162.3, 162, 150.6, 146.8, 139.2, 128, 126.6 (d,  $J = 7.5$  Hz, C-F<sub>3</sub>), 125.5, 124, 123.3, 123, 119.6, 119.2, 115.2, 114.4, 110.9, 104.8, 55.4 (O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{19}\text{F}$**  (282 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): -58,2. **Faixa de fusão:**

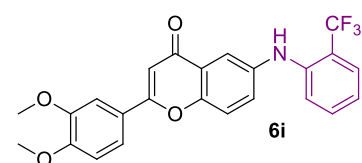
200,3 – 201 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1553 e 1542 (C=O), 3091 (Ar-CH), 3192 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_3$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  412,10823, encontrado 412,1147. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 13,907 min; **pureza:** 95,4%.



O produto **6g**, 2-(4-methoxyphenyl)-6-((4-methoxyphenyl)amino)-4*H*-chromen-4-one, foi obtido como um sólido amarelo (152 mg, 0,6 mmol, 41%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 7.79 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.53 (s, N-H), 7.34 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.05 - 7.03 (m, 1H), 6.94 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 6.81 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 6.65 (s, 1H), 3.81 (O-CH<sub>3</sub>), 3.73 (O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 178.3 (C=O), 163.2, 162.4, 156.1, 150.5, 143.2, 135.1, 128.1, 124.9, 124.5, 123, 122.6, 119.1, 115.1, 114.6, 108.5, 105.5, 55.7 (O-CH<sub>3</sub>), 55.6 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 196,4 – 196,8 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1562 e 1542 (C=O), 3017 (Ar-CH), 3183 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  374,13143, encontrado 374,1361. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,489 min; **pureza:** 99,6%.

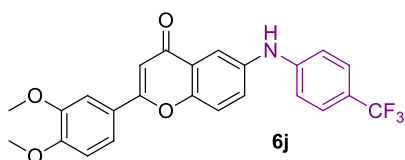


O produto **6h**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-(fenilamino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (188 mg, 1 mmol, 50%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7.83 (s, N-H), 7.56 (d,  $J = 6$  Hz, 1H), 7.48 (t,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.35 - 7.30 (m, 2H), 7.15 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 7.03 - 6.98 (m, 2H), 6.74 (s, 1H), 6.10 (s, 1H), 3.99 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 178.3 (C=O), 163.1, 152, 151, 149.3, 142.4, 141.1, 129.7, 124.9, 124.5, 124.1, 122, 120, 119.1, 118.5, 111.2, 110.8, 108.8, 105.9, 56.2 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 197,2 – 197,5 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1564 e 1546 (C=O), 3019 (Ar-CH), 3203 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  374,13143, encontrado 374,1393. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,273 min; **pureza:** 99,1%.



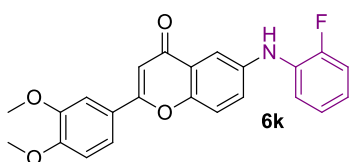
O produto **6i**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-((2-(trifluorometil) fenil) amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (22 mg, 0,5 mmol, 10%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7.79 (s, N-H), 7.50 (dd,  $J = 18$  e 9 Hz, 3H), 7.36 - 7.28 (m, 4H), 6.99 - 6.90 (m, 2H), 6.77 (s, 1H), 3.90 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 177.9 (C=O), 163.9, 152.5, 152, 149.5, 141.2, 140, 133.2, 127.2 (q,  $J = 7,5$  Hz, C-F<sub>3</sub>), 124.7, 124.3, 121.4, 120.4, 119.5, 119.3, 119.1, 118.9, 113.5, 111.4, 109.1, 105.8, 56.3 (O-CH<sub>3</sub>).

**RMN de  $^{19}\text{F}$**  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): - 60,6. **Faixa de fusão:** 214,8 – 215,2 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1564 e 1547 (C=O), 2969 (Ar-CH), 3183 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_4$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  442,1188, encontrado 442,1261. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,695 min; **pureza:** 98,8%.



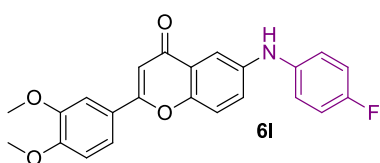
O produto **6j**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-((4-(trifluorometil) fenil) amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (203 mg, 1 mmol, 46%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7.84 (s, N-H), 7.50 - 7.42 (m, 5H), 7.32 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.04 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 6.92 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.90 (d,  $J = 3$  Hz, 6H, O- $\text{CH}_3$ ).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 178 (C=O), 163.8, 152.5, 152.1, 149.6, 146.2, 139.3, 127 (q,  $J = 7,5$  Hz, C- $\text{F}_3$ ), 126.1, 120.3, 119.5, 116.1, 113.9, 111.4, 109.1, 106, 56.3 (O- $\text{CH}_3$ ). **RMN de  $^{19}\text{F}$**  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): - 60,6. **Faixa de fusão:** 221,4 – 221,9 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1559 e 1546 (C=O), 3024 (Ar-CH), 3173 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{NO}_4$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  442,1188, encontrado 442,1264. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,765 min; **pureza:** 99,1%.



O produto **6k**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-((2-fluorofenil) amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido castanho escuro (196 mg, 1 mmol, 50%). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7.88 (d,  $J = 3$  Hz, N-H), 7.58 - 7.51 (m, 2H), 7.44 - 7.39 (m, 2H), 7.16 - 6.93 (m, 5H), 6.75 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 3.99 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O- $\text{CH}_3$ ).

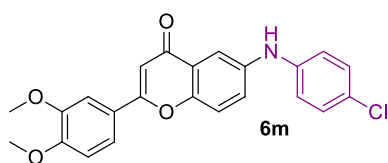
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 178.2 (C=O), 163.2, 153.5 (d,  $J = 241.8$  Hz), 152.1, 151.4, 149.3, 140, 130.8 (d,  $J = 11.1$  Hz), 124.8, 124.7, 124.7, 124.4, 121.9 (d,  $J = 7.3$  Hz), 120.0, 119.3, 118.2, 118.2, 115.8 (d,  $J = 19.2$  Hz), 111.4 (d,  $J = 29.8$  Hz), 108.8, 106.0, 56.2 (O- $\text{CH}_3$ ). **RMN de  $^{19}\text{F}$**  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): - 129,6. **Faixa de fusão:** 172,9 – 173,5 °C. **IV** ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) = 1583 e 1551 (C=O), 2935 (Ar-CH), 3164 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{FNO}_4$ :  $[\text{M}-\text{H}]^+$   $m/z$  392,1220, encontrado 392,1282. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,284 min.; **pureza:** 98,9%.



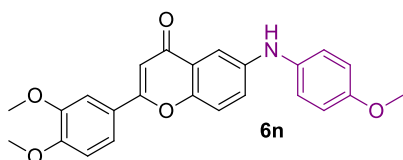
O produto **6l**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-((4-fluorofenil) amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (50 mg, 1 mmol, 13 %). **RMN de  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm): 8.41 (s, N-H), 7.65 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.41 (d,  $J = 6$  Hz, 1H), 7.17 - 7.09 (m, 5H), 6.93 (s, 1H), 3.86 (d,  $J = 15$  Hz, 6H, O- $\text{CH}_3$ ). **RMN de  $^{13}\text{C}$**



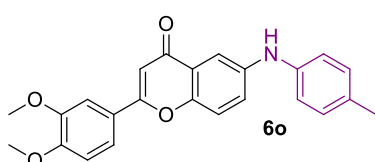
(75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 176.7 (C=O), 162.1, 157.0 (d,  $J = 237.3$  Hz, C-F), 151.7, 149.5, 149.0, 141.9, 138.9, 138.9, 124.0, 123.6, 123.2, 120.0 (d,  $J = 7.9$  Hz), 119.5 (d,  $J = 9.6$  Hz), 115.9 (d,  $J = 22.4$  Hz), 111.7, 109.3, 106.6, 104.9, 55.8 (O-CH<sub>3</sub>), 55.6 (O-CH<sub>3</sub>). **RMN de <sup>19</sup>F** (282 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): - 120,5. **Faixa de fusão:** 190,7 – 191,6 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1566 e 1534 (C=O), 3020 (Ar-CH), 3192 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>FNO<sub>4</sub>: [M-H]<sup>+</sup>  $m/z$  392,1220, encontrado 392,1279. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,336 min.; **pureza:** 98,1%.



O produto **6m**, 6-((4-clorofenil)amino)-2-(3,4-dimetoxifenil)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo (163 mg, 1 mmol, 39%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7.80 (s, N-H), 7.58 - 7.50 (m, 2H), 7.40 (s, 2H), 7.27 (d,  $J = 9$  Hz, 2H), 7.07 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 7.00 (d,  $J = 3$  Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 4.00 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 178.2 (C=O), 163.3, 152.1, 151.2, 149.4, 141.2, 140.7, 129.6, 126.6, 124.9, 124.4, 124.3, 120.1, 119.6, 119.3, 111.3, 111.2, 108.8, 105.9, 56.2 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 201,3 – 201,8 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1574 e 1553 (C=O), 3015 (Ar-CH), 3181 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>4</sub>: [M-H]<sup>+</sup>  $m/z$  408,09245, encontrado 408,1022. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,703 min.; **pureza:** 99,7%.



O produto **6n**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-((4-metoxifenil) amino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo claro (147 mg, 0,6 mmol, 63%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7.63 (s, N-H), 7.55 (d,  $J = 6$  Hz, 1H), 7.45 - 7.39 (m, 2H), 7.29 - 7.14 (m, 4H), 6.98 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 6$  Hz, 2H), 6.75 (s, 1H), 3.98 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>), 3.82 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 178.3 (C=O), 163.2, 152.1, 150.5, 149.4, 124.8, 124.6, 123.0, 122.6, 120.1, 119.1, 115.0, 111.3, 109.1, 108.4, 105.7, 56.2 (O-CH<sub>3</sub>), 56.2 (O-CH<sub>3</sub>), 55.7 (O-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 204,6 – 205 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1566 e 1544 (C=O), 2902 (Ar-CH), 3205 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>: [M-H]<sup>+</sup>  $m/z$  404,1420, encontrado 404,1483. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,191 min.; **pureza:** 98,2%



O produto **6o**, 2-(3,4-dimetoxifenil)-6-(*p*-tolilamino)-4*H*-cromen-4-ona, foi obtido como um sólido amarelo claro (210 mg, 0,6 mmol, 95%). **RMN de <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7.63 (s, N-H), 7.41 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.02 -



6.94 (m, 5H), 6.85 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 3.86 (d,  $J = 6$  Hz, 6H, O-CH<sub>3</sub>), 2.21 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>). **RMN de <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 178.2 (C=O), 163.0, 152.0, 150.6, 149.3, 142.0, 139.7, 131.8, 130.1, 124.7, 124.5, 123.4, 119.9, 119.5, 118.9, 111.2, 109.6, 108.9, 105.7, 56.1 (O-CH<sub>3</sub>), 56.1 (O-CH<sub>3</sub>), 20.8 (Ar-CH<sub>3</sub>). **Faixa de fusão:** 187,1 – 187,4 °C. **IV** ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) = 1564 e 1544 (C=O), 2987 (Ar-CH), 3211 (N-H). **HRMS** (ESI-TOF) calculado C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: [M-H]<sup>+</sup>  $m/z$  388,14708, encontrado 388,1520. **Tempo de retenção HPLC analítico:** 12,518 min.; **pureza:** 98,4%.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAZ, **O que é Alzheimer**, Associação Brasileira de Alzheimer. Disponível em: <<http://abraz.org.br/web/sobre-alzheimer/o-que-e-alzheimer/>>. Acesso em 16 Jan. 2019.
- ABDPOUR, S. et al. Chromone derivatives bearing pyridinium moiety as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**. v. 110, p. 104750, 2021.
- ACHARYA, C., et al. Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore. **Curr Comput Aided Drug Des**. v. 7(1), p. 10–22, 2011.
- ADSERSEN, A. et al. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 104, p. 418–422, 2006.
- ALAM, F. et al. Phytochemical, antimicrobial, antioxidant and enzyme inhibitory potential of medicinal plant *Dryopteris ramosa* (Hope) C. Chr. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. v. 21, p. 197, 2021.
- ALMASI, A. et al. Influence of hippocampal GABAB receptor inhibition on memory in rats with acute  $\beta$ -amyloid toxicity. **Metab Brain Dis**. v. 33, p. 1859–1867, 2018.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. **Alzheimer e demência no Brasil**. Disponível em: <<https://www.alz.org/br/demencia-alzheimer-brasil.asp>>. Acesso em: 16 jan. 2019a.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. **Alzheimer e demência no Brasil**. Disponível em: <<https://www.alz.org/br/passeio-pelo-cerebro-interativo.asp>>. Acesso em: 16 jan. 2019b.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. *Alzheimer's Dement*. v. 13, p. 325–373, 2017.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. **Alzheimer's and Dementia**. Disponível em: <<https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures-infographic.pdf>>. 2021
- ANAND, P., SINGH, B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Archives of Pharmacal Research**. v. 36(4), p. 375–399, 2013.
- ANDERSON, A. C. The Process of Structure-Based Drug Design. **Chemistry & Biology**. v. 10, p. 787–797, 2003.
- ARAÚJO, C. R. M., et al. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual SciFinder®. **Quim. Nova**. v. 38(6), p. 868-873, 2015.
- ARMAREGO, W. L. F. & CHAI, C. L. L. **Purification of Laboratory Chemicals**. 5ª ed. Butterworth Heinemann, 2003.
- ATTARROSHAN, M. et al. Imino-2H-Chromene Based Derivatives as Potential Anti-Alzheimer's Agents: Design, Synthesis, Biological Evaluation and in Silico Study. **Chem. Biodiversity**, v. 18, e202100599, 2021.
- AYTON, S.; LEI, P.; BUSH, A. I. Biometals and their therapeutic implications in Alzheimer's disease. **Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**. v. 12(1), p. 109–20, 2015.
- BAPTISTA, F.I. et al. Flavonoids as Therapeutic Compounds Targeting Key Proteins Involved in Alzheimer's Disease. **ACS Chem. Neurosci**. v. 5(2), p. 83–92, 2013.
- BARIWALAB, J. & EYCKEN, E. V. C–N bond forming cross-coupling reactions: an overview. **Chem. Soc. Rev**. v. 42, p. 9283-9303, 2013.
- BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a Descoberta de novo agente cardioativo. **Quim. Nova**. v. 25(6B), p. 1172-1180, 2002.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química Medicinal As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, Artmed: Porto Alegre, 2008.

BARREIRO, E. J. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Quim. Nova**, v. 32(3), p. 679-688, 2009.

BEECHER, G. R. (2003) Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutr.* v. 133, p. 3248S–3254S, 2003.

BELLUTI, F. et al. Benzophenone-based derivatives: a novel series of potent and selective dual inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46(5), p. 1682-1693, 2011.

BHAGAT, S., et al. LiOH•H<sub>2</sub>O as a novel dual activation catalyst for highly efficient and easy synthesis of 1,3-diaryl-2-propenones by Claisen–Schmidt condensation under mild conditions. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. v. 244, p. 20–24. 2006.

BHUNIA, S.; et al. Selected Copper-Based Reactions for C–N, C–O, C–S, and C–C Bond Formation. **Angew. Chem.** v. 56, p. 16136–16179, 2017.

BIRKS, JACQUELINE; FLICKER, LEON. Donepezil for mild cognitive impairment. **The Cochrane Library**, 2006.

BOHNEN, N. I., et al. Recent Advances in Cholinergic Imaging and Cognitive Decline—Revisiting the Cholinergic Hypothesis of Dementia. **Current Geriatrics Reports**, v. 7(1), p. 1–11, 2018.

BONIFACE, P. K., & FERREIRA, E. I. Flavones as a Privileged Scaffold in Drug Discovery: Current Developments. **Current Organic Synthesis**. v. 16, p. 968-1001, 2019.

BOWEN, D. M., et al. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. **Brain**; v. 99(3): p. 459–496, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Alzheimer**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/alzheimer>> 2021.

BREIJYEH, Z. & KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**. v. 25, p. 5789, 2020.

BRUS, B. et al. Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor, *J. Med. Chem.* v. 57, p. 8167-8179, 2014

BUI, THANH TUNG; NGUYEN, THANH HAI. Natural product for the treatment of Alzheimer's disease. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**; v. 28(5), p. 413–423, 2017

BUNBAMRUNG, N. et al. Antimicrobial, antimalarial and anticholinesterase substances from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* BCC51799. **Tetrahedron**. v. 76(41) 131496, 2020.

BURHARDT, M. N. et. al., Palladium-Catalyzed Thiocarbonylation of Aryl, Vinyl, and Benzyl Bromides. **J. Org. Chem.**, v. 79, p. 11830-11840, 2014.

CACCIAGLIA, R. et al. Effects of APOE-ε4 allele load on brain morphology in a cohort of middle-aged healthy individuals with enriched genetic risk for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**. v. 14, p. 902-912, 2018.

CANAS, P. M. et al., Predominant loss of glutamatergic terminal markers in a beta-amyloid peptide model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. v. 76, p. 51–56, 2014.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced organic chemistry: reactions and synthesis**. 4ª edição. New York: Kluwer academic/ Plenum Publishers, 2000.

CASTRO, A.; MARTINEZ, A.; Peripheral and Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors: Implications in treatment of Alzheimer's Disease. **Mini-Rev. Med. Chem.** v. 1(3), p. 267-272, 2001.

- CATALDO, J. K., PROCHASKA, J. J. & GLANTZ, S. A. Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer's Disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation. *J. Alzheimers Dis.* v. 19, p. 465–480, 2010.
- CAVEDO E. et al. Reduced basal forebrain atrophy progression in a randomized donepezil trial in prodromal Alzheimer's disease. *Sci Rep.* v. 7, p.11706, 2017.
- CHEIGNON, C. et al. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology.* v. 14, p. 450-464, 2018.
- CHEN, J. W., et al. Territrem B, a tremorgenic mycotoxin that inhibits acetylcholinesterase with a noncovalent yet irreversible binding mechanism. *J Biol Chem.* v. 274(49), p. 34916-23, 1999.
- CHEN, JEN-WEI et al. Territrem B, a tremorgenic mycotoxin that inhibits acetylcholinesterase with a noncovalent yet irreversible binding mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, v. 274, n. 49, p. 34916-34923, 1999.
- CHEUNG, J. et al. Structures of human acetylcholinesterase bound to dihydrotanshinone I and territrem B show peripheral site flexibility. *ACS Med Chem Lett.* v. 4, p. 1091-1096, 2013.
- CHEUNG, J. et al. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *J.Med.Chem.* v. 55, p. 10282-10286, 2012.
- CHEUNG, J., et al. Structures of human acetylcholinesterase bound to dihydrotanshinone I and territrem B show peripheral site flexibility. *ACS Med Chem Lett.* v. 4(11), p. 1091-1096, 2013.
- CHO, S. H. et al. Chem. Recent advances in the transition metal-catalyzed twofold oxidative C–H bond activation strategy for C–C and C–N bond formation. *Soc. Rev.* v. 40, p. 5068–5083, 2011.
- CHUNG, C. H., et al. Study on fungi of the stored unhulled rice of Taiwan Aflatoxin B, like compounds from the culture of *Aspergillus* genus. *J. Formosan Med. Assoc.* v. 70, p. 258-266, 1971.
- COLEY, N., VAURS, C., ANDRIEU, S. Nutrition and cognition in aging adults. *Clin. Geriatr. Med.* v. 31, p. 453–464, 2015.
- COLOVIC, Mirjana B. et al. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current neuropharmacology*, v. 11, n. 3, p. 315-335, 2013.
- COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, V.; **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2005,
- CUBINKOVA, V., et al. Alternative hypotheses related to Alzheimer's disease. *Bratisl Med J.*, v. 119(4), p. 210-216, 2018.
- CUNNINGHAMA, E. L & PASSMORE, A. P. Drug development in dementia. *Maturitas.* v. 76, p. 260–266, 2013.
- DALMAGRO, A.P., CAZARIN, C.A., & ZENAIDE, F.S. An update about the biochemical and molecular basis of Alzheimer's disease. *Braz. Ap. Sci. Rev.* v. 4(1), p.118-130, 2020.
- DA ROCHA, M. D. et al. The Role of Natural Products in the Discovery of New Drug Candidates for the Treatment of Neurodegenerative Disorders II: Alzheimer's Disease. *Cns & Neurological Disorders-Drug Targets.* v. 10(2), p. 251–270, 2011.
- DECKERS, K. et al. Target risk factors for dementia prevention: a systematic review and Delphi consensus study on the evidence from observational studies. *Int. J. Geriatr. Psychiatry.* v. 30, p. 234–246, 2014.
- DIAS, K. S. T. **Síntese e avaliação farmacológica de novos híbridos feruloil-donepezil, planejados como candidatos a fármacos para a doença de alzheimer**. Tese (doutorado em química) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas. Minas Gerais, p. 150. 2016.
- DIGHE, S. et. al. Discovery and structure activity relationships of a highly selective butyrylcholinesterase inhibitor by structure-based virtual screening. *Journal of Medicinal Chemistry.* v. 59; p. 7683–7689, 2016.

- DOGGRELL, S. A., EVANS, S. Treatment of dementia with neurotransmission modulation. *Expert Opin Investig Drugs*. v. 12, p. 1633–1654, 2003.
- DRACHMAN, D. A., LEAVITT, J. Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol*, v. 30(2), p. 113-121, 1974.
- DRUMMOND, E.; WISNIEWSKI, T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathol.*, v. 133(2), p. 155-175, 2017.
- DUARTE, C., BARREIRO, E. J. & FRAGA, C. A. M. Privileged Structures: A Useful Concept for the Rational Design of New Lead Drug Candidates. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 7(11), p. 1108–1119, 2007.
- DURMAZ et al. Genetic factors associated with the predisposition to late onset Alzheimer's disease. *Gene*. v. 707, p. 212–215, 2019.
- DVIR, H. et al. Acetylcholinesterase: From 3D Structure to Function. *Chem Biol Interact*. v. 187(1-3), p. 10–22, 2010.
- ELLIS, J.R., et al. Muscarinic and nicotinic receptors synergistically modulate working memory and attention in humans. *Int J Neuropsychopharmacol*; v. 9, p. 175-189, 2006.
- ELLMAN, George L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, v. 7(2), p. 88-95, 1961.
- ESTRADA-VALENCIA, M. New flavonoid – N,N-dibenzyl(N-methyl)amine hybrids: Multi-target-directed agents for Alzheimer's disease endowed with neurogenic properties. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*. v. 34(1), p. 712–727, 2019.
- FERNANDES, THAIS et al. Analysis of the Applicability and Use of Lipinkis Rule for Central Nervous System Drugs. *Letters in Drug Design & Discovery*, v. 13, n. 10, p. 999-1006, 2016.
- FERNÁNDEZ-BACHILLER, M. I., et al. New Tacrine–4-Oxo-4H-chromene Hybrids as Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease, with Cholinergic, Antioxidant, and  $\beta$ -Amyloid-Reducing Properties. *J. Med. Chem.*, v. 55, p. 1303–1317, 2012.
- FICHOU, Y., et al. The elusive tau molecular structures: can we translate the recent breakthroughs into new targets for intervention? *Acta Neuropathologica Communications*. v. 7(1), p. 1-17, 2019.
- FLORES, D. **Acetilcolina**. Escola Educação. Disponível em: < <https://escolaeducacao.com.br/acetilcolina/>> 2020
- FORERO-CORTÉS, P. A. & HAYD, A. M. The 25th Anniversary of the Buchwald–Hartwig Amination: Development, Applications, and Outlook. *Org. Process Res. Dev.*, v. 23(8), P. 1478–1483, 2019.
- FOUGEROUSSE, A., GONZALEZ, E., BROUILLARD, R. A convenient method for synthesizing 2-aryl-3-hydroxy-4-oxo-4 H-1-benzopyrans or flavonols. *The Journal of organic chemistry*, v. 65(2), p. 583-586, 2000.
- FOX, C. et al. Effect of medications with anti-cholinergic properties on cognitive function, delirium, physical function and mortality: a systematic review. *Age Ageing*. v.43, p. 604–15, 2014.
- FRANCIS, P. T. et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: A review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 66, p. 137–147, 1999.
- FRANK, B., GUPTA, S., A review of antioxidants and Alzheimer's disease. *Ann.Clin. Psychiatry*, v. 17 (4), p. 269–286, 2005.
- GAIKWAD et. al. The Use of Bioisosterism in Drug Design and Molecular Modification. *Am. J. Pharm Tech Res*. v. 2(4), 2012.
- GALIMBERTI, D.; SCARPINI, E. Old and New Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. v. 25, n. 10, p. 1181-1187, 2016.

GALIMBERTI, DANIELA; SCARPINI, ELIO. Old and new acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 25, n. 10, p. 1181-1187, 2016.

GANAI, S. A. et al. REVIEW Plant flavone Chrysin as an emerging histone deacetylase inhibitor for prosperous epigenetic-based anticancer therapy. **Phytotherapy Research**. v. 35, p. 823-834, 2020.

GEMMA, S. et al. Discovery of Huperzine A- Tacrine Hybrids as Potent Inhibitors of Human Cholinesterases Targeting Their Midgorge Recognition Sites. **Journal of medicinal chemistry**, v. 49 (11), p. 3421-3425, 2006.

GHIAS, M. et al. 1-Hydroxynaphthalene-4-trifluoromethylphenyl chalcone and 3-hydroxy-4-trifluoromethylphenyl flavone: A combined experimental, structural, in vitro AChE, BChE and in silico studies. **Journal of Molecular Structure**. v. 1253, p. 132253, 2022.

GOEDERT, M., SPILLANTINI, M. G. A century of Alzheimer's disease. **Science**. v. 314(5800), p. 777-81, 2006.

GUIDO, R. V. C., ANDRICOPULO, A. D., OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos avançados**. v. 24(70), p. 81-98, 2010.

GUIDO, R. V. C., OLIVA, G., ANDRICOPULO, A. D. Virtual screening and its integration with modern drug design technologies. **Curr. Med. Chem.**, v.15(1), p.37-46, 2008.

GUNER, O., CLEMENT, O., KUROGI, Y. Pharmacophore Modeling and Three Dimensional Database Searching for Drug Design Using Catalyst: Recent Advances. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11(22), p. 2991-3005, 2004.

GURAM, A. S.; BUCHWALD, S. L. Palladium-Catalyzed Aromatic Aminations with in situ Generated Aminostannanes. **J. Am. Chem. Soc.** v. 116, p. 7901-7902, 1994.

HADDEI, N. et al., The First Negishi Cross-Coupling Reaction of Two Alkyl Centers Utilizing a Pd-N-Heterocyclic Carbene (NHC) Catalyst. **Org. Lett.**, v. 7(17), p. 3805-3807, 2005.

HADJERI, M., et al., Recent Advances in the Synthesis of Conveniently Substituted Flavones, Quinolones, Chalcones and Aurones: Potential Biologically Active Molecules. **Current Organic Chemistry**. v. 7, p. 679-689, 2003.

Hamann, B. C., Hartwig, J. F. Sterically Hindered Chelating Alkyl Phosphines Provide Large Rate Accelerations in Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Iodides, Bromides, and Chlorides, and the First Amination of Aryl Tosylates. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 120, p. 7369-7370, 1998.

HAMPEL, H., et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain**, v. 141(7), p. 1917-1933, 2018.

HANE, F., LEONENKO, Z., Effect of Metals on Kinetic Pathways of Amyloid- $\beta$  Aggregation. **Biomolecules**, v. 4(1), p. 101-116, 2014.

HANSEN, R. A., et al. Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **Clin. Interv. Aging**, v. 3, p. 211-225, 2008.

HAREL, D. et al. Natural product derived antiprotozoal agents: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of novel chromene and chromane derivatives. **J. Med. Chem.**, v. 56 (18), p. 7442-7448, 2013.

HILI, R. & YUDIN, A.K., Making carbon-nitrogen bonds in biological and chemical synthesis. **Nature Chemical Biology**. v. 2(6), p. 284-287, 2006.

HIPPIUS, HANNS; NEUNDÖRFER, GABRIELE. The discovery of Alzheimer's disease, **Dialogues in Clinical Neuroscience, Clinical research - Vol 5 . No. 1 . 2003**

HIREMATHAD, A. et al. Hydroxypyridinone-benzofuran hybrids with potential protective roles for Alzheimer's disease therapy. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 179, p. 82-96 2018

INESTROSA, N. C., et al. Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid-beta-peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme. **Neuron**. v 16, p. 881-891, 1996.

- INGKANINAN, K. et al. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. **Journal of Ethnopharmacology**. v.89, p. 261-264, 2003.
- IZQUIERDO, I. Mechanism of action of scopolamine as an amnesic. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 10(5), p. 175–177, 1989.
- JAGUST, W. Imaging the evolution and pathophysiology of Alzheimer disease. **Nat Rev Neurosci**. v. 19(11), p. 687-700, 2018.
- JANA, S., GANESHPURKAR, A., SINGH, S. Multiple 3D-QSAR modeling, e-pharmacophore, molecular docking, and in vitro study to explore novel AChE inhibitors. **RSC Adv**. v. 8, p. 39477–39495, 2018.
- JIANG, X. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of new teritrem B analogues. **Chemistry & biodiversity**, v. 2, n. 4, p. 557-567, 2005.
- JOHNSON, G., & MOORE, S.W. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. **Current Pharmaceutical Design**. v. 12, p. 217-225, 2006.
- JOSEPH, J., et al. Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. **J Neurosci**., v. 29, p. 12795–12801, 2009.
- KAHNBERG, P. et al. Refinement and evaluation of a pharmacophore model for flavone derivatives binding to the benzodiazepine site of the GABAA receptor. **Journal of Medicinal chemistry**, v. 45(19), p. 4188-4201, 2002.
- KIM, S. H. et al. Beyond symptomatic effects: potential of donepezil as a neuroprotective agent and disease modifier in Alzheimer's disease. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, p. 4224–4232, 2017.
- KIVIPELTO, M., MANGIALASCHE, F., NGANDU, T.. Lifestyle interventions to prevent cognitive impairment, dementia and Alzheimer disease. *Nature Reviews - Neurology*, v. 14, p. 653-666, 2018.
- KONWAR, M. et al., Synthetic advances in C(sp<sup>2</sup>)-H/NeH arylation of pyrazole derivatives through activation/substitution. **Tetrahedron**. v. 102(2), p. 132504, 2021.
- KÓNYA, K. et al., Buchwald–Hartwig Reactions of Monohaloﬂavones. **Eur. J. Org. Chem**. v. 4, p. 828–83, 2015.
- KOSUGI, M.; KAMEYAMA, M.; MIGITA, T. **Chem. Lett.**, p. 927, 1983.
- KRYGER, G., SILMAN, I., SUSSMAN, J. L. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept®): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. **Structure**, v. 7(3), p. 297-307, 1999.
- KULSHRESHTHA, A., PIPLANI, P. Current pharmacotherapy and putative disease-modifying therapy for Alzheimer's disease. **Neurological Sciences**, v. 37(9), p 1403–1435, 2016.
- LA FATA, G., et al. Effects of Vitamin E on Cognitive Performance during Ageing and in Alzheimer's Disease. **Nutrients**. v. 6, p. 5453-5472, 2014.
- LAI, D.-H. et al. Isolation, characterization and acetylcholinesterase inhibitory activity of alkaloids from roots of *Stemona sessilifolia*. **Fitoterapia**. v. 89, p. 257–264, 2013.
- LAMBERT, J.B.; MAZZOLA, E.P. **Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods**; Prentice Hall: Saddle River, NJ, USA, 2004; ISBN 978-0-13-089066-5.
- LAN, J.-S et al. Design, synthesis and biological activity of novel donepezil derivatives bearing N-benzyl pyridinium moiety as potent and dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 133, p. 184-196, 2017.
- LANEA, C. A., HARDYB, J. SCHOTT, J. M. Alzheimer's Disease: A Review. **European Journal of Neurology**, v. 25(1), p. 59–70, 2018.
- LEE, S.-Y. et al. Synthesis and Biological Evaluation of 1-(4-[<sup>18</sup>F]Fluorobenzyl)-4-[(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)methyl]piperidine for in Vivo Studies of Acetylcholinesterase. **Nuclear Medicine & Biology**. v. 27, p. 741–744,

2000.

LEMKE, T. L. et al. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 6a. ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

LEÓN, R. et al. Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Medicinal Research Reviews**, 33, n. 1, p. 139-189, 2013

LEÓN, R., GARCIA, A. G., MARCO-CONTELLES, J. Recent Advances in the Multitarget-Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Medicinal Research Reviews**. v. 33(1), p. 139-189, 2013.

LEONETTI, F. et al. Homo- and hetero-bivalent edrophonium-like ammonium salts as highly potent, dual binding site AChE inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 16 (15), p. 7450-7456, 2008.

LEWIS, W. G. et al. Click Chemistry In Situ: Acetylcholinesterase as a Reaction Vessel for the Selective Assembly of a Femtomolar Inhibitor from an Array of Building Blocks. **Angew. Chem. Int.** v. 41(6), p. 1053-1057, 2002.

LI, Q. et al. Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 132, p. 294-309, 2017.

LICA, J. J. et al. Effective Drug Concentration and Selectivity Depends on Fraction of Primitive Cells. **Int. J. Mol.** v. 22, p. 4931, 2021.

LIGHTHART, S. A., et al. Treatment of cardiovascular risk factors to prevent cognitive decline and dementia: a systematic review. **Vas Health Risk Manag**; v. 6, p. 775-85, 2010.

LING, K. H. Territrems, tremorgenic mycotoxins isolated from *Aspergillus terreus*. **Journal of Toxicology: Toxin Reviews**, v. 13(3), p. 243-252, 1994.

LING, K. H.; YANG, C. K.; PENG, F. T. Territrems, tremorgenic mycotoxins of *Aspergillus terreus*. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 37, p. 355-357, 1979.

LIU, Q. Y., et al., Effects of intrahippocampal GABAB receptor antagonist treatment on the behavioral long-term potentiation and Y-maze learning performance. **Neurobiol Learn Mem**. v. 114, p. 26-31, 2014.

LOKHANDE, P. D., et al. Dimethylsulfoxide-iodine catalysed deprotection of 2'-allyloxychalcones: synthesis of flavones. **Tetrahedron Letters**. v. 46, p. 1573-1574, 2005

LÓPEZ O. L., DEKOSKY, S. T. Neuropathology of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **Rev Neurol**. v. 37(2), p. 155-63, 2003.

LOUIE, J.; HARTWIG, J. F. Palladium-catalyzed synthesis of arylamines from aryl halides. Mechanistic studies lead to coupling in the absence of tin reagents. **Tetrahedron Lett**. v. 36, p. 3609-3612, 1995.

MAGALHÃES, W. L. E. Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA. **EMBRAPA** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado Técnico nº 427, 2018.

MANETSCH, R. et al. In Situ Click Chemistry: Enzyme Inhibitors Made to Their Own Specifications. **J. Am. Chem. Soc.** v. 126, p. 12809-1281, 2004.

MANTOANI, S. P. et al. Novel Triazole-Quinoline Derivatives as Selective Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors. **Molecules**, v. 21, p. 193- , 2016.

MARSHALL, A. et al. A carte blanche approval in Alzheimer's. **Nat Biotechnol**. v. 39, p. 781 2021.

MASESANE, I.B. A comprehensive review of the oxidative cyclisation of 2'-hydroxychalcones to aurones and flavones. **International Journal of Chemical Studies**. v.3(3), p.53-59, 2015.

MASON, J. S., GOOD, A. C., MARTIN, E.J. 3-D Pharmacophores in Drug Discovery. **Curr. Pharm. Des.** v. 7(7), p. 567-597, 2001.



