

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ÍNSTITUTO DE QUÍMICA

VIKTOR SARAIVA CÂMARA

**SÍNTESE DE HÍBRIDOS INIBIDORES DE COLINESTERASES COM DUPLA
INTERAÇÃO ENZIMÁTICA, CONTENDO OS NÚCLEOS LOFINA E BENZAZOL**

PORTO ALEGRE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ÍNSTITUTO DE QUÍMICA

VIKTOR SARAIVA CÂMARA

**SÍNTESE DE HÍBRIDOS INIBIDORES DE COLINESTERASES COM DUPLA
INTERAÇÃO ENZIMÁTICA, CONTENDO OS NÚCLEOS LOFINA E BENZAZOL**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi
Orientador

PORTO ALEGRE

2016

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Márcio e Saionara, por todo afeto, carinho e dedicação.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi, pela excelente orientação durante os meus três anos no laboratório.

Ao Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch, pela colaboração e ajuda neste projeto.

Ao doutorando João Paulo Bizarro Lopes, pelo conhecimento passado, pela ajuda, colaboração no trabalho e companheirismo.

Aos amigos do laboratório K-215, por todos os momentos divertidos que transformam o laboratório em um lugar agradável de trabalhar.

Agradeço especialmente a Natalí Debia, por todos esses anos que estamos juntos.

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que resulta na perda irreversível das funções cerebrais. Uma estratégia para o tratamento paliativo é restaurar os níveis do neurotransmissor acetilcolina utilizando fármacos inibidores das enzimas colinesterases (ChEI). Nesse contexto a tacrina foi o primeiro fármaco aprovado nos EUA pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA. Os análogos dímeros da tacrina, conhecidos como bis-tacrina, mostraram maior eficiência na inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) comparativamente ao fármaco tacrina, devido à ação simultânea em dois sítios da enzima, catalítico (CAS) e periférico (PAS). Atualmente, vários compostos híbridos contendo o núcleo tacrina em combinação com outros núcleos farmacológicos tem sido sintetizados e testados como ChEI buscando interagir simultaneamente com o CAS e o PAS da enzima e também conferindo outras atividades biológicas importantes frente ao caráter multifatorial da DA.

Neste trabalho realizou-se a síntese de híbridos contendo os núcleos lofina (2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol) e benzazol separados por cadeias espaçadoras de metilenos. Para a síntese dos híbridos lofina-benzazol foi necessário realizar a proteção das 1,*n*-alcanodiaminas utilizando dicarbonato de di-*tert*-butila (Boc₂O), para posterior reação de condensação tetracomponente, levando à formação das *N*-alquilaminolofinas protegidas com Boc. A reação de desproteção destas amins em meio ácido levou a formação das *N*-alquilaminolofinas de interesse. O núcleo benzazol foi sintetizado através da reação entre o ácido 5-aminosalicílico e o 2-aminotiofenol ou 2-aminofenol na presença de ácido polifosfórico e, posteriormente, foi derivatizado com tiofosgênio fornecendo o intermediário 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol. Os híbridos lofina-benzazol foram sintetizados através da reação entre as *N*-alquilaminolofinas com os 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol. Os compostos obtidos neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. Todos os híbridos sintetizados serão avaliados quanto a sua atividade de inibição das ChEs. Como análise complementar, foram estudadas as características fotofísicas dos híbridos lofina-benzazol

Palavras-chave: Alzheimer, Colinesterases, Lofina-benzazol.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that causes irreversible loss of brain functions. A strategy for palliative treatment of AD is restore acetylcholine levels, using cholinesterase inhibitors (ChEI). Tacrine was the first drug approved for the treatment of AD. Dimers tacrine, known as bis(n)-tacrine, showed more efficient inhibitions of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) compared with tacrine, due to simultaneous action on two sites of the enzyme, catalytic active site (CAS) and peripheral anionic site (PAS). Currently, several hybrid containing tacrine in combination with other pharmacological compound have been synthesized and tested as ChEI.

In this work were carried out the syntheses of hybrids lophine-benzazole, connected by methylene chains spacers. For the synthesis of lophine-benzazole hybrids was necessary to protect the 1,n-alkanediamines using di-*tert*-butyl dicarbonate (Boc_2O), for subsequent tetracomponent reaction, leading to formation of *N*-alkylaminolophine protected with Boc. The deprotection reaction of these amines in acidic medium provides the intermediate *N*-alkylaminolophine. Benzazole core was synthesized through the reaction between 5-aminosalicylic acid and 2-aminophenol or 2-aminothiophenol, in the presence of polyphosphoric acid, to be subsequently derivatized with thiophosgene providing the intermediate (5-isothiocyanate-2-hydroxyphenyl)benzazole. Lophine-benzazole hybrids were synthesized through the reaction between *N*-alkylaminolophine and (5-isothiocyanate-2-hydroxyphenyl)benzazole. The compounds obtained in this study were characterized by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy of ^1H and ^{13}C . All hybrids will be evaluated for their activity as ChEI.

