



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade De Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Planejamento, síntese e avaliação biológica de
novos derivados da série LAPDESF FTD-AO com
potencial atividade no tratamento da Doença de
Alzheimer**

Diego Eidy Chiba

Orientadora: Profa. Dra. Chung Man Chin

Araraquara
2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



Planejamento, síntese e avaliação biológica de novos derivados da série LAPDES FTD-AO com potencial atividade no tratamento da Doença de Alzheimer

Diego Eidy Chiba

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Chung Man Chin

Araraquara
2019

C533p

Chiba, Diego Eidy.

Planejamento, síntese e avaliação biológica de novos derivados da série LAPDESFTD-AO com potencial atividade no tratamento da Doença de Alzheimer / Diego Eidy Chiba. – Araraquara, 2019.
197 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Chung Man Chin.

1. Doença de Alzheimer. 2. Neuroproteção. 3. Ftalimida. 4. Ácido ferúlico. 5. Ácido lipóico. I. Chung, Man Chin, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, Valdomiro e Geralda, pela educação que me deram, por sempre me apoiarem e me oferecerem às condições para que eu pudesse estudar e chegar cada vez mais longe.

A minha orientadora, prof.^a Dra. Chung Man Chin, pelos ensinamentos, orientação, apoio e pela confiança em meu trabalho, além da amizade desenvolvida durante todos esses anos de orientação.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, pela minha formação e também pelo oferecimento de estrutura para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Pui-Kai Li, da The Ohio State University, pela orientação e pelo acolhimento em seu laboratório durante meu período de estágio no exterior.

Ao prof. Dr. Jean Leandro dos Santos, pela ajuda e colaboração para a realização deste trabalho e a todos os companheiros de laboratório (LAPDESF), do passado e do presente, por toda ajuda oferecida e a tantos momentos de amizade vividos.

Ao Prof. Fernando Rogério Pavan e a doutoranda Camila Maríngolo Ribeiro pela disponibilidade de estrutura e ajuda na realização de ensaios biológicos.

Ao apoio financeiro:

Processo nº 2016/08470-4, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Bolsa regular no país

Processo nº 2017/13524-9, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE)

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

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é a principal e mais comum causa de demência senil, contribuindo com 50-75% dos casos diagnosticados. Nos países desenvolvidos, a DA é quarta causa de morte, ficando atrás somente de doenças cardiovasculares, câncer e acidente vascular cerebral. A projeção da Organização Mundial de Saúde (OMS) é que até 2050 o número de idosos aumente 21% no mundo. A DA é uma doença neurodegenerativa progressiva, na qual os pacientes diagnosticados mostram uma extensa perda de sinapses e neurônios no hipocampo e nos córtex frontal e temporal, comprometendo de forma gradual suas funções cognitivas, como a memória, capacidade de aprendizado, raciocínio, assim como o comprometimento da comunicação e habilidade realização de atividades diárias. Atualmente não há tratamento capaz de curar ou modificar de maneira eficaz a doença, apenas medicamentos (donepezila, rivastigmina, galantamina e memantina) que melhoram alguns sintomas manifestados pelos pacientes. A redução do processo de neuroinflamação e estresse oxidativo associados ao envelhecimento e aos marcadores da DA, como a formação de placas senis e emaranhados neurofibrilares, contribui na plasticidade sináptica, cognição e memória e atenuando os efeitos associados à perda de neurônios dos pacientes acometidos pela DA. Neste trabalho foram planejados e obtidos oito compostos intermediários e nove compostos finais inéditos, planejados através da estratégia de hibridização molecular do ácido lipóico ou ácido ferúlico com derivados ftalimídicos. Todos os compostos foram caracterizados quimicamente por espectroscopia de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C , espectroscopia de infravermelho, e tiveram seus pontos de fusão determinados. Para os compostos finais, também foi realizada a determinação teórica e experimental da característica físico-química $\log P$, sendo observado que a maior parte dos compostos finais se apresentaram dentro da faixa adequada para conseguir atravessar barreiras biológicas. Quanto a atividade biológica, os compostos finais foram avaliados em relação a sua capacidade antioxidante, pelo teste de DPPH, sendo que os compostos Lapdesf FTD-AO 5, 6 e 7 apresentaram atividade sequestrante do radical em concentrações acima de $100\mu\text{M}$. Também foi avaliado a citotoxicidade *in vitro*, onde foi observado que todos os compostos apresentaram 75% de viabilidade em pelo menos uma concentração avaliada. Além disso, os compostos finais Lapdesf FTD-AO 3, 5, 8 e 9 apresentaram atividade polimerizadora de tubulina. A partir dos resultados obtidos, foi observado que os compostos Lapdesf FTD-AO 5 e 8 apresentam potencial atividade neuroprotetora.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, neuroproteção, ftalimída, ácido ferúlico, ácido lipóico

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the main and most common cause of senile dementia, accounting for 50-75% of diagnosed cases. In developed countries, AD is the fourth leading cause of death, leading only to cardiovascular disease, cancer and stroke. The projection of the World Health Organization (WHO) is that by 2050 the number of elderly people increase by 21% in the world. AD is a progressive neurodegenerative disease, in which the diagnosed patients show an extensive loss of synapses and neurons in the hippocampus and in the frontal and temporal cortex, gradually impairing their cognitive functions, such as memory, learning ability, reasoning, and communication impairment and ability to perform daily activities. Currently there is no treatment capable of curing or effectively modifying the disease, only medications (tacrine, donepezil, rivastigmine, galantamine and memantine) that improve some of the symptoms manifested by the patients. The reduction of neuroinflammation and oxidative stress associated with aging and AD markers, such as the formation of senile plaques and neurofibrillary tangles, contribute to synaptic plasticity, cognition and memory and attenuate the effects associated with the loss of neurons in patients with AD. In this work, eight intermediate compounds and nine unpublished final compounds were obtained through the molecular hybridization strategy of lipoic acid or ferulic acid with phthalimide derivatives. All compounds were chemically characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR spectroscopy, infrared spectroscopy, and had their melting points determined. For the final compounds, the theoretical and experimental determination of the physical-chemical property log P was also determined, and it was observed that most of the final compounds were within the proper range to be able to cross biological barriers. As regards biological activity, the final compounds were evaluated for their antioxidant capacity by the DPPH test and the compounds Lapdesf FTD-AO 5, 6 and 7 presented radical sequestering activity at concentrations above 100µM. In vitro cytotoxicity was also evaluated, where it was observed that all compounds showed 75% viability in at least one concentration evaluated. In addition, the Lapdesf FTD-AO 3, 5, 8 and 9 final compounds exhibited tubulin polymerization activity. From the results obtained, it was observed that the compounds Lapdesf FTD-AO 5 and 8 present potential neuroprotective activity.

Keywords: Alzheimer's disease, neuroprotection, phthalimide, ferulic acid, lipoic acid

LISTA DE ABREVIATURAS

AF – Ácido ferúlico

AL – Ácido lipóico

DA – Doença de Alzheimer

DMAP – 4-Dimetilaminopiridina

EDC – Cloridrato de *N*-Etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

ENF – Emaranhados neurofibrilares

ERO – Espécies reativas de oxigênio

MT - Microtúbulo

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAM – Proteína associada a microtúbulos

PPA – Proteína precursora de amiloide

PTSA – Ácido p-toluenossulfônico

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SNC – Sistema Nervoso Central

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

β A – Peptídeo β -amiloide

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padrões utilizados na determinação da curva LogK versus LogP	58
Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 3 (DMSO)	64
Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos compostos intermediários 6 e 7 (DMSO)	67
Tabela 4. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos compostos intermediários 10 e 12 (DMSO)	69
Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN ^1H dos compostos intermediários 11 e 13 (DMSO)	71
Tabela 6. Deslocamentos químicos de RMN ^1H do composto intermediário 15 (DMSO)	72
Tabela 7. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto intermediário 17 (DMSO)	75
Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto intermediário 18 (DMSO)	77
Tabela 9. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 19 (DMSO)	79
Tabela 10. Bandas dos grupamentos químicos do composto 19.....	80
Tabela 11. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 20 (DMSO)	82
Tabela 12. Bandas dos grupamentos químicos do composto 20.....	83
Tabela 13. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 22 (DMSO)	85
Tabela 14. Bandas dos grupamentos químicos do composto 22.....	86
Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 23 (DMSO)	88
Tabela 16. Bandas dos grupamentos químicos do composto 23.....	89
Tabela 17. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 24 (DMSO)	91
Tabela 18. Bandas dos grupamentos químicos do composto 23.....	92
Tabela 19. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 25 (DMSO)	94

Tabela 20. Bandas dos grupamentos químicos do composto 25	95
Tabela 21. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C do composto final 26 (DMSO)	97
Tabela 22. Bandas dos grupamentos químicos do composto 26	98
Tabela 23. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C do composto final 27 (DMSO)	100
Tabela 24. Bandas dos grupamentos químicos do composto 27	101
Tabela 25. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H e ¹³ C do composto final 28 (DMSO)	103
Tabela 26. Bandas dos grupamentos químicos do composto 28	104
Tabela 27. Valores de CLogP obtidos por três métodos distintos	107
Tabela 28 - Valores experimentais de LogP obtidos	109

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Fotografia de Auguste Deter; extraído de MAURER; VOLK; GERBALDO, 1997. (B) Ilustração de Alois Alzheimer mostrando os emaranhados neurofibrilares e as placas amilóides; extraído de DAHM, 2006.....	19
Figura 2. Número estimado de pessoas com demência por região do mundo em 2015. Adaptado de PRINCE et al., 2015.....	20
Figura 3. Esquema da constituição estrutural de microtúbulo. Adaptado de DESAI; MITCHISON, 1997.	23
Figura 4. Estrutura química dos fármacos utilizados no tratamento farmacológico de DA	30
Figura 5. Estrutura química da talidomida e seu centro estereogênico	32
Figura 6. Interconversão por reações redox entre o ácido lipóico e o ácido dihidrolipóico	34
Figura 7. Estrutura química do ácido ferúlico	36
Figura 8. Planejamento Estrutural dos novos derivados	39
Figura 9. Estrutura química do composto 5-HPP33.	40
Figura 10. Esquema sintético dos intermediários ftalimídicos (3, 6, 7, 10, 11, 12, 13 e 15).....	42
Figura 11. Esquema sintético dos intermediários derivados de ácido ferúlico (17 e 18).	43
Figura 12. Esquema sintético dos compostos da série Lapdesf FTD-AO (19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28). Fonte: elaborado pelo autor	44
Figura 13. Esquema sintético das rotas testadas para a formação do composto 17.	48
Figura 14. Esquema sintético das rotas testadas para a formação do composto 18.	50
Figura 15. Estrutura química do composto intermediário 3	63

Figura 16. Mecanismo proposto para a formação do anel ftalimídico.....	64
Figura 17. Estrutura química do composto intermediário 6.....	66
Figura 18. Estrutura química do composto intermediário 7.....	66
Figura 19. Mecanismo sintético proposto para a formação de éster ou amida utilizando EDC e DMAP.....	67
Figura 20. Estruturas químicas dos compostos intermediários 10 e 12.....	68
Figura 21. Estruturas químicas dos compostos intermediários 11 e 13.....	70
Figura 22. Estrutura química do composto intermediário 15.....	72
Figura 23. Estrutura química do composto intermediário 17.....	73
Figura 24. Mecanismo da esterificação de Fischer. Fonte: CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012.....	74
Figura 25. Estrutura química do composto intermediário 18.....	76
Figura 26. Estrutura química do composto final 19.....	78
Figura 27. Estrutura química do composto final 20.....	81
Figura 28. Estrutura química do composto final 22.....	84
Figura 29. Estrutura química do composto final 23.....	87
Figura 30. Estrutura química do composto final 24.....	90
Figura 31. Mecanismo proposto para a formação dos compostos finais através da formação de um intermediário cloreto de acila. Fonte: (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012; NAGY et al., 2017).....	90
Figura 32. Estrutura química do composto final 25.....	93
Figura 33. Estrutura química do composto final 26.....	96
Figura 34. Estrutura química do composto final 27.....	99
Figura 35. Estrutura química do composto final 28.....	102
Figura 36 - Curva de linearidade dos padrões obtida experimentalmente.....	108
Figura 37. Conversão da resazurina para resorufina por células viáveis. Fonte: elaborado pelo autor.....	113

Figura 38. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos controles talidomida, ácido ferúlico e ácido lipóico. Fonte: dados da pesquisa 114

Figura 39. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos compostos Lapdesf FTD-AO 1 a 4. Fonte: dados da pesquisa 115

Figura 40. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos compostos Lapdesf FTD-AO 5 a 9. Fonte: dados da pesquisa 116

Figura 41. Proteína tau em neurônios saudáveis e formação de ENF em tauopatias. Extraído de: BRUNDEN; TROJANOWSKI; LEE, 2009 118

Figura 47. Relação entre as atividades observadas e as estruturas químicas dos compostos Lapdesf FTD-AO 1 a 4. Fonte: dados da pesquisa 127

Figura 48. Relação entre as atividades observadas e as estruturas químicas dos compostos Lapdesf FTD-AO 5 a 9. Fonte: dados da pesquis 128

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	DOENÇA DE ALZHEIMER.....	18
2.2	EPIDEMIOLOGIA DE DEMÊNCIA E DOENÇA DE ALZHEIMER	19
2.3	FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER	20
2.4	NEUROINFLAMAÇÃO	25
2.5	ESTRESSE OXIDATIVO	28
2.6	TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER	29
2.7	TALIDOMIDA	31
2.8	ÁCIDO LIPÓICO	33
2.9	ÁCIDO FERÚLICO	35
3	OBJETIVO	38
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	PLANEJAMENTO ESTRUTURAL.....	39
4.2	METODOLOGIA SINTÉTICA	41
4.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS DE SÍNTESE ORGÂNICA.....	44
4.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	55
4.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1	SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO ÁCIDO 1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXÍLICO (3)	63
5.2	SÍNTESE DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS 2-HIDROXIETIL 1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATO (6) E 3-HIDROXIPROPIL 1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATO (7).....	65
5.3	SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO 5-NITRO-2-FENILISOINDOLINA-1,3-DIONA (10) E 5-AMINO-2-FENILISOINDOLINA-1,3-DIONA (12)	68
5.4	SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO 2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-5-NITROISOINDOLINA-1,3-DIONA (11) E 5-AMINO-2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-ISOINDOLINA-1,3-DIONA (13)	70
5.5	SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO 2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-5-HIDROXIISOINDOLINA-1,3-DIONA (15)	71

5.6 SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO 2-HIDROXIETIL 3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILATO (17).....	73
5.7 SÍNTESE DO COMPOSTO INTERMEDIÁRIO 3-HIDROXIPROPIL 3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILATO (18).....	75
5.8 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 2-((3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)ACRILÓIL)OXI)-ETIL-1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATO (19; LAPDES FTD-AO 1).....	77
5.9 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 3-((3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)ACRILÓIL)OXI)-PROPIL-1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATO (20; LAPDES FTD-AO 2).....	80
5.10 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 2-((5-(1,2-DITIOLAN-3-IL)PENTANOIL)OXI)ETIL-1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATE (22; LAPDES FTD-AO 3).....	83
5.11 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 3-((5-(1,2-DITIOLAN-3-IL)PENTANOIL)OXI)PROPIL-1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLINA-5-CARBOXILATO (23; LAPDES FTD-AO 4).....	86
5.12 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL N-(1,3-DIOXO-2-FENILISOINDOLIN-5-IL)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILAMIDA (24; LAPDES FTD-AO 5).....	89
5.13 SÍNTESE DO COMPOSTO N-(2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-1,3-DIOXOISOINDOLIN-5-IL)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILAMIDA (25; LAPDES FTD-AO 6).....	92
5.14 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-1,3-DIOXOISOINDOLIN-5-IL-(E)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILATO (26; LAPDES FTD-AO 7).....	95
5.15 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL N-(2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-1,3-DIOXOISOINDOLIN-5-IL)-5-(1,2-DITIOLAN-3-IL) PENTANAMIDA (27; LAPDES FTD-AO 8).....	98
5.16 SÍNTESE DO COMPOSTO FINAL 2-(2,6-DIISOPROPILFENIL)-1,3-DIOXOISOINDOLIN-5-IL-5-(1,2-DITIOLAN-3-IL) PENTANOATO (28; LAPDES FTD-AO 9).....	101
5.17 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (LOGP_{ow}).....	104
5.18 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL DPPH <i>IN VITRO</i>	109
5.19 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR EM MACRÓFAGOS MURINOS DA LINHAGEM J774A.1.....	113
5.20 AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE POLIMERIZADORA DE TUBULINA.....	117
6 CONCLUSÕES.....	129
REFERÊNCIAS.....	131
APÊNDICE.....	144

1 INTRODUÇÃO

As doenças degenerativas são um conjunto de mais de 600 doenças, caracterizadas pela deterioração progressiva, permanente e seletiva dos componentes anatômicos e fisiológicos do sistema nervoso central (SNC) e possuem como principal fator de risco o envelhecimento (TRIPPIER et al., 2013). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstram que a expectativa de vida, e também a diminuição da mortalidade, causou o aumento da média de idade da população mundial. Em 2015, cerca de 12,3% da população mundial era composta por idosos e projeções mostram que em 2050 aproximadamente 21% da população global terá mais que 60 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015; MAURICE, 2016)

Tais doenças possuem um marcador patológico comum, que é a deposição anormal de proteínas insolúveis no tecido cerebral e a propagação dessas proteínas com a evolução da doença (BRETTSCHEIDER et al., 2015). Entre as doenças neurodegenerativas mais prevalentes estão a Doença de Alzheimer (DA), Doença de Parkinson, Doença de Huntington e esclerose lateral amiotrófica. A DA é o tipo de demência que possui maior incidência, cerca de 50 – 75% dos casos, afetando principalmente a população idosa, atingindo aproximadamente 40 milhões de pessoas no mundo (ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2009; TELPOUKHOVSKAIA; ORVIG, 2013; TRIPPIER et al., 2013; MOTA; FERREIRA; REGO, 2014; PRINCE et al., 2015).

Estimativas mostram que em 2010, a demência atingiu 35,6 milhões de pessoas no mundo, e projeções indicam que esse número pode dobrar até 2030, chegando a aproximadamente 65,7 milhões de pessoas. A incidência de novos casos de demência no mundo é de 7,7 milhões por ano (PRINCE et al., 2015). Considerando o Brasil, esses dados são bastante semelhantes, com taxa de incidência de 7,7 para cada 1000 indivíduos ao ano, em pessoas com idade superior a 65 anos (LEMOS; HAZIN; FALCÃO, 2012).

Na fisiopatologia da DA é observado atrofia cerebral e gradual perda de função em diversas regiões do cérebro, responsáveis pela memória e cognição. A doença é caracterizada por dois principais marcadores: o primeiro é a deposição de peptídeo β -amilóide (β A), formando placas senis, e o segundo é a formação de emaranhados

neurofibrilares (ENF), formados pela hiperfosforilação de proteína tau (DE LEON et al., 2004; DEVANAND et al., 2007; WOLFE, 2012). O acúmulo dessas proteínas no cérebro resultam em inflamação (neuroinflamação) e estresse oxidativo, levam a perda sináptica e ao progresso da neurodegeneração (HAMPEL et al., 2010; QUERFURTH; LAFERLA, 2010).

A neuroinflamação aguda é um processo natural e que pode trazer benefícios ao SNC, uma vez que auxilia no reparo tecidual e também atua na prevenção de maiores danos. No entanto, o processo crônico está relacionado a deposição de proteínas insolúveis e também com a ativação da micróglia e consequente degeneração neuronal (VON BERNHARDI; EUGENIN, 2004; RYU; MCLARNON, 2008; FERRETTI; CUELLO, 2011; SHARMA, 2011).

Outro processo importante associado a fisiopatologia da DA é o estresse oxidativo, sendo observado em cérebros de pacientes diagnosticados com DA (BUTTERFIELD, 2002). O oxigênio presente no cérebro juntamente com a presença dos íons ferro leva a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que promovem processos oxidativos, os quais são balanceados pela presença do sistema de defesa antioxidante do organismo. Condições patológicas ou de estresse podem alterar esse equilíbrio, levando a um aumento nos níveis de EROs, que podem reagir com macromoléculas do organismo, levando a danos celulares (VALKO et al., 2007; AGOSTINHO; CUNHA; OLIVEIRA, 2010).

Assim, neste trabalho, foi proposto a síntese de novos derivados com características anti-inflamatória e antioxidante, através da estratégia de hibridização molecular, através da ligação da subunidade ftalímidica, conferindo propriedade anti-inflamatória, com ácidos orgânicos (ácido ferúlico e ácido lipóico), que apresentam propriedade antioxidante.

Estudos de estrutura atividade da talidomida revelaram como potencial grupo farmacofórico o anel ftalímidico, sendo responsável pela atividade anti-TNF- α (fator de necrose tumoral α), enquanto que o grupamento glutarimida é irrelevante para atividade e estudos recentes tem demonstrado esse grupamento como responsável pela teratogenicidade, através de sua ligação e inibição com a proteína cereblon, relacionado a alterações no desenvolvimento embrionário (VARGESSON, 2015). Esses estudos possibilitam o desenvolvimento de novos análogos de talidomida com maior eficácia terapêutica e com maior segurança. O TNF- α está envolvido em diversos processos patológicos na DA, sendo, portanto, um importante alvo para o

tratamento da doença (CHENG; SHEN; LI, 2014). Estudos de derivados ftalímídicos no tratamento da DA demonstram a diminuição da neuroinflamação, diminuição dos marcadores da doença e também na melhora dos déficits de memória e aprendizagem (RYU; MCLARNON, 2008; GABBITA et al., 2012; TWEEDIE et al., 2012).

O ácido lipóico (AL) é um conhecido cofator do metabolismo das mitocôndrias e já foi bastante estudado quanto a sua atividade antioxidante e também anti-inflamatória. Além disso, O AL consegue atravessar facilmente as barreiras biológicas, sendo então absorvido nos tecidos e células, inclusive no SNC. *In vivo* é bioconvertido à ácido diidrolipóico principalmente pela enzima lipoamida desidrogenase, que também possui atividade antioxidante (PACKER; TRITSCHLER; WESSEL, 1997; BOLOGNESI et al., 2014). O efeito neuroprotetor do AL foi observado em modelos *in vitro* por toxicidade causada pelo β A e por peróxido de hidrogênio (ZHANG et al., 2001) e também em modelos *in vivo* mostrando melhora no déficit cognitivo causado pelo envelhecimento e em modelos da DA (QUINN et al., 2007; FARR et al., 2012).

O ácido ferúlico (AF) é um composto fenólico de origem natural que possui conhecida atividade antioxidante e anti-inflamatória, já bastante estudados na literatura (ZHANG et al., 2018; YIN et al., 2019). Em estudos em modelos da DA, o AF se mostrou eficaz, através de diferentes mecanismos. Além das propriedades antioxidante e anti-inflamatória, o derivado apresentou capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase, tanto em modelos *in vitro* (SHAHWAR; REHMAN; RAZA, 2010) como em modelos *in vivo*, no qual foi demonstrado a melhora cognitiva dos animais tratados (TSAI et al., 2015). Também apresentou capacidade de impedir a formação de agregados de β A e também de desestabilizar agregados já formados, *in vitro* (ONO; HIROHATA; YAMADA, 2005).

Assim, a estratégia do desenvolvimento de novos derivados híbridos de compostos ftalmídicos com ácido ferúlico ou ácido lipóico apresentam grande potencial na atividade neuroprotetora e anti-inflamatória, o que pode retardar o processo evolutivo e patológico da Doença de Alzheimer.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Doença de Alzheimer

A DA foi descrita pela primeira vez pelo médico e neuropatologista alemão Alois Alzheimer, em 1907 (ALZHEIMER, 1911). O primeiro caso registrado da doença foi de Auguste Deter (Figura 1A), com 51 anos de idade, paciente no asilo municipal de Frankfurt, instituição em que trabalhava Alzheimer. Os sintomas apresentados por de Auguste Deter eram: delírios, falha na memória, compreensão reduzida, desorientação, ansiedade e agitação. Além disso, apresentou mudanças de comportamento e alucinações auditivas (MAURER; VOLK; GERBALDO, 1997; RAMIREZ-BERMUDEZ, 2012). Após o falecimento da paciente, Alzheimer estudou os aspectos anatômicos e patológicos do cérebro desta, revelando grande atrofia tecidual, perda de neurônios e a presença de estruturas fibrilares nos neurônios restantes e também depósitos de uma substância até então não identificada no córtex cerebral (Figura 1B), atualmente identificados como os ENF e as placas senis, respectivamente (DAHM, 2006).

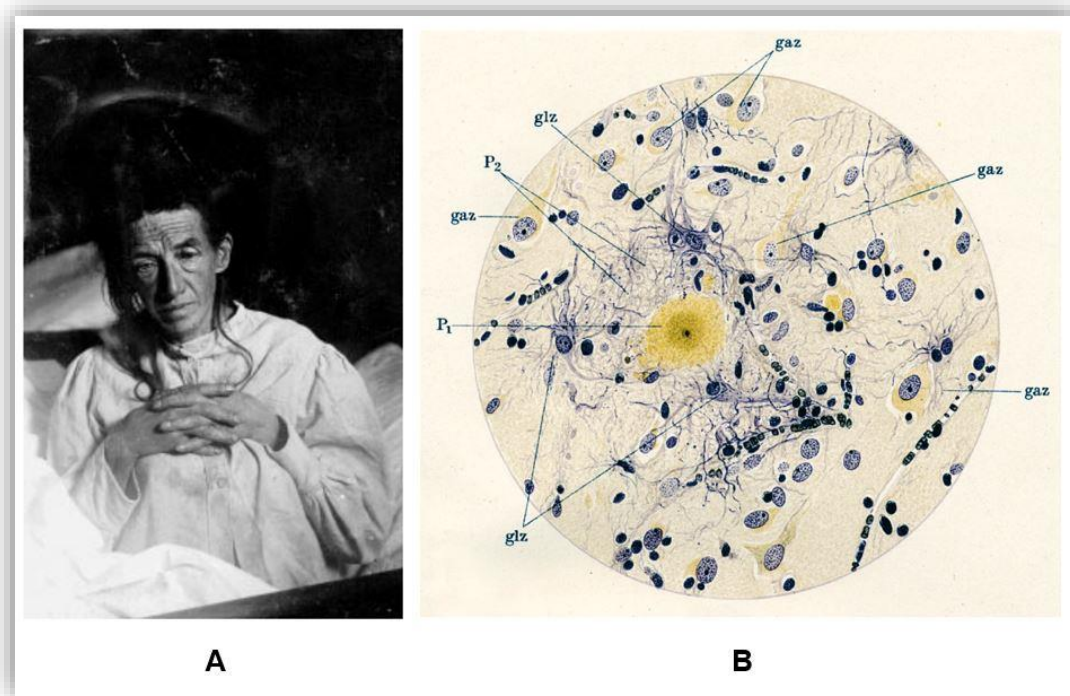


Figura 1. (A) Fotografia de Auguste Deter; extraído de MAURER; VOLK; GERBALDO, 1997. (B) Ilustração de Alois Alzheimer mostrando os emaranhados neurofibrilares e as placas amiloides; extraído de DAHM, 2006.

2.2 Epidemiologia de Demência e Doença de Alzheimer

De acordo com projeções da OMS, em 2015 cerca de 50 milhões de pessoas no mundo possuíam algum tipo de demência, sendo a distribuição mundial apresentada na Figura 2. As estimativas mostram que estes números podem chegar a 74,7 milhões em 2030 e ultrapassar os 130 milhões de pessoas acometidas em 2050. Economicamente falando, as projeções indicam que em 2018, os gastos mundiais com demência podem atingir 1 trilhão de dólares. A DA é o tipo de demência mais comum, representando de 60 a 70% dos casos de demência diagnosticados (PRINCE et al., 2015).



Figura 2. Número estimado de pessoas com demência por região do mundo em 2015. Adaptado de PRINCE et al., 2015

De acordo com *Global Health Observatory (GHO) data* da OMS, a DA e outros tipos de demência foram a quinta causa de morte no mundo em 2016, ficando atrás apenas de doença isquêmica do coração, derrame, doença pulmonar obstrutiva crônica e infecções do trato respiratório inferior (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

2.3 Fisiopatologia da Doença de Alzheimer

De modo geral, a DA inicia-se com um leve comprometimento cognitivo, evoluindo de forma gradual, levando a perda de memória, dificuldade de comunicação, diminuição da capacidade de aprendizado, raciocínio e impedimento de realizar atividades diárias. Em estados mais avançados da doença, o paciente pode apresentar demência severa e incapacitante. Distúrbios comportamentais também podem estar associados a doença, como agressividade, alucinações, hiperatividade e depressão, assim como outros sintomas neurológicos, como convulsões e sinais

parkinsonianos (SERENIKI; VITAL, 2008; RUBIO-PEREZ; MORILLAS-RUIZ, 2012; BIRD, 2015; DI DOMENICO et al., 2015).

A média de tempo de duração das manifestações clínicas é de 8 a 10 anos, mas o tempo pode se estender até 25 anos. No entanto, o processo patológico da DA pode ter início até 20 anos antes da manifestação dos primeiros sintomas. As mortes de pacientes com a DA geralmente ocorrem devido a inanição, má nutrição e pneumonia (BIRD, 2015).

A DA pode ser classificada em forma precoce e tardia, de acordo com a idade em que ocorrem as manifestações clínicas. A forma precoce da doença acomete pessoas com idade inferior a 65 anos, representando 1 a 5% dos casos, e é considerada exclusivamente genética e apresenta progressão mais rápida. Os genes associados com a forma precoce (APP, PSEN1 e PSEN2) são responsáveis por codificar as enzimas que atuam no processo de clivagem da proteína precursora de amiloide (PPA) para a formação do β A. Já a forma tardia é responsável por 95% dos casos da doença e acomete pacientes com idade igual ou superior a 65 anos e apesar de sua origem ainda não ser totalmente elucidada, sabe-se que é um sinergismo entre fatores ambientes e genéticos. Além da idade, outros fatores de risco atualmente associados a DA são: doenças cerebrovasculares, hipertensão e dislipidemia durante a vida adulta, diabetes do tipo 2, obesidade e tabagismo (REITZ; MAYEUX, 2014).

O processo patológico da DA ainda não foi totalmente elucidado, no entanto, sabe-se que se trata de uma patologia multifatorial complexa, com grandes alterações moleculares e estruturais no cérebro (KUMAR; SINGH; EKAVALI, 2015). Anatomicamente falando, é observado atrofia cerebral e gradual perda de função no hipocampo, neocórtex e córtex entorrinal, regiões responsáveis pela memória e cognição (DE LEON et al., 2004; RYU; MCLARNON, 2008). Além disso, é possível

observar deposição de agregados proteicos extra e intracelulares, neuroinflamação, excitotoxicidade glutamatérgica, dano mitocondrial e estresse oxidativo generalizado (QUERFURTH; LAFERLA, 2010).

As chamadas placas senis ou placas amiloide são depósitos extracelulares de agregados proteicos insolúveis, formados pelo peptídeos β -amiloides. Tais peptídeos podem ser constituídos de 39 a 43 resíduos de aminoácidos. São formados a partir da clivagem da proteína transmembrana PPA, por enzimas da família das secretases (α , β e γ). A função fisiológica da PPA ainda não é totalmente conhecida, no entanto, estudos apontam sua atuação na formação sináptica, plasticidade neural e também na retirada de ferro do cérebro (QUERFURTH; LAFERLA, 2010; DI CARLO; GIACOMAZZA; SAN BIAGIO, 2012).

Os fragmentos compostos por 40 aminoácidos são solúveis e mais abundantes no organismo, enquanto que os fragmentos com 42 aminoácidos são insolúveis e são os principais constituinte das placas senis. Em condições fisiológicas normais é encontrado no organismo 10x mais o fragmento solúvel do que o insolúvel. Os peptídeos β A com 42 aminoácidos apresentam elevada neurotoxicidade e maior cinética de agregação (DI CARLO; GIACOMAZZA; SAN BIAGIO, 2012).

Estudos recentes mostram que o acúmulo anormal de β A está relacionado ao desequilíbrio entre sua produção e sua eliminação. Pequenos defeitos nos processos fisiológicos de eliminação do peptídeo podem resultar no acúmulo no tecido cerebral. A produção anormal de β A está presente nos casos precoce da doença, que apresenta mutação genética nos genes relacionados a clivagem da PPA, enquanto que defeitos na eliminação pode ser mais relevantes pelo acúmulo nos casos tardio da doença (YOON; JO, 2012; MENENDEZ-GONZALEZ et al., 2018).

Os microtúbulos (MT) são polímeros na forma de tubos ocos com aproximadamente 24 nm de diâmetro, formados por heterodímeros de α e β -tubulina, que estão presentes em todas as células eucarióticas. A Figura 3 representa esquematicamente a estrutura dos MT (DESAI; MITCHISON, 1997).

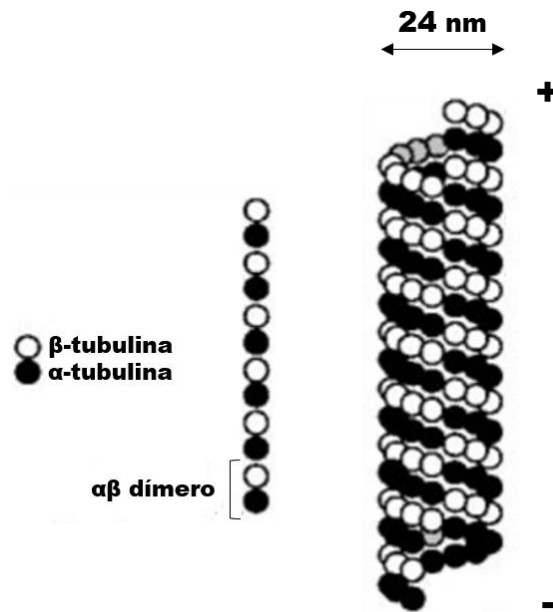


Figura 3. Esquema da constituição estrutural de microtúbulo. Adaptado de DESAI; MITCHISON, 1997.

Os MT são estruturas dinâmicas que estão em constante alteração entre fases de crescimento e encolhimento, mas que apresentam um controle rígido para essas mudanças (CONDE; CÁCERES, 2009). Em células em processo de divisão, os MT participam da separação dos cromossomos formados para formação das novas células. Em células que não estão em divisão, estas estruturas são parte do citoesqueleto celular, que atua na manutenção da forma das células, organização das organelas e no transporte intracelular (HIROKAWA; TAKEMURA, 2005). As proteínas associadas a microtúbulos (PAM) são proteínas reguladoras que desempenham importante papel na determinação da morfologia, função e estabilidade dos MT. As

principais PAMs que atuam no SNC são a proteína *tau* e suas isoformas MAP1 e MAP2 (IQBAL et al., 2010).

Nos axônios, os MT se apresentam como estruturas lineares paralelas normalmente unipolar, enquanto que nos dendritos a estrutura é mais complexa, formando matrizes com polaridade mista. Estas estruturas sustentam o crescimento e manutenção do axônio, além do transporte axonal depender em grande parte dos MT. Problemas neste mecanismo de transporte estão associados a diferentes doenças neurodegenerativas (BALLATORE et al., 2012). Estudos recentes indicam que alterações na dinâmica do microtúbulo participam das fases de aprendizado e formação de memória, sendo mais um indicativo de que o comprometimento deste processo pode estar intimamente associados ao comprometimento cognitivo (FANARA et al., 2010; BALLATORE et al., 2012; DENT, 2017).

Como citado anteriormente, a proteína *tau* é uma das principais PAM encontradas nos neurônios, que possui as funções de auxiliar a polimerização dos dímeros de α e β -tubulina e também estabilizar os MT formados (IQBAL et al., 2010; AKOURY et al., 2013). A proteína *tau* é normalmente fosforilada em resíduos de serina e treonina, como forma de controle da interação com os MT. No entanto, devido a um desequilíbrio no processo de fosforilação dessa proteína, pode ocorrer a formação de proteínas hiperfosforiladas, levando a diminuição da interação com o MT e também a formação de agregados das formas hiperfosforiladas, originando os emaranhados neurofibrilares (ENF), que se depositam nos neurônios (BRUNDEN; TROJANOWSKI; LEE, 2009; DANYSZ; PARSONS, 2012). Esses eventos podem levar à despolimerização dos MT, comprometendo o transporte axonal, gerando neurotoxicidade e consequente morte celular (BALLATORE; LEE; J, 2007; KOLAROVA et al., 2012).

O acúmulo anormal de proteína tau hiperfosforilada é uma característica comum entre várias doenças neurodegenerativas, denominadas tauopatias, que incluem doenças como a DA, doença de Parkinson, doença de Pick, demência frontotemporal, entre outras. Apesar de todas terem como fator comum o acúmulo de proteína *tau* hiperfosforilada, tais doenças podem apresentar diferentes manifestações clínicas (BRUNDEN; TROJANOWSKI; LEE, 2009; BALLATORE et al., 2012)

Alguns estudos estão relacionando a extensão e distribuição dos ENF no cérebro de pacientes com DA com a duração e evolução da doença, associando o estágio de demência que atinge esses pacientes, o que sugere um impacto direto entre a formação dos ENF e o funcionamento normal do cérebro (PERL, 2010).

Estudos em camundongos transgênicos com característica de superexpressar a proteína *tau* humana demonstraram que estes animais apresentaram deficiência no transporte motor axonal, sendo este um modelo viável para estudo de tauopatias neurodegenerativas (ISHIHARA et al., 1999). A utilização de fármacos com atividade estabilizadora de MT, como o antitumoral paclitaxel, foi capaz de aumentar a densidade de MT nas células e também de melhorar a função motora neste modelo animal (ZHANG et al., 2005; BRUNDEN et al., 2011).

2.4 Neuroinflamação

A neuroinflamação é um processo presente na patologia da DA, embora ainda não esclarecido se sua participação é considerada causa ou consequência no desenvolvimento dessa e de outras doenças neurodegenerativas. Estão envolvidos no processo diversas células residentes do sistema imune do SNC, como células da micróglia e astrócitos, assim como outras células, como células endoteliais,

oligodendrócitos e neurônios (HEPPNER; RANSOHOFF; BECHER, 2015). Acredita-se que a inflamação é um processo que contribui tanto, ou talvez mais, na patologia da DA do que de a deposição proteica. A observação das manifestações clínicas que precedem o estágio de demência, como leve déficit cognitivo, suportam a teoria da participação da inflamação nas etapas iniciais do desenvolvimento da doença (HENEKA et al., 2015).

Na DA, diversos mecanismos podem desencadear o processo inflamatório, mas os principais são a deposição de β A e de ENF (VON BERNHARDI; EUGENIN, 2004; RYU; MCLARNON, 2008; FERRETTI; CUELLO, 2011; SHARMA, 2011). O processo inflamatório também tem sido bastante estudado quanto a sua capacidade de aumentar o processamento da PPA e também de aumentar a hiperfosforilação da proteína *tau*, gerando dessa maneira um mecanismo patológico cíclico na DA (RUBIO-PEREZ; MORILLAS-RUIZ, 2012).

Ao serem ativadas, as células da micróglia, astrócitos e neurônios liberam citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas (IL-1 β e IL-6), TNF- α , interferons e também espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), prostaglandinas e proteínas do sistema complemento (KITAZAWA; YAMASAKI; LAFERLA, 2004; SHARMA, 2011). Evidências clínicas e também pré-clínicas mostram que o ambiente pró-inflamatório originado pelos elevados níveis de TNF- α e baixos níveis de citocinas anti-inflamatórias no cérebro podem levar a evolução da DA, podendo chegar a demência (HENEKA et al., 2015).

A neuroinflamação aguda é um processo que pode trazer benefícios ao SNC, pois pode auxiliar no reparo tecidual e prevenir maiores danos. No entanto, o processo crônico está associado à perda funcional e estrutural dos neurônios, além da perpetuação da inflamação causada pelos detritos da destruição dos mesmos. Além

disso, a inflamação crônica está relacionada com a deposição de β A e a formação de ENF (VON BERNHARDI; EUGENIN, 2004; RYU; MCLARNON, 2008; FERRETTI; CUELLO, 2011; SHARMA, 2011).

O TNF- α é uma importante citocina pró-inflamatória considerada como iniciadora e reguladora da resposta imune, controlando a inflamação em vários tecidos e órgãos, incluindo o cérebro (TOBINICK et al., 2006; SHARMA et al., 2012; TWEEDIE et al., 2012). Além disso, esta citocina também é considerada como potencial iniciadora do processo de morte neuronal (COLTON; WILCOCK, 2010).

Observações clínicas e estudos em modelos animais evidenciam a participação do TNF- α como importante fator na DA e em diversas outras doenças neurodegenerativas. Em pacientes com DA, foram observados a presença de níveis 25 vezes maiores de TNF- α no líquido cefalorraquidiano, sendo este aumento associado com a deterioração clínica do paciente (TARKOWSKI et al., 2003b, 2003a; TOBINICK et al., 2006).

Diversos estudos tem validado esta citocina como alvo terapêutico no tratamento da DA (QIN et al., 2012). Ensaio em camundongos tratados com anticorpos anti-TNF- α mostraram a redução do processo inflamatório, assim como a diminuição na formação de placa senis e da hiperfosforilação da proteína *tau* (DETRAIT et al., 2014; PASQUALETTI; BROOKS; EDISON, 2015). A talidomida, que possui conhecida atividade inibidora de TNF- α , também foi avaliada e demonstrado que o fármaco foi capaz de impedir a perda de neurônios na região do hipocampo (RYU; MCLARNON, 2008; APPLEBY; CUMMINGS, 2013). Além disso, compostos análogos de talidomida com capacidade de polimerizar e estabilizar microtúbulos (LI et al., 2006) podem ser considerados interessantes no tratamento da DA, uma vez

que a desestabilização de MT está diretamente relacionado a hiperfosforilação de proteína *tau* (BALLATORE et al., 2012).

2.5 Estresse oxidativo

Outro processo importante associado a fisiopatologia da DA é o estresse oxidativo. O oxigênio presente no cérebro na presença dos íons ferro leva a produção de EROs, como o ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio. As EROs promovem processos oxidativos, os quais são balanceados pela presença do sistema de defesa antioxidante do organismo. Condições patológicas ou de estresse podem alterar esse equilíbrio, levando a um aumento nos níveis de EROs, ocasionando danos celulares, pois esses radicais podem reagir com macromoléculas, como proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos (VALKO et al., 2007; AGOSTINHO; CUNHA; OLIVEIRA, 2010).

O cérebro é muito suscetível ao estresse oxidativo, uma vez que necessita de um alto consumo de oxigênio e possui grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados em sua constituição, passíveis de sofrerem peroxidação lipídica. Além disso, possui baixos níveis de substâncias antioxidantes, como catalase e glutathione (PACKER; TRITSCHLER; WESSEL, 1997; LOH et al., 2006; POCERNICH; BUTTERFIELD, 2012).

O dano oxidativo causado pelos radicais livres ocorre devido a um processo complexo envolvendo diferentes mecanismos, como excitotoxicidade, apoptose celular, disfunção mitocondrial e inflamação. Também podem levar a alterações funcionais e estruturais por oxidação de macromoléculas e peroxidação lipídica, proteólise e por clivagem de material nuclear, o que ocasionam dano celular severo,

podendo resultar na morte celular (COYLE; PUTTFARCKEN, 1993; LOH et al., 2006; KIM et al., 2015).

Alguns fatores já foram identificados como iniciadores do processo de estresse oxidativo, como a inflamação (ROSALES-CORRAL et al., 2010), acúmulo de metais de transição (AYTON; LEI; BUSH, 2013), hiperfosforilação da proteína *tau*, acúmulo de β A (LUQUE-CONTRERAS et al., 2014) e disfunção mitocondrial (YAN; WANG; ZHU, 2013).

O estresse oxidativo é uma característica presente em pacientes com DA e outras doenças degenerativas. Na DA, o desequilíbrio oxidativo pode contribuir para o acúmulo de β A e hiperfosforilação da proteína *tau*, o que gera um ciclo vicioso e agravante na patologia da doença (POCERNICH; BUTTERFIELD, 2012; LUQUE-CONTRERAS et al., 2014; KIM et al., 2015)

2.6 Tratamento da doença de Alzheimer

Os tratamentos farmacológicos da DA atuam de forma a diminuir os sintomas e manifestações clínicas apresentados pelos pacientes (YIANNOPOULOU; PAPAGEORGIU, 2013). Ainda não existe nenhum tratamento capaz de curar ou modificar de forma significativa a progressão da doença (GUZIOR et al., 2015). Os fármacos disponíveis atuam de duas formas distintas: podem ser inibidores de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) ou antagonistas de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (RELIGA; WINBLAD, 2003; ONOR; TREVISIOL; AGUGLIA, 2007; SCHELTENS et al., 2016). Os fármacos aprovados para o tratamento estão apresentados na Figura 4.

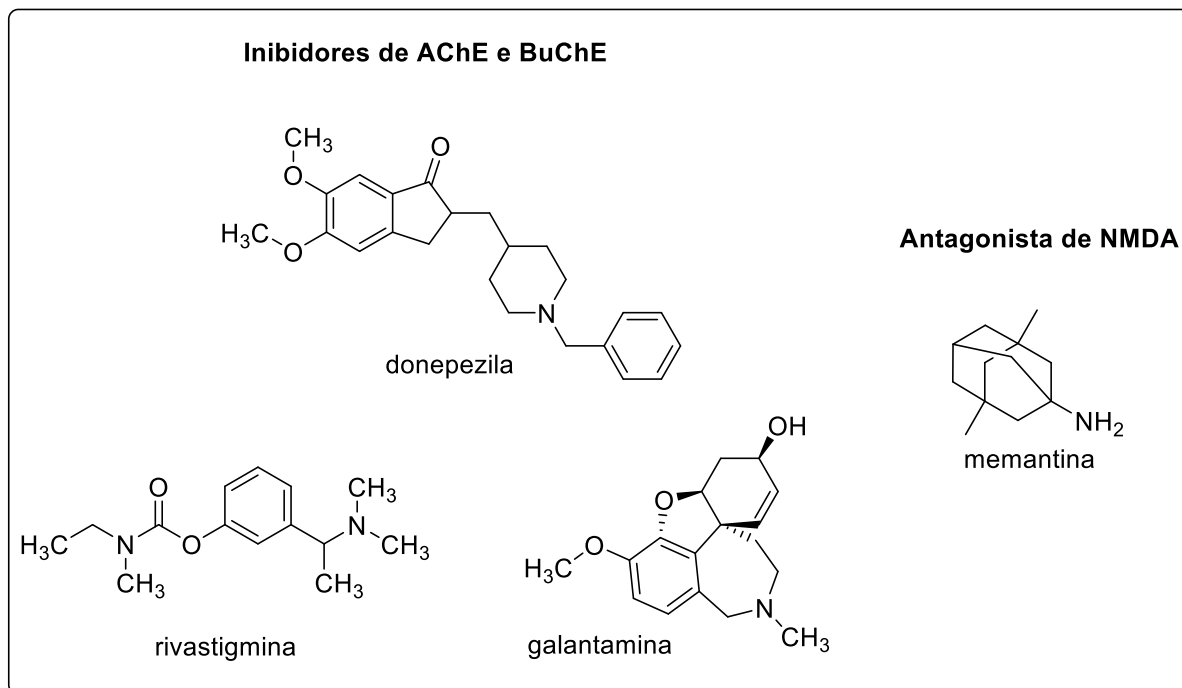


Figura 4. Estrutura química dos fármacos utilizados no tratamento farmacológico de DA

Os inibidores de AchE e BuChE tem a função de retardar a degradação do neurotransmissor acetilcolina na fenda sináptica, uma vez que o sistema colinérgico é afetado pela DA, resultando em perda de memória e alterações nas funções cognitivas (YIANNPOULOU; PAPAGEORGIU, 2013). Essa forma de tratamento é utilizada em pacientes com quadro leve a moderado da doença, melhorando a habilidade cognitiva e aliviando outros sintomas através da elevação dos níveis de acetilcolina (BEEDESSEE et al., 2013). Os fármacos representantes dessa classe são donepezila, rivastigmina e galantamina (Figura 4). No entanto, esses inibidores perdem sua eficácia com a evolução da doença, devido à perda relevante de neurônios colinérgicos (RELIGA; WINBLAD, 2003; MUSIAŁ; BAJDA; MALAWSKA, 2007).

O outro fármaco disponível para o tratamento da DA é a memantina (Figura 4), único representante aprovado dos antagonistas de receptores NMDA (BASSIL; MOLLAEI, 2012), que atua no sistema glutamatérgico. A memantina é um antagonista não competitivo moderado desses receptores e impede a ativação excessiva dos

mesmos, promovendo a melhora de sintomas, uma vez que impede a excitotoxicidade do glutamato sobre os neurônios (MCKEAGE, 2009; BAJIC et al., 2016). É utilizado em pacientes que apresentam quadro sintomático de moderado a grave (RELIGA; WINBLAD, 2003; ONOR; TREVISIOL; AGUGLIA, 2007; BASSIL; MOLLAEI, 2012; SCHELTENS et al., 2016).

Apesar dos esforços, o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da DA não apresentou muito sucesso. Desde 2002, apenas 7 fármacos foram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), sendo a memantina o único aprovado para o tratamento e os demais agentes de diagnóstico (JARVIS, 2015). Ainda é necessário o desenvolvimento de compostos capazes de modificar a progressão da doença de forma eficaz, inibindo a neurodegeneração e outros processos patológicos envolvidos (APRAHAMIAN; STELLA; FORLENZA, 2013).

2.7 Talidomida

O fármaco talidomida (α -[*N*-ftalimido]-glutarimida) foi sintetizada em 1954 pela companhia farmacêutica Chemie Grünenthal e foi introduzida no mercado em 1957 como um fármaco hipnótico sedativo, com propriedades ansiolítica e antiemética (STIRLING, 1998; LIMA et al., 2006; MARTÍNEZ-FRÍAS, 2012). Entre 1957 e 1961 foi um dos medicamentos mais vendidos do mercado farmacêutico, mas foi retirado do mercado devido a seu efeito teratogênico, levando ao crescimento anormal dos membros do feto, conhecido como focomelia (ITO; HANDA, 2012; VARGESSON, 2015).

Apesar de seus efeitos teratogênicos, a talidomida ressurgiu em 1968, sendo utilizada pelo médico Jacob Sheskin como sedativo para pacientes acometidos por hanseníase, especialmente aqueles portadores de eritema nodoso leproso

(BARTLETT; DREDGE; DALGLEISH, 2004). A reação inflamatória induzida pelo microrganismo *Mycobacterium leprae* é reduzida em pacientes sob tratamento com talidomida, (LIMA; FRAGA; BARREIRO, 2001; LIMA et al., 2006; MAJUMDER et al., 2012). No entanto, apenas em 1998 é que a talidomida foi aprovada pelo FDA para o tratamento da hanseníase (FRANKS; MACPHERSON; FIGG, 2004). Atualmente ela é utilizada também no tratamento de mieloma múltiplo e se mostrou eficaz para uma grande variedade de doenças hematológicas malignas e outras doenças não malignas (MELCHERT; LIST, 2007).

Do ponto de vista estrutural, a talidomida apresenta duas subunidades: o anel ftalimídico e o anel de glutarimida. Possui, ainda, um centro assimétrico localizado no anel da glutarimida, conforme mostrado na Figura 5.

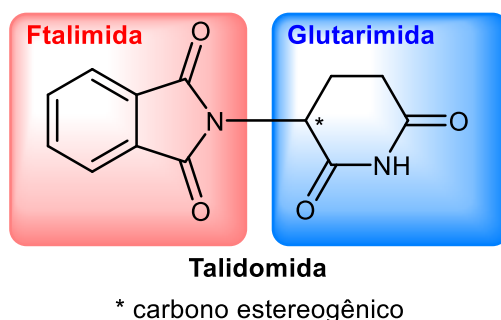


Figura 5. Estrutura química da talidomida e seu centro estereogênico

Os enantiômeros de talidomida (formas R (+) e S (-)) possuem diferentes atividades biológicas, sendo a forma S (-) responsável pela atividade anti-inflamatória, enquanto que a forma R (+) possui atividade sedativa (MAJUMDER et al., 2012). A forma S(-) é também considerada a responsável pelos efeitos teratogênicos da molécula (MULLER et al., 1996; STIRLING, 1998; BARTLETT; DREDGE; DALGLEISH, 2004). A separação enantiomérica não é uma estratégia viável do ponto

de vista clínico, pois em condições fisiológicas, os enantiômeros são rapidamente interconvertidos entre si (FRANKS; MACPHERSON; FIGG, 2004).

A ação anti-inflamatória da talidomida é atribuída a sua capacidade de inibir a síntese da citocina pró-inflamatória TNF- α produzida por macrófagos e outras células, como, por exemplo, a micróglia (SAMPAIO et al., 1991; LOKENSGARD et al., 2000).

O anel ftalimídico é considerado como unidade farmacofórica para uma série de compostos, sendo atribuídas diferentes atividade farmacológicas a ele, como atividade anti-inflamatória já relatada anteriormente, atividade analgésica, hipolipemiante (BHAT; AL-OMAR, 2011), imunomoduladora (BORGES; FRÖELICH, 2003), estabilizadora de microtúbulos (LI et al., 2006), anticonvulsivante, ansiolítica e também propriedades inibidoras de integrases de HIV (LIMA; FRAGA; BARREIRO, 2001; LIMA et al., 2002; VERSCHUEREN et al., 2005).

2.8 Ácido lipóico

O ácido lipóico (AL), ácido 1,2-ditiolano-3-pentanóico, é uma molécula de baixo peso molecular que apresenta uma ligação dissulfeto. É um cofator envolvido no metabolismo das mitocôndrias, sendo cofator das enzimas piruvato desidrogenase e α -cetoglutarato desidrogenase (DI DOMENICO et al., 2015; VENIGALLA et al., 2015). No organismo ela está ligada covalentemente a resíduos de lisina na forma de lipoamida ou livre na forma de lipoato. O AL é convertido enzimaticamente a sua forma reduzida (Figura 6), principalmente pela ação da enzima mitocondrial dihidrolipoamida desidrogenase, formando o ácido diidrolipóico, um potente antioxidante, que pode neutralizar radicais superóxido e outras EROs (MOINI; PACKER; SARIS, 2002; LIU, 2008). O AL possui a capacidade de restaurar outros antioxidantes celulares, como as vitaminas C e E, glutationa e coenzima Q10, sendo considerada também capaz de

proteger membranas (LIU, 2008). O lipoato também é um quelante de metais, como o ferro e chumbo.

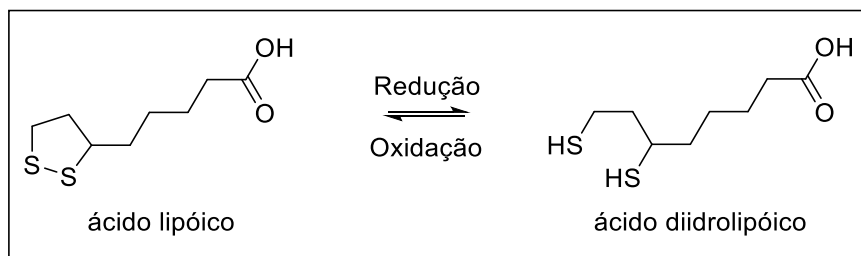


Figura 6. Interconversão por reações redox entre o ácido lipóico e o ácido diidrolipóico

A ligação dissulfeto presente na molécula é importante para a atividade catalítica das enzimas mitocondriais 2-cetoácido desidrogenases, devido ao potencial redutivo oferecido por essa ligação, participando assim da estabilização e regulação redox deste complexo enzimático. Por isso, o AL é essencial para o crescimento celular, oxidação de carboidratos, aminoácidos e outras fontes energéticas, além de regular o equilíbrio redox na mitocôndria (SOLMONSON; DEBERARDINIS, 2018).

A molécula de LA possui tanto características lipossolúvel quanto hidrossolúvel, o que facilita sua absorção e transporte através de membranas, inclusive sendo capaz de chegar ao sistema nervoso central (PACKER; TRITSCHLER; WESSEL, 1997; KOFUJI et al., 2008).

Diversos estudos apontam os benefícios do AL na patologia da DA. O AL possui a capacidade de sequestrar radicais livres e de produtos de peroxidação lipídica (ARIVAZHAGAN; RAMANATHAN; PANNEERSELVAM, 2001; WONG et al., 2001; AKPINAR et al., 2007), aumentar a captação de glicose no cérebro (SANCHETI et al., 2013), além de possuir atividade anti-inflamatória através da inibição da via de sinalização do fator de transcrição nuclear κ B (NF κ B) e da redução dos níveis de

diversas citocinas, como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (LI et al., 2015; CHOI; CHO; KIM, 2016), assim como pelo aumento da expressão de genes de proteínas anti-inflamatórias, como o fator de transcrição Nfr-2 (LIN; LAI; CHOU, 2013).

Em um estudo *in vitro* utilizando células de neurônios corticais, foi avaliado o potencial neuroprotetor de AL, no qual observou-se que o tratamento com AL foi capaz de impedir a citotoxicidade causada por β A-42 ou por peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (ZHANG et al., 2001).

Em avaliação utilizando camundongos transgênicos com amiloidose associado a DA, foi observado que a suplementação de AL por seis meses promoveu melhora significativa no aprendizado e na retenção de memória quando comparado aos animais não tratados (QUINN et al., 2007). Já em outro estudo utilizando ratos com sintomas de DA induzidos por intoxicação com AlCl₃, foi observado que os animais tratados apresentaram menor atividade da enzima acetilcolinesterase e também níveis reduzidos de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) quando comparados aos animais não tratados. Foi observado também na análise histológica a prevalência de neurônios com estrutura normal com a utilização do AL (AHMED, 2012).

2.9 Ácido ferúlico

O ácido ferúlico (AF), apresentado na Figura 7, é um derivado de origem natural da família dos ácidos hidroxicinâmicos presente em uma variedade de vegetais e frutas. O AF apresenta diversas atividades farmacológicas que podem ser benéficas para o tratamento da DA, como a atividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-agregação amiloide e também promove neuroproteção (ZHANG et al., 2018).

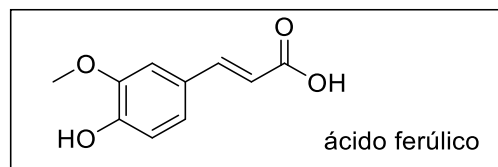


Figura 7. Estrutura química do ácido ferúlico

A propriedade melhor descrita do AF é a atividade antioxidante, na qual atua como um potente captador de espécies reativas de oxigênio (radicais hidroxilas e peroxilas), inibindo dessa forma a oxidação de proteínas e peroxidação lipídica (KANSKI et al., 2002). Também atua neutralizando o peróxinitrito, uma espécie oxidante e citotóxica formada a partir da reação do superóxido com o óxido nítrico (PANNALA et al., 1998), além de aumentar os níveis de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase e glutatona reduzida (OJHA et al., 2015).