- MASSOUD, F., GAUTHIER, S. Update on the pharmacological treatment of Alzheimer's disease. **Curr Neuropharmacol.** v. 8, p. 69–80, 2010.
- MATOS, A. M. et al., Design and Synthesis of CNS-targeted Flavones and Analogues with Neuroprotective Potential Against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- and A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Induced Toxicity in SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cells. **Pharmaceuticals.** v. 12, p. 98, 2019.
- MAZIMBA, O. et al., An efficient synthesis of flavans from salicylaldehyde and acetophenone derivatives. **Tetrahedron Letters.** v. 52, p. 6716–6718, 2011.
- MESULAM, M. et al. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. **Neuroscience.** v.110, p. 627-639, 2002.
- MERZ JR, K. M, RINGE, D., REYNOLDS, C. H. **Drug Design Structure- and Ligand-Based Approaches.** Cambridge University Press, 2010.
- MILLE, T. et al. "Acetylcholine and spinal locomotor networks: The insider." **Physiological reports.** v. 9(3) 2021.
- MINETT, T. S. C., BERTOLUCCI, P. H. F. Terapia Colinérgica na Doença de Alzheimer. **Rev. Neurociências.** v. 8(1), p. 11-14, 2000.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods.** v. 65(1-2), p. 55–63, 1983.
- MUKHERJEE, K. et al. Lead Finding for Acetyl Cholinesterase Inhibitors from Natural Origin: Structure Activity Relationship and Scope. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.** v. 11(3), p. 247–262, 2011.
- NAIK, M. M., TILVE, S. G., KAMAT, V. P. Pyrrolidine and iodine catalyzed domino aldol-Michael-dehydrogenative synthesis of flavones. **Tetrahedron Letters.** v. 55, p. 3340–3343, 2014.
- NGUYEN, D.H. et al., Ellagitannin and flavonoid constituents from *Agrimonia pilosa* Ledeb. with their protein tyrosine phosphatase and acetylcholinesterase inhibitory activities. **Bioorg. Chem.** v. 72, p. 293-300, 2017.
- NORDBERG, G. F. et al. **Handbook on the Toxicology of Metals.** 4<sup>a</sup> edição. Elsevier, 2015.
- NORTON, S. et al. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. **Lancet Neurol.** v. 13, p. 788–794, 2014.
- OCHOA, R., RODRIGUEZ, C. A., ZULUAGA, A. F.. Perspectives for the structure-based design of acetylcholinesterase reactivators. **Journal of Molecular Graphics and Modelling.** v. 68, p. 176–183, 2016.
- OKANO, K.; et al. Copper-mediated aromatic amination reaction and its application to the total synthesis of natural products. **Chem. Commun.** v. 50, p. 13650–13663, 2014.
- OMRAN, Z. et al. Synthesis and biological evaluation as AChE inhibitors of new indanones and thiaindanones related to donepezil **European Journal of Medicinal Chemistry.** v. 40, p. 1222–1245, 2005.
- ÖZER, E. Ö. et al. Synthesis, molecular modeling and evaluation of novel N'-2-(4-benzylpiperidin-/piperazin-1-yl) acylhydrazone derivatives as dual inhibitors for cholinesterases and A $\beta$  aggregation. **Bioorganic & medicinal chemistry letters,** v. 23(2), p. 440-443, 2013.
- PATEL, S., SHAH, U. Synthesis of flavones from 2-hydroxy acetophenone and aromatic aldehyde derivatives by conventional methods and green chemistry approach. **Asian J Pharm Clin Res.** v 10(2), p. 403-406, 2017.
- PATHAN, S.R., et al., A facile synthesis of flavones using recyclable ionic liquid under microwave irradiation. **ARKIVOC,** v. 16, p. 43-48, 2006.
- PAUL, F.; PATT, J.; HARTWIG, J. F. Palladium-catalyzed formation of carbon-nitrogen bonds. Reaction intermediates and catalyst improvements in the hetero cross-coupling of aryl halides and tin amides. **J. Am. Chem. Soc.** v. 116, p. 5969–5970, 1994.

PAUL, R. et al. Suggesting 7,8-dihydroxyflavone as a promising nutraceutical against CNS disorders. **Neurochemistry International**, v. 148, p. 105068, 2021.

PAVIA, Donald. **Introdução à espectroscopia**. 2ª edição. Cengage Learning. 2015.

PEÑA-MORÁN, et al. Cytotoxicity, Post-Treatment Recovery, and Selectivity Analysis of Naturally Occurring Podophyllotoxins from *Bursera fagaroides* var. *fagaroides* on Breast Cancer Cell Lines. **Molecules**. v. 21, p. 1013, 2016.

PENG, FU-CHUO. Acetylcholinesterase inhibition by territrein B derivatives. **Journal of natural products**, v. 58(6), p. 857-862, 1995.

POHANKA, Miroslav. Acetylcholinesterase inhibitors: a patent review (2008–present). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 22, n. 8, p. 871-886, 2012.

POLINSKY, R.J. Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. **Clinical therapeutics**, v. 20, n. 4, p. 634-647, 1998.

PRINCE M, WIMO AGM, ALI GC, WU YT, PRINA M. World Alzheimer Report 2015: the global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. **London: Alzheimer's Disease International**; 2015

PRZYBYŁOWSKA, M. et al. Therapeutic Potential Of Multifunctional Derivatives Of Cholinesterase Inhibitors. **Current neuropharmacology**. 2020

PUDLO, M. et al. Quinolone–benzylpiperidine derivatives as novel acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant hybrids for Alzheimer Disease. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 22(8), p. 2496-2507, 2014.

QIU, C.; WINBLAD, B.; FRATIGLIONI, L. The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. **Lancet Neurol**; v. 4, p. 487–99, 2005.

QUEIROZ, M. M. et al. Chemical Composition of the Bark of *Tetrapterys mucronata* and Identification of Acetylcholinesterase Inhibitory Constituents. **J Nat Prod**. v. 77( 3), p.650-56, 2014.

QUERFURTH, H. W., LAFERLA, F. M. Mechanisms of Disease: Alzheimer's Disease. **New England Journal of Medicine**. v. 362(4), p. 329–344, 2010.

RAGAB, H. M. et al. Chlorinated tacrine analogs: Design, synthesis and biological evaluation of their anti-cholinesterase activity as potential treatment for Alzheimer's disease. **Bioorg Chem**. v 86, p. 557-568, 2019.

RAI, V. K., One-Pot Allan–Robinson/Friedländer Route to Chromen-/Quinolin-4-ones through the Domino Acetylation Cyclisation of 2-Hydroxy-/2-Aminobenzaldehydes. **Eur. J. Org. Chem**. p. 537–544, 2018.

ROBERT, A. et al. Regulation of copper and Iron homeostasis by metal chelators: A possible chemotherapy for alzheimers disease. **Accounts of Chemical Research**. v. 48(5), p. 1332–1339, 2015.

RUIZ-CASTILLO, P. & BUCHWALD, S. L. Applications of Palladium-Catalyzed C–N Cross-Coupling Reactions. **Chem. Rev**. v. 116, p. 12564–12649, 2016.

SALAHUDEEN M. S. et al. Anticholinergic burden quantified by anticholinergic risk scales and adverse outcomes in older people: a systematic review. **BMC Geriatr**. v.15, p. 31, 2015.

SANABRIA-CASTRO, A., ALVARADO-ECHEVERRÍA, I., MONGE-BONILLA, C., Molecular Pathogenesis of Alzheimer's Disease: An Update. **Ann Neurosci**. v. 24(1), p 46-54, 2017.

SANG, Z., et al. Multifunctional scutellarin–rivastigmine hybrids with cholinergic, antioxidant, biometal chelating and neuroprotective properties for the treatment of Alzheimer's disease. **Bioorg. Med. Chem**. v. 23, p. 668–680, 2015a.

SANG, Z., et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Scutellarein Carbamate Derivatives as Potential Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Chem Biol Drug Des**. v. 86, p. 1168–1177, 2015b.

SANJUAN, V. R. et al. Stability, biological and biopharmaceutical evaluation of the inclusion complexes of the antifungal and antiprotozoal drug candidate 2-(2-nitrovinyl) furan (G-0) with beta cyclodextrin derivatives. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v. 58, p. 101767, 2020.

SANTOS, V. M. R. et al. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Quím. Nova**. v. 30(1), p. 159-170, 2007.

SASHIDHARA, K. V., KUMAR, M., KUMAR, A. A novel route to synthesis of flavones from salicylaldehyde and acetophenone derivatives. **Tetrahedron Letters**. v. 53, p. 2355–2359, 2012.

SCHOLZ, U., Evolution of Transition Metal Catalyzed Amination Reactions: The Industrial Approach. **ChemInform**. v. 40(52), p. 333-375, 2009.

SELKOE, D. J., HARDY, J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. **EMBO Mol Med**. v. 8(6), p. 595-60, 2016.

SHI, S et al. Semi-synthesis and biological evaluation of flavone hybrids as multifunctional agents for the potential treatment of Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**. v. 100, p. 103917, 2020.

SHIH, T.-L. et al. Copper-mediated trimethylsilyl azide in amination of bromoflavonoids to synthesize unique aminoflavonoids. **Tetrahedron**. v. 70, p. 3657-3664, 2014.

SILVA, T. et al. Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: From natural products to drug prototypes. **Ageing Research Reviews**. v. 15(1), p. 116–145, 2014.

SILVA, T., et al. Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: From natural products to drug prototypes. **Ageing Research Reviews**. v 15, p. 116–145, 2014.

SINGH, M., KAUR, M., SILAKARI, O. Flavones: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry. **Eur J Med Chem**. v. 84, p. 206-239, 2014.

SINGH, M., SILAKARI, O. Chapter 4 - Flavone: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry. **Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules**. p. 133-174, 2018.

SITTIRONNARIT, G., et al. Effects of Anticholinergic Drugs on Cognitive Function in Older Australians: Results from the AIBL Study. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 31(3), p. 173–178, 2011.

SOLOMON, A. et al. Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. **J. Intern. Med**. v. 275, p. 229–250, 2014.

Spencer, J. P. The impact of flavonoids on memory: physiological and molecular considerations. **Chem. Soc. Rev**. v. 38, p. 1152– 1161, 2009.

SPILOVSKA, K. et al. Novel Tacrine-Scutellarin Hybrids as Multipotent Anti-Alzheimer's Agents: Design, Synthesis and Biological Evaluation. **Molecules**, v. 22(6), p. 1006-1028; 2017.

SUGIMOTO, Hachiro et al. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. **The Japanese journal of pharmacology**, v. 89, n. 1, p. 7-20, 2002.

SUTTHAPITAKSAKUL, L. et al. Donepezil—an updated review of challenges in dosage form design. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63 (102549), 2021.

SZEGLETES T, et al. Substrate binding to the peripheral site of acetylcholinesterase initiates enzymatic catalysis. Substrate inhibition arises as a secondary effect. **Biochemistry**, v. 38, p. 122–133, 1999.

TAHIRA, A.C., VERJOVSKI-ALMEIDA, S., FERREIRA, T.S. Dementia is an age-independent risk factor for severity and death in COVID-19 inpatients. **Alzheimer's Dement**. v.17(4), 2021.

TAN, C.C., et al. Efficacy and Safety of Donepezil, Galantamine, Rivastigmine, and Memantine for the Treatment of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 41(2), p. 615-

631, 2014.

TANZI, R. E., JOSEPH, P., KENNEDY, R.F. FDA Approval of Aduhelm Paves a New Path for Alzheimer's Disease. **ACS Chem. Neurosci.** v.12, p. 2714–2715, 2021.

TELERMAN, A. et al., 3,5,4'-trihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone protects against beta amyloid-induced neurotoxicity through antioxidative activity and interference with cell signaling. **BMC Complement. Altern. Med.**, v. 17(1), p. 332, 2017.

TERRY, A. V., BUCCAFUSCO J. J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. **J Pharmacol Exp Ther.** v. 306(3), p. 821–827, 2003.

THORAT, N. M., et al. N-Benzoylation of 6-aminoflavone by reductive amination and efficient access to some novel anticancer agents via topoisomerase II inhibition. **Molecular Diversity.** v. 25, p. 937–948, 2021.

TIAN, S., et al. Multi-Target Drug Design of Anti-Alzheimer's Disease based on Tacrine. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.** v. 21(15), p. 2039-2064, 2021.

TORRES, F. C., et al. Combining the Pharmacophore Features of Coumarins and 1,4-Substituted 1,2,3-Triazoles to Design New Acetylcholinesterase Inhibitors: Fast and Easy Generation of 4-Methylcoumarins/1,2,3-triazoles Conjugates via Click Chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 27(9), p. 1541-1550, 2016.

TRAN, THAI-SON. et al. Synthesis, In Silico and In Vitro Evaluation of Some Flavone Derivatives for Acetylcholinesterase and BACE-1 Inhibitory Activity. **Molecules.** v. 25, p. 4064; 2020.

TRANG, D. H. T., et al. Investigation on the in vitro antioxidant capacity of methanol extract, fractions and flavones from *Oroxylum indicum* Linn bark. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 54(1):e17178, 2018.

TRZECIAK, P., HERBET, M., DUDKA, J. Common Factors of Alzheimer's Disease and Rheumatoid Arthritis—Pathomechanism and Treatment. **Molecules.** v. 26, p. 6038, 2021.

ULLMANN; F., BIELECKI, J. Ueber Synthesen in der Biphenylreihe. **Chemische Berichte.** v. 34 (2), p. 2174–2185, 1901.

UUSVAARA J, et al. Association between anticholinergic drugs and apolipoprotein E epsilon4 allele and poorer cognitive function in older cardiovascular patients: a cross-sectional study. **J Am Geriatr Soc.** v. 57, p. 427–31, 2009.

VAN MONTFORT, R. L. M, WORKMAN, P. Structure-based drug design: aiming for a perfect fit. **Essays in Biochemistry.** v. 61(5), p. 431-437, 2017.

VENTURA A. L. M., et al. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Rev Psiquiatr.** v. 37(2), p. 66-72, 2010.

VERMA, R. P., HANSCH, C. Camptothecins: A SAR/QSAR Study. **Chem. Rev.** v. 109, p. 213–235, 2009.

VILLETTE, V., DUTAR, P. GABAergic microcircuits in Alzheimer's disease models. **Curr Alzheimer Res.** v. 14(1), p. 30–39, 2017.

VOGEL, A. I. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry.** 5a Edição. Nova York: John Wiley & Sons; 1989.

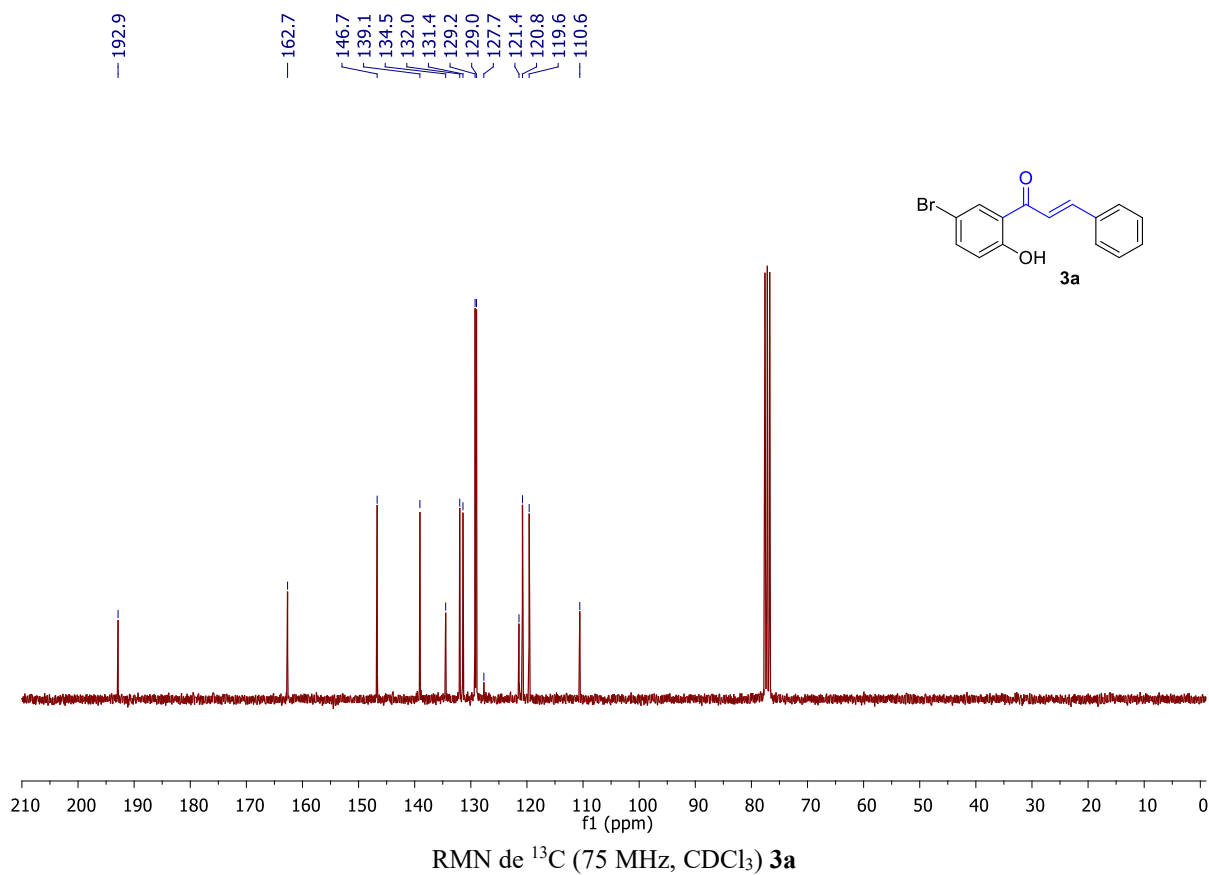
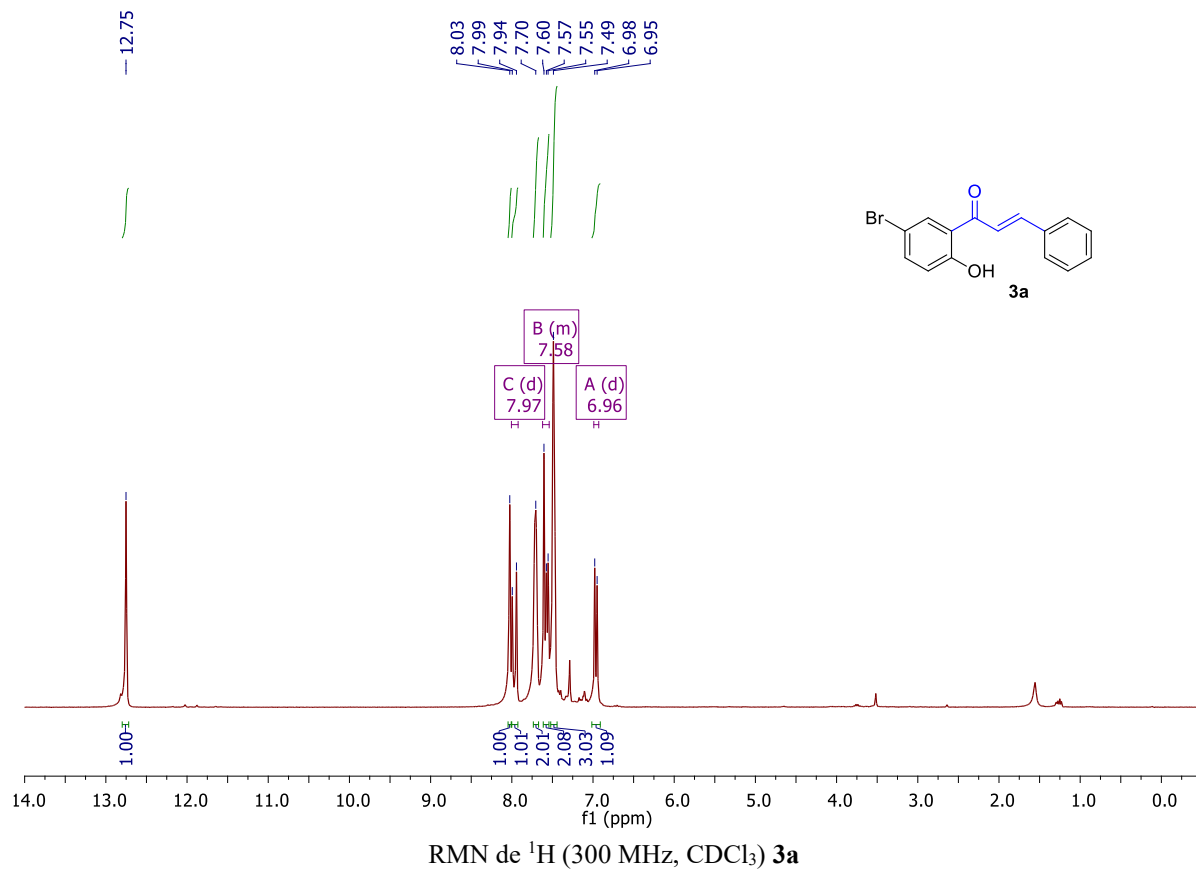
WAMBUA, V. et al., Rapid Evaluation of the Mechanism of Buchwald–Hartwig Amination and Aldol Reactions Using Intramolecular <sup>13</sup>C Kinetic Isotope Effects. **ACS Catal.**, v. 11, p. 60–67, 2021.

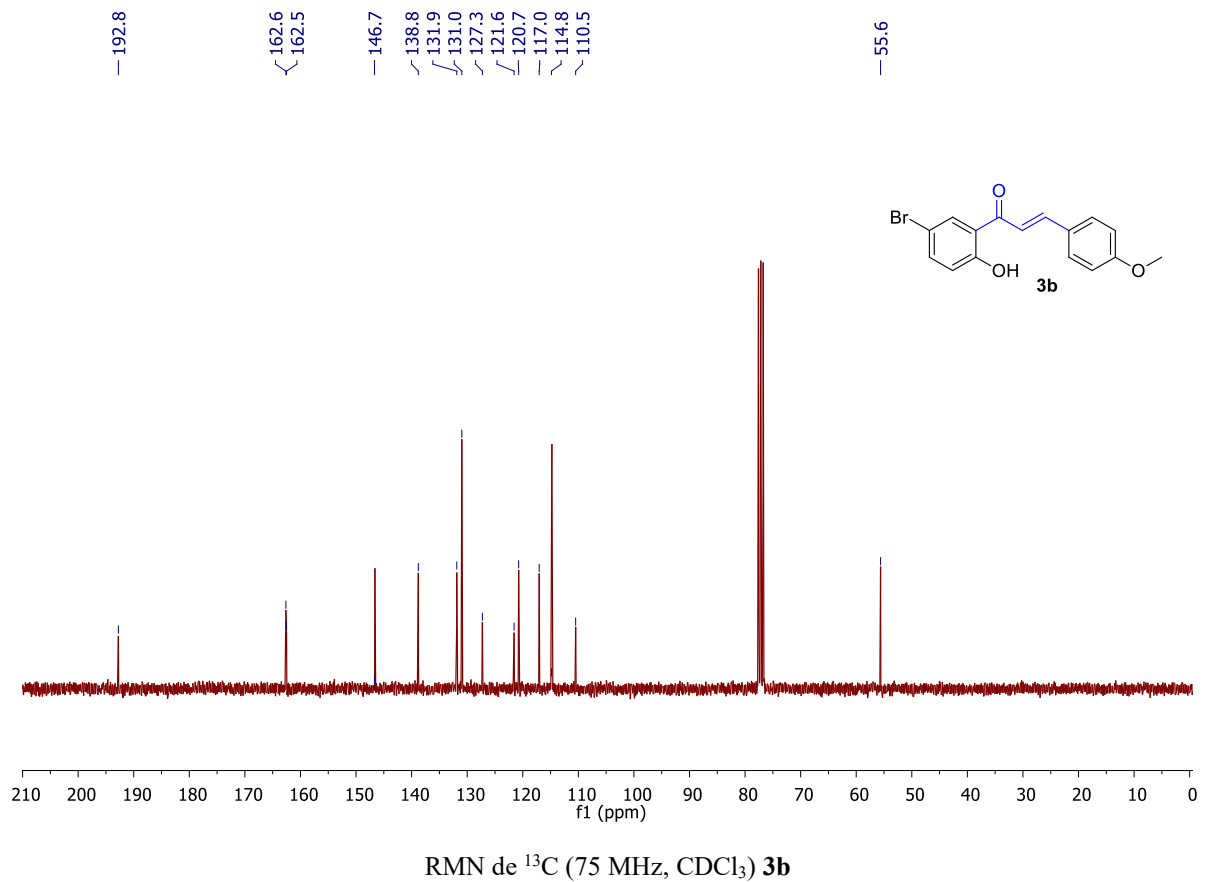
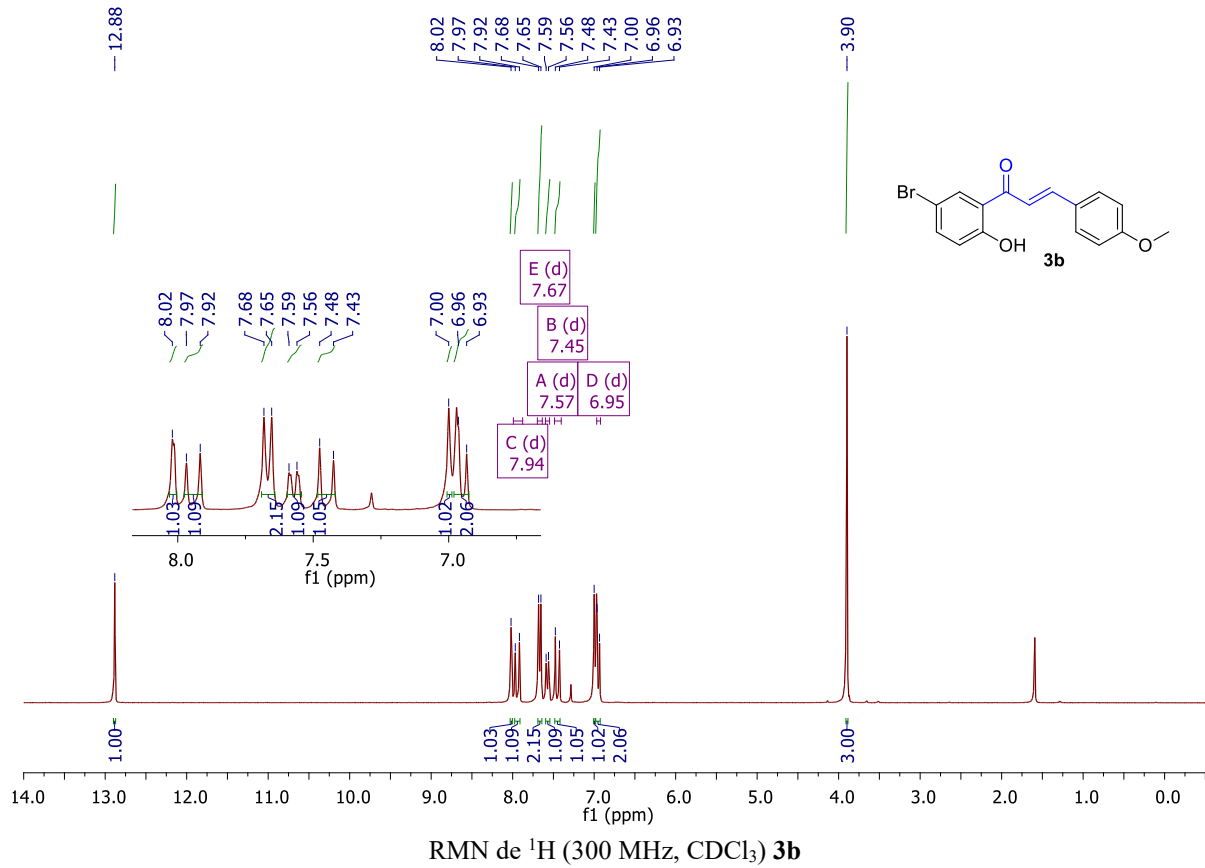
WANG, J. et al. A systemic view of Alzheimer disease — insights from amyloid- $\beta$  metabolism beyond the brain. **Nature reviews neurology.** v. 13, p. 612–623, 2017.

WAITMAN, K. Laboratório de Planejamento e Síntese de Substâncias Bioativas (LAPPESB) - Universidade de São Paulo (USP), 2021.

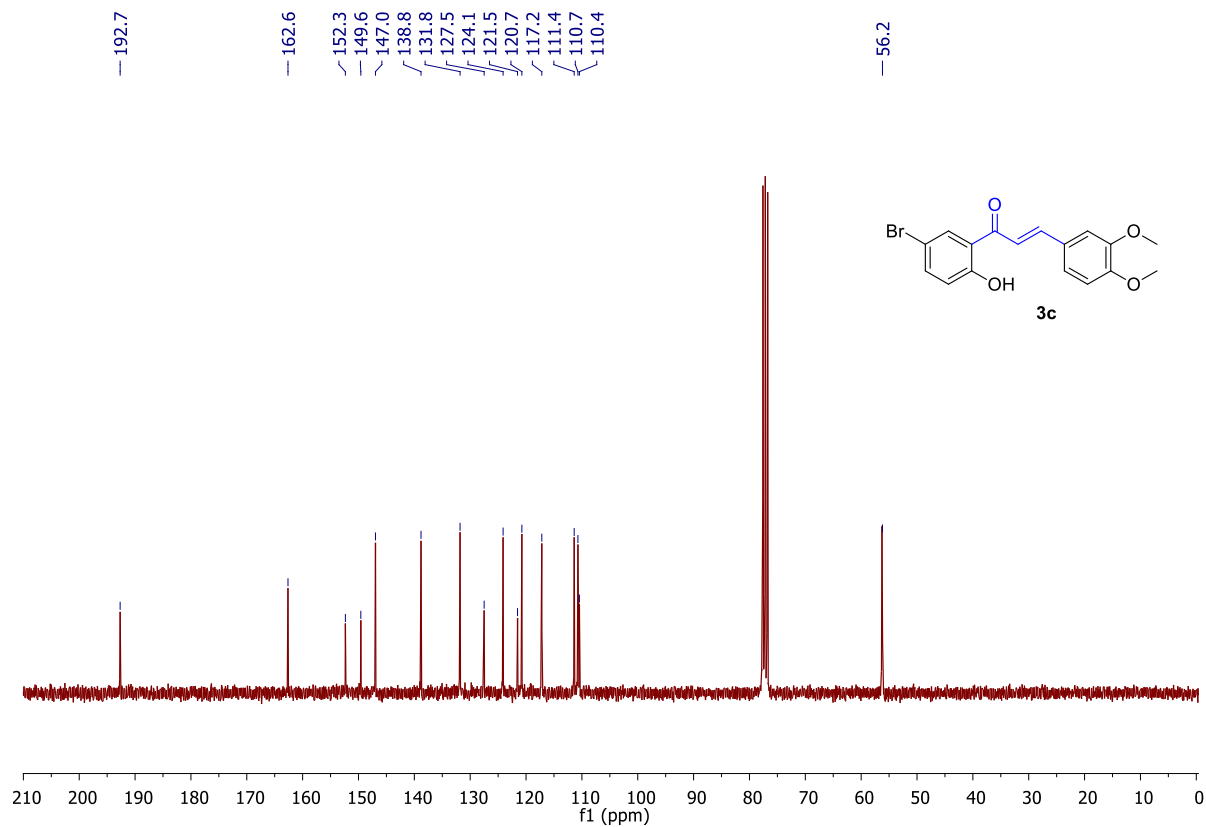
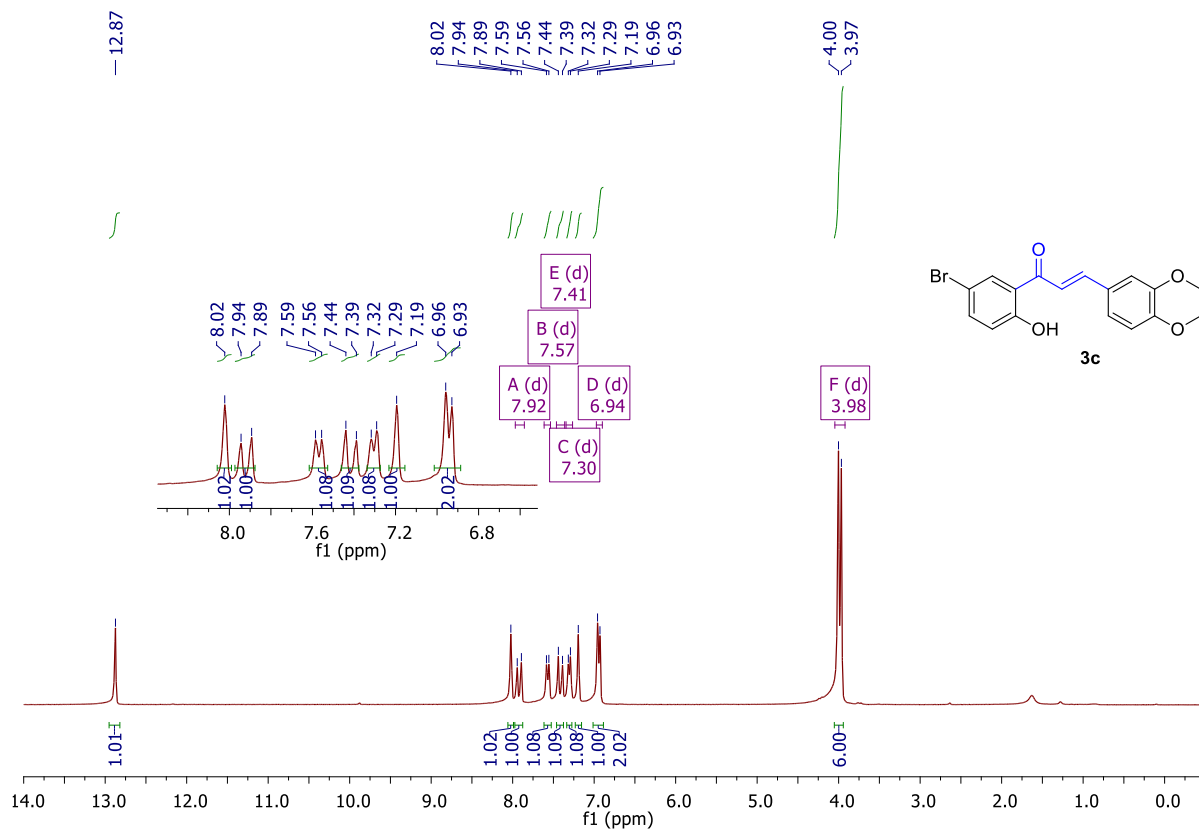
- WANG, X. et al. An Efficient One-Pot Synthesis and Anticancer Activity of 4'-Substituted Flavonoids. **Russian Journal of General Chemistry**. v. 88(5), p. 1036–1041, 2018.
- WANG, XIAO-BING. et al. Chromone and donepezil hybrids as new multipotent cholinesterase and monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. **The Royal Society of Chemistry - Medicinal Chemistry**. v. 11, p.225–233, 2020.
- WANG, ZHI-MIN et al. Rational modification of donepezil as multifunctional acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. **European journal of medicinal chemistry**, v. 123, p. 282-297, 2016.
- WANG, Z. et al. Dietary Luteolin: A Narrative Review Focusing on Its Pharmacokinetic Properties and Effects on Glycolipid Metabolism. **J. Agric. Food Chem.** v. 69 (5), p. 1441–1454, 2021.
- WERMUTH, C. G.; **The Practice of Medicinal Chemistry**, 3a. ed., Elsevier/Academic Press: London, 2008.
- WHITEHOUSE, P. J. et al. Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. **Annals of Neurology**, v. 10(2), p. 122–126, 1981.
- WHO, World Health Organization, **Dementia. Key facts**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>> 2021
- WIESNER, J. et al. Acetylcholinesterases-the structural similarities and differences. **J Enzyme Inhib Med Chem.**, v. 22, p. 417–424, 2007.
- WISCHIK, C. M.; HARRINGTON, C. R.; STOREY, J. M. D. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. **Biochemical Pharmacology**, v. 88(4), p. 529–539, 2014.
- WOLLMER, M. A. Cholesterol-related genes in Alzheimer's disease. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1801 (8), p. 762–77, 2010.
- WU, J., et al. Brain imaging of nicotinic receptors in Alzheimer's disease. **Int J Alzheimers Dis**. p. 1-11, 2010.
- XU, H. et al. Long-term Effects of Cholinesterase Inhibitors on Cognitive Decline and Mortality. **Neurology**. v. 96(17), p. 2220-2230, 2021.
- YIN, G., et al., Synthesis of functionalized 2-aryl-4-(indol-3-yl)-4H-chromenes via iodine-catalyzed domino Michael addition–intramolecular cyclization reaction **Org. Biomol. Chem.**, v. 10, p. 8877–8883, 2012.
- ZHANG, M. et al. Molecular hybridization used to design and synthesize neo-tanshinlactone derivatives as PD-1/PD-L1 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 54, p. 116579, 2022.
- ZHANG, S. et al. Molecular Hybridization: An Emerging Tool for the Design of Novel Therapeutics for Alzheimer's Disease. **Design of Hybrid Molecules for Drug Development** -Chapter 8 - Molecular Hybridization. p. 219-237, 2017.
- ZHAO, Y. et al. Preparation of Analogues of Territrein B, a Potent AChE Inhibitor. **Tetrahedron**. v. 56(45), p. 8901–8913, 2000.
- ZHOU, Y., WANG, S., & ZHANG, Y. Catalytic Reaction Mechanism of Acetylcholinesterase Determined by Born-Oppenheimer ab initio QM/MM Molecular Dynamics Simulations. **J. Phys. Chem B**. v. 114(26), p. 8817–8825, 2010.
- ZHOU, Y. et al. Next generation of fluorinecontaining pharmaceuticals, compounds currently in phase II-III clinical trials of major pharmaceutical companies: new structural trends and therapeutic areas. **Chem. Rev.** v. 116, p. 422–518, 2016.
- ZHOU, Y. et al., Kinetics-Driven Drug Design Strategy for Next-Generation Acetylcholinesterase Inhibitors to Clinical Candidate. **J. Med. Chem.** v. 64(4), p. 1844–1855, 2021.
- ZOU, Z. et al., Selagintriflavonoids with BACE1 inhibitory activity from the fern *Selaginella doederleinii*. **Phytochemistry**. v. 134, p. 114-121, 2017.