Keywords: Alzheimer, Cholinesterase, Lophine-benzazole.

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|--|----|
| Esquema 1: Biossíntese do neurotransmissor acetilcolina. | 13 |
| Esquema 2: Preparação de compostos bis(n)-tacrina..... | 15 |
| Esquema 3: Reação de proteção das 1,n-alcanodiaminas | 20 |
| Esquema 4: Reação de obtenção das 1,n-alquilaminolofinas..... | 21 |
| Esquema 5: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente | 21 |
| Esquema 6: Reação de desproteção do grupo amino | 22 |
| Esquema 7: Síntese da 2-(5-amino-2-hidroxifenil)benzazol..... | 23 |
| Esquema 8: Síntese do intermediário 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol. | 23 |
| Esquema 9: Síntese dos híbridos Lofina-Benzazol | 24 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Estrutura do neurotransmissor acetilcolina | 11 |
| Figura 2: 9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina. | 12 |
| Figura 3: Representação simplificada da sinapse química. | 14 |
| Figura 4: Representação simplificada da dupla interação de um dímero bis(n)-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase..... | 16 |
| Figura 5: Exemplo de híbridos contendo dois núcleos farmacológicos. | 17 |
| Figura 6: Híbridos tacrina-lofina e tacrina-tianeptina. | 17 |
| Figura 7: Imidazol e seu derivado lofina..... | 18 |
| Figura 8: Azol e seu derivado Benzazol..... | 18 |
| Figura 9: Mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (<i>ESIPT</i>) dos compostos hidroxifenilbenzazólicos..... | 19 |
| Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 13c | 22 |
| Figura 11: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 18b | 24 |
| Figura 12: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 19b | 25 |
| Figura 13: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto 19b | 26 |
| Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 100 MHz) do composto 19b | 27 |
| Figura 15: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto 19b | 28 |
| Figura 16: Espectros de absorção de UV-Vis dos híbridos 19a-c em DCM..... | 29 |
| Figura 17: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 19a-c em DCM. Inserção: resultados da Lofina em DCM para comparação. | 31 |
| Figura 18: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 19a e 19b em DCM ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$). | 32 |
| Figura 19: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 19a-c em MeOH. Inserção: resultados da Lofina em MeOH para comparação. | 33 |
| Figura 20: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos 19a e 19b em MeOH ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$). | 34 |

ABREVIATURAS

| | |
|---------------|---|
| δ | Deslocamento químico |
| A β | Beta amilóide |
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | Acetilcolinesterase |
| Acetil-CoA | Acetil-coenzima A |
| <i>APT</i> | <i>Attached Proton Test</i> |
| BuChE | Butirilcolinesterase |
| CAS | Sítio ativo catalítico |
| ChAT | Acetiltransferase |
| ChEI | Colinesterase |
| COSY: | <i>Correlation Spectroscopy</i> |
| DA | Doença de Alzheimer |
| DCM | Diclorometano |
| <i>ESIPT</i> | <i>Excited state intramolecular proton transfer</i> |
| FDA | <i>Food and Drug Administration</i> |
| HSQC | <i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i> |
| PAS | Sítio periférico aniônico |
| RMN | Ressonância Magnética Nuclear |
| SNC | Sistema nervoso central |
| <i>TD-DFT</i> | <i>Time-dependent density functional theory</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introdução..... | 11 |
| 2 | Objetivos..... | 13 |
| 2.1 | Objetivo Geral..... | 13 |
| 2.2 | Objetivos Específicos..... | 13 |
| 3 | Revisão Bibliográfica..... | 13 |
| 3.1 | Hipótese colinérgica..... | 13 |
| 3.2 | Enzimas colinesterases..... | 14 |
| 3.3 | Compostos do tipo bis-tacrina..... | 15 |
| 3.4 | Compostos híbridos contendo diferentes núcleos farmacofóricos..... | 16 |
| 3.5 | O núcleo imidazol e sua importância farmacológica..... | 17 |
| 3.6 | O núcleo