O AF possui também propriedade anti-inflamatória. Foi demonstrado em diferentes modelos *in vitro* e *in vivo* a diminuição do processo inflamatório com o tratamento com AF, através da diminuição de mRNA responsáveis pela produção de citocinas pró-inflamatórias, diminuição de fator de transcrição NFκB e também de citocinas, como o TNF-α, IL-1β e IL-6 (DOSS et al., 2016; LAMPIASI; MONTANA, 2016).

Outros estudos demonstram a eficácia da molécula na DA. O AF foi capaz de impedir a formação de agregados de βA e também de desestabilizar agregados já formados (ONO; HIROHATA; YAMADA, 2005). Em um diferente estudo foi observado a diminuição da toxicidade induzida por βA-42 em células do sistema nervoso SH-SY5Y e também foi observado que a molécula consegue interagir com os monômeros de βA, interferindo na formação de oligômeros dos peptídeos (CUI et al., 2013). No mesmo ano, Bramanti e colaboradores sugeriram que essa interação da molécula com

os oligômeros de β A permite a formação de agregados amorfos, sendo mais suscetíveis a desestabilização (BRAMANTI et al., 2013).

Outras atividades também são relatadas na literatura da ação do AF, como a capacidade em inibir a enzima acetilcolinesterase (SHAHWAR; REHMAN; RAZA, 2010), observando uma melhora cognitiva em modelo animal (TSAI et al., 2015). Foi capaz também de aumentar os níveis da proteína fosfatase 2A (PP2A), importante regulador do metabolismo da proteína *tau* e da plasticidade e sobrevivência de neurônios (SONTAG et al., 2004).

3 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi o planejamento, síntese, caracterização química e avaliação farmacológica de novos derivados ftalimídicos inéditos para o tratamento da DA e dos sintomas associados a doença.

3.1 Objetivos específicos:

- Síntese, isolamento e caracterização estrutural de oito derivados intermediários e nove compostos híbridos finais inéditos;
- Determinação da propriedade físico-química coeficiente de partição ($\text{LogP}_{o/w}$) experimentalmente;
- Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro*, pela técnica de DPPH;
- Avaliação da capacidade dos compostos em inibir a síntese de TNF- α por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA).
- Avaliação a atividade polimerizadora de microtúbulo, através do ensaio de polimerização de tubulina;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Planejamento estrutural

Foi planejado uma série de compostos com potencial atividade anti-inflamatória e antioxidante, contendo as seguintes estruturas, estruturas: A) ácido orgânico (ácido lipóico/ferúlico) B) presença ou não de espaçador; C) ftalimida (subunidade farmacofórica da talidomida) (Figura 8).

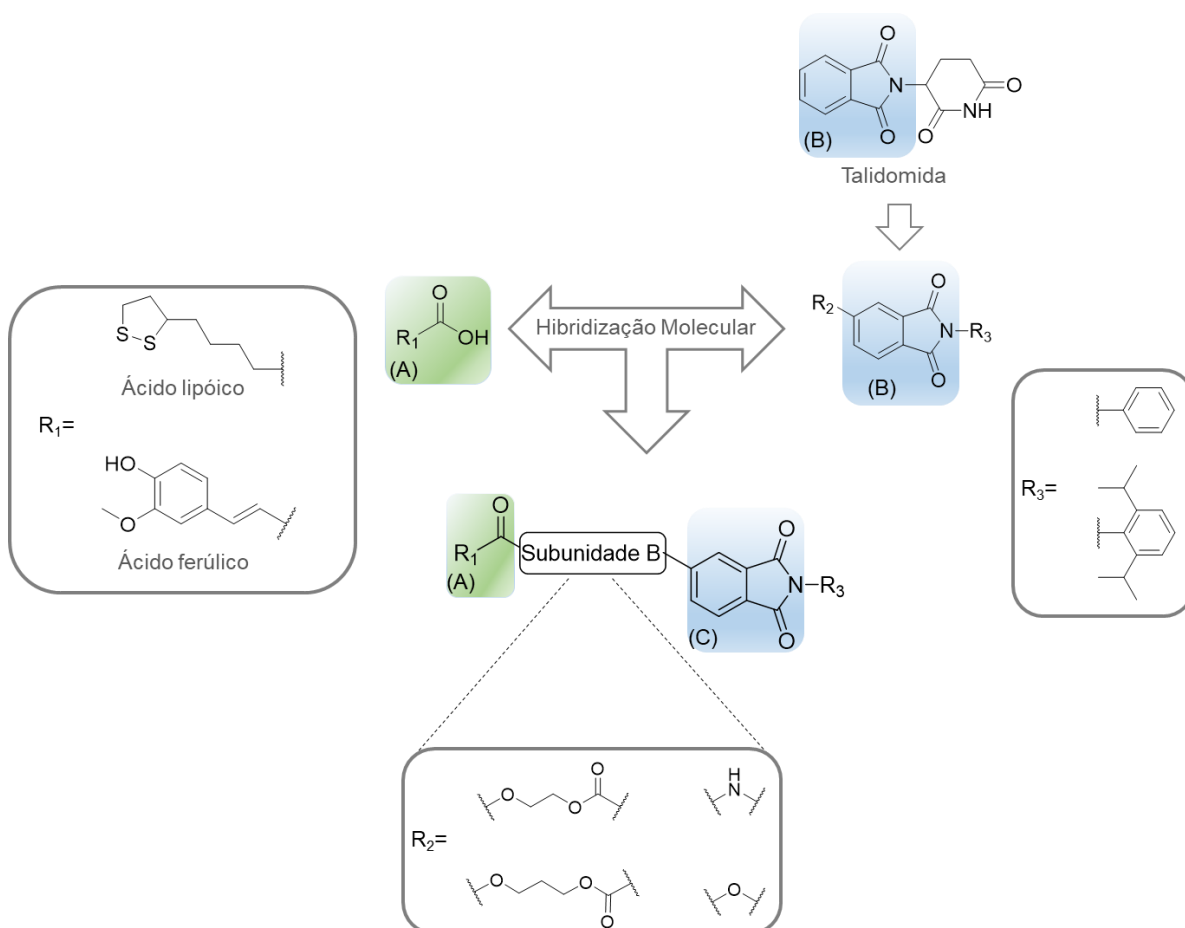


Figura 8. Planejamento Estrutural dos novos derivados

A seleção do ácido lipóico e do ácido ferúlico foi baseada nas suas atividades antioxidantes e anti-inflamatória, além de outros mecanismos propostos na literatura

científica nos quais podem atuar no SNC e também em estudos realizados com esses ácidos na DA.

Para a seleção da subunidade B foi levado em consideração a adequada funcionalização para possível acoplamento entre as duas subunidades (ftalimidica e o ácido orgânico). Além disso, os espaçadores utilizados podem conferir diferentes características as moléculas, inclusive o aumento do logP, uma característica importante nos potenciais fármacos para o SNC.

O grupamento R₃ (fenila e 1,5-diisopropilfenila), ligada diretamente na ftalimída, foram selecionados uma vez que ocorre maior inibição da citocina TNF- α quando o núcleo ftalimídico está diretamente ligado a um anel aromático (HASHIMOTO, 2002; LIMA et al., 2002). Além disso, foi demonstrado que derivados ftalimídicos como o 5HPP-33 (Figura 9) são capazes de induzir a polimerização e estabilizar microtúbulos(LI et al., 2006; PANDIT et al., 2013). Ballatore, et al., (2012) sugere em seu trabalho que este mesmo derivado poderia ser interessante para o tratamento da DA, através da prevenção da desagregação de microtúbulos decorrente da hiperfosforilação de tau, melhorando assim a dinâmica de transporte celular, o que leva a restauração parcial de funções cognitivas.

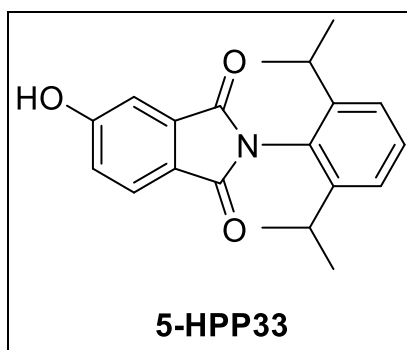


Figura 9. Estrutura química do composto 5-HPP33.
Fonte: elaborado pelo autor

4.2 Metodologia sintética

Para a obtenção dos compostos da série Lapdesf FTD-AO, foram utilizados síntese convergente e linear. Primeiramente foram obtidos intermediários ftalimídicos, conforme demonstrado na Figura 10. Estes intermediários foram obtidos através da condensação de anidridos ftálicos funcionalizados com arilaminas em meio contendo ácido acético a 130°C.

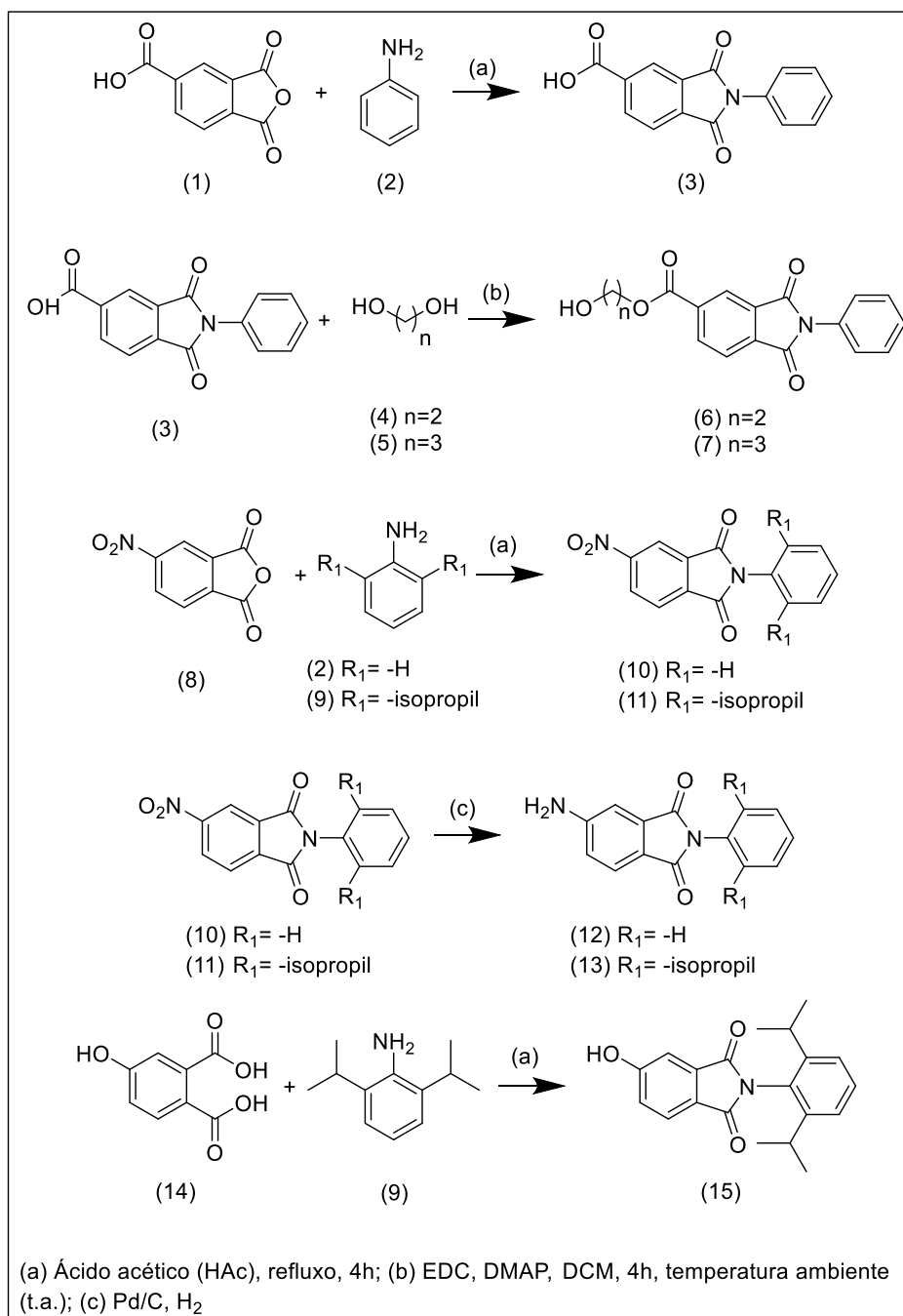


Figura 10. Esquema sintético dos intermediários ftalimídicos (3, 6, 7, 10, 11, 12, 13 e 15).
Fonte: elaborado pelo autor

Os compostos intermediários de ácido ferúlico (17 e 18) foram obtidos através de seu acoplamento com os álcoois etilenoglicol (4) e 1,3-propanodiol (5), através da formação de ésteres com catálise ácida, conforme representado na Figura 11.

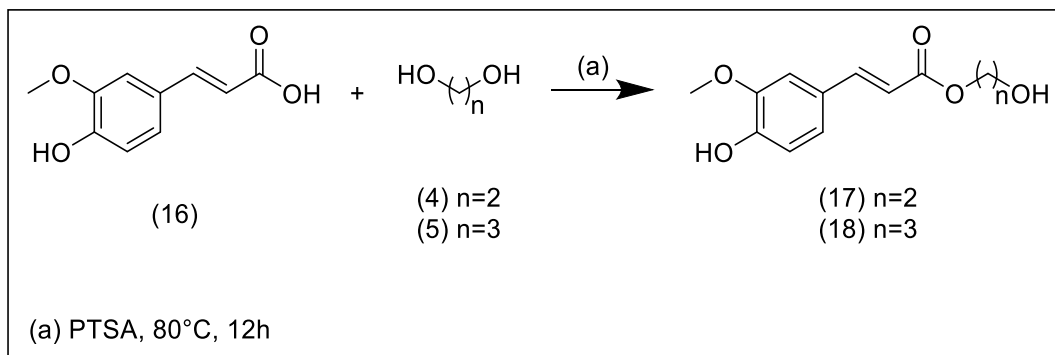


Figura 11. Esquema sintético dos intermediários derivados de ácido ferúlico (17 e 18).
Fonte: elaborado pelo autor

Os compostos finais foram sintetizados através do acoplamento dos derivados funcionalizados (6, 7, 12, 13, 15, 17 e 18) com seus respectivos ácidos [intermediário 3, ácido ferúlico (16) e ácido lipóico (21)], através de reações de substituição de compostos carbonílicos, conforme indicado na Figura 12.

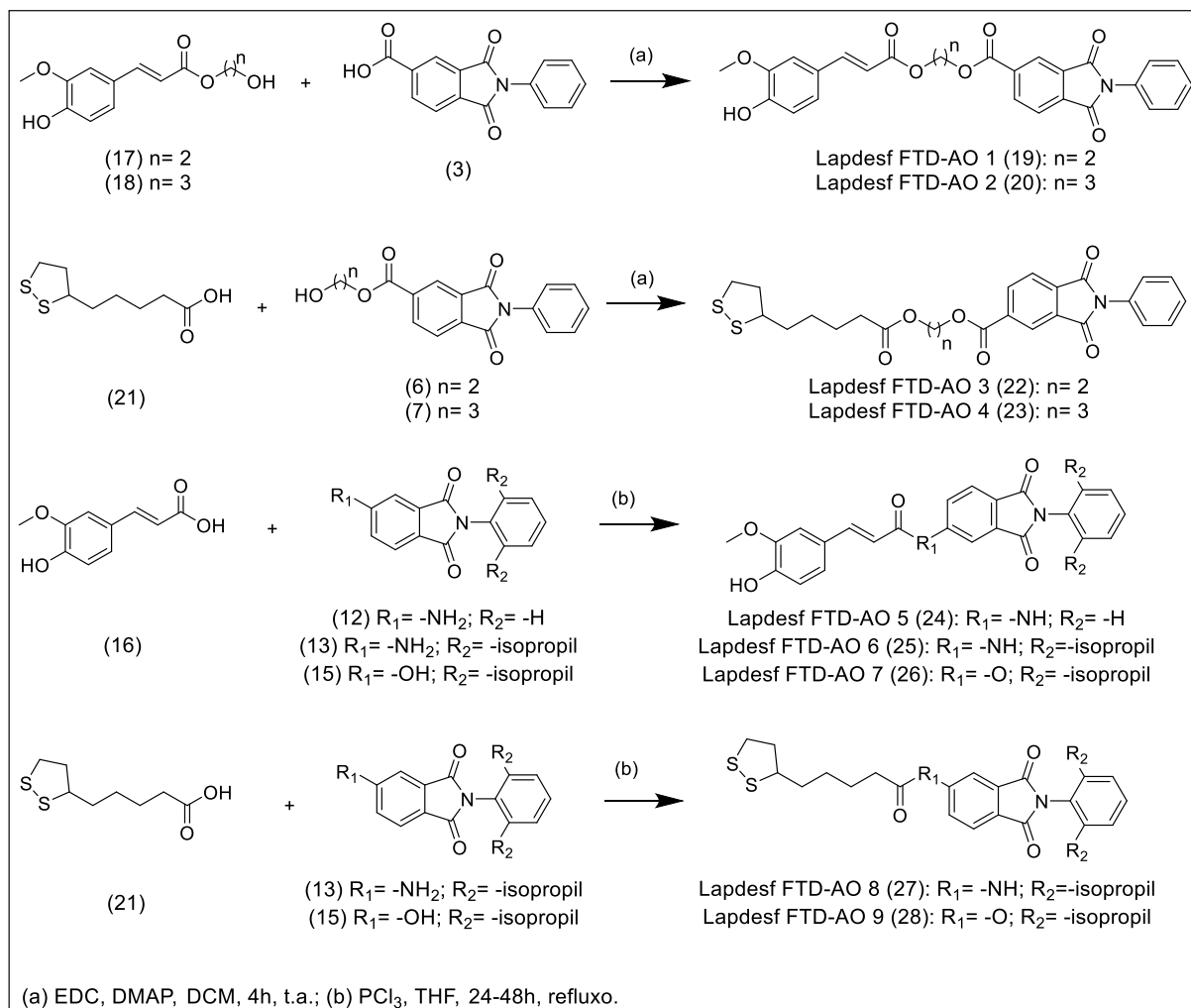


Figura 12. Esquema sintético dos compostos da série Lapdesf FTD-AO (19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28). Fonte: elaborado pelo autor

4.3 Procedimentos experimentais de síntese orgânica

4.3.1 Síntese do composto intermediário ácido 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxílico (3)

Em um balão de 125 mL, adicionou-se 1,0 g (5,2 mmol) de anidrido 1,2,4-benzenotricarboxílico anidrido (1), 25 mL de ácido acético glacial (HAc) e 0,475 mL (5,2 mmol) de anilina (2). A reação foi mantida sob agitação em refluxo (120°C) por 2h. Para o isolamento a reação foi resfriada em banho de gelo e foi adicionado água

gelada, levando a precipitação do produto, o qual foi filtrado a vácuo e lavado com bastante água gelada. A purificação foi realizada por recristalização em etanol.

4.3.2 Síntese do composto intermediário 2-hidroxi-etil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (6)

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,2 g (0,75 mmol) de composto intermediário (3), 0,215 g (1,12 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro, sob agitação constante e banho de gelo por 15 min. Após, adicionou-se 0,009 g (0,075 mmol) de DMAP e 0,123 mL (2,2 mmol) de etilenoglicol (4). A reação foi mantida sob agitação constante em banho de gelo por 2 horas. Ao fim da reação, foi adicionado mais 30 mL de diclorometano no meio reacional e a mistura lavada com salina (5x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando a Isolera Biotage, utilizando como fase estacionária cartucho SNAP Ultra 25 g, constituída de sílica esférica de 25 micras, e como fase móvel com acetato de etila e hexano, em método de gradiente, iniciando em 20% de acetato de etila até 80%.

4.3.3 Síntese do composto intermediário 3-hidroxipropil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (7)

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,2 g (0,75 mmol) de ácido 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxílico (3), 0,215 g (1,12 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro, sob agitação constante e banho de gelo por 15 min. Após, adicionou-se 0,009 g (0,075 mmol) de DMAP e 0,158 mL (2,2 mmol) de 1,3-propanodiol (5). A reação foi mantida sob agitação constante em banho de gelo por 2

horas. O isolamento e purificação do produto foi realizado conforme descrito no item 4.3.2.

4.3.4 Síntese do composto intermediário 5-nitro-2-fenilisoindolina-1,3-diona (10)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,2 g (1,04 mmol) de anidrido 4-nitroftálico (8) em 10 mL de ácido acético glacial e 0,095 mL (1,04 mmol) de anilina (2). A reação foi colocada em refluxo (120°C) e mantido sobre agitação constante por 4 horas. Para o isolamento do produto, a reação foi resfriada em banho de gelo e adicionado gelo e água gelada para que houvesse a precipitação do produto, que foi filtrado a vácuo e lavado com água gelada. Nenhuma purificação adicional foi necessária.

4.3.5 Síntese do composto intermediário 2-(2,6-diisopropilfenil)-5-nitroisoindolina-1,3-diona (11)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,2 g (1,04 mmol) de anidrido 4-nitroftálico (8) em 10 mL de ácido acético glacial e 0,196 mL (1,04 mmol) de 2,6-diisopropilanilina (9). A reação foi colocada em refluxo (120°C) e mantido sobre agitação constante por 4 horas. O isolamento e a purificação do produto foram realizados conforme descrito no item 4.3.4.

4.3.6 Síntese do composto intermediário 5-amino-2-fenilisoindolina-1,3-diona (12)

Em um frasco de vidro, foi adicionado 0,1 g (0,37 mmol) do composto intermediário 10 juntamente com 12 mL de uma mistura de acetato de etila e metanol

(3:1). Após foi adicionado 10% (m/m) de Pd/C lentamente e a mistura colocada em atmosfera de hidrogênio, com pressão entre 30 a 40 psig, no aparelho de hidrogenação. A reação foi mantida em agitação constante por 1 hora em temperatura ambiente. Ao fim da reação, a mistura reacional foi filtrada em Celite e o filtrado foi evaporado sob pressão reduzida. A purificação do produto foi realizada por cromatografia em camada delgada preparativa em disco, com o equipamento Chromatotron[®], utilizando sílica gel como fase estacionária (disco recoberto com 2 mm de camada de sílica gel) e hexano e acetato de etila (4:1) como fase móvel. A separação ocorre pela passagem de fase móvel pela camada de sílica, utilizando a força de rotação para acelerar a eluição da mistura de solventes.

4.3.7 Síntese do composto intermediário 5-amino-2-(2,6-diisopropilfenil)-isoindolina-1,3-diona (13)

Em um frasco de vidro, foi adicionado 0,1 g (0,28 mmol) do composto intermediário 11 juntamente com 12 mL de uma mistura de acetato de etila e metanol (3:1). Após foi adicionado 10% (m/m) de Pd/C lentamente e a mistura colocada em atmosfera de hidrogênio, com pressão entre 30 a 40 psig, no aparelho de hidrogenação. A reação foi mantida em agitação constante por 1 hora em temperatura ambiente. O isolamento e purificação do produto foi realizado conforme descrito no item 4.3.6.

4.3.8 Síntese do composto intermediário 2-(2,6-diisopropilfenil)-5-hidroxiisoindolina-1,3-diona (15)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,2 g (1,10 mmol) de ácido 4-hidroxi-ftálico (14) em 10 mL de ácido acético glacial e 0,207 mL (1,10 mmol) de 2,6-

diisopropilanilina (9). A reação foi colocada em refluxo (120°C) e mantido sobre agitação constante por 4 horas. Para o isolamento do produto, foi adicionado 50 mL de acetato de etila e a mistura foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x30 mL) e com salina (3x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada sob pressão reduzida. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando sílica como fase estacionária, com 10 cm de altura e 3 cm de diâmetro, sendo utilizado hexano e acetato de etila (3:1) como fase móvel.

4.3.9 Síntese do composto intermediário 2-hidroxietil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (17)

A Figura 13 apresenta o esquema sintético com as rotas testadas para obtenção do composto intermediário 2-hidroxietil 3-(4-hidroxi-3-methoxifenil) acrilato (17).

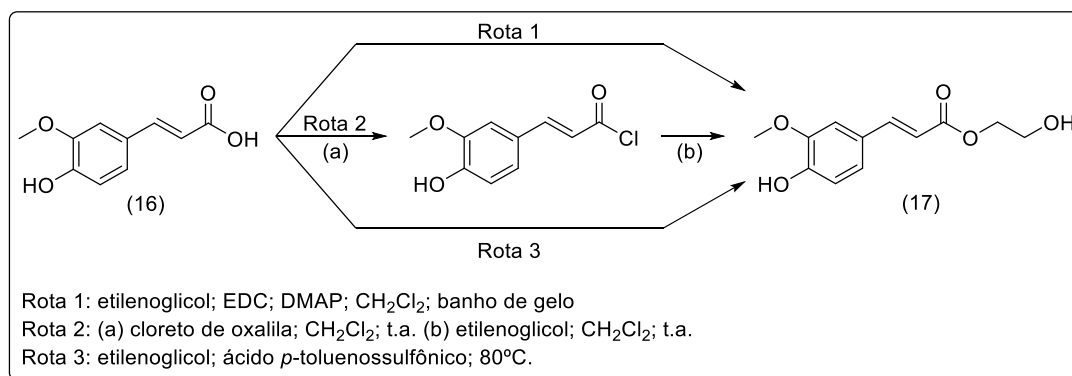


Figura 13. Esquema sintético das rotas testadas para a formação do composto 17.
Fonte: elaborado pelo autor

Rota 1:

Em um balão de 50mL adicionou-se 0,15 g (0,77 mmol) de ácido ferúlico (16), 0,18 g (0,92 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro, sob agitação constante e banho de gelo por 15 min. Após, adicionou-se 0,010 g (0,08 mmol) de

DMAP e 0,13 mL (2,3 mmol) de etilenoglicol (4). A reação foi mantida sob agitação constante por 12 horas a temperatura ambiente. Para o isolamento da reação foi adicionado mais 30 mL de diclorometano e realizada lavagem com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x20 mL) e após lavado com salina (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel, com 10 cm de altura e 3 cm de diâmetro, e fase móvel composta por acetato de etila:hexano:ácido acético (6:4:0,5%).

Rota 2:

Em um balão de 25mL adicionou-se 0,15 g (0,77 mmol) de ácido ferúlico e 5 mL de tetrahidrofurano (THF) anidro. Adicionou-se lentamente 0,13 mL (1,54 mmol) de cloreto de oxalila. A reação ocorreu por 4h sob agitação constante. Após decorrido o tempo, o meio reacional foi evaporado sob pressão reduzida e o produto obtido foi então ressuspendido em diclorometano anidro, adicionando-se então 0,010 g (0,08 mmol) de DMAP e 0,13 mL (2,3 mmol) de etilenoglicol (4). A reação foi mantida sob agitação constante por 48 horas a temperatura ambiente. Ao fim da reação, o THF foi evaporado sob pressão reduzida e a mistura reacional ressuspendida em 50 mL de acetato de etila. Foi realizada lavagem com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x20 mL) e com salina. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e fase móvel com acetato de etila:hexano:ácido acético (6:4:0,5%).

Rota 3:

Em um balão de 10 mL adicionou-se 0,2 g (1,03 mmol) de ácido ferúlico (16) em 2 mL de etilenoglicol (4). O meio reacional foi aquecido a 80°C e então adicionou-se 0,017 g (0,10 mmol) de ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA) e deixado reagir sob agitação constante por 12 horas. Para o isolamento da reação adicionou-se 20 ml de acetato de etila ao meio reacional e foi realizada lavagens com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x10 mL) e salina (3x10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e fase móvel composta de acetato de etila e hexano na proporção de 3:2, respectivamente.

4.3.10 Síntese do composto intermediário 3-hidroxi-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (18)

A Figura 14 apresenta o esquema sintético de obtenção do composto 3-hidroxi-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (18).

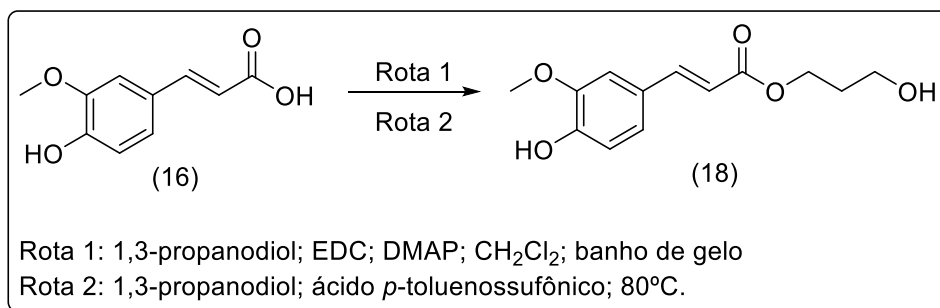


Figura 14. Esquema sintético das rotas testadas para a formação do composto 18.

Fonte: elaborada pelo autor

Rota 1:

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,15 g (0,77 mmol) de ácido ferúlico (16), 0,18 g (0,92 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro. A reação foi mantida sob agitação constante e banho de gelo por 15min. Após, adicionou-se 0,01 g (0,08 mmol) de DMAP e 0,17 mL (2,3 mmol) de 1,3-propanodiol (5). A reação foi mantida sob agitação constante por 12 horas a temperatura ambiente. Para o isolamento da reação foi adicionado mais 40 mL de diclorometano e realizada lavagens com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x30 mL) e salina (3x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e como fase móvel acetato de etila e hexano (3:2).

Rota 2:

Em um balão de 10 mL adicionou-se 0,1 g (0,51 mmol) de ácido ferúlico (16) em 2 mL de 1,3-propanodiol (5). O meio reacional foi aquecido a 80°C e então adicionou-se 0,009 g (0,05 mmol) de PTSA e deixado reagir sob agitação constante por 12 horas. Para o isolamento da reação adicionou-se 20 ml de acetato de etila e foi realizada lavagens com solução saturada de bicarbonato de sódio (5x10 mL) e salina (3x10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e como fase móvel acetato de etila e hexano (3:2).

4.3.11 Síntese dos compostos finais 2-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (19; Lapdesf FTD-AO 1) e 3-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-propil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (20; Lapdesf FTD-AO 2)

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,1 g (0,37 mmol) do composto intermediário 3, 0,13 g (0,67 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro. A reação foi mantida sob agitação constante e banho de gelo por 15 min. Após, adicionou-se 0,007 g (0,06 mmol) de DMAP e 0,56 mmol do composto intermediário 17 ou 18 (0,133 g ou 0,141 g, respectivamente). A reação foi mantida sob agitação constante por 4 horas em temperatura ambiente. Para o isolamento da reação foram adicionados mais 40 mL ao meio reacional e realizada lavagem com salina (5x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) utilizada como fase móvel diclorometano e acetato de etila, na proporção 9:1.

4.3.12 Síntese dos compostos finais 2-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (22; Lapdesf FTD-AO 3) e 3-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)propil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (23; Lapdesf FTD-AO 4)

Em um balão de 50 mL adicionou-se 0,1 g (0,49 mmol) de ácido lipóico (21), 0,14 g (0,73 mmol) de EDC em 10 mL de diclorometano anidro. A reação foi mantida sob agitação constante e banho de gelo por 15 min. Após, adicionou-se 0,010 g (0,08 mmol) de DMAP e 0,73 mmol do composto intermediário 6 ou 7 (0,23 g ou 0,24 g, respectivamente). A reação foi mantida sob agitação constante por 4 horas a

temperatura ambiente. Ao fim da reação, foi adicionado 40 mL de diclorometano e realizadas lavagens com salina (5x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e como fase móvel foi utilizado hexano e acetato de etila, na proporção 7:3.

4.3.13 Síntese do composto final N-(1,3-dioxo-2-fenilisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida (24; Lapdesf FTD-AO 5)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,1 g (0,52 mmol) de ácido ferúlico (16) em 10 mL de THF juntamente com 0,068 mL (0,78 mmol) de tricloreto de fósforo (PCl₃). A reação foi mantida em refluxo (70°C) sob agitação constante por 1 hora. Após decorrido o tempo, foi adicionado 0,148 g (0,62 mmol) do composto intermediário 12 e a reação foi mantida por 24 horas nas mesmas condições. Ao fim da reação, o THF foi evaporado sob pressão reduzida e o conteúdo da reação foi ressuscendido em acetato de etila (30 mL) e lavado com salina (5x15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. A purificação foi feita por cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária sílica gel (altura: 10 cm; diâmetro: 3 cm) e como fase móvel foi utilizado hexano e acetato de etila, na proporção 3:1.

4.3.14 Síntese do composto N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida (25; Lapdesf FTD-AO 6)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,15 g (0,52 mmol) de ácido ferúlico (16) em 10 mL de THF juntamente com 0,068 mL (0,78 mmol) de PCl₃. A

reação foi deixada em refluxo (70°C) sob agitação constante por 1 hora. Após decorrido o tempo, foi adicionado 0,2 g (0,62 mmol) do composto intermediário 13 e a reação foi mantida por 24 horas nas mesmas condições. Ao fim da reação, o THF foi evaporado sob pressão reduzida e o conteúdo da reação foi ressuscitado em acetato de etila (30 mL) e lavado com salina (5x15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. A purificação do produto foi realizada por cromatografia em camada delgada preparativa em disco, com o equipamento Chromatotron[®], utilizando disco com 2 mm de camada de sílica gel como fase estacionária e hexano e acetato de etila (4:1) como fase móvel.

4.3.15 Síntese do composto final 2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (26; Lapdesf FTD-AO 7)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,15 g (0,52 mmol) de ácido ferúlico (16) em 10 mL de THF juntamente com 0,068 mL (0,78 mmol) de PCl_3 . A reação foi mantida em refluxo (70°C) sob agitação constante por 1 hora. Após decorrido o tempo, foi adicionado 0,2 g (0,62 mmol) do composto intermediário 15 e a reação mantida por 48 horas nas mesmas condições. O isolamento do produto foi realizado conforme descrito no item 4.3.14. A purificação do produto foi realizada por cromatografia em camada delgada preparativa em disco, com o equipamento Chromatotron[®], utilizando disco com 2 mm de camada de sílica gel como fase estacionária e diclorometano e acetato de etila (20:1) como fase móvel.

4.3.16 Síntese do composto final N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il)-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanamida (27; Lapdesf FTD-AO 8)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,1 g (0,49 mmol) de ácido lipóico (21) em 10 mL de THF juntamente com 0,065 mL (0,74 mmol) de PCl_3 . A reação foi mantida em refluxo (70°C) sob agitação constante por 1 hora. Após decorrido o tempo, foi adicionado 0,19 g (0,59 mmol) do composto intermediário 13 e a reação mantida por 24 horas nas mesmas condições. O isolamento do produto e a purificação foram realizados de acordo com o procedimento descrito no item 4.3.15.

4.3.17 Síntese do composto final 2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanoato (28; Lapdesf FTD-AO 9)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,1 g (0,49 mmol) de ácido lipóico (21) em 10 mL de THF juntamente com 0,065 mL (0,74 mmol) de PCl_3 . A reação foi mantida em refluxo (70°C) sob agitação constante por 1 hora. Após decorrido o tempo, foi adicionado 0,19 g (0,59mmol) do composto intermediário 15 e a reação mantida por 24 horas nas mesmas condições. O isolamento do produto e a purificação foram realizados de acordo com o procedimento descrito no item 4.3.15.

4.4 Métodos Analíticos

4.4.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As análises de cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas em cromatofolhas de alumínio (AL TLC) de sílica-gel 60 F254 Sigma®, para o

acompanhamento das reações e das purificações dos compostos sintetizados. A visualização das substâncias foi realizada com luz ultravioleta (254-365nm).

4.4.2 Espectroscopia de RMN de ^1H , RMN de ^{13}C

Os espectros de RMN unidimensionais de ^1H e ^{13}C e bidimensionais HSQC e HMBC foram obtidos com a utilização do espectrômetro de 300 MHz (7.0 Tesla) Fourier com Dual probe ou espectrômetro de 600 MHz (14.1 Tesla) – Bruker® do laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (IQ-UNESP). Os solventes deuterados utilizados foram clorofórmio (CDCl_3) e dimetilsulfóxido [$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$]. Os deslocamentos químicos foram reportados em partes por milhão (ppm - δ), sendo reportados como *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *q* (quadruplete), *qui* (quintuplete), *hept* (hepteto) e *m* (multiplete), e as constantes de acoplamento (J) são mostrados em Hertz (Hz). Para a calibração dos espectros foram utilizados os deslocamentos químicos dos próprios solventes.

4.4.3 Espectroscopia de Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no infravermelho na região de 4.000 a 400 cm^{-1} , foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrofotômetro infravermelho IR Prestige-21 da SHIMADZU Corporation.

4.4.4 Determinação da faixa de fusão

A faixa de fusão dos compostos foi determinada em aparelho Melting Point Apparatus SMP3, Stuart Scientific®, utilizando capilares, disponível no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, SP.

4.5 Ensaios biológicos e Físico-Químicos

4.5.1 Determinação do coeficiente de partição ($\text{LogP}_{o/w}$)

A determinação do coeficiente de partição ($\text{LogP}_{o/w}$) foi realizado a partir do método adaptado do *OECD Guideline for the Testing of Chemicals n°117 – Partition coefficient (n-octanol/water), high performance liquid chromatography (HPLC) method* (2004). Utilizou-se o sistema cromatográfico Prominence UFLC, Shimadzu Corporation, que possui módulo de controle modelo CBM-20A, detector UV-VIS modelo SPD- 67 20A, sistema de bombeamento de fase móvel quaternário modelo LC-20AT, desgaseificador modelo DGU-20A5, e loop do injetor de 20,0 μL . O controle e registro das informações foi realizado pelo programa LabSolutions, versão 5.57 SP1, também da Shimadzu Corporation, utilizou-se coluna cromatográfica Shimadzu Shim-pack VP-ODS (150 mm x 4,6 mm; 5 μm). A fase móvel empregada foi metanol:água (75:25 v/v), fluxo de 1,0 mL/min, volume de injeção de 20,0 μL e detector selecionado para 210 nm. A temperatura ambiente permaneceu controlada em 23 °C.

Para a determinação do CLogP (LogP calculado) dos compostos finais foram utilizados o software ChemDraw® Ultra 14.0, o módulo online ALOGPS 2.1 e o módulo online pkCSM.

Os valores obtidos na determinação do CLogP foram utilizados como base para a seleção dos padrões para determinação da curva analítica LogK versus LogP (tabela 1), sendo a variável K (fator de retenção) obtida pela equação:

$$K = \frac{(tr - t0)}{t0}$$

onde, tr representa o tempo de retenção da substância teste, e t0 é o tempo morto, ou seja, o tempo médio que uma molécula de solvente necessita para percorrer toda a coluna cromatográfica. Os padrões utilizados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Padrões utilizados na determinação da curva LogK versus LogP

Substância	Fórmula	LogP
Anilina	C ₆ H ₇ N	0,9
Acetanilida	C ₈ H ₉ NO	1,0
Nitrobenzeno	C ₆ H ₅ NO ₂	1,9
Clorobenzeno	C ₆ H ₅ Cl	2,8
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	3,6
Bifenila	C ₁₂ H ₁₀	4,0
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	4,5
Trifenilamina	C ₁₈ H ₁₅ N	5,7
DDT	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	6,5

Fonte: elaborado pelo autor

4.5.2 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH *in vitro*

Para verificar o potencial antioxidante dos compostos finais *in vitro* foi avaliada a atividade sequestrante do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), adaptado de

métodos já descritos e publicados (BRAND-WILLIAM et al., 1995 e TÖRÖK et al., 2013).

Os padrões utilizados como controle positivo foram ácido ascórbico, ácido ferúlico e ácido lipóico. Para o preparo dos padrões e amostras, foram preparadas soluções estoque na concentração de 4 mM. Em seguida, estas soluções foram diluídas a uma concentração de 200 µM em metanol, sendo essa a concentração inicial. Foram avaliadas um total de oito concentrações, preparadas através de diluição seriada, nas concentrações de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13 e 1,56 µM. Para o experimento, foram adicionados em uma placa de 96 poços, 50 µL de cada uma das concentrações, bem como o controle sem substância antioxidante, e 100 µL de uma solução-estoque de DPPH• de concentração 0,04 g/L, diluída em metanol, em duplicata. A microplaca foi incubada a 37°C por 60 minutos e as absorvâncias foram obtidas em 519 nm em leitor de microplacas. O ensaio foi realizado em triplicata. A porcentagem de inibição do radical DPPH pelos compostos foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(Abs_b - Abs_a)}{Abs_b} \times 100$$

Onde Abs_b corresponde à absorvância do controle sem antioxidante e Abs_a corresponde à absorvância da solução contendo compostos antioxidantes (padrões e amostras).

Após a obtenção das absorvâncias, foram calculadas as porcentagens de inibição de cada uma das moléculas frente ao radical estável de DPPH. Em seguida, foram calculadas as médias e desvios padrão de cada um dos compostos para cada uma das concentrações. A análise estatística foi realizada através do teste de Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância

escolhido para o teste foi de 0.05. Os testes estatísticos foram realizados com o software estatístico Graph Pad Prism®, versão 5.01.

4.5.3 Avaliação da citotoxicidade em macrófagos murinos da linhagem J774A.1

Para determinar a porcentagem de viabilidade celular, utilizou-se o método de microdiluição em placas de 96 poços e a resazurina foi o indicador de viabilidade celular. O IC₅₀ representa a menor concentração capaz de manter 50% das células viáveis, desta forma, quanto maior esta concentração, menos tóxica é a amostra em questão (SILVA et al., 2017).

A concentração inicial das amostras foi 200 µg/mL e elas foram diluídas em meio RPMI (Vitrocell®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Vitrocell®) para atingir tal concentração. O mesmo meio foi utilizado para o cultivo das células.

A linhagem celular escolhida foi a J774A.1 de macrófagos murinos (DOS SANTOS FERNANDES et al., 2017). As células foram cultivadas em garrafas de cultivo celular até atingir a confluência celular. Para a contagem utilizou-se a câmara de Neubauer e para a exclusão das células mortas na contagem adicionou-se o azul de trypan, que é um corante capaz de penetrar apenas nestas células. A concentração de células foi ajustada para 5×10^5 células.mL⁻¹ e o volume de 100µL da suspensão de células foi adicionado aos poços da placa de 96 poços (Kasvi®) e então incubada por 24h (a 37°C e 5% de CO₂) para aderência e formação de um tapete celular.

Após este período, o meio foi removido e adicionou-se o volume de 100µL das amostras previamente diluídas nas concentrações desejadas. Após 24h em contato com as células, o tratamento foi removido e adicionou-se 50µL de resazurina (Sigma-Aldrich®) a 0,1% solubilizada no mesmo meio de cultura. Após aproximadamente 2

horas de incubação foi feita a leitura de fluorescência (530/590nm) no equipamento Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader, Biotek®.

A resazurina na presença de metabolismo celular é reduzida a resorufina passando de um estágio de baixa fluorescência e cor azul para um estágio de alta fluorescência e cor rosa. Através de uma regressão linear, que considera um controle com células sem nenhum tratamento como 100%, calculou-se a porcentagem de células permanecem viáveis (SILVA et al., 2017).

4.5.4 Avaliação *in vitro* da polimerização de tubulina

A avaliação da atividade polimerizadora de tubulina dos compostos finais foi realizado utilizando o kit *Tubulin polymerization assay using >99% pure tubulina, fluorescent based* (código BK011P, Cytoskeleton Inc., Denver, Estados Unidos). O ensaio foi realizado em parceria do Professor Dr. Pui-Kai Li, do departamento de Química Medicinal e farmacognosia da The Ohio State University, Columbus, Ohio, EUA.

O kit é constituído de 10,0 mg de tubulina liofilizada purificada de cérebro de porco (pureza >99%), trifosfato de guanosina (GTP) liofilizado, paclitaxel (controle positivo) liofilizado, e tampões de reconstituição (tampão 1) e de polimerização (tampão glicerol). O tampão 1 é constituído por: 20,0 mM de PIPES (piperazina-1,4-bis(ácido 2-etanosulfónico); 2,0 mM cloreto de magnésio (MgCl₂); 0,5 mM EGTA (ácido etileno glicol-bis (β-amino-etil-éter) N,N,N',N'-tetra-acético) e 10,0 μM de DAPI em pH 6,9. O tampão glicerol contém: 80 mM PIPES; 2 mM MgCl₂; 0,5 mM EGTA e 60% de glicerol em volume em pH 6,9. Os ensaios foram realizados em placa de 96 poços OptiPlate-1536 F – Black (Perkin Elmer Inc., Waltham, Estados Unidos).

O preparo e reconstituição dos componentes do kit foi realizado de acordo com o descrito no manual do kit. A solução de tubulina foi preparada na concentração 2,0 mg/mL da proteína, contendo 15% de glicerol no tampão 1. Para o experimento, primeiramente adicionou-se em cada poço da placa 5,0 μ L de cada composto a ser testado, previamente solubilizado em 10% de DMSO e logo depois adicionou-se 45 μ L da solução de tubulina, imediatamente após seu preparo. A concentração final de DMSO no ensaio não deve ultrapassar 1%, uma vez que concentrações maiores podem interferir na polimerização dos microtúbulos. Utilizou-se como controles, paclitaxel (3,0 μ M) e solução de cloreto de cálcio (0,5 mM).

Após o preparo, a placa foi colocada em leitor de microplaca de fluorescência pré-aquecido a 37°C e a leitura cinética realizada no equipamento Cytation 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader, Biotek®, utilizando filtro de excitação de 350 nm e de emissão de 460 nm por 1 hora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese do composto intermediário ácido 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxílico (3)

O composto intermediário 3 (ácido 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxílico), apresentado na Figura 15, apresenta massa molecular de 267,24 e foi obtido como um sólido cristalino verde claro com rendimento de 80,4% e faixa de fusão entre 257,4-261,5°C.

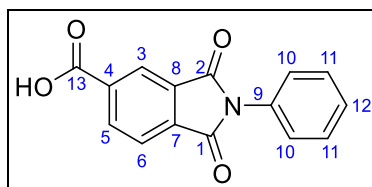


Figura 15. Estrutura química do composto intermediário 3

A síntese do composto 3 consistiu na condensação do anidrido 1,2,4-benzenotricarboxílico (1) com a anilina (2). O mecanismo sintético da formação do anel ftalímídico a partir do ataque nucleofílico de uma amina livre ao ácido ftálico ou anidrido correspondente está apresentado na Figura 16.

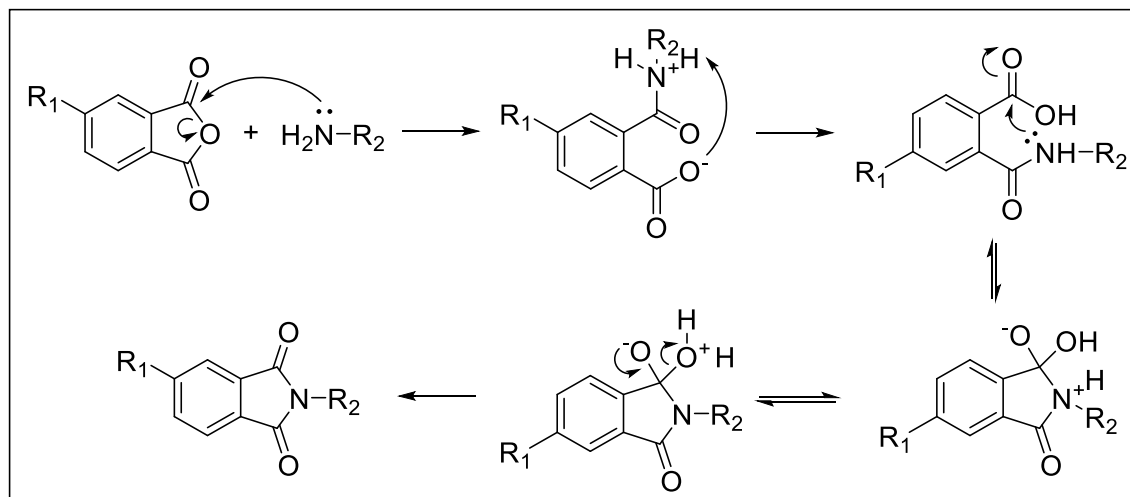


Figura 16. Mecanismo proposto para a formação do anel ftalimídico.
 Fonte: CHIRIAC; NECHIFOR; TANASĂ, 2007

A caracterização química do composto foi realizada por espectrometria de ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN de ^1H) e de ^{13}C (RMN de ^{13}C), apresentados nas Figuras A1 e A2 (Apêndice), respectivamente. Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto 3 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	166,30
2	-	166,32
3	8,31 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{meta} = 1,4 Hz)	128,27
4	-	135,49
5	8,42 (1H; dd; J_{meta} = 1,4 Hz; J_{orto} = 7,7 Hz)	134,94
6	8,09 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{orto} = 7,7 Hz)	123,40
7	-	136,44
8	-	132,08
9	-	131,77
10	7,43 – 7,58 (5H; m)	127,36
11	7,43 – 7,58 (5H; m)	128,93
12	7,43 – 7,58 (5H; m)	123,83
13	-	165,35

Fonte: dados da pesquisa

Pela análise do espectro de RMN de ^1H foi possível observar que os hidrogênios do anel ftalimídico H_3 , H_5 e H_6 (Figura 15) apresentam-se como duplos dupletos, cada um integrando para um hidrogênio, nos deslocamentos químicos de δ 8,31, δ 8,42 e δ 8,09, respectivamente, e com constantes de acoplamentos condizentes com as posições de cada um, conforme apresentado na Tabela 1. Os hidrogênios correspondentes ao grupo fenila (H_{10} a H_{12}) podem ser identificados e apresentam-se como multiplete na faixa de δ 7,43 – 7,58 (integrando para cinco hidrogênios).

No espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os sinais referentes a todos os carbonos do produto. Destaca-se para caracterizar o produto formado os carbonos carbonílicos C_1 , C_2 e C_{13} (Figura 15), com deslocamentos em δ 166,30, δ 166,32 e δ 165,35, respectivamente. A pequena diferença nos deslocamentos químicos dos carbonos C_1 e C_2 , como observado na ampliação desses sinais na Figura A2 (apêndice), pode ser atribuída a presença do grupamento ácido carboxílico presente no anel fenílico da molécula, o que influencia em sua distribuição eletrônica por ser um grupamento atrator de elétrons.

5.2 Síntese dos compostos intermediários 2-hidroxietil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (6) e 3-hidroxiopropil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (7)

O composto intermediário 6 (2-hidroxietil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato), com massa molecular de 311,29, foi obtido como um sólido amorfo branco com rendimento de 49,8% e faixa de fusão entre 156,7 – 159,9°C. A estrutura química do composto 6 esta apresentada na Figura 17.

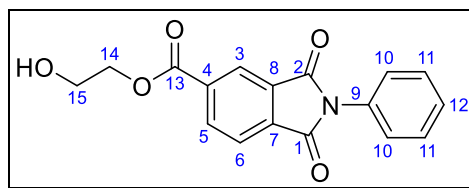


Figura 17. Estrutura química do composto intermediário 6

Já o composto intermediário 7 (3-hidroxipropil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato), de massa molecular 325,32, foi obtido como um sólido amorfo branco com rendimento de 42,0% e faixa de fusão entre 145,9 – 146,7°C. A estrutura química do composto 7 esta apresentada na Figura 18.

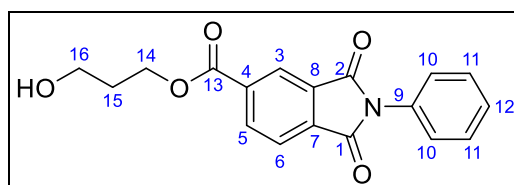


Figura 18. Estrutura química do composto intermediário 7

Os compostos intermediários 6 e 7 foram obtidos através de reações de esterificação utilizando o agente acoplante EDC e como catalisador a DMAP. O mecanismo sintético da formação de éster ou amida a partir de um ácido carboxílico e um álcool ou amina, usando o agente acoplante EDC e DMAP como catalisador, está demonstrado na Figura 19.

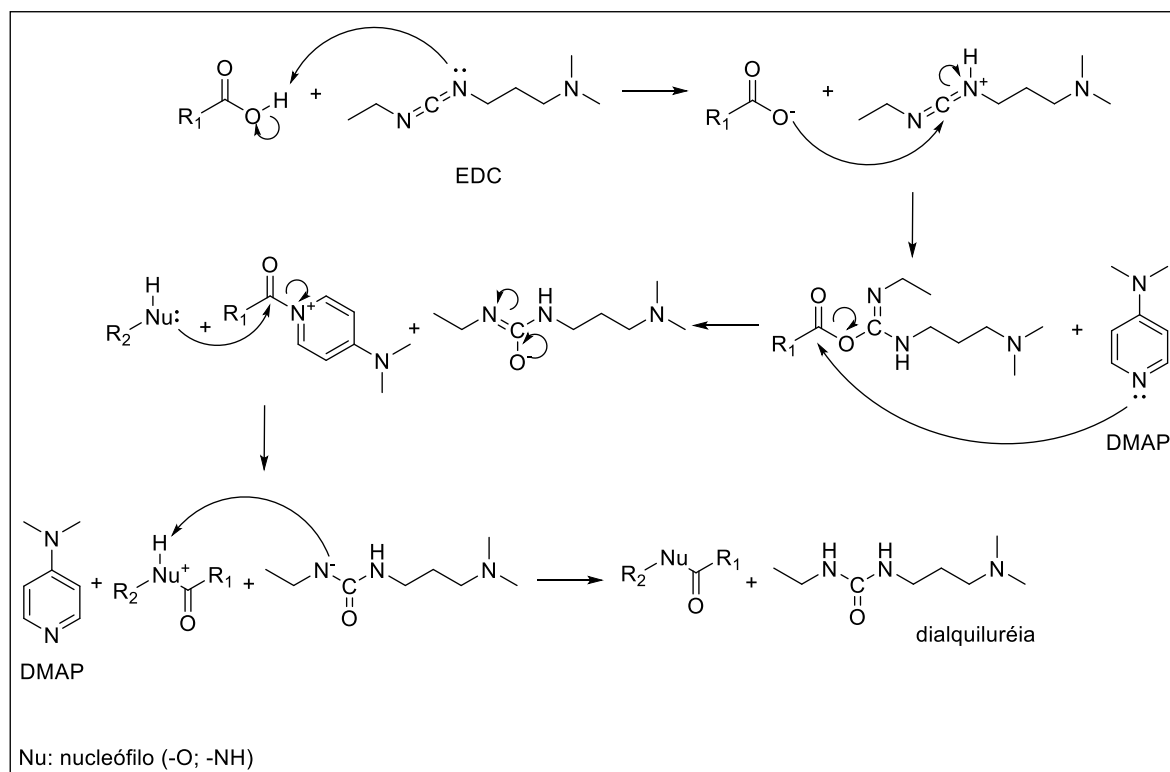


Figura 19. Mecanismo sintético proposto para a formação de éster ou amida utilizando EDC e DMAP. Fonte: VALEUR; BRADLEY, 2009; TSAKOS et al., 2015

A caracterização química foi realizada por espectroscopia de RMN de ^1H , apresentados nas Figuras A3 e A4 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos compostos 6 e 7 estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos compostos intermediários 6 e 7 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	
	Composto 6	Composto 7
3	8,62 (1H; dd; $J_{para}= 0,7$ Hz; $J_{meta}= 1,4$ Hz)	8,58 – 8,59 (1H; m)
5	8,51 (1H; dd; $J_{meta}= 1,4$ Hz; $J_{orto}= 7,8$ Hz)	8,49 (1H; dd; $J_{meta}= 1,4$ Hz; $J_{orto}= 7,8$ Hz)
6	8,05 (1H; dd; $J_{para}= 0,7$ Hz; $J_{orto}= 7,8$ Hz)	8,04 (1H; d; $J_{orto}= 7,8$ Hz)
10	7,40 – 7,58 (5H; m)	7,40 – 7,56 (5H; m)
11	7,40 – 7,58 (5H; m)	7,40 – 7,56 (5H; m)
12	7,40 – 7,58 (5H; m)	7,40 – 7,56 (5H; m)
14	4,53 – 4,57 (2H; m)	4,57 (2H; t)
15	4,01 – 4,04 (2H; m)	2,07 (2H; qui)
16	-	3,82 (2H; t)

Fonte: dados da pesquisa

Observou-se a formação dos produtos desejados pelos hidrogênios presentes no anel ftalímídico, H₃, H₅ e H₆ (Figuras 17 e 18) com deslocamentos em δ 8,62, δ 8,51 e δ 8,05 (composto 6) e δ 8,58 – 8,59, δ 8,49 e δ 8,04 (composto 7). Também foi possível observar os hidrogênios das cadeias alifáticas H₁₄ e H₁₅ (composto 6) com deslocamentos nas faixas de δ 4,53 – 4,57 e δ 4,01 – 4,04 e H₁₄, H₁₅ e H₁₆ (composto 7) com deslocamentos δ 4,57, δ 2,07 e δ 3,82.

5.3 Síntese do composto intermediário 5-nitro-2-fenilisoindolina-1,3-diona (10) e 5-amino-2-fenilisoindolina-1,3-diona (12)

O composto intermediário 10 (5-nitro-2-fenilisoindolina-1,3-diona) apresenta massa molecular de 268,23 e foi obtido como um sólido amorfo bege com rendimento de 56,1% e faixa de fusão entre 192,0 – 193,7°C. Já o composto intermediário 12 (5-amino-2-fenilisoindolina-1,3-diona) apresenta massa molecular de 238,25 e foi obtido com rendimento de 53,4%. As estruturas químicas dos compostos 10 e 12 estão apresentadas na Figura 20.

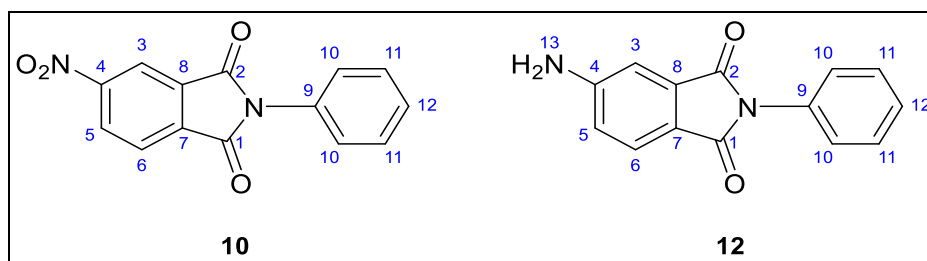


Figura 20. Estruturas químicas dos compostos intermediários 10 e 12

O composto 10 foi obtido pela condensação do anidrido 4-nitroftálico (8) com a anilina (2), e o composto 12 foi obtido a partir do composto 10, através de reação de

redução do grupo nitro, utilizando Pd/C e H₂. O mecanismo de reação proposto para a formação do composto 10 foi apresentado anteriormente, na Figura 16.