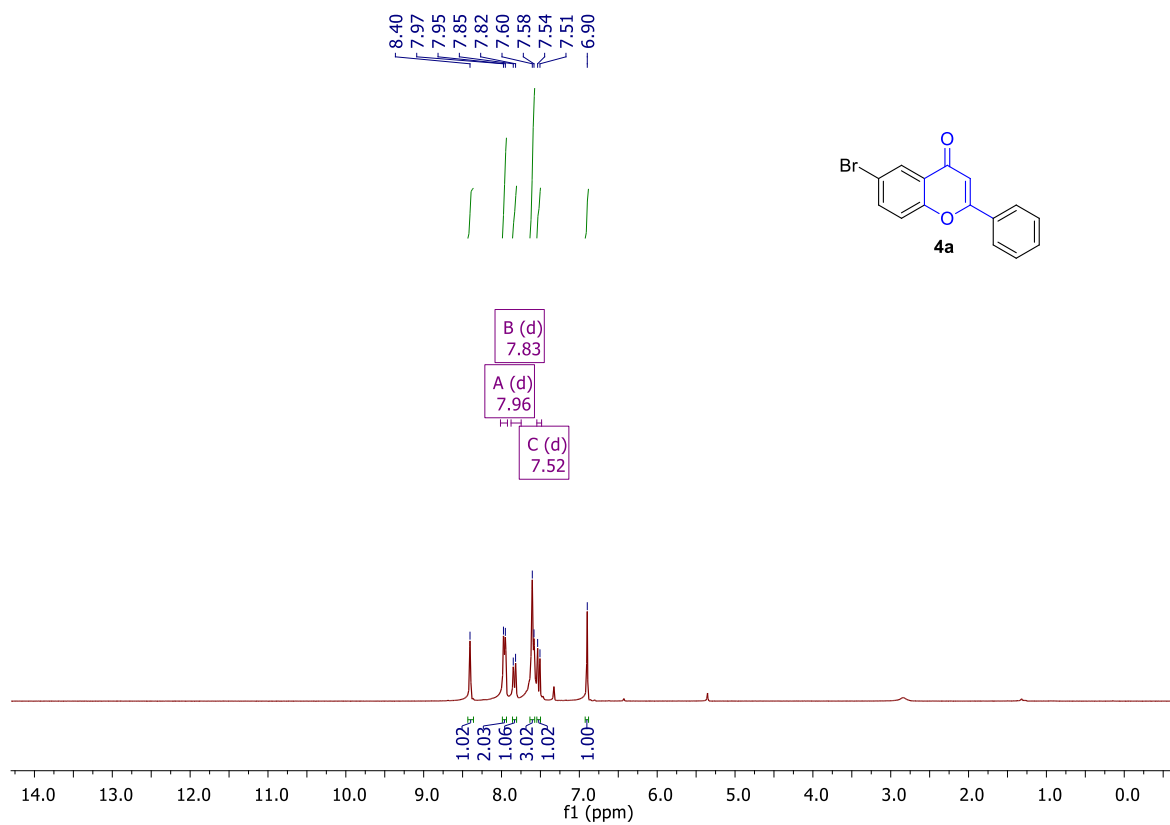
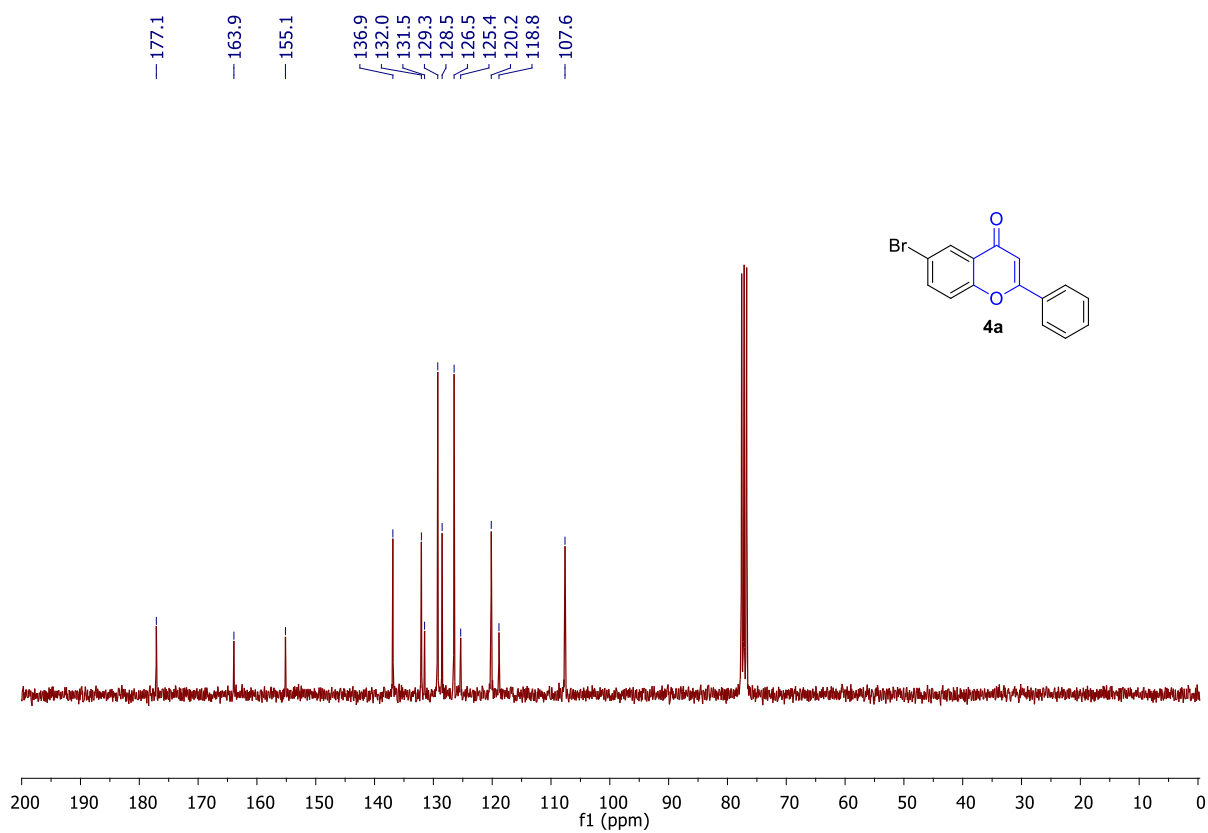
**ANEXO 1**  
**Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$**

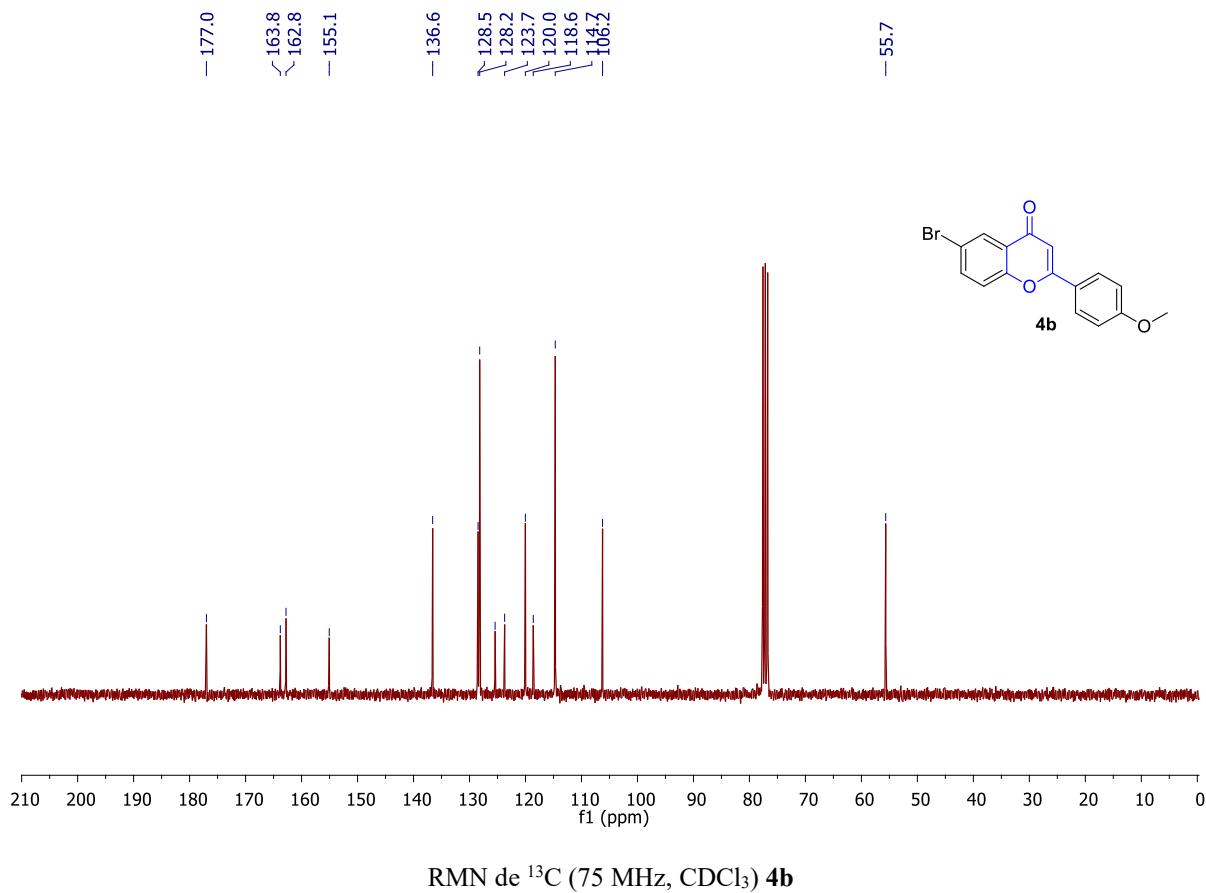
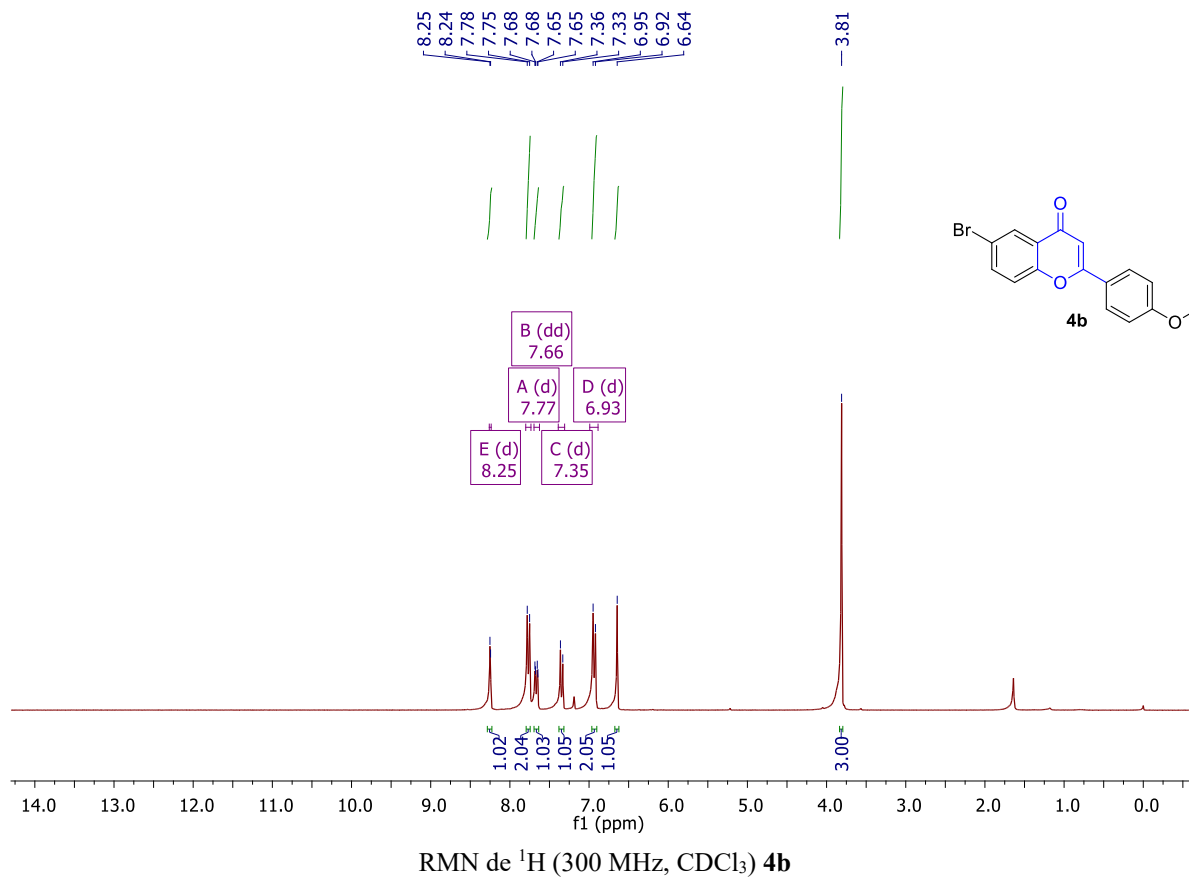


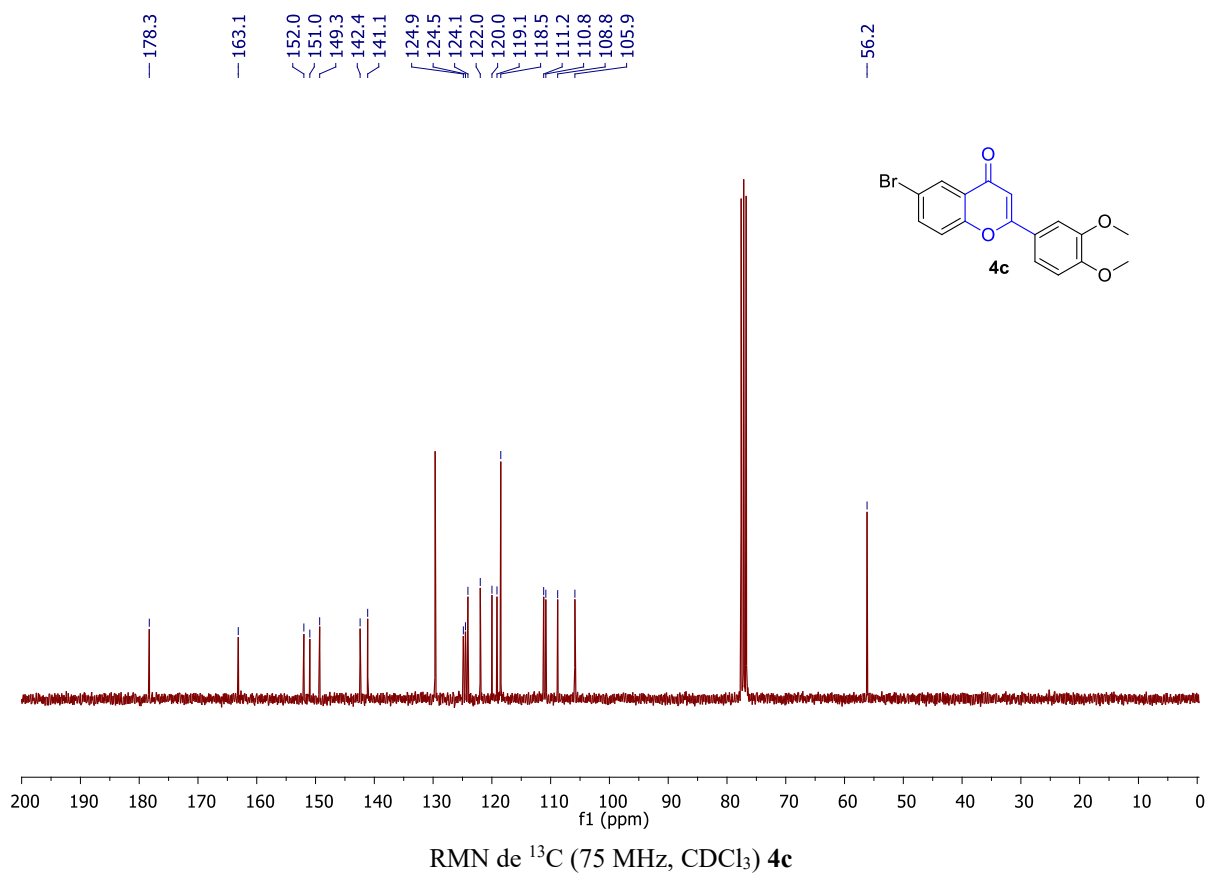
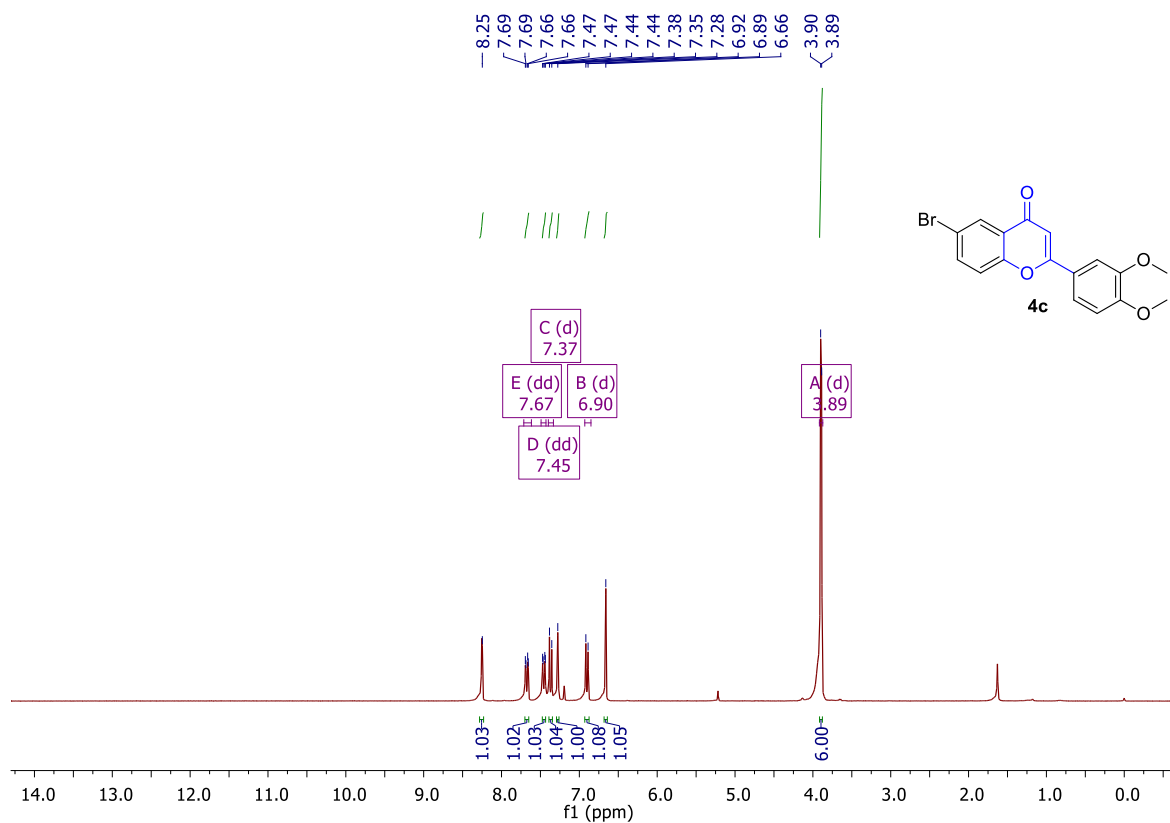


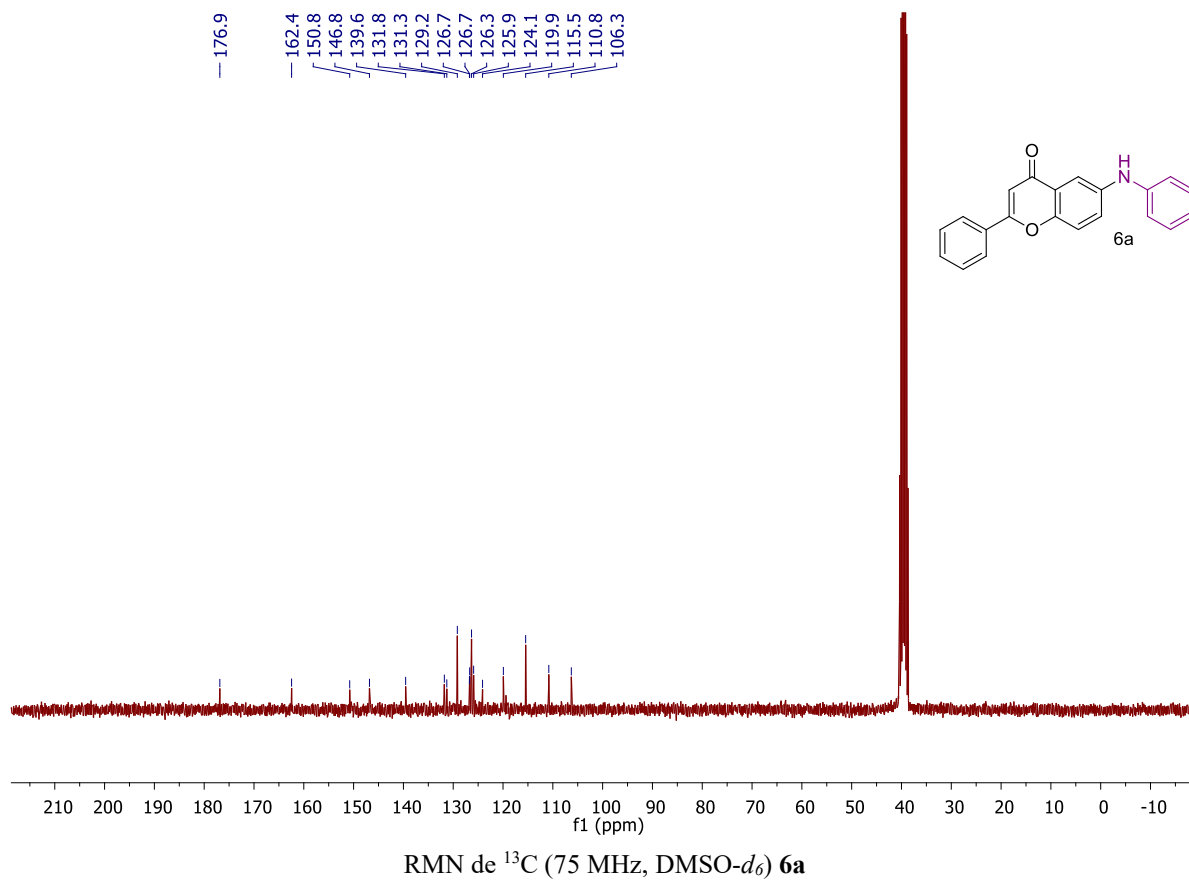
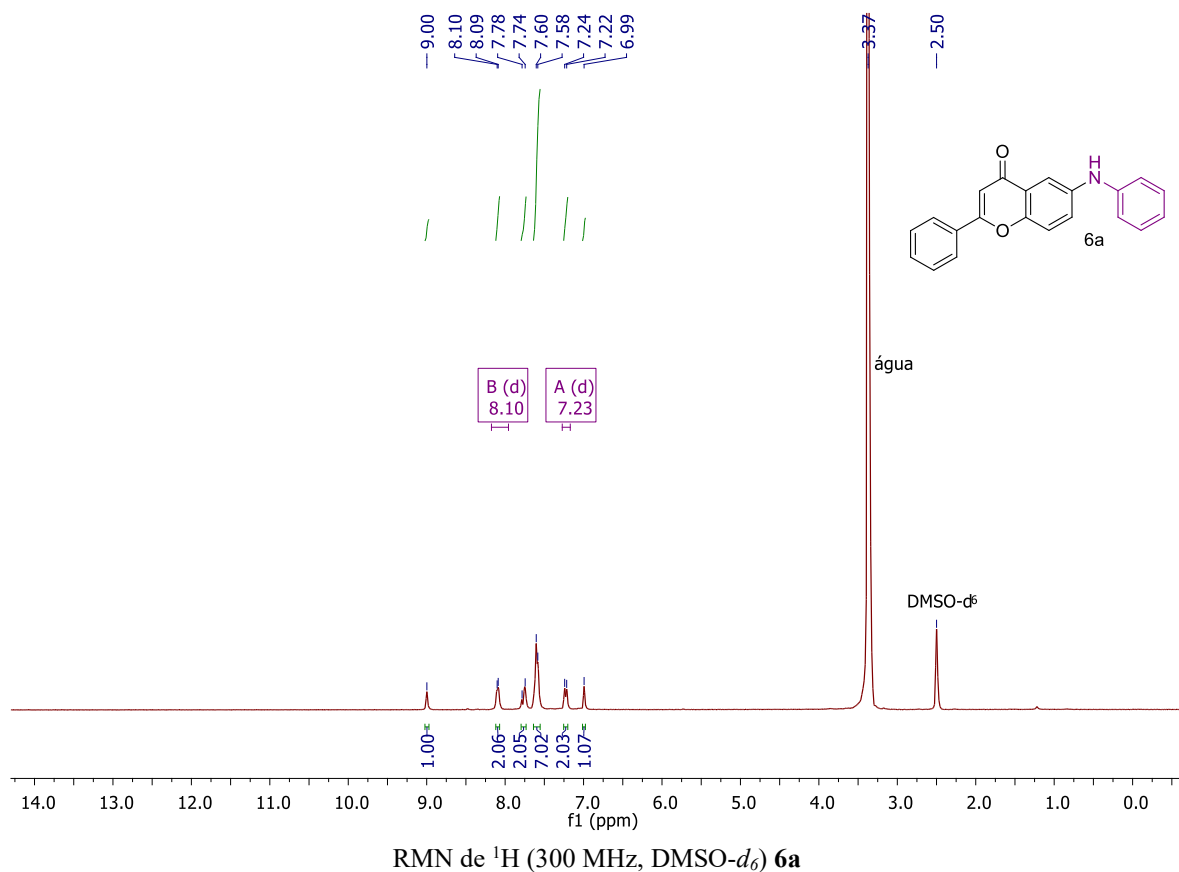


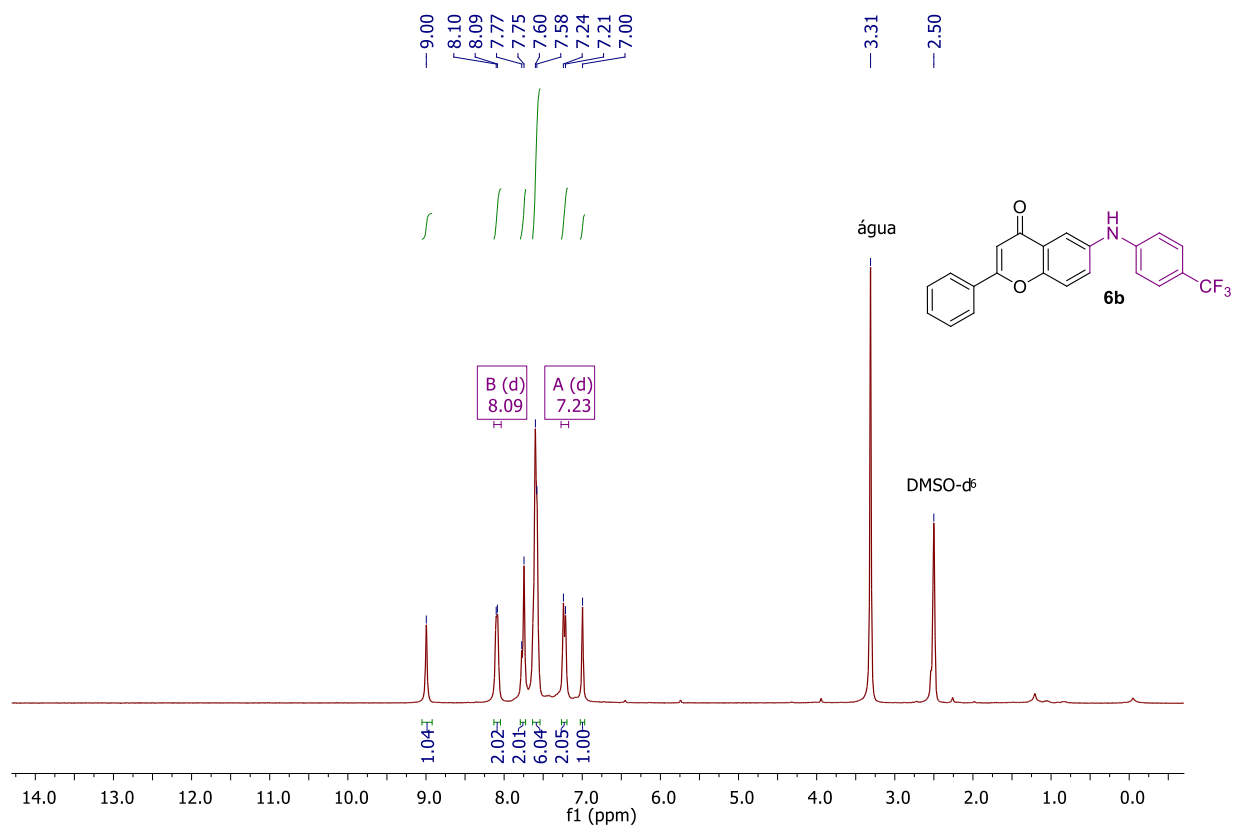
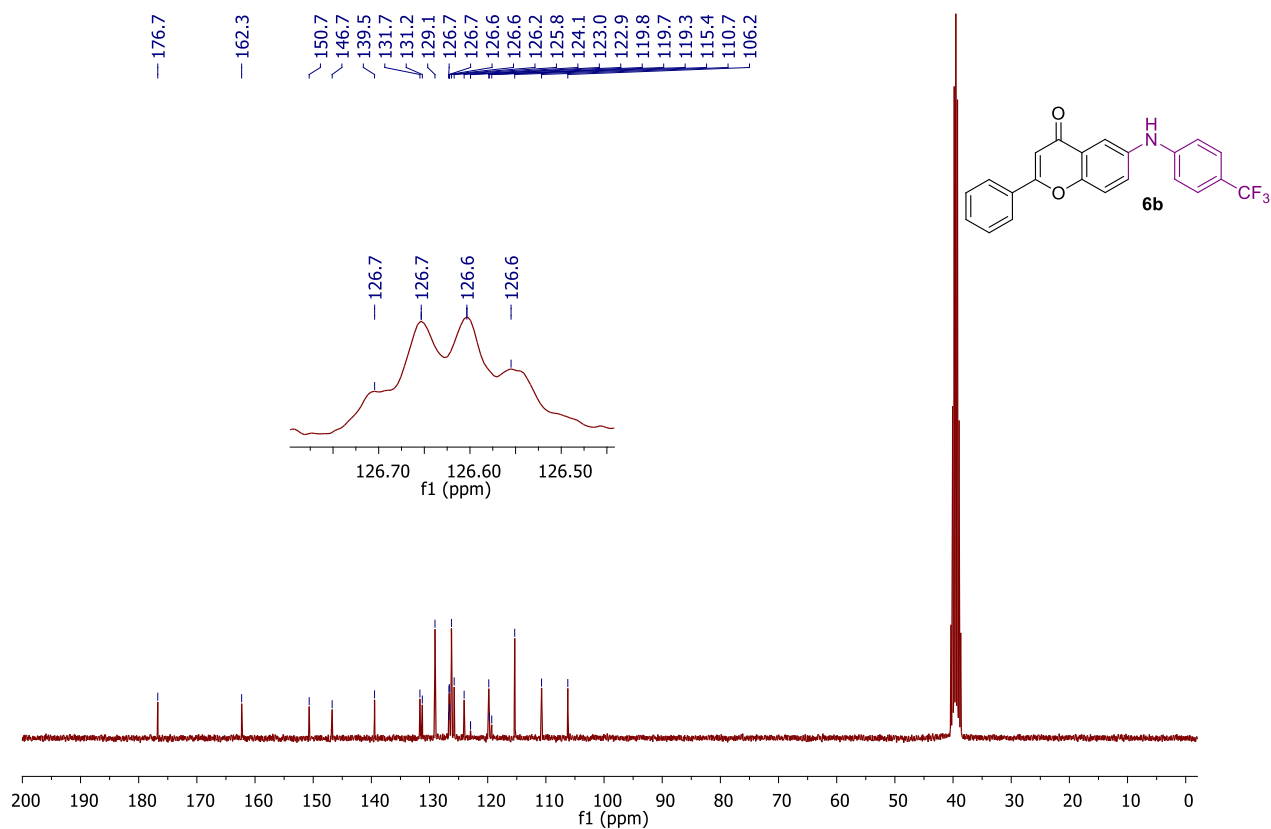
RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3c