A caracterização química dos compostos foi realizada por espectroscopia de RMN de ¹H, conforme Figuras A5 e A6 (Apêndice) e todos os deslocamentos químicos das moléculas são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Deslocamentos químicos de RMN de ¹H dos compostos intermediários 10 e 12 (DMSO)

Posição	δ ¹ H (ppm)	
	Composto 10	Composto 12
3	8,59 (1H; dd; $J_{para} = 0,6$ Hz; $J_{meta} = 2,0$ Hz)	7,00 (1H; d; $J_{meta} = 2,0$ Hz)
5	8,69 (1H; dd; $J_{meta} = 2,0$ Hz; $J_{orto} = 8,1$ Hz)	6,87 (1H; dd; $J_{meta} = 2,0$ Hz; $J_{orto} = 8,2$ Hz)
6	8,22 (1H; dd; $J_{para} = 0,6$ Hz; $J_{orto} = 8,1$ Hz)	7,58 (1H; d; $J_{orto} = 8,2$ Hz)
10	7,53 – 7,59 (2H; m)	7,46 – 7,52 (2H; m)
11	7,45 – 7,51 (3H; m)	7,36 – 7,42 (3H; m)
12	7,45 – 7,51 (3H; m)	7,36 – 7,42 (3H; m)
13	-	6,55 (2H; s)

Fonte: dados da pesquisa

A formação do intermediário 10 foi observada na análise do RMN de ¹H pela caracterização dos hidrogênios presentes no anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 20) nos deslocamentos químicos de δ 8,59, δ 8,69 e δ 8,22, respectivamente. Além desses, é possível observar a presença dos hidrogênios presentes no grupo fenila ligado ao nitrogênio da ftalimída, na faixa de δ 7,45 – 7,59. Já para o composto 12, é possível destacar a mudança nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 20) para δ 7,00, δ 6,87 e δ 7,58, indicando a redução do grupo nitro para a amina. Também observamos a presença do deslocamento químico referente aos hidrogênios da amina, em δ 6,55.

5.4 Síntese do composto intermediário 2-(2,6-diisopropilfenil)-5-nitroisindolina-1,3-diona (11) e 5-amino-2-(2,6-diisopropilfenil)-isindolina-1,3-diona (13)

O composto 11 [2-(2,6-diisopropilfenil)-5-nitroisindolina-1,3-diona] foi obtido como um sólido amorfo bege, com massa molecular de 352,39, com rendimento de 61.2% e faixa de fusão de 156.6° – 166.0°C. Já o composto 13 foi obtido como um sólido amarelo, com massa molecular de 322,4, rendimento de 65,5% e faixa de fusão de 256.3 – 260.0°C. As estruturas químicas dos compostos 11 e 13 estão apresentadas na Figura 21.

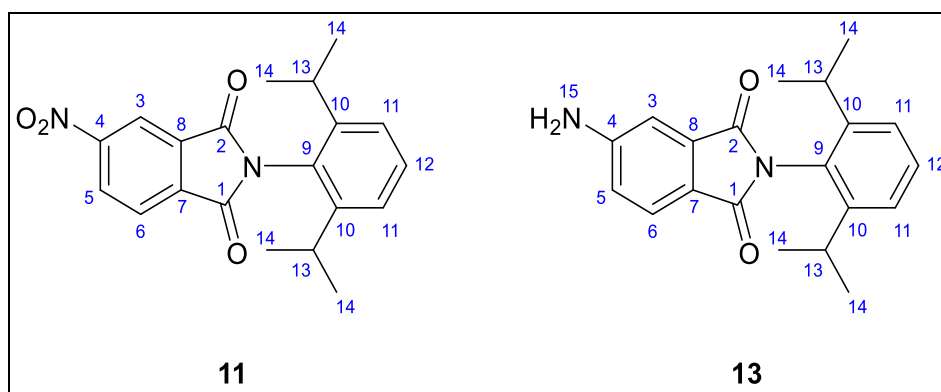


Figura 21. Estruturas químicas dos compostos intermediários 11 e 13

O intermediário 11 foi obtido através da condensação do anidrido 4-nitroftálico (8) com a 2,6-diisopropilanilina (9), conforme mecanismo proposto na Figura 16, e o composto 13 foi obtido a partir do composto 10, através de reação de redução do grupo nitro, seguindo o mesmo procedimento descrito para a obtenção do composto 12.

A caracterização química dos compostos foi realizada por espectrometria de RMN de ¹H, conforme Figura A7 e A8 (Apêndice) e todos os deslocamentos químicos da molécula são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN ¹H dos compostos intermediários 11 e 13 (DMSO)

Posição	δ ¹ H (ppm)	
	Composto 11	Composto 13
3	8,67 (1H; d; $J_{meta} = 2,0$ Hz)	7,01 (1H; d; $J_{meta} = 2,0$ Hz)
5	8,73 (1H; dd; $J_{meta} = 2,0$ Hz; $J_{orto} = 8,2$ Hz)	6,88 (1H; dd; $J_{meta} = 2,0$ Hz; $J_{orto} = 8,2$ Hz)
6	8,29 (1H; d; $J_{orto} = 8,2$ Hz)	7,60 (1H; d; $J_{orto} = 8,2$ Hz)
11	7,37 (2H; d; $J_{orto} = 7,8$ Hz)	7,30 (2H; d; $J_{orto} = 7,8$ Hz)
12	7,52 (1H; t; $J_{orto} = 7,8$ Hz)	7,44 (1H; t; $J_{orto} = 7,8$ Hz)
13	2,70 (2H; hept)	2,62 (2H; hept)
14	1,07 (12H; d)	1,06 (12H; d)
15	-	6,64 (2H; s)

Fonte: dados da pesquisa

A obtenção do composto intermediário 11 pode ser verificada na análise do RMN de ¹H pela caracterização dos hidrogênios presentes no anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 21) com deslocamentos químicos de δ 8,67, δ 8,73 e δ 8,29, respectivamente. Observa-se também a presença dos hidrogênios presentes no grupo fenila ligado ao nitrogênio da ftalimída, nos deslocamentos de δ 7,37 e δ 7,52. Já em relação ao composto 13, pode-se destacar a mudança nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 21) para δ 7,01, δ 6,88 e δ 7,60, devido a redução do grupo nitro para a amina. Também observamos a presença do deslocamento químico referente aos hidrogênios da amina, em δ 6,64.

5.5 Síntese do composto intermediário 2-(2,6-diisopropilfenil)-5-hidroxiisoindolina-1,3-diona (15)

O composto intermediário 15 [2-(2,6-diisopropilfenil)-5-hidroxiisoindolina-1,3-diona], com massa molecular de 323,39, foi obtido como um sólido amorfo bege com rendimento de 75.7% e faixa de fusão entre 196,2 – 202,0°C. A estrutura química do composto 15 esta apresentada na Figura 22.

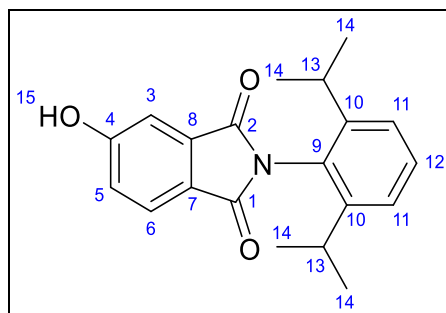


Figura 22. Estrutura química do composto intermediário 15

A síntese deste composto consiste na condensação do ácido 4-hidroxifalílico (14) com a 2,6-diisopropilanilina (9) em ácido acético. O mecanismo da reação proposto está apresentado na Figura 16.

A caracterização química do composto foi realizada por espectrometria de RMN de ^1H , apresentado na Figura A9 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Deslocamentos químicos de RMN ^1H do composto intermediário 15 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)
3	7,27 (1H; dd; J_{para} = 0,5 Hz; J_{meta} = 2,2 Hz)
5	7,22 (1H; dd; J_{meta} = 2,2 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)
6	7,83 (1H; dd; J_{para} = 0,5 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)
11	7,31 (2H; d; J_{orto} = 8,3 Hz)
12	7,47 (1H; dd; J_{orto} = 7,1 e 8,3 Hz)
13	2,63 (2H; hept)
14	1,07 (12H; d)
15	11,16 (1H; s)

Fonte: dados da pesquisa

Pela análise do espectro de RMN de ^1H foi possível comprovar a formação do composto pelos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 22) integrando para um hidrogênio cada e apresentam deslocamentos químicos de δ 7,27, δ 7,22 e δ 7,83. Também pode-se enfatizar os

deslocamentos químicos dos hidrogênios dos grupos isopropil, com deslocamentos em δ 2,63 e δ 1,07.

5.6 Síntese do composto intermediário 2-hidroxi-etil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (17)

O composto intermediário 17 [2-hidroxi-etil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato], que apresenta massa molecular de 238,24, foi obtido como um sólido amorfo rosa claro com rendimento de 60,0% e faixa de fusão de 99,7 – 101,8°C. A estrutura química do composto 17 esta apresentada na Figura 23.

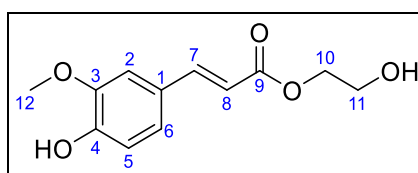


Figura 23. Estrutura química do composto intermediário 17

A formação desse composto intermediário ocorreu pelo acoplamento do ácido ferúlico (16) com etilenoglicol (4) para a formação do éster. Três diferentes metodologias foram avaliadas, conforme apresentado na Figura 13.

A primeira rota consistiu na utilização do agente acoplante EDC e DMAP como catalisador. A reação foi deixada por 48h, sendo necessário a adição de mais EDC no decorrer da reação com o intuito de observar o consumo majoritário do reagente de partida (ácido ferúlico). A segunda rota consiste na formação de um composto intermediário reativo (haleto de acila), seguido de substituição nucleofílica com o etilenoglicol. Ambas apresentaram rendimento muito baixo, sendo a obtenção do produto em questão inferior a 20%. A terceira rota testada consistiu na utilização do

etilenoglicol como solvente e o ácido p-toluenossulfônico (PTSA) como catalisador, sob agitação constante a 80°C. Os resultados sintéticos apresentados anteriormente foram obtidos através dessa rota sintética. Dessa forma, a terceira rota é a melhor dentre as avaliados pois apresenta um bom rendimento e simplicidade sintética.

A formação do composto foi através da esterificação de Fischer, que consiste na formação do éster por catálise ácida e excesso de álcool, ocorre conforme mecanismo apresentado na Figura 24.

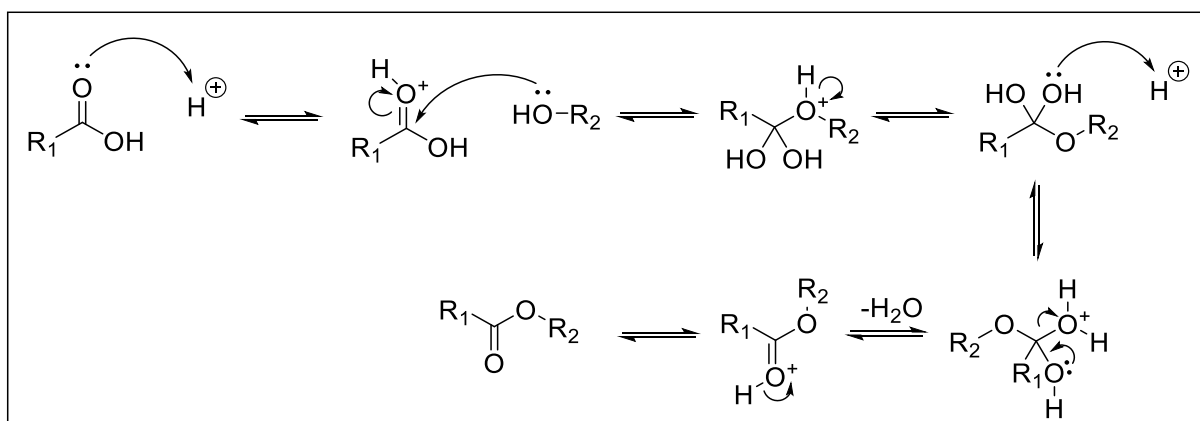


Figura 24. Mecanismo da esterificação de Fischer. Fonte: CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012

A caracterização química do composto foi realizada por espectroscopia de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , apresentados nas Figuras A10 e A11 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos do composto 17 estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto intermediário 17 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	125,62
2	7,32 (1H; d; J_{meta} = 1,8 Hz)	111,16
3	-	147,95
4	-	149,34
5	6,79 (1H; d; J_{orto} = 8,2 Hz)	114,54
6	7,11 (1H; dd; J_{meta} = 1,8 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	123,13
7	7,57 (1H; d; J_{ins} =15,9)	145,07
8	6,48 (1H; d; J_{ins} = 15,9)	115,52
9	-	166,76
10	4,13 (2H; t)	65,62
11	3,63 (2H; q)	59,15
12	3,81 (3H; s)	55,70

Fonte: dados da pesquisa

A formação do produto pode ser observada pelos deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos H₂, H₅ e H₆ (Figura 23) de δ 7,32, δ 6,79 e δ 7,11, respectivamente, e também dos hidrogênios H₇ e H₈, com deslocamentos em δ 7,57 e δ 6,48, referentes a insaturação alifática presente na molécula. Também é possível observar os hidrogênios da cadeia alifática, H₁₀ e H₁₁, abaixo de δ 4,20. Já no espectro de RMN de ^{13}C , pode-se destacar o carbono referente a carbonila do grupamento éster em δ 166,76 e dos carbonos alifáticos C₁₂ (Figura 23) referente a metila da metoxila proveniente do ácido ferúlico em δ 55,70, e dos carbonos alifáticos dos espaçadores, C₁₀ e C₁₁, com deslocamentos químicos em δ 65,62 e δ 59,15, respectivamente.

5.7 Síntese do composto intermediário 3-hidroxi-propil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (18)

O composto intermediário 18 [3-hidroxi-propil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato], com massa molecular de 252,27, foi obtido como um sólido amorfo bege com

rendimento de 57,0% e faixa de fusão entre 99,5 – 102,7°C. A estrutura química do composto 17 esta apresentada na Figura 25.

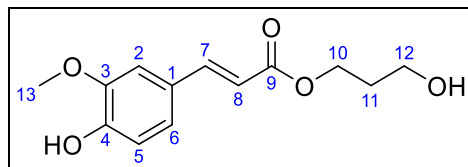


Figura 25. Estrutura química do composto intermediário 18

A formação do composto intermediário 18 ocorreu pelo acoplamento do ácido ferúlico (16) com 1,3-propanodiol (5) para a formação do éster. Foram avaliadas duas diferentes metodologias para a síntese, conforme mostra a Figura 14.

Na primeira rota foi utilizado agente acoplante EDC e DMAP como catalisador. Assim como no caso do composto 17, o rendimento obtido com esta metodologia foi baixo (inferior a 20%). Com a experiência obtida com composto 17, foi utilizado a última metodologia para este composto, utilizando o 1,3-propanodiol como solvente e o PTSA como catalisador, conforme mecanismo apresentado anteriormente na Figura 23. Os resultados sintéticos apresentados anteriormente foram obtidos desta última rota de síntese.

A caracterização química do composto foi realizada por espectroscopia de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , apresentados nas Figuras A12 e A13 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos do composto 18 estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto intermediário 18 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	125,62
2	7,32 (1H; d; J_{meta} = 1,8 Hz)	111,16
3	-	147,95
4	-	149,33
5	6,79 (1H; d; J_{orto} = 8,2 Hz)	114,55
6	7,11 (1H; dd; J_{meta} = 1,8 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	123,18
7	7,54 (1H; d; J_{ins} =15,9)	144,97
8	6,47 (1H; d; J_{ins} = 15,9)	115,50
9	-	166,78
10	4,18 (2H; t)	61,18
11	1,78 (2H; qui)	31,70
12	3,51 (2H; q)	57,33
13	3,81 (3H; s)	55,70

Fonte: dados da pesquisa

Observou-se a formação do produto desejado pela presença dos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios aromáticos H₂, H₅ e H₆ (Figura 25), assim como dos hidrogênios H₇ e H₈, referentes as insaturações alifáticas com deslocamentos em δ 7,54 e δ 6,47, respectivamente. Também é possível observar a presença dos hidrogênios alifáticos H₁₀, H₁₁ e H₁₂ abaixo de δ 4,20. No espectro de RMN de ^{13}C , pode-se destacar o carbono referente a carbonila do grupamento éster em δ 166,78 e dos carbonos alifáticos C₁₃, referente a metila da metoxila em δ 55,70, e dos C₁₀, C₁₁ e C₁₂, referentes a cadeia alifática, com deslocamentos químicos em δ 61,18, δ 31,70 e δ 57,33, respectivamente.

5.8 Síntese do composto final 2-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (19; Lapdesf FTD-AO 1)

O composto final Lapdesf FTD-AO 1 (2-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato), com massa molecular de 487,46, foi obtido como um sólido amorfo amarelo claro com rendimento de 46% e faixa de fusão

de 170,0 – 173,8°C. A estrutura química do composto 19 está apresentada na Figura 26.

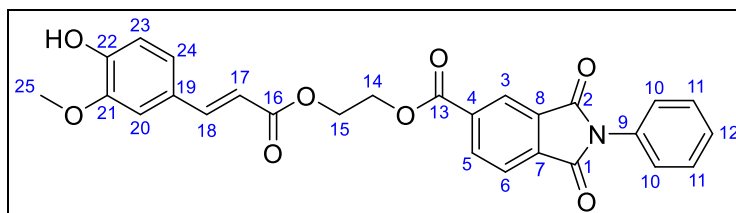


Figura 26. Estrutura química do composto final 19

O produto foi obtido através da reação do intermediário 17 com o derivado intermediário 3, utilizando o agente acoplante EDC e DMAP como catalisador. O mecanismo proposto para a formação do composto foi apresentado anteriormente, conforme Figura 19.

A caracterização química do composto 19 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A14 - A17 (Apêndice), sendo que todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 19 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	166,18
2	-	166,07
3	8,47 (1H; dd; J_{para} = 0,7 Hz; J_{meta} = 1,5 Hz)	123,84
4	-	132,39
5	8,60 (1H; dd; J_{meta} = 1,5 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	136,09
6	8,18 (1H; dd; J_{para} = 0,7; J_{orto} = 7,8 Hz)	124,20
7	-	135,93
8	-	133,67
9	-	131,71
10	7,55 – 7,57 (2H; m)	128,95
11	7,46 – 7,50 (3H; m)	127,32
12	7,46 – 7,50 (3H; m)	128,33
13	-	162,57
14	3,66 (2H; q)	59,07
15	4,18 (2H; t)	65,95
16	-	166,33
17	6,79 (1H; d; J_{ins} = 16,0 Hz)	118,62
18	7,71 (1H; d; J_{ins} = 16,0 Hz)	143,82
19	-	133,83
20	7,63 (1H; t; J_{meta} = 1,1 Hz)	112,11
21	-	151,04
22	-	140,70
23	7,39 – 7,42 (2H; m)	121,73
24	7,39 – 7,42 (2H; m)	123,31
25	3,85 (3H; s)	56,23

Fonte: dados da pesquisa

Analisando o espectro de RMN de ^1H , podem ser identificados os hidrogênios aromáticos do anel ftalimídico H_3 , H_5 e H_6 (Figura 26), com deslocamentos químicos em δ 8,47, δ 8,60 e δ 8,18, respectivamente. Também é possível a caracterização dos hidrogênios da fenila (H_{10} – H_{12}) nos deslocamentos de δ 7,46 - 7,57. Além disso, observou-se os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios da insaturação (H_{17} e H_{18}) em δ 6,78 e δ 7,71 e também do grupo metoxila em δ 3,85, indicando a formação do produto desejado. Ainda, pode-se destacar para a formação do produto os deslocamentos químicos dos H_{14} e H_{15} (3,66 e 4,18 ppm, respectivamente), que

apresentaram uma alteração em relação aos mesmos hidrogênios no composto intermediário 17, H₁₁ (3,63 ppm) e H₁₀ (4,13 ppm), respectivamente.

No espectro de RMN de ¹³C foi possível observar os sinais referentes a todos os carbonos do produto. Destaca-se para comprovar a formação do produto os carbonos carbonílicos C₁, C₂, C₁₃ e C₁₆, com deslocamentos em δ 166,18, δ 166,07, δ 162,57 e δ 166,33, respectivamente. Também foi possível observar os carbonos alifáticos, com deslocamentos químicos abaixo de δ70.

O espectro de IV está apresentado na Figura A18 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Bandas dos grupamentos químicos do composto 19

Grupamento	nº de onda (cm⁻¹)
v (O–H)	3368
v (=C–H) _{aromático}	3067
v (C–H) _{alifático}	2945
v (C=O) _{éster}	1749
v (C=O) _{imida}	1713
v (C=C) _{alifático}	1597
v (C=C) _{aromático}	1504; 1458

Fonte: dados da pesquisa

5.9 Síntese do composto final 3-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-propil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (20; Lapdesf FTD-AO 2)

O composto final Lapdesf FTD-AO 2 [3-((3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilóil)oxi)-propil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato], com massa molecular de 501,49, foi obtido como um sólido amorfo amarelo claro com rendimento de 42% e faixa de fusão entre 168,9 – 171,6°C. A estrutura química do composto 20 esta apresentada na Figura 27.

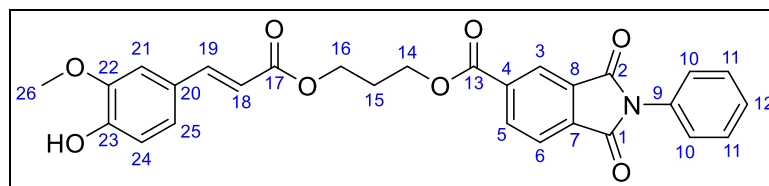


Figura 27. Estrutura química do composto final 20

O composto foi obtido através da reação de esterificação entre o intermediário 18 e o derivado intermediário 3, utilizando como agente acoplante EDC e como catalisador DMAP, seguindo o mesmo procedimento descrito para o composto final Lapdesf FTD-AO 2. O mecanismo proposto para reação está apresentado na Figura 19.

A caracterização química do composto 20 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A19 – A22 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C do composto final 20 (DMSO)

Posição	δ ¹ H (ppm)	δ ¹³ C (ppm)
1	-	166,18
2	-	166,07
3	8,47 (1H; d; J_{meta} = 1,5 Hz)	123,83
4	-	132,38
5	8,59 (1H; dd; J_{meta} = 1,5 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	136,09
6	8,18 (1H; d; J_{orto} = 7,8)	124,20
7	-	135,93
8	-	133,83
9	-	131,71
10	7,54 – 7,58 (2H; m)	128,95
11	7,46 – 7,50 (3H; m)	127,32
12	7,46 – 7,50 (3H; m)	128,33
13	-	162,57
14	3,53 (2H; q)	57,27
15	1,81 (2H; qui)	31,62
16	4,23 (2H; t)	61,54
17	-	166,34
18	6,77 (1H; d; J_{ins} = 16,0 Hz)	118,82
19	7,69 (1H; d; J_{ins} = 16,0 Hz)	143,72
20	-	133,67
21	7,63 (1H; d; J_{meta} = 1,6 Hz)	112,12
22	-	151,03
23	-	140,69
24	7,38 – 7,42 (2H; m)	121,76
25	7,38 – 7,42 (2H; m)	123,28
26	3,85 (3H; s)	56,24

Fonte: dados da pesquisa

Observou-se na análise do espectro de RMN de ¹H os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios aromáticos do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 27), em δ 8,47, δ 8,59 e δ 8,18, respectivamente. Os hidrogênios da fenila (H₁₀ a H₁₂) apresentaram deslocamentos entre δ 7,46 - 7,58. Ainda, pode-se destacar para a formação do produto os deslocamentos químicos dos H₁₄, H₁₅ e H₁₆ (3,53, 1,81 e 4,23 ppm, respectivamente), que apresentaram uma pequena alteração em relação aos mesmos hidrogênios no composto intermediário 18, H₁₂ (3,51 ppm), H₁₁ (1,78 ppm) e H₁₀ (4,18 ppm), respectivamente. Também foram identificados deslocamentos

referentes aos hidrogênios da insaturação alifática em δ 6,78 e δ 7,71, assim como dos hidrogênios do grupo metoxila, em δ 3,85.

Já no espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os sinais referentes a todos os carbonos do produto desejado. Destacam-se para comprovar a formação do produto os carbonos carbonílicos C_1 , C_2 , C_{13} e C_{17} , com deslocamentos em δ 166,18, δ 166,07, δ 162,57 e δ 166,34 ppm, respectivamente. Também foi possível observar os carbonos alifáticos, com deslocamentos químicos abaixo de δ 70.

O espectro de IV está apresentado na Figura A23 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12. Bandas dos grupamentos químicos do composto 20

Grupamento	nº de onda (cm^{-1})
ν (O–H)	3480
ν (=C–H) _{aromático}	3067
ν (C–H) _{alifático}	2959
ν (C=O) _{éster}	1751
ν (C=O) _{imida}	1713
ν (C=C) _{alifático}	1597
ν (C=C) _{aromático}	1506; 1458

Fonte: dados da pesquisa

5.10 Síntese do composto final 2-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (22; Lapdesf FTD-AO 3)

O composto final Lapdesf FTD-AO 3 [2-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)etil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato], apresenta massa molecular de 499,60 e foi obtido como um sólido amorfo bege com rendimento de 30,9% e faixa de fusão de 74,5 – 78,6°C °C. A estrutura química do composto 22 esta apresentada na Figura 28.

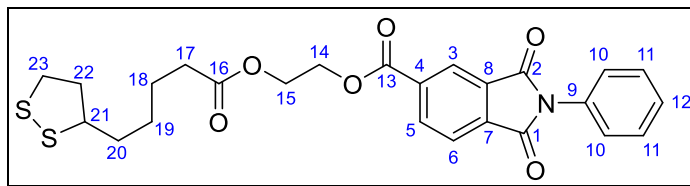


Figura 28. Estrutura química do composto final 22

O composto 22 foi obtido através do acoplamento do derivado intermediário 6 com o ácido lipóico (21), utilizando o agente acoplante EDC e DMAP como catalisador. O mecanismo proposto para formação do composto está apresentado na Figura 19.

A caracterização química do composto 22 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A24 – A27 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 22 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	166,20
2	-	166,16
3	8,33 (1H; dd; J_{para} = 0,7 Hz; J_{meta} = 1,5 Hz)	123,36
4	-	135,38
5	8,43 (1H; dd; J_{meta} = 1,5 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	135,47
6	8,13 (1H; dd; J_{para} = 0,7 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	124,02
7	-	132,19
8	-	134,88
9	-	131,70
10	7,53 – 7,57 (2H; m)	128,94
11	7,45 – 7,48 (3H; m)	127,31
12	7,45 – 7,48 (3H; m)	128,31
13	-	164,22
14	4,56 – 4,58 (2H; m)	63,82
15	4,43 – 4,45 (2H; m)	61,58
16	-	172,80
17	2,32 – 2,37 (3H; m)	33,27
18	1,45 – 1,57 (3H; m)	24,25
19	1,30 – 1,36 (2H; m)	28,04
20	a) 1,45 – 1,57 (3H; m) b) 1,57 – 1,65 (1H; m)	34,00
21	3,47 – 3,52 (1H; m)	56,02
22	a) 1,77 – 1,83 (1H; m) b) 2,32 – 2,37 (3H; m)	39,87
23	3,04 – 3,15 (2H; m)	38,06

Fonte: dados da pesquisa

A formação do produto pode ser verificada pela presença dos deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 28) em δ 8,33, δ 8,43 e δ 8,13 ppm, e também dos hidrogênios H₁₄ e H₁₅, com deslocamentos entre δ 4,56 – 4,58 ppm e δ 4,43 – 4,45 ppm, referente a cadeia alifática do espaçador utilizado. Pode-se destacar a alteração do deslocamento do H₁₅ em relação ao intermediário 6 (4,01 – 4,04 ppm), comprovando a formação do grupamento éster. Além disso, também é possível observar a presença dos hidrogênios alifáticos H₁₇ a H₂₃ na região abaixo de δ 4,00, indicando a formação do produto desejado.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C foi possível identificar os sinais referentes a todos os carbonos do produto. Destaca-se para comprovar a formação do produto os carbonos carbonílicos C_1 , C_2 , C_{13} e C_{16} , com deslocamentos em δ 166,20, δ 166,16, δ 164,22 e δ 172,80, respectivamente. Apesar dos C_1 e C_2 serem considerados simétricos, eles apresentam um pequeno deslocamento entre eles. Esse deslocamento pode ser atribuído a influência de atrair elétrons do grupamento éster formado. Também foi possível observar os carbonos alifáticos, com deslocamentos químicos abaixo de δ 70.

O espectro de IV está apresentado na Figura A28 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14. Bandas dos grupamentos químicos do composto 22

Grupamento	nº de onda (cm^{-1})
ν (C-H) _{aromático}	3057
ν (C-H) _{alifático}	2928
ν (C=O) _{éster}	1732
ν (C=O) _{imida}	1715
ν (C=C) _{aromático}	1504; 1454

Fonte: dados da pesquisa

5.11 Síntese do composto final 3-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)propil-1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato (23; Lapdesf FTD-AO 4)

O composto final Lapdesf FTD-AO 4 (3-((5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoil)oxi)propil 1,3-dioxo-2-fenilisoindolina-5-carboxilato), com massa molecular de 513,62, foi obtido como um sólido amorfo bege com rendimento de 27,6% e faixa de fusão entre 83,2 – 84,7°C °C. A estrutura química do composto 23 esta apresentada na Figura 29.

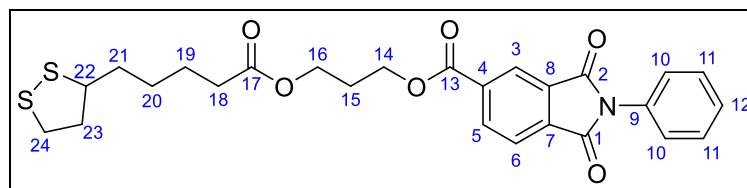


Figura 29. Estrutura química do composto final 23

A síntese deste composto foi realizada através do acoplamento do intermediário 7 com o ácido lipóico (21), utilizando o agente acoplante EDC e como catalisador da reação DMAP, seguindo a mesma metodologia descrita para o composto Lapdesf FTD-AO 3. O mecanismo proposto para a formação do composto está apresentado na Figura 19.

A caracterização química do composto 23 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A29 – A32 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 23 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	166,24
2	-	166,21
3	8,35 (1H; dd; J_{para} = 0,7 Hz; J_{meta} = 1,5 Hz)	123,33
4	-	135,29
5	8,45 (1H; dd; J_{meta} = 1,5 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	135,46
6	8,12 (1H; dd; J_{para} = 0,7 Hz; J_{orto} = 7,8 Hz)	123,99
7	-	132,17
8	-	135,16
9	-	131,72
10	7,53 – 7,57 (2H; m)	128,94
11	7,45 – 7,48 (3H; m)	127,34
12	7,45 – 7,48 (3H; m)	128,30
13	-	164,31
14	4,43 (2H, t)	62,80
15	2,10 (2H; qui)	27,50
16	4,21 (2H; t)	60,89
17	-	172,85
18	2,30 (2H, t)	33,32
19	1,48 – 1,57 (3H; m)	24,22
20	1,31 – 1,38 (2H)	28,11
21	a) 1,48 – 1,57 (3H; m) b) 1,60 – 1,66 (1H; m)	34,01
22	3,55 – 3,59 (1H; m)	56,06
23	a) 1,81 – 1,86 (1H; m) b) 2,35 – 2,41 (1H; m)	39,90
24	3,07 – 3,18 (2H; m)	38,10

Fonte: dados da pesquisa

Pela análise do espectro de RMN de ^1H , a formação do produto pode ser observada pela presença dos hidrogênios aromáticos do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 29) com deslocamentos químicos em δ 8,35, δ 8,45 e δ 8,12 ppm, respectivamente. Também é possível identificar os hidrogênios da cadeia alifática do espaçador H₁₄, H₁₅ e H₁₆, com deslocamentos de δ 4,43, δ 2,10 e δ 4,21, além dos demais hidrogênios alifáticos da molécula, na região abaixo de δ 4,00. Destaca-se o deslocamento do H₁₆, que apresentou alteração em relação ao seu intermediário 7 (3,82 ppm) devido a formação do grupo éster.

Já no espectro de RMN de ^{13}C , foram atribuídos todos os sinais referentes aos carbonos da molécula. Destacam-se para comprovar a formação do produto os carbonos carbonílicos C_1 , C_2 , C_{13} e C_{17} , com deslocamentos em δ 166,24, δ 166,21, δ 164,31 e δ 172,85, respectivamente, assim como os carbonos alifáticos, com deslocamentos químicos abaixo de δ 70.

O espectro de IV está apresentado na Figura A28 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16. Bandas dos grupamentos químicos do composto 23

Grupamento	nº de onda (cm^{-1})
ν ($=\text{C}-\text{H}$) _{aromático}	3063
ν ($\text{C}-\text{H}$) _{alifático}	2924
ν ($\text{C}=\text{O}$) _{éster}	1738
ν ($\text{C}=\text{O}$) _{imida}	1720
ν ($\text{C}=\text{C}$) _{aromático}	1506; 1489

Fonte: dados da pesquisa

5.12 Síntese do composto final N-(1,3-dioxo-2-fenilisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida (24; Lapdesf FTD-AO 5)

O composto final Lapdesf FTD-AO 5 [N-(1,3-dioxo-2-fenilisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida], com massa molecular de 414,42, foi obtido como um sólido amorfo amarelo com rendimento de 23,4% e faixa de fusão entre 197.6 – 202.2°C. A estrutura química do composto 24 esta apresentada na Figura 30.

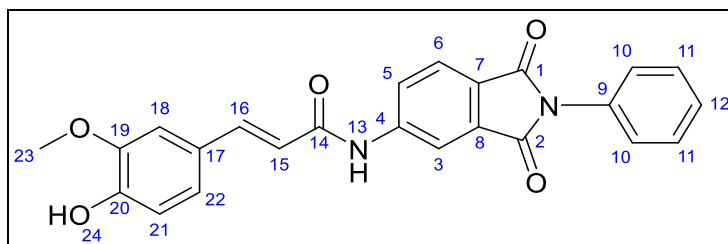


Figura 30. Estrutura química do composto final 24

A síntese deste composto foi realizada através do acoplamento do intermediário 12 com o ácido ferúlico (16), através da formação de um intermediário cloreto de acila, utilizando como agente de cloração PCl_3 . O mecanismo de formação de formação do composto através da formação do intermediário reativo cloreto de acila está apresentado na Figura 31.

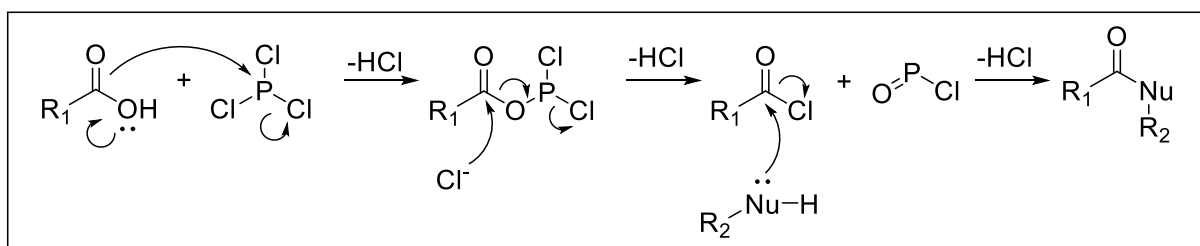


Figura 31. Mecanismo proposto para a formação dos compostos finais através da formação de um intermediário cloreto de acila. Fonte: (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012; NAGY et al., 2017)

A caracterização química do composto 24 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A34 – A37 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 24 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	166,86
2	-	166,65
3	8,41 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{meta} =1,9 Hz)	112,96
4	-	145,29
5	8,00 (1H; dd; J_{meta} =1,9 Hz; J_{orto} =8,2 Hz)	123,57
6	7,94 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	124,74
7	-	133,15
8	-	125,07
9	-	132,03
10	7,51 – 7,55 (2H; m)	128,85
11	7,42 – 7,46 (3H; m)	127,34
12	7,42 – 7,46 (3H; m)	127,98
13	10,77 (1H; s)	-
14	-	164,81
15	7,60 (1H; d; J_{ins} = 15,6)	142,32
16	6,66 (1H; d; J_{ins} = 15,6)	117,86
17	-	125,89
18	7,24 (1H; d; J_{meta} = 2,0 Hz)	111,00
19	-	147,93
20	-	149,11
21	6,84 (1H; d; J_{orto} = 8,2 Hz)	115,75
22	7,12 (1H; dd; J_{meta} =2,0 Hz; J_{orto} =8,2 Hz)	122,45
23	3,84 (3H; s)	55,55
24	9,63 (1H; s)	-

Fonte: dados da pesquisa

No espectro de RMN de ^1H foi possível identificar o hidrogênio da ligação amida H_{13} , em δ 10,77, assim como os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do anel ftalimídico H_3 , H_5 e H_6 (Figura 30) em δ 8,41, δ 8,00 e δ 7,94, respectivamente. Além disso, pode ser destacado também os hidrogênios da insaturação alifática da molécula (H_{15} e H_{16}), com deslocamentos em δ 7,60 e δ 6,66, e do grupo metoxila (H_{23}), em δ 3,84.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os deslocamentos químicos referente a todos os carbonos do derivado 24. Podem ser destacados para caracterizar a formação do produto os carbonos carbonílicos C_{14} , C_1 e C_2 (Figura 30) com deslocamentos químicos em δ 164,81, δ 166,86 e δ 166,65, respectivamente.

Além disso, foi possível identificar a presença de apenas um carbono alifático na molécula, referente a metoxila, no deslocamento de δ 55,55.

O espectro de IV está apresentado na Figura A38 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18. Bandas dos grupamentos químicos do composto 23

Grupamento	nº de onda (cm⁻¹)
v (-OH)	3503
v (-NH-)amida	3370
v (C=O)amida	1688
v (C=O)imida	1708
v (C=C)alifática	1616
v (C=C)aromática	1593; 1516

Fonte: dados da pesquisa

5.13 Síntese do composto N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida (25; Lapdesf FTD-AO 6)

O composto final Lapdesf FTD-AO 6 [N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisoindolin-5-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilamida], com massa molecular de 498,58, foi obtido como um sólido amorfo amarelo com rendimento de 19,0% e faixa de fusão entre 233.3 – 236.7°C. A estrutura química do composto 25 esta apresentada na Figura 32.

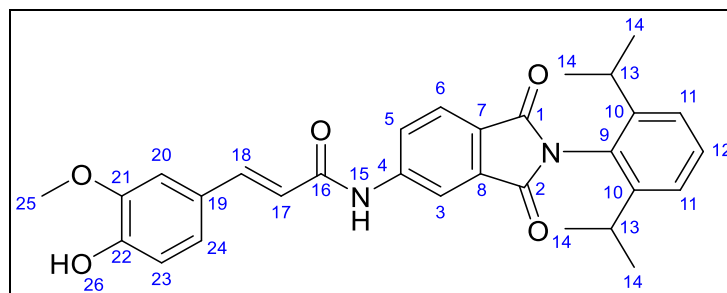


Figura 32. Estrutura química do composto final 25

A síntese deste composto 25 foi realizada através do acoplamento do intermediário 13 com o ácido ferúlico (16), através da formação de um intermediário cloreto de acila, utilizando como agente de cloração PCl_3 . O mecanismo de formação de formação do composto através da formação do intermediário reativo cloreto de acila está apresentado na Figura 31.

A caracterização química do composto 25 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A39 – A42 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 25 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	167,74
2	-	167,52
3	8,45 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{meta} = 1,8 Hz)	113,34
4	-	145,71
5	8,04 (1H; dd; J_{meta} = 1,8 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	123,94
6	7,99 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	125,24
7	-	124,51
8	-	132,73
9	-	127,07
10	-	147,03
11	7,34 (2H; d; J_{orto} = 7,8 Hz)	123,83
12	7,48 (1H; t; J_{orto} = 7,8 Hz)	130,04
13	2,66 (2H; hept)	28,74
14	1,08 (12H; dd)	23,67
15	10,82 (1H; s)	-
16	-	164,85
17	7,62 (1H; d; J_{ins} = 15,6 Hz)	142,44
18	6,68 (1H; d; J_{ins} = 15,6 Hz)	117,79
19	-	125,86
20	7,25 (1H; d; J_{meta} = 2,0 Hz)	111,00
21	-	147,93
22	-	149,13
23	6,85 (1H; d; J_{orto} = 8,2 Hz)	115,75
24	7,13 (1H; dd; J_{meta} = 2,0 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	122,49
25	3,84 (3H; s)	55,54
26	9,64 (1H; s)	-

Fonte: dados da pesquisa

Pela análise do espectro de RMN de ^1H foi possível identificar o hidrogênio da ligação amida H_{15} , em δ 10,82, assim como observar os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do anel ftalimídico H_3 , H_5 e H_6 (Figura 32) em δ 8,45, δ 8,04 e δ 7,99, respectivamente. Foram identificados os deslocamentos químicos referentes ao grupo isopropila (H_{13} e H_{14}) em δ 2,66 e δ 1,08. Além disso, pode ser destacado também os hidrogênios da insaturação alifática da molécula (H_{17} e H_{18}), com deslocamentos em δ 7,62 e δ 6,68, respectivamente, e do grupo metoxila (H_{25}), em δ 3,84.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os deslocamentos químicos referente a todos os carbonos do derivado 25. Podem ser destacados para caracterizar a formação do produto os carbonos carbonílicos C_{16} , C_1 e C_2 (Figura 32) com deslocamentos químicos em δ 164,85, δ 167,74 e δ 167,52, respectivamente. Além disso, foi possível identificar a presença dos carbonos alifáticos da molécula, abaixo de δ 60.

O espectro de IV está apresentado na Figura A38 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20. Bandas dos grupamentos químicos do composto 25

Grupamento	nº de onda (cm^{-1})
ν (-OH)	3529
ν (C=O) _{amida}	1716
ν (C=O) _{imida}	1772
ν (C=C) _{aromática}	1510; 1491

Fonte: dados da pesquisa

5.14 Síntese do composto final 2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato (26; Lapdesf FTD-AO 7)

O composto final Lapdesf FTD-AO 7 [2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-(E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato], com massa molecular de 499,56, foi obtido como um sólido amorfo amarelo com rendimento de 8,9% e faixa de fusão entre 205.2 – 208.1°C. A estrutura química do composto 26 esta apresentada na Figura 33.

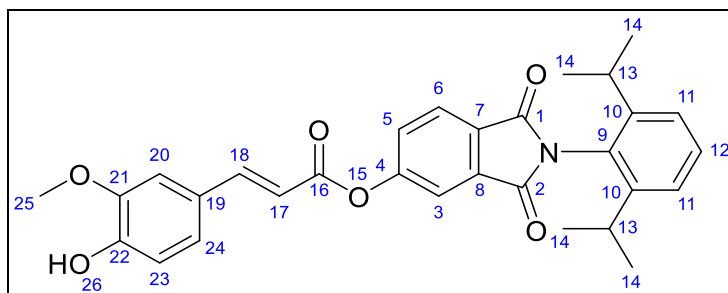


Figura 33. Estrutura química do composto final 26

O composto 26 foi obtido através do acoplamento do intermediário 15 com o ácido ferúlico (16), através da formação de um intermediário cloreto de acila, utilizando como agente de cloração PCl_3 . O mecanismo de formação de formação do composto através da formação do intermediário reativo cloreto de acila está apresentado na Figura 31.

A caracterização química do composto foi realizada por espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , apresentados nas Figuras A26 e A27 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Deslocamentos químicos de RMN 1H e 13C do composto final 26 (DMSO)

Posição	δ ¹ H (ppm)	δ ¹³ C (ppm)
1	-	167,10
2	-	166,95
3	7,92 (1H; dd; J_{para} = 0,5 Hz; J_{meta} = 2,0 Hz)	112,59
4	-	155,84
5	7,77 (1H; dd; J_{meta} = 2,0 Hz; J_{orto} = 8,1 Hz)	126,77
6	8,11 (1H; dd; J_{para} = 0,5 Hz; J_{orto} = 8,1 Hz)	125,31
7	-	124,03
8	-	128,52
9	-	130,16
10	-	146,98
11	7,35 (2H; d; J = 8,0 Hz)	132,85
12	7,51 (1H; d; J = 8,0 Hz)	128,05
13	2,70 (2H; hept)	28,67
14	1,09 (12H; d)	23,65
15	-	-
16	-	164,86
17	6,79 (1H; d; J_{ins} =15,8 Hz)	118,00
18	7,84 (1H; d; J_{ins} =15,8 Hz)	148,03
19	-	125,58
20	7,47 (1H; d; J_{meta} = 2,0 Hz)	111,58
21	-	148,16
22	-	150,11
23	6,85 (1H; d; J_{orto} = 8,2 Hz)	115,58
24	7,26 (1H; dd; J_{meta} = 2,0 Hz; J_{orto} = 8,2 Hz)	123,85
25	3,85 (3H; s)	55,76
26	9,76 (1H; s)	-

Fonte: dados da pesquisa

Foi possível identificar pela análise do espectro de RMN de 1H os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 33) em δ 7,92, δ 7,77 e δ 8,11, respectivamente. Foram identificados também os deslocamentos químicos referentes ao grupo isopropila (H₁₃ e H₁₄) em δ 2,70 e δ 1,09. Além disso, podem ser destacado os hidrogênios da insaturação alifática da molécula (H₁₇ e H₁₈), com deslocamentos em δ 6,79 e δ 7,84, e do grupo metoxila (H₂₅), em δ 3,85.

Pela análise do espectro de RMN de 13C foi possível observar os deslocamentos químicos referente a todos os carbonos do derivado formado. Podem

ser destacados para caracterizar a formação do produto os carbonos carbonílicos C₁₆, C₁ e C₂ (Figura 33) com deslocamentos químicos em δ 164,86, δ 167,09 e δ 166,95, respectivamente. Além disso, foi possível identificar a presença dos carbonos alifáticos da molécula em valores abaixo de δ 60.

O espectro de IV está apresentado na Figura A46 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 22.

Tabela 22. Bandas dos grupamentos químicos do composto 26

Grupamento	nº de onda (cm⁻¹)
v (-OH)	3487
v (C=O) _{éster}	1740
v (C=O) _{imida}	1716
v (C=C) _{alifática}	1603
v (C=C) _{aromática}	1514; 1464

Fonte: dados da pesquisa

5.15 Síntese do composto final N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il)-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanamida (27; Lapdesf FTD-AO 8)

O composto final Lapdesf FTD-AO 8 [N-(2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il)-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanamida], com massa molecular de 510,71, foi obtido como um sólido amorfo amarelo com rendimento de 34,2% e faixa de fusão entre 141,0 – 152,0°C. A estrutura química do composto 27 esta apresentada na Figura 34.

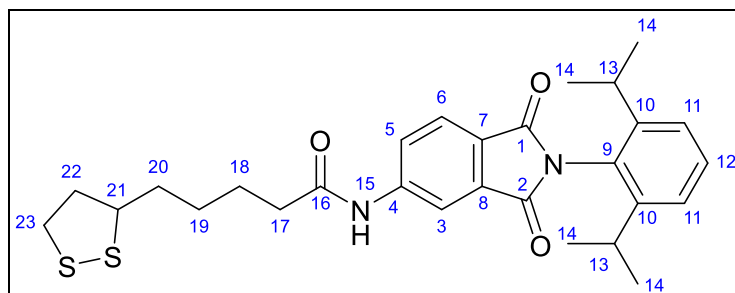


Figura 34. Estrutura química do composto final 27

Assim como os derivados de ácido ferúlico, a síntese do composto 27 foi realizada através do acoplamento do intermediário 13 com o ácido lipóico (21), através da formação de um intermediário cloreto de acila, utilizando como agente de cloração PCl_3 . O mecanismo de formação de formação do composto através da formação do intermediário reativo cloreto de acila está apresentado na Figura 31.

A caracterização química do composto 27 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A47 – A50 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 27 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	167,71
2	-	167,51
3	8,34 – 8,35 (1H; m)	113,26
4	-	145,41
5	7,93 – 7,97 (2H; m)	123,32
6	7,93 – 7,97 (2H; m)	125,18
7	-	132,67
8	-	124,51
9	-	127,06
10	-	147,01
11	7,33 (2H; d; $J_{orto}= 7,8$ Hz)	123,32
12	7,48 (1H; t; $J_{orto}= 7,8$ Hz)	130,03
13	2,64 (2H; hept)	28,74
14	1,07 (12H; dd)	23,66
15	10,62 (1H, s)	-
16	-	172,26
17	2,40 – 2,45 (3H; m)	36,34
18	1,56 – 1,75 (4H, m)	24,67
19	1,39 – 1,47 (2H, m)	28,24
20	1,56 – 1,75 (4H, m)	34,17
21	3,62 – 3,66 (1H; m)	56,09
22	a) 2,40 – 2,45 (3H, m) b) 1,86 – 1,91 (1H, m)	39,95
23	3,10 – 3,21 (2H, m)	38,14

Fonte: dados da pesquisa

Na análise do espectro de RMN de ^1H foi possível identificar o deslocamento químico referente ao hidrogênio do grupo amida em δ 10,62. Os hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 34) foram identificados com deslocamentos em δ 8,34 – 8,35 e δ 7,93 – 7,97 e os deslocamentos químicos referentes ao grupo isopropila (H₁₃ e H₁₄) observados em δ 2,64 e δ 1,07. Além disso, podem ser destacado os hidrogênios alifáticos da molécula (H₁₇ a H₂₃), com deslocamentos entre δ 1,38 – 3,24, que fazem parte da porção da molécula proveniente do ácido lipóico.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os deslocamentos químicos referente a todos os carbonos do derivado formado. Podem ser destacados para caracterizar a formação do produto os carbonos carbonílicos C₁₆, C₁ e C₂ (Figura

34) com deslocamentos químicos em δ 172,26, δ 167,71 e δ 167,51, respectivamente. Além disso, foi possível identificar a presença dos carbonos alifáticos da molécula com valores abaixo de δ 60.

O espectro de IV está apresentado na Figura A46 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 24.

Tabela 24. Bandas dos grupamentos químicos do composto 27

Grupamento	nº de onda (cm⁻¹)
v (-NH-)amida	3362
v (=C-H)aromático	3069
v (-C-H)alifática	2965
v (C=O)amida	1612
v (C=O)imida	1717
v (C=C)aromática	1541; 1489

Fonte: dados da pesquisa

5.16 Síntese do composto final 2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanoato (28; Lapdesf FTD-AO 9)

O composto final Lapdesf FTD-AO 9 [2-(2,6-diisopropilfenil)-1,3-dioxoisindolin-5-il-5-(1,2-ditiolan-3-il) pentanoato], com massa molecular de 511,70, foi obtido como um sólido amorfo amarelo com rendimento de 17,3% e faixa de fusão entre 135.7 – 139.6°C. A estrutura química do composto 28 esta apresentada na Figura 35.

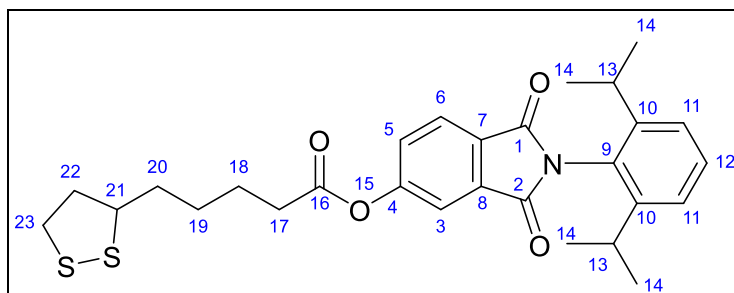


Figura 35. Estrutura química do composto final 28

O composto 28 foi obtido através do acoplamento do intermediário 15 com o ácido lipóico (21), através da formação de um intermediário cloreto de acila, utilizando como agente de cloração PCl_3 . O mecanismo de formação de formação do composto através da formação do intermediário reativo cloreto de acila está apresentado na Figura 31.

A caracterização química do composto 27 foi realizada por espectroscopia de RMN (^1H e ^{13}C), assim como por espectroscopia de infravermelho (IV). Os espectros de RMN estão apresentados nas Figuras A52 e A53 (Apêndice). Todos os deslocamentos químicos estão apresentados na Tabela 25.

Tabela 25. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C do composto final 28 (DMSO)

Posição	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	-	167,06
2	-	166,91
3	7,86 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{meta} = 2,0 Hz)	118,01
4	-	155,64
5	7,69 (1H; dd; J_{meta} = 2,0 Hz; J_{orto} = 8,1 Hz)	126,75
6	8,09 (1H; dd; J_{para} = 0,6 Hz; J_{orto} = 8,1 Hz)	123,85
7	-	128,48
8	-	125,61
9	-	130,12
10	-	146,97
11	7,35 (2H; d; J_{orto} = 7,7 Hz)	132,84
12	7,47 – 7,52 (1H, m)	128,18
13	2,63 – 2,72 (4H, m)	28,66
14	1,08 (12H; d)	23,63
15	-	-
16	-	171,39
17	2,63 – 2,73 (4H; m)	34,00
18	1,59 – 1,79 (4H; m)	23,89
19	1,45 – 1,58 (2H, m)	27,93
20	1,59 – 1,79 (4H; m)	33,26
21	3,62 – 3,72 (1H; m)	56,00
22	a) 2,39 – 2,47 (1H, m) b) 1,85 – 1,96 (1H; m)	33,26
23	3,09 – 3,25 (2H; m)	34,00

Fonte: dados da pesquisa

Na análise do espectro de RMN de ^1H foi possível identificar os hidrogênios do anel ftalimídico H₃, H₅ e H₆ (Figura 35) com deslocamentos em δ 7,86, δ 7,69 e δ 8,09, respectivamente. Também foram identificados os deslocamentos químicos referentes ao grupo isopropila (H₁₃ e H₁₄) observados entre δ 2,63 – 2,72 e δ 1,08. Além disso, podem ser destacado os hidrogênios alifáticos da molécula (H₁₇ a H₂₃), com deslocamentos entre δ 1,44 – δ 3,62, que fazem parte da porção da molécula proveniente do ácido lipóico.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C foi possível observar os deslocamentos químicos referente a todos os carbonos do derivado formado. Podem ser destacados para caracterizar a formação do produto os carbonos carbonílicos C₁₆, C₁ e C₂ (Figura

35) com deslocamentos químicos em δ 171,39, δ 167,06 e δ 166,91, respectivamente. Além disso, foi possível identificar a presença dos carbonos alifáticos da molécula, abaixo de δ 60.

O espectro de IV está apresentado na Figura A54 e as bandas de cada grupamento químico com seu respectivo número de onda estão apresentadas na Tabela 26.

Tabela 26. Bandas dos grupamentos químicos do composto 28

Grupamento	nº de onda (cm⁻¹)
v (=C-H) _{aromático}	3075
v (-C-H) _{alifática}	2963
v (C=O) _{éster}	1778
v (C=O) _{imida}	1717

Fonte: dados da pesquisa

5.17 Determinação do coeficiente de partição (LogP_{o/w})

As propriedades físico-químicas no desenvolvimento de um novo fármaco é tão importante quanto a otimização da sua eficácia, uma vez que um fármaco necessita chegar ao local correto no organismo para exercer sua ação. Algumas das propriedades biofarmacêuticas importantes para que um fármaco chegue ao local desejado são solubilidade, estabilidade e a lipofilicidade (ARNOTT; KUMAR; PLANEY, 2013). A lipofilicidade de uma molécula é um dos principais parâmetros físico-químicos na química medicinal, uma vez que ela influencia diretamente na absorção, distribuição, metabolismo e eliminação de um fármaco, assim como em seu perfil toxicológico (TESTA et al., 2000; PALLICER et al., 2011).

A lipofilicidade pode ser quantificada a partir do coeficiente de partição, que é a razão da concentração de um composto químico em dois solventes, um polar e um

apolar, que formam duas fases imiscíveis, no equilíbrio. O coeficiente de partição não possui unidade de medida, uma vez que é obtido pela divisão de duas concentrações, sendo normalmente apresentado como o seu logaritmo na base 10 (DĄBROWSKA; STAREKA; SKUCIŃSKIB, 2011; OECD, 2004).

Em seu trabalho, Lipinski e colaboradores (2001) afirmam que fármacos, de maneira geral, devem possuir valores de log P inferiores a 5, sendo a faixa ideal entre 0 a 3 para administração por via oral, mas isso não significa que valores maiores serão isentos de ação, uma vez que existem outras características que são levadas em consideração. Apesar de se considerar como ideais valores de log P inferiores a 5 (LIPINSKI et al., 2001), fármacos que atuam no SNC devem possuir valores de log P maiores que os observados em outras classes, uma vez que para atingir seu alvo terapêutico é necessário transpor a barreira hematoencefálica (HOSOYA et al., 2010).

A determinação do coeficiente de partição pode ser realizada pelo método padrão conhecido como “*Shake-flask*”. Este método normalmente é apropriado para determinação de valores de log p entre -2 a 4, além de ser necessário grande quantidade de composto analisado para a realização do teste (CHEN; WEBER, 2007). Devido a essas limitações, optou-se por utilizar a metodologia descrita pela *OECD Guideline for the Testing of Chemicals n°117 – Partition coefficient (n-octanol/water), high performance liquid chromatography (HPLC) method (2004)*.

O método de determinação por HPLC consiste na utilização de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência para obtenção do tempo de retenção das moléculas analisadas e comparadas com padrões previamente estabelecidos, sendo possível a determinação do valor de log P de maneira indireta (OECD, 2004). Em comparação com o método de “*Shake-flask*”, este método abrange valores de log P

que variam de 0 a 6, além de consumir menos tempo e pouca quantidade de amostra OECD, 2004).

5.17.1 Determinação do ClogP

O primeiro passo foi a determinado o coeficiente de partição calculado (ClogP) dos compostos finais. O objetivo desta etapa foi determinar a faixa dos valores de log P teórico das moléculas, para então selecionar os padrões utilizados na obtenção de curva padrão.

Para a determinação do ClogP utilizou-se os softwares ChemDraw® Ultra 14.0, ALOGPS 2.1 (online) e pkCSM (online). Foi utilizado três softwares diferentes devido as suas formas distintas de determinar do parâmetro. O software ChemDraw® Ultra 14.0 utiliza o método de fragmentação, já o ALOGPS 2.1 (online) realiza uma análise associativa que combina modelos para predizer a lipofilicidade, enquanto pkCSM se baseia no método de Crippen (WILDMAN, CRIPPEN; 1999), um procedimento que aplica contribuições de átomos e evita fatores de correção. Os resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 27. Valores de CLogP obtidos por três métodos distintos

Composto	Fórmula molecular	ChemDraw®	ALOGPS 2.1	pkCSM
FTD-AO 1	C ₂₇ H ₂₁ NO ₈	3,85	3,86	3,62
FTD-AO 2	C ₂₈ H ₂₃ NO ₈	4,29	4,05	4,01
FTD-AO 3	C ₂₅ H ₂₅ NO ₆ S ₂	5,09	4,80	4,90
FTD-AO 4	C ₂₆ H ₂₇ NO ₆ S ₂	5,50	5,13	5,29
FTD-AO 5	C ₂₄ H ₁₈ N ₂ O ₅	3,57	3,81	3,85
FTD-AO 6	C ₃₀ H ₃₀ N ₂ O ₅	5,62	5,32	6,10
FTD-AO 7	C ₃₀ H ₂₉ NO ₆	5,89	5,39	6,07
FTD-AO 8	C ₂₈ H ₃₄ N ₂ O ₃ S ₂	6,52	5,91	7,39
FTD-AO 9	C ₂₈ H ₃₃ NO ₄ S ₂	6,68	6,65	7,35

Fonte: dados da pesquisa

A partir dos valores de ClogP determinados para os compostos finais, foram selecionados os padrões para a obtenção da curva padrão de um gráfico log k x log P, onde k é o fator de tempo de retenção, sendo selecionados substâncias que apresentam valores de LogP entre 0,9 e 6,5, conforme apresentado anteriormente na Tabela 1.

5.17.2 Determinação do log P

Para se determinar experimentalmente o log P, após a seleção das substâncias padrões, foi obtida a curva padrão do gráfico log k x log P. Para determinação dos valores de k, os padrões foram analisados em duplicata, nas mesmas condições que os compostos planejados neste trabalho. O k é determinado pela equação abaixo:

$$\text{Log}K = \frac{(tr - t_0)}{t_0}$$

Onde, t_r representa o tempo de retenção da substância teste e t_0 o tempo morto, ou seja, o tempo médio que o solvente necessita para passar pela coluna cromatográfica. Para a determinação do t_0 , foi utilizada a tiouréia, substância química que não apresenta retenção em cromatografia em fase reversa, utilizando como fase estacionária sílica C-18.

A partir dos valores de k , foi calculado seu logaritmo na base dez e foi construída a curva padrão, apresentada a seguir na Figura 36.

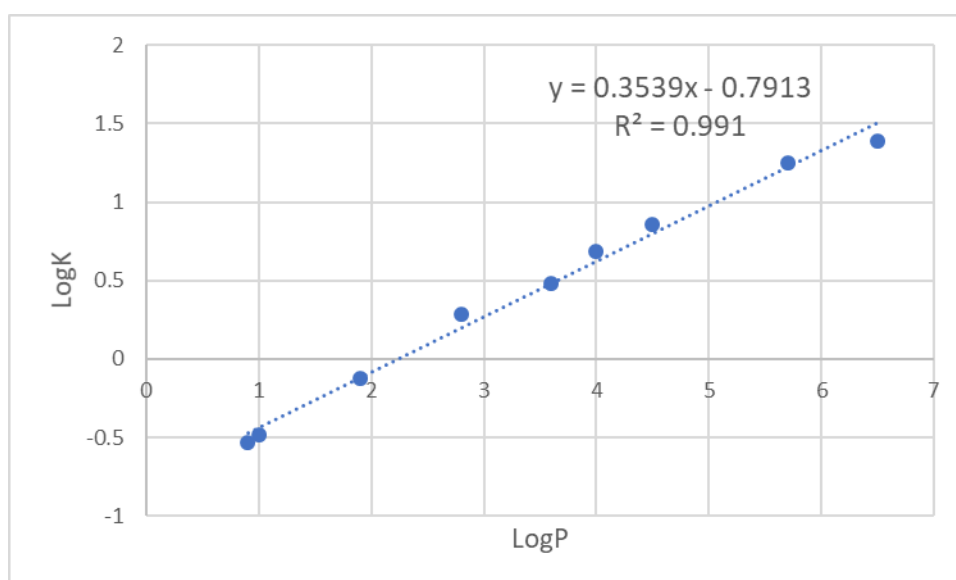


Figura 36 - Curva de linearidade dos padrões obtida experimentalmente

Uma vez determinado a curva padrão, foi possível determinar o LogP dos compostos sintetizados, através da equação da reta encontrada, apresentada na expressão abaixo:

$$\log P = \frac{(\log K + b)}{a}$$

Sendo o valor de a obtido na equação igual a 0,3539 e b igual a 0,7913.

Os resultados obtidos e a comparação com os ClogP estão descritos na Tabela 19. O ClogP utilizado para comparação foi o obtido no programa ALOGPS 2.1, pois apresentou valores teóricos mais próximos aos valores obtidos experimentalmente.

Tabela 28 - Valores experimentais de LogP obtidos

Substância	LogP experimental	ALOGPS 2.1
Lapdesf-FTD AO 1	3,26±0,01	3,86
Lapdesf-FTD AO 2	3,63±0,01	4,05
Lapdesf-FTD AO 3	4,72±0,02	4,80
Lapdesf-FTD AO 4	5,18±0,01	5,13
Lapdesf-FTD AO 5	3,20±0,03	3,81
Lapdesf-FTD AO 6	4,71±0,06	5,32
Lapdesf-FTD AO 7	5,27±0,04	5,39
Lapdesf-FTD AO 8	5,78±0,01	5,91
Lapdesf-FTD AO 9	6,63±0,05	6,65

Fonte: dados da pesquisa

Dos compostos obtidos, apenas os compostos Lapdesf FTD-AO 8 e 9 apresentaram log P relativamente maior do que 5. Os demais compostos apresentaram-se dentro ou muito próximos a faixa de LogP que atendem a regra de Lipinski, além de possuírem valores relativamente elevados, o que pode influenciar positivamente na travessia da barreira hematoencefálica.

5.18 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH *in vitro*

Existem diversas metodologias descritas para a avaliação da atividade antioxidante de um composto químico, uma vez que existem diversas substâncias e processos que possam induzir o estresse oxidativo (CHARLES, 2013). Dentre os

vários métodos empregados, o ensaio espectrofotométrico de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) constitui uma das técnicas mais utilizadas em virtude de sua simplicidade, rapidez e reprodutibilidade (KOLEVA et al., 2002).

O DPPH é um radical livre estável em virtude da deslocalização eletrônica do elétron livre ao longo da sua estrutura química. Este método desenvolvido por Blois e colaboradores em 1955 é baseado na redução do DPPH por moléculas antioxidantes ou por reações com espécies radicalares (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Visualmente, é observado a diminuição da intensa coloração violeta da solução inicial de DPPH, que após redução é convertido em derivado de coloração levemente amarela (CHARLES, 2013).

O ensaio de DPPH possui a vantagem de ser rápido e fácil de ser realizado, no entanto não mimetiza condições fisiológicas, medindo diretamente a capacidade de compostos de reagir com o radical, fornecendo apenas uma indicação da capacidade antioxidante da molécula analisada (CHARLES, 2013).

O radical DPPH apresenta absorvância máxima na região de 517 nm, sendo que a absorvância decresce à medida que a hidrazina está sendo formada. Sendo assim, o decréscimo nos resultados de absorvância são inversamente proporcionais à capacidade antioxidante da substância (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; KOLEVA et al., 2002; CHARLES, 2013; TÖRÖK et al., 2013).

A porcentagem de inibição do radical DPPH dos compostos finais, assim como seus desvios padrão, no tempo de 60 minutos, estão apresentados na Tabela 20. Como controle foram utilizados os compostos vitamina C, ácido ferúlico e ácido lipóico, conhecidos por suas atividades antioxidante.

Tabela 29. Porcentagem e desvio padrão da capacidade de redução do radical DPPH dos compostos finais em 60 minutos

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO (μM)									
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56		
FTD-AO 1	21,9 \pm 6,5 ^{ab}	8,2 \pm 3,9 ^{ab}	5,5 \pm 6,0 ^{ab}	3,1 \pm 5,4 ^{ab}	2,0 \pm 4,4 ^a	3,8 \pm 4,5	3,4 \pm 4,6	0,3 \pm 2,1		
FTD-AO 2	15,8 \pm 2,8 ^{ab}	3,7 \pm 1,6 ^{ab}	1,6 \pm 1,4 ^{ab}	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
FTD-AO 3	7,8 \pm 4,1 ^{ab}	2,0 \pm 1,4 ^{ab}	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
FTD-AO 4	8,9 \pm 4,2 ^{ab}	1,6 \pm 0,8 ^{ab}	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
FTD-AO 5	72,2 \pm 9,3 ^{ab,c}	43,8 \pm 15,7 ^{ac}	19,8 \pm 1,9 ^{ab,c}	6,3 \pm 7,4 ^{ab}	3,4 \pm 4,7 ^a	0,0	2,6 \pm 2,0	0,0		
FTD-AO 6	73,3 \pm 8,4 ^{ab,c}	39,0 \pm 3,6 ^{ac}	24,8 \pm 6,6 ^{ab,c}	12,9 \pm 0,8 ^{ac}	8,0 \pm 3,1	0,6 \pm 1,7	0,0	1,0 \pm 1,0 ^c		
FTD-AO 7	65,5 \pm 4,5 ^{ab,c}	35,4 \pm 3,9 ^{ab}	22,3 \pm 3,9 ^{ab,c}	9,3 \pm 0,1 ^{ab}	2,6 \pm 0,3 ^a	8,3 \pm 10,5	0,0	0,0		
FTD-AO 8	10,4 \pm 2,3 ^{ab}	5,5 \pm 0,8 ^{ab}	2,3 \pm 1,7 ^{ab}	0,3 \pm <0,01 ^{ab}	0,0	0,0	0,0	0,0		
FTD-AO 9	16,5 \pm 2,5 ^{ab}	6,8 \pm 1,9 ^{ab}	3,6 \pm 1,8 ^{ab}	0,0	2,3 \pm 2,7 ^a	3,2 \pm 3,5	5,0 \pm 4,5	4,3 \pm 4,3		
AF	89,3 \pm 0,3 ^c	57,4 \pm 5,2 ^{ac}	38,6 \pm <0,1 ^a	21,1 \pm 3,5 ^{ac}	12,5 \pm 5,1	6,7 \pm 4,4	4,1 \pm 2,6	0,0		
AL	17,7 \pm 6,4 ^{ab}	17,7 \pm 6,4 ^{ab}	3,9 \pm 3,6 ^{ab}	0,4 \pm 4,5 ^{ab}	1,0 \pm 4,7 ^a	1,9 \pm 4,4	0,8 \pm 3,8	0,0		
Vit C	96,5 \pm 1,8 ^c	82,4 \pm 11,8 ^{b,c}	61,0 \pm 7,4 ^{b,c}	32,6 \pm 2,8 ^{b,c}	16,3 \pm 2,8	7,6 \pm 3,8	5,0 \pm 3,5	1,1 \pm 3,4		

AF corresponde ao ácido ferúlico; AL corresponde ao ácido lipóico; Vit C corresponde ao ácido ascórbico. ^a – p<0,05 em relação ao padrão Vit C; ^b – p<0,05 em relação ao padrão AF; ^c – p<0,05 em relação ao padrão AL. Fonte: dados da pesquisa.

Apesar do ácido ferúlico apresentar valores de inibição relativamente menor que o ácido ascórbico, pela análise estatística é possível observar que ambos apresentam capacidade de sequestro do radical DPPH similar na concentração de 200 μM . Nas demais concentrações o AF apresentou menor capacidade de redução do radical que o ácido ascórbico, mas continuou sendo significativa em concentrações acima de 50 μM . Já o ácido lipóico não apresentou atividade antioxidante significativa neste teste, uma vez que sua forma não reduzida não apresenta capacidade sequestrante de DPPH, diferentemente da sua forma reduzida, o ácido dihidrolipóico, que apresenta alta atividade na redução do radical DPPH. Portanto, a atividade antioxidante do ácido lipóico, ou até mesmo de seus derivados, não deve ser desconsiderada, uma vez que é transformado em sua forma reduzida *in vivo* (MADAWALA et al., 2011). A vantagem dos AF e AL no atividade antioxidante no CNS em relação a vitamina C deve-se a capacidade dos mesmos em atuar no SNC (PACKER; TRITSCHLER; WESSEL, 1997; SGARBOSSA et al., 2015). Além disso, o AF apresenta atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase, o que representa um aumento na cognição (SHAHWAR; REHMAN; RAZA, 2010).

Os compostos finais Lapdesf FTD-AO 5, 6 e 7 foram os que apresentaram melhor atividade antioxidante dentre os compostos sintetizados, na concentração de 200 μM , inibindo 72,2%, 73,3% e 65,5%, respectivamente, o radical DPPH. Na concentração de 100 μM , os compostos FTD-AO 5 e 6 ainda apresentaram atividade similar ao AF, seu precursor sintético. Os compostos Lapdesf FTD-AO 1 e 2, apesar de também possuírem o AF como precursor, não apresentaram atividade antioxidante significativa em nenhuma das concentrações avaliadas, o que pode sugerir que a presença dos espaçadores alifáticos entre a molécula de AF e do grupo ftalimídico faz

com que a atividade sequestrante dos derivados diminua, pela quebra da deslocalização eletrônica.

5.19 Avaliação da viabilidade celular em macrófagos murinos da linhagem J774A.1

A avaliação dos efeitos de um novo fármaco em relação à morte celular é normalmente utilizado no processo de desenvolvimento desse fármaco (KEPP et al., 2011). A determinação dos efeitos de novas moléculas sobre a proliferação celular ou até mesmo de sua citotoxicidade é importante para a seleção de concentrações em que essas moléculas serão avaliadas, para que não haja nenhum tipo de interferência nos resultados obtidos. Na avaliação da inibição de citocinas, como o TNF- α , esse processo é crucial para que fatores de confusão provenientes da toxicidade das moléculas avaliadas não interfiram no ensaio (TWEEDIE et al., 2009).

Existem diversos métodos para a determinação da viabilidade celular e da citotoxicidade de substâncias químicas orgânicas, sendo o escolhido para este trabalho o ensaio colorimétrico de resazurina. Este método é baseado na redução intracelular de resazurina para resorufina por mitocôndrias, enzimas microsomais, enzimas da cadeia respiratória, entre outros, tendo como cofatores NADH e NADPH, conforme demonstrado na Figura 37. A resozurina possui coloração azul escura e quando convertida ao produto fluorescente risorufina, apresenta coloração rosa (PRÄBST et al., 2017).

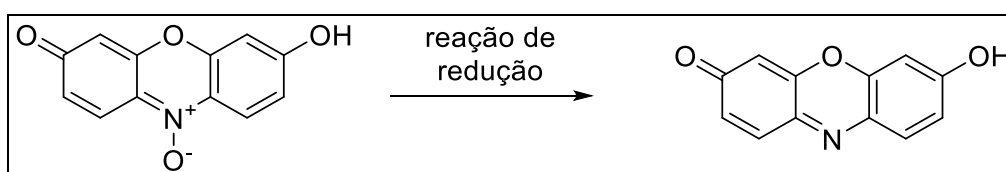


Figura 37. Conversão da resazurina para resorufina por células viáveis. Fonte: elaborado pelo autor

Foram avaliados quando a viabilidade celular os controles talidomida, AF e AL e todos os compostos finais em oito concentrações diferentes em macrófagos murinos da linhagem J774.1, sendo então selecionadas as concentrações que apresentam no mínimo 75% de viabilidade celular, conforme apresentado nas Figuras 38 - 40.

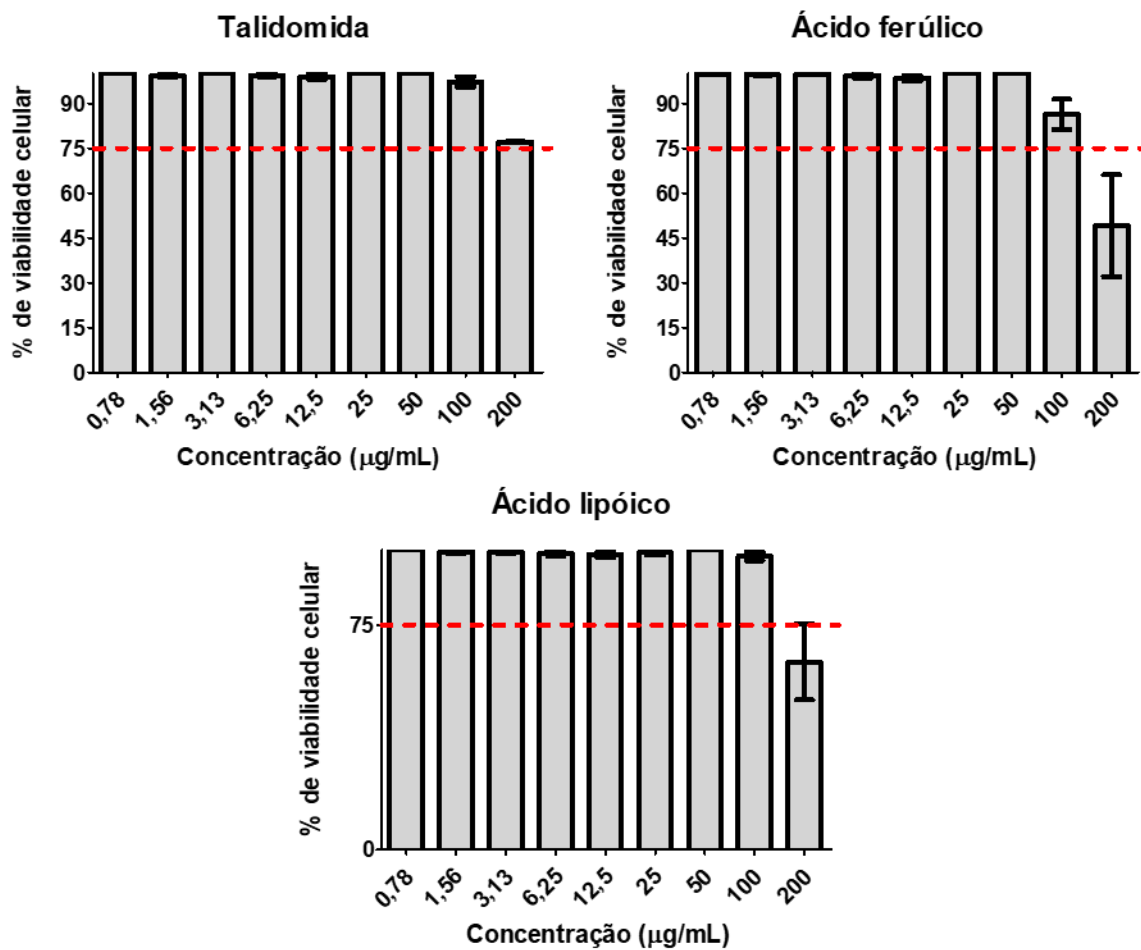


Figura 38. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos controles talidomida, ácido ferúlico e ácido lipóico. Fonte: dados da pesquisa

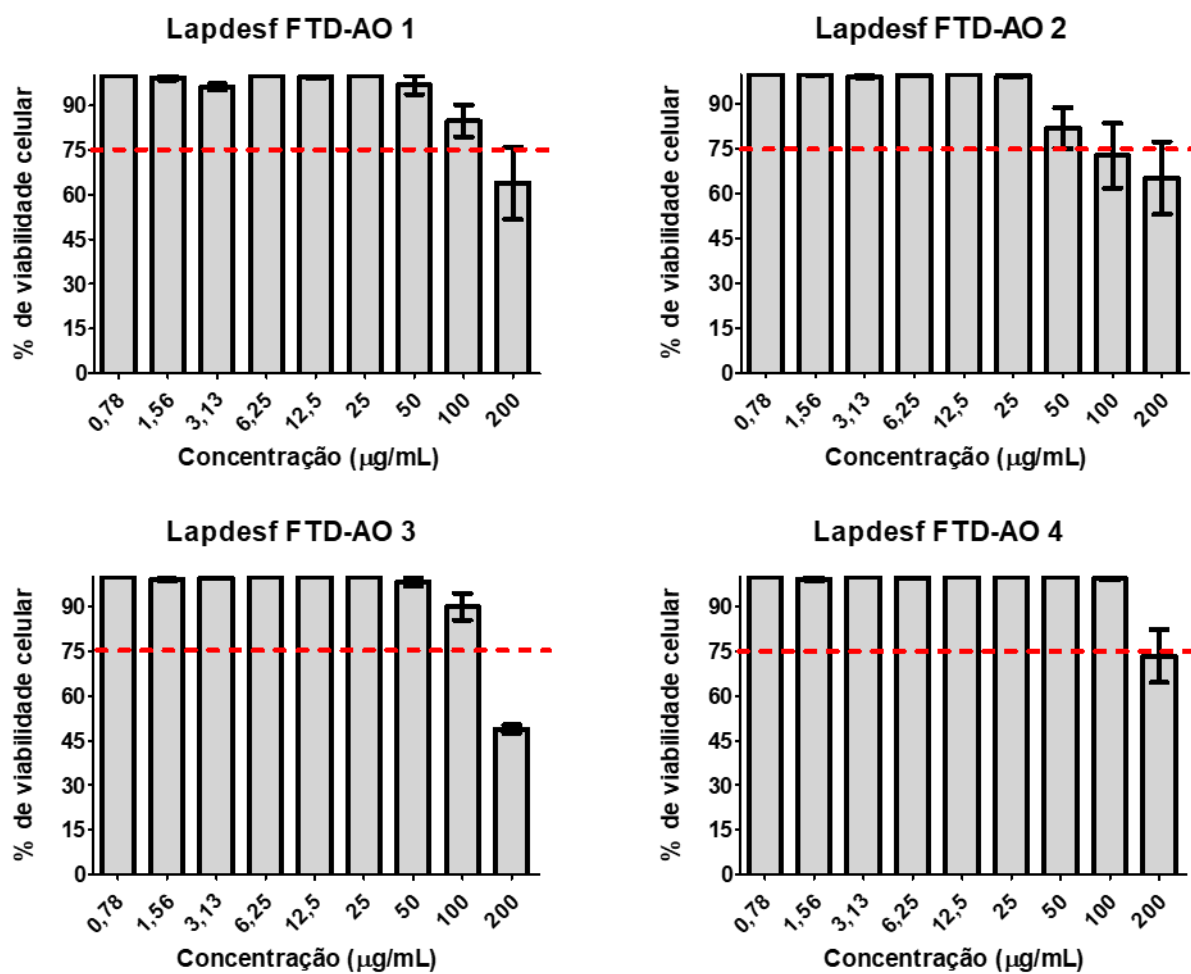


Figura 39. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos compostos Lapdesf FTD-AO 1 a 4. Fonte: dados da pesquisa

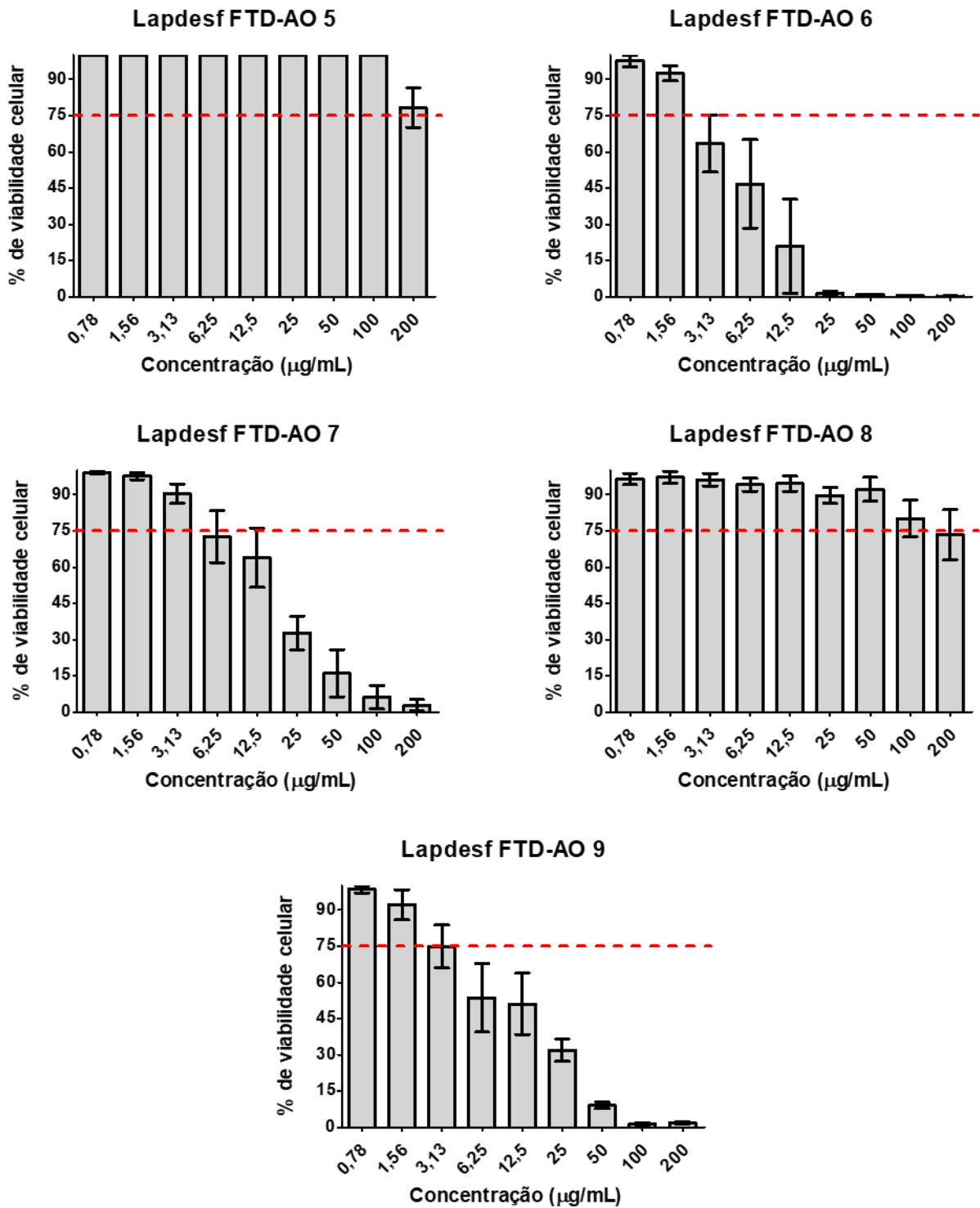


Figura 40. Gráficos de determinação de viabilidade celular dos compostos Lapdesf FTD-AO 5 a 9. Fonte: dados da pesquisa

Com os dados obtidos foi possível determinar as concentrações, na qual 75% das células permanecem com atividade de redução da resazurina, sendo assim

consideradas viáveis. Todos os compostos apresentaram alguma concentração viável perante a avaliação. A talidomida apresentou viabilidade na maior concentração utilizada (200 μM), assim como os compostos Lapdesf FTD-AO 5. Já o AF e o AL apresentaram viabilidade maior que 75% na concentração de 100 μM , da mesma forma que os compostos Lapdesf FTD-AO 1, 3, 4 e 8. O composto Lapdesf FTD-AO 2 apresentou viabilidade celular na concentração de 50 μM , enquanto que os demais compostos apresentaram viabilidade celular apenas em concentrações igual ou inferiores a 3,13 μM . Uma possível explicação para a elevada citotoxicidade dos compostos Lapdesf FTD-AO 7 e 9 é a formação do composto intermediário 15 como metabólito, após a hidrólise do grupo éster, que apresenta conhecida atividade citotóxica (LI et al., 2006). Já em relação ao composto Lapdesf FTD-AO 6, apesar da maior estabilidade do grupamento amida, a hidrólise pode ser favorecida, pela maior delocalização eletrônica da molécula, enquanto que o mesmo não ocorre com o composto Lapdesf FTD-AO 8, explicando sua menor citotoxicidade.

Ao termino desta etapa, obteve-se as concentrações viáveis na qual está sendo realizada a quantificação de citocina TNF- α .

5.20 Avaliação *in vitro* da atividade polimerizadora de tubulina

Os microtúbulos são estruturas essenciais para a manutenção e funcionamento de células saudáveis, incluindo neurônios. A estreita relação entre a hiperfosforilação da proteína tau e o controle de polimerização e despolimerização de microtúbulos faz com que estes sejam um potencial alvo terapêutico no tratamento da DA, conforme esquematizado na Figura 41.

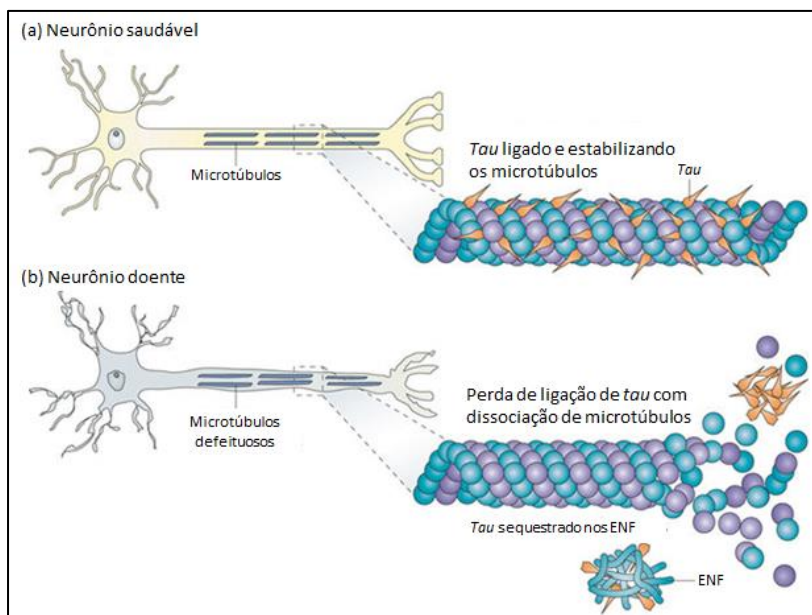
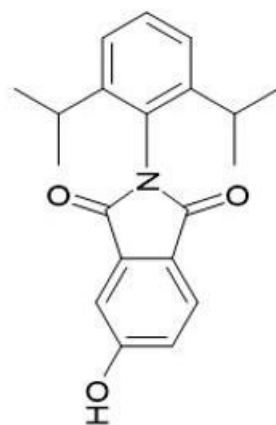
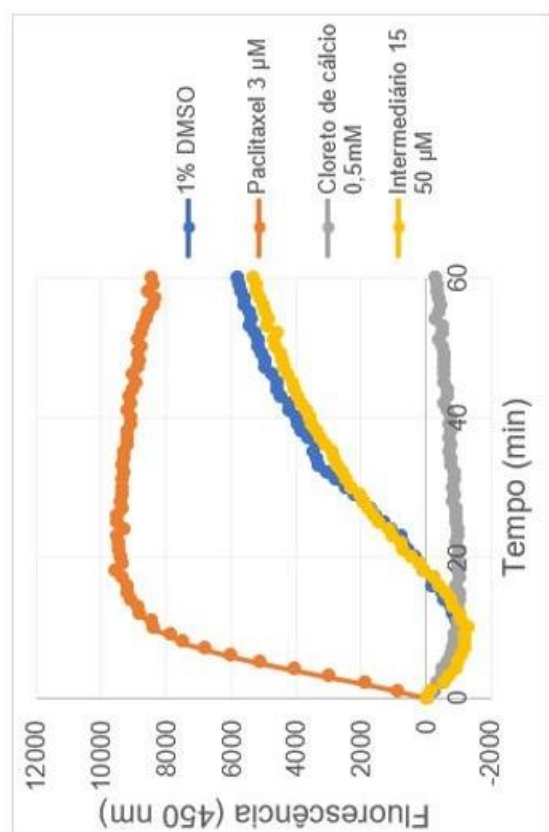


Figura 41. Proteína tau em neurônios saudáveis e formação de ENF em tauopatias. Extraído de: BRUNDEN; TROJANOWSKI; LEE, 2009

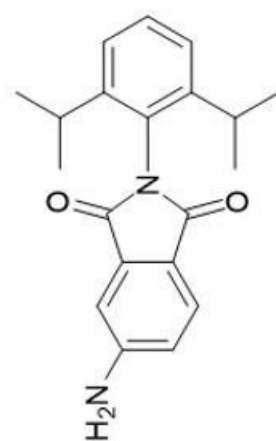
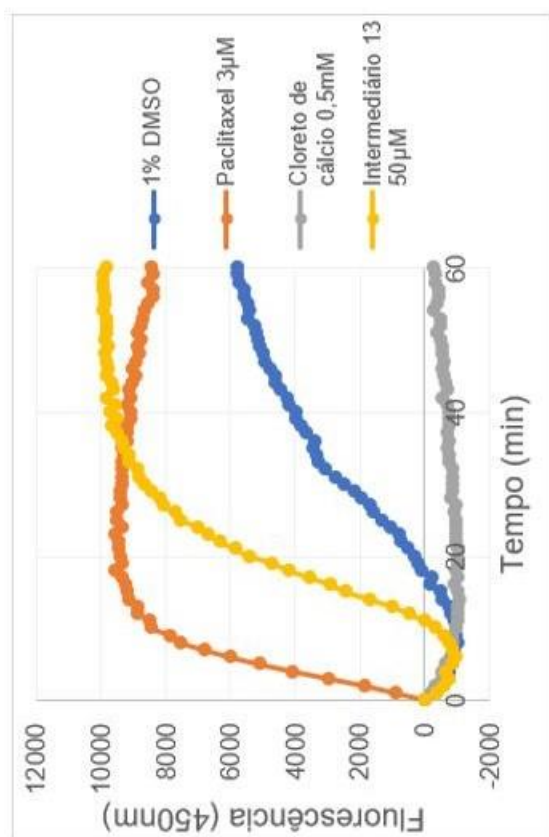
A avaliação da atividade polimerizadora de tubulina *in vitro* foi realizada por leitura de fluorescência utilizando o kit *Tubulin polymerization assay using >99% pure* (código BK011P, Cytoskeleton Inc). O kit utilizado como indicador de fluorescência a substância 2-(4-amidinafenil)-1H-indol-6-carboxamida (DAPI), uma vez que a mesma não possui grande afinidade aos dímeros de tubulina, se ligando apenas aos microtúbulos formados. Portanto, quando ocorre a polimerização, o DAPI ligado aos microtúbulos será excitado a 340 – 360 nm e emitirá fluorescência na faixa de 410 – 460 nm.

Foram avaliados dois compostos intermediários, uma vez que estes compostos já apresentavam atividade polimerizadora de tubulina na literatura (LI et al., 2006; PANDIT et al., 2013) e todos os compostos finais obtidos, na concentração de 50 μM . Os controles utilizados foram: paclitaxel (3 μM) como controle positivo (polimerizador), cloreto de cálcio (0.5 mM) como controle negativo (inibidor de polimerização) e 1%

DMSO como controle branco (polimerização natural da tubulina). Os resultados obtidos estão demonstrados nas Figuras 42 – 46.

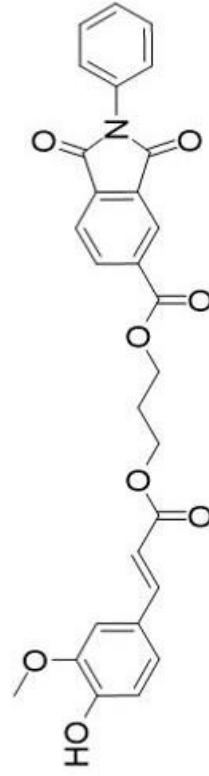
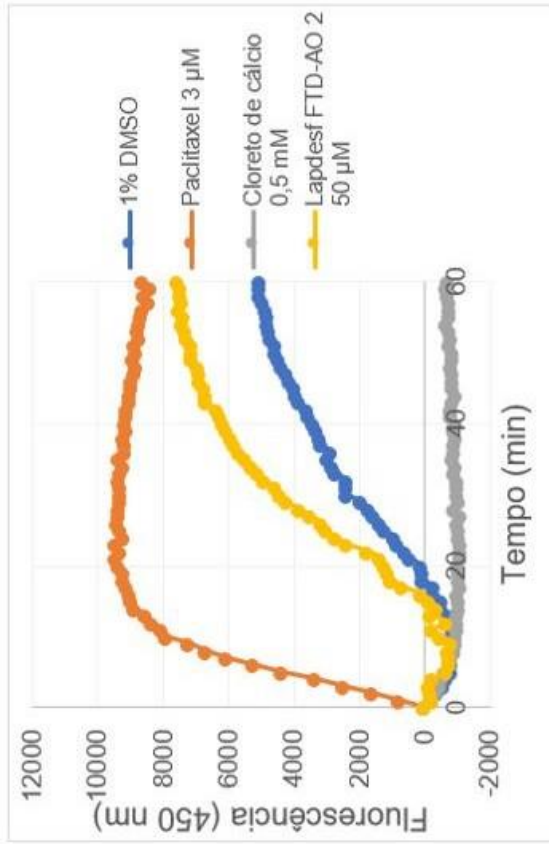


Intermediário 15

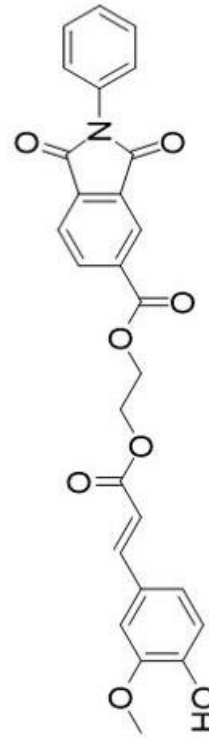
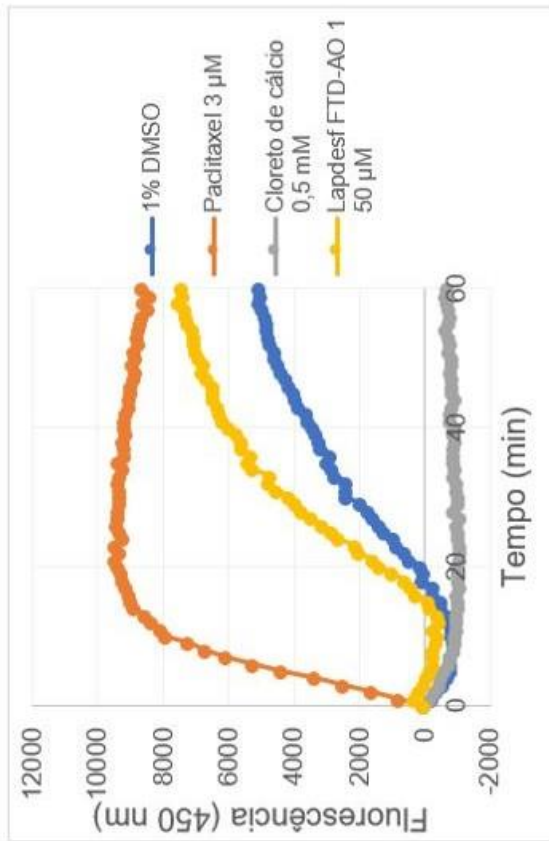


Intermediário 13

Figura 42. Curva de polimerização de tubulina na presença dos compostos intermediários 13 e 15 e controles (DMSO 1%, paclitaxel 3 µM e CaCl₂ 0,5 mM).
Fonte: dados da pesquisa

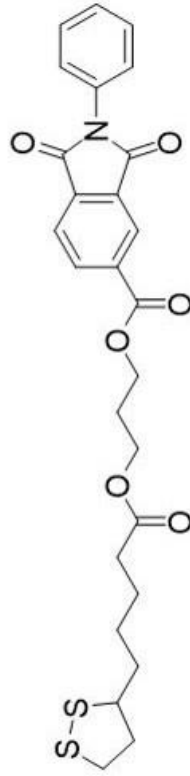
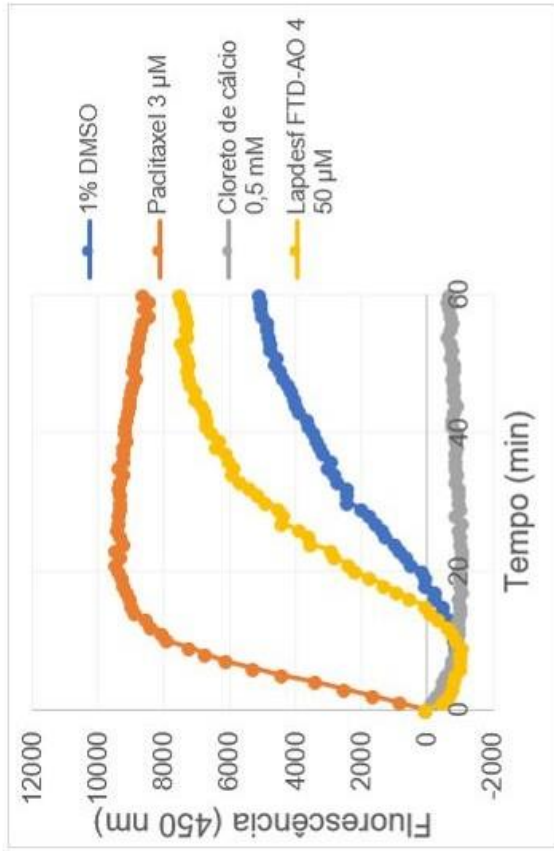


Lapdesf FTD-AO 2

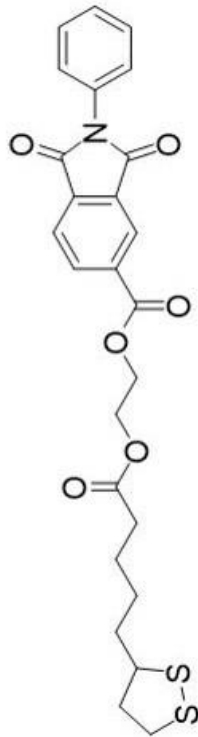
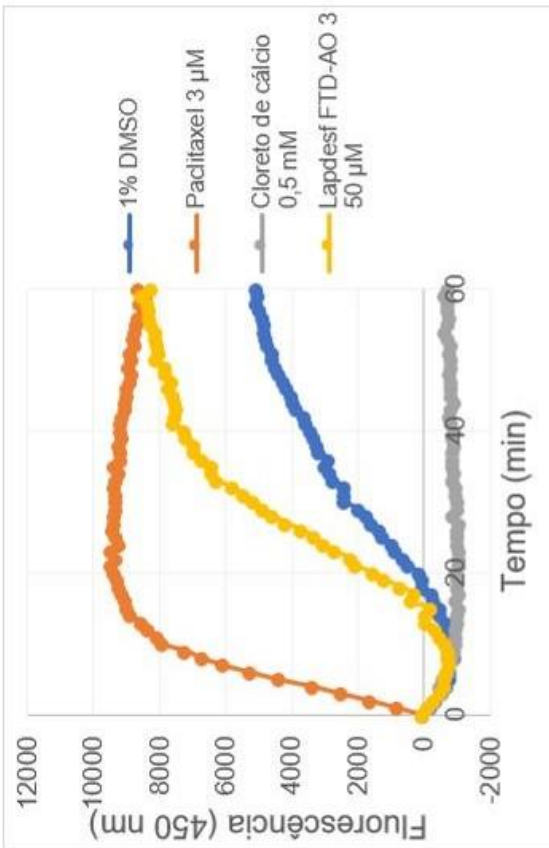


Lapdesf FTD-AO 1

Figura 43. Curva de polimerização de tubulina na presença dos compostos Lapdesf FTD-AO 1 e 2 e controles (DMSO 1%, paclitaxel 3 µM e CaCl₂ 0,5 mM).
Fonte: dados da pesquisa



Lapdesf FTD-AO 4



Lapdesf FTD-AO 3

Figura 44. Curva de polimerização de tubulina na presença dos compostos Lapdesf FTD-AO 3 e 4 e controles (DMSO 1%, paclitaxel 3 µM e CaCl₂ 0,5 mM).
Fonte: dados da pesquisa.

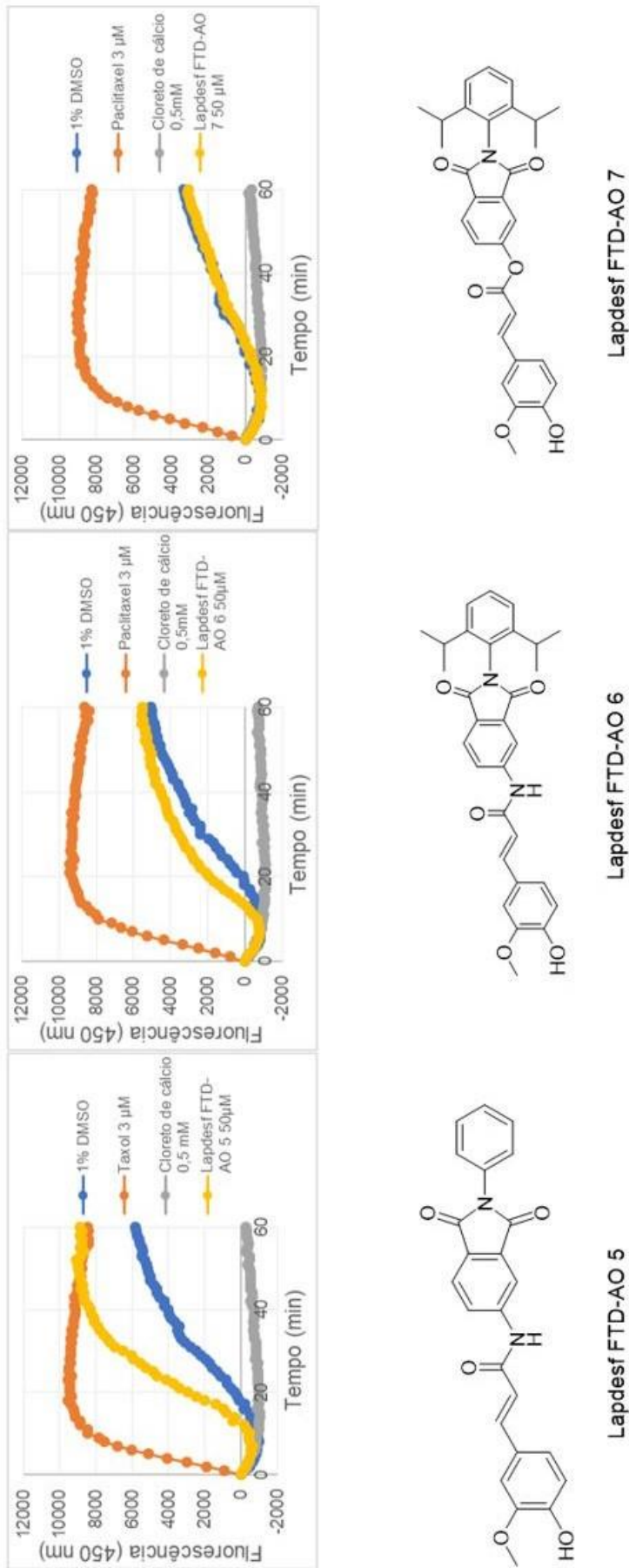
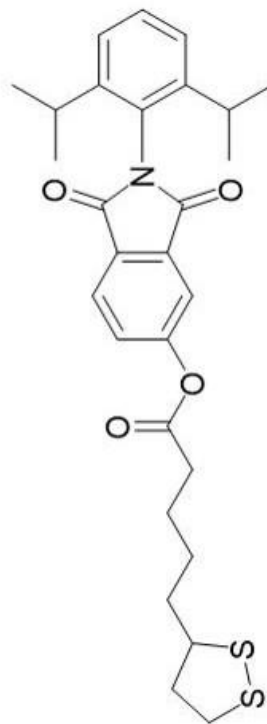
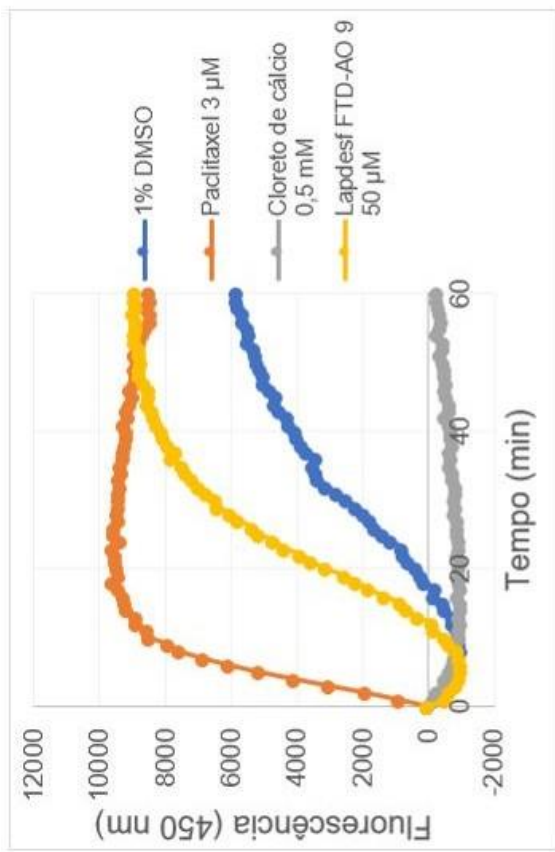
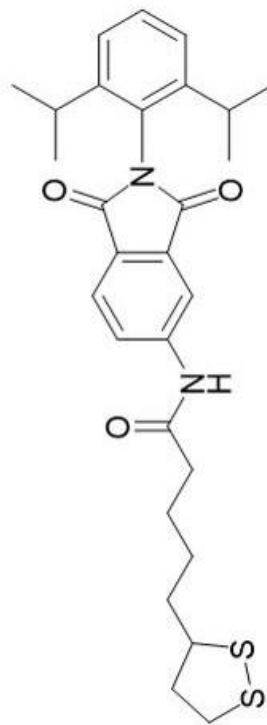
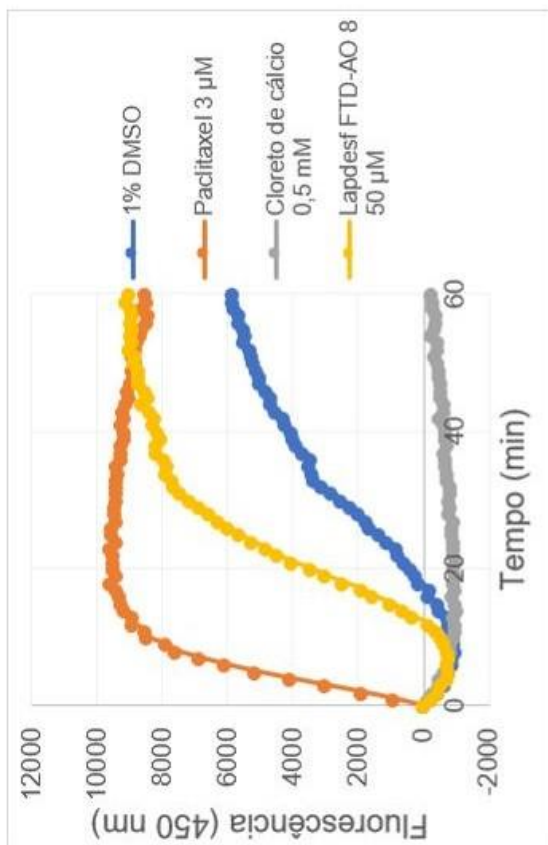


Figura 45. Curva de polimerização de tubulina na presença dos compostos Lapdesf FTD-AO 5 - 7 e controles (DMSO 1%, paclitaxel 3 μM e CaCl₂ 0,5 mM).
Fonte: dados da pesquisa



Lapdesf FTD-AO 9



Lapdesf FTD-AO 8

Figura 46. Curva de polimerização de tubulina na presença dos compostos Lapdesf FTD-AO 8 e 9 e controles (DMSO 1%, paclitaxel 3 µM e CaCl₂ 0,5 mM).
Fonte: dados da pesquisa

Os compostos intermediários 13 e 15 foram sintetizados e descritos anteriormente na literatura como polimerizadores e estabilizadores de tubulina (LI et al., 2006). O composto intermediário 13 apresentou atividade polimerizadora, atingindo o nível de polimerização similar ao paclitaxel, enquanto que o composto 15 não apresentou atividade, conforme demonstrado na Figura 36. Os resultados obtidos para o primeiro composto condizem com a literatura (PANDIT et al., 2013), enquanto que o composto 15 não respondeu conforme esperado. De acordo com Li e colaboradores (2006), o composto apresenta atividade polimerizadora e estabilizadora de microtúbulos com mecanismo similar ao paclitaxel. Apesar dos experimentos não seguirem exatamente a mesma metodologia, ainda está sendo estudado o porquê da diferença de atividade.

Em relação a atividade dos derivados de ácido ferúlico, demonstrados nas Figuras 37 e 39, apenas o composto Lapdesf FTD-AO 5 apresentou nível de polimerização similar ao paclitaxel. Já os compostos Lapdesf FTD-AO 1 e 2 apesar de apresentaram curva de polimerização um pouco superior ao controle branco, não foram similares ao controle positivo, sendo considerados sem propriedade polimerizadora. Os compostos Lapdesf FTD-AO 6 e 7 não apresentaram atividade, sendo similar ao controle branco (1% DMSO).

Já os derivados de ácido lipóico, demonstrados nas Figuras 38 e 40, Lapdesf FTD-AO 3, 8 e 9 apresentaram atividade polimerizadora de tubulina, alcançando os mesmos níveis do controle paclitaxel, enquanto que apenas o composto Lapdesf FTD-AO 4 apresentou atividade intermediária.

Foi possível observar algumas relações entre as atividades observadas e as estruturas químicas dos compostos finais obtidos, conforme observado nas Figuras 47 e 48.

Apenas os compostos derivados de ácido ferúlico sem a presença dos espaçadores alifáticos (compostos Lapdesf FTD-AO 5, 6 e 7), apresentaram atividade sequestrante do radical DPPH significativa. A presença dos espaçadores alifáticos nos compostos Lapdesf FTD-AO 1 e 2 impediu a deslocalização dos elétrons entre o AF e o grupamento ftalimídico, o que ocasionou a diminuição dessa atividade.

Quanto a atividade polimerizadora de tubulina, podemos observar que todos os derivados de AL apresentaram atividade polimerizadora, enquanto que nos derivados de AF essa atividade varia entre os compostos.

Já na avaliação de viabilidade celular, foi possível perceber que os compostos que apresentaram elevada citotoxicidade (Lapdesf FTD-AO 6, 7 e 9) possuem grupamentos lábeis (éster e amida) em posições na qual sua quebra leva a derivados ftalimídicos (intermediário 13 e 15) conhecidamente citotóxicos, previamente observados em outros trabalhos presentes na literatura (LI et al., 2006; PANDIT et al., 2013). Apesar do composto Lapdesf FTD-AO 8 também possuir um grupamento amida, a presença de uma cadeia alifática do AL provavelmente torna essa molécula mais estável que as citadas anteriormente, o que pode explicar sua menor citotoxicidade.

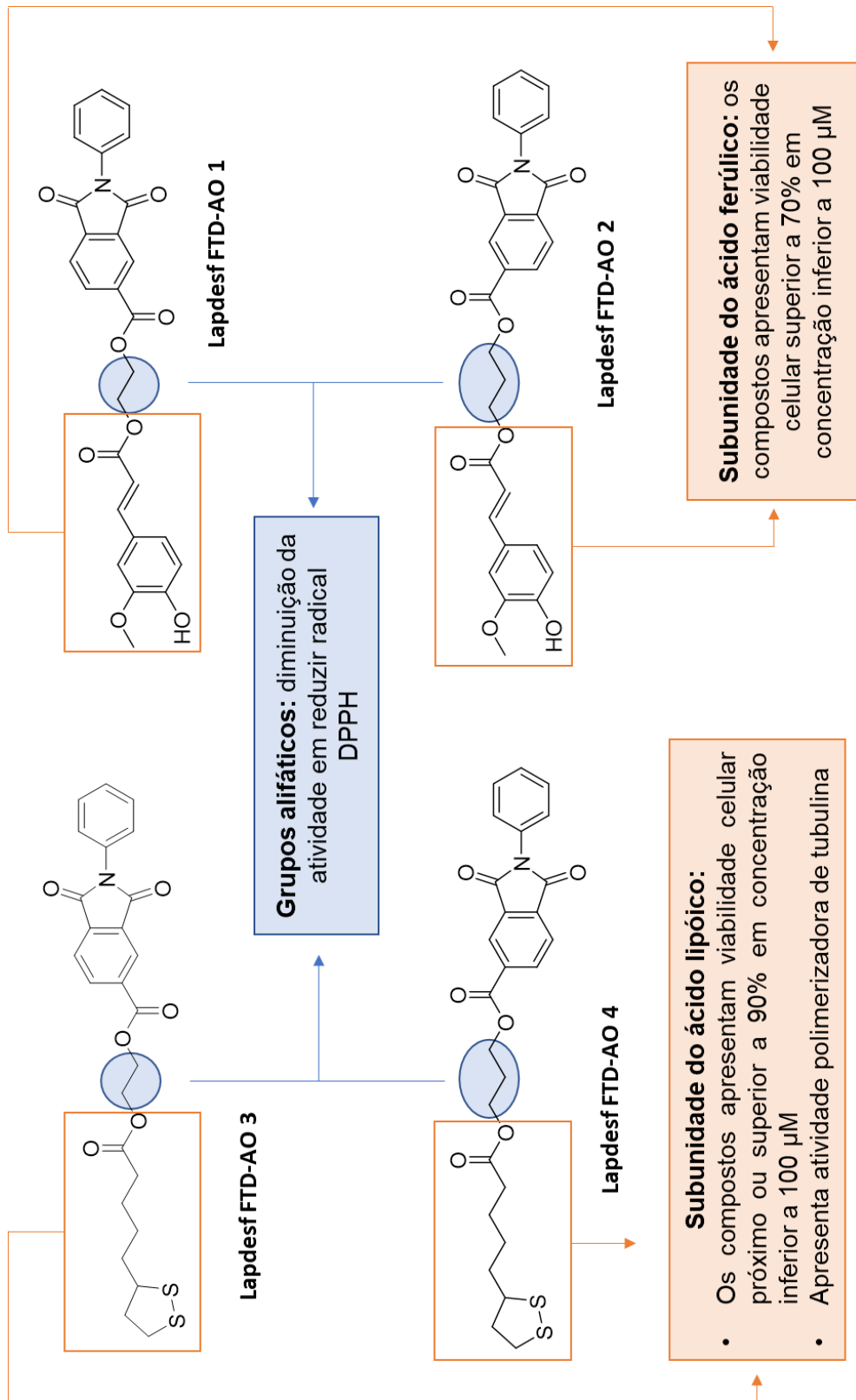


Figura 42. Relação entre as atividades observadas e as estruturas químicas dos compostos Lapdesf FTD-AO 1 a 4. Fonte: dados da pesquisa

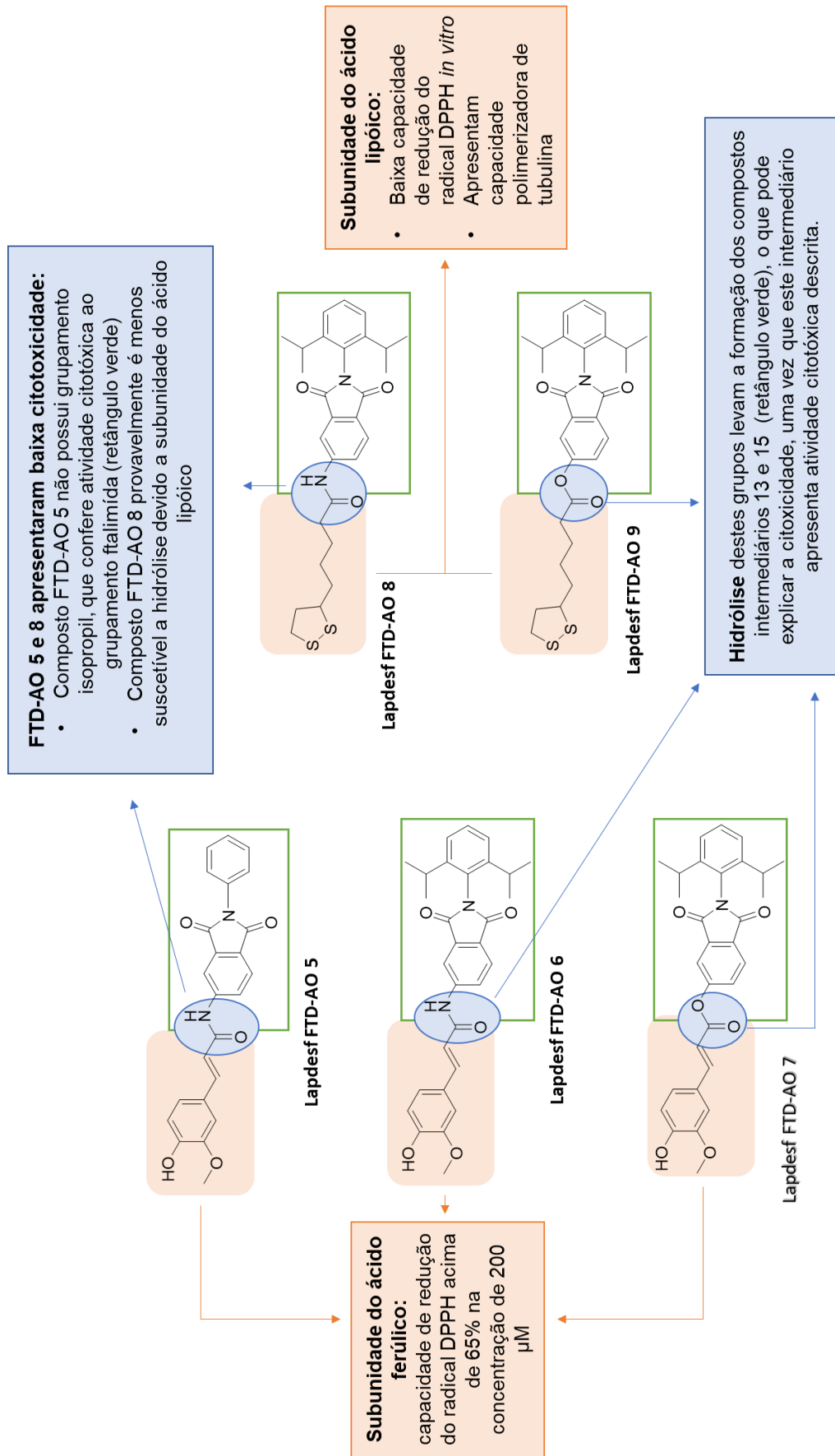


Figura 43. Relação entre as atividades observadas e as estruturas químicas dos compostos Lapdesf FTD-AO 5 a 9. Fonte: dados da pesquisa

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados pode-se concluir que as metodologias sintéticas utilizadas foram adequadas para obtenção dos derivados finais da série LAPDESF FTD-AO, resultando em um total de 9 compostos finais inéditos, os quais foram obtidos com rendimentos que variaram de 8 a 75%. Os intermediários sintéticos, 7 no total, foram caracterizados por RMN de ^1H , já os compostos híbridos finais foram caracterizados utilizando RMN de ^1H e ^{13}C .