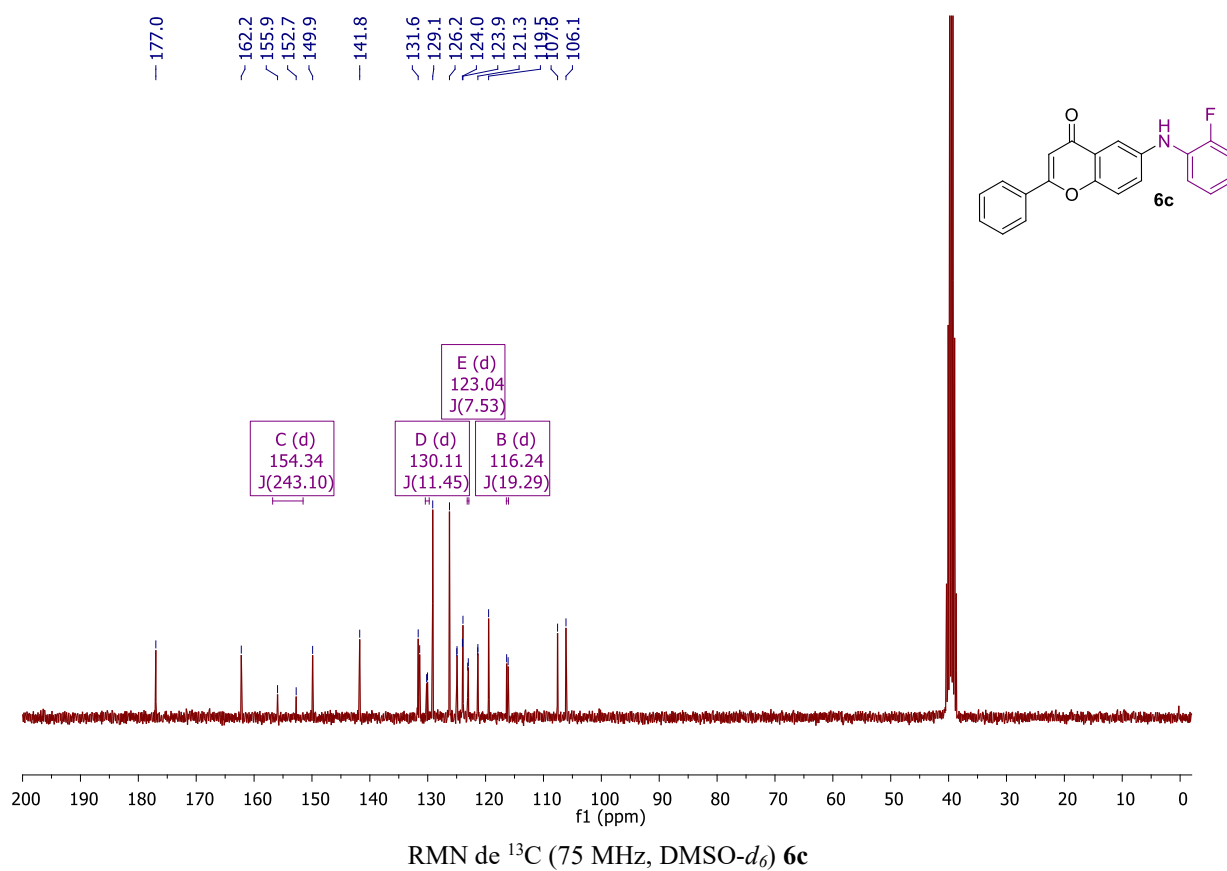
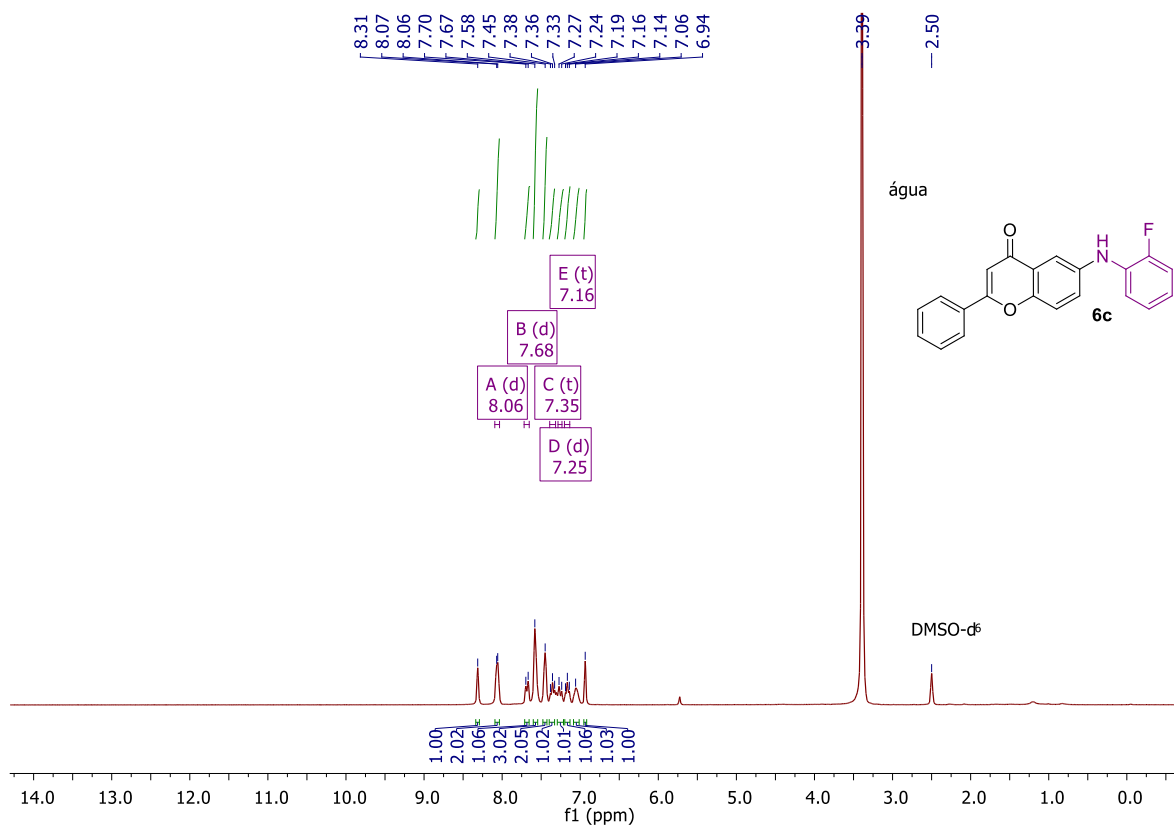
RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **4a**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **4a**

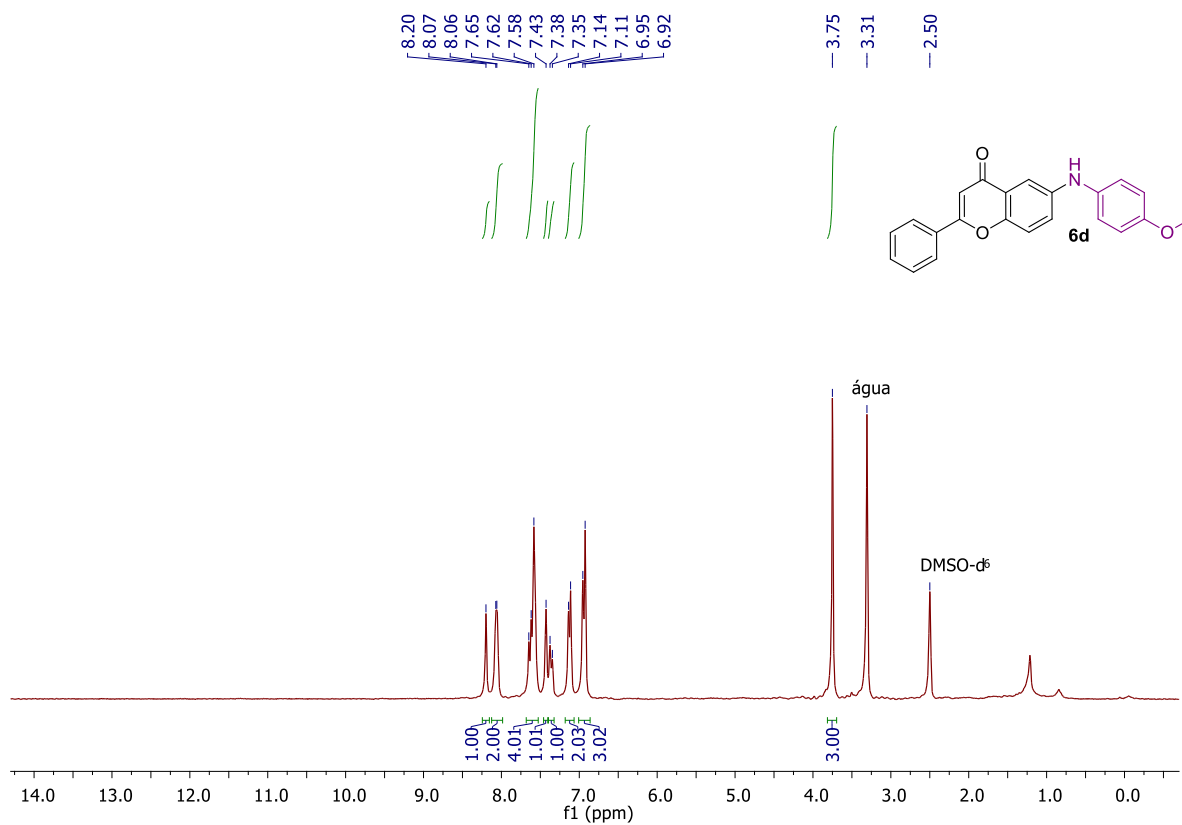
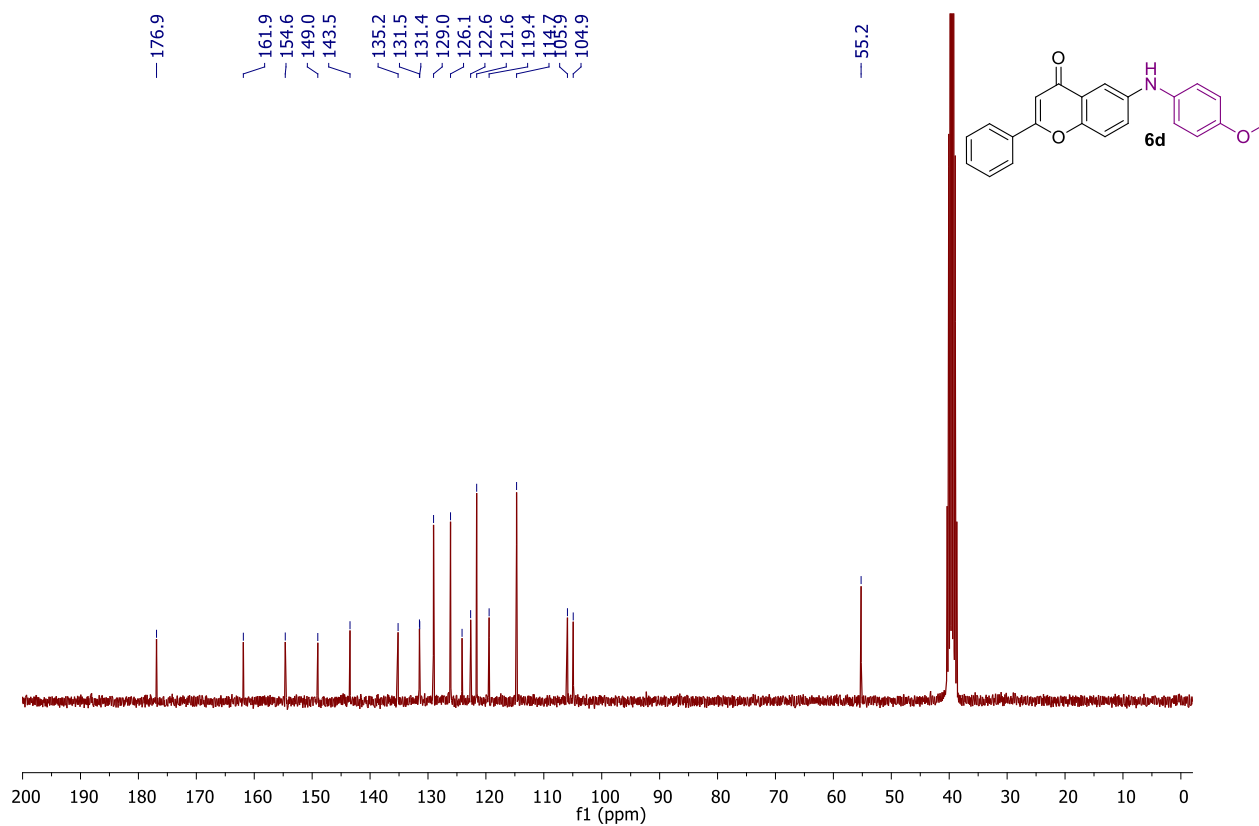




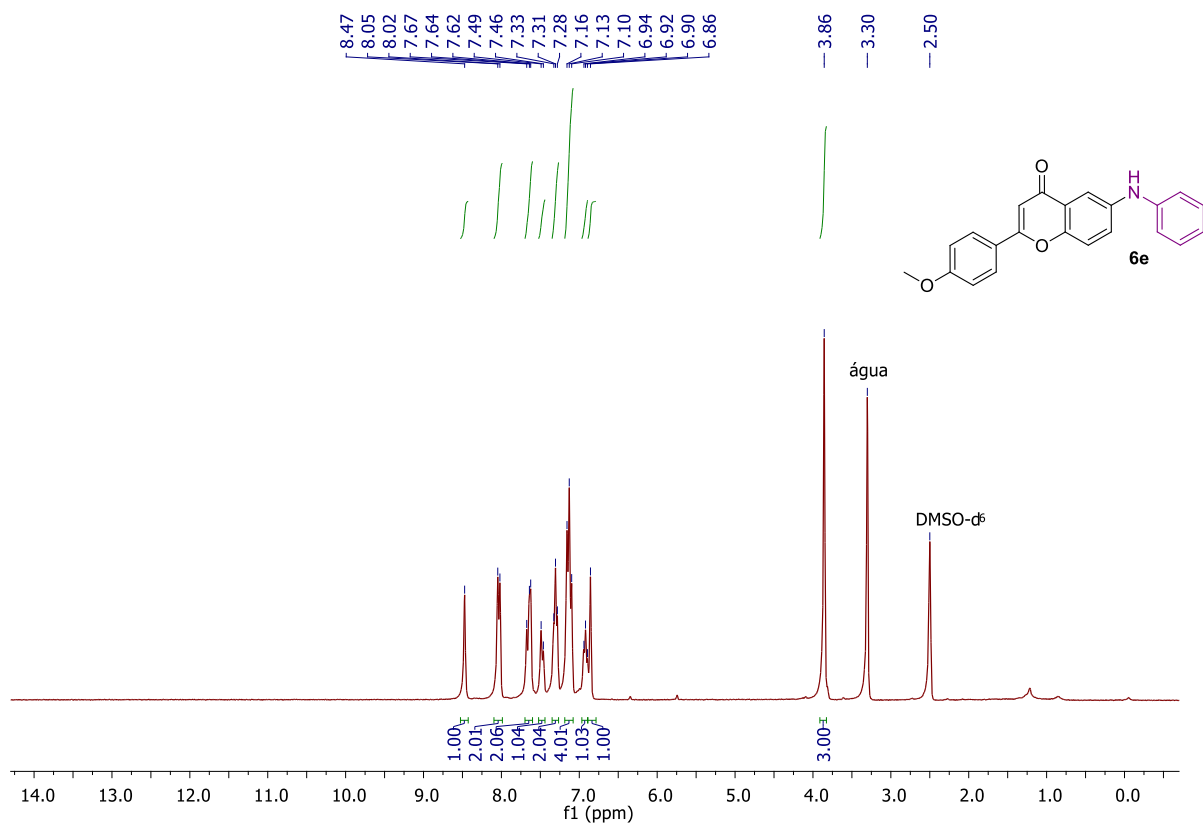
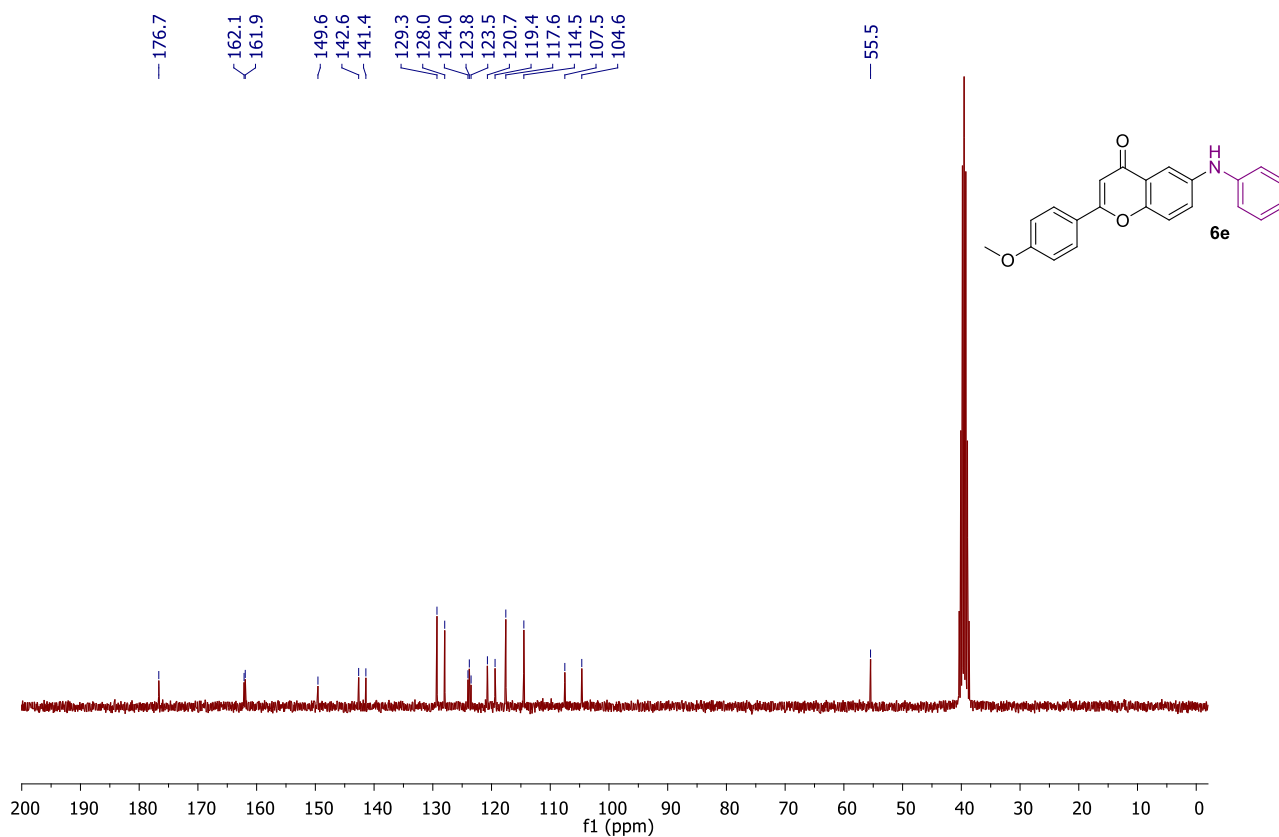


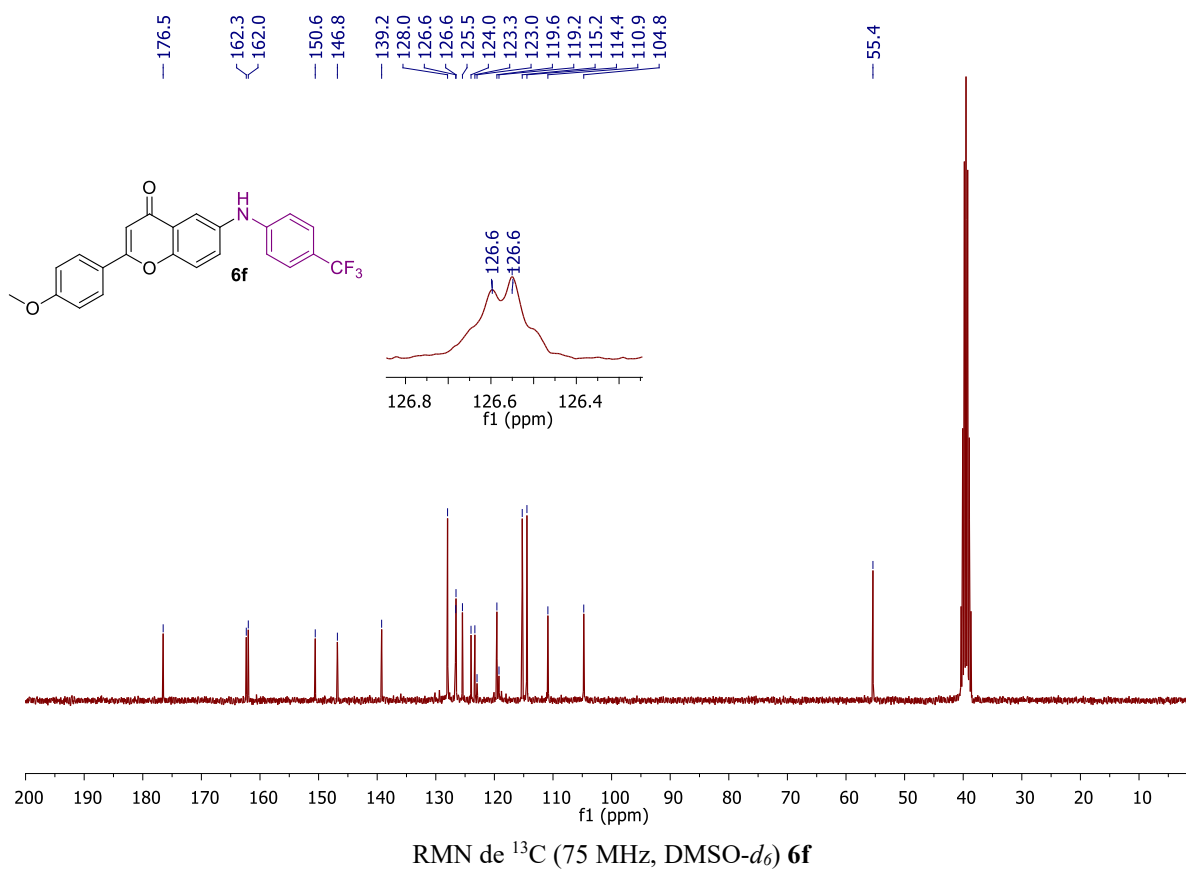
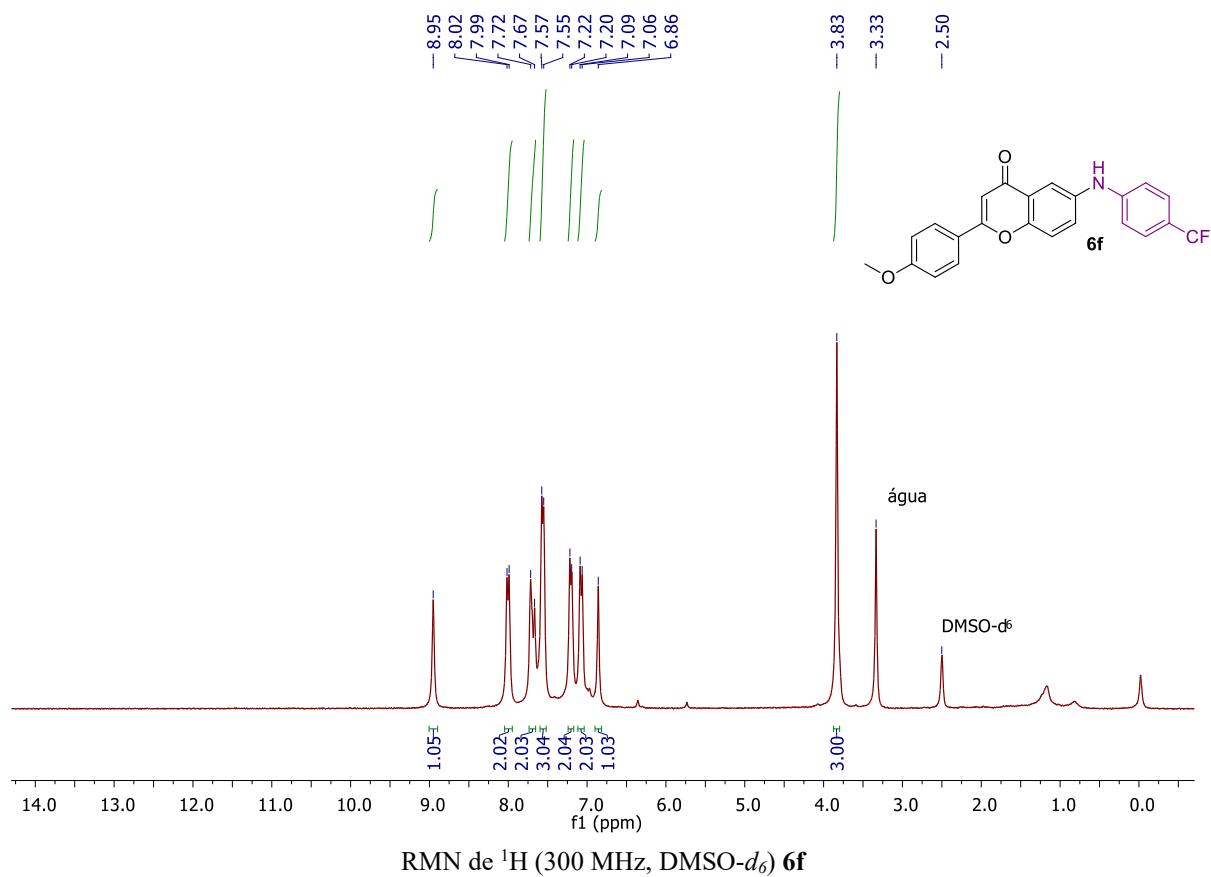
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6b**MN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6b**

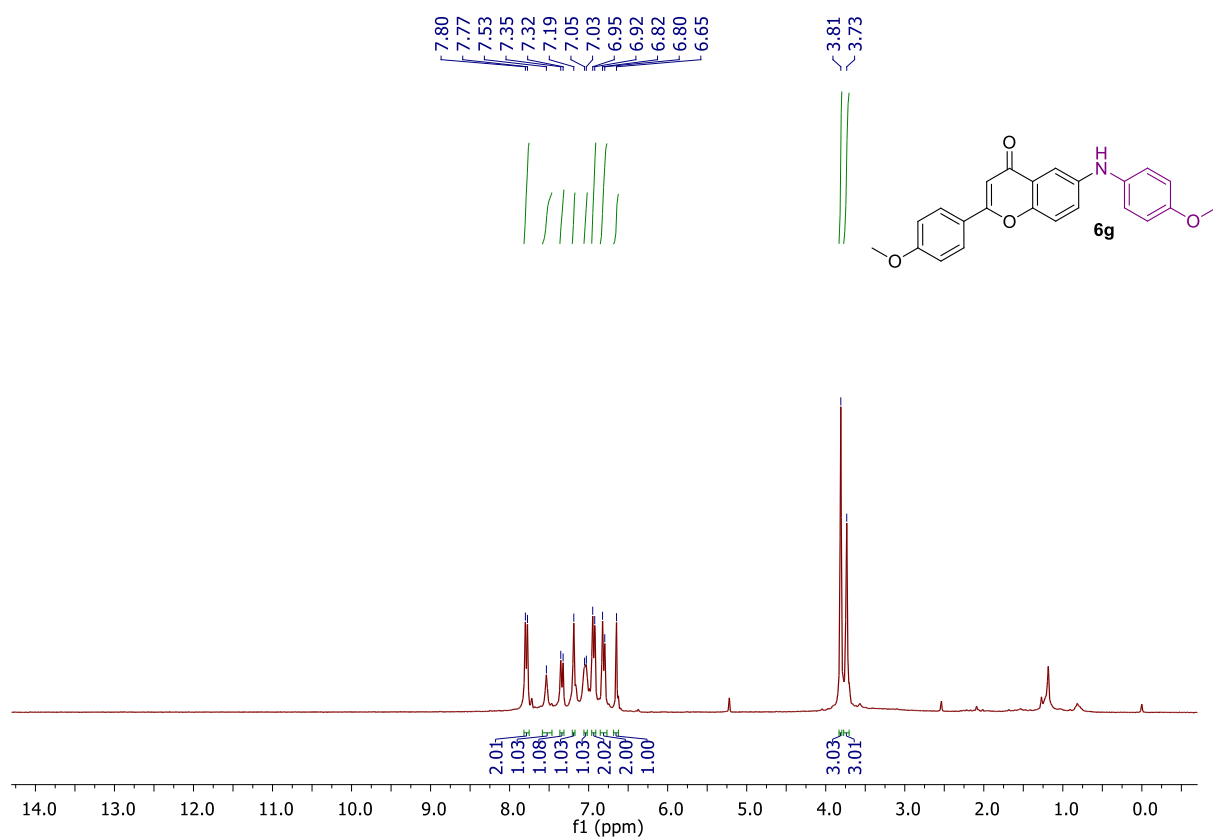
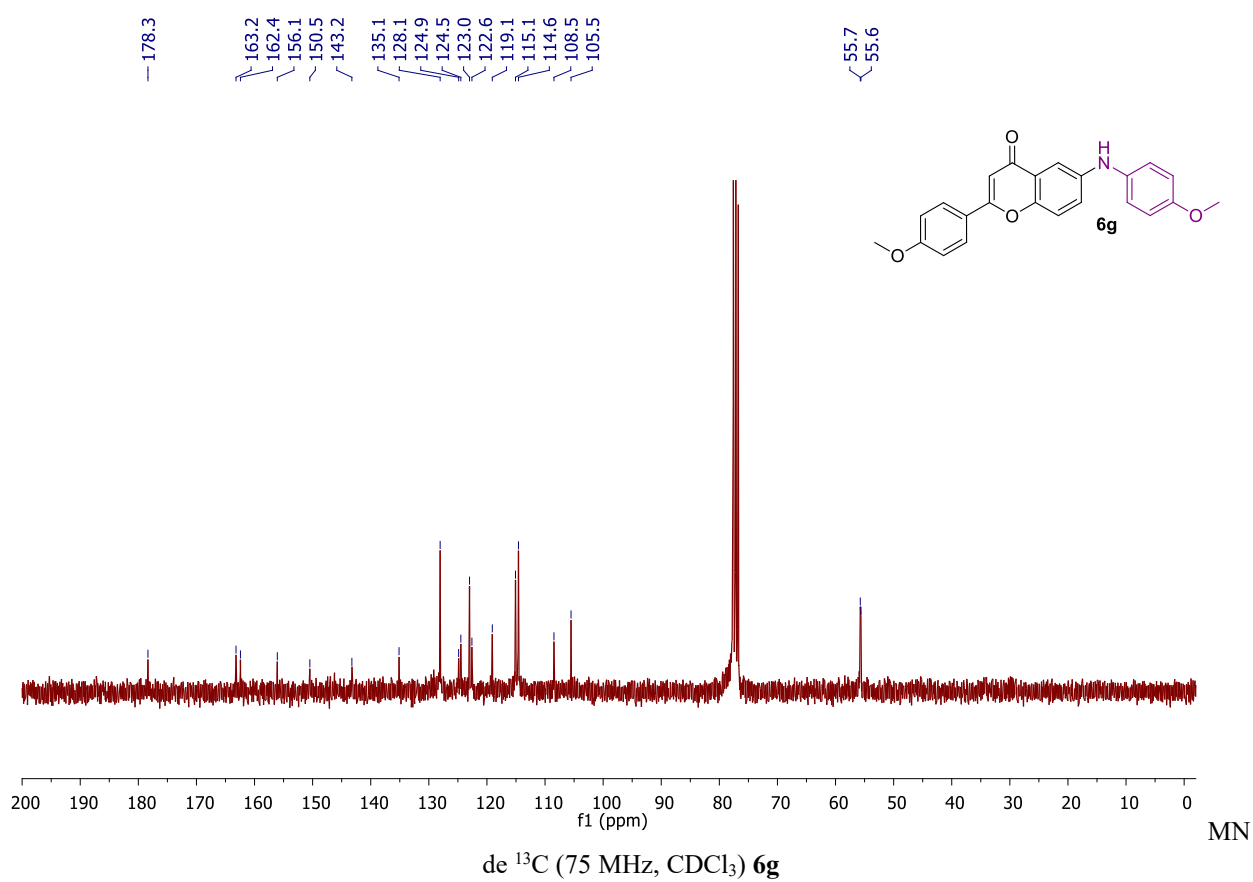


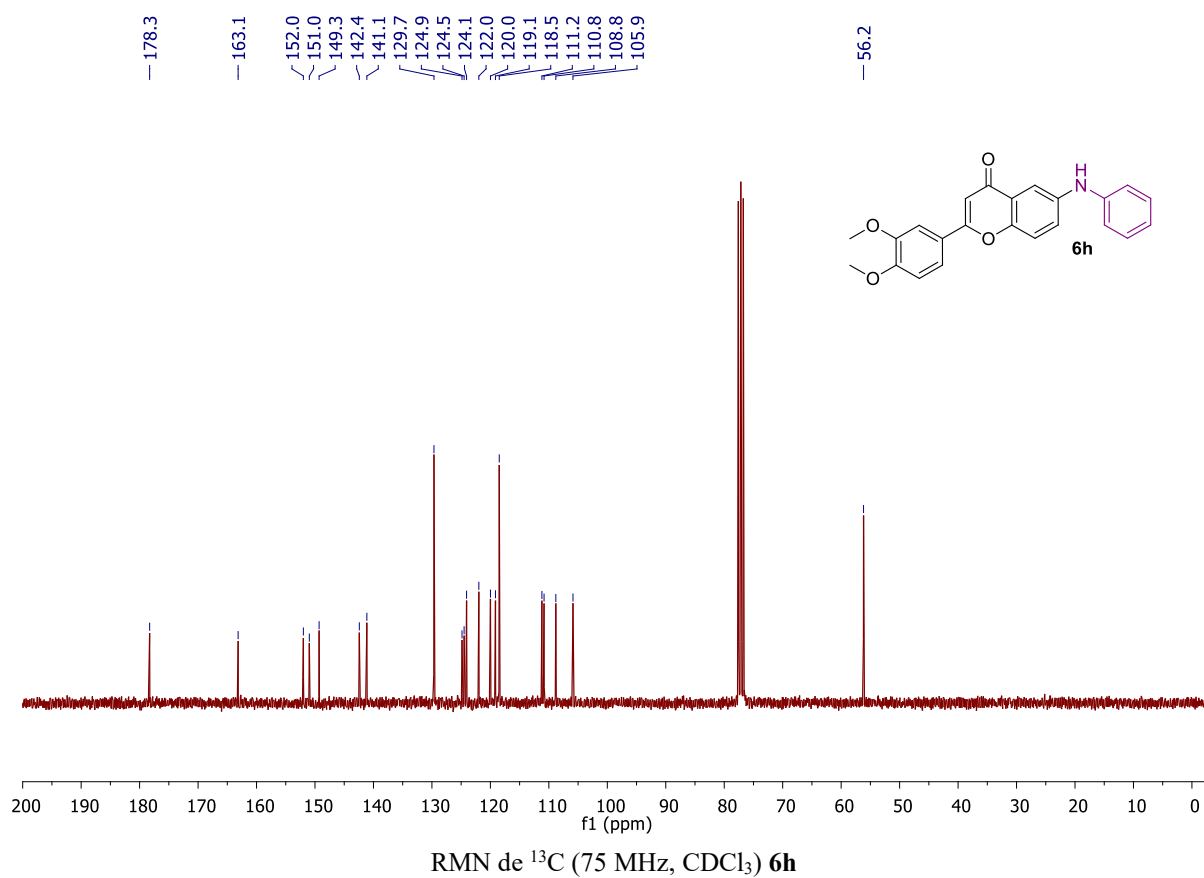
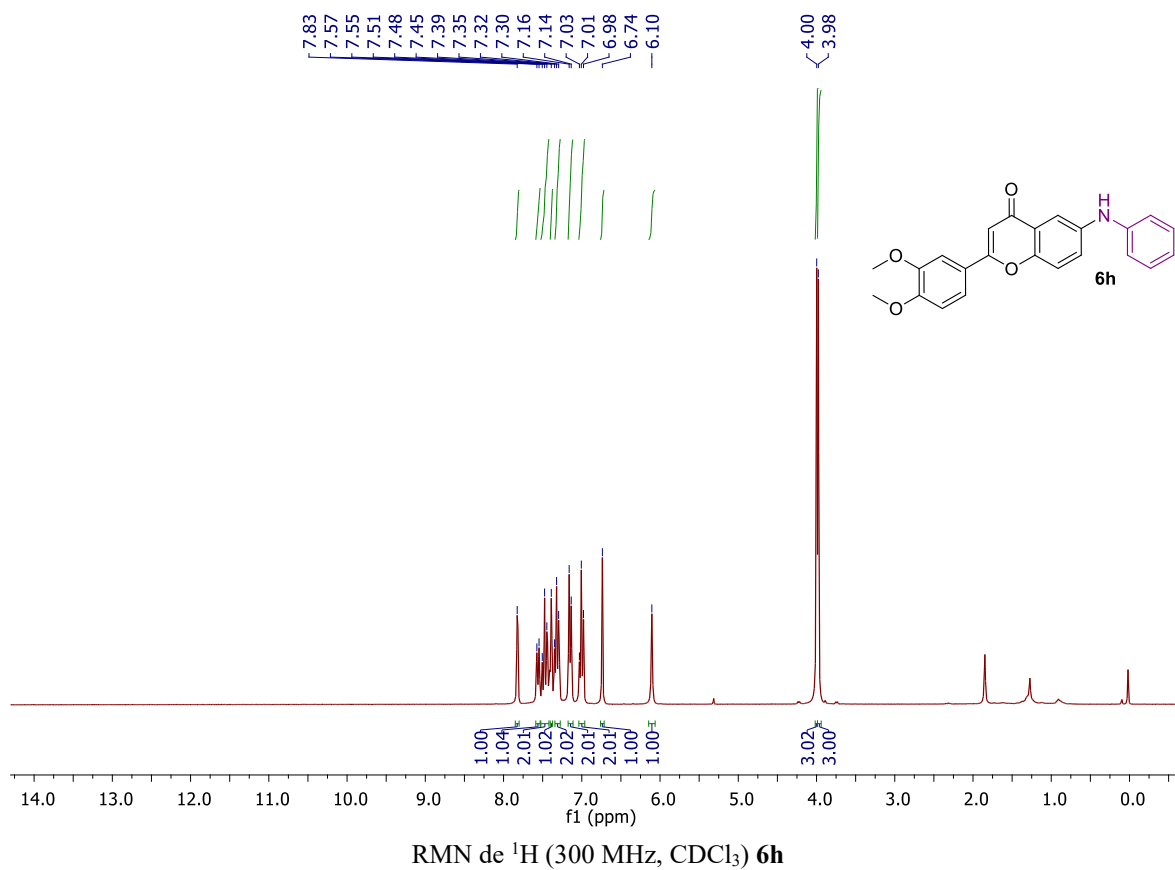
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6d**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6d**

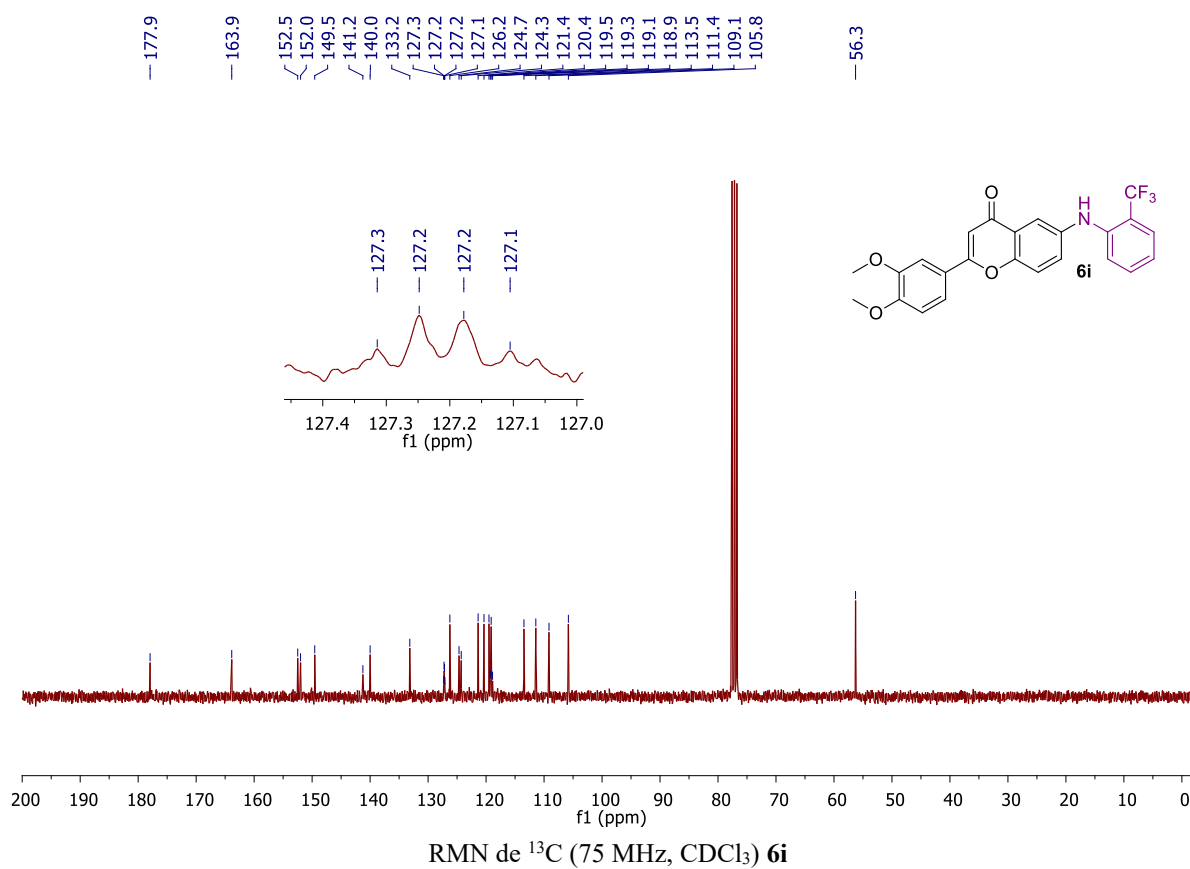
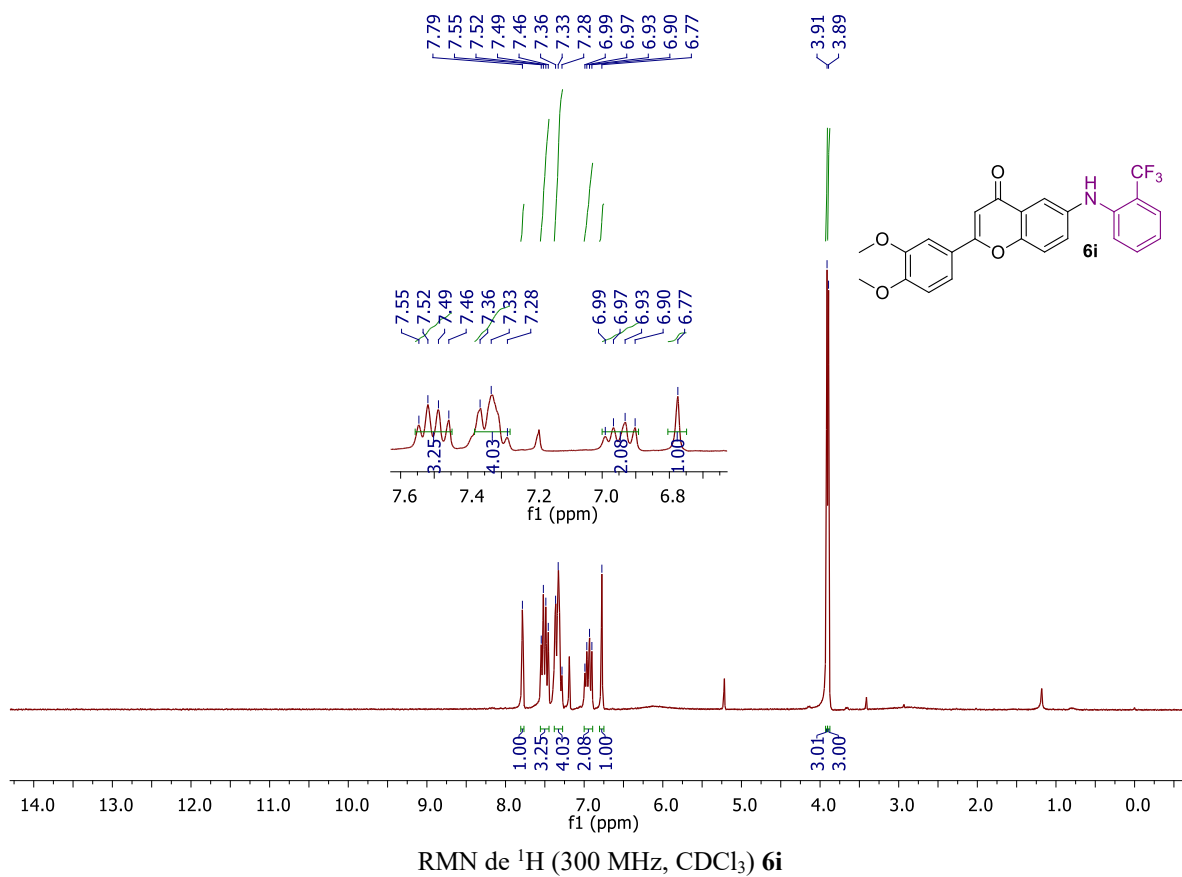


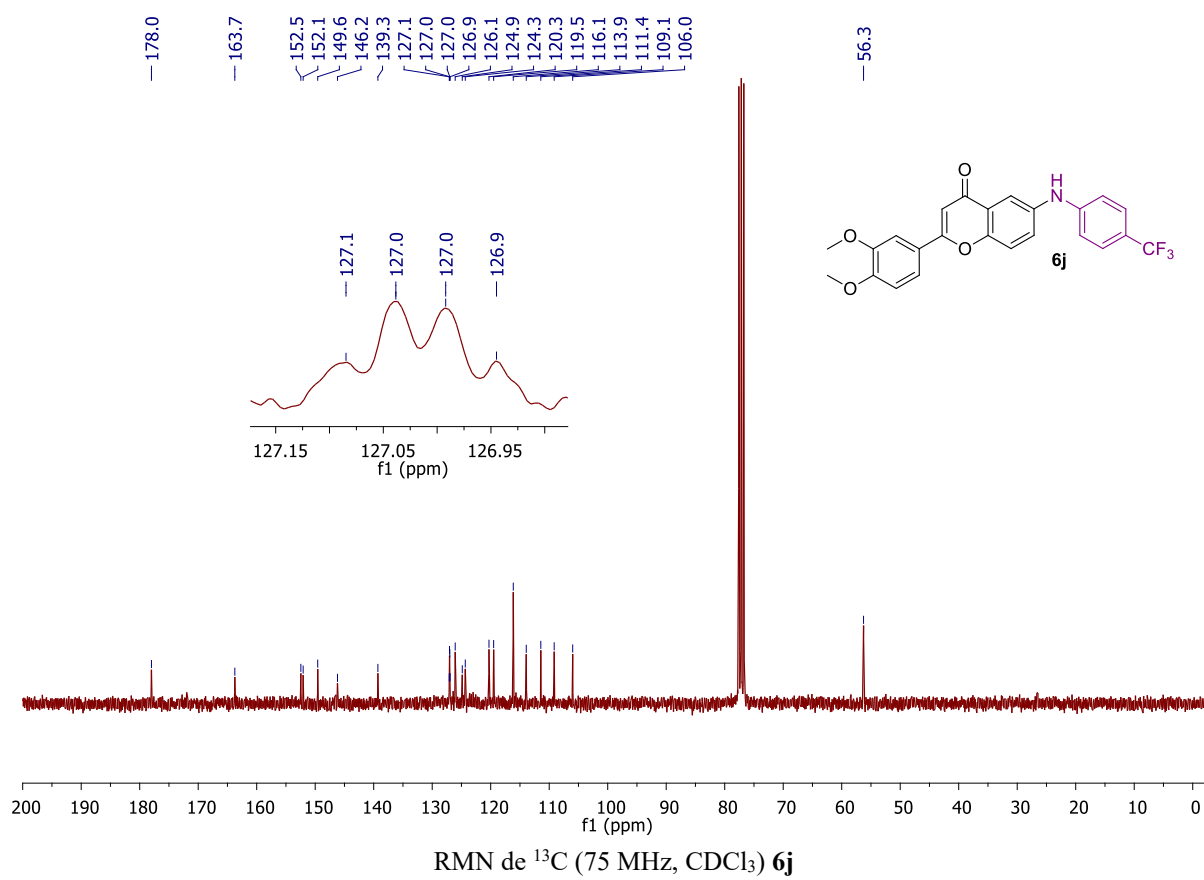
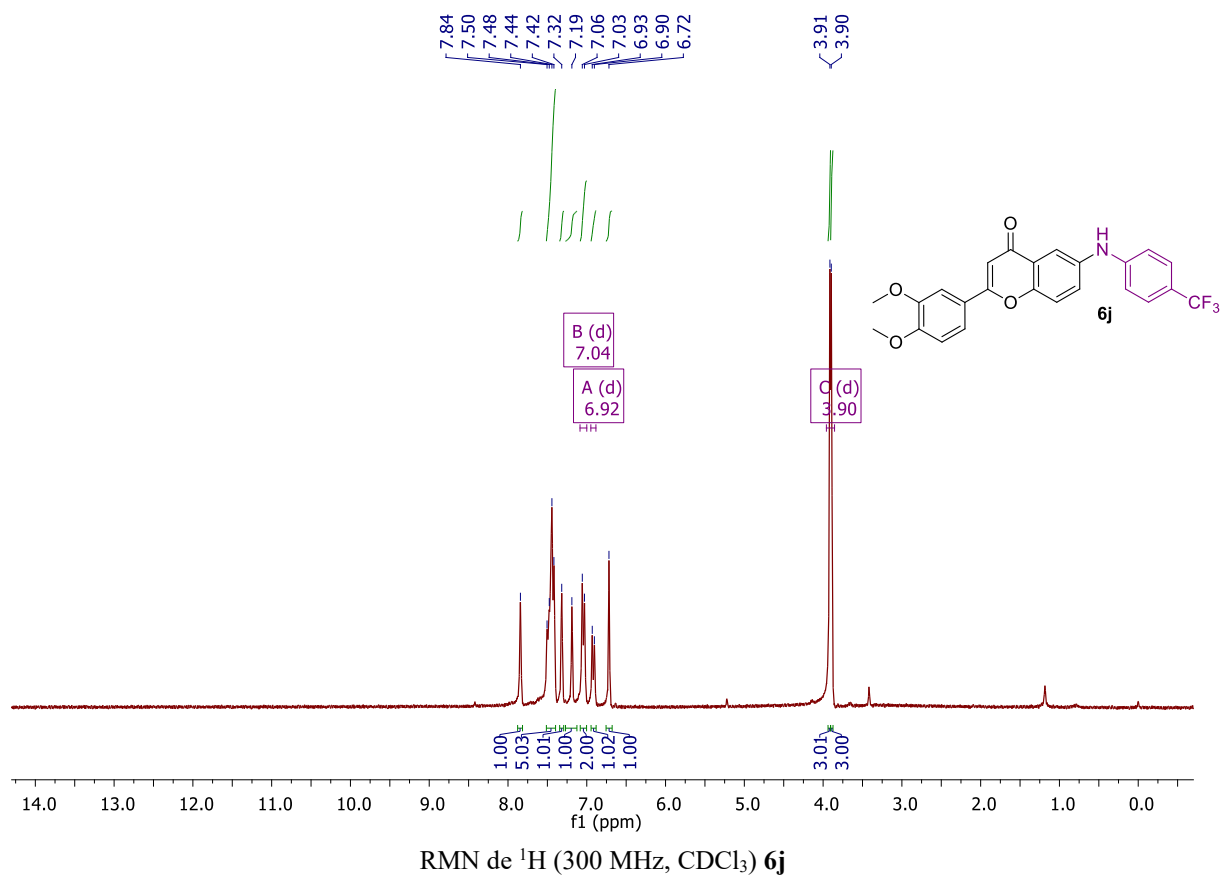
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6e**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) **6e**

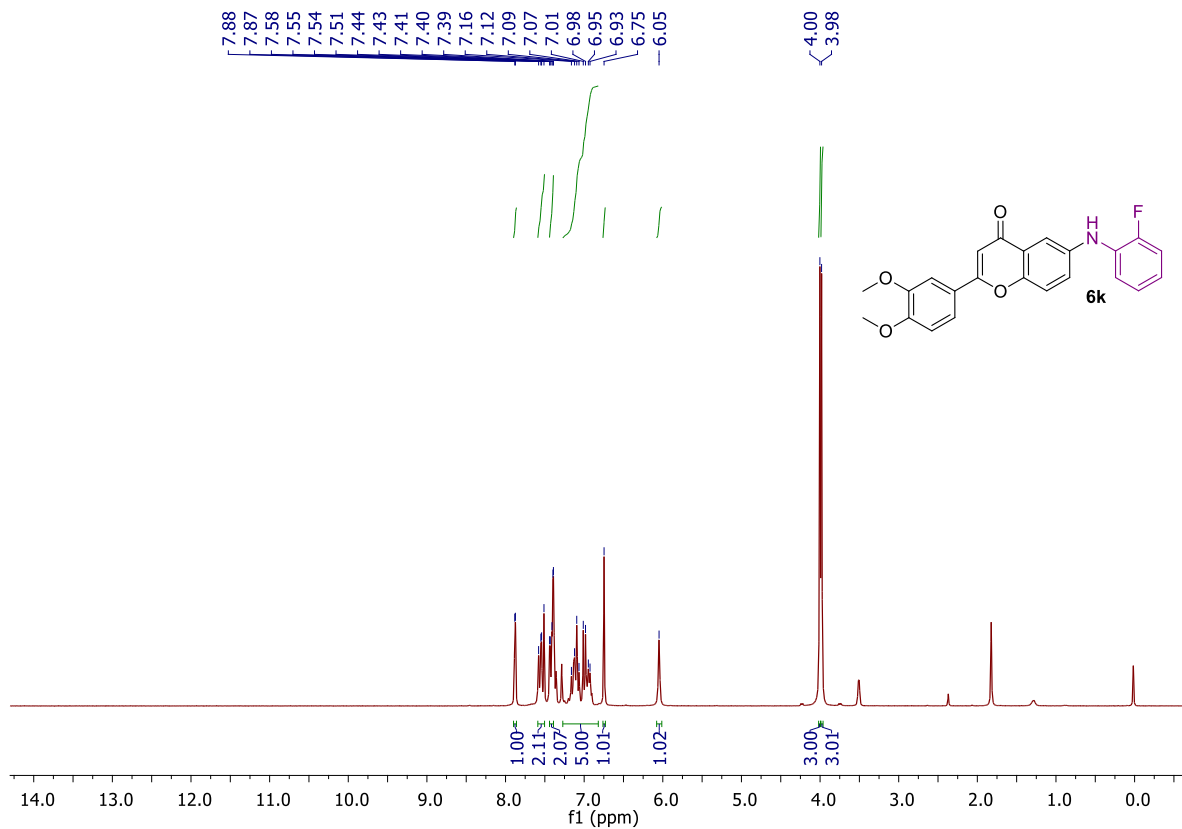
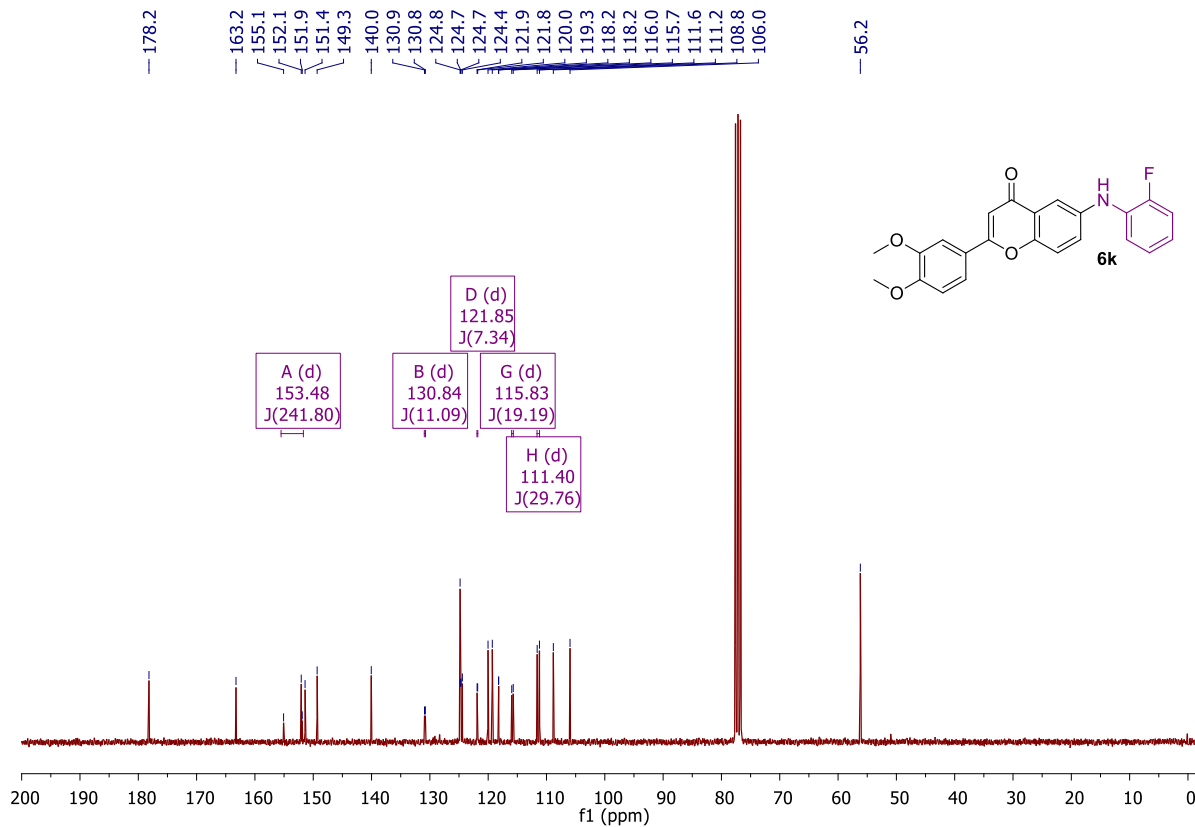


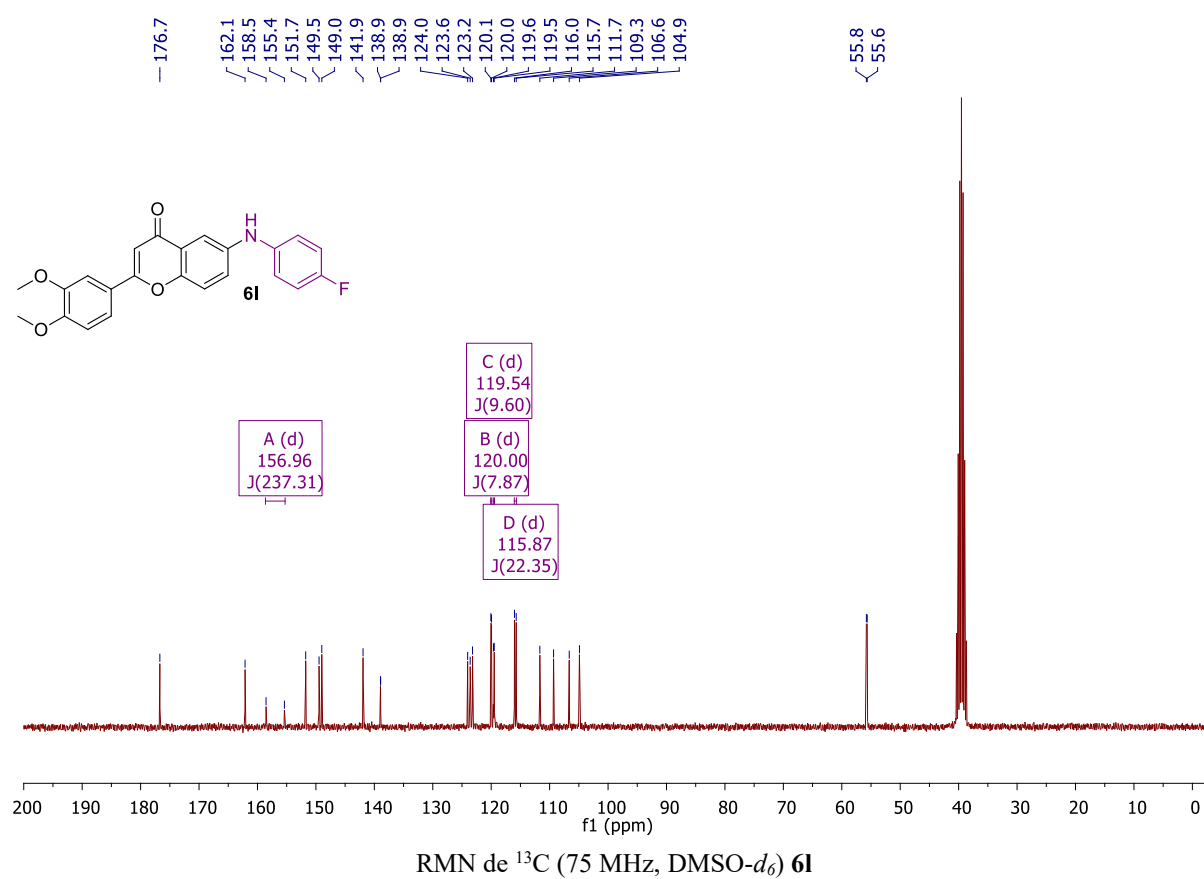
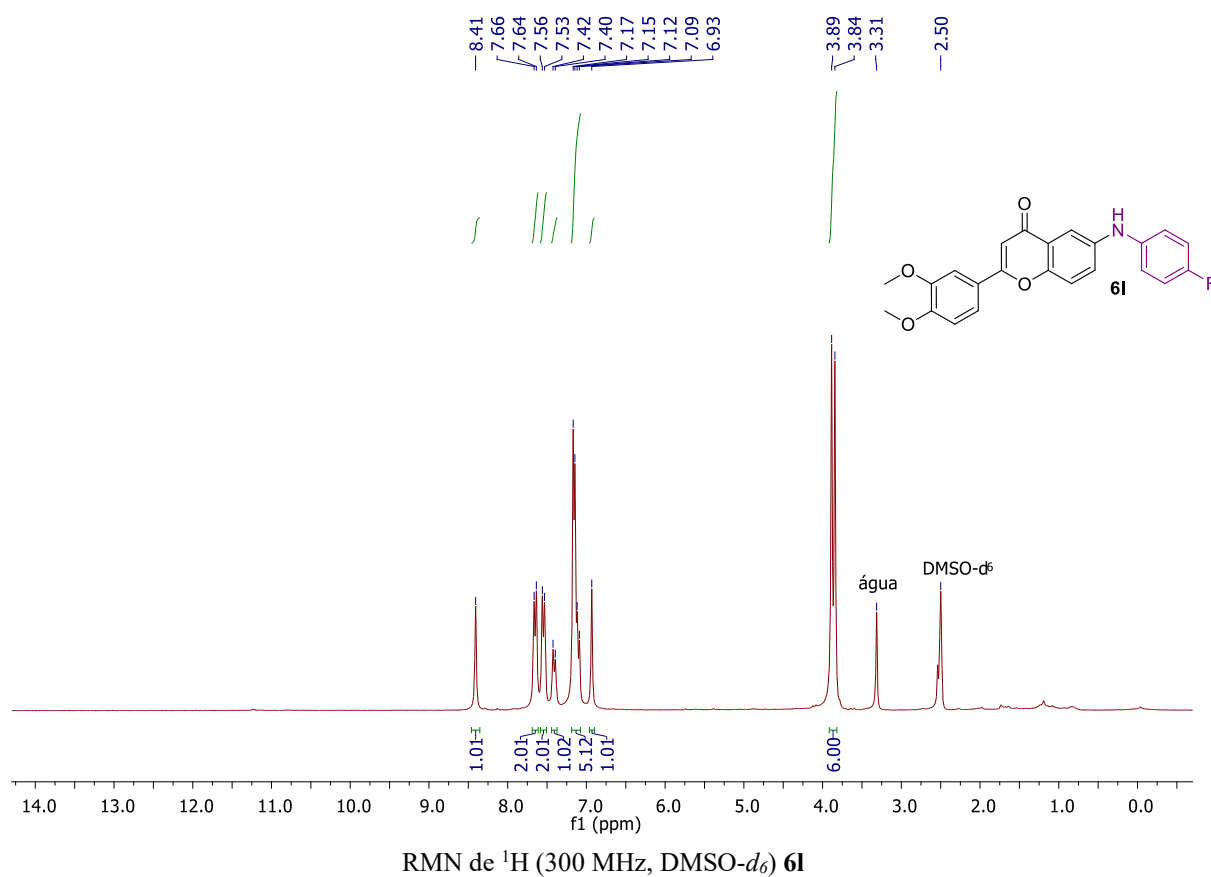
RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **6g**de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **6g**



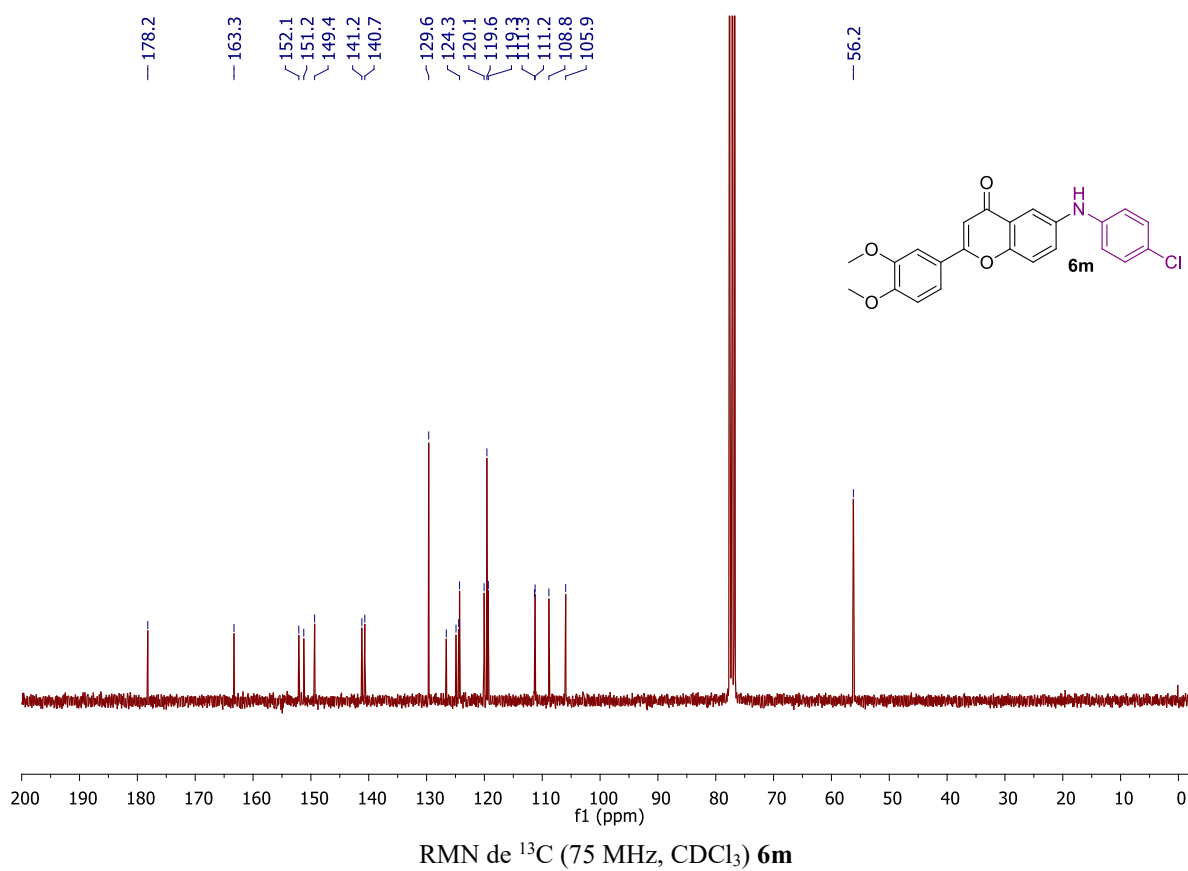
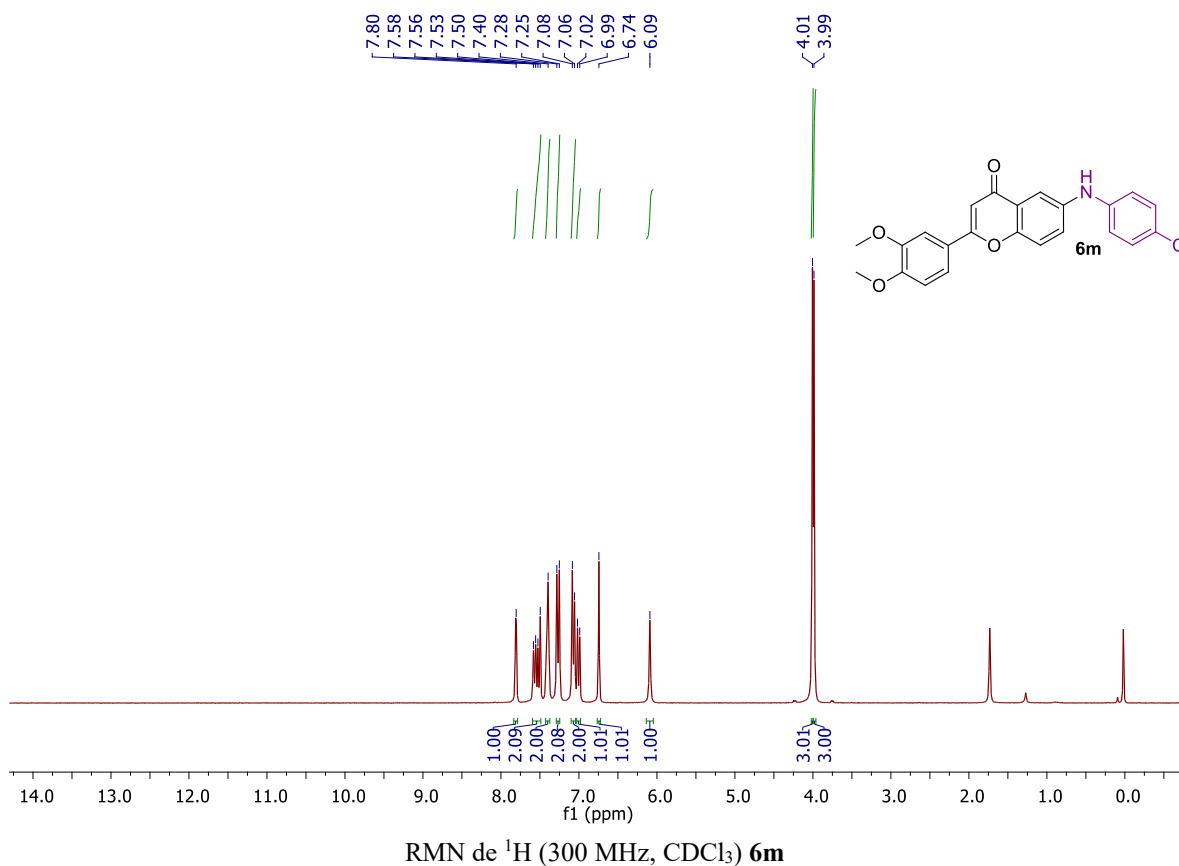