Com relação ao coeficiente de partição ($\log P_{o/w}$) obtido experimentalmente por HPLC, é possível observar que a maior parte dos compostos finais estão dentro da faixa descrita por Lipinski como ideal para a administração por via oral, apresentando valores que variam de 3,26 a 6,63. Os compostos Lapdesf FTD-AO 8 e 9 apresentam os valores mais altos.

Os compostos Lapdesf FTD-AO 5, 6 e 7 apresentaram significativa redução do radical DPPH, demonstrando atividade antioxidante, nas concentrações acima de $100\ \mu\text{M}$. No entanto, nenhum apresentou atividade similar ao controle utilizado no teste, ácido ascórbico, em nenhuma concentração. Já em comparação ao AF, na concentração de $100\ \mu\text{M}$, os compostos FTD-AO 5 e 6 apresentaram atividade similar. Os derivados de AL não apresentaram atividade em reduzir o radical DPPH no teste realizado *in vitro*.

Quanto a avaliação da viabilidade celular, foi possível observar que apenas os compostos Lapdesf FTD-AO 6, 7 e 9 apresentaram alta citotoxicidade, apresentando viabilidade celular acima de 75% apenas em concentrações inferiores a $3,13\ \mu\text{M}$, enquanto que os demais compostos apresentaram viabilidade em concentrações superiores a $50\ \mu\text{M}$.

As moléculas finais sintetizadas foram avaliadas para sua atividade sob a polimerização de tubulina, sendo que quatro moléculas finais apresentaram atividade polimerizadora (Lapdesf FTD-AO 3, 5, 8 e 9).

Os compostos Lapdesf FTD-AO 5 e 8 foram escolhidos como os melhores da série com potencial atividade neuroprotetora, uma vez que apresentam baixa citotoxicidade e atividade polimerizadora de tubulina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, P.; CUNHA, R. A.; OLIVEIRA, C. Neuroinflammation , oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, p. 2766–2778, 2010.

AHMED, H. H. Modulatory effects of vitamin E, acetyl-L-carnitine and α -lipoic acid on new potential biomarkers for Alzheimer's disease in rat model. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, p. 549–556, 2012.

AKOURY, E.; GAJDA, M.; PICKHARDT, M.; BIERNAT, J.; SORAYA, P.; GRIESINGER, C.; MANDELKOW, E.; ZWECKSTETTER, M. Inhibition of tau filament formation by conformational modulation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 7, p. 2853–2862, 2013.

AKPINAR, D.; YARGIÇOĞLU, P.; DERÍN, N.; ALICIGÜZEL, Y.; MEHMET, S.; AGAR, A. The effect of lipoic acid on lipid peroxidation and visual evoked potentials (VEPS) in rats exposed to chronic restraint stress. **International Journal of Neuroscience**, v. 117, p. 1691–1706, 2007.

ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. **World Alzheimer Report 2009**. Illinois, USA: International Federation of Alzheimer's Disease and Related Disorders Societies, 2009. Disponível em: <https://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport.pdf>.

ALZHEIMER, A. Über eigenartige Krankheitsfälle des späteren Alters. **Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie**, v. 4, p. 356–385, 1911.

APPLEBY, B. S.; CUMMINGS, J. L. Discovering new treatments for Alzheimer's Disease by repurposing approved medications. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 18, p. 2306–2327, 2013.

APRAHAMIAN, I.; STELLA, F.; FORLENZA, O. V. New treatment strategies for Alzheimer's disease: is there a hope? **The Indian journal of medical research**, v. 138, n. 4, p. 449–460, 2013.

ARIVAZHAGAN, P.; RAMANATHAN, K.; PANNEERSELVAM, C. Effect of DL- α -lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria of aged rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p. 2–6, 2001.

ARNOTT, J. A.; KUMAR, R.; PLANEY, S. L. Lipophilicity Indices for Drug Development. **Journal of Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**, v. 1, p. 31–36, 2013.

AYTON, S.; LEI, P.; BUSH, A. I. Metallostasis in Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 62, p. 76–89, 2013.

BAJIC, V.; MILOVANOVIC, E. S.; SPREMO-POTPAREVIC, B.; ZIVKOVIC, L.; MILICEVIC, Z.; STANIMIROVIC, J.; BOGDANOVIC, N.; ISENOVIC, E. R. Treatment of Alzheimer's Disease: classical therapeutic approach. **Current Pharmaceutical**

Analysis, v. 12, p. 82–90, 2016.

BALLATORE, C.; BRUNDEN, K. R.; HURY, D. M.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M. Y.; SMITH, A. B. Microtubule stabilizing agents as potential treatment for alzheimer's disease and related neurodegenerative tauopathies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 8979–8996, 2012.

BALLATORE, C.; LEE, V.; J, T. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 8, n. 9, p. 663–672, 2007.

BARTLETT, J. B.; DREDGE, K.; DALGLEISH, A. G. The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 4, p. 314–322, 2004.

BASSIL, N.; MOLLAEI, C. Alzheimer's dementia : a brief review. **Lebanese Medical Journal**, v. 60, n. 4, p. 192–199, 2012.

BEEDESSEE, G.; RAMANJOOLOO, A.; SURNAM-BOODHUN, R.; VAN SOEST, R. W. M.; MARIE, D. E. P. Acetylcholinesterase-inhibitory activities of the extracts from sponges collected in Mauritius waters. **Chemistry and Biodiversity**, v. 10, p. 442–451, 2013.

BHAT, M. A.; AL-OMAR, M. A. Synthesis, characterization and in vivo anticonvulsant and neurotoxicity screening of Schiff bases of phthalimide. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 68, n. 3, p. 375–380, 2011.

BIRD, T. D. Alzheimer Disease Overview. In: PAGON, R. A.; ADAM, M. P.; ARDINGER, H. H.; WALLACE, S. E.; AMEMIYA, A.; BEAN, L. J. H.; BIRD, T. D.; FONG, C. T.; MEFFORD, H. C.; SMITH, R. J. H.; STEPHENS, K. (Ed.). **GeneReviews [Internet]**. Seattle: University of Washington, 2015. p. 1–16.

BOLOGNESI, M. L.; BERGAMINI, C.; FATO, R.; OIRY, J.; VASSEUR, J.-J.; SMIETANA, M. Synthesis of new lipoic acid conjugates and evaluation of their free radical scavenging and neuroprotective activities. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 83, n. 6, p. 688–696, 2014.

BORGES, L. de G.; FRÖELICH, P. E. Talidomida-Novas perspectiva para utilização como anti-inflamatório, imunossupressor e antiangiogênico. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 96–102, 2003.

BRAMANTI, E.; FULGENTINI, L.; BIZZARRI, R.; LENCI, F.; SGARBOSSA, A. β -Amyloid amorphous aggregates induced by the small natural molecule ferulic acid. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 117, n. 44, p. 13816–13821, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRETTSCHNEIDER, J.; DEL TREDICI, K.; LEE, V. M. Y.; TROJANOWSKI, J. Q. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 2, p. 109–120, 2015.

BRUNDEN, K. R.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M. Y. Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 8, n. 10, p. 783–793, 2009.

BRUNDEN, K. R.; YAO, Y.; POTUZAK, J. S.; FERRER, N. I.; BALLATORE, C.; JAMES, M. J.; HOGAN, A. M. L.; TROJANOWSKI, J. Q.; SMITH, A. B.; LEE, V. M. Y. The characterization of microtubule-stabilizing drugs as possible therapeutic agents for Alzheimer's disease and related tauopathies. **Pharmacological Research**, v. 63, n. 4, p. 341–351, 2011.

BUTTERFIELD, D. A. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. **Free radical research**, v. 36, n. 12, p. 1307–1313, 2002.

CHARLES, D. J. Antioxidant Assays Recent. In: **Antioxidant properties of spices, herbs and other sources**. New York: Springer Science+Business Media, 2013. p. 9–38.

CHEN, Z.; WEBER, S. G. A. High-Throughput Method for Lipophilicity Measurement. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 1043–4019, 2007.

CHENG, X.; SHEN, Y.; LI, R. Targeting TNF: A therapeutic strategy for Alzheimer's disease. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 11, p. 1822–1827, 2014.

CHIRIAC, C. I.; NECHIFOR, M.; TANASĂ, F. Formamide, a novel challenging reagent for the direct synthesis of non-N-substituted cyclic imides. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 52, n. 8–9, p. 883–886, 2007.

CHOI, J. H.; CHO, S. O.; KIM, H. α -Lipoic Acid Inhibits Expression of IL-8 by Suppressing Activation of MAPK, Jak / Stat, and NF- κ B in H. pylori - Infected Gastric Epithelial AGS Cells. **Yonsei Medical Journal**, v. 57, n. 1, p. 260–264, 2016.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic Chemistry**. 2nd. ed. New York: Oxford university press, 2012.

COLTON, C. A.; WILCOCK, D. M. Assessing activation states in microglia. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 9, n. 2, p. 174–191, 2010.

CONDE, C.; CÁCERES, A. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 5, p. 319–332, 2009.

COYLE, J. T.; PUTTFARCKEN, P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. **Science**, v. 262, p. 689–95, 1993.

CUI, L.; ZHANG, Y.; CAO, H.; WANG, Y.; TENG, T.; MA, G.; LI, Y.; LI, K.; ZHANG, Y. Ferulic acid inhibits the transition of amyloid- β 42 monomers to oligomers but accelerates the transition from oligomers to fibrils. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 37, p. 19–28, 2013.

DĄBROWSKA, M.; STAREKA, M.; SKUCIŃSKIB, J. Lipophilicity study of some non-steroidal anti-inflammatory agents and cephalosporin antibiotics: A review. **Talanta**, v. 86, p. 35–51, 2011.

DAHM, R. Alzheimer's discovery. **Current Biology**, v. 16, n. 21, p. 906–910, 2006.

DANYSZ, W.; PARSONS, C. G. Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - Searching for the connections. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, p. 324–352, 2012.

DE LEON, M. J.; DESANTI, S.; ZINKOWSKI, R.; MEHTA, P. D.; PRATICO, D.; SEGAL, S.; CLARK, C.; KERKMAN, D.; DEBERNARDIS, J.; LI, J.; LAIR, L.; REISBERG, B.; TSUI, W.; RUSINEK, H. MRI and CSF studies in the early diagnosis of Alzheimer's disease. **Journal of Internal Medicine**, v. 256, p. 205–223, 2004.

DENT, E. W. Of microtubules and memory: implications for microtubule dynamics in dendrites and spines. **Molecular Biology of the Cell**, v. 28, n. 1, p. 1–8, 2017.

DESAI, A.; MITCHISON, T. J. Microtubule polymerization dynamics. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 13, p. 83–117, 1997.

DETRAIT, E. R.; DANIS, B.; LAMBERTY, Y.; FOERCH, P. Peripheral administration of an anti-TNF- α receptor fusion protein counteracts the amyloid induced elevation of hippocampal TNF- α levels and memory deficits in mice. **Neurochemistry International**, v. 72, n. 1, p. 10–13, 2014.

DEVANAND, D. P.; PRADHABAN, G.; LIU, X.; KHANDJI, A.; DE SANTI, S.; SEGAL, S.; RUSINEK, H.; PELTON, G. H.; HONIG, L. S.; MAYEUX, R.; STERN, Y.; TABERT, M. H.; DE LEON, M. J. Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: Prediction of Alzheimer disease. **Neurology**, v. 68, n. 11, p. 828–836, 2007.

DI CARLO, M.; GIACOMAZZA, D.; SAN BIAGIO, P. L. Alzheimers disease: biological aspects, therapeutic perspectives and diagnostic tools. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 24, p. 17, 2012.

DI DOMENICO, F.; BARONE, E.; PERLUIGI, M.; BUTTERFIELD, D. A. Strategy to reduce free radical species in Alzheimer's disease: an update of selected antioxidants. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 15, n. 1, p. 19–40, 2015.

DOS SANTOS FERNANDES, G. F.; DE SOUZA, P. C.; MORENO-VIGURI, E.; SANTIVANEZ-VELIZ, M.; PAUCAR, R.; PÉREZ-SILANES, S.; CHEGAEV, K.; GUGLIELMO, S.; LAZZARATO, L.; FRUTTERO, R.; MAN CHIN, C.; DA SILVA, P. B.; CHORILLI, M.; SOLCIA, M. C.; RIBEIRO, C. M.; SILVA, C. S. P.; MARINO, L. B.; BOSQUESI, P. L.; HUNT, D. M.; DE CARVALHO, L. P. S.; DE SOUZA COSTA, C. A.; CHO, S. H.; WANG, Y.; FRANZBLAU, S. G.; PAVAN, F. R.; DOS SANTOS, J. L. Design, Synthesis, and Characterization of N-Oxide-Containing Heterocycles with in Vivo Sterilizing Antitubercular Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 20, p. 8647–8660, 2017.

DOSS, H. M.; DEY, C.; SUDANDIRADOSS, C.; RASOOL, M. K. Targeting inflammatory mediators with ferulic acid, a dietary polyphenol, for the suppression of monosodium urate crystal-induced inflammation in rats. **Life Sciences**, v. 148, p. 201–210, 2016.

FANARA, P.; HUSTED, K. H.; SELLE, K.; WONG, P. Y. A.; BANERJEE, J.; BRANDT,

R.; HELLERSTEIN, M. K. Changes in microtubule turnover accompany synaptic plasticity and memory formation in response to contextual fear conditioning in mice. **Neuroscience**, v. 168, p. 167–178, 2010.

FARR, S. A.; PRICE, T. O.; BANKS, W. A.; ERCAL, N.; MORLEY, J. E. Effect of alpha-lipoic acid on memory, oxidation, and lifespan in SAMP8 mice. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 32, n. 2, p. 447–455, 2012.

FERRETTI, M. T.; CUELLO, A. C. Does a pro-inflammatory process precede Alzheimer's disease and mild cognitive impairment? **Current Alzheimer research**, v. 8, n. 2, p. 164–174, 2011.

FRANKS, M. E.; MACPHERSON, G. R.; FIGG, W. D. Thalidomide. **Lancet**, v. 363, p. 1802–1811, 2004.

GABBITA, S. P.; SRIVASTAVA, M. K.; ESLAMI, P.; JOHNSON, M. F.; KOBRITZ, N. K.; TWEEDIE, D.; GREIG, N. H.; ZEMLAN, F. P.; SHARMA, S. P.; HARRIS-WHITE, M. E. Early intervention with a small molecule inhibitor for tumor necrosis factor- α prevents cognitive deficits in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of neuroinflammation**, v. 9, p. 99, 2012.

GUZIOR, N.; WIICKOWSKA, A.; PANEK, D.; MALAWSKA, B. Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of Alzheimer's Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 373–404, 2015.

HAMPEL, H.; FRANK, R.; BROICH, K.; TEIPEL, S. J.; KATZ, R. G.; HARDY, J.; HERHOLZ, K.; BOKDE, A. L. W.; JESSEN, F.; HOESSLER, Y. C.; SANHAI, W. R.; ZETTERBERG, H.; WOODCOCK, J.; BLENNOW, K. Biomarkers for Alzheimer's disease: academic, industry and regulatory perspectives. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 7, p. 560–574, 2010.

HASHIMOTO, Y. Structural development of biological response modifiers based on thalidomide. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 3, p. 461–479, 2002.

HENEKA, M. T.; CARSON, M. J.; KHOURY, J. EI; LANDRETH, G. E.; BROSSERON, F.; FEINSTEIN, D. L.; JACOBS, A. H.; WYSS-CORAY, T.; VITORICA, J.; RANSOHOFF, R. M.; HERRUP, K.; FRAUTSCHY, S. A.; FINSSEN, B.; BROWN, G. C.; VERKHRATSKY, A.; YAMANAKA, K.; KOISTINAHO, J.; LATZ, E.; HALLE, A.; PETZOLD, G. C.; TOWN, T.; MORGAN, D.; SHINOHARA, M. L.; PERRY, V. H.; HOLMES, C.; BAZAN, N. G.; BROOKS, D. J.; HUNOT, S.; JOSEPH, B.; DEIGENDESCH, N.; GARASCHUK, O.; BODDEKE, E.; DINARELLO, C. A.; BREITNER, J. C.; COLE, G. M.; GOLENBOCK, D. T.; KUMMER, M. P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. **The Lancet Neurology**, v. 14, n. 4, p. 388–405, 2015.

HEPPNER, F. L.; RANSOHOFF, R. M.; BECHER, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 6, p. 358–372, 2015.

HIROKAWA, N.; TAKEMURA, R. Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 3, p. 201–214, 2005.

HOSOYA, K.; YAMAMOTO, A.; AKANUMA, S.; TACHIKAWA, M. Lipophilicity and transporter influence on blood-retinal barrier permeability: a comparison with blood-brain barrier permeability. **Pharmaceutical Research**, v. 27, p. 2715–2724, 2010.

IQBAL, K.; LIU, F.; GONG, C.-X.; GRUNDKE-IQBAL, I. Tau in Alzheimer Disease and related tauopathies. **Current Alzheimer Research**, v. 7, p. 656–664, 2010.

ISHIHARA, T.; HONG, M.; ZHANG, B.; NAKAGAWA, Y.; LEE, M. K.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M. Age-dependent emergence and progression of a tauopathy in transgenic mice overexpressing the shortest human tau isoform. **Neuron**, v. 24, p. 751–762, 1999.

ITO, T.; HANDA, H. Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity. **Congenital Anomalies**, v. 52, p. 1–7, 2012.

JARVIS, L. M. The next chapter in treating Alzheimer's. **Chemical and Engineering News**, v. 93, n. 22, p. 11, 2015.

KANSKI, J.; AKSENOVA, M.; STOYANOVA, A.; BUTTERFIELD, D. A. Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 5, p. 273–281, 2002.

KEPP, O.; GALLUZZI, L.; LIPINSKI, M.; YUAN, J.; KROEMER, G. Cell death assays for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 10, n. 3, p. 221–237, 1 mar. 2011.

KIM, G. H.; KIM, J. E.; RHIE, S. J.; YOON, S. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Experimental Neurobiology**, v. 24, n. 4, p. 325–340, 2015.

KITAZAWA, M.; YAMASAKI, T. R.; LAFERLA, F. M. Microglia as a potential bridge between the amyloid β -peptide and tau. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1035, p. 85–103, 2004.

KOFUJI, K.; NAKAMURA, M.; ISOBE, T.; MURATA, Y.; KAWASHIMA, S. Stabilization of α -lipoic acid by complex formation with chitosan. **Food Chemistry**, v. 109, p. 167–171, 2008.

KOLAROVA, M.; GARCÍA-SIERRA, F.; BARTOS, A.; RICNY, J.; RIPOVA, D. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. **International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 2012, p. 13, 2012.

KOLEVA, I. I.; VAN BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P. H.; GROOT, A. de; EVSTATIEVA, L. N. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8–17, jan. 2002.

KUMAR, A.; SINGH, A.; EKAVALI. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update. **Pharmacological Reports**, v. 67, p. 195–203, 2015.

LAMPIASI, N.; MONTANA, G. Immunobiology The molecular events behind ferulic acid mediated modulation of IL-6 expression in LPS-activated Raw 264 . 7 cells.

Immunobiology, v. 221, p. 486–493, 2016.

LEMOS, C. A.; HAZIN, I.; FALCÃO, J. T. da R. Investigação da memória autobiográfica em idosos com Demência de Alzheimer nas fases leve e moderada. **Estudos de Psicologia**, v. 17, n. 1, p. 135–144, 2012.

LI, G.; FU, J.; ZHAO, Y.; JI, K.; LUAN, T.; ZANG, B. Alpha-Lipoic Acid Exerts Anti-Inflammatory Effects on Lipopolysaccharide-Stimulated Rat Mesangial Cells via Inhibition of Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) Signaling Pathway. **Inflammation**, v. 38, n. 2, p. 510–519, 2015.

LI, P.-K.; PANDIT, B.; SACKETT, D. L.; HU, Z.; ZINK, J.; ZHI, J.; FREEMAN, D.; ROBEY, R. W.; WERBOVETZ, K.; LEWIS, A.; LI, C. A thalidomide analogue with in vitro antiproliferative, antimitotic, and microtubule-stabilizing activities. **Molecular cancer therapeutics**, v. 5, n. 2, p. 450–6, 2006.

LIMA, L. M.; CASTRO, P.; MACHADO, A. L.; FRAGA, C. A. M.; LUGNIER, C.; DE MORAES, V. L. G.; BARREIRO, E. J. Synthesis and anti-inflammatory activity of phthalimide derivatives, designed as new thalidomide analogues. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 9, p. 3067–3073, 2002.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. O renascimento de um fármaco: Talidomida. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 683–688, 2001.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; KOATZ, V. L. G.; BARREIRO, E. J. Thalidomide and analogs as anti-inflammatory and immunomodulator drug candidates. **Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 79–95, 2006.

LIN, Y. C.; LAI, Y.-S.; CHOU, T.-C. The protective effect of alpha-lipoic acid in lipopolysaccharide-induced acute lung injury is mediated by heme oxygenase-1. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and developmental settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3–26, 2001.

LIU, J. The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient α -lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: An overview. **Neurochemical Research**, v. 33, p. 194–203, 2008.

LOH, K. P.; HUANG, S. H.; DE SILVA, R.; TAN, B. K.; ZHU, Y. Z. Oxidative stress: apoptosis in neuronal injury. **Current Alzheimer Research**, v. 3, n. 4, p. 327–337, 2006.

LOKENS GARD, J. R.; HU, S.; VAN FENEMA, E. M.; SHENG, W. S.; PETERSON, P. K. Effect of thalidomide on chemokine production by human microglia. **The Journal of infectious diseases**, v. 182, p. 983–987, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10950803>>.

LUQUE-CONTRERAS, D.; CARVAJAL, K.; TORAL-RIOS, D.; FRANCO-BOCANEGRA, D.; CAMPOS-PEÑA, V. Oxidative stress and metabolic syndrome:

cause or consequence of Alzheimer's disease? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, 2014.

MADAWALA, S. R. P.; ANDERSSON, R. E.; JASTREBOVA, J. A.; ALMEIDA, M.; DUTTA, P. C. Novel Conjugates of 1,3-Diacylglycerol and Lipoic Acid: Synthesis, DPPH Assay, and RP-LC-MS-APCI Analysis. **Journal of Lipids**, v. 2011, p. 1–10, 2011.

MAJUMDER, S.; SREEDHARA, S. R. C.; BANERJEE, S.; CHATTERJEE, S. TNF α signaling beholds thalidomide saga: a review of mechanistic role of TNF- α signaling under thalidomide. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 12, n. 13, p. 1456–67, 2012.

MARTÍNEZ-FRÍAS, M. L. Talidomida: 50 años después. **Medicina Clinica**, v. 139, n. 1, p. 25–32, 2012.

MAURER, K.; VOLK, S.; GERBALDO, H. Auguste D and Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 349, p. 1906–1909, 1997.

MAURICE, J. WHO puts healthy ageing on the front burner. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 109–110, 2016.

MCKEAGE, K. Memantine - A review of its use in moderate to severe Alzheimer's Disease. **CNS Drugs**, v. 23, n. 10, p. 881–897, 2009.

MELCHERT, M.; LIST, A. The thalidomide saga. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 7–8, p. 1489–1499, 2007.

MENENDEZ-GONZALEZ, M.; PADILLA-ZAMBRANO, H. S.; ALVAREZ, G.; CAPETILLO-ZARATE, E.; TOMAS-ZAPICO, C.; COSTA, A. Targeting beta-amyloid at the CSF: a new therapeutic strategy in Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 10, p. 1–8, 2018.

MOINI, H.; PACKER, L.; SARIS, N. E. L. Antioxidant and prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 182, p. 84–90, 2002.

MOTA, S. I.; FERREIRA, I. L.; REGO, A. C. Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease – A focus on NMDA receptors. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 16–26, 2014.

MULLER, G. W.; CORRAL, L. G.; SHIRE, M. G.; WANG, H.; MOREIRA, A.; KAPLAN, G.; STIRLING, D. I. Structural modifications of thalidomide produce analogs with enhanced tumor necrosis factor inhibitory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 3238–3240, 1996.

MUSIAŁ, A.; BAJDA, M.; MALAWSKA, B. Recent developments in cholinesterases inhibitors for Alzheimer's disease treatment. **Current medicinal chemistry**, v. 14, p. 2654–2679, 2007.

NAGY, D. I.; GRÜN, A.; GREINER, I.; KEGLEVICH, G. The role of phosphorus trichloride and phosphorous acid in the formation of α -hydroxymethylenebisphosphonic acids from the corresponding carboxylic acids – A

mechanistic overview. **Current Organic Chemistry**, v. 21, p. 1567–1578, 2017.

OJHA, S.; JAVED, H.; AZIMULLAH, S.; KHAIR, S. B. A.; HAQUE, M. E. Neuroprotective potential of ferulic acid in the rotenone model of Parkinson's disease. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 9, p. 5499–5510, 2015.

ONO, K.; HIROHATA, M.; YAMADA, M. Ferulic acid destabilizes preformed β -amyloid fibrils in vitro. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 336, n. 2, p. 444–449, 2005.

ONOR, M. L.; TREVISIOL, M.; AGUGLIA, E. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2, n. 1, p. 17–32, 2007.

PACKER, L.; TRITSCHLER, H. J.; WESSEL, K. Neuroprotection by the metabolic antioxidant α -lipoic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 1–2, p. 359–378, 1997.

PALLICER, J. M.; SALLES, J.; ROSÉS, M.; RÀFOLS, C.; BOSCH, E. Lipophilicity assessment of basic drugs (log P(o/w) determination) by a chromatographic method. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 37, p. 6356–6386, 2011.

PANDIT, B.; HU, Z.; CHETTIAR, S. N.; ZINK, J.; XIAO, Z.; ETTER, J. P.; BHASIN, D.; LI, P. K. Structure-activity relationship studies of thalidomide analogs with a taxol-like mode of action. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 6902–6904, 2013.

PANNALA, A.; RAZAQ, R.; HALLIWELL, B.; SINGH, S.; RICE-EVANS, C. A. Inhibition of peroxynitrite dependent tyrosine nitration by hydroxycinnamates: nitration or electron donation? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 24, n. 4, p. 594–606, 1998.

PASQUALETTI, G.; BROOKS, D. J.; EDISON, P. The role of neuroinflammation in age-related dementias. **Current neurology and neuroscience reports**, v. 15, p. 17, 2015.

PERL, D. P. Neuropathology of Alzheimer's Disease. **The Mount Sinai journal of medicine**, v. 76, p. 32–42, 2010.

POCERNICH, C. B.; BUTTERFIELD, D. A. Elevation of glutathione as a therapeutic strategy in Alzheimer disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1822, n. 5, p. 625–630, 2012.

PRÄBST, K.; ENGELHARDT, H.; RINGGELER, S.; HÜBNER, H. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 1601, p. 1–17, 2017.

PRINCE, M.; WIMO, A.; GUERCHET, M.; GEMMA-CLAIRE, A.; WU, Y.-T.; PRINA, M. **World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends** **Alzheimer's Disease International**. Illinois, USA: The International Federation of Alzheimer's Disease and Related Disorders Societies, 2015. Disponível em: <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2015.pdf>.

QIN, Z.; LUO, J.; VANDEVREDE, L.; TAVASSOLI, E.; FA, M.; TEICH, A. F.; ARANCIO, O.; THATCHER, G. R. J. Design and synthesis of neuroprotective methylthiazoles and modification as NO-chimeras for neurodegenerative therapy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6784–6801, 2012.

QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. Alzheimer's Disease. **The New England journal of medicine**, v. 362, n. 4, p. 329–344, 2010.

QUINN, J. F.; BUSSIERE, J. R.; HAMMOND, R. S.; MONTINE, T. J.; HENSON, E.; JONES, R. E.; STACKMAN JR., R. W. Chronic dietary α -lipoic acid reduces deficits in hippocampal memory of aged Tg2576 mice. **Neurobiology of Aging**, v. 28, n. 2, p. 213–225, 2007.

RAMIREZ-BERMUDEZ, J. Alzheimer's Disease: critical notes on the history of a medical concept. **Archives of Medical Research**, v. 43, n. 8, p. 595–599, 2012.

REITZ, C.; MAYEUX, R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. **Biochemical pharmacology**, v. 88, p. 640–651, 2014.

RELIGA, D.; WINBLAD, B. Therapeutic strategies for Alzheimer's disease based on new molecular mechanisms. **Acta neurobiologiae experimentalis**, v. 63, p. 393–396, 2003.

ROSALES-CORRAL, S.; REITER, R. J.; TAN, D.-X.; ORTIZ, G. G.; LOPEZ-ARMAS, G. Functional aspects of redox control during neuroinflammation. **Antioxidants & redox signaling**, v. 13, n. 2, p. 193–247, 2010.

RUBIO-PEREZ, J. M.; MORILLAS-RUIZ, J. M. A Review: Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–15, 2012.

RYU, J. K.; MCLARNON, J. G. Thalidomide inhibition of perturbed vasculature and glial-derived tumor necrosis factor- α in an animal model of inflamed Alzheimer's disease brain. **Neurobiology of Disease**, v. 29, n. 2, p. 254–266, 2008.

SAMPAIO, E. P.; SARNO, E. N.; GALILLY, R.; COHN, Z. A.; KAPLAN, G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. **The Journal of experimental medicine**, v. 173, n. 3, p. 699–703, 1991.

SCHELTENS, P.; BLENNOW, K.; BRETELER, M. M. B.; DE STROOPER, B.; FRISONI, G. B.; SALLOWAY, S.; VAN DER FLIER, W. M. Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 388, p. 505–517, 2016.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de Psiquiatria**, v. 30, n. 1, p. 0–0, 2008.

SGARBOSSA, A.; GIACOMAZZA, D.; DI CARLO, M.; SGARBOSSA, A.; GIACOMAZZA, D.; DI CARLO, M. Ferulic Acid: A Hope for Alzheimer's Disease Therapy from Plants. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5764–5782, 15 jul. 2015.

SHAHWAR, D.; REHMAN, S. U.; RAZA, M. A. Acetyl cholinesterase inhibition potential and antioxidant activities of ferulic acid isolated from *Impatiens bicolor* Linn. **Journal**

of **Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 3, p. 260–266, 2010.

SHARMA, V. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and involvement of interleukin-1: a mechanistic view. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 3, n. 4, p. 287–291, 2011.

SHARMA, V.; THAKUR, V.; SINGH, S. N.; GULERIA, R. Tumor necrosis factor and Alzheimer's Disease: a cause and consequence relation. **Bulletin of Clinical Psychopharmacology**, v. 22, n. 1, p. 86–97, 2012.

SILVA, I. C.; POLAQUINI, C. R.; REGASINI, L. O.; FERREIRA, H.; PAVAN, F. R. Evaluation of cytotoxic, apoptotic, mutagenic, and chemopreventive activities of semi-synthetic esters of gallic acid. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 300–307, 2017.

SOLMONSON, A.; DEBERARDINIS, R. J. Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 20, p. 7522–7530, 2018.

SONTAG, E.; HLADIK, C.; MONTGOMERY, L.; LUANGPIROM, A.; MUDRAK, I.; OGRIS, E.; WHITE III, C. L. Downregulation of protein phosphatase 2A carboxyl methylation and methyltransferase may contribute to Alzheimer Disease pathogenesis. **Journal of neuropathology and experimental neurology**, v. 63, n. 10, p. 1080–1091, 2004.

STIRLING, D. I. Thalidomide and its impact in dermatology. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 17, n. 4, p. 231–242, 1998.

TARKOWSKI, E.; ANDREASEN, N.; TARKOWSKI, A.; BLENNOW, K. Intrathecal inflammation precedes development of Alzheimer's disease. **Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry**, v. 74, n. 9, p. 1200–5, 2003a.

TARKOWSKI, E.; LILJEROTH, A.; MINTHON, L.; TARKOWSKI, A.; WALLIN, A.; BLENNOW, K. Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. **Brain Research Bulletin**, v. 61, n. 3, p. 255–260, 2003b.

TELPOUKHOVSKAIA, M. a.; ORVIG, C. Werner coordination chemistry and neurodegeneration. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 4, p. 1836–1846, 2013.

TESTA, B.; CRIVORI, P.; REIST, M.; CARRUPT, P. A. The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concepts and examples. **Perspectives in Drug Discovery and Design**, v. 19, n. 1, p. 179–211, 2000.

TOBINICK, E.; GROSS, H.; WEINBERGER, A.; COHEN, H. TNF-alpha modulation for treatment of Alzheimer's disease: a 6-month pilot study. **MedGenMed: Medscape general medicine. [electronic resource]**, v. 8, n. 2, p. 25, 2006.

TÖRÖK, B.; SOOD, A.; BAG, S.; TULSAN, R.; GHOSH, S.; BORKIN, D.; KENNEDY, A. R.; MELANSON, M.; MADDEN, R.; ZHOU, W.; LEVINE, H.; TÖRÖK, M. Diaryl hydrazones as multifunctional inhibitors of amyloid self-assembly. **Biochemistry**, v. 52, n. 7, p. 1137–48, 19 fev. 2013.

TRIPPIER, P. C.; LABBY, K. J.; HAWKER, D. D.; MATAKA, J. J.; SILVERMAN, R. B.

Target- and Mechanism-Based Therapeutics for Neurodegenerative Diseases: Strength in Numbers. **Journal of medicinal chemistry**, v. 56, n. 8, p. 3121–47, 2013.

TSAI, F.-S.; WU, L.-Y.; YANG, S.-E.; CHENG, H.-Y.; TSAI, C.-C.; WU, C.-R.; LIN, L.-W. Ferulic acid reverses the cognitive dysfunction caused by amyloid β peptide 1-40 through anti-oxidant activity and cholinergic activation in rats. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, n. 2, p. 319–335, 2015.

TSAKOS, M.; SCHAFFERT, E. S.; CLEMENT, L. L.; VILLADSEN, N. L.; POULSEN, T. B. Ester coupling reactions - an enduring challenge in the chemical synthesis of bioactive natural products. **Natural Product Reports**, v. 32, p. 605–632, 2015.

TWEEDIE, D.; FERGUSON, R. A.; FISHMAN, K.; FRANKOLA, K. A.; PRAAG, H. Van; HOLLOWAY, H. W.; LUO, W.; LI, Y.; CARACCILO, L.; RUSSO, I.; BARLATI, S.; RAY, B.; LAHIRI, D. K.; BOSETTI, F.; GREIG, N. H.; ROSI, S. Tumor necrosis factor- α synthesis inhibitor 3,6'-dithiothalidomide attenuates markers of inflammation, Alzheimer pathology and behavioral deficits in animal models of neuroinflammation and Alzheimer's disease. **Journal of neuroinflammation**, v. 9, p. 106, 2012.

TWEEDIE, D.; LUO, W.; SHORT, R. G.; BROSSI, A.; HOLLOWAY, H. W.; LI, Y.; YU, Q.; GREIG, N. H. A cellular model of inflammation for identifying TNF- α synthesis inhibitors. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 183, n. 2, p. 182–187, 15 out. 2009.

VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amide bond formation: Beyond the myth of coupling reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 606–631, 2009.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44–84, 2007.

VARGESSON, N. Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms. **Birth Defects Research (Part C)**, v. 105, p. 140–156, 2015.

VENIGALLA, M.; GYENGESI, E.; SHARMAN, M. J.; MÜNCH, G. Novel promising therapeutics against chronic neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Neurochemistry International**, p. 1–12, 2015.

VERSCHUEREN, W. G.; DIERYNCK, I.; AMSSOMS, K. I. E.; HU, L.; BOONANTS, P. M. J. G.; PILLE, G. M. E.; DAEYAERT, F. F. D.; HERTOOGS, K.; SURLERAUX, D. L. N. G.; WIGERINCK, P. B. T. P. Design and optimization of tricyclic phtalimide analogues as novel inhibitors of HIV-1 integrase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, p. 1930–1940, 2005.

VON BERNHARDI, R.; EUGENIN, J. Microglial reactivity to β -amyloid is modulated by astrocytes and proinflammatory factors. **Brain Research**, v. 1025, n. 1–2, p. 186–193, 2004.

WOLFE, M. S. Introduction to special issue on Alzheimer's Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8977–78, 2012.

WONG, A.; DUKIC-STEFANOVIC, S.; GASIC-MILENKOVIC, J.; SCHINZEL, R.; WIESINGER, H.; RIEDERER, P.; MÜNCH, G. Anti-inflammatory antioxidants

attenuate the expression of inducible nitric oxide synthase mediated by advanced glycation endproducts in murine microglia. **European Journal of Neuroscience**, v. 14, p. 1961–1967, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World report on ageing and health**. Geneva, Switzerland, 2015. ISBN: 9789241565042. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/186463/9789240694811_eng.pdf?sequence=1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The top 10 causes of death**. Disponível em: <http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death/top_10/en/>. Acesso em: 12 jul. 2018.

YAN, M. H.; WANG, X.; ZHU, X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 62, p. 90–101, 2013.

YIANNPOULOU, K. G.; PAPAGEORGIOU, S. G. Current and future treatments for Alzheimer's disease. **Therapeutic advances in neurological disorders**, v. 6, p. 19–33, 2013.

YIN, Z. N.; WU, W. J.; SUN, C. Z.; LIU, H. F.; CHEN, W. B.; ZHANG, Q. P.; LEI, Z. G.; XUAN, X.; MA, J. J.; YAO, K.; MIN, T.; ZHANG, M. M.; WU, H. Antioxidant and anti-inflammatory capacity of ferulic acid released from Wheat Bran by solid-state fermentation of *Aspergillus niger*. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 32, n. 1, p. 11–21, 2019.

YOON, S. S.; JO, S. A. Mechanisms of amyloid- β peptide clearance: potential therapeutic targets for Alzheimer's disease. **Biomolecules and Therapeutics**, v. 20, n. 3, p. 245–255, 2012.

ZHANG, B.; MAITI, A.; SHIVELY, S.; LAKHANI, F.; MCDONALD-JONES, G.; BRUCE, J.; LEE, E. B.; XIE, S. X.; JOYCE, S.; LI, C.; TOLEIKIS, P. M.; LEE, V. M.-Y.; TROJANOWSKI, J. Q. Microtubule-binding drugs offset tau sequestration by stabilizing microtubules and reversing fast axonal transport deficits in a tauopathy model. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 1, p. 227–231, 2005.

ZHANG, L.; XING, G. Q.; BARKER, J. L.; CHANG, Y.; MARIC, D.; MA, W.; LI, B. S.; RUBINOW, D. R. α -lipoic acid protects rat cortical neurons against cell death induced by amyloid and hydrogen peroxide through the Akt signalling pathway. **Neuroscience letters**, v. 312, n. 3, p. 125–8, 2001.

ZHANG, X.; HE, X.; CHEN, Q.; LU, J.; RAPPOSELLI, S.; PI, R. A review on the hybrids of hydroxycinnamic acid as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 543–550, 2018.

APÊNDICE

Espectros de RMN dos compostos sintetizados

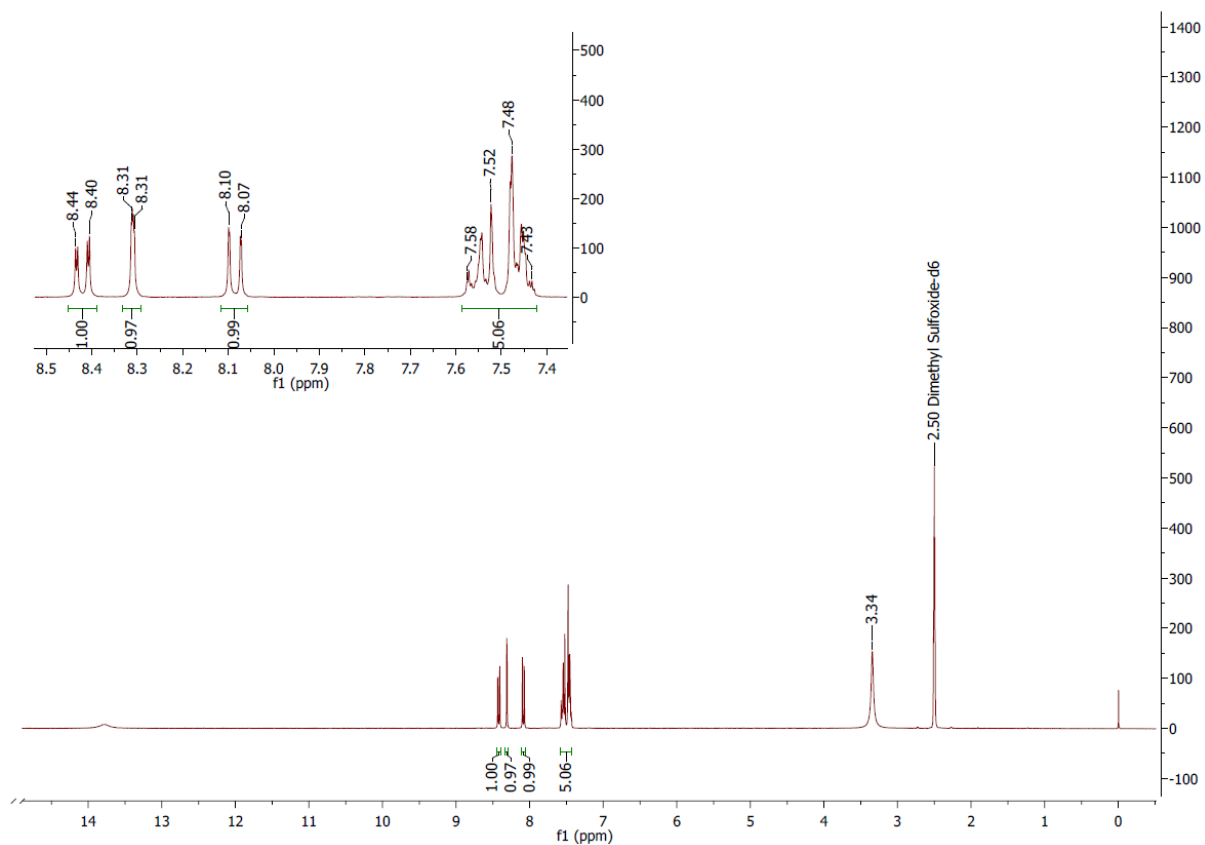


Figura A1. Espectro de RMN de ¹H do composto 3 (300 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,42 (dd, $J = 7,7; 1,4$ Hz, 1H), 8,31 (dd, $J = 1,4; 0,6$ Hz, 1H), 8,09 (dd, $J = 7,7; 0,6$ Hz, 1H), 7,43 – 7,58 (m, 5H).

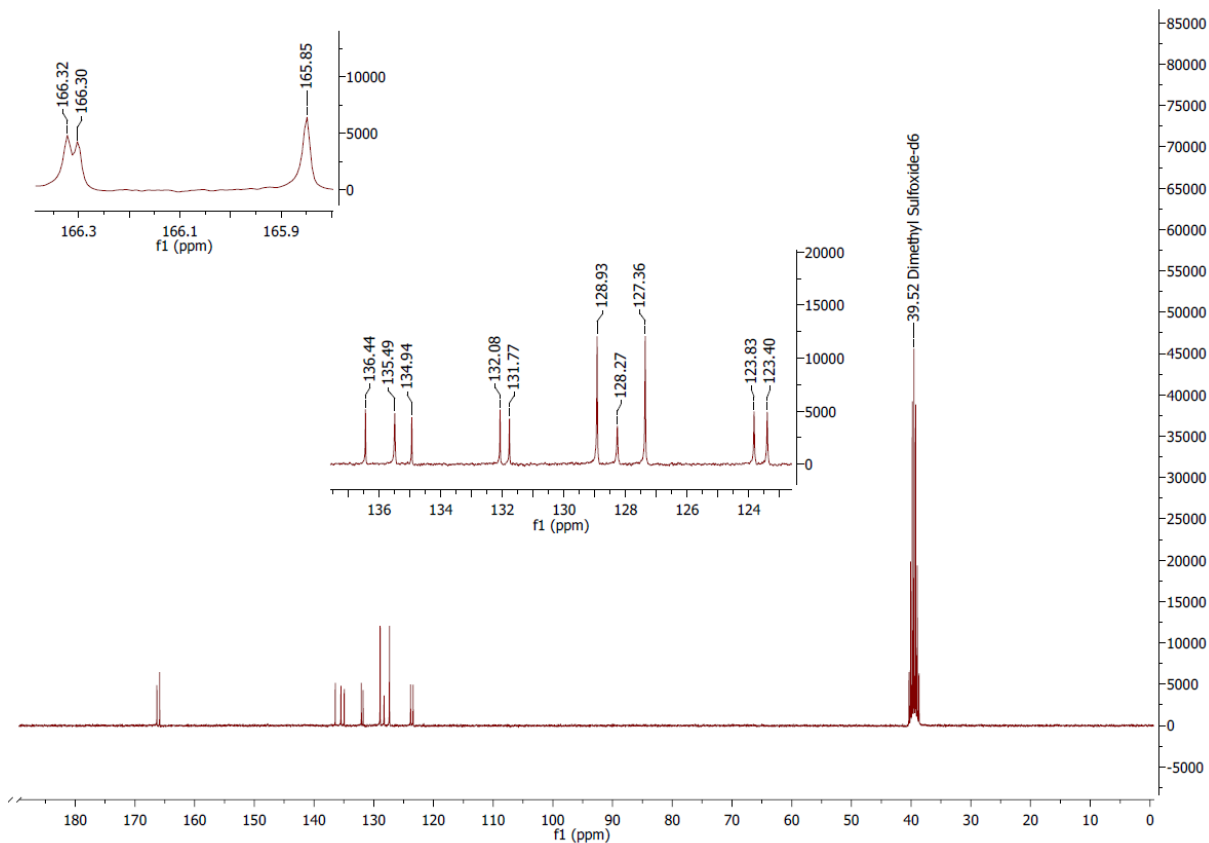


Figura A2. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3 (75 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 166,32; 166,30; 165,35; 136,44; 135,49; 134,94; 132,08; 131,77; 128,93; 128,27; 127,36; 123,83; 123,40.

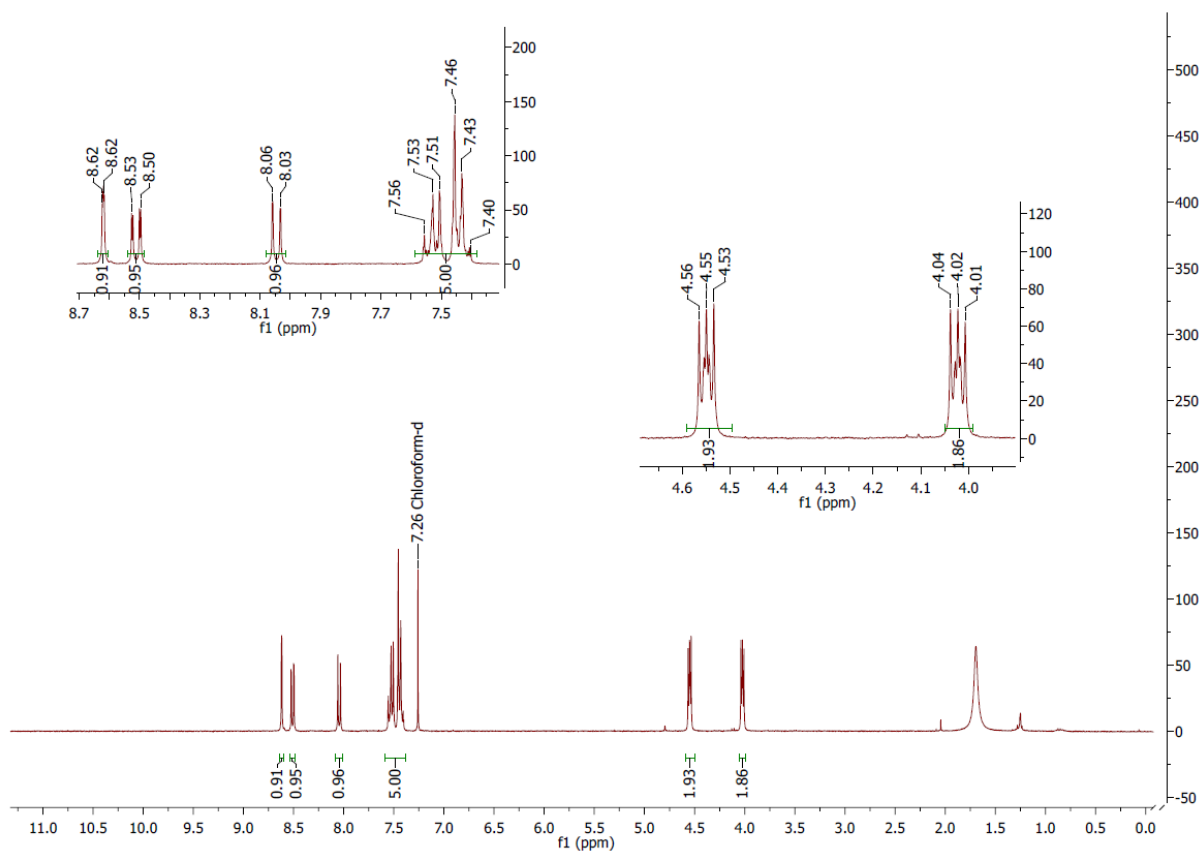


Figura A3. Espectro de RMN de ¹H do composto 6 (300 MHz, CDCl₃)

RMN de ¹H: δ 8,62 (dd, J = 1,4; 0,7 Hz, 1H), 8,51 (dd, J = 7,8; 1,4 Hz, 1H), 8,05 (dd, J = 7,8; 0,7 Hz, 1H), 7,40 – 7,58 (m, 5H), 4,53 – 4,57 (m, 2H), 4,01 – 4,04 (m, 2H).

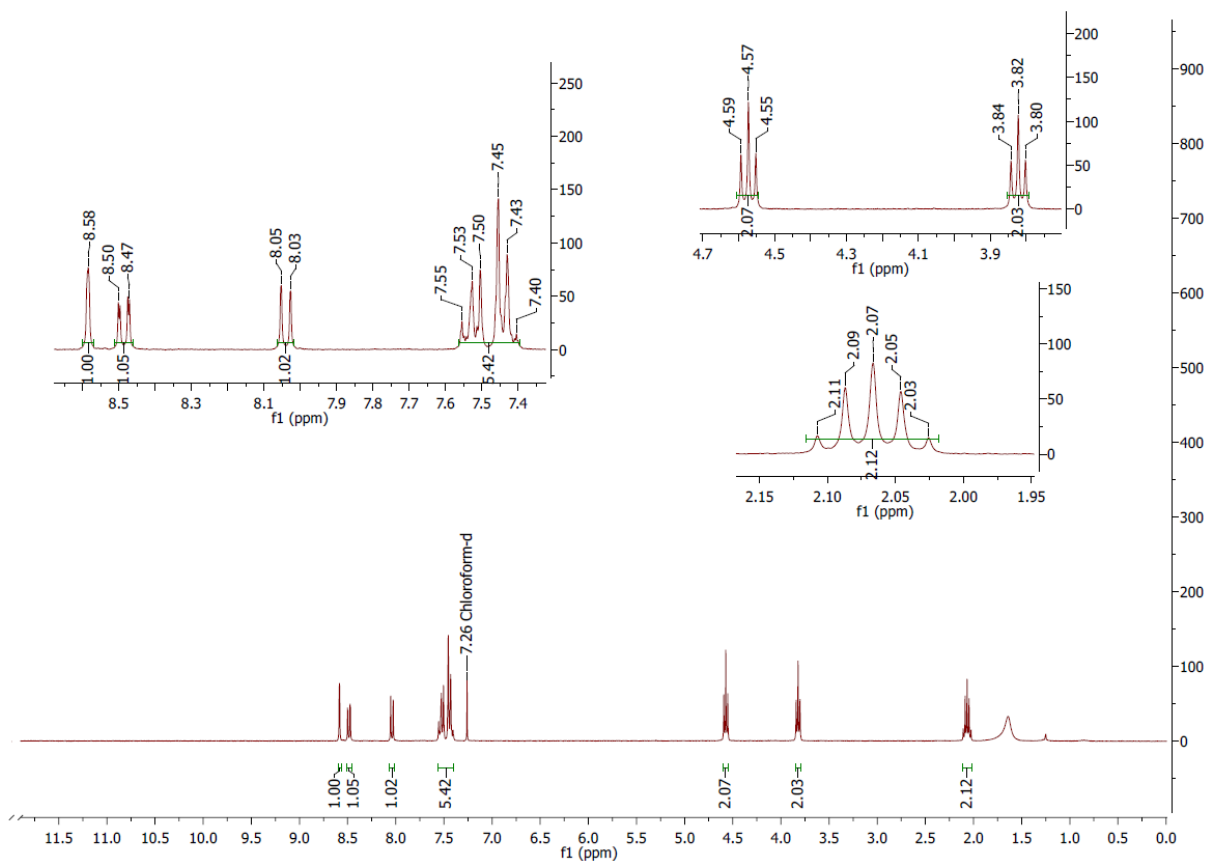


Figura A4. Espectro de RMN de 1H do composto 7 (300 MHz, CDCl₃)

RMN de 1H: δ 8,58 – 8,59 (m, 1H), 8,49 (dd, $J = 7,8; 1,4$ Hz, 1H), 8,04 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,40 – 7,56 (m, 5H), 4,57 (t, 2H), 3,82 (t, 2H), 2,07 (qui, 2H).

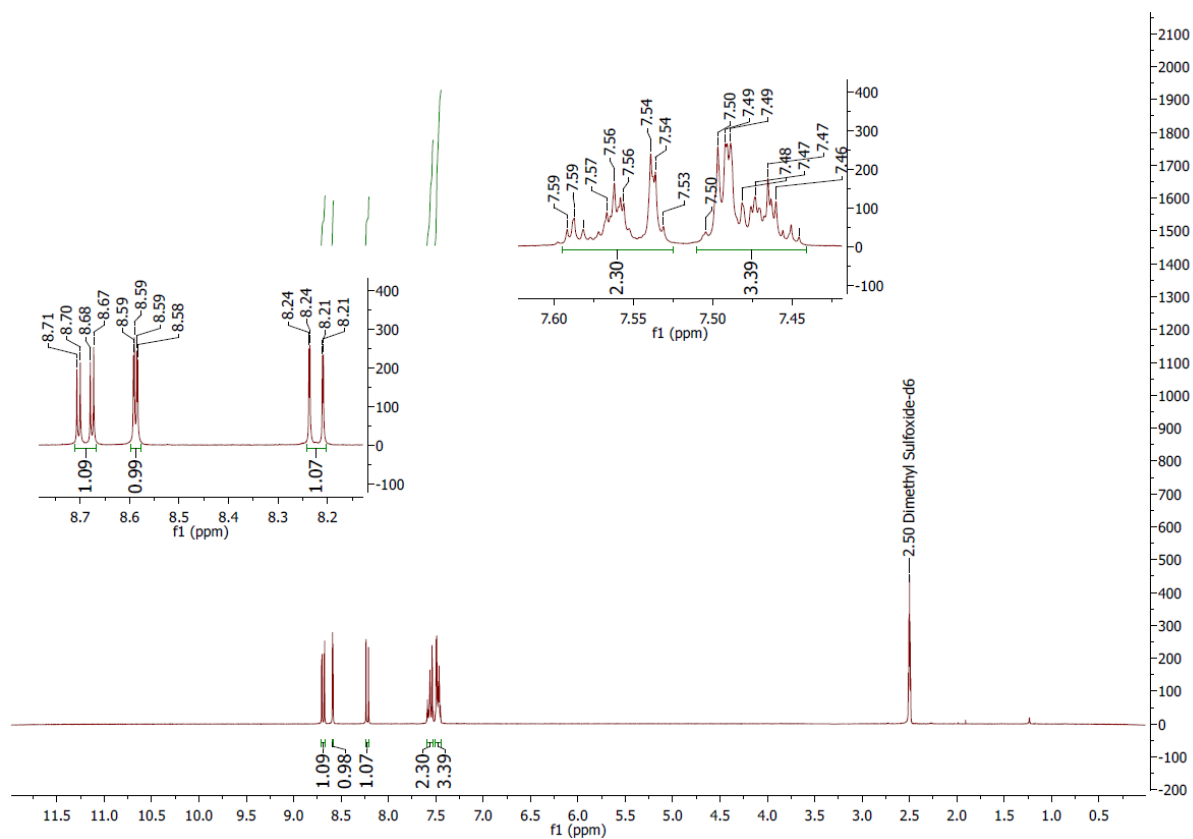


Figura A5. Espectro de RMN de ¹H do composto 10 (300 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,69 (dd, J = 8,1; 2,0 Hz, 1H), 8,59 (dd, J = 2,0; 0,6 Hz, 1H), 8,22 (dd, J = 8,1; 0,6 Hz, 1H), 7,53 – 7,59 (m, 2H), 7,45 – 7,51 (m, 3H).