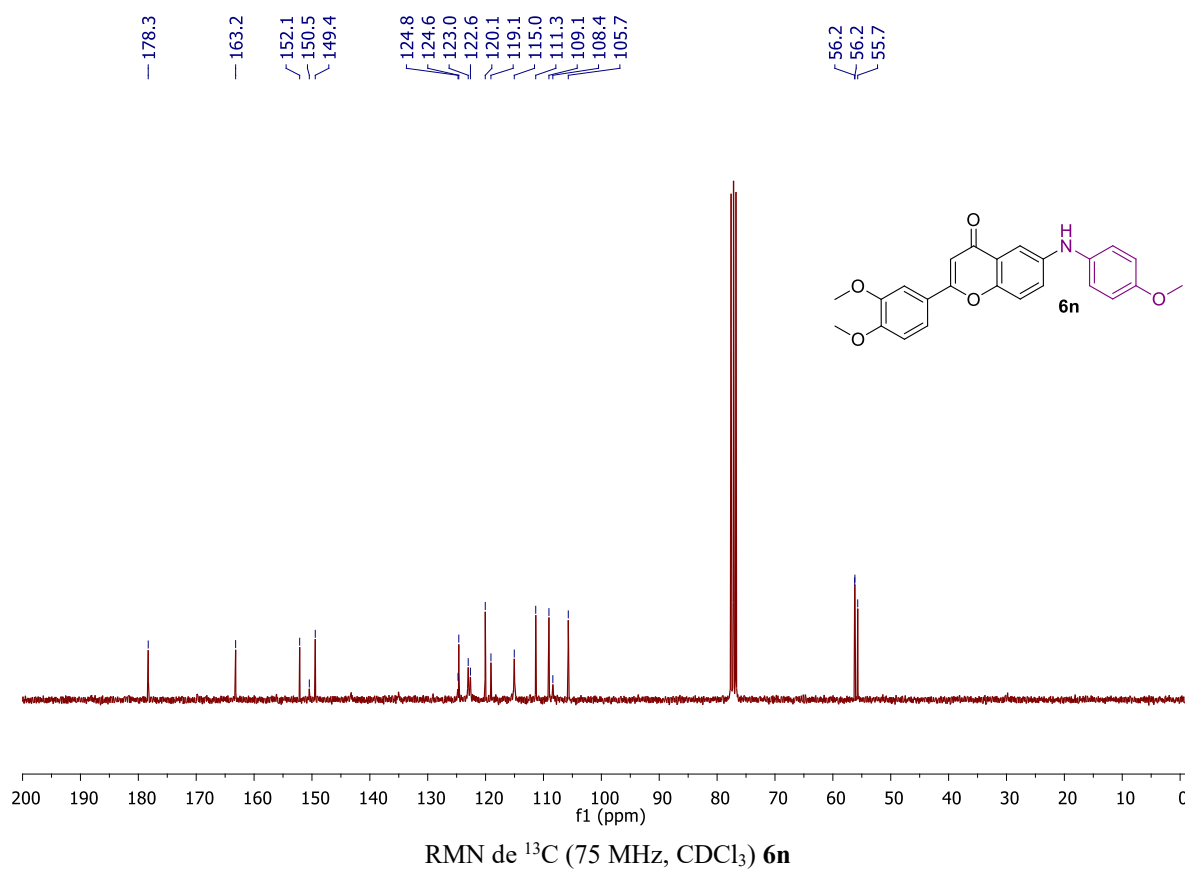
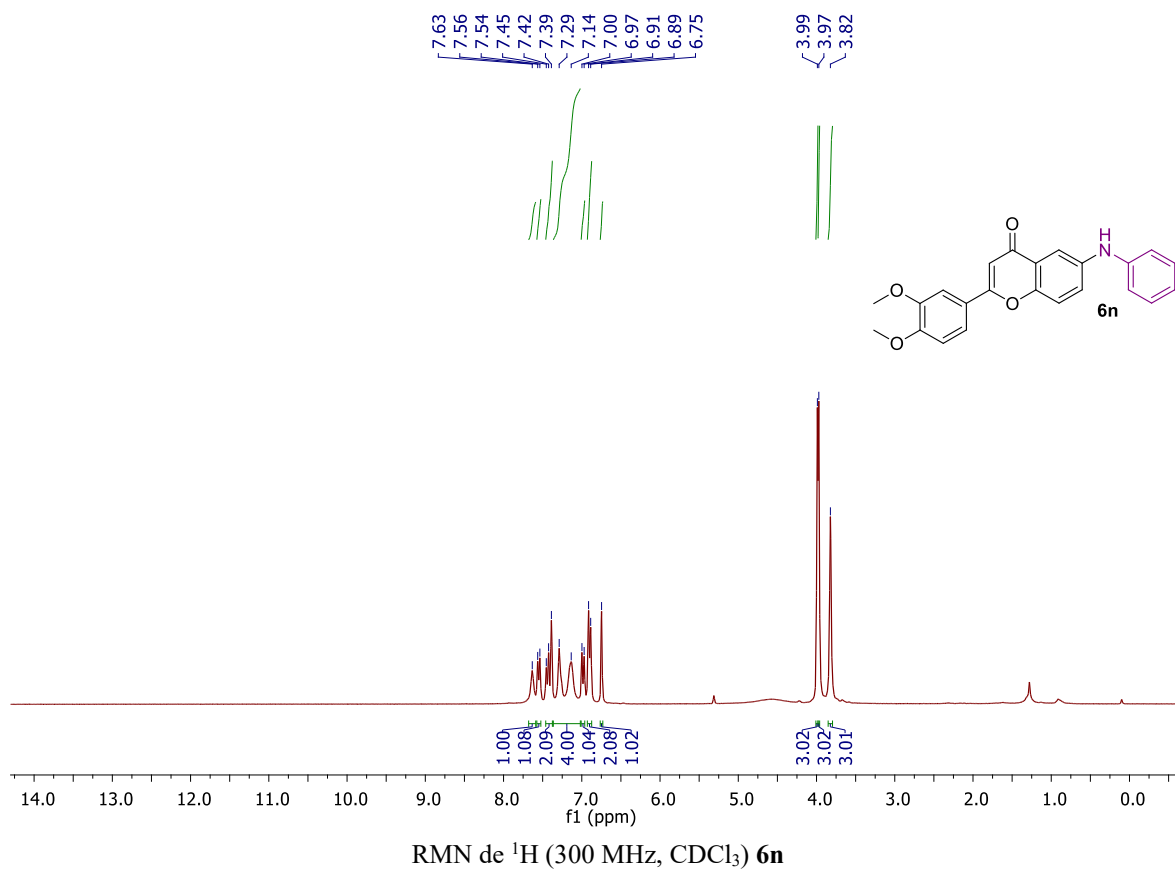


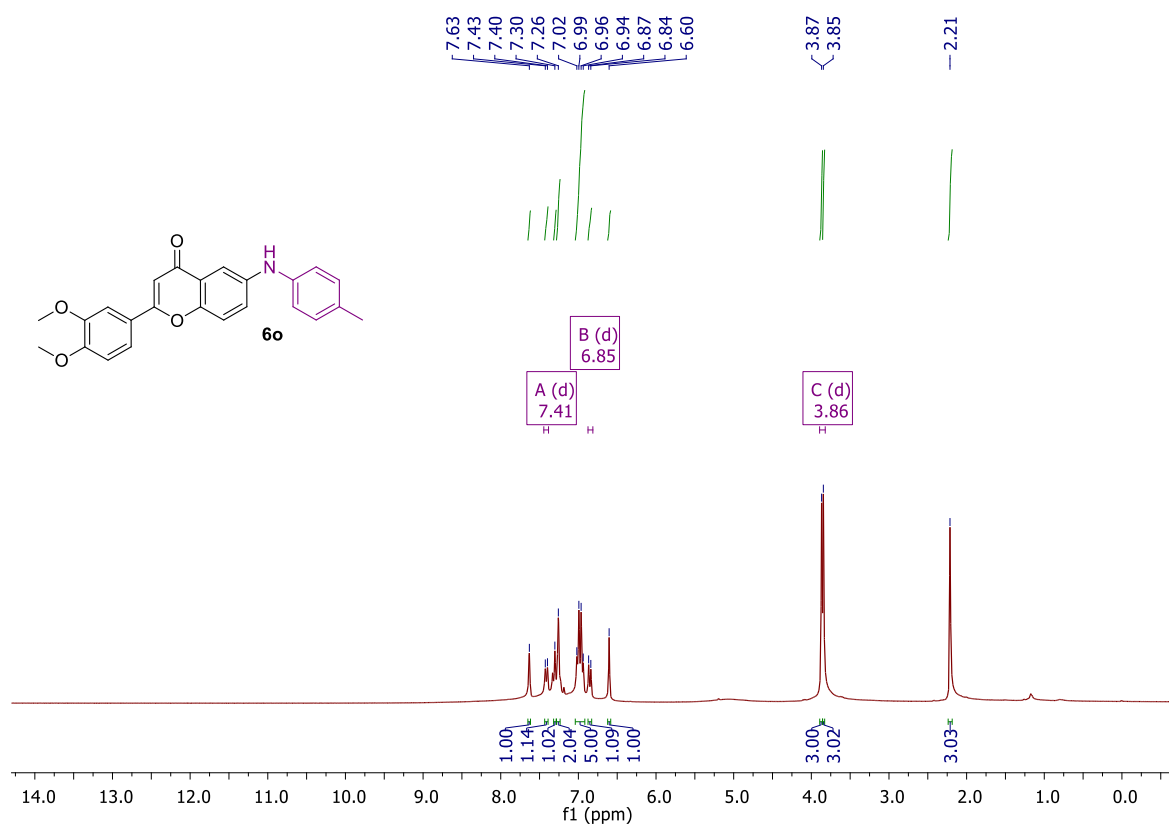
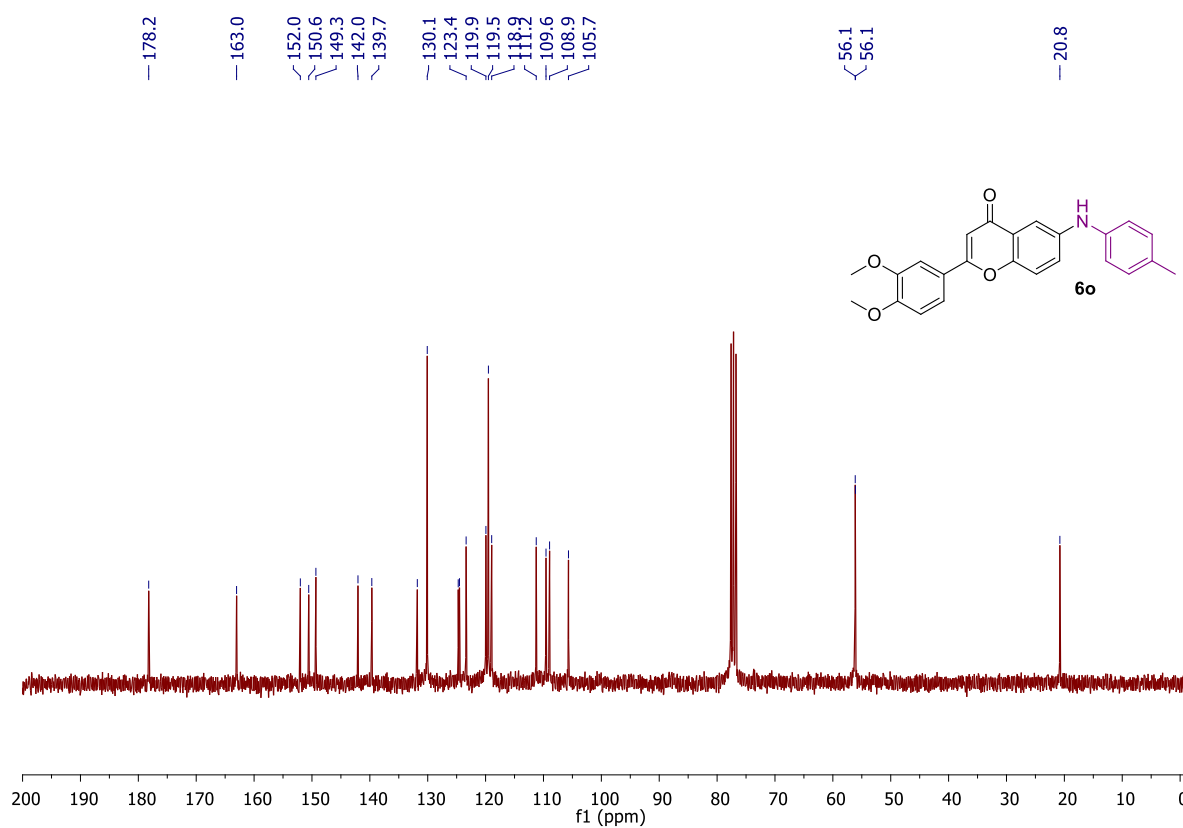
RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) **6k**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) **6k**









RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **6o**RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **6o**

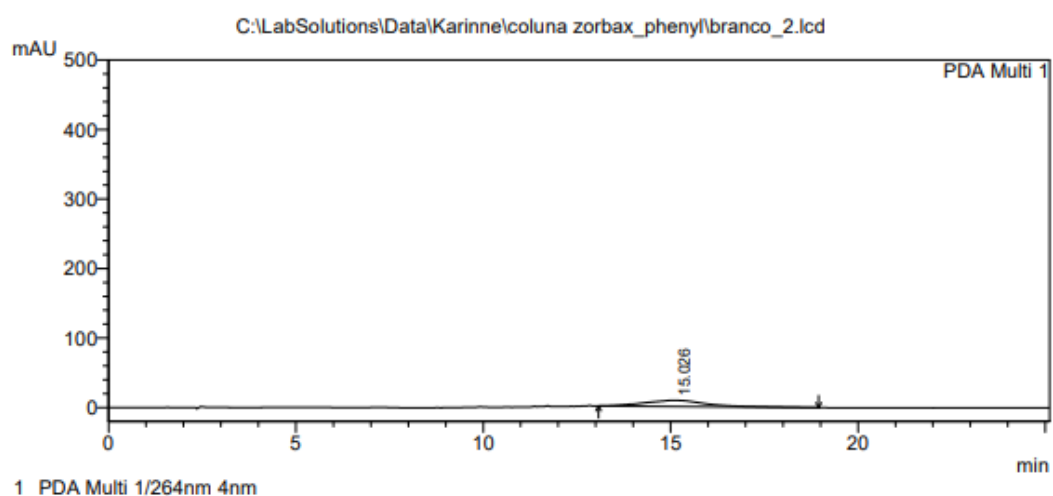
**ANEXO 2**  
**Infravermelho, Espectrometria de massa e HPLC**

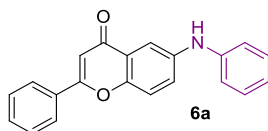
## Branco HPLC

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

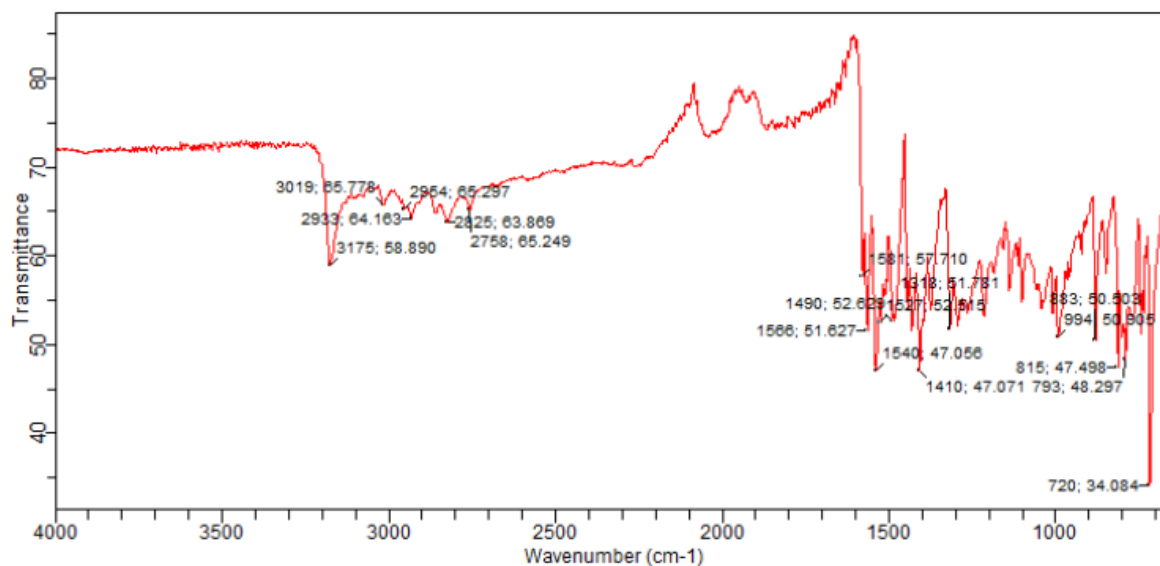
C:\LabSolutions\Data\Karinne\coluna zorbax\_phenyl\branco\_2.lcd  
Acquired by : Admin  
Sample Name : branco\_2  
Sample ID :  
Vial # : 3  
Injection Volume : 10 uL  
Data File Name : branco\_2.lcd  
Method File Name : Agua+TFA 0,1\_ACN+TFA 0,1-25min.lcm  
Batch File Name :  
Report File Name : Default.lcr  
Data Acquired : 25/5/2021 10:34:16  
Data Processed : 25/5/2021 10:59:26

## &lt;Chromatogram&gt;

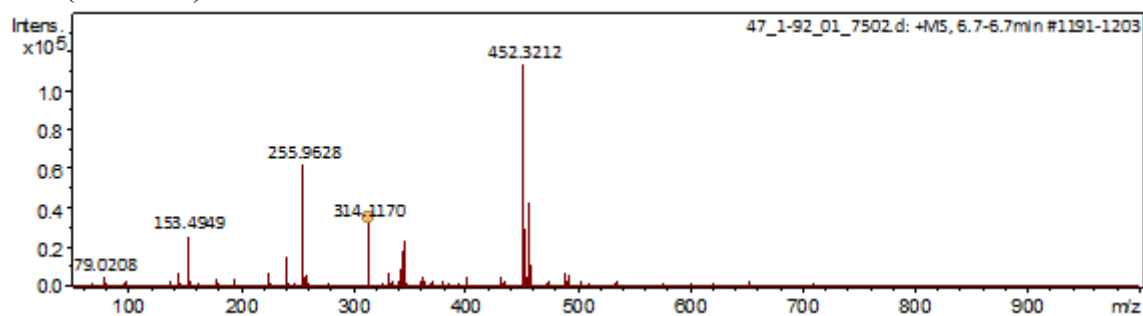




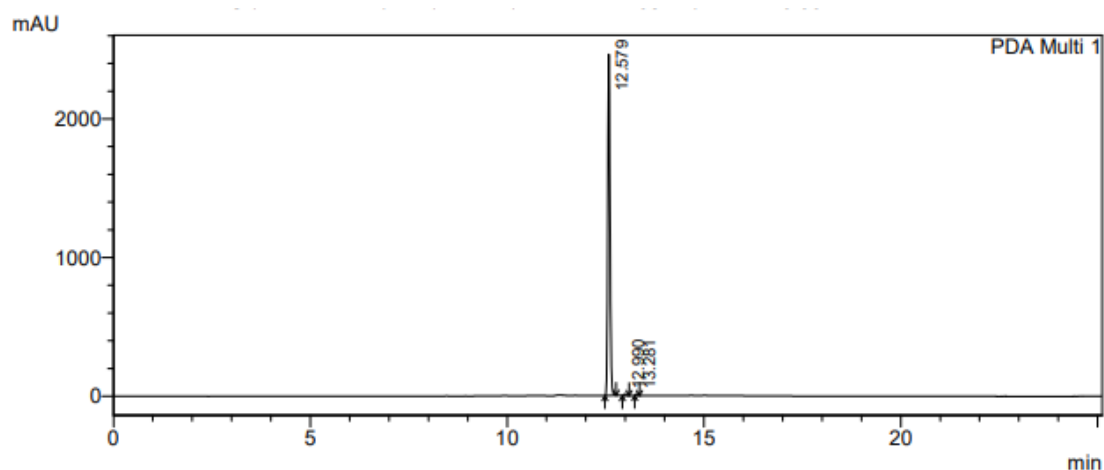
## Infravermelho



## HRMS (ESI-TOF)



## HPLC analítico

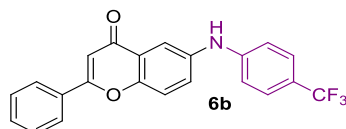


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

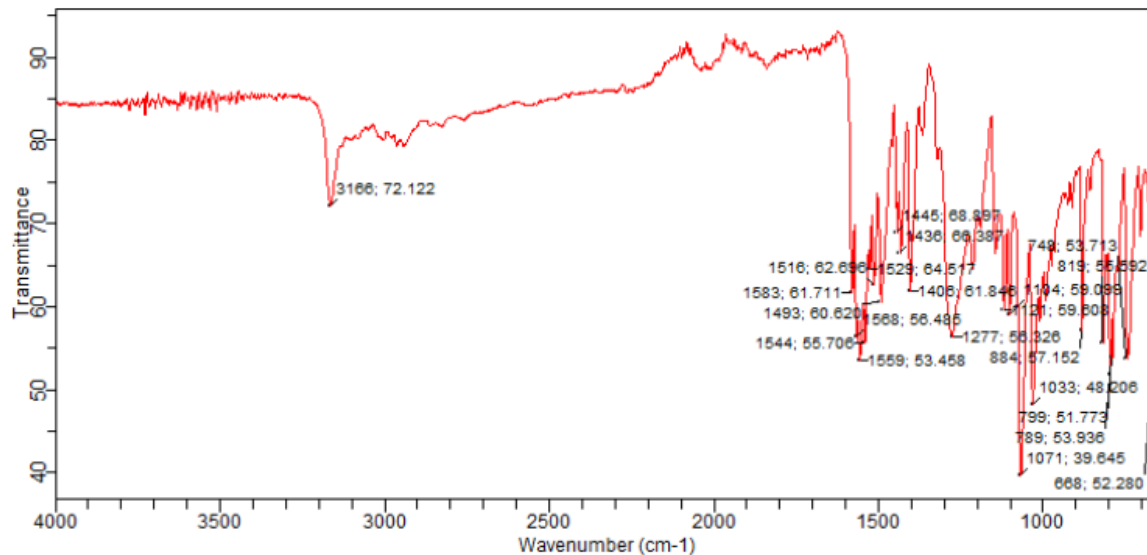
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

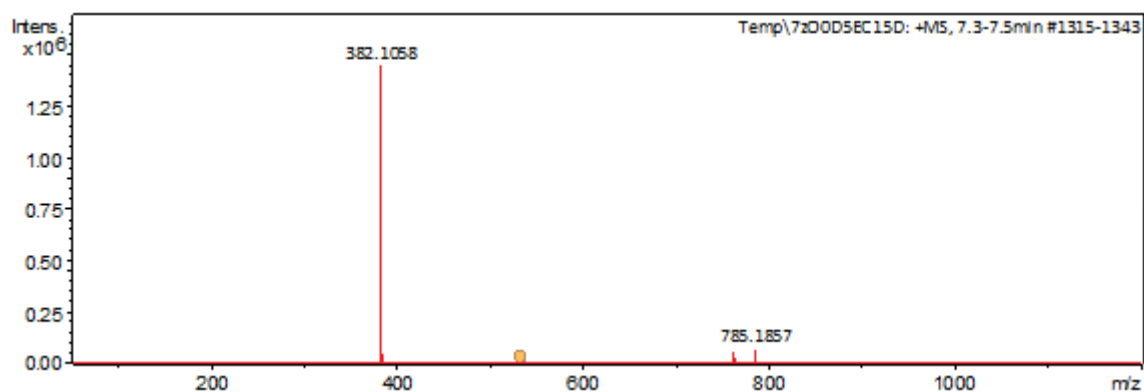
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP47	12.579	9901608	99.113
2	RT12.990	12.990	49665	0.497
3	RT13.281	13.281	38991	0.390
Total			9990263	100.000



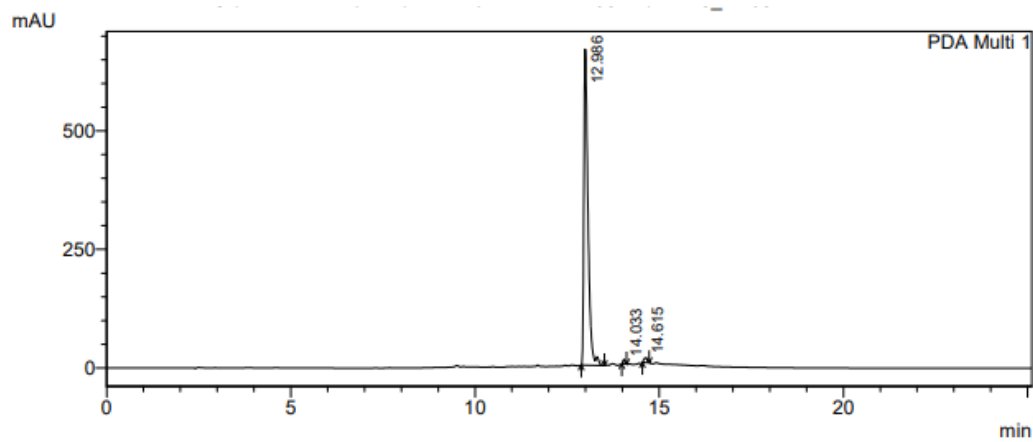
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



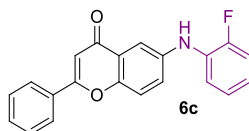
### HPLC analítico



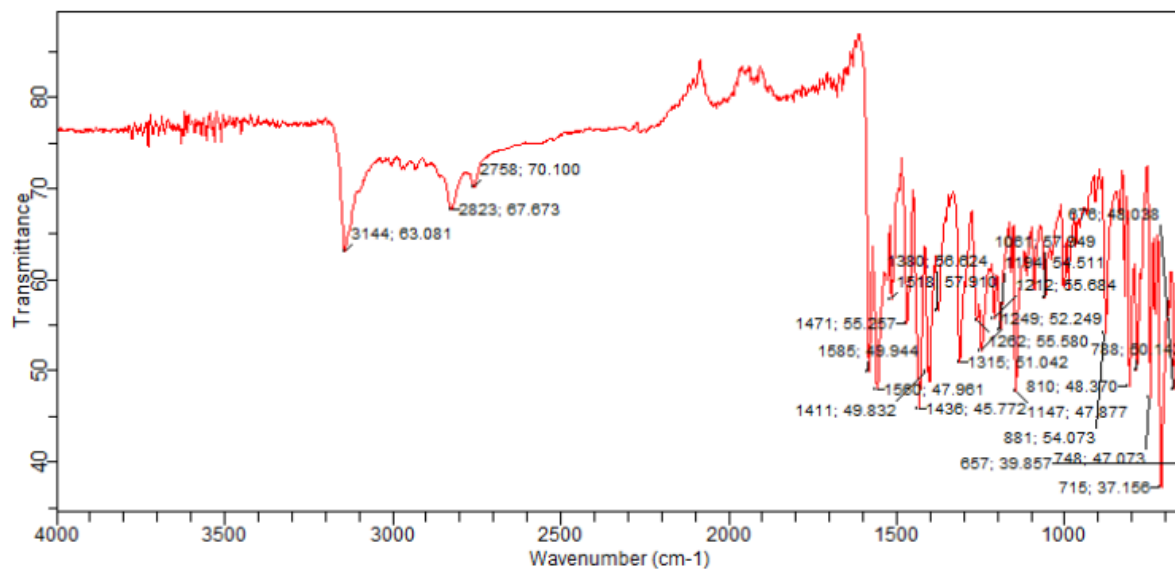
1 PDA Multi 1/264nm 4nm

PeakTable

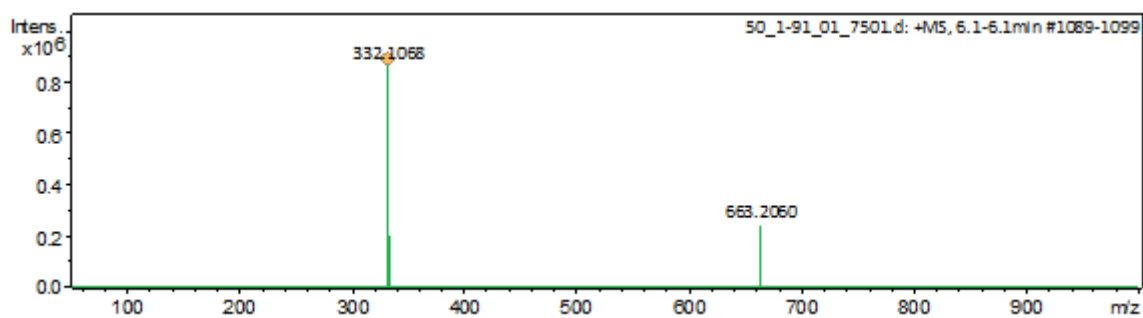
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP48	12.986	5113979	98.153
2	RT14.033	14.033	34514	0.662
3	RT14.615	14.615	61711	1.184
Total			5210204	100.000



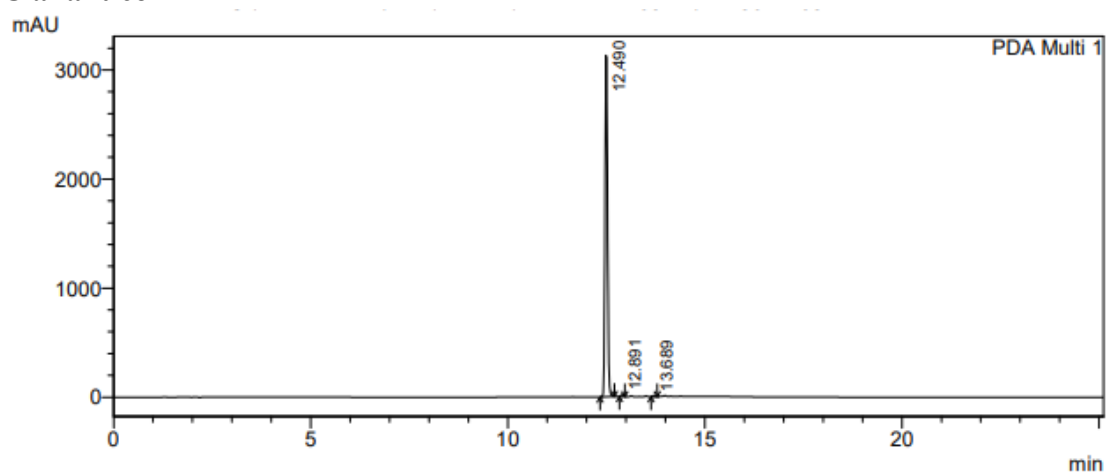
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico



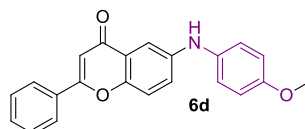
1 PDA Multi 1/264nm 4nm

PeakTable

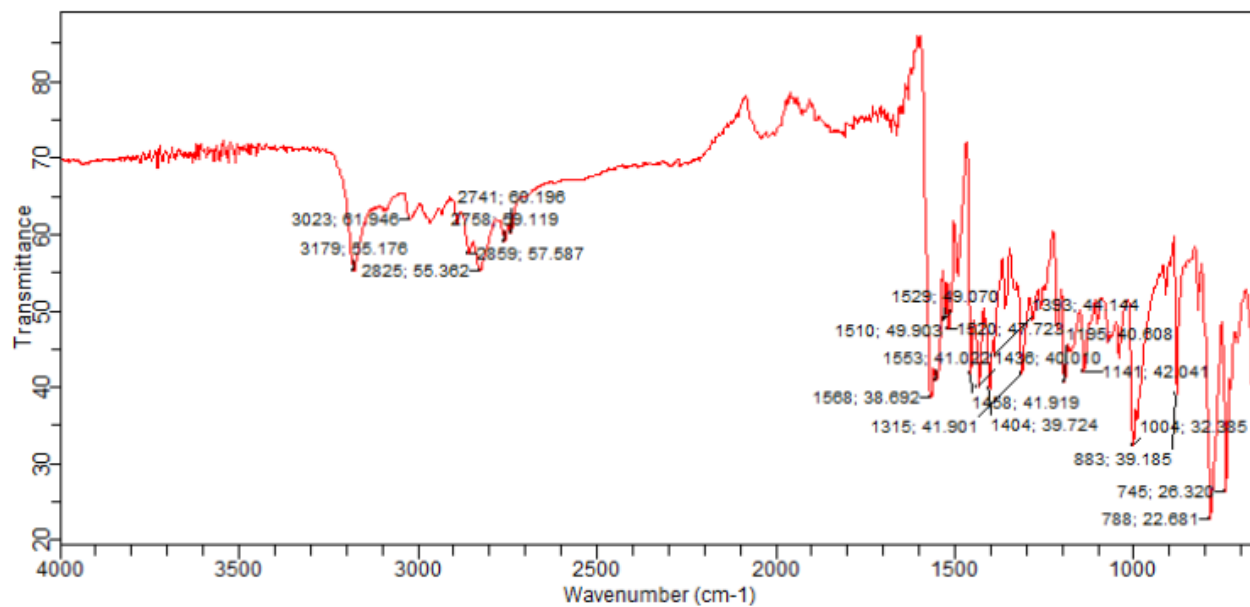
PDA Ch1 264nm 4nm

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP50	12.490	14046561	99.165
2	RT12.891	12.891	75196	0.531
3	RT13.689	13.689	43012	0.304
Total			14164769	100.000

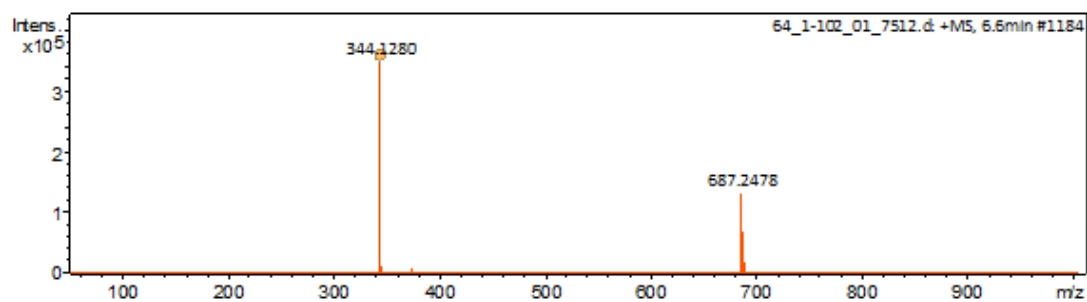




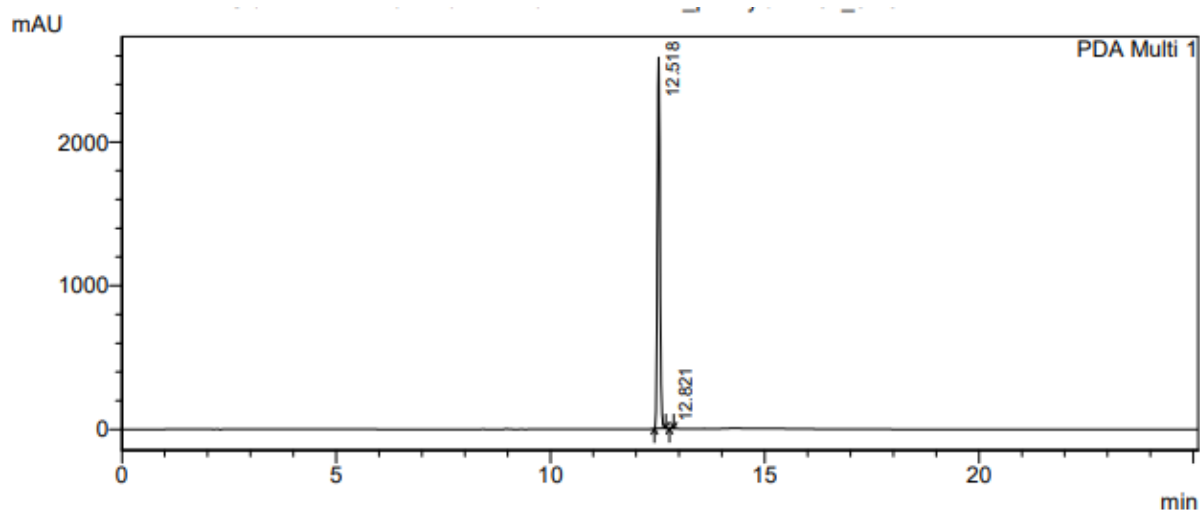
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico