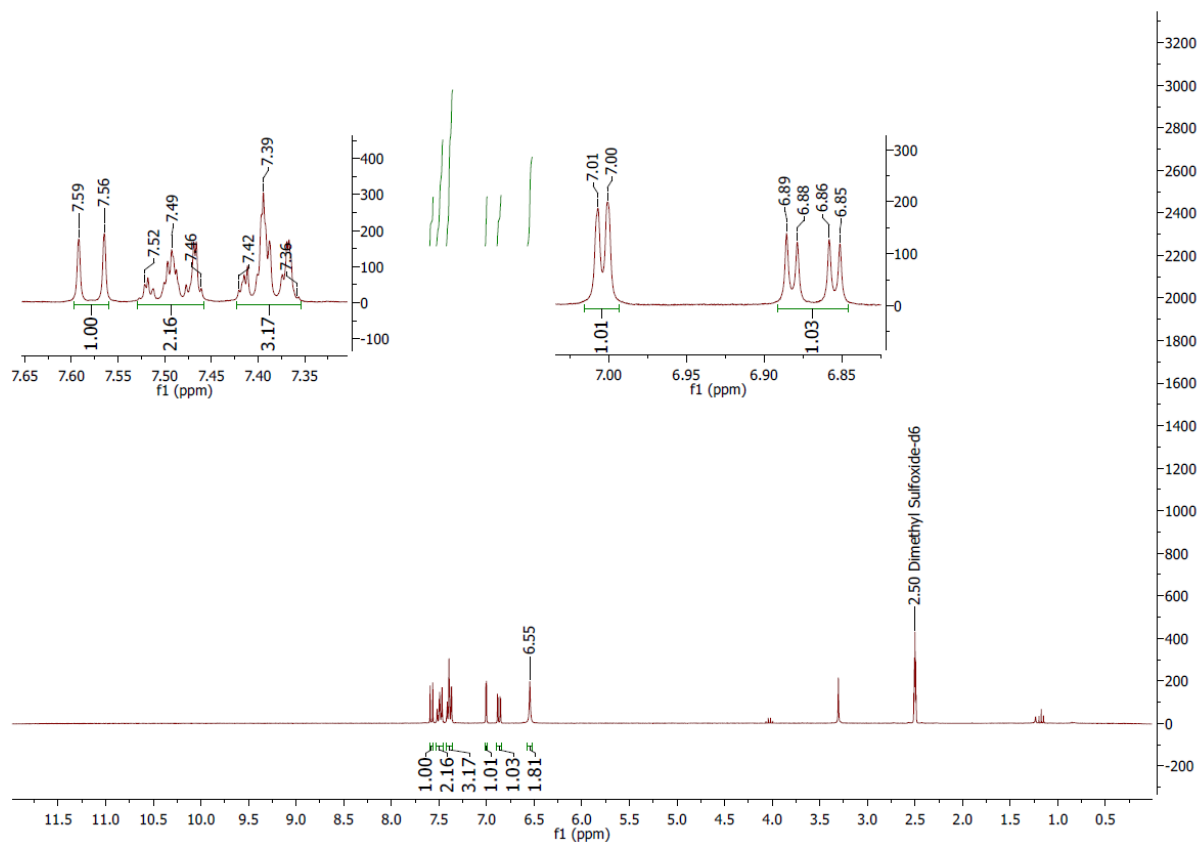


Figura A6. Espectro de RMN de 1H do composto 12 (300 MHz, DMSO)

RMN de 1H: δ 7,58 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,46 – 7,52 (m, 2H), 7,36 – 7,42 (m, 3H), 7,00 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 8,2; 2,0$ Hz, 1H), 6,55 (s, 2H).

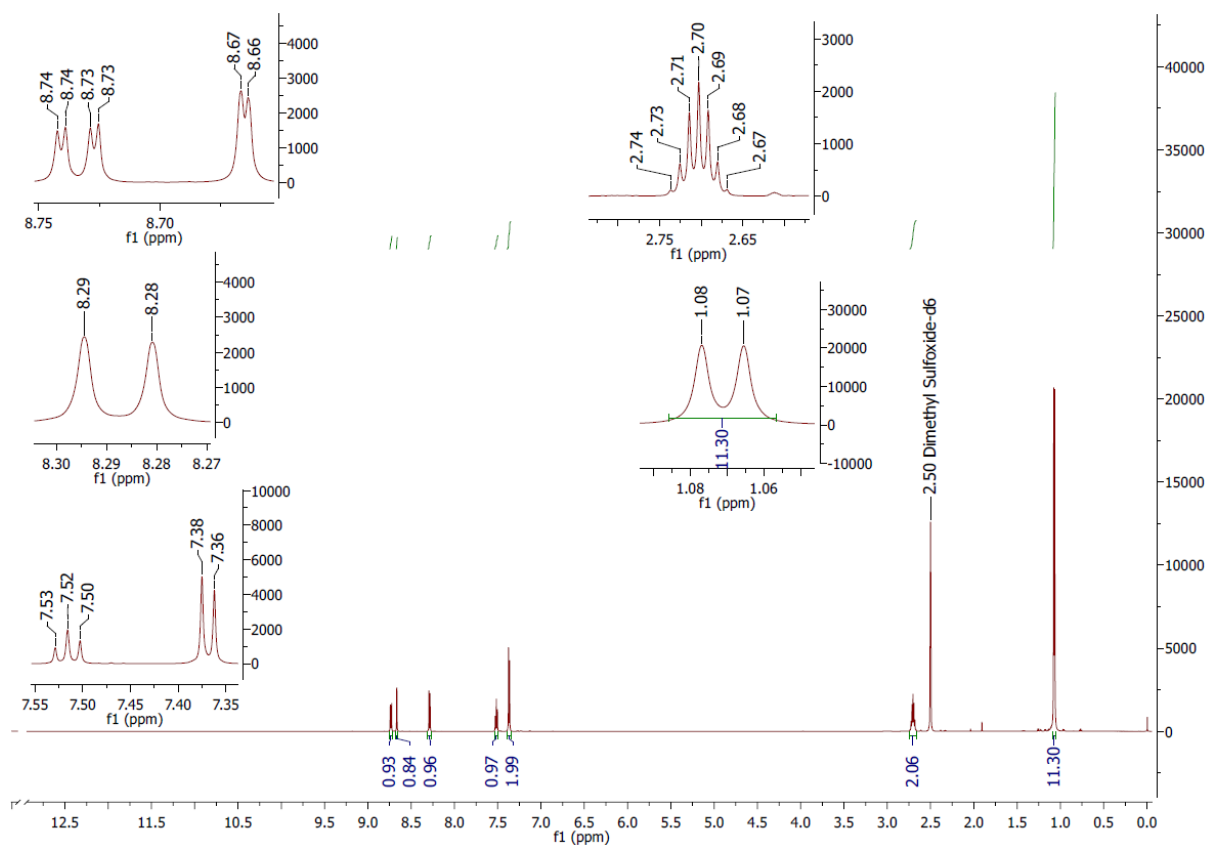


Figura A7. Espectro de RMN de ^1H do composto 11 (300 MHz, DMSO)

RMN de ^1H : δ 8,73 (dd, $J = 8,2; 2,0$ Hz, 1H), 8,67 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,29 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,52 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,70 (hept, 2H), 1,07 (d, 12H).

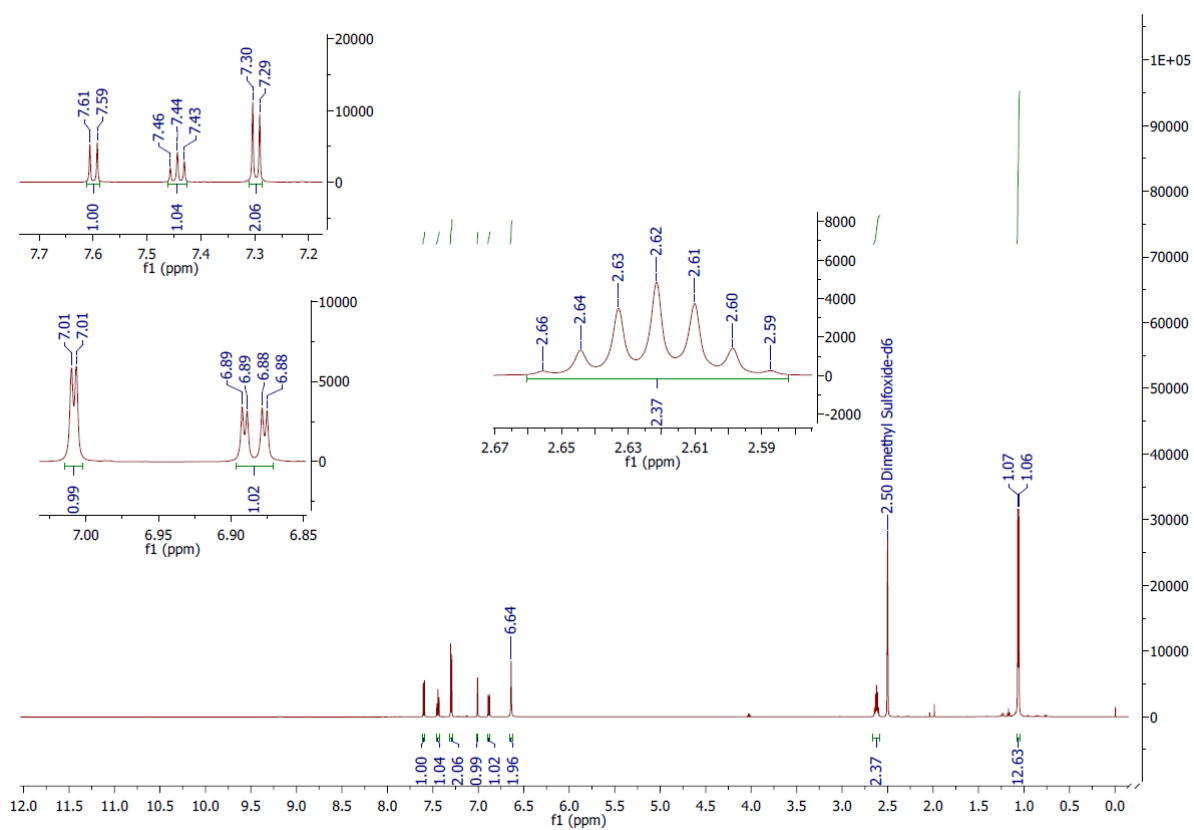


Figura A8. Espectro de RMN de ¹H do composto 13 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 7,60 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,44 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,01 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,88 (dd, J = 8,2; 2,0 Hz, 1H), 6,64 (s, 2H), 2,62 (hept, 2H), 1,06 (d, 12H).

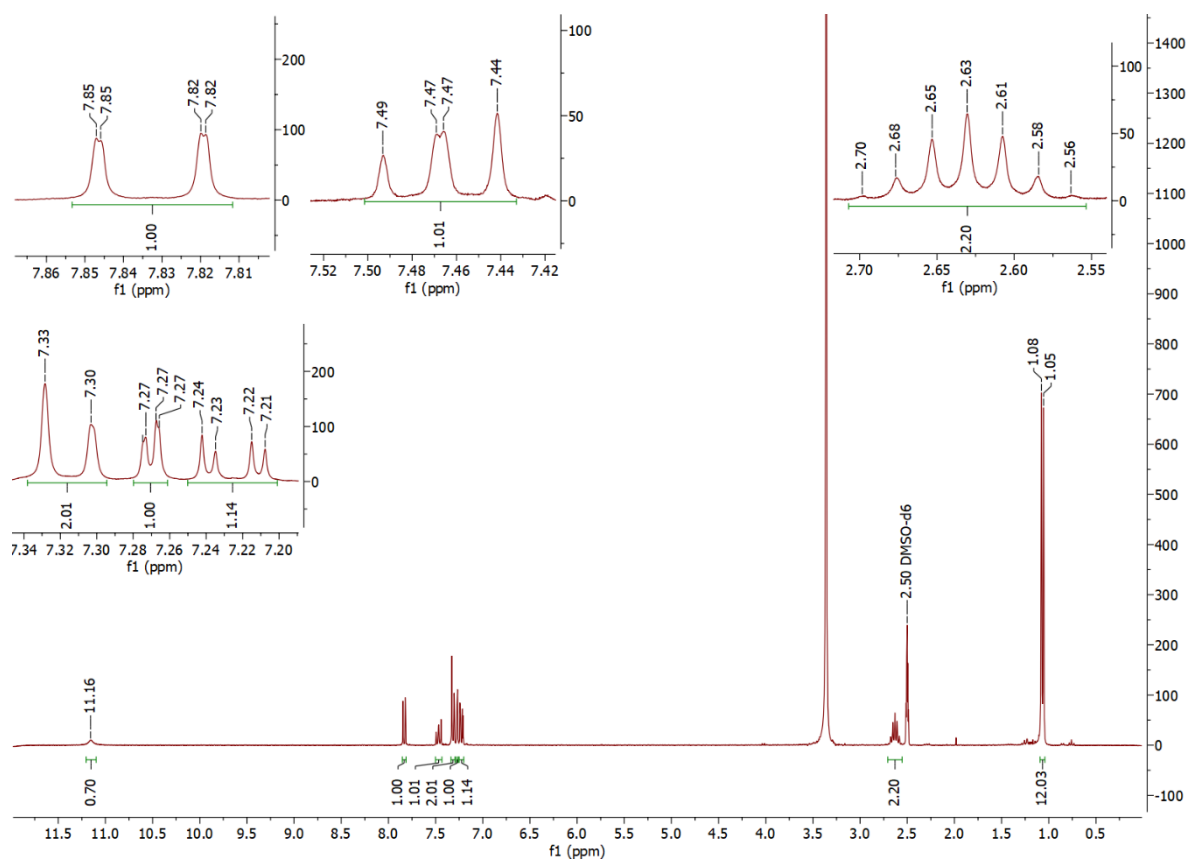


Figura A9. Espectro de RMN de ^1H do composto 15 (300 MHz, DMSO)

RMN de ^1H : δ 11,16 (s, 1H), δ 7,83 (dd, $J = 0,5; 8,2$ Hz, 1H), 7,47 (dd, $J = 7,1; 8,3$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,27 (dd, $J = 0,5; 2,2$ Hz, 1H), 7,22 (dd, $J = 8,2; 2,2$ Hz, 1H), 2,63 (hept, 2H), 1,07 (d, 12H).

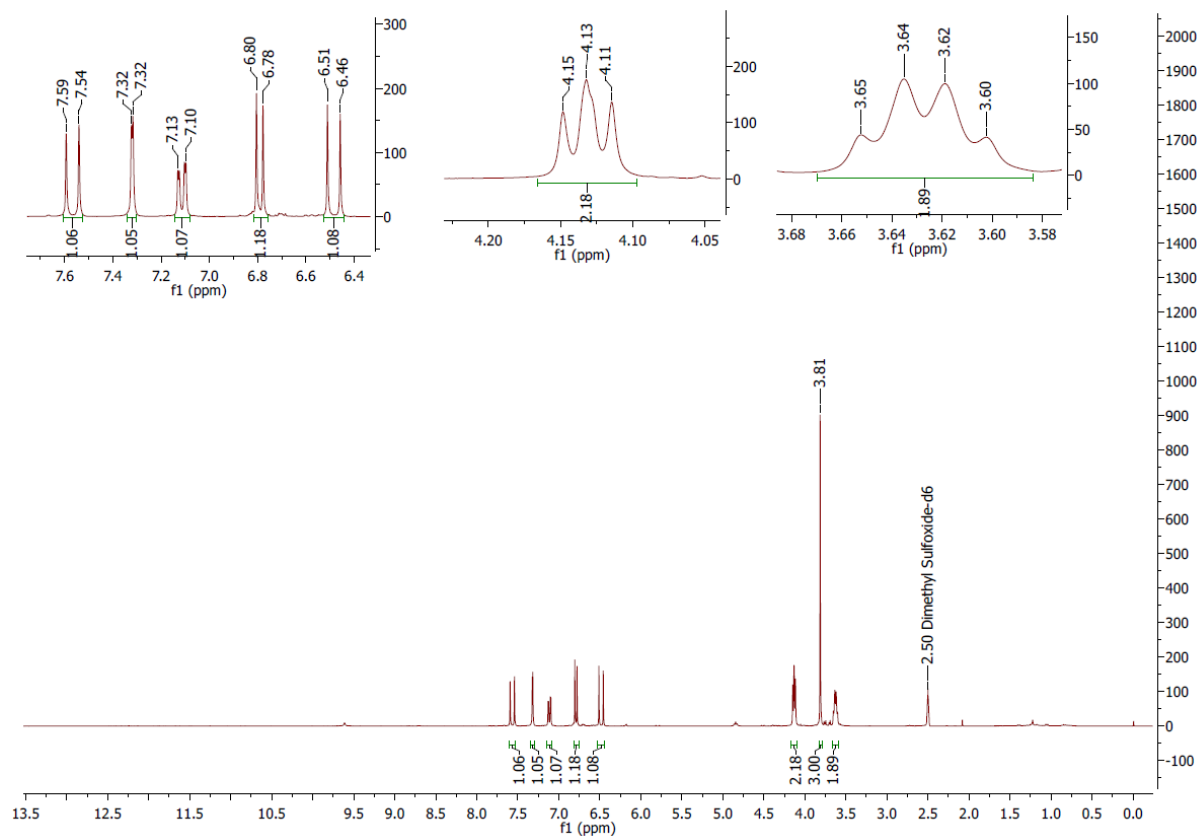


Figura A10. Espectro de RMN de ^1H do composto 17 (300 MHz, DMSO)

RMN de ^1H : δ 7,57 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,11 (dd, $J = 8,2, 1,8$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 4,13 (t, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,63 (q, 2H).

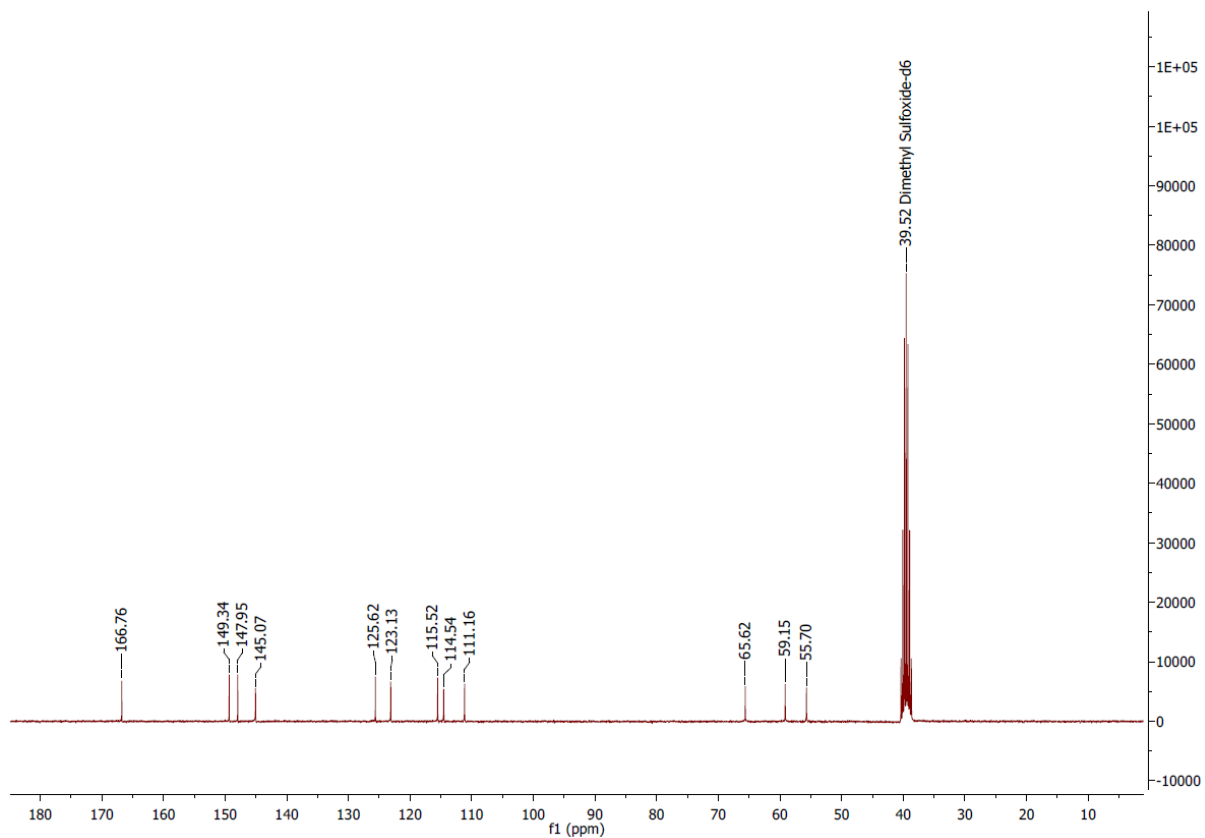


Figura A11. Espectro de RMN de ¹³C do composto 17 (75 MHz, DMSO)

RMN de ¹³C: δ 166,76; 149,34; 147,95; 145,07; 125,62; 123,13; 115,52; 114,54; 111,16; 65,62; 59,15; 55,70.

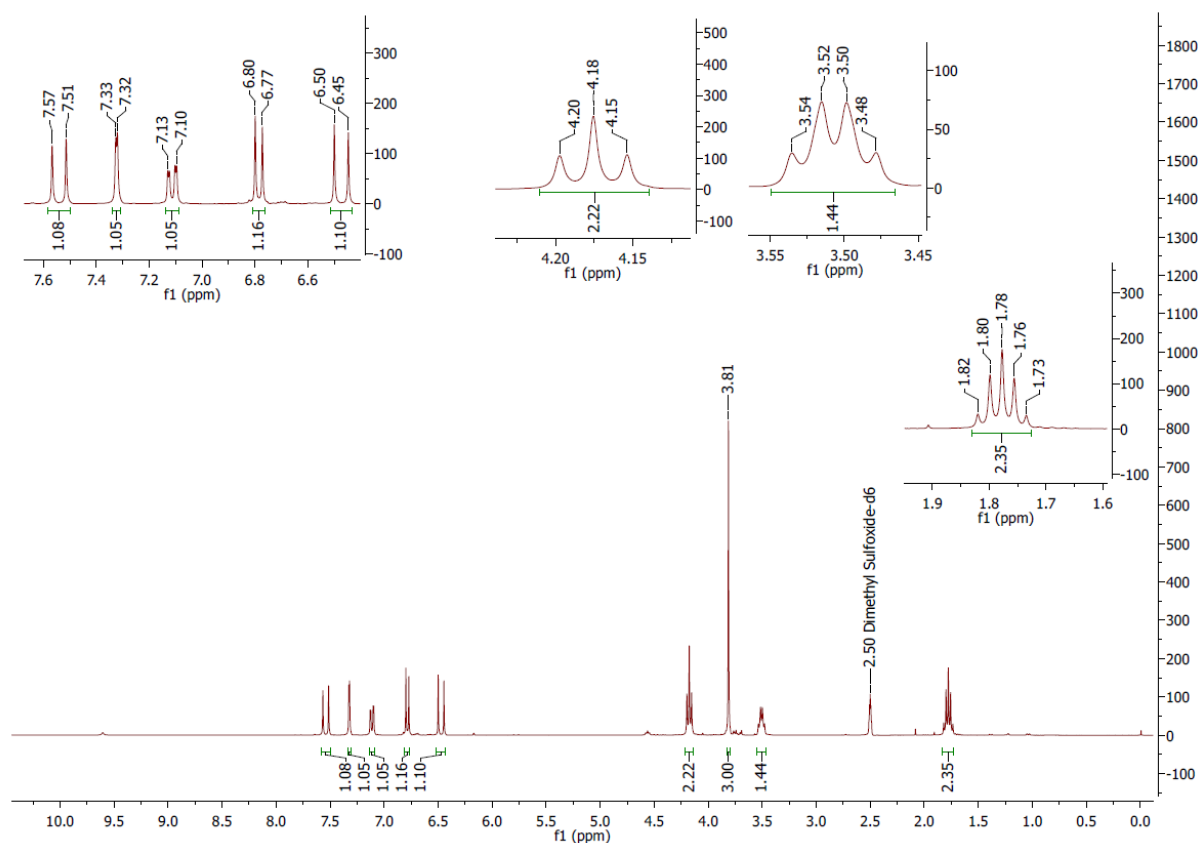


Figura A12. Espectro de RMN de ¹H do composto 18 (300 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 7,54 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,11 (dd, $J = 8,2; 1,8$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,47 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 4,18 (t, 2H), 3,51 (q, 2H), 1,78 (qui, 2H).

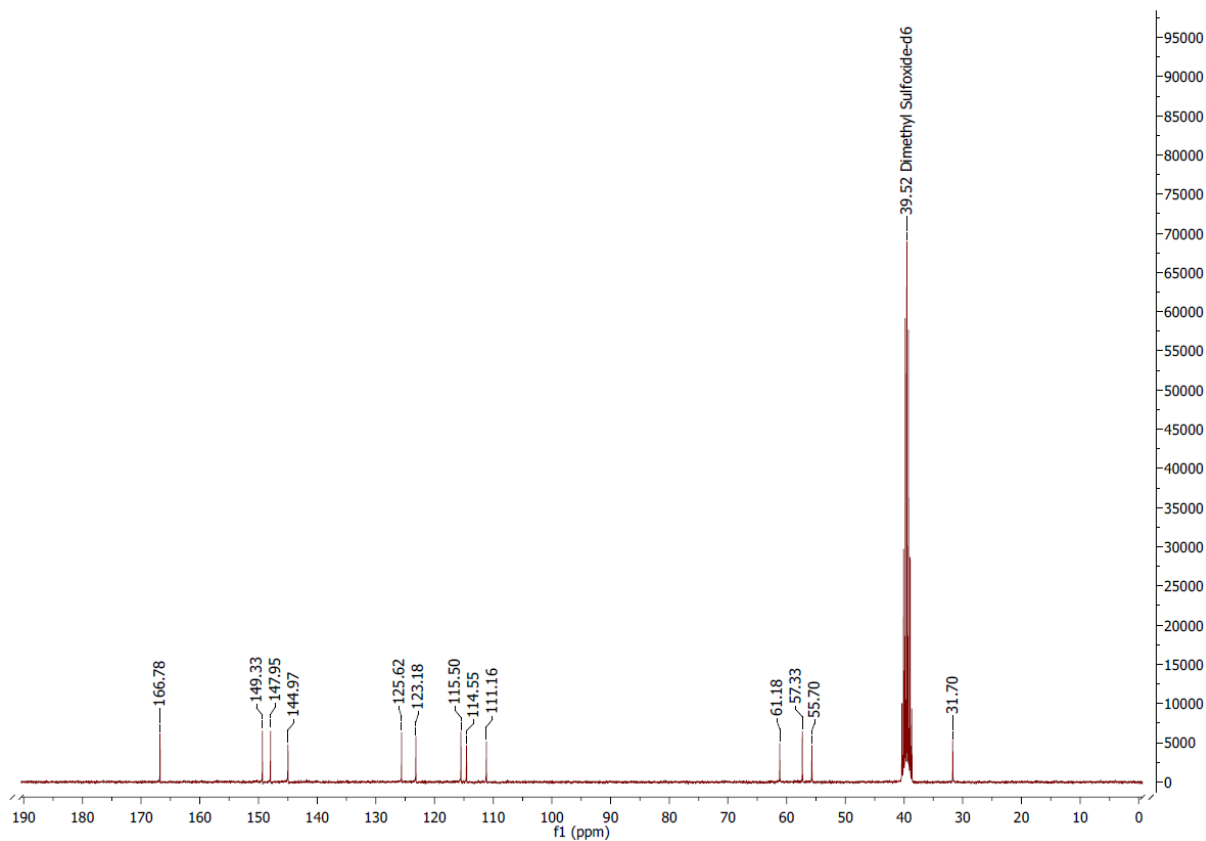


Figura A13. Espectro de RMN de ¹³C do composto 18 (75 MHz, DMSO)

RMN de ¹³C: δ 166,78; 149,33; 147,95; 144,97; 125,62; 123,18; 115,50; 114,55; 111,16; 61,18; 57,33; 55,70; 31,70.

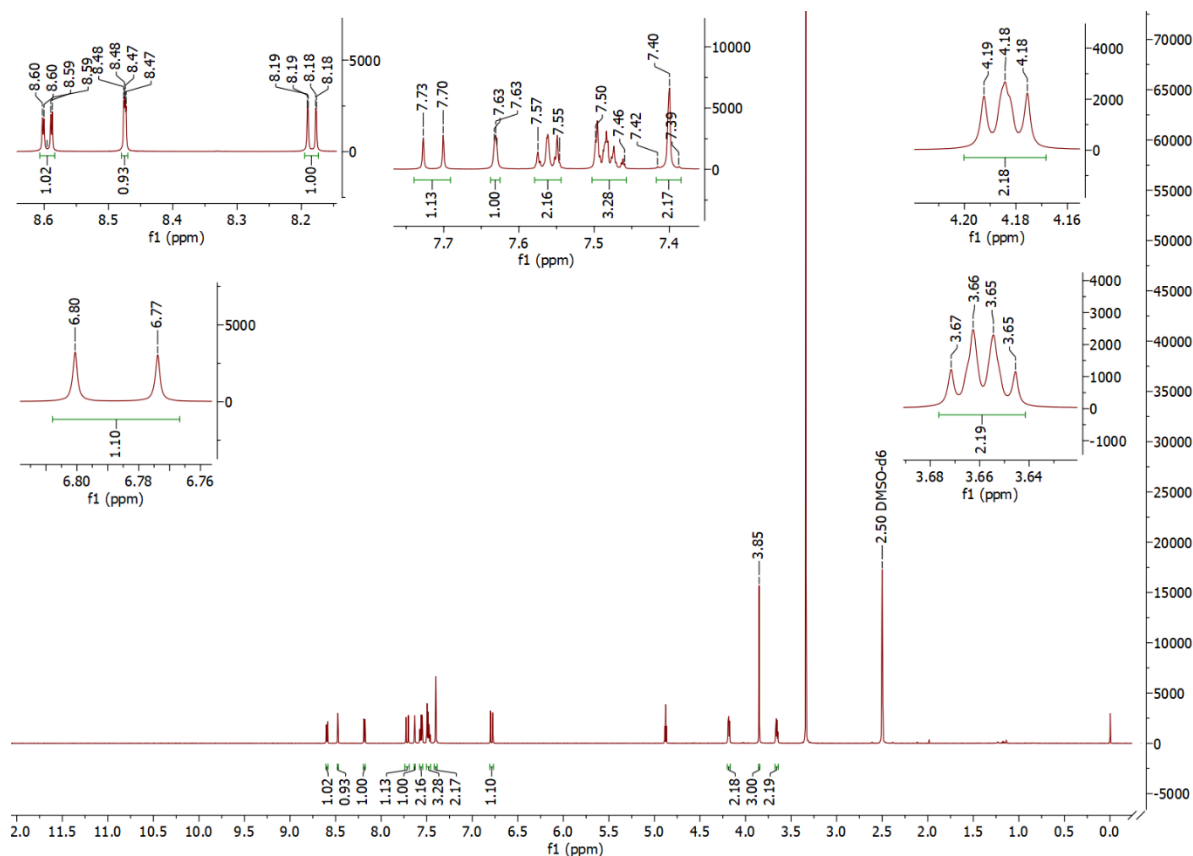


Figura A14. Espectro de RMN de ¹H do composto 19 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,60 (dd, $J = 7,8; 1,5$ Hz, 1H), 8,47 (dd, $J = 1,5; 0,7$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 7,63 (t, $J = 1,1$ Hz, 1H), 7,55 – 7,57 (m, 2H), 7,46 – 7,50 (m, 3H), 7,39 – 7,42 (m, 2H), 6,79 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 4,18 (t, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,66 (q, 2H).

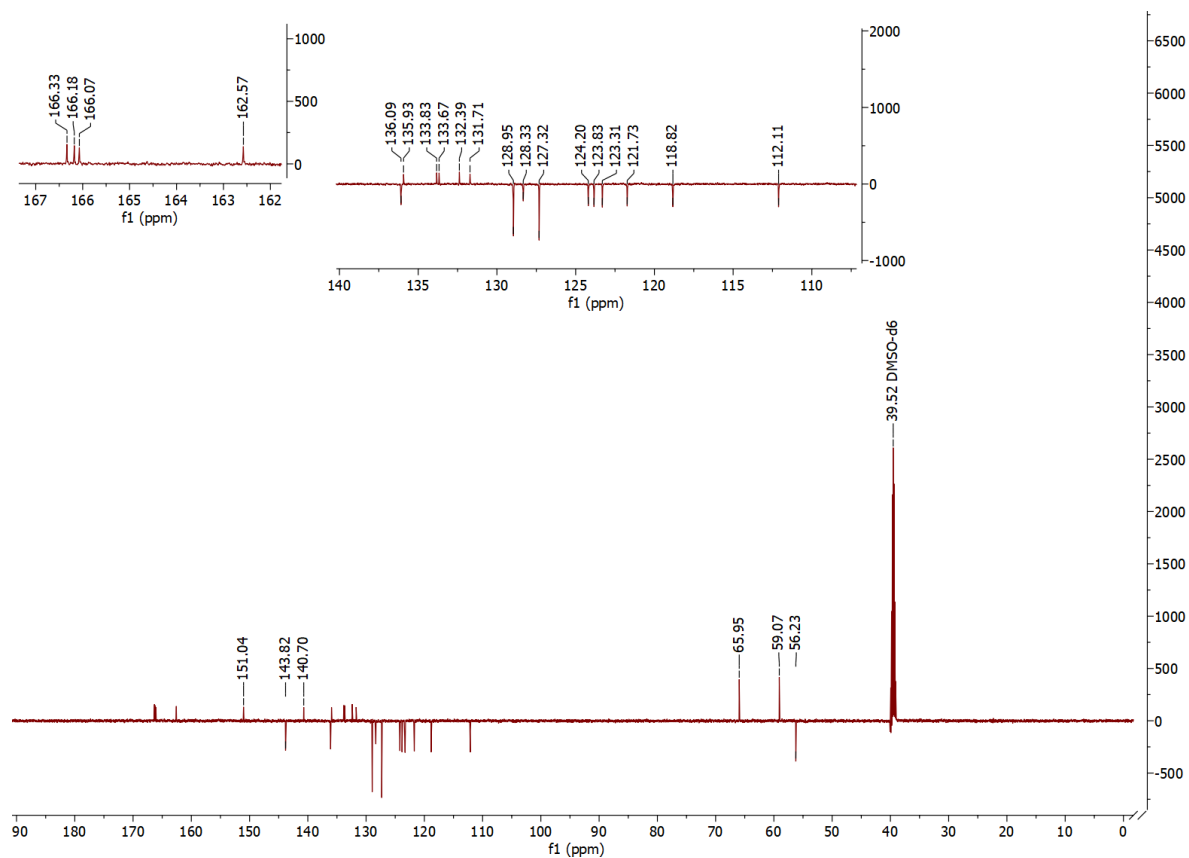


Figura A15. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 19 (150 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 166,33; 166,18; 166,07; 162,57; 151,04; 143,82; 140,70; 136,09; 135,93; 133,83; 133,67; 132,39; 131,71; 128,95; 128,33; 127,32; 124,20; 123,84; 123,31; 121,73; 118,62; 112,11; 65,95; 59,07; 56,23.

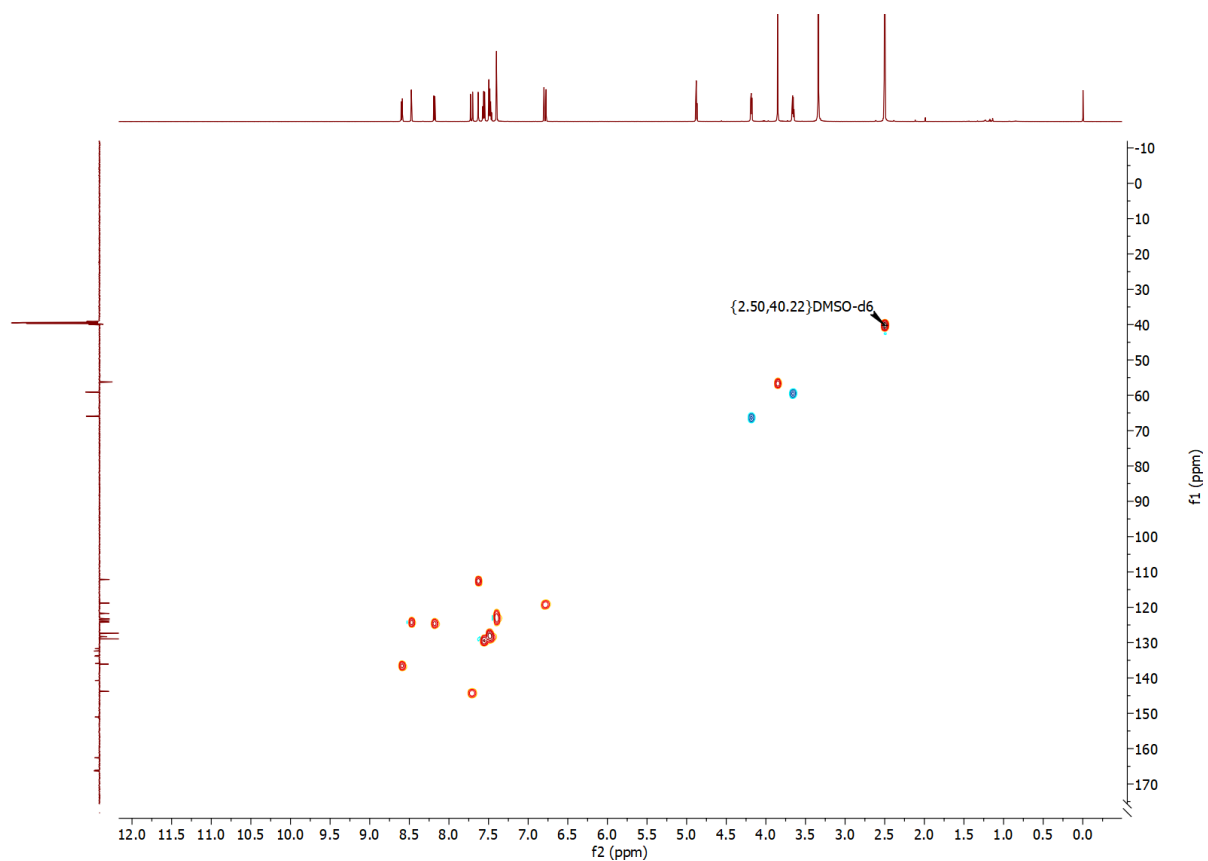


Figura A16. Mapa de contornos HSQC do composto 19 (600 MHz, DMSO)

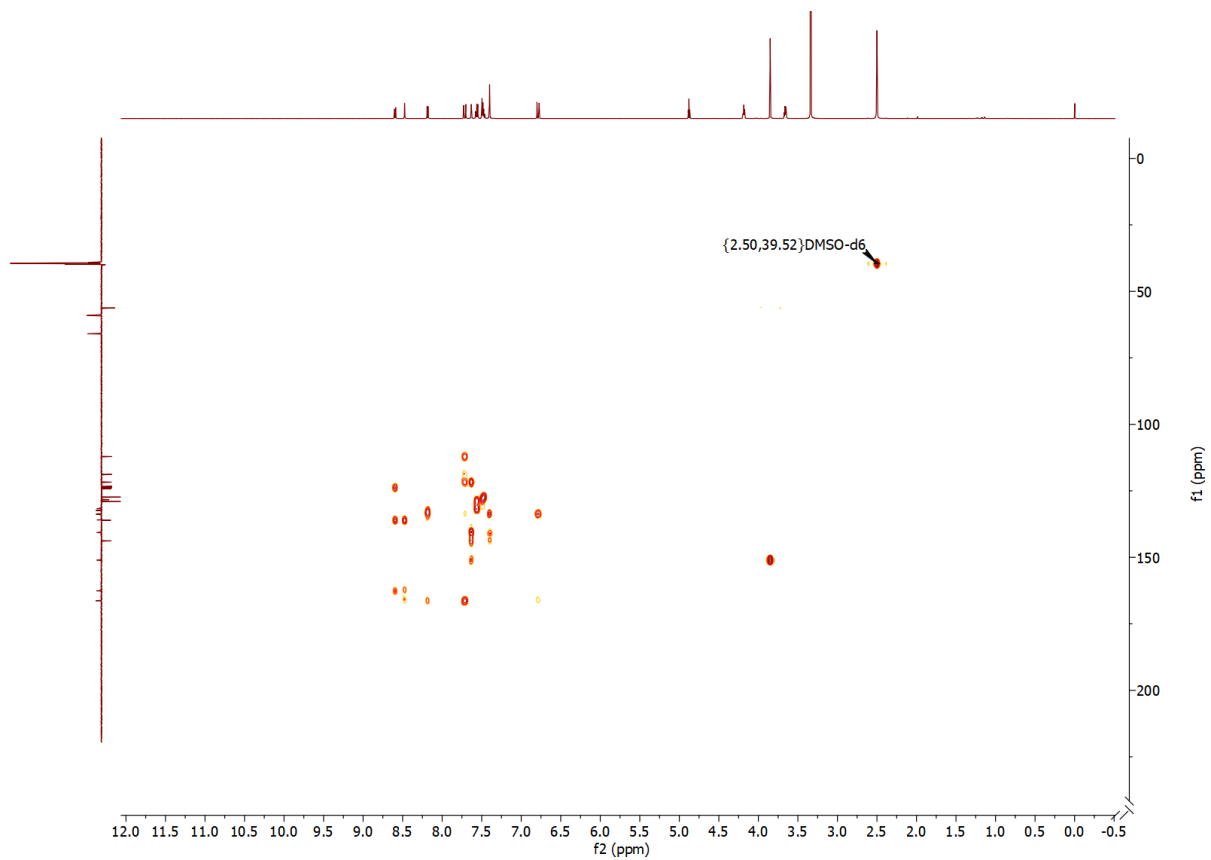


Figura A17. Mapa de contornos HMBC do composto 19 (600 MHz, DMSO)

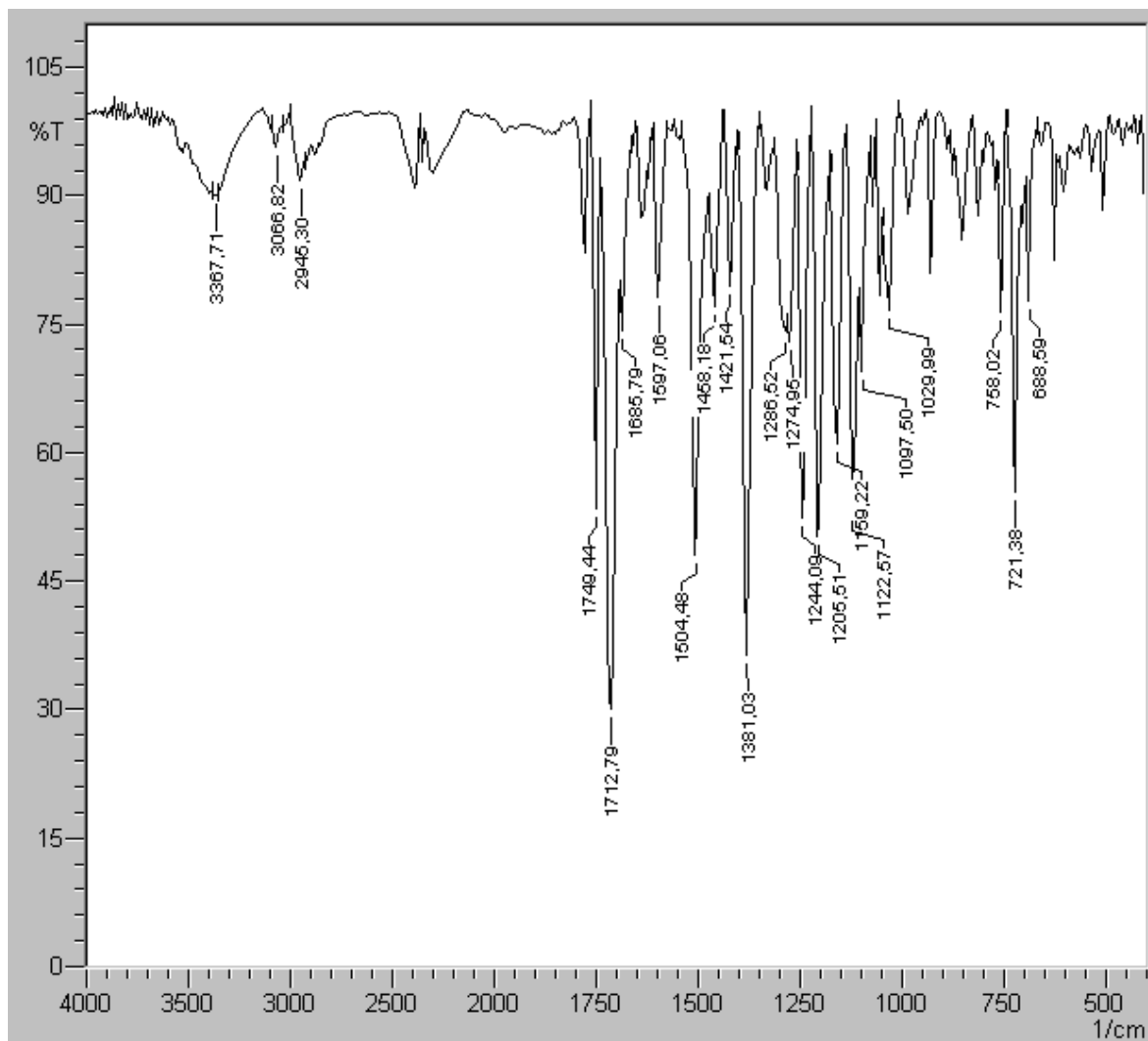


Figura A18. Espectro de Infravermelho do composto 19

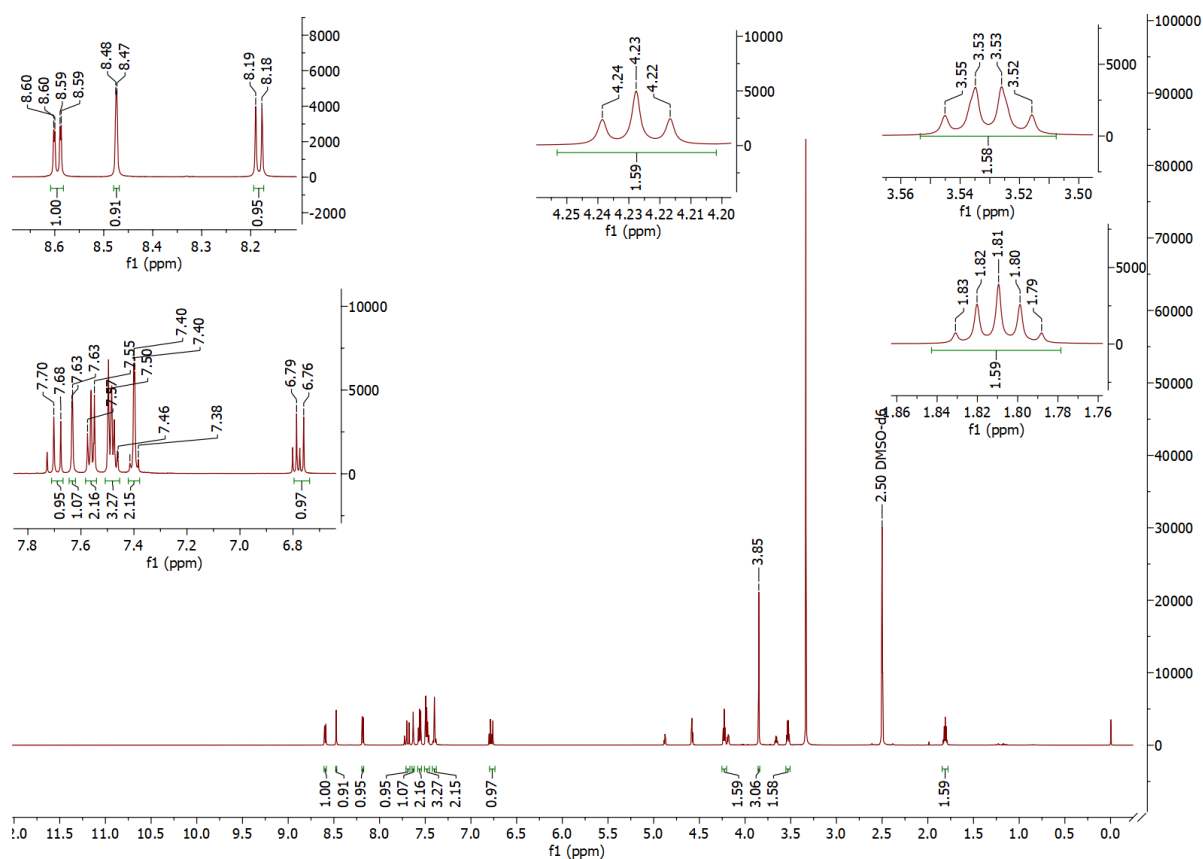


Figura A19. Espectro de RMN de ¹H do composto 20 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,59 (dd, $J = 7,8; 1,5$ Hz, 1H), 8,47 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,69 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,54 – 7,58 (m, 2H), 7,46 – 7,50 (m, 3H), 7,38 – 7,42 (m, 2H), 6,77 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 4,23 (t, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,53 (q, 2H), 1,81 (qui, 1H).

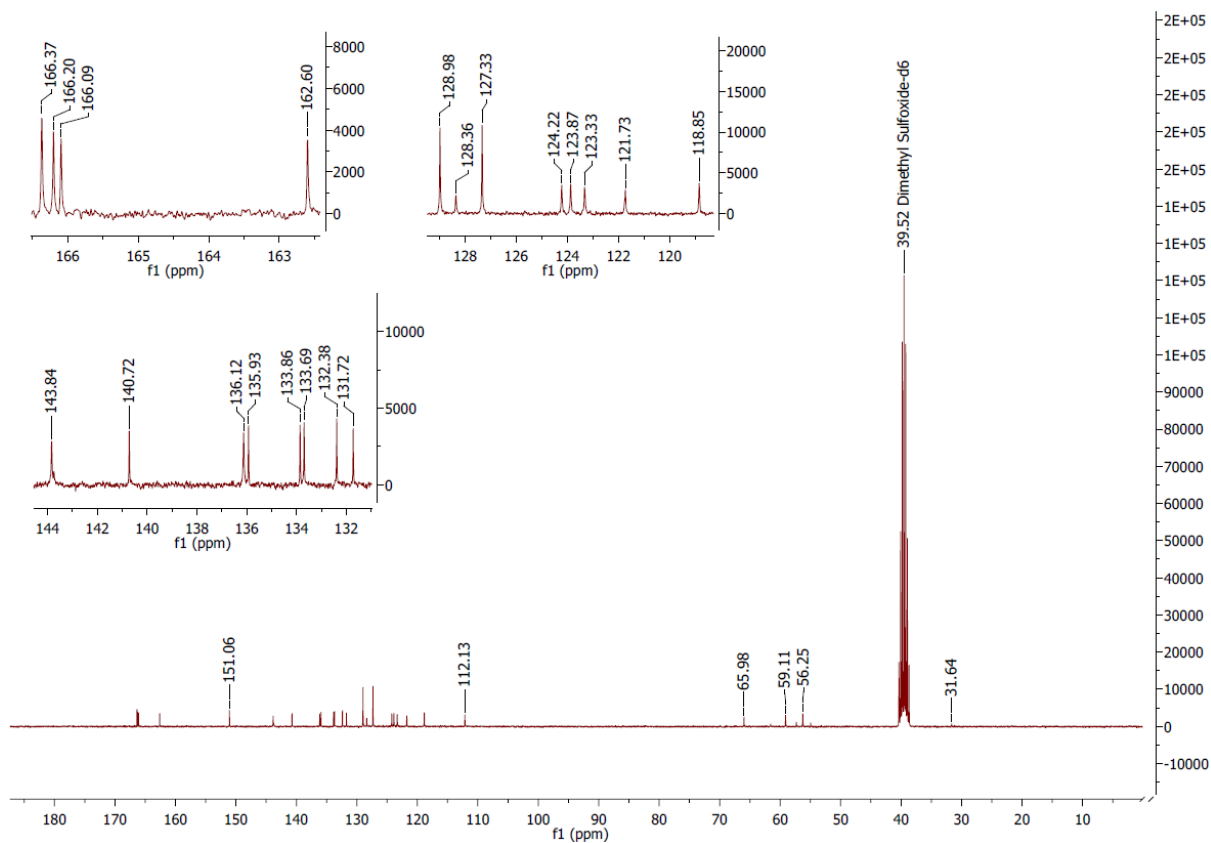


Figura A20. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 20 (150 MHz, DMSO)

RMN ^{13}C : δ 166,34; 166,18; 166,07; 162,57; 151,03; 143,72; 140,69; 136,09; 135,93; 133,83; 133,67; 132,38; 131,71; 128,95; 128,33; 127,32; 124,20; 123,83; 123,28; 121,76; 118,82; 112,12; 61,54; 57,27; 56,24; 31,62.

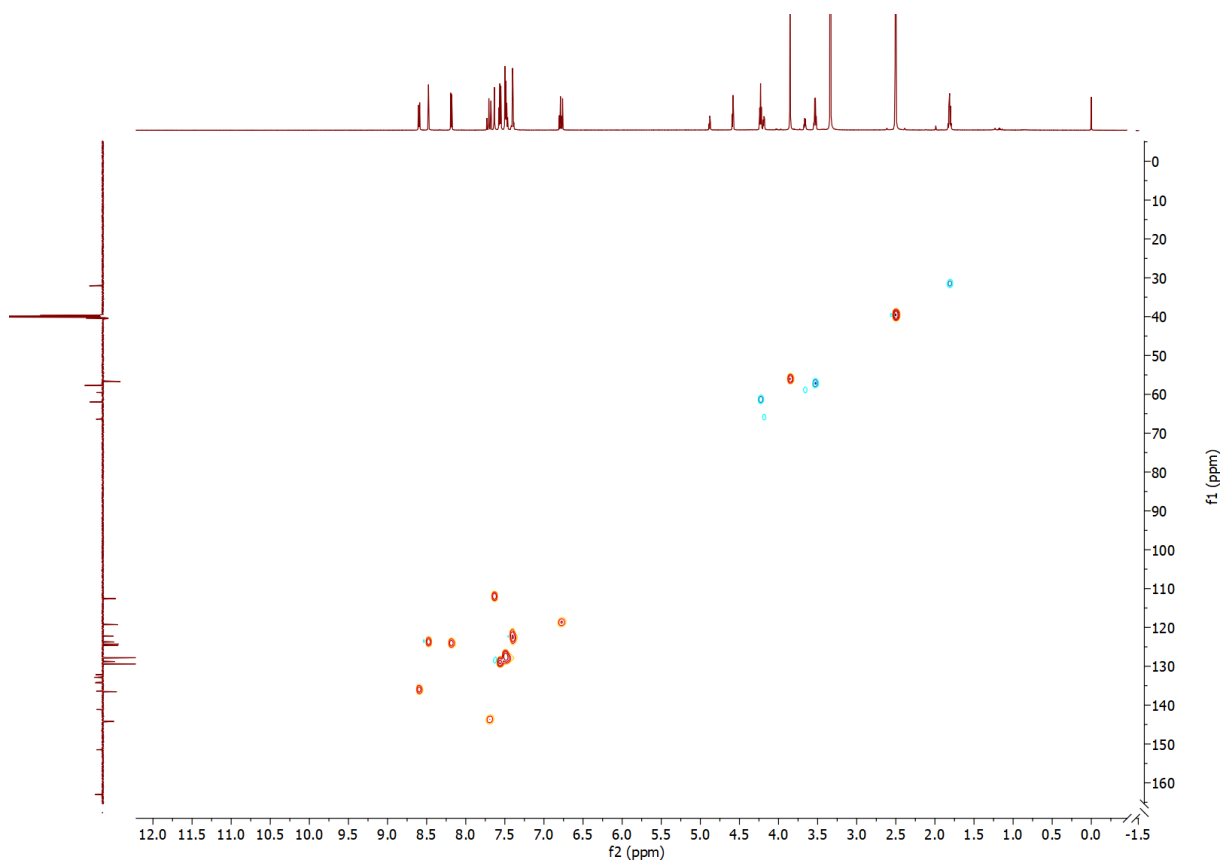


Figura A21. Mapa de contornos HSQC do composto 20 (600 MHz, DMSO)

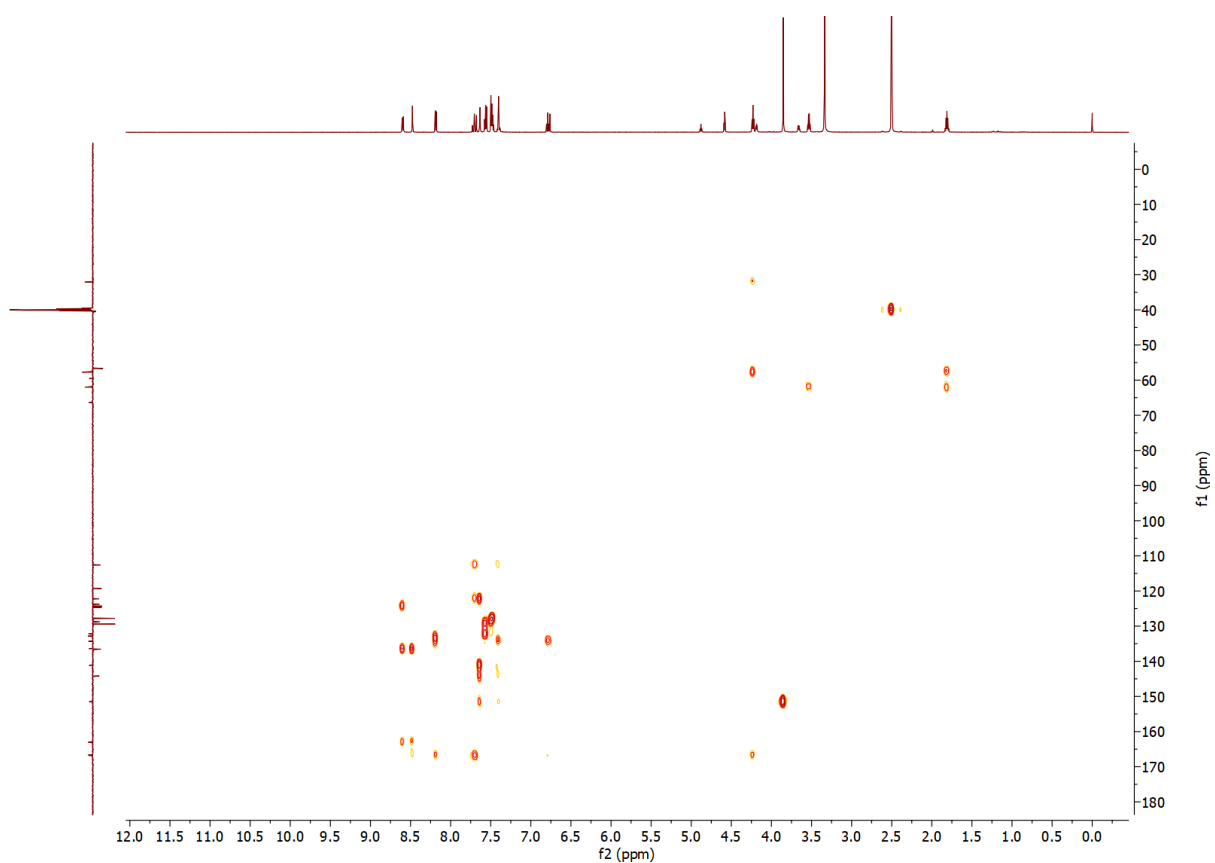


Figura A22. Mapa de contornos HMBC do composto 20 (600 MHz, DMSO)

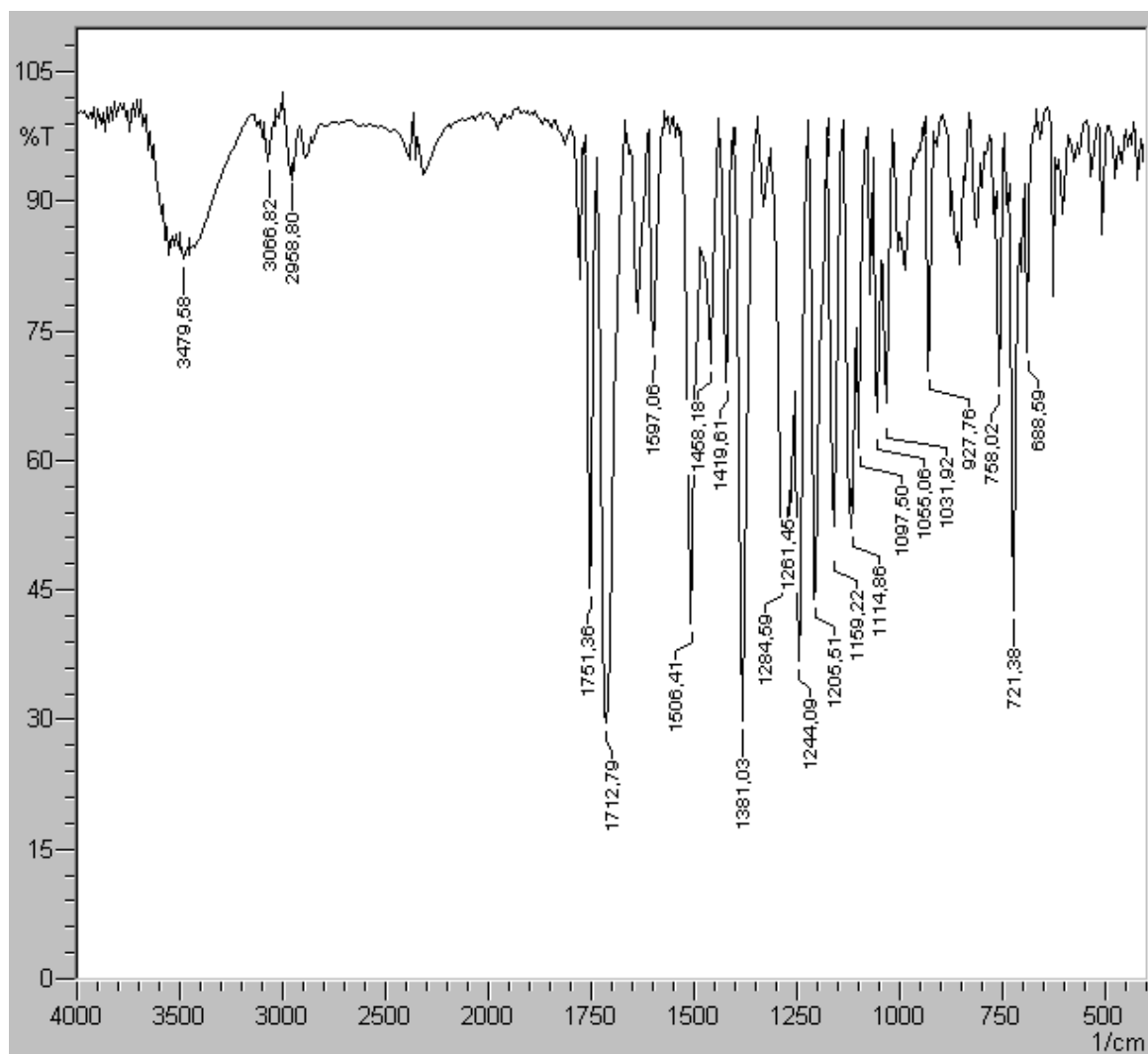


Figura A23. Espectro de Infravermelho do composto 20

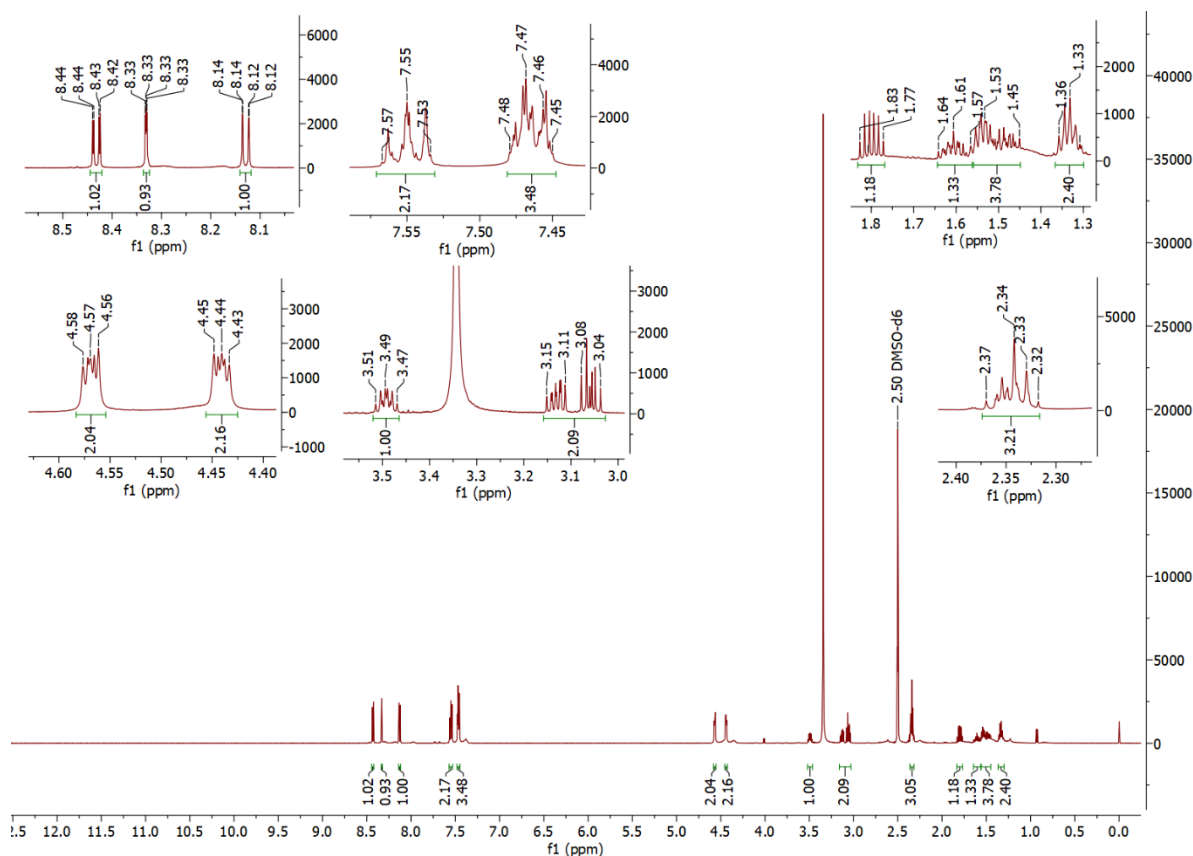


Figura A24. Espectro de RMN de ¹H do composto 22 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,43 (dd, J = 7,8, 1,5 Hz, 1H), 8,33 (dd, J = 0,7, 1,5 Hz, 1H), 8,13 (dd, J = 0,7, 7,8 Hz, 1H), 7,53 – 7,57 (m, 2H), 7,45 – 7,48 (m, 3H) 4,56 – 4,58 (m, 2H), 4,43 – 4,45 (m, 2H), 3,52 – 3,47 (m, 1H), 3,04 – 3,15 (m, 2H), 2,37 – 2,32 (m, 3H), 1,77 – 1,83 (m, 1H), 1,57 – 1,65 (m, 1H), 1,45 – 1,57 (m, 3H), 1,30 – 1,36 (m, 2H).

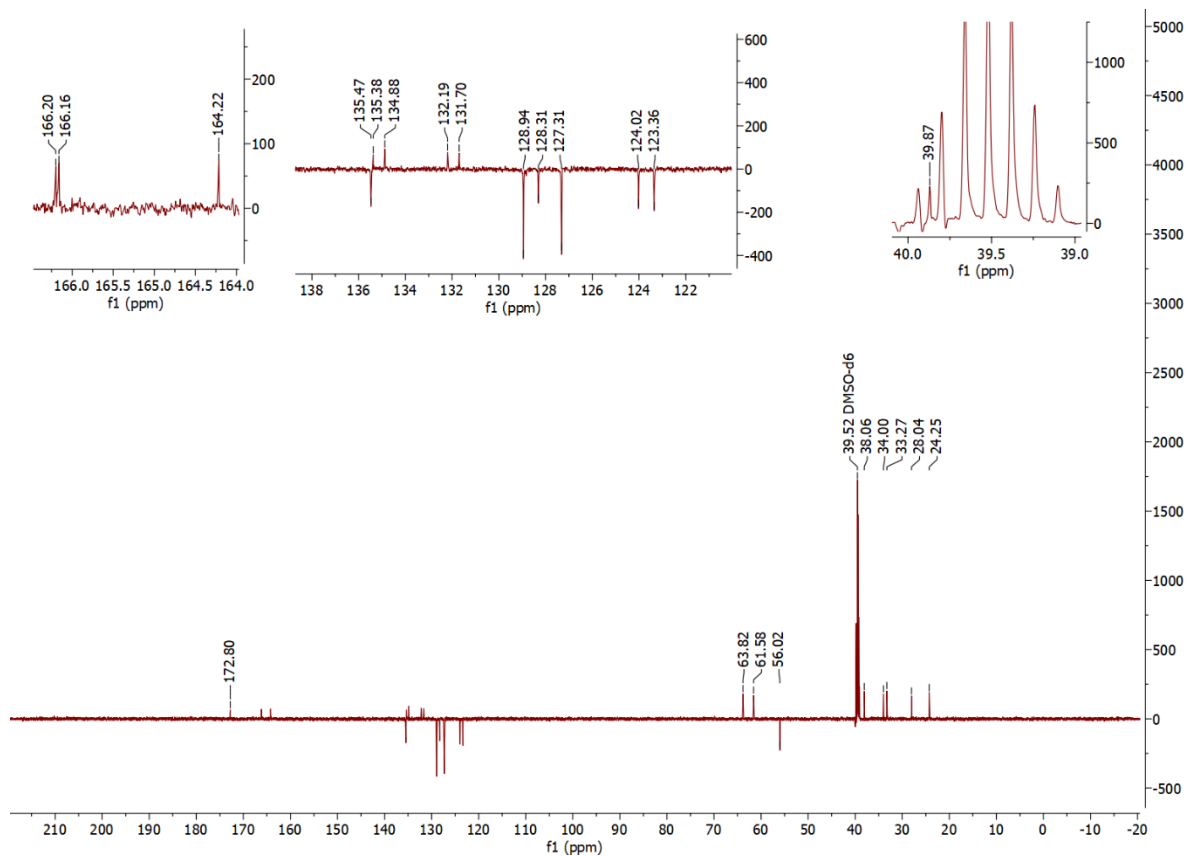


Figura A25. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 22 (150 MHz, DMSO)

RMN ^{13}C : δ 172,80; 166,20; 166,16; 164,22; 135,47; 135,38; 134,88; 132,19; 131,70; 128,94; 128,31; 127,31; 124,02; 123,36; 63,82; 61,58; 56,02; 38,06; 34,00; 33,27; 28,04; 24,25.

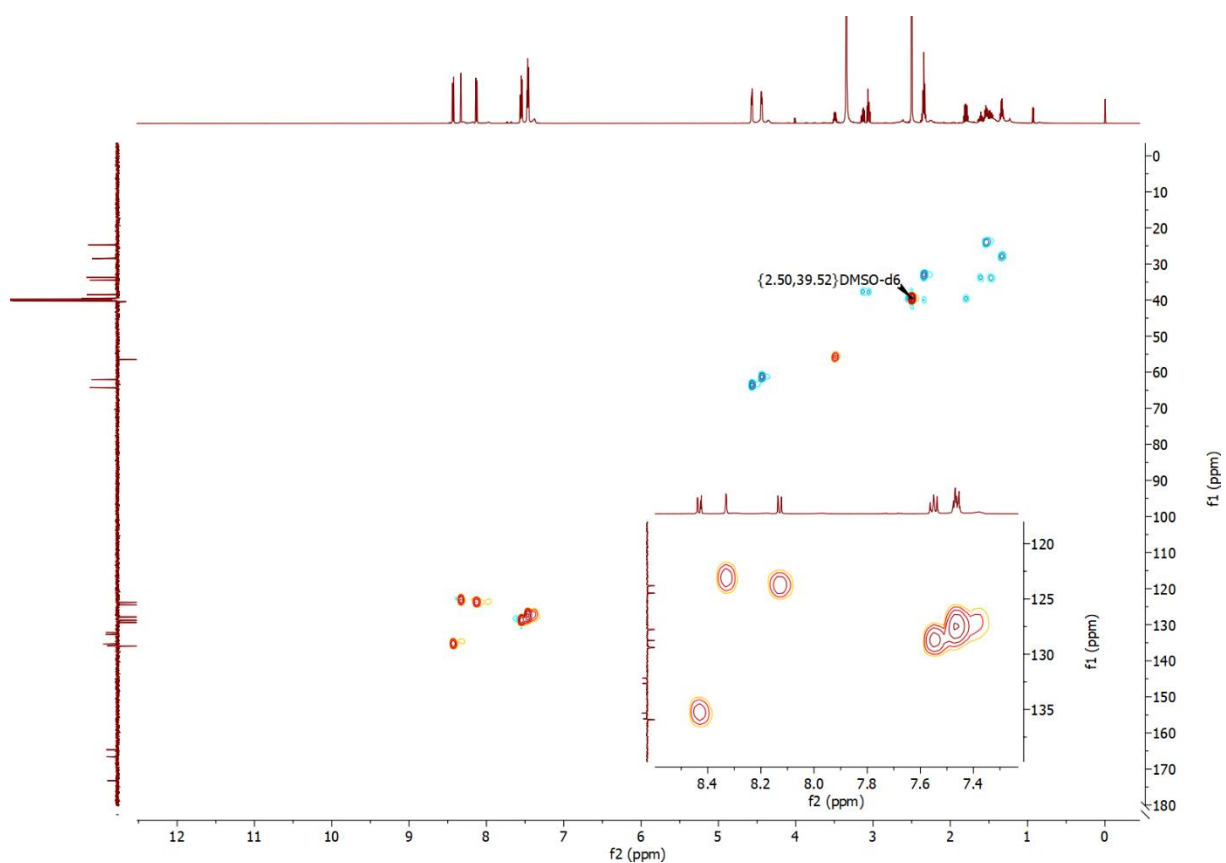


Figura A26. Mapa de contornos HSQC do composto 22 (600 MHz, DMSO)

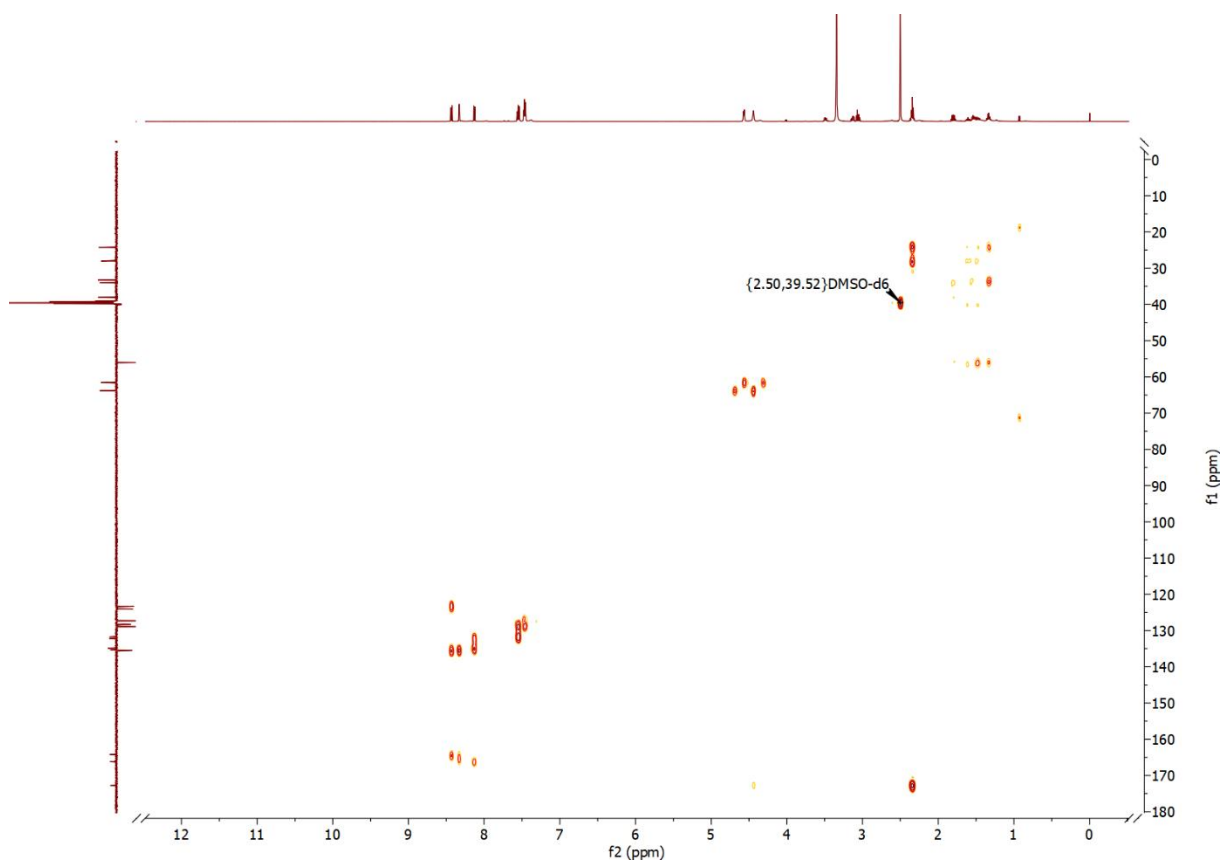


Figura A27. Mapa de contornos HMBC do composto 22 (600 MHz, DMSO)

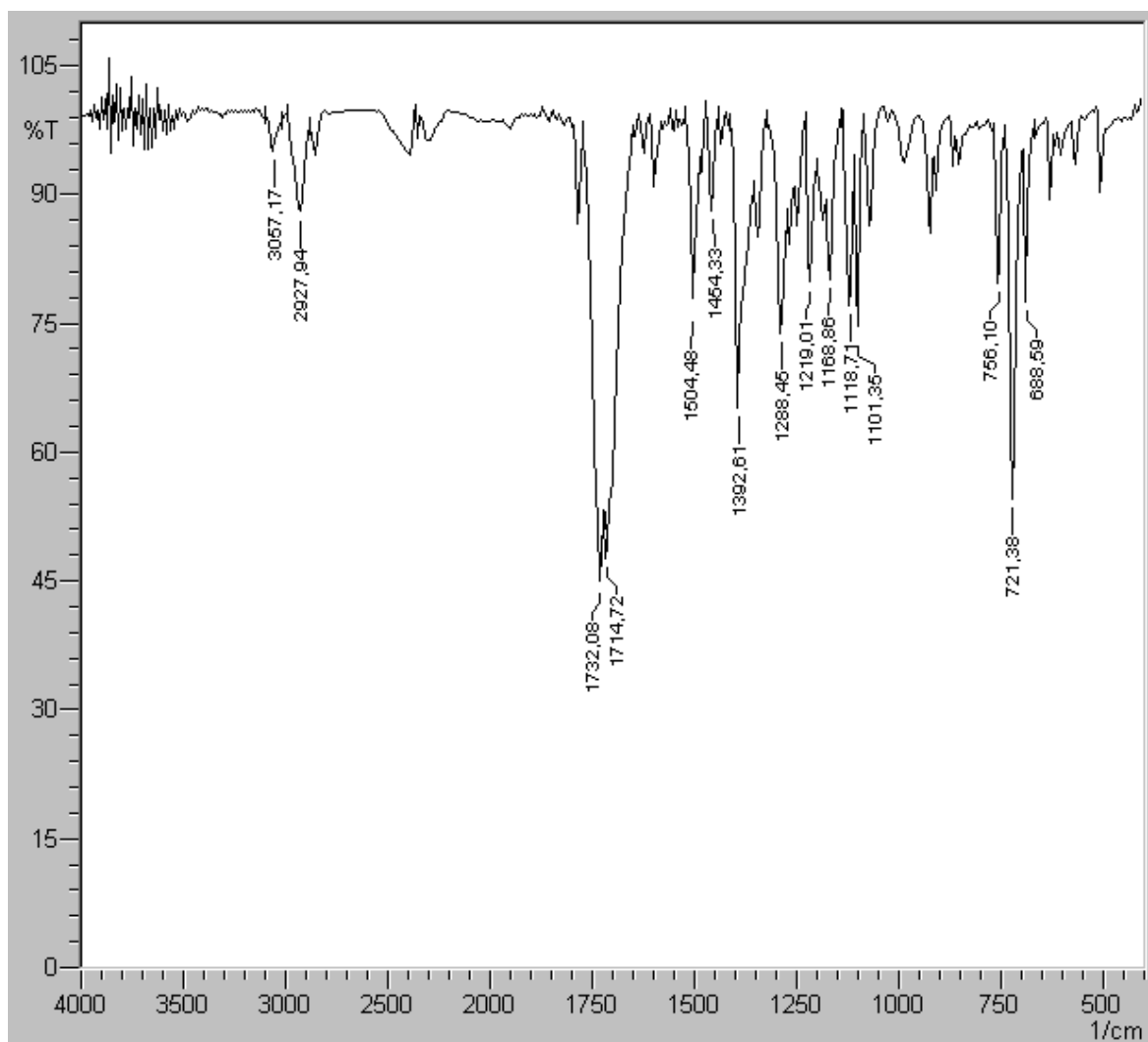


Figura A28. Espectro de Infravermelho do composto 22

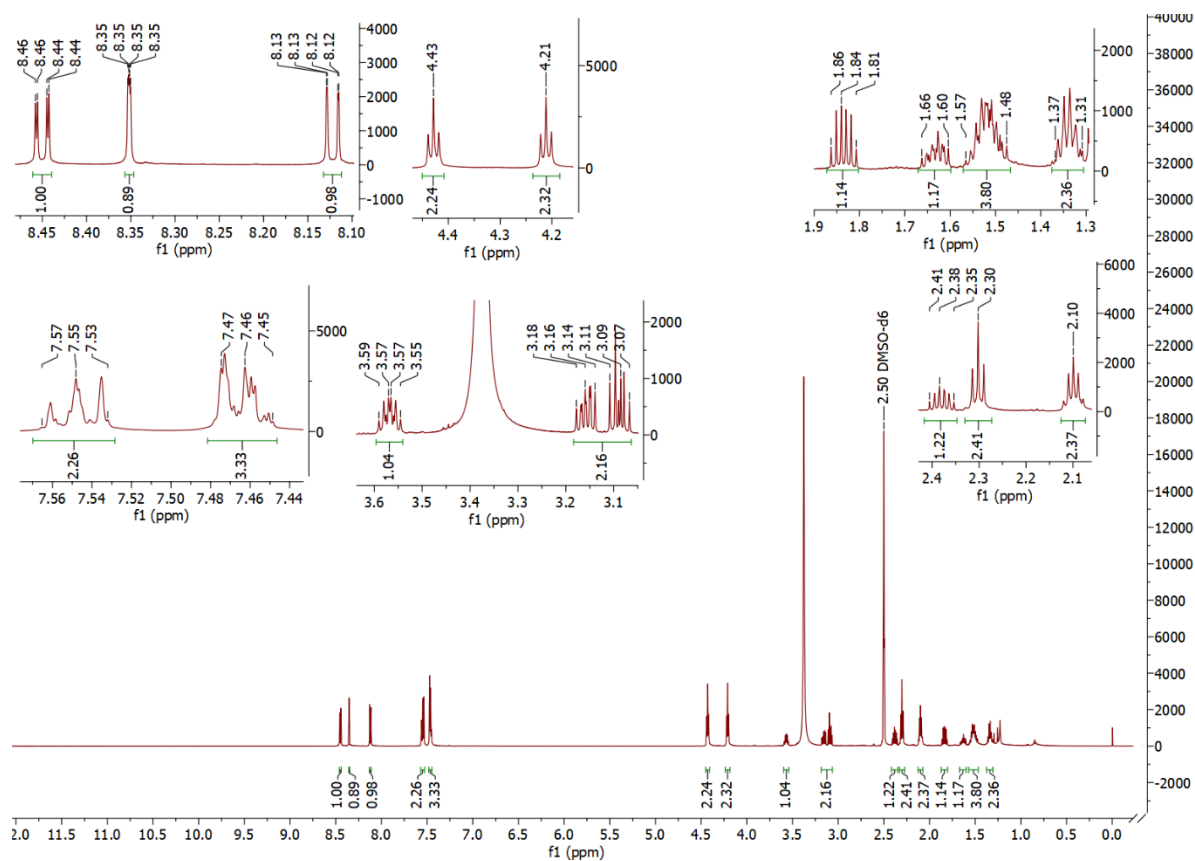


Figura A29. Espectro de RMN de 1H do composto 23 (600 MHz, DMSO)

RMN de 1H: δ 8,45 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), 8,35 (dd, $J = 0,7, 1,5$ Hz, 1H), 8,12 (dd, $J = 0,7, 7,8$ Hz, 1H), 7,53 – 7,57 (m, 2H), 7,45 – 7,48 (m, 3H), 4,43 (t, 2H), 4,21 (t, 2H), 3,55 – 3,59 (m, 1H), 3,07 – 3,18 (m, 2H), 2,30 (t, 2H), 2,10 (qui, 2H), 1,81 – 1,86 (m, 1H), 1,60 – 1,66 (m, 1H), 1,48 – 1,57 (m, 3H), 1,31 – 1,38 (m, 2H).

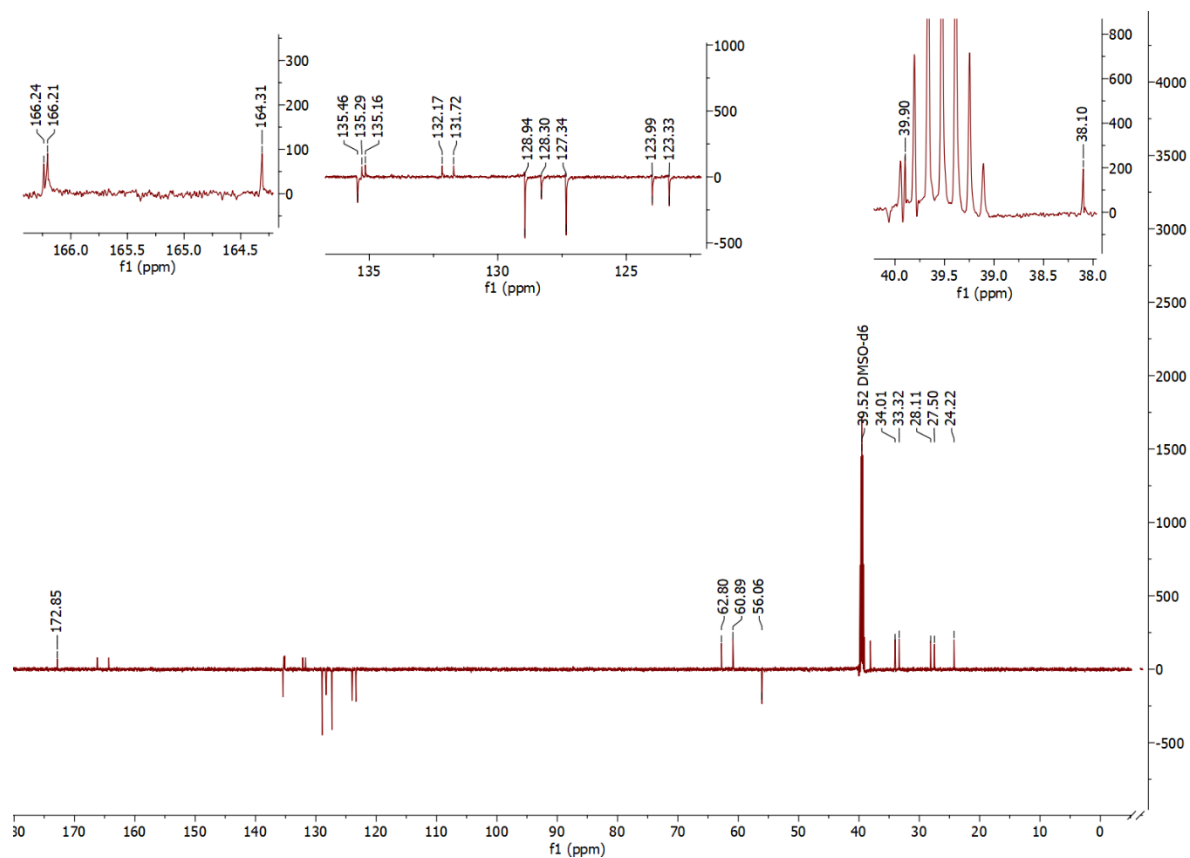


Figura A30. Espectro de RMN de ¹³C do composto 23 (150 MHz, DMSO)

RMN de ¹³C: δ 172,85; 166,24; 166,21; 164,31; 135,46; 135,29; 135,16; 132,17; 131,72; 128,94; 128,30; 127,34; 123,99; 123,33; 62,80; 60,89; 56,06; 38,10; 34,01; 33,32; 28,11; 27,50; 24,22.

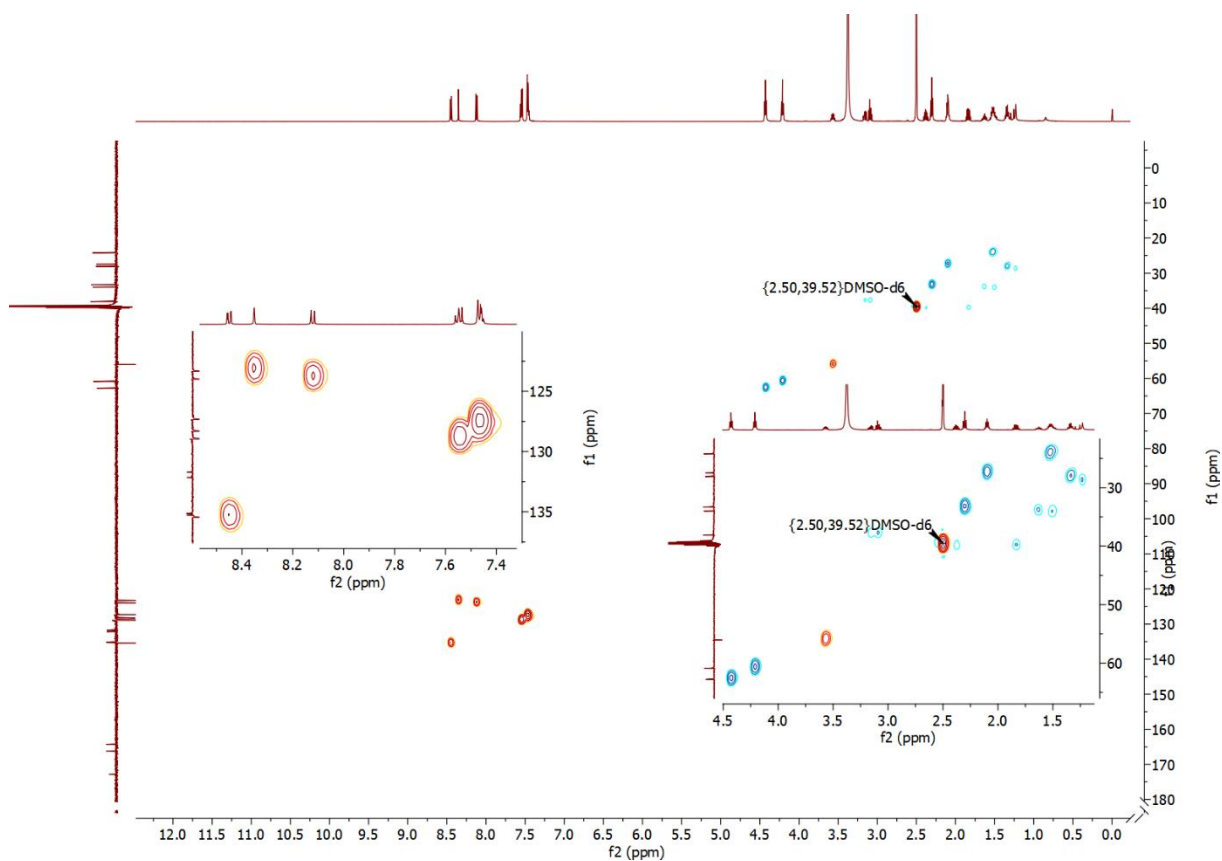


Figura A31. Mapa de contornos HSQC do composto 23 (600 MHz, DMSO)

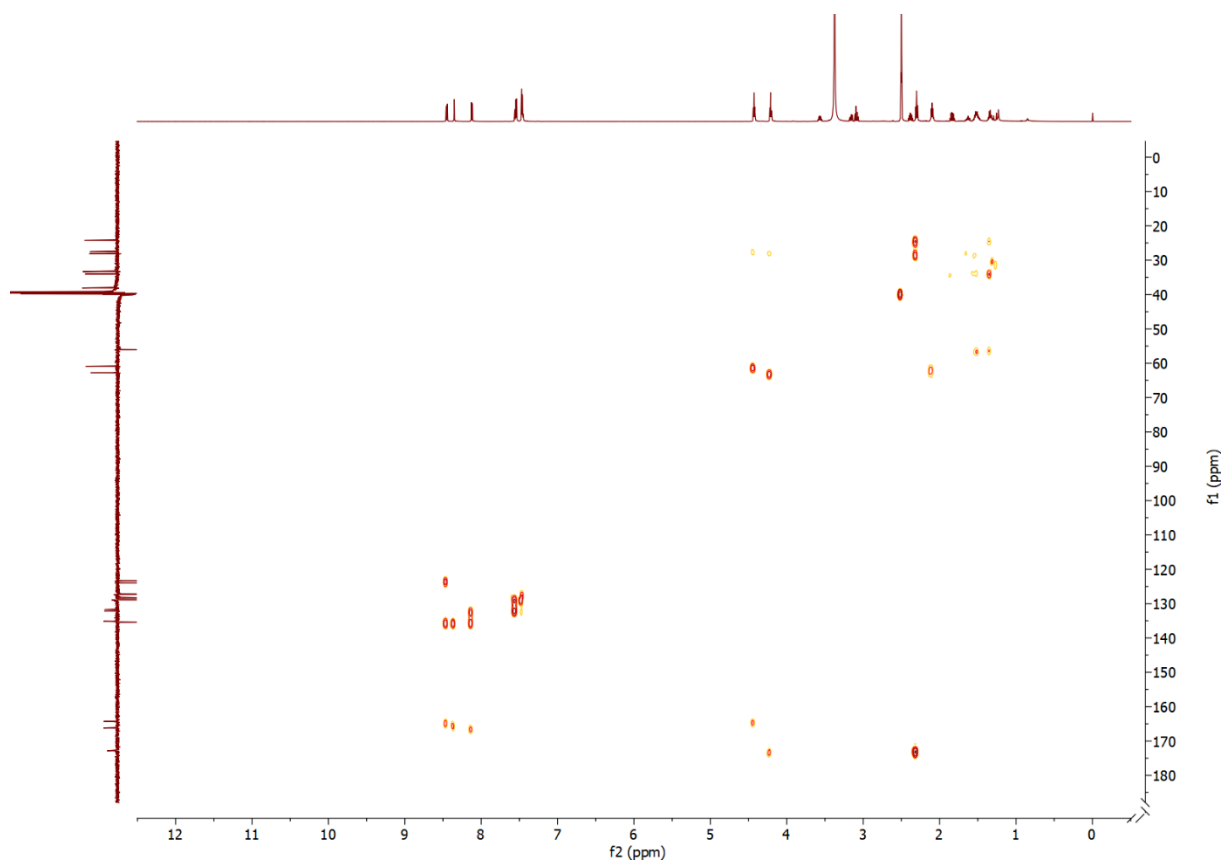


Figura A32. Mapa de contornos HMBC do composto 23 (600 MHz, DMSO)

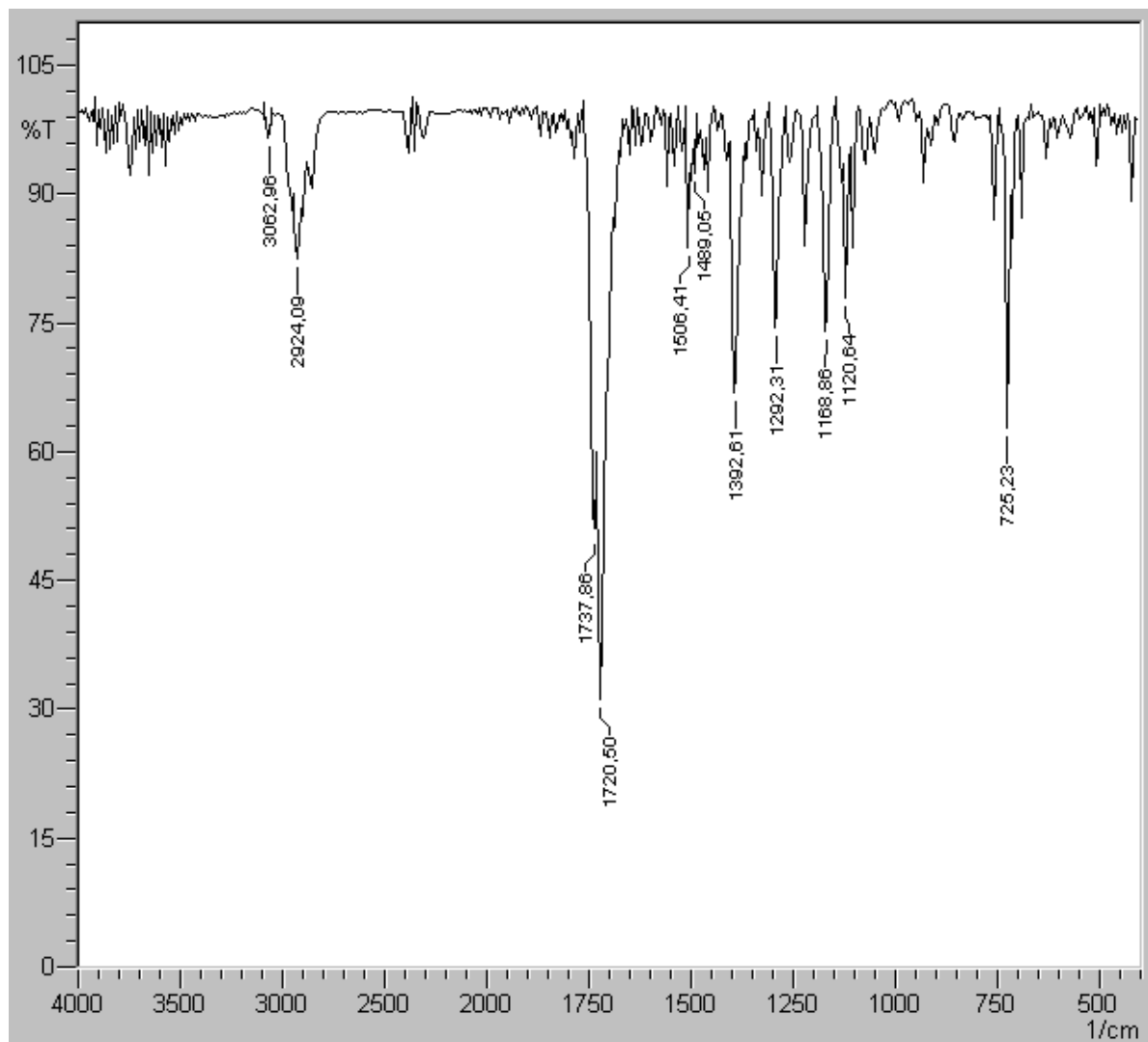


Figura A33. Espectro de Infravermelho do composto 23

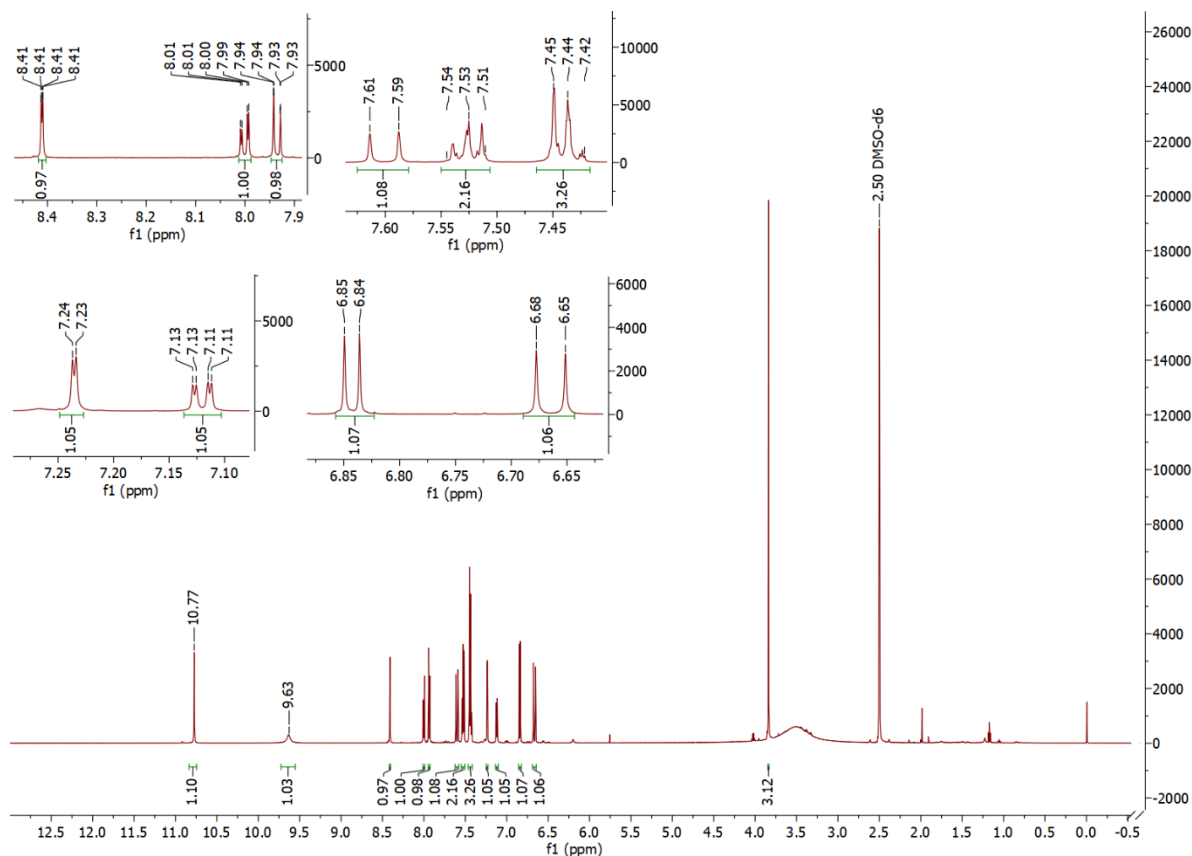


Figura A34. Espectro de RMN de ¹H do composto 24 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 10,77 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 8,41 (dd, $J = 0,6, 1,9$ Hz, 1H), 8,00 (dd, $J = 1,9; 8,2$ Hz, 1H), 7,94 (dd, $J = 0,6, 8,2$ Hz, 1H), 7,60 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 7,51 – 7,55 (m, 2H), 7,42 – 7,46 (m, 3H), 7,24 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,12 (dd, $J = 2,0, 8,2$ Hz, 1H), 6,84 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,84 (s, 3H).

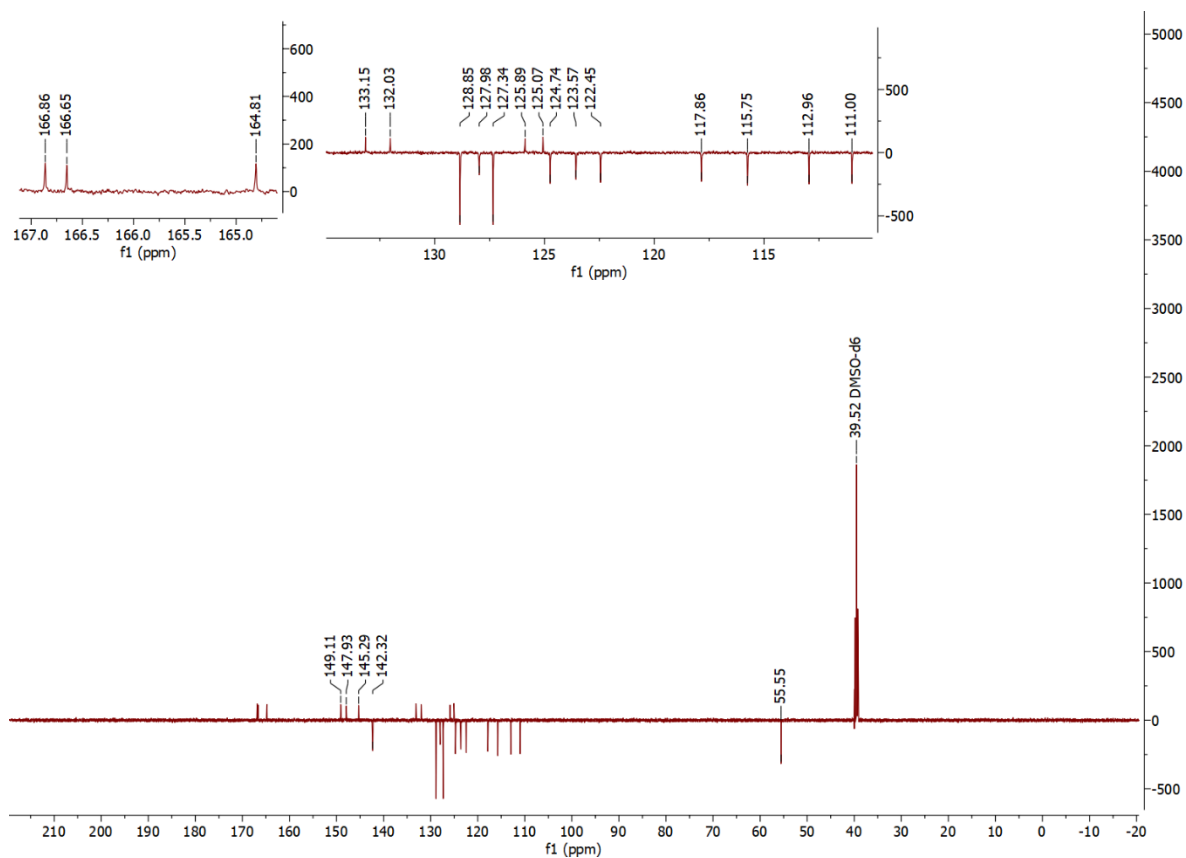


Figura A35. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 24 (150 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 166,86; 166,65; 164,81; 149,11; 147,93; 145,29; 142,32; 133,15; 132,03; 128,85; 127,98; 127,34; 125,89; 125,07; 124,74; 123,57; 122,45; 117,86; 115,75; 112,96; 111,00; 55,55.

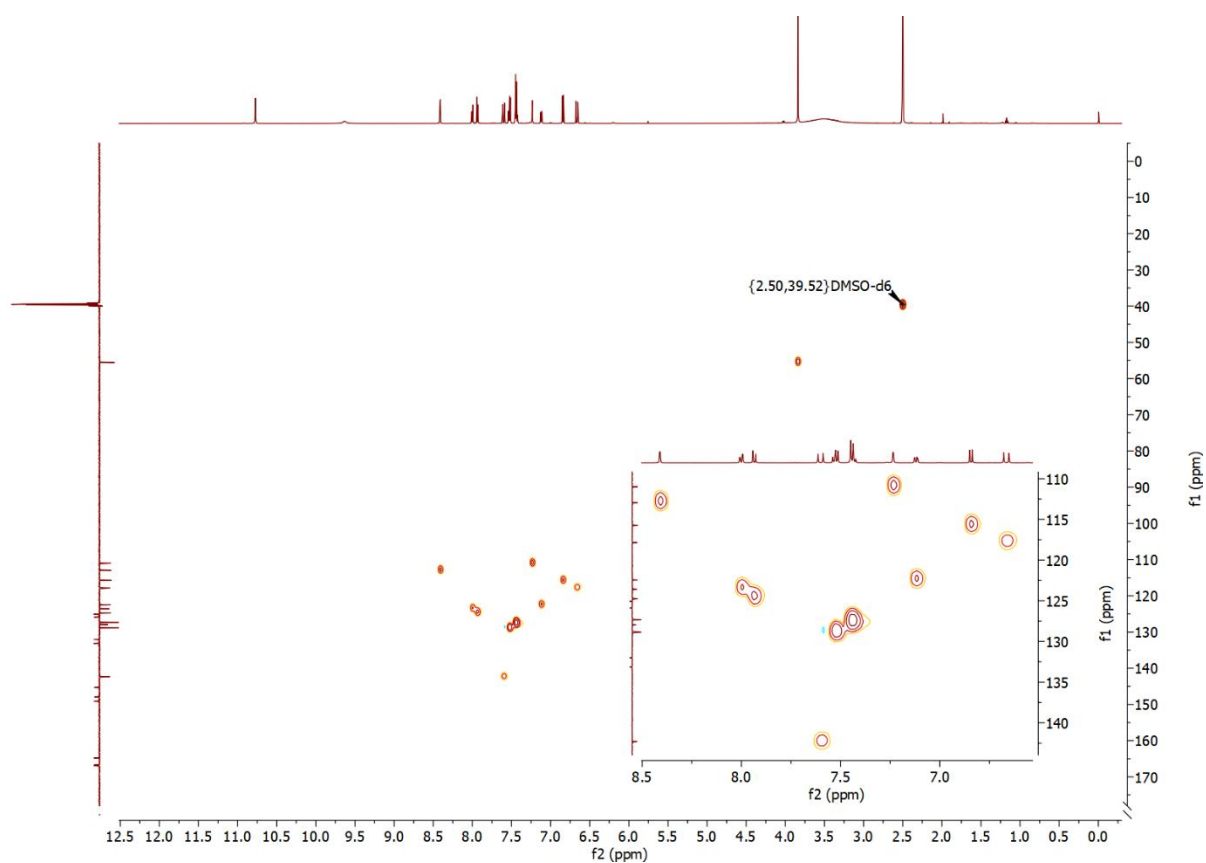


Figura A36. Mapa de contornos HSQC do composto 24 (600 MHz, DMSO)

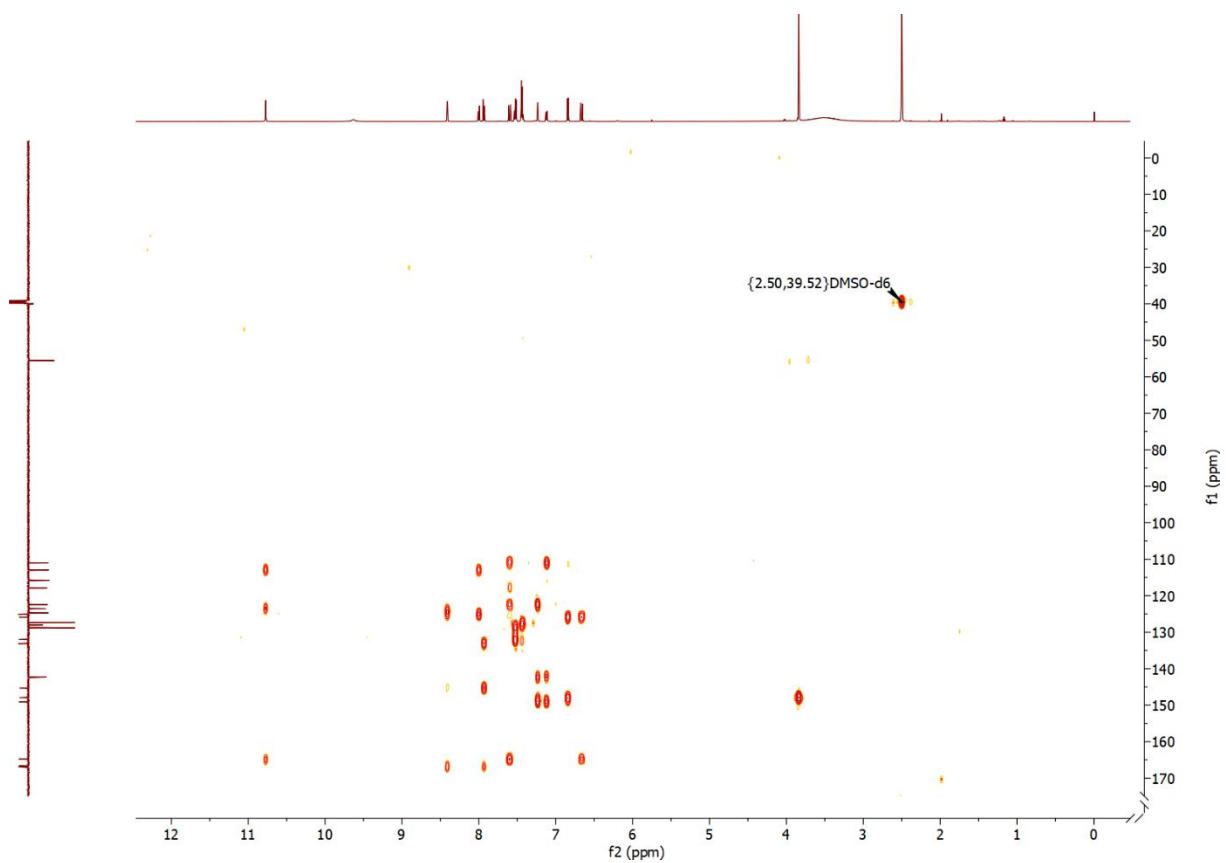


Figura A37. Mapa de contornos HMBC do composto 24 (600 MHz, DMSO)

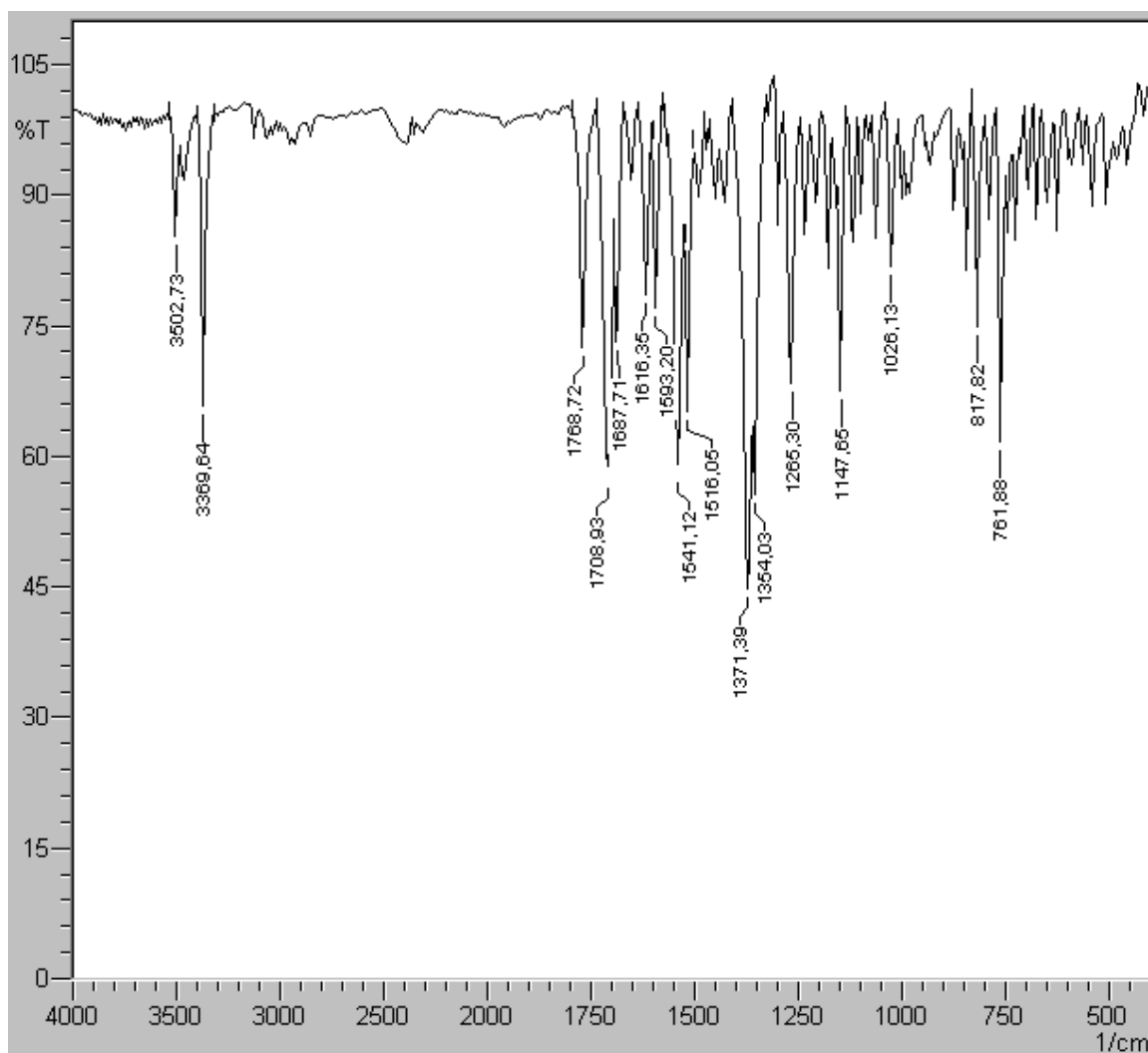


Figura A38. Espectro de Infravermelho do composto 24

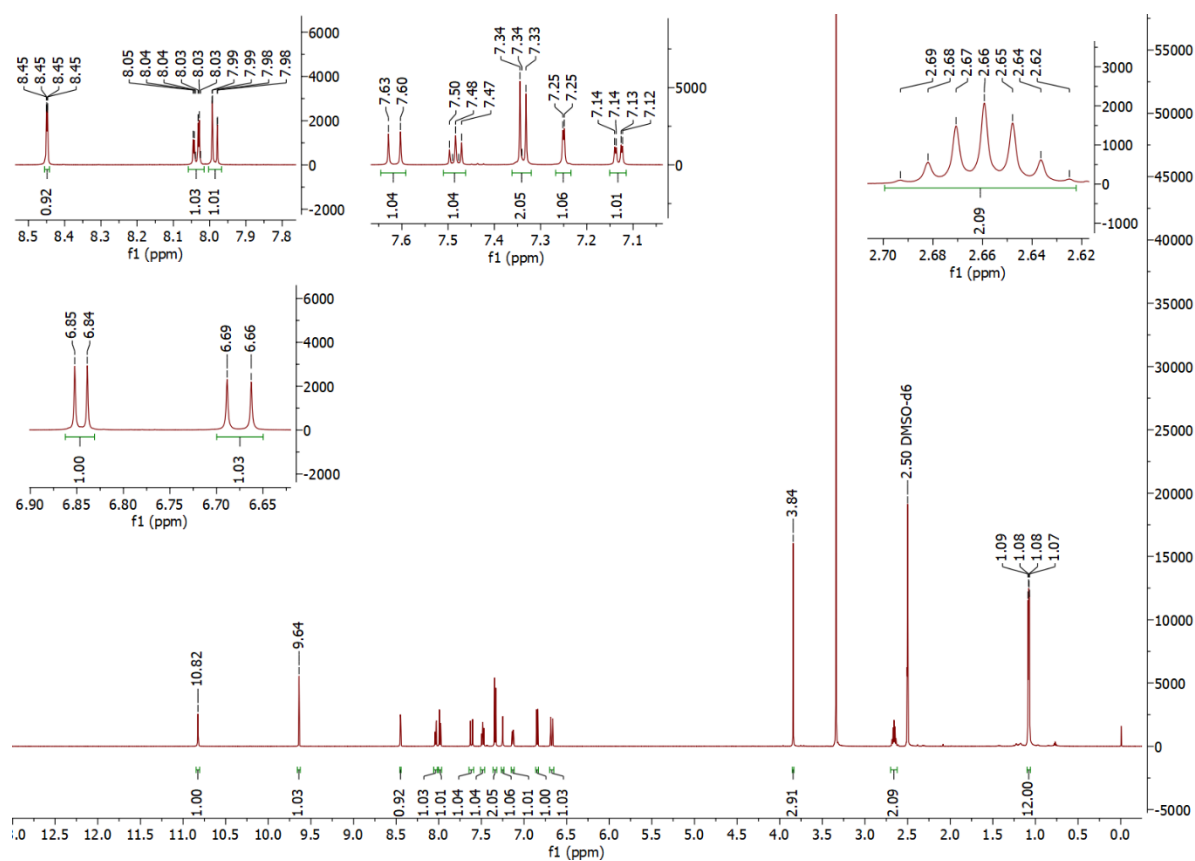


Figura A39. Espectro de RMN de ¹H do composto 25 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 10,82 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,45 (dd, $J = 0,6, 1,8$ Hz, 1H), 8,04 (dd, $J = 1,8, 8,2$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J = 0,6, 8,2$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 7,48 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,34 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,25 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,13 (dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,68 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,66 (hept, 2H), 1,08 (dd, 12H).