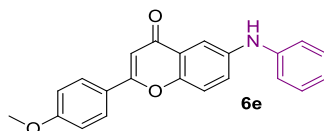


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

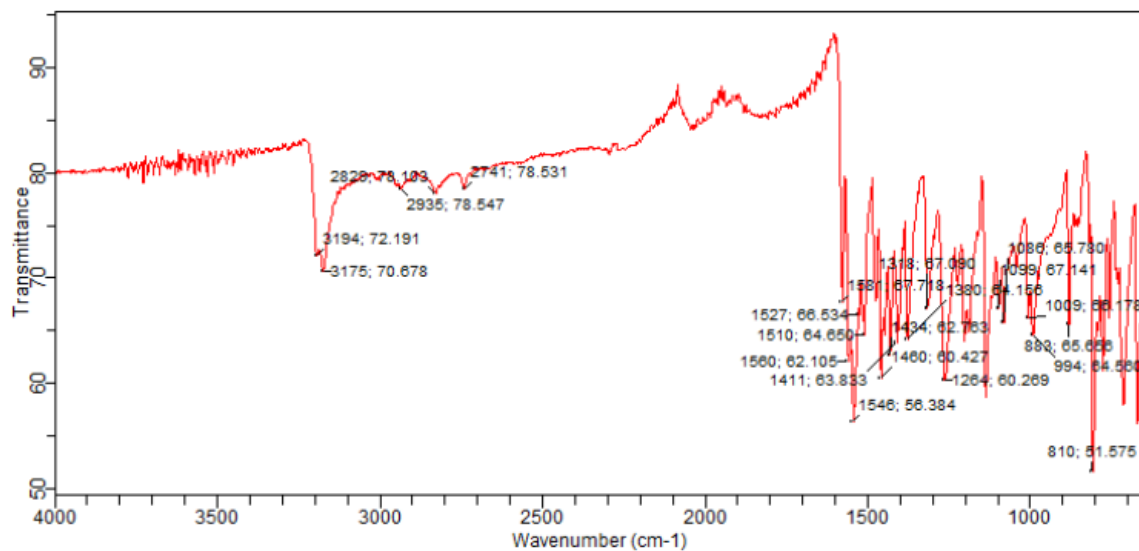
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

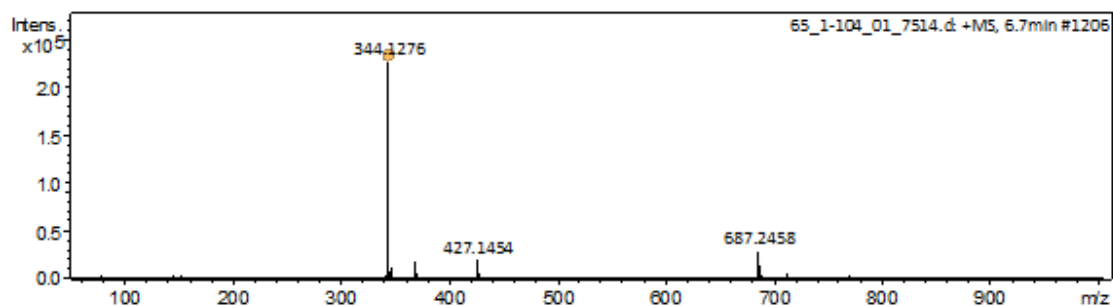
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP64	12.518	10999970	99.713
2	RT12.821	12.821	31702	0.287
Total			11031673	100.000



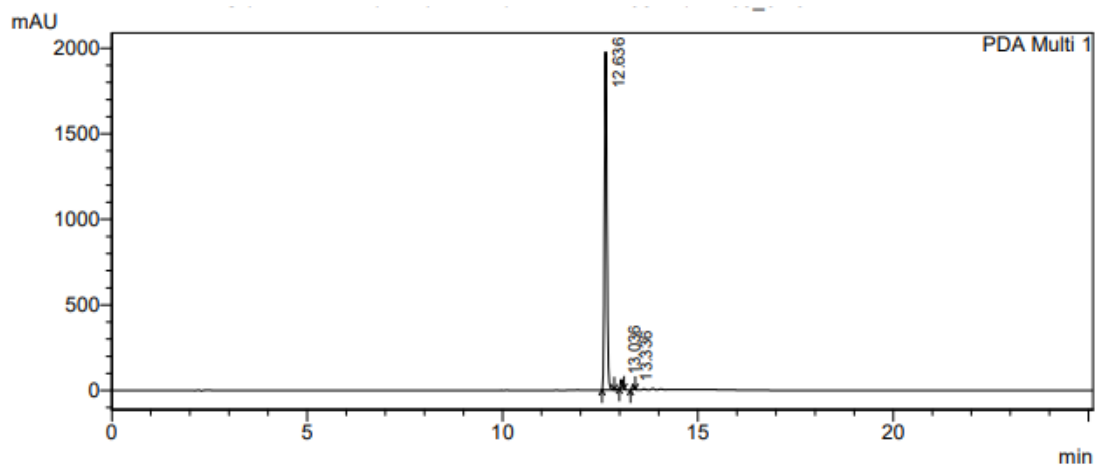
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



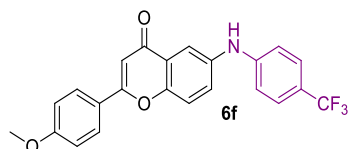
### HPLC analítico



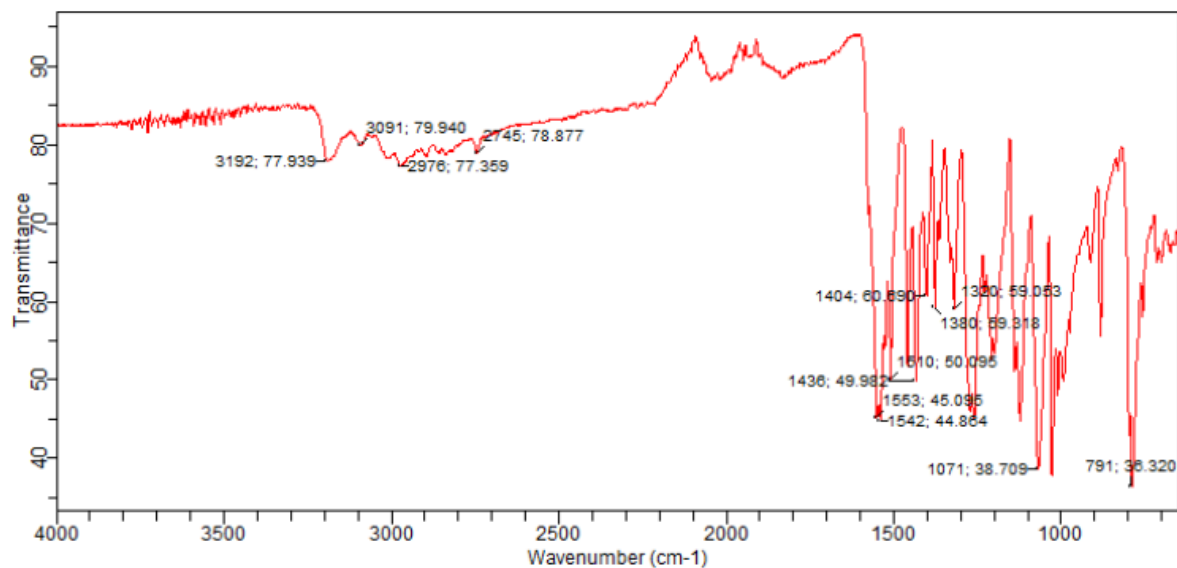
1 PDA Multi 1/264nm 4nm

PeakTable

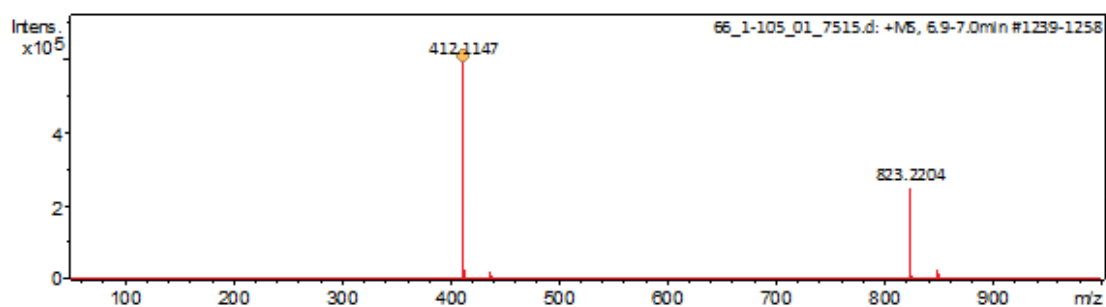
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP65	12.636	8322532	96.773
2	RT13.036	13.036	186698	2.171
3	RT13.336	13.336	90856	1.056
Total			8600085	100.000



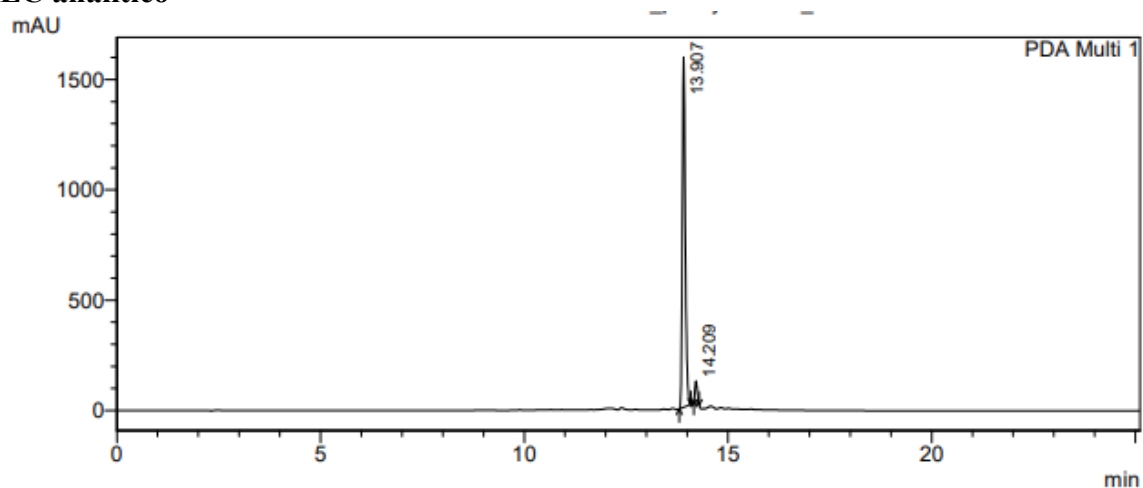
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico

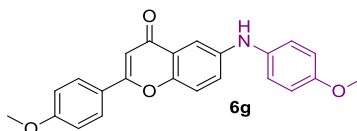


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

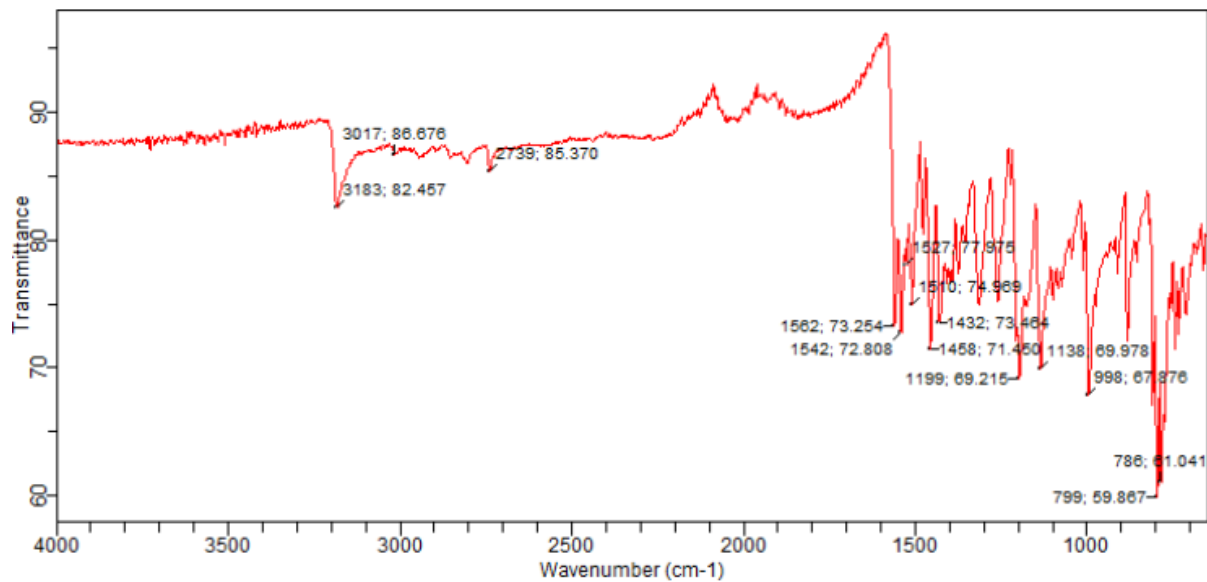
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

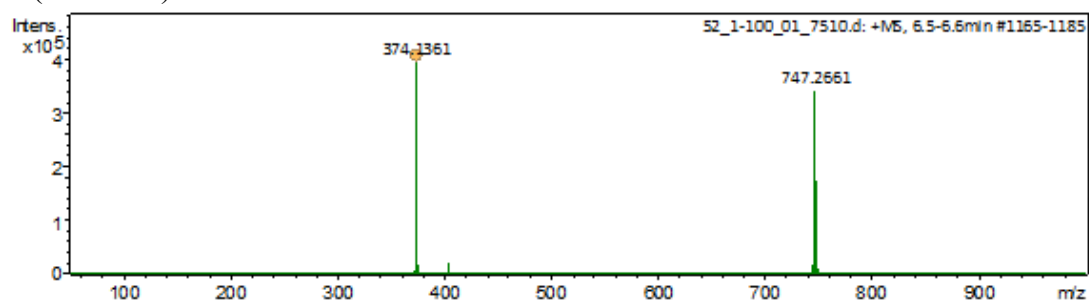
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP66	13.907	8143064	95.394
2	RT14.209	14.209	393144	4.606
Total			8536207	100.000



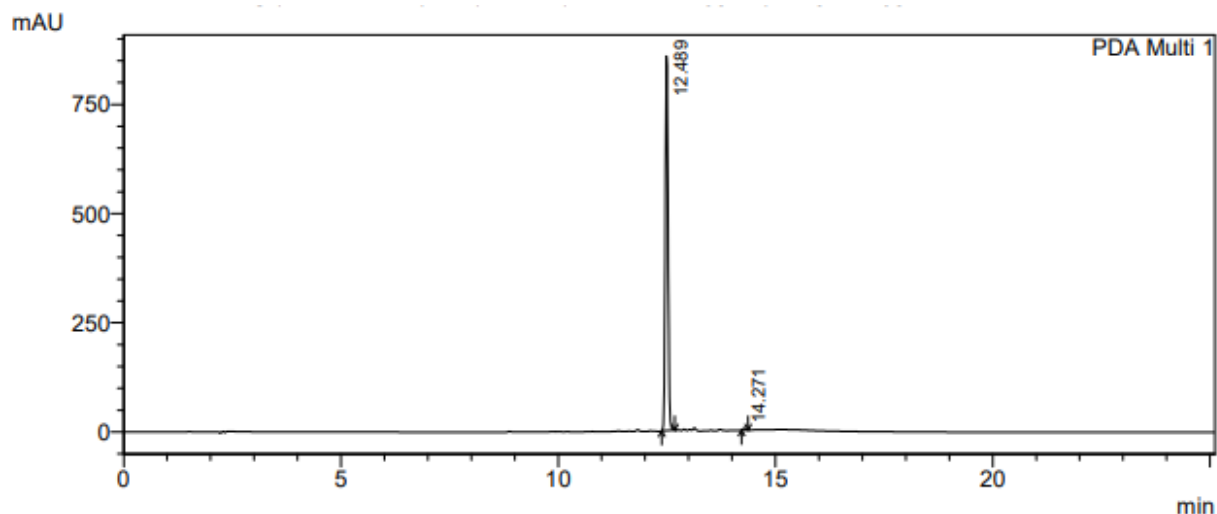
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico

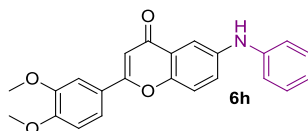


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

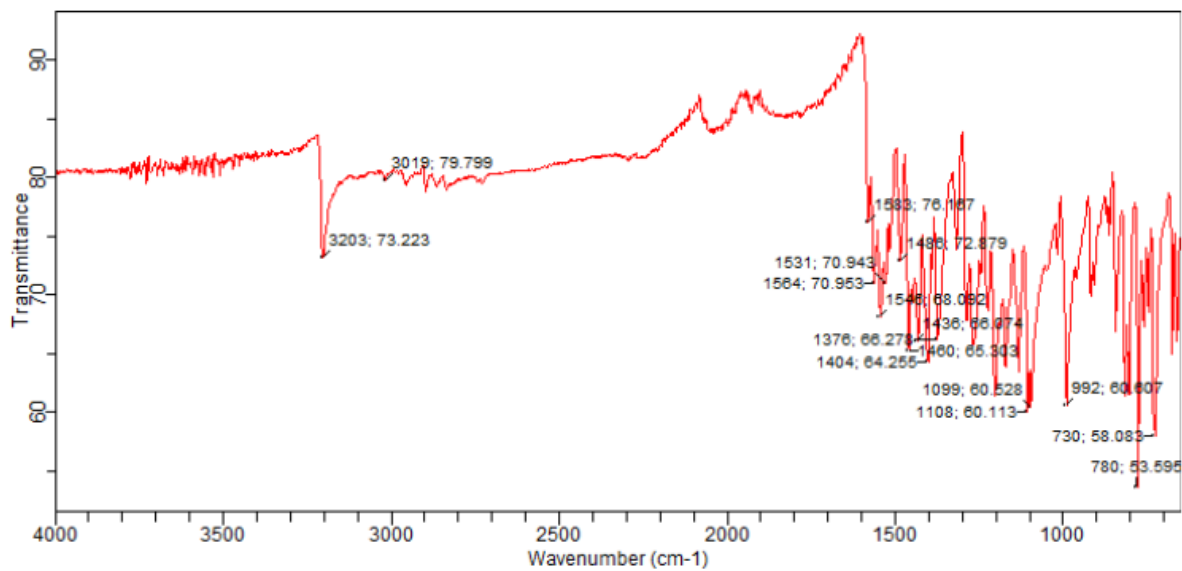
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

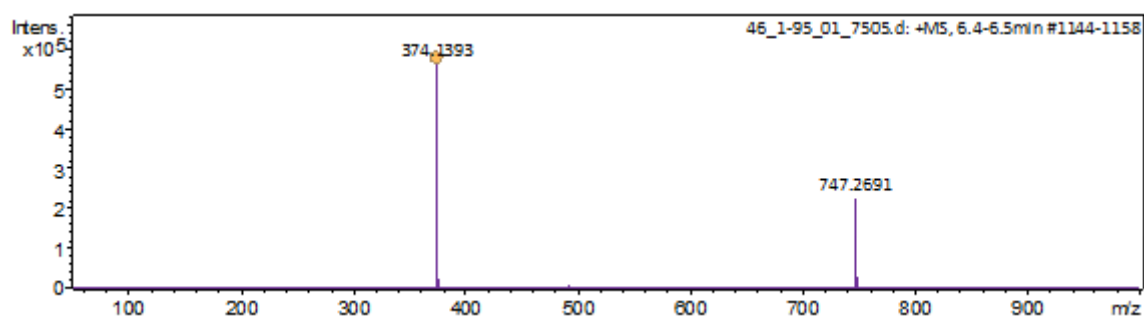
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP52	12.489	3833957	99.573
2	RT14.271	14.271	16424	0.427
Total			3850381	100.000



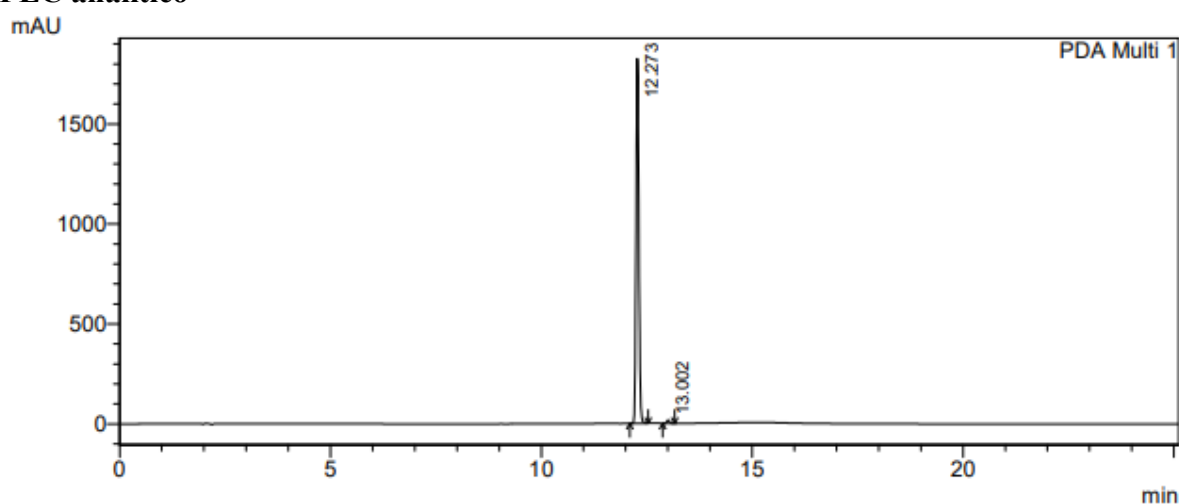
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico

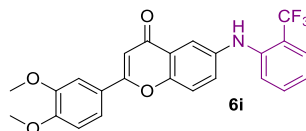


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

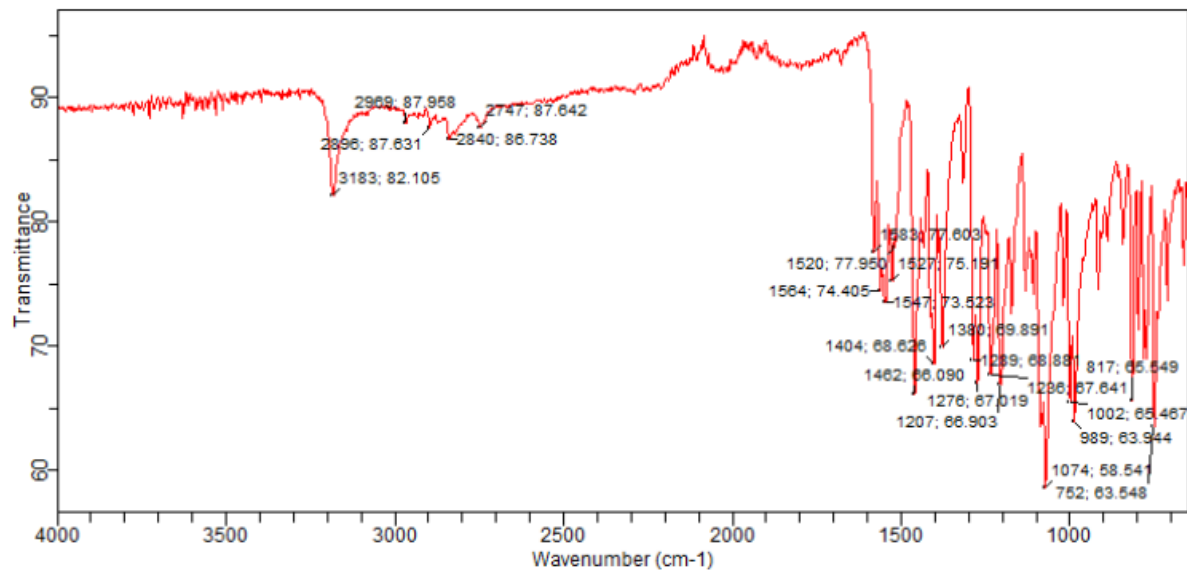
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

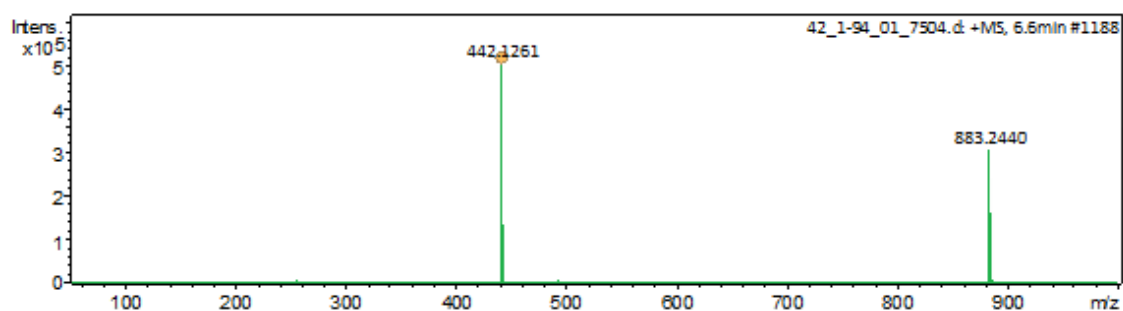
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP46	12.273	8351151	99.078
2	RT13.002	13.002	77686	0.922
Total			8428838	100.000



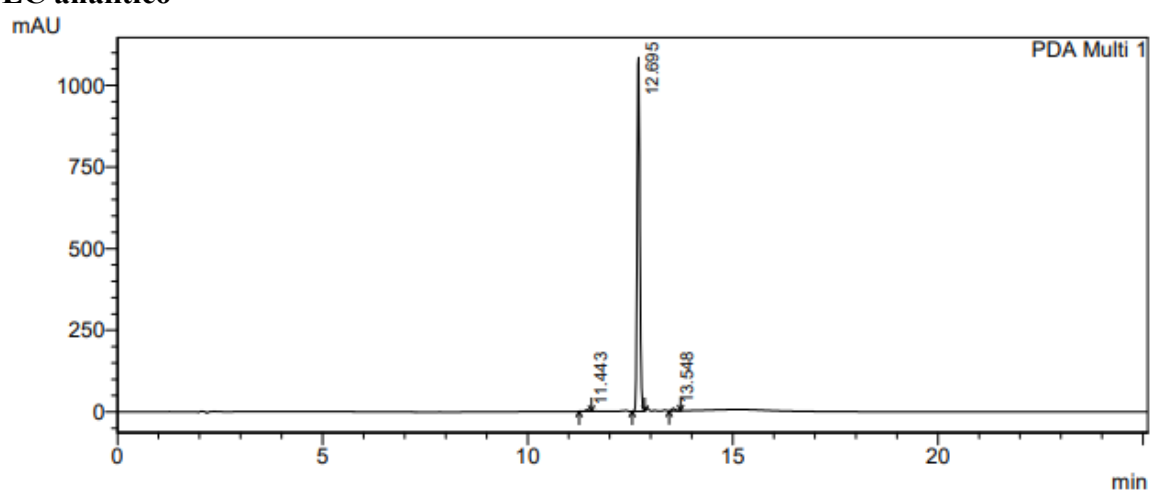
## Infravermelho



## HRMS (ESI-TOF)



## HPLC analítico

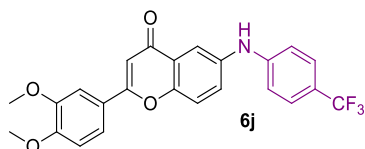


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

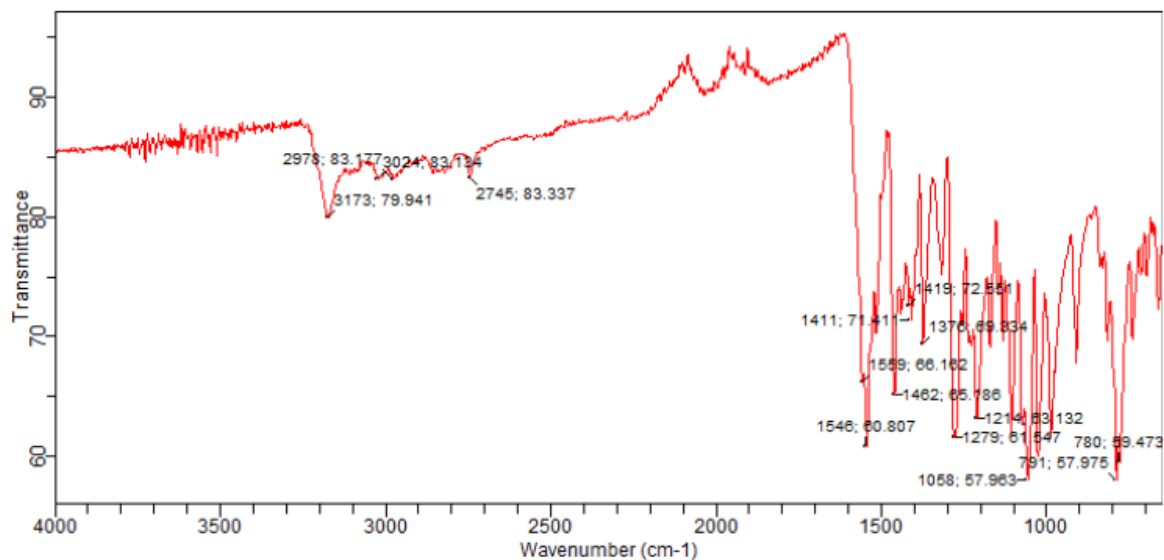
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

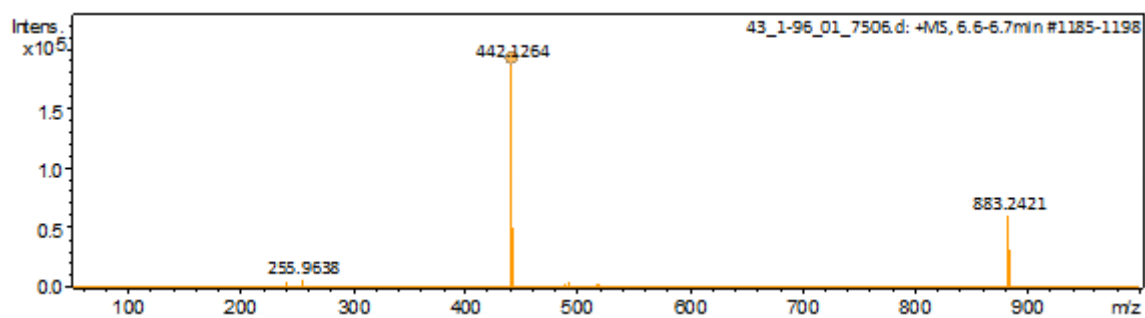
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	RT11.443	11.443	24799	0.496
2	KEP42	12.695	4935238	98.786
3	RT13.548	13.548	35868	0.718
Total			4995905	100.000



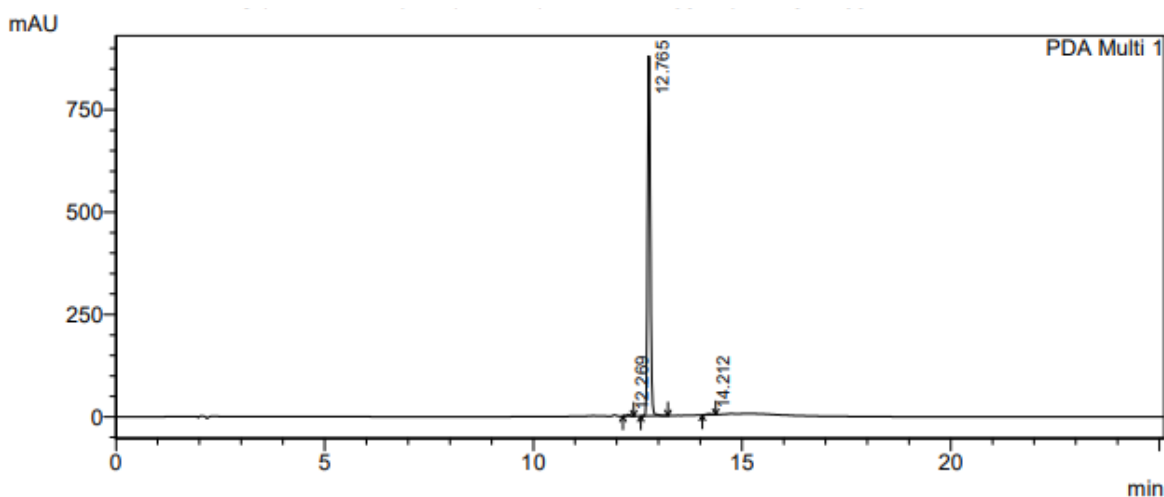
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico

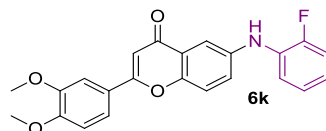


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

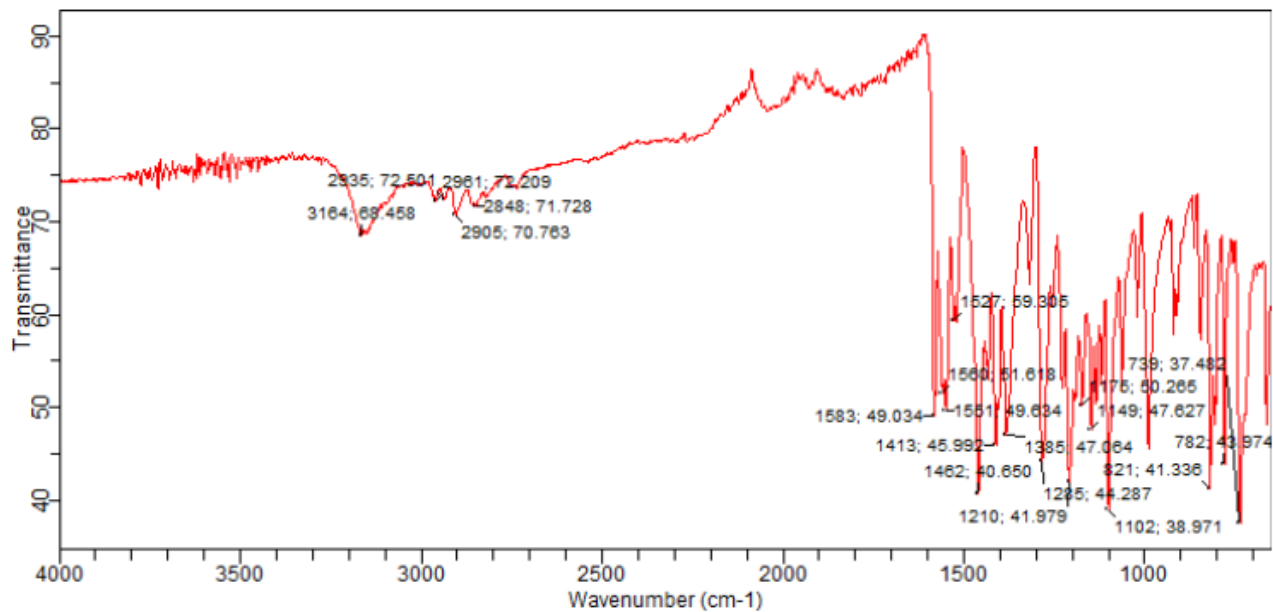
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

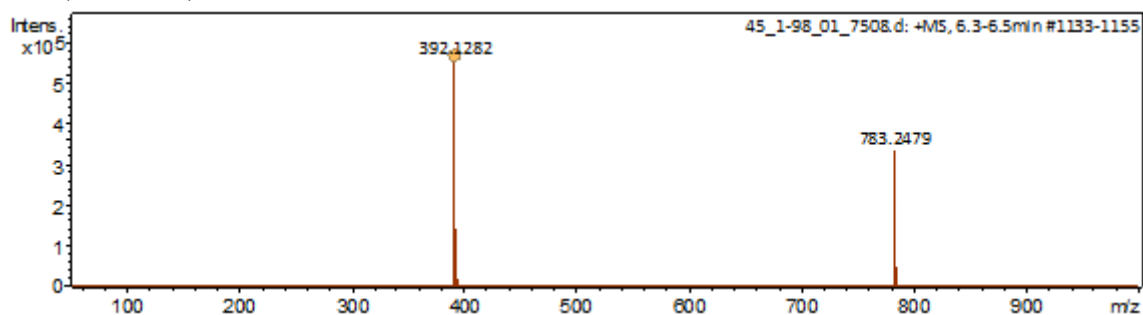
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	RT12.269	12.269	18450	0.445
2	KEP43	12.765	4107695	99.078
3	RT14.212	14.212	19783	0.477
Total			4145928	100.000



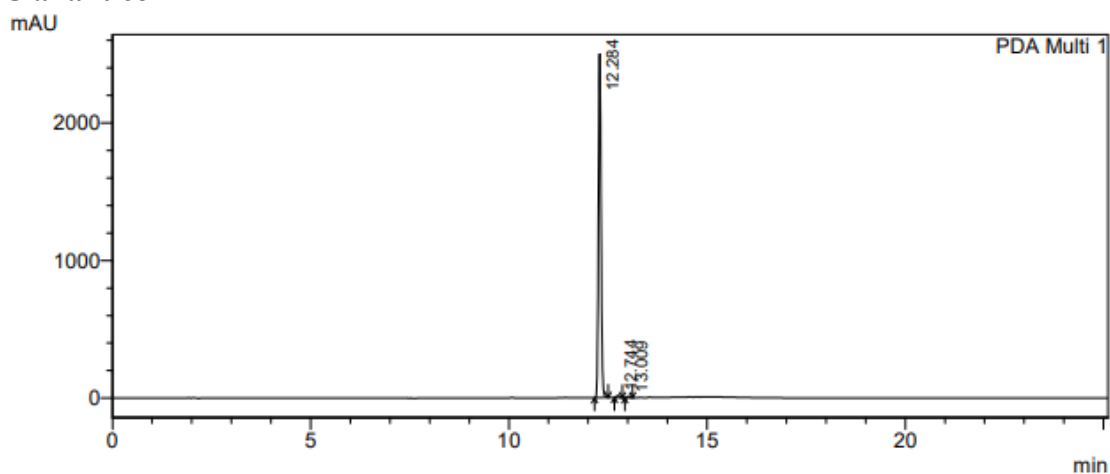
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico



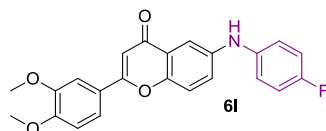
1 PDA Multi 1/264nm 4nm

PeakTable

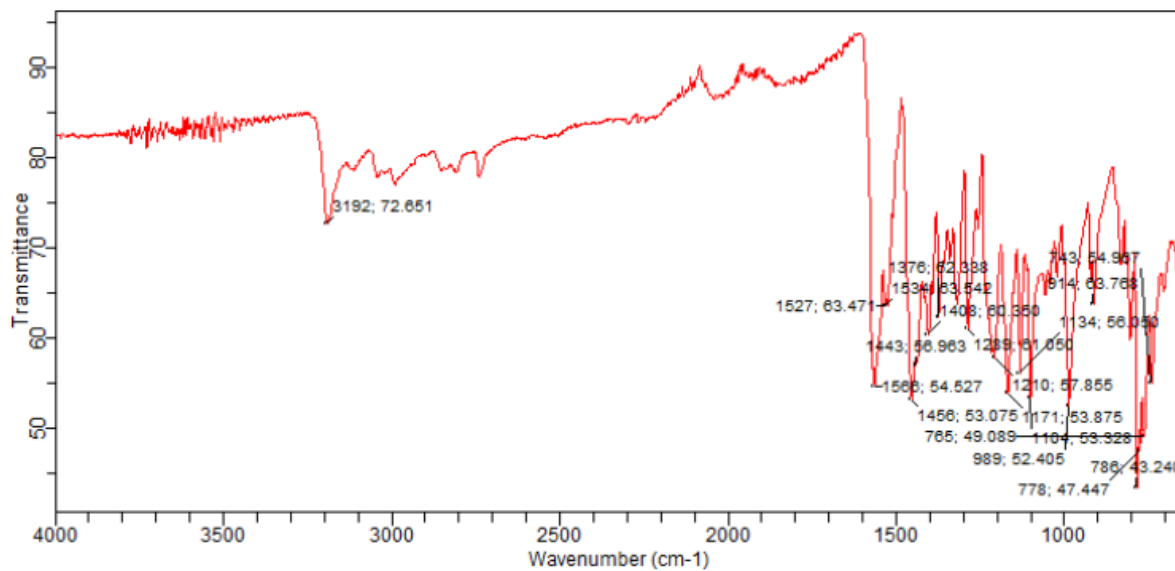
PDA Ch1 264nm 4nm

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP45	12.284	11304290	98.925
2	RT12.744	12.744	76596	0.670
3	RT13.009	13.009	46203	0.404
Total			11427089	100.000

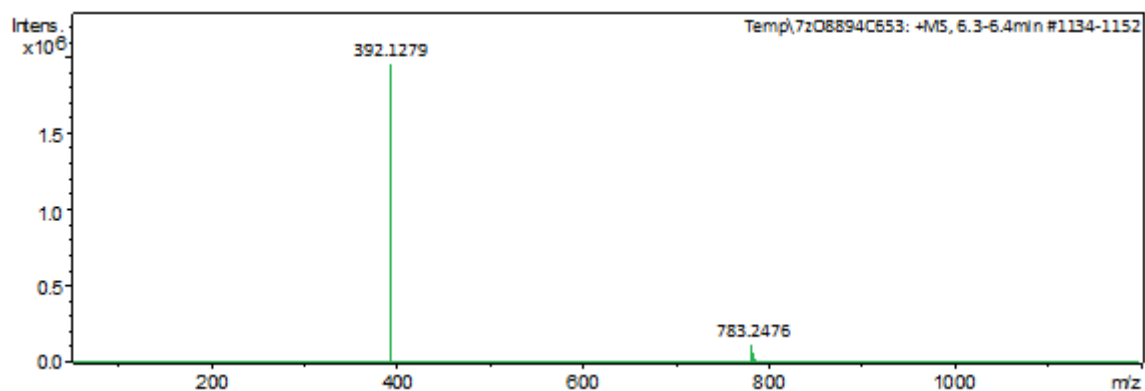




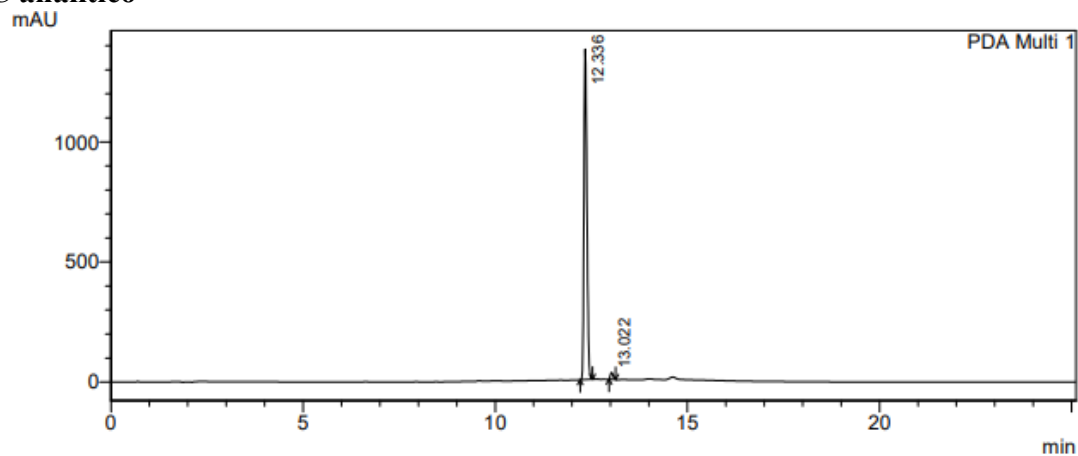
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



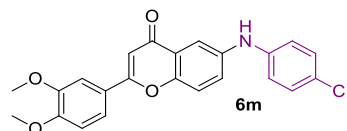
### HPLC analítico



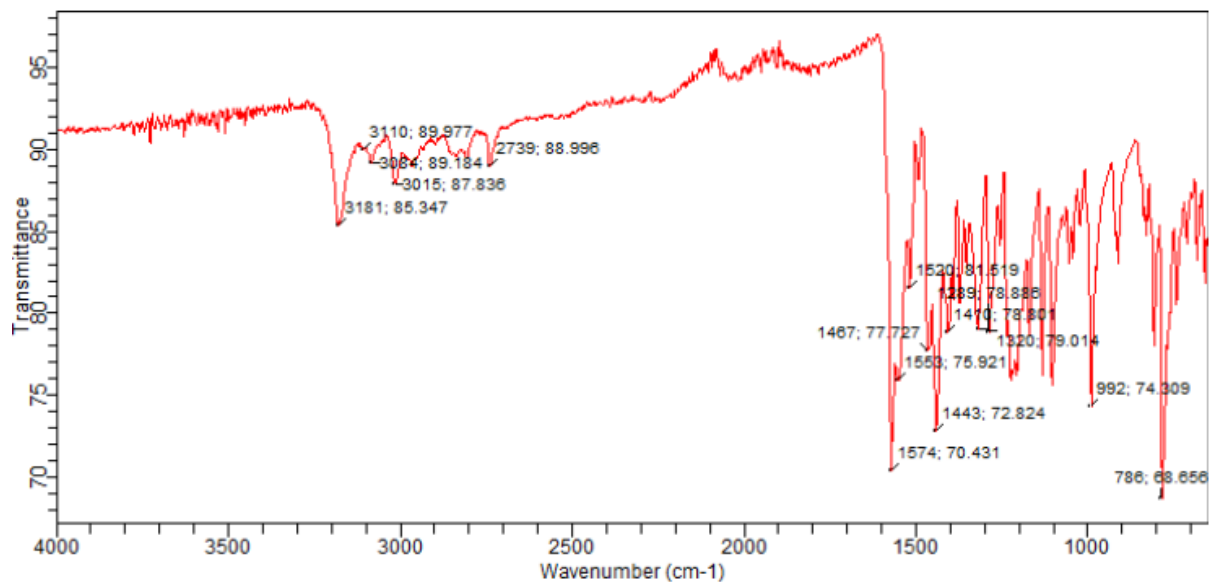
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

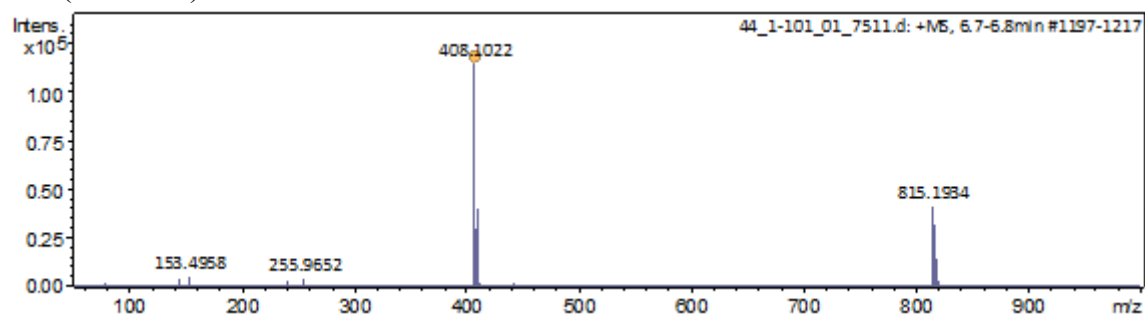
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP61	12.336	7245857	98.131
2	RT13.022	13.022	137993	1.869
Total			7383850	100.000



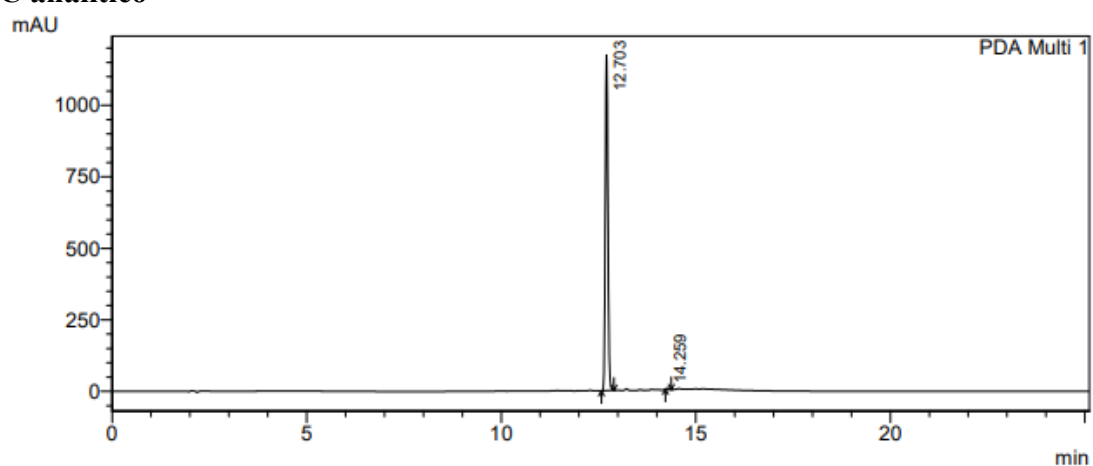
## Infravermelho



## HRMS (ESI-TOF)



## HPLC analítico

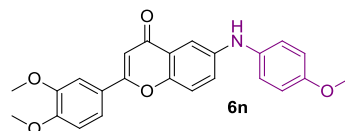


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

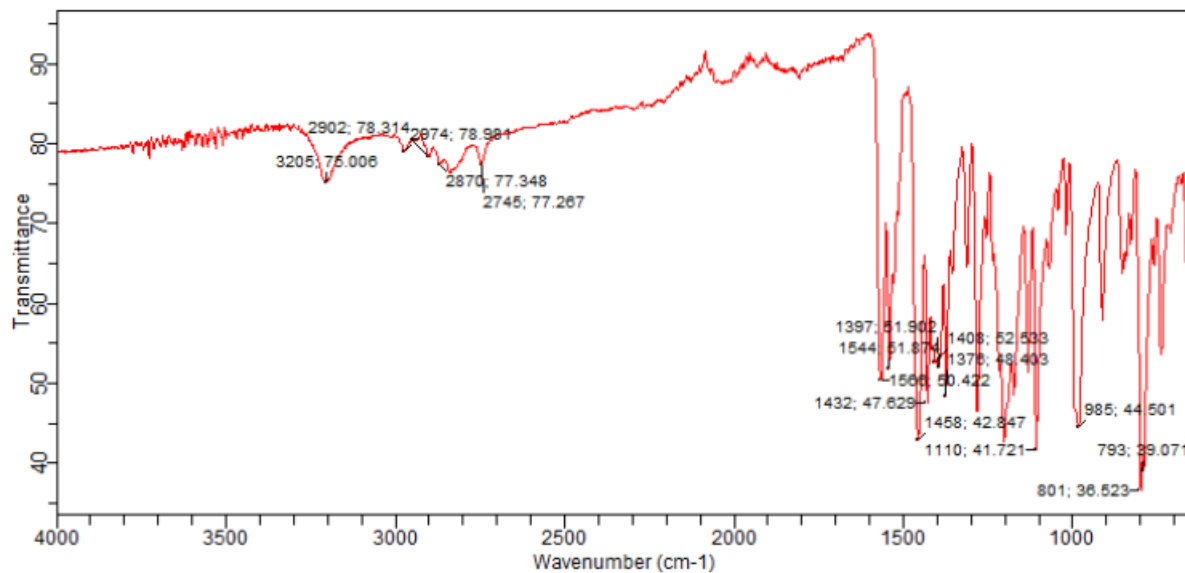
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

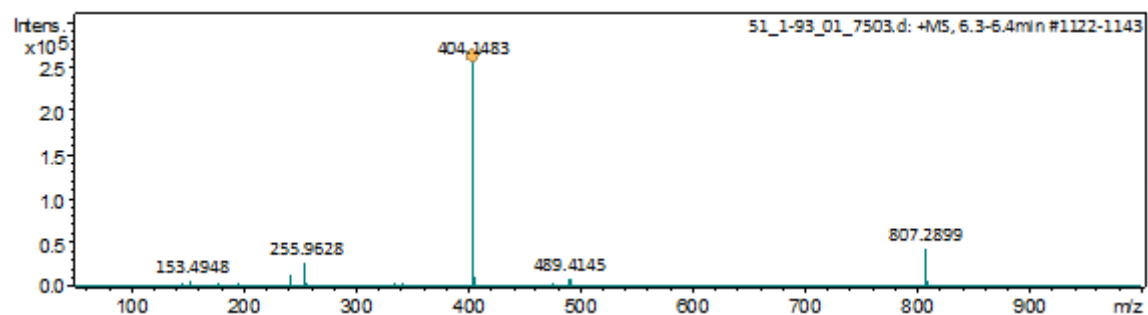
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP44	12.703	5413237	99.725
2	RT14.259	14.259	14915	0.275
Total			5428153	100.000



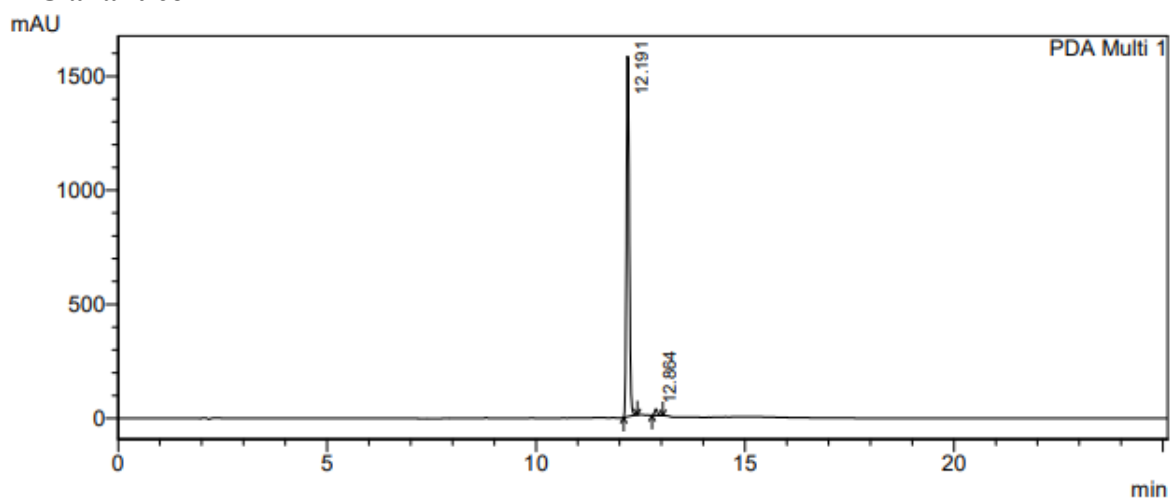
## Infravermelho



## HRMS (ESI-TOF)



## HPLC analítico

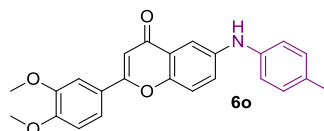


1 PDA Multi 1/264nm 4nm

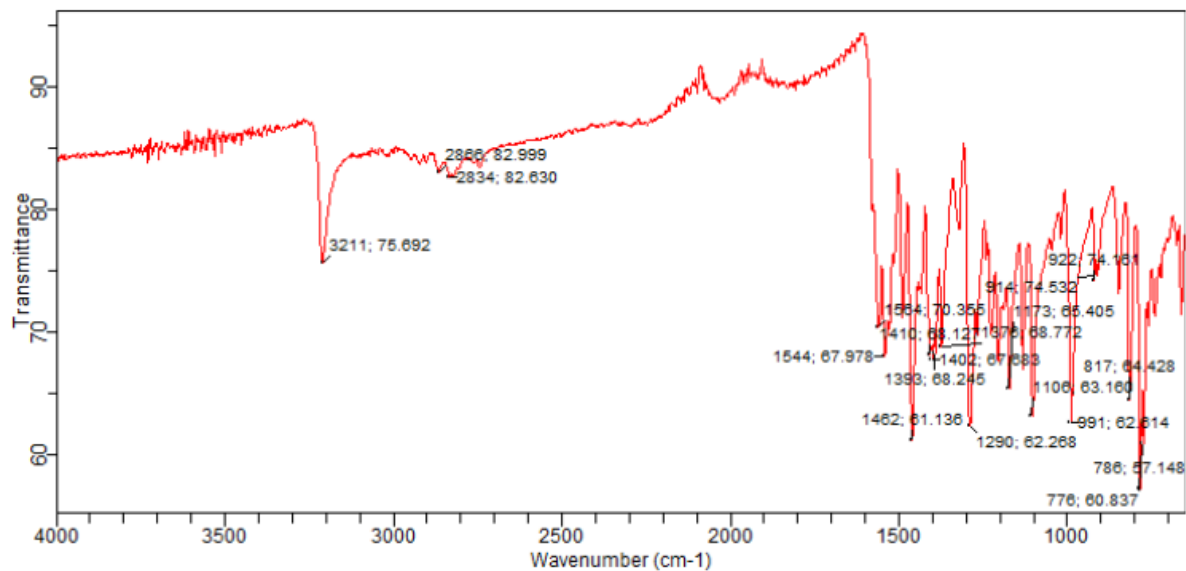
PeakTable

PDA Ch1 264nm 4nm

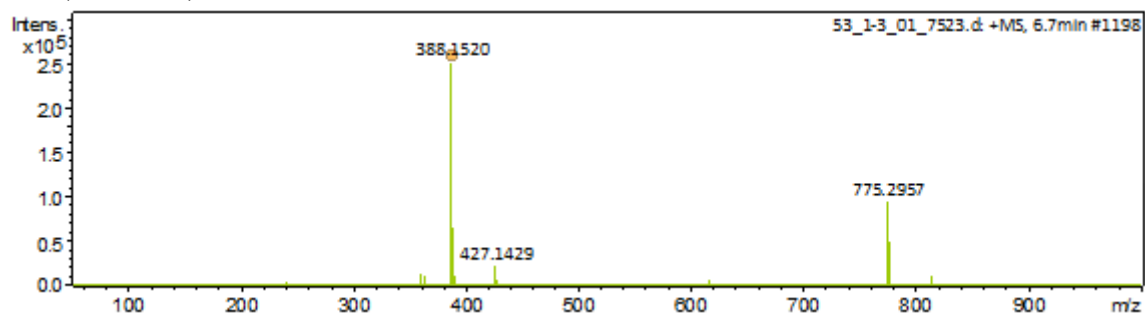
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP51	12.191	7376304	98.231
2	RT12.864	12.864	132840	1.769
Total			7509144	100.000



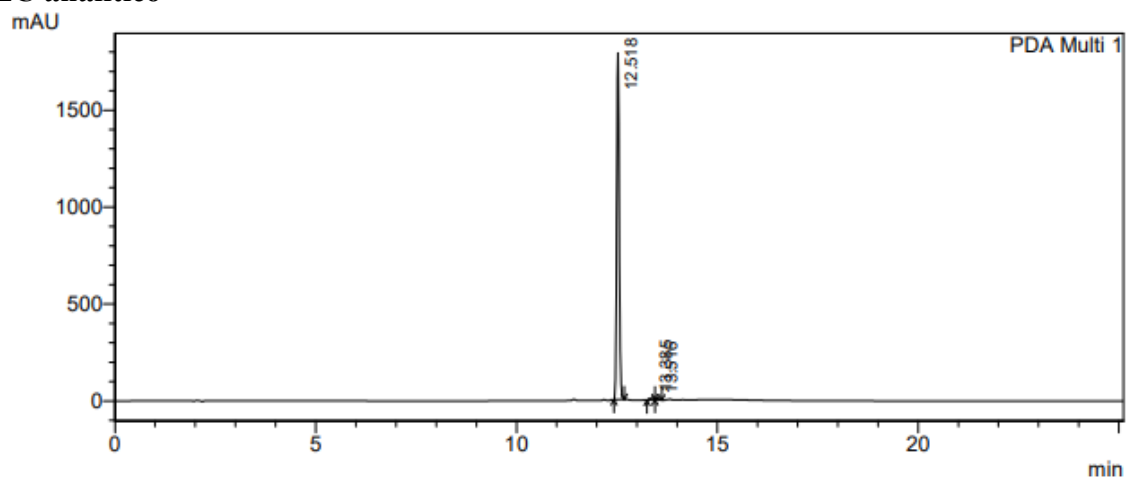
### Infravermelho



### HRMS (ESI-TOF)



### HPLC analítico



1 PDA Multi 1/264nm 4nm

PeakTable

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %
1	KEP53	12.518	8025549	98.429
2	RT13.385	13.385	87266	1.070
3	RT13.516	13.516	40795	0.500
Total			8153610	100.000

**ANEXO 3**  
**CURRÍCULO LATTES**

### Disciplinas Cursadas nos anos de 2017 e 2019

NOME DA DISCIPLINA	CÓDIGO	PERÍODO	Nº DE CRÉDITOS	CONCEITO
Conceitos Básicos de Espectroscopia	QFL5947-3/1	17/08/2017 a 29/11/2017	10	<b>C</b>
Aprimoramento Pedagógico	FBA5728-4/6	03/04/2018 a 30/04/2018	4	<b>A</b>
Mecanismos de Ação dos Fármacos aos Níveis Molecular e Eletrônico	FBF5734-8/1	20/02/2018 a 05/06/2018	6	<b>B</b>
Preparo de Artigos Científicos na Área de Farmácia	FBF5779-3/5	02/08/2019 a 03/10/2019	6	<b>A</b>

<b>Total de Créditos exigidos</b>	20
<b>Total de Créditos Cursados</b>	26

### ATIVIDADES ACADÊMICAS REALIZADAS NO PERÍODO

- Palestra intitulada: "Recent Advances in the Development of More Sustainable Asymmetric Organocatalysis", ministrado pelo Prof. Dr. Eusebio Juaristi, do departamento de química da CINVESTAV/El Colegio Nacional, Mexico City, dentro do Programa de Seminários da Comissão de Pesquisa da FCF/USP, em 12 de julho de 2017, com carga horária de 1 h.

- Doutorado Sanduíche intitulado – “Síntese de nucleósidos inibidores de acetil-e/ou butirilcolinesterase com potencial aplicação para a doença de Alzheimer”. Realizado na ULisboa sob orientação da Professora Dra. Amélia Pilar Rauter, durante o período de 03 de fevereiro a 16 de julho de 2020.

O projeto de seis meses foi planejado para a dedicação à síntese de moléculas, utilizando-se de metodologia clássica da química orgânica. Com a experiência do grupo da professora Rauter, a síntese de nucleosídeos pôde ser realizada, com a acetilação ou halogenação de precursores adequados, seguido pela reação com base heterocíclica. O isolamento dos compostos realizou-se por meio de coluna cromatográfica, a caracterização das estruturas por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O grupo de pesquisa da professora Rauter enriqueceu e proporcionar meu crescimento profissional.

- Programa de aperfeiçoamento de ensino (PAE) - Estágio supervisionado em docência, com carga horária total de 120 horas - de julho à novembro de 2020, tendo desenvolvido atividades didáticas junto a

disciplina QFL1701 - Introdução ao Ensino de Química do Departamento de Química Fundamental, do Instituto de Química, aos alunos de graduação, sob supervisão do Prof. Dr. Paulo Alves Porto.

- EU-OPENSREEN Autumn training school 2021 – treinamento realizado on-line de Berlim entre os dias 15 a 19 de novembro de 2021.
- XXVIII Escola de Verão em Química Farmacêutica Medicinal (EVQFM) Professor Eliezer Barreiro (UFRJ) – curso realizado de forma virtual entre os dias 25 a 28 de janeiro de 2022.



## Karinne Esteves Prado

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9122516457352745>

ID Lattes: **9122516457352745**

Última atualização do currículo em 28/03/2022

Doutoranda pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP (departamento de Fármacos e Medicamentos), doutorado sanduíche realizado na Universidade de Lisboa (orientadora: Amélia Pilar Rauter) financiado pela instituição de fomento CAPES - programa PRINT, mestrado em Engenharia Química pela FEI (2016) e graduação em Química pela Faculdade de São Bernardo do Campo (2012). **(Texto informado pelo autor)**

## Identificação

**Nome**

Karinne Esteves Prado

**Nome em citações bibliográficas**

PRADO, K. E.; PRADO, KARINNE E.

**Lattes ID**

<http://lattes.cnpq.br/9122516457352745>

## Endereço

## Formação acadêmica/titulação

**2017**

Doutorado em andamento em Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.  
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.  
com **período sanduíche** em Universidade de Lisboa (Orientador: Amélia Pilar Grases dos Santos Silva Rauter).  
Título: Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer,  
Orientador: Roberto Parise Filho.  
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.  
Palavras-chave: Síntese orgânica; Atividade Biológica; alzheimer; fármaco; Acoplamento cruzado.

**2014 - 2016**

Mestrado em Engenharia Química.  
FUNDAÇÃO EDUCACIONAL INACIANA PADRE SABOIA DE MEDEIROS, FEI, Brasil.  
Título: SÍNTESE DO FÁRMACO  $\beta$ -LAPACHONA E SEUS DERIVADOS: uma nova abordagem, Ano de Obtenção: 2016.  
Orientador: Doutor Rodrigo Cella.  
Bolsista do(a): Centro Universitário da FEI, FEI, Brasil.  
Palavras-chave: B-lapachona; Síntese orgânica; Knoevenagel-Hetero-Diels-Alder.  
Grande área: Ciências Exatas e da Terra  
Grande Área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Química Orgânica / Especialidade: Síntese Orgânica.  
Grande Área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Síntese de novas moléculas.

**2009 - 2012**

Graduação em Química.  
Faculdade de São Bernardo do Campo, FASB, Brasil.  
Título: Análise da Eficiência da Passivação para o aço Inoxidável AISI 304.  
Orientador: Doutor Maurício Marques Pinto da Silva.  
Bolsista do(a): MEC, PROUNI, Brasil.

## Formação Complementar

## Atuação Profissional



Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

**Vínculo institucional**

**2017 - Atual**

Vínculo: , Enquadramento Funcional:

Centro Universitário da FEI, FEI, Brasil.

**Vínculo institucional**

**2014 - 2016**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Aluna de pós-graduação

Faculdade São Bernardo, FASB, Brasil.

**Vínculo institucional**

**2011 - 2012**

Vínculo: Aluna, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica

**Vínculo institucional**

**2009 - 2012**

Vínculo: Aluna, Enquadramento Funcional: Aluna de graduação

Tupahue Tintas S/A, TUPAHUE, Brasil.

**Vínculo institucional**

**2009 - 2016**

**Outras informações**

Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Laboratório de análise  
Análises de matérias-primas para desenvolvimento e reformulação - Elaboração de  
Métodos - Confeção de FISPQ (NBR 14725)

## Projetos de pesquisa

**2017 - Atual**

Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer  
Descrição: Essa pesquisa propõe a síntese de novos compostos baseados nas estruturas do fármaco anticolinesterásico donepezila e na simplificação da estrutura do composto natural territrema B (TRB), para obtenção de núcleo flavona. As estratégias se basearam na simplificação molecular do arcabouço químico da TRB associado à inserção de diferentes substituintes..  
Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Karinne Esteves Prado - Integrante / Roberto Parise Filho - Coordenador.

## Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Química Orgânica.
2. Grande área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Química Analítica.

## Idiomas

**Inglês**

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Português**

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

## Prêmios e títulos

**2012**

2º Lugar na área de exatas - trabalhos em andamento, 12º CONIC - SEMESP.

**2012**

Honra ao Mérito, 52º CBQ - Congresso Brasileiro de Química.

## Produções

**Produção bibliográfica**

## Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

- ★ ZUKERMAN-SCHPECTOR, JULIO ; **PRADO, KARINNE E.** ; NAME, LUCCAS L. ; CELLA, RODRIGO ; JOTANI, MUKESH M. ; TIEKINK, EDWARD R. T. . 2-[(4-Chlorophenyl)selanyl]-3,4-dihydro-2 H -benzo[ h ]chromene-5,6-dione: crystal structure and Hirshfeld analysis. ACTA CRYSTALLOGRAPHICA SECTION E, CRYSTALLOGRAPHIC COMMUNICATIONS **JCR**, v. 73, p. 918-924, 2017.  
Citações: **WEB OF SCIENCE** 5 | **SCOPUS** 2
- ★ **PRADO, KARINNE E.** ; NAME, LUCCAS L. ; OLIVEIRA, RAYSSA P. ; GUADAGNIN, RAFAEL C. ; PIMENTA, DANIEL C. ; PENA, JESUS M. ; CELLA, RODRIGO . Synthesis of Lapachone Derivates via Ionic Liquid-Mediated Tandem Knoevenagel/Diels-Alder Reaction. ChemistrySelect **JCR**, v. 2, p. 7421-7425, 2017.  
Citações: **WEB OF SCIENCE** 1

## Trabalhos completos publicados em anais de congressos

- PRADO, K. E.**; FERREIRA, F. A. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. . Avaliação dos efeitos da concentração de HNO<sub>3</sub> no processo de passivação do aço inoxidável AISI 304.. In: 11º Congresso Nacional de Iniciação Científica, 2011, Santos/ São Paulo. Avaliação dos efeitos da concentração de HNO<sub>3</sub> no processo de passivação do aço inoxidável AISI 304., 2011.

## Resumos publicados em anais de congressos

- PRADO, K. E.**; GONCALVES, M. L. ; LIMA, F. S. ; PAULINO, D. G. F. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. ; SOARES, T. C. . Avaliação da passivação de aços inoxidáveis austeníticos e ferríticos.. In: 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013, Águas de Lindóia/ SP. Avaliação da passivação de aços inoxidáveis austeníticos e ferríticos., 2013.
- ★ **PRADO, K. E.**; LIMA, F. S. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. . Estudo da passivação do aço inoxidável 316-L.. In: 12º Congresso Nacional de Iniciação Científica / SEMESP, 2012, São Paulo/ SP. Estudo da passivação do aço inoxidável 316-L., 2012.
- ★ **PRADO, K. E.**; GONCALVES, M. L. ; LIMA, F. S. ; PAULINO, D. G. F. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. ; SOARES, T. C. . Aços Inoxidáveis Austeníticos AISI 304 e AISI 316L: comparação dos efeitos de passivação com ácido nítrico. In: 52º CBQ - Congresso Brasileiro de Química, 2012, Recife/ PE. Aços Inoxidáveis Austeníticos AISI 304 e AISI 316L: comparação dos efeitos de passivação com ácido nítrico, 2012.
- PRADO, K. E.**; CARVALHO JUNIOR, W. M. ; CARVALHO, R. C. ; FERREIRA, F. A. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. . Avaliação da passivação do aço AISI 304 com ácido cítrico.. In: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012, Águas de Lindóia/ SP. Avaliação da passivação do aço AISI 304 com ácido cítrico., 2012.
- PRADO, K. E.**; CARVALHO JUNIOR, W. M. ; CARVALHO, R. C. ; FERREIRA, F. A. ; ROGERIO, D. O. ; SILVA, M. M. P. . Passivação do Aço AISI 304: Avaliação da Resistência à Corrosão em HCl por Medidas de Potencial de Circuito Aberto.. In: 51º CBQ - Congresso Brasileiro de Química, 2011, São Luís/ MA. Passivação do Aço AISI 304: Avaliação da Resistência à Corrosão em HCl por Medidas de Potencial de Circuito Aberto., 2011.

## Eventos

### Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

- 12º CONIC - SEMESP. Estudo da passivação do aço inoxidável 316-L.. 2012. (Congresso).
- 52º CBQ - Congresso Brasileiro de Química. Aços inoxidáveis austeníticos AISI 304 e AISI 316-L: comparação dos efeitos da passivação com ácido nítrico.. 2012. (Congresso).
- 11º CONIC - SEMESP. Avaliação dos efeitos da concentração de HNO<sub>3</sub> no processo de passivação do aço inoxidável AISI 304 e Ação da temperatura na passivação do aço AISI 304.. 2011. (Congresso).

## Inovação

### Projetos de pesquisa

#### 2017 - Atual

Síntese e avaliação biológica de novas aminoflavonas planejadas como potenciais anticolinesterásicos para o tratamento da Doença de Alzheimer  
 Descrição: Essa pesquisa propõe a síntese de novos compostos baseados nas estruturas do fármaco anticolinesterásico donepezila e na simplificação da estrutura do composto natural territrema B (TRB), para obtenção de núcleo flavona. As estratégias se basearam na simplificação molecular do arcabouço químico da TRB associado à inserção de diferentes substituintes..  
 Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

Integrantes: Karinne Esteves Prado - Integrante / Roberto Parise Filho - Coordenador.