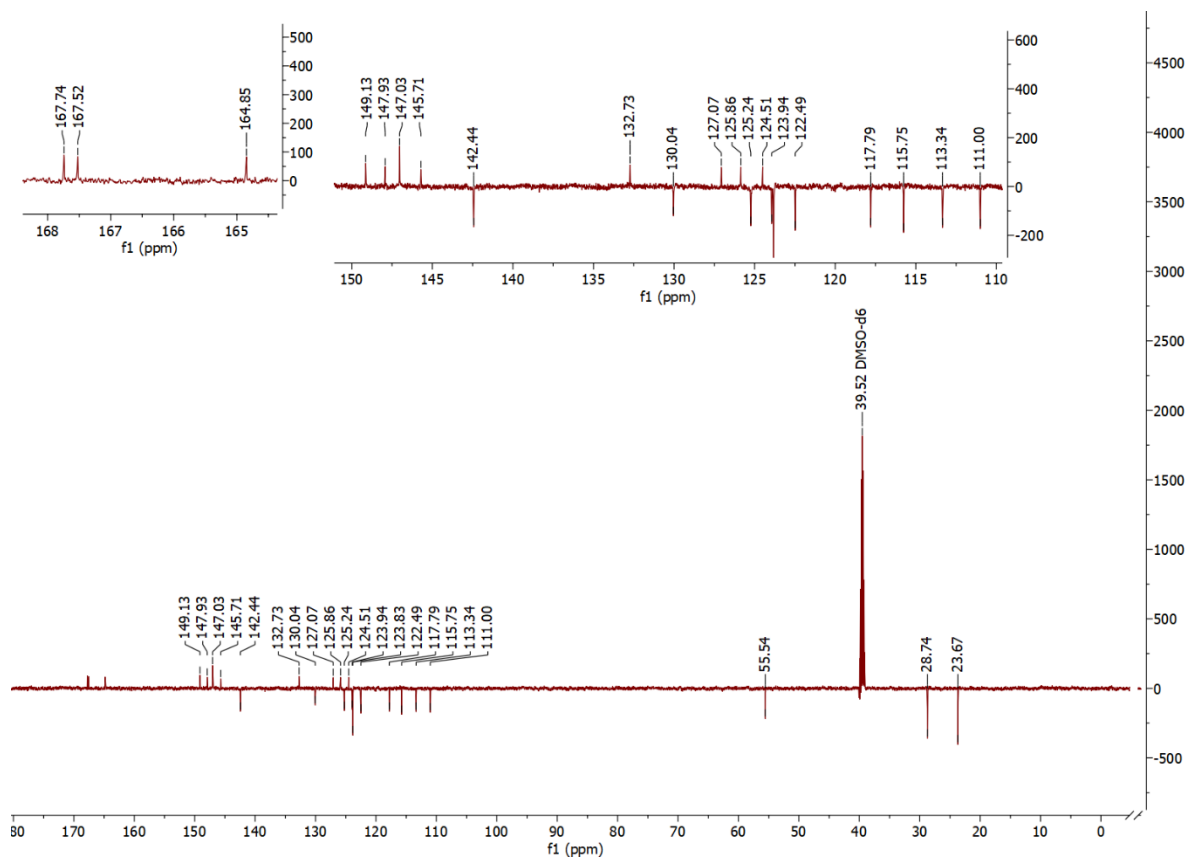


Figura A40. Espectro de RMN de ¹³C do composto 25 (150 MHz, DMSO)

RMN de ¹³C: δ 167,74; 167,52; 164,85; 149,13; 147,93; 147,03; 145,71; 142,44; 132,73; 130,04; 127,07; 125,86; 125,24; 124,51; 123,94; 123,83; 122,49; 117,79; 115,75; 113,34; 111,00; 55,54; 28,74; 23,67.

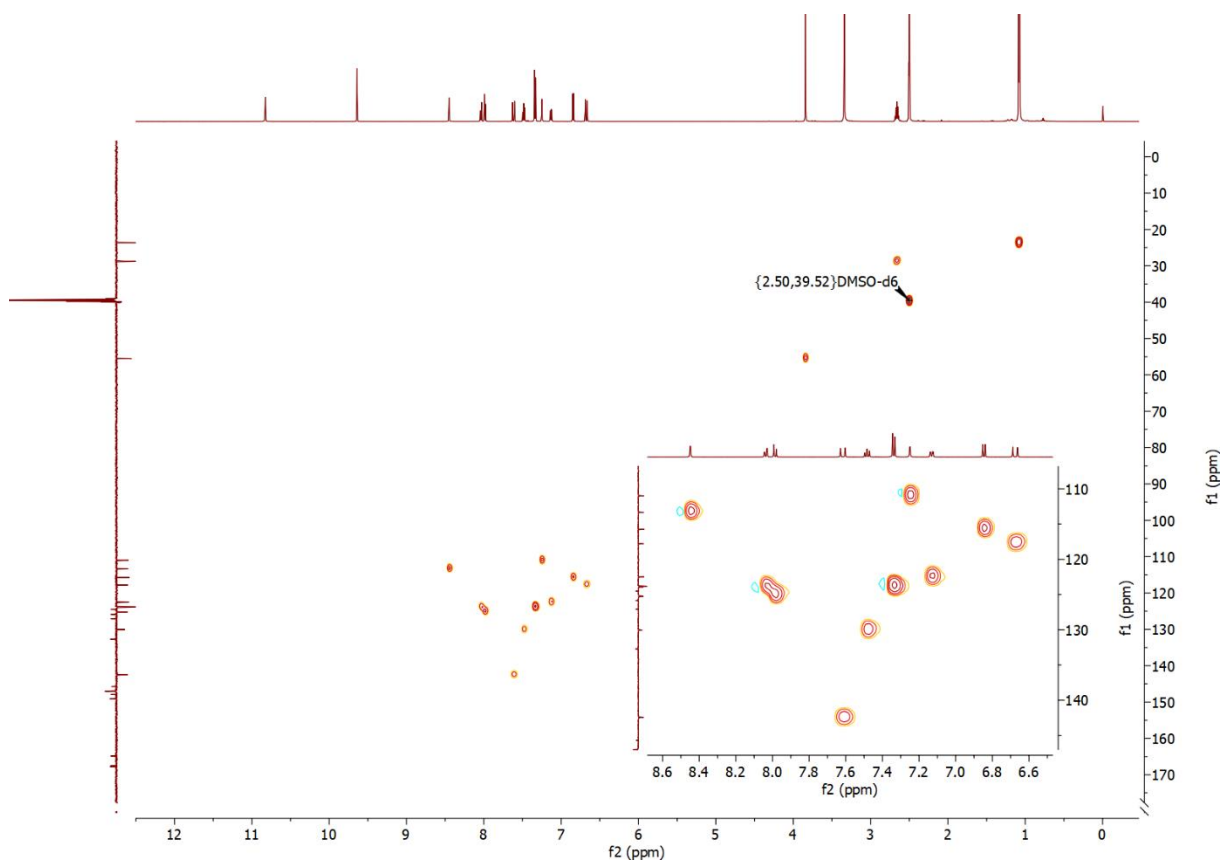


Figura A41. Mapa de contornos HSQC do composto 25 (600 MHz, DMSO)

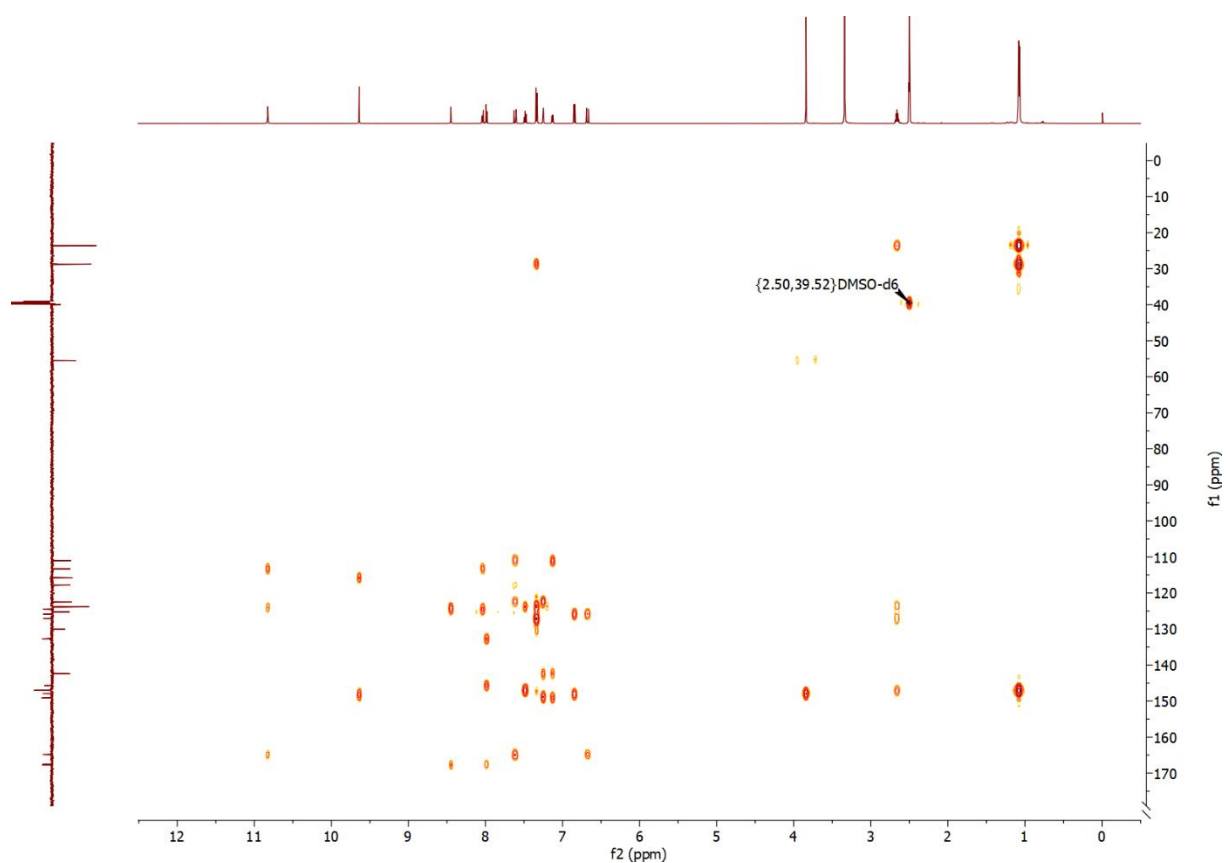


Figura A42. Mapa de contornos HMBC do composto 25 (600 MHz, DMSO)

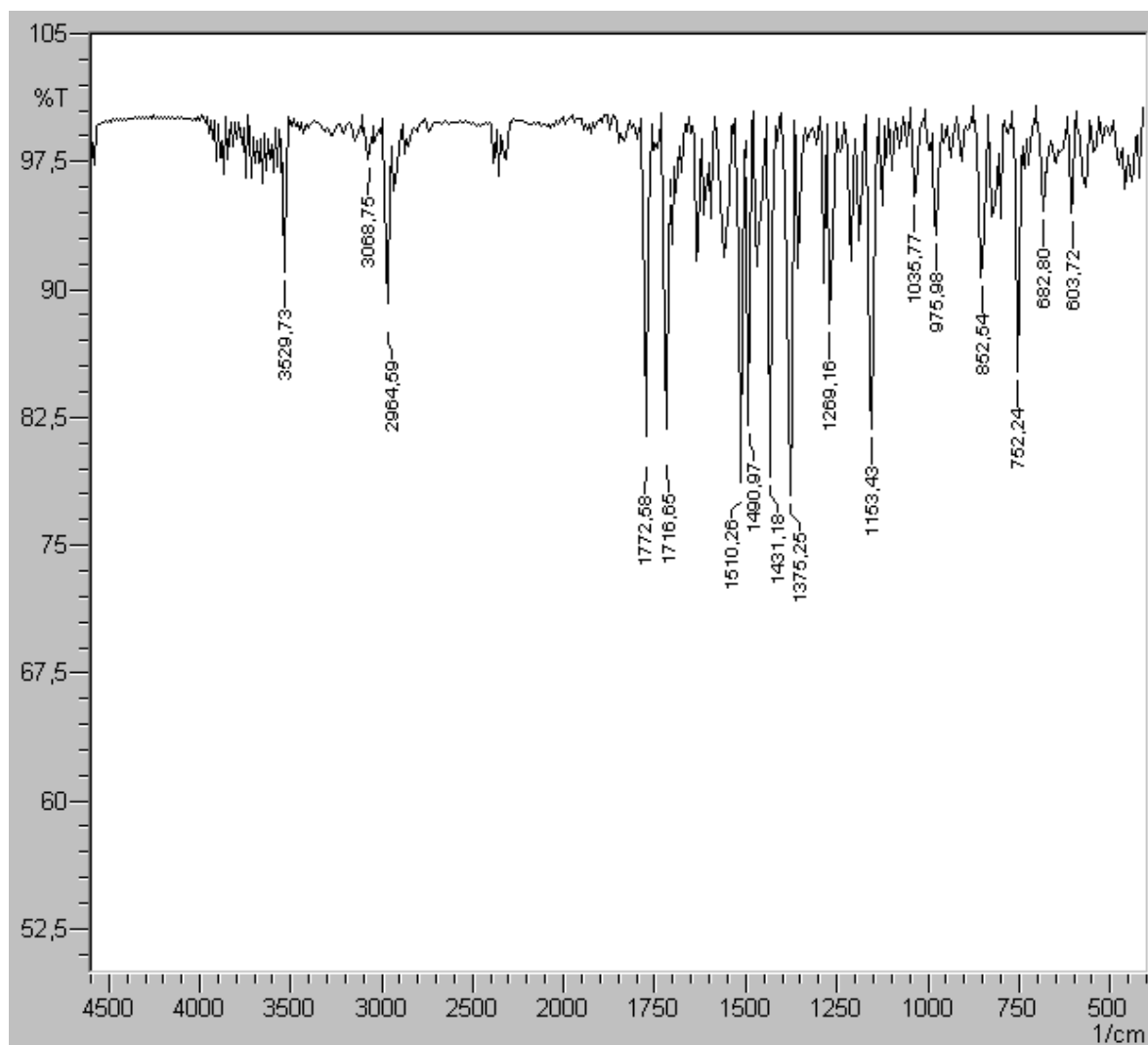


Figura A43. Espectro de Infravermelho do composto 25

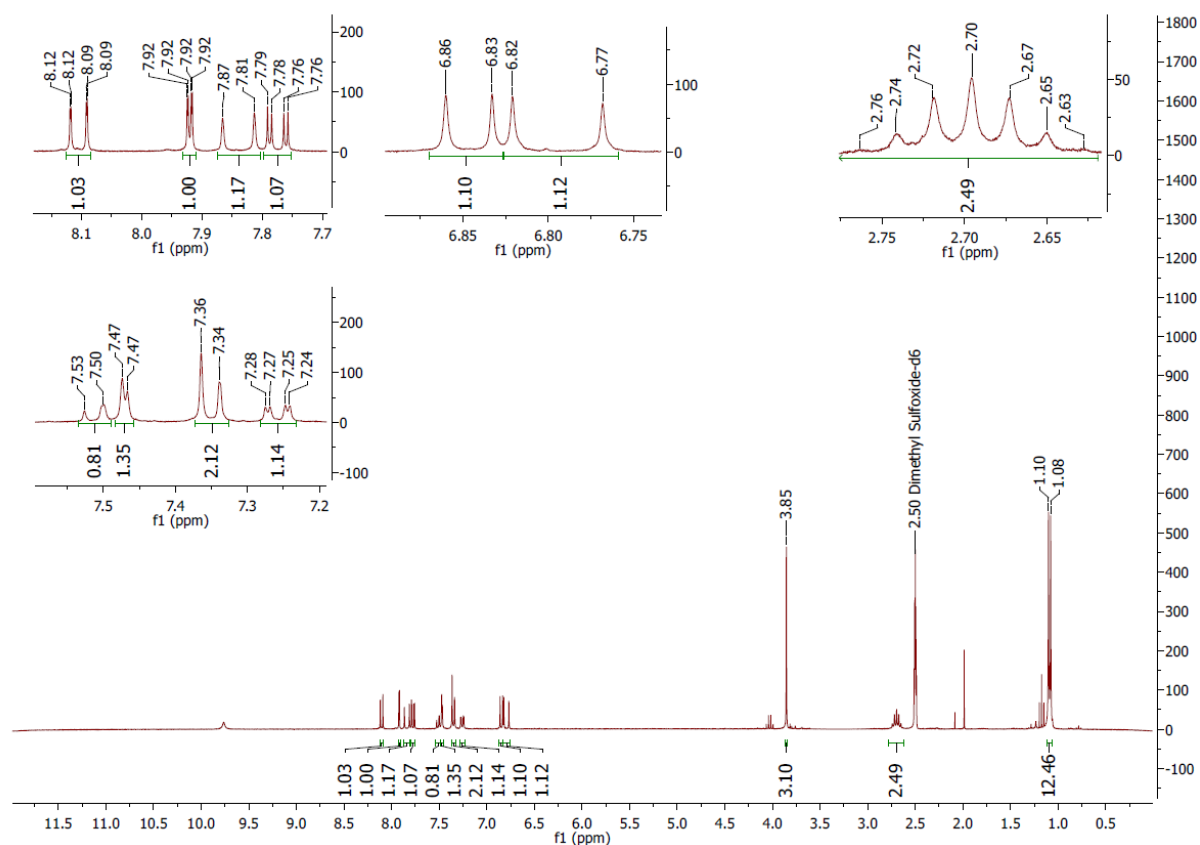


Figura A44. Espectro de RMN de 1H do composto 26 (300 MHz, DMSO)

RMN de 1H: δ 9,76 (s, 1H), 8,10 (dd, $J = 0,5, 8,1$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 0,5; 2,0$ Hz, 1H), 7,84 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 7,77 (dd, $J = 2,0, 8,1$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,47 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,26 (dd, $J = 2,0, 8,2$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 15,8$ Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,70 (hept, 2H), 1,09 (d, 12H).

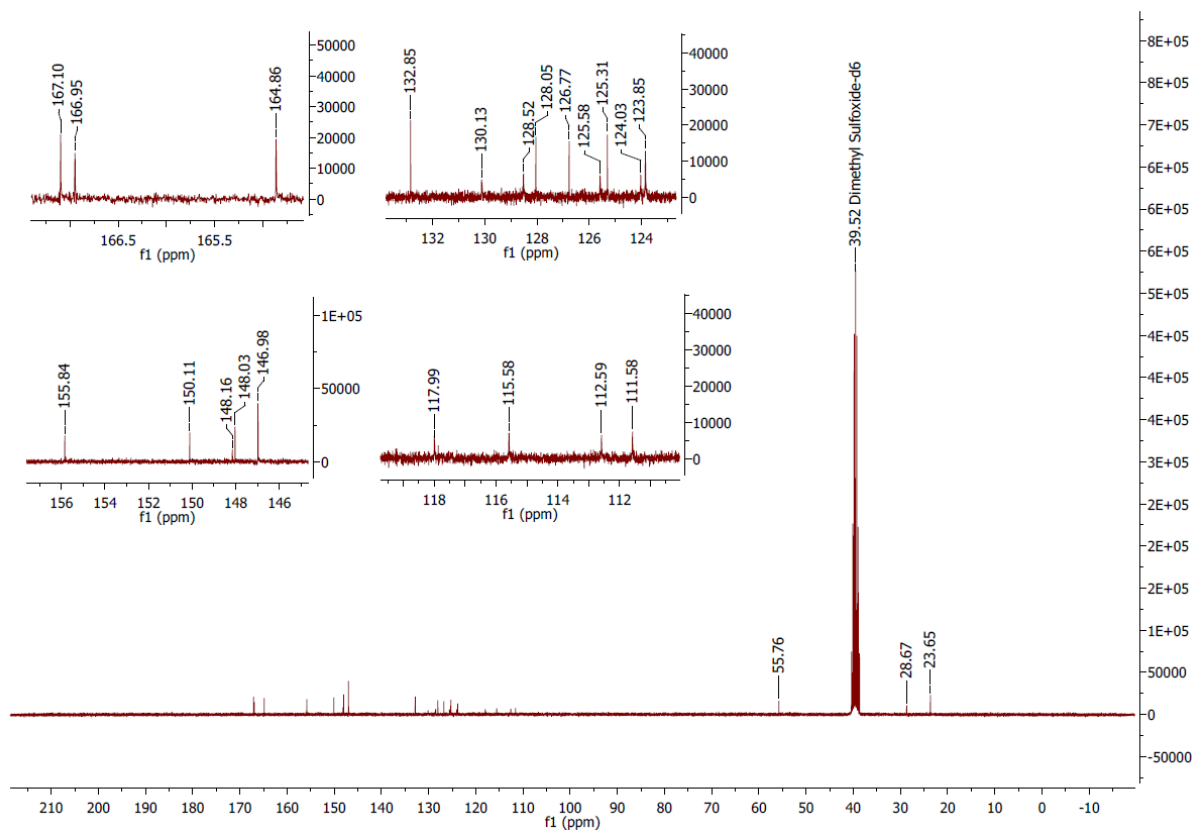


Figura A45. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 26 (75 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 167,10; 166,95; 164,86; 155,84; 150,11; 148,16; 148,03; 146,98; 132,85; 130,13; 128,52; 128,05; 126,77; 125,58; 125,31; 124,03; 123,85; 117,99; 115,58; 112,59; 111,58; 55,76; 28,67; 23,65.

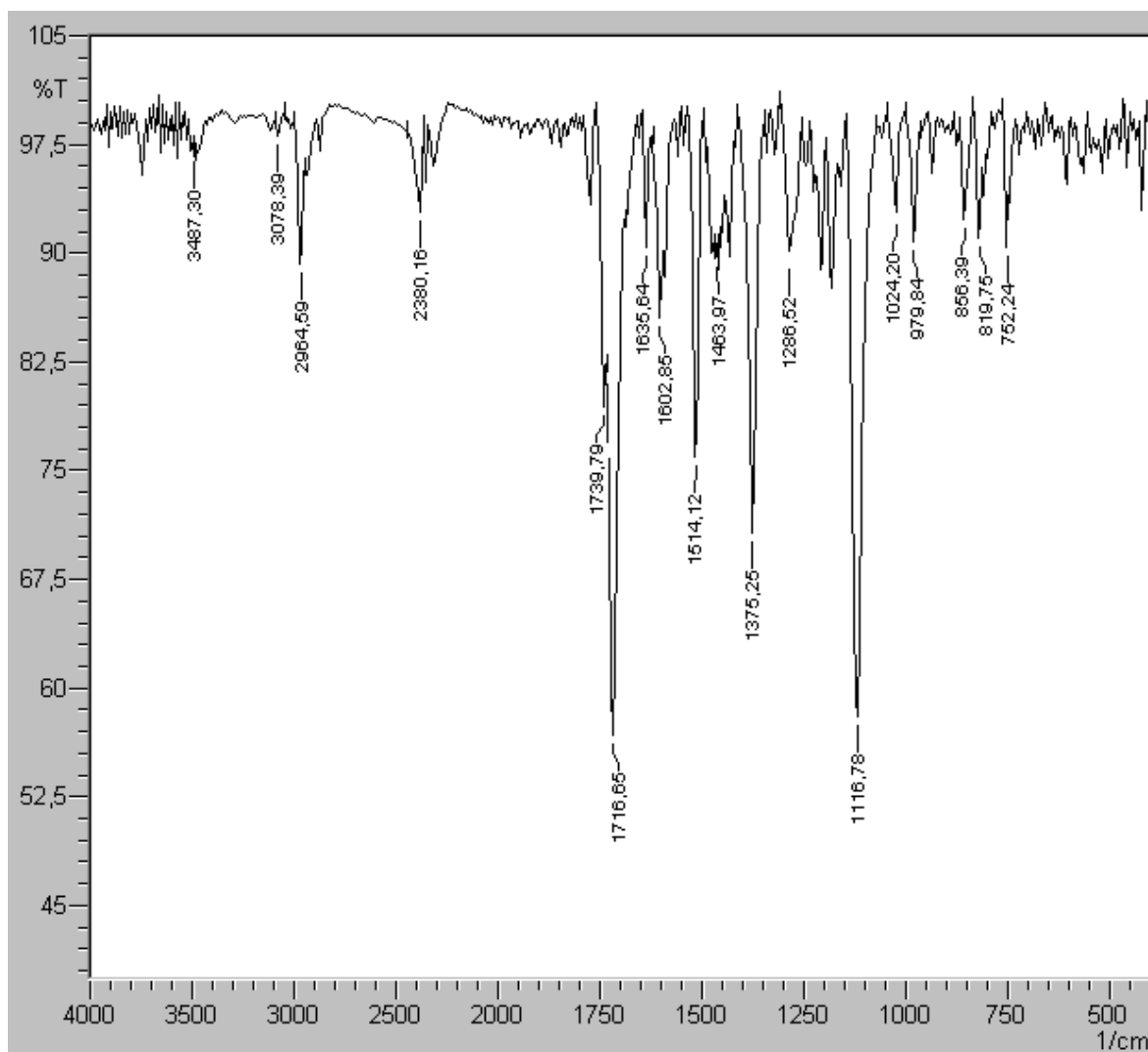


Figura A46. Espectro de Infravermelho do composto 26

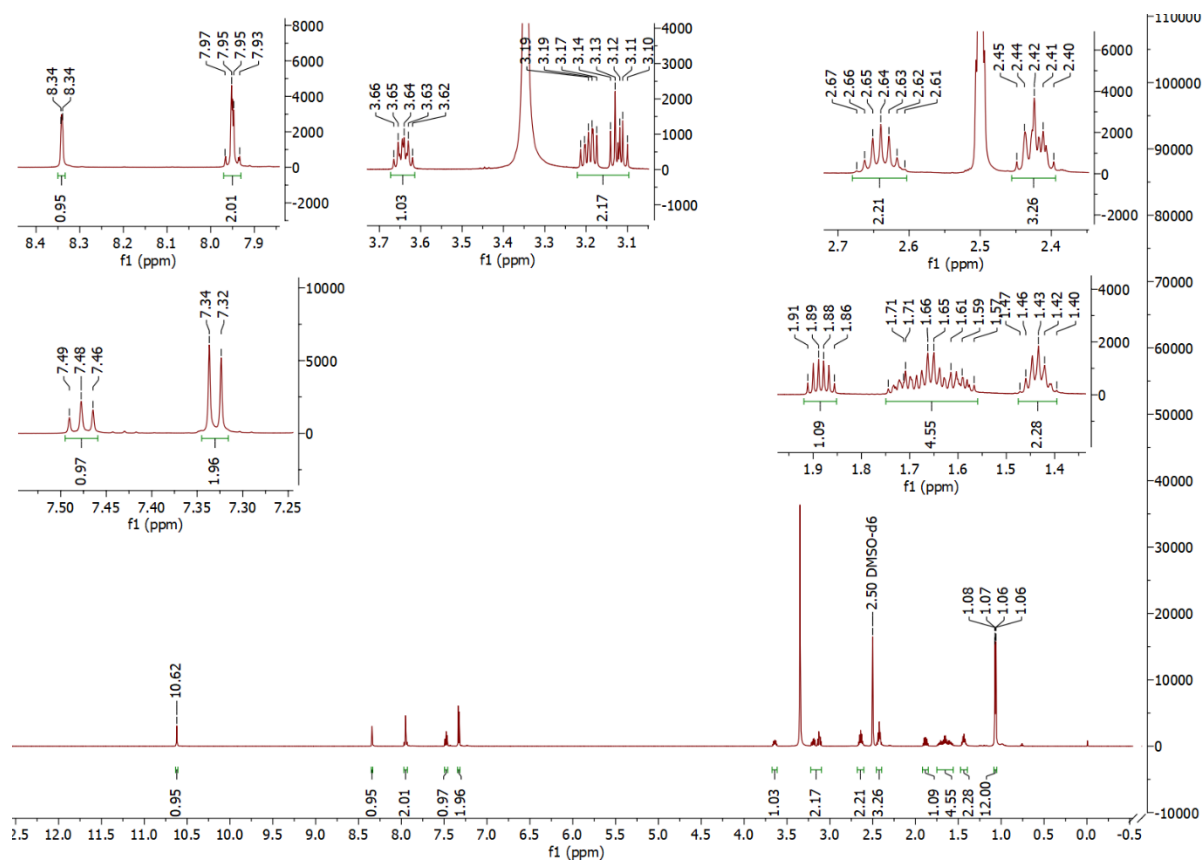


Figura A47. Espectro de RMN de ¹H do composto 27 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 10,62 (s, 1H), 8,34 – 8,35 (m, 1H), 7,93 – 7,95 (m, 2H), 7,48 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 3,62 – 3,66 (m, 1H), 3,10 – 3,21 (m, 2H), 2,64 (hept, 2H), 2,40 – 2,45 (m, 3H), 1,86 – 1,91 (m, 1H), 1,56 – 1,75 (m, 4H), 1,39 – 1,47 (m, 2H), 1,07 (d, 12H).

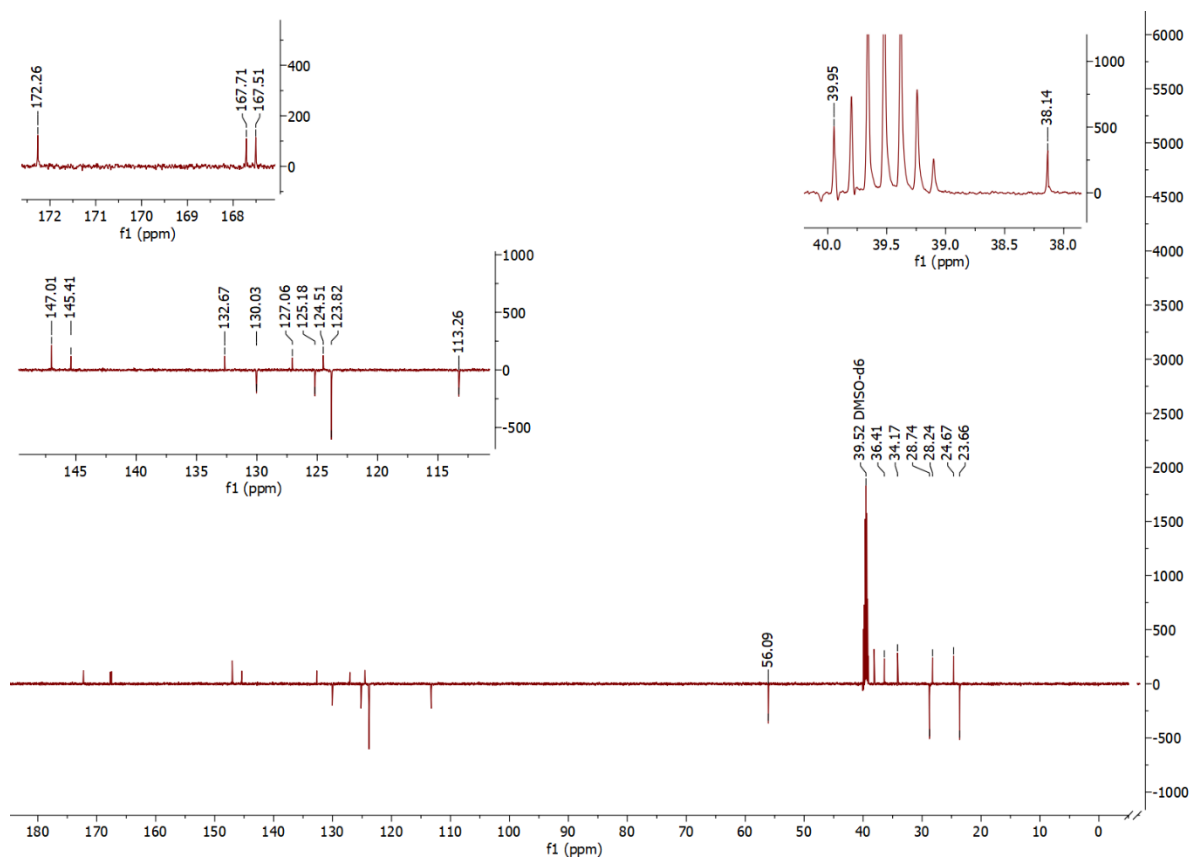


Figura A48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 27 (150 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 172,26; 167,71; 167,51; 147,01; 145,41; 132,67; 130,03; 127,06; 125,18; 124,51; 123,32; 113,26; 56,09; 39,95; 38,14; 36,34; 34,17; 28,74; 28,24; 24,67; 23,66.

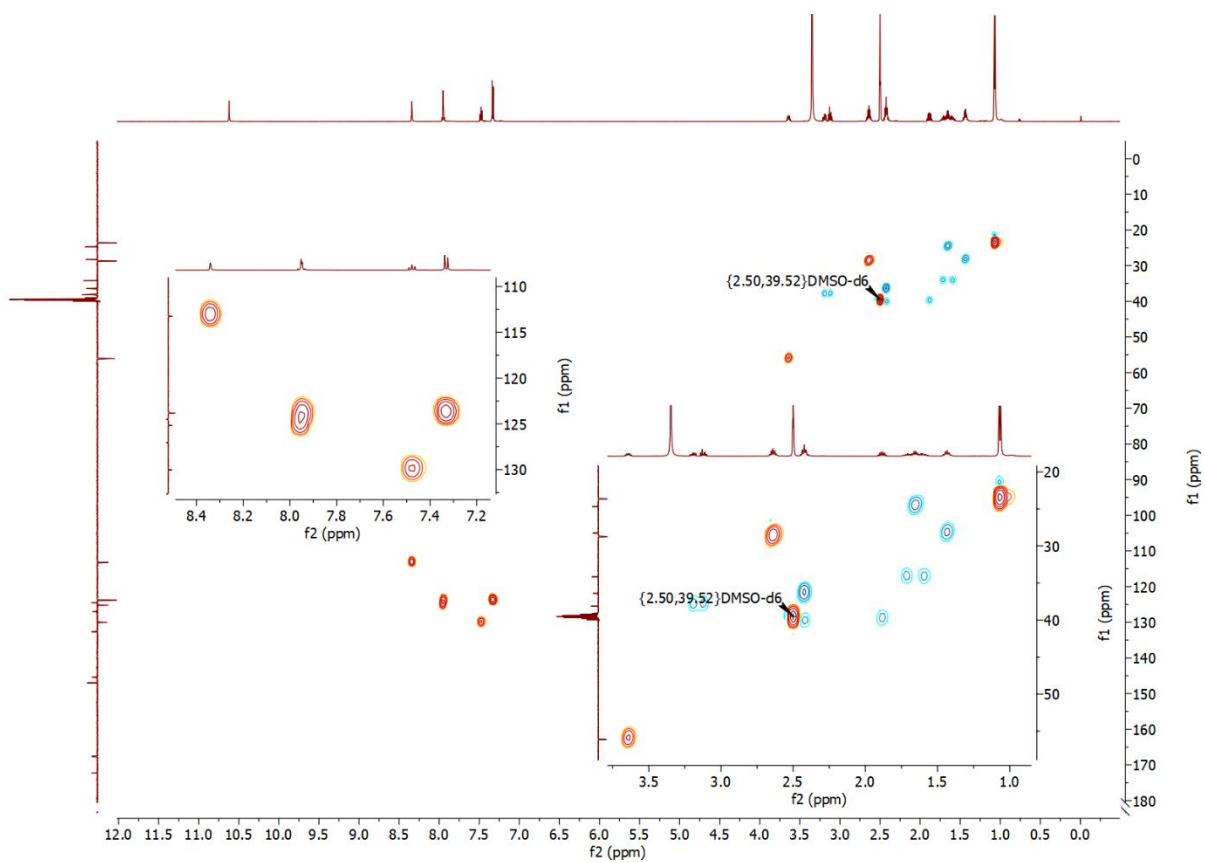


Figura A49. Mapa de contornos HSQC do composto 27 (600 MHz, DMSO)

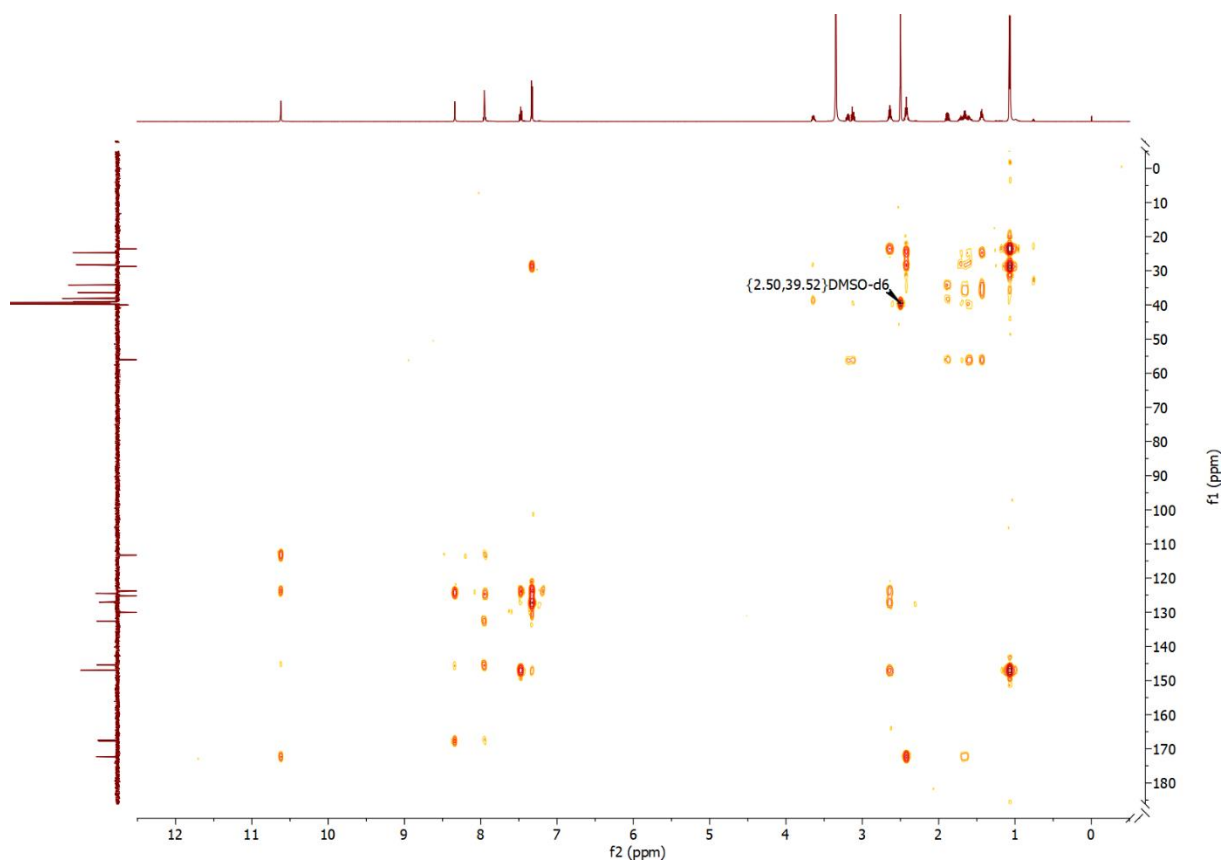


Figura A50. Mapa de contornos HMBC do composto 27 (600 MHz, DMSO)

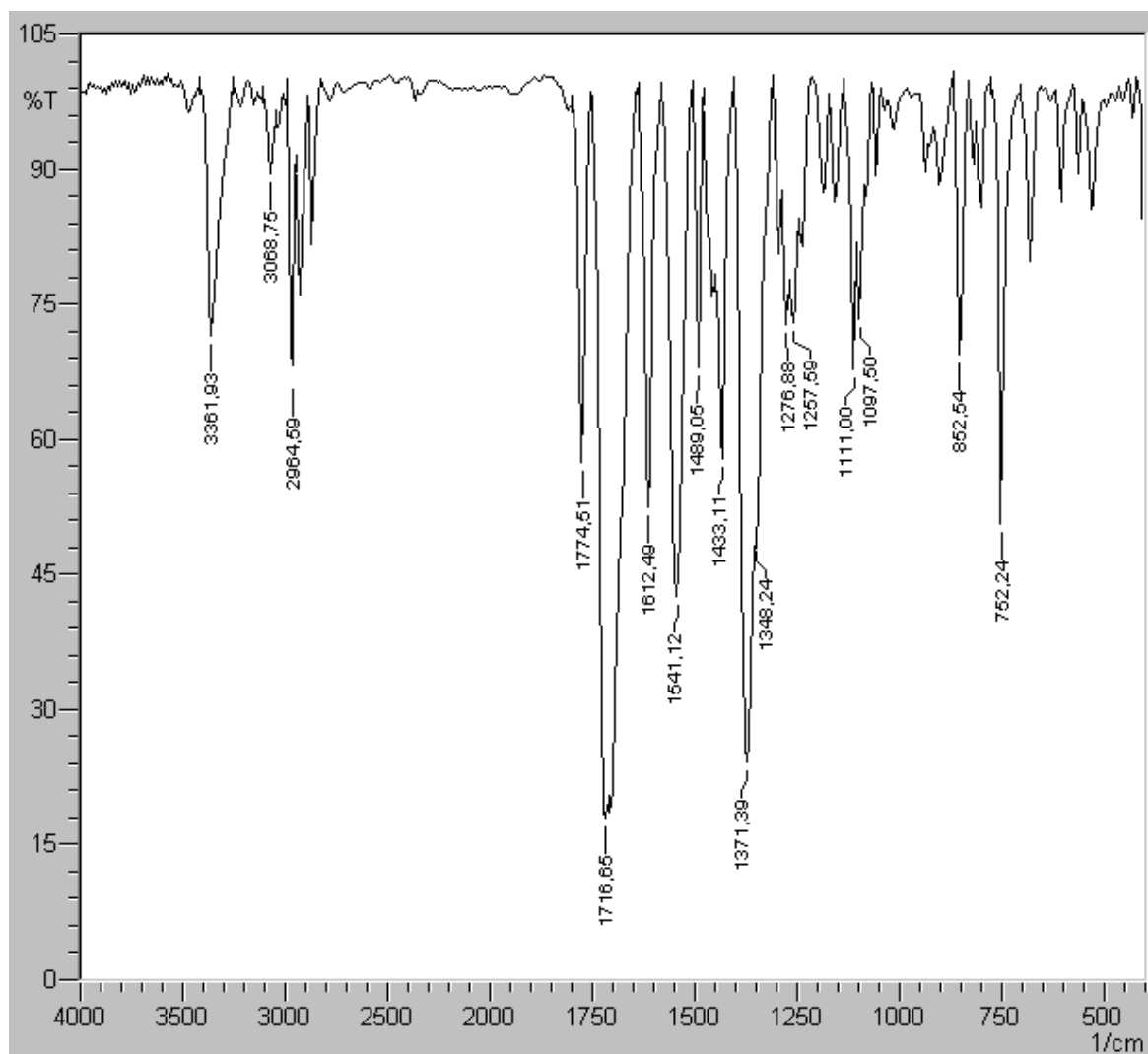


Figura A51. Espectro de Infravermelho do composto 27

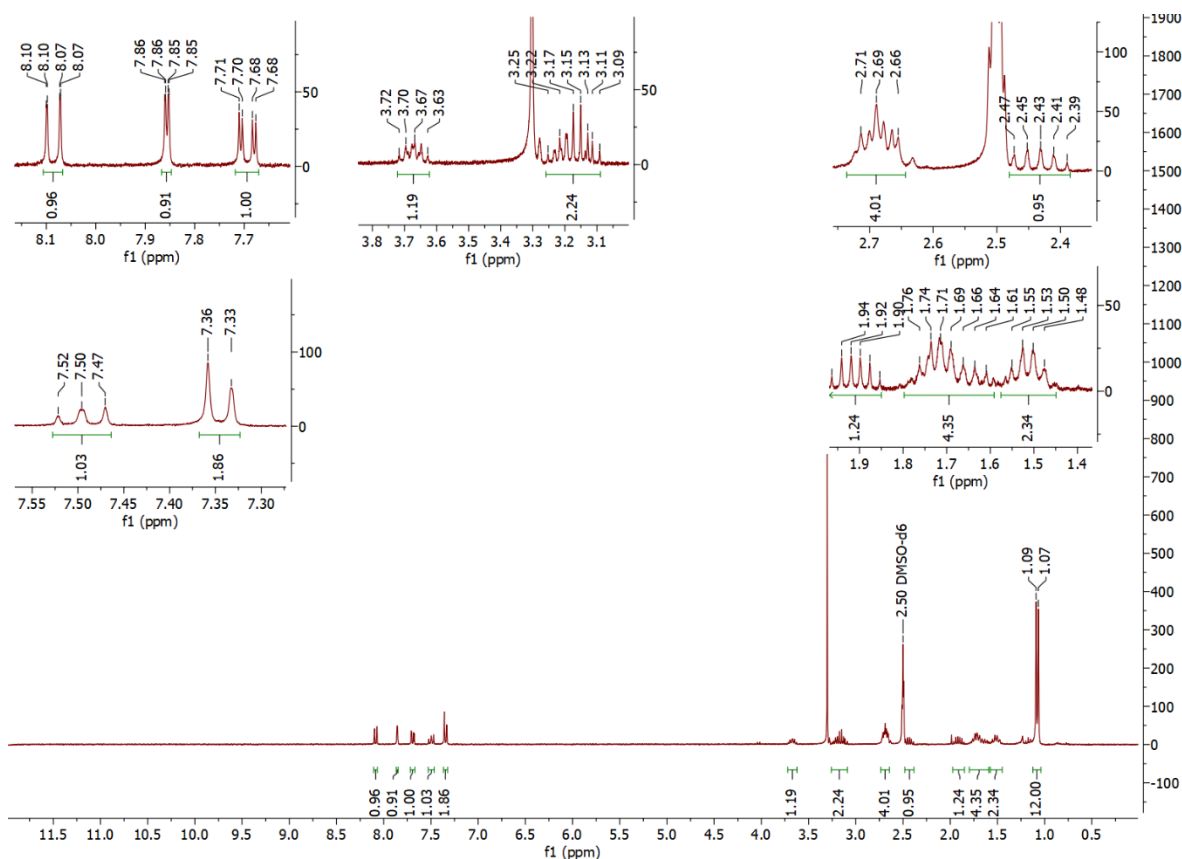


Figura A52. Espectro de RMN de ¹H do composto 28 (600 MHz, DMSO)

RMN de ¹H: δ 8,09 (dd, $J = 0,6; 8,1$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 0,6; 2,0$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 2,0; 8,1$ Hz, 1H), 7,47 – 7,52 (m, 1H), 7,35 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 3,62 – 3,72 (m, 1H), 3,09 – 3,25 (m, 2H), 2,63 – 2,73 (m, 4H), 2,39 – 2,47 (m, 1H), 1,85 – 1,96 (m, 1H), 1,59 – 1,79 (m, 4H), 1,45 – 1,58 (m, 2H), 1,08 (d, 12H).

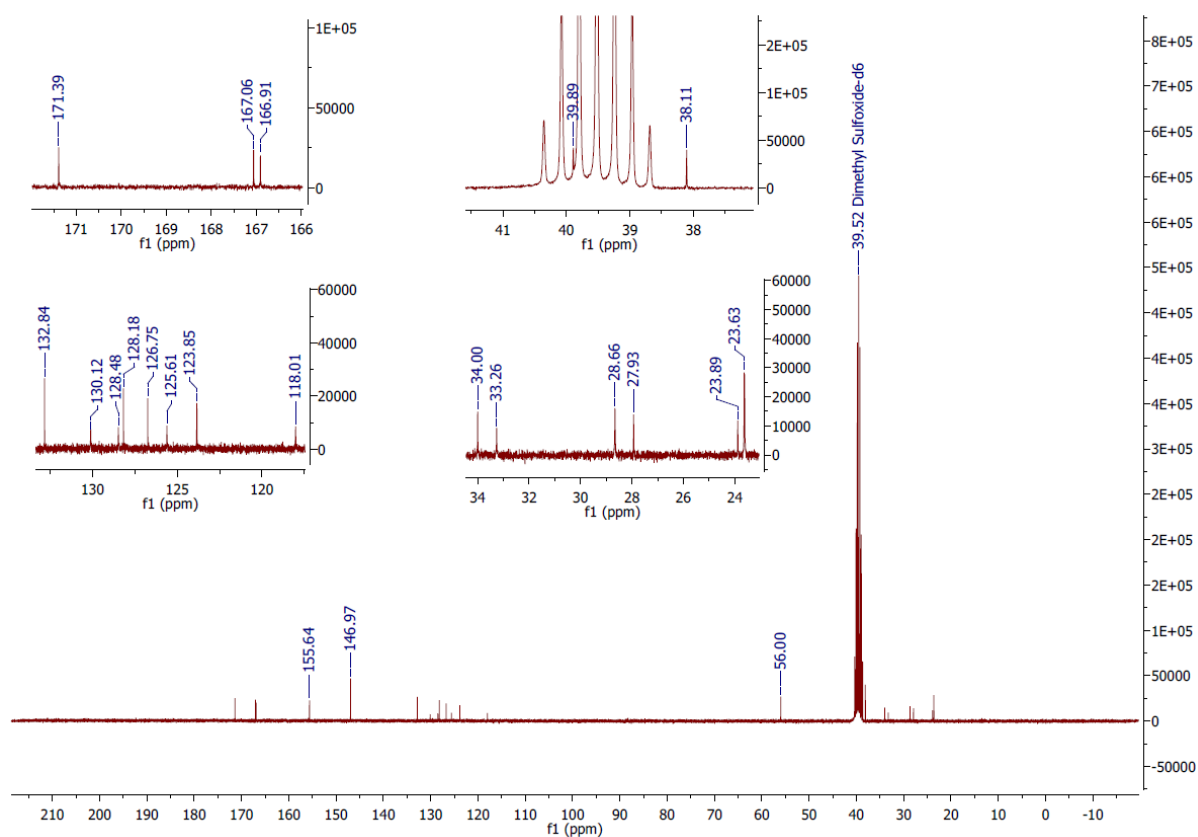


Figura A53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 28 (150 MHz, DMSO)

RMN de ^{13}C : δ 171,39; 167,06; 166,91; 155,64; 146,97; 132,84; 130,12; 128,48; 128,18; 126,75; 125,61; 123,85; 118, 01; 56,00; 39,89; 38,11; 34,00; 33,26; 28,66; 27,93; 23,89; 23,63.

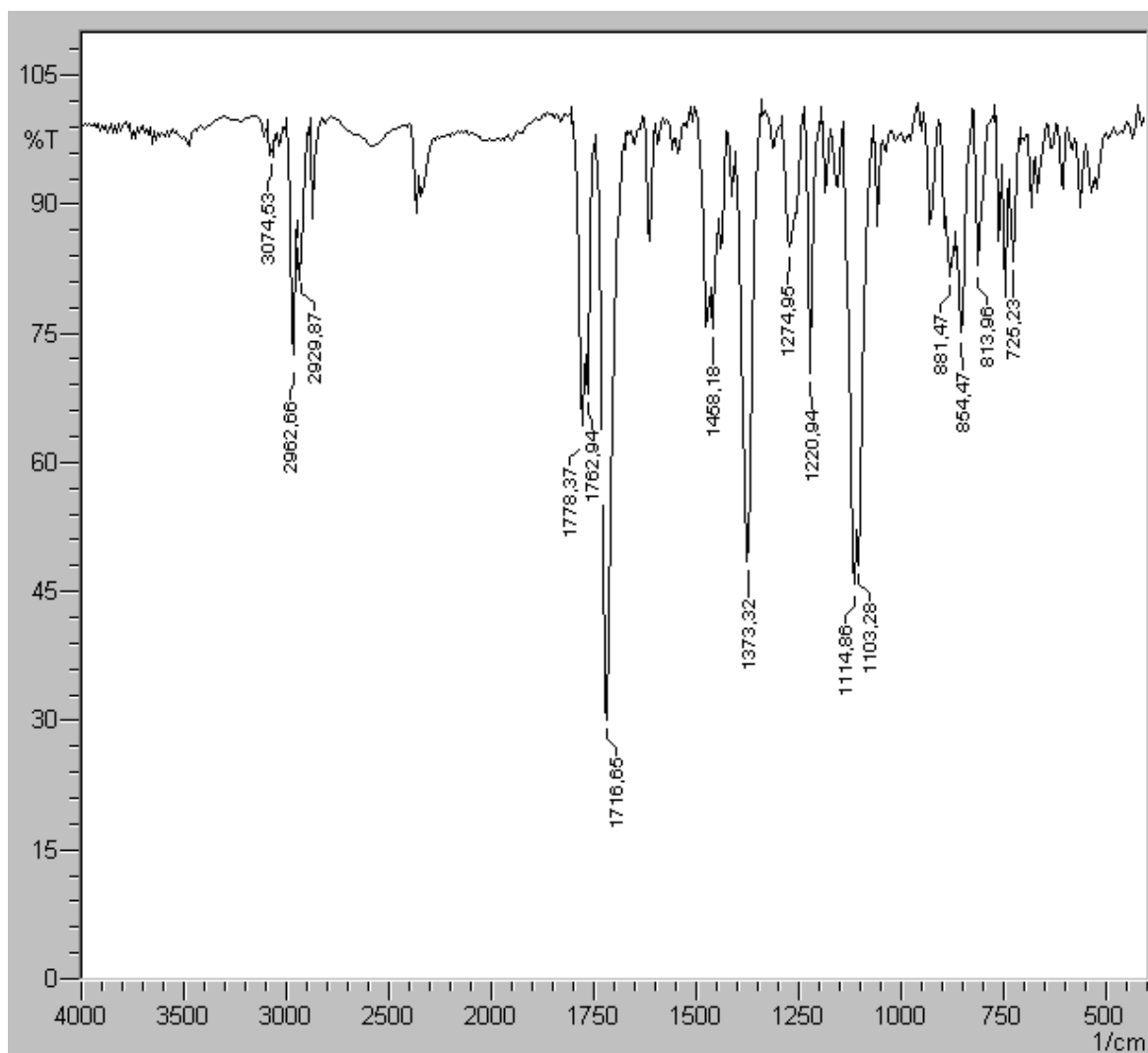


Figura A54. Espectro de Infravermelho do composto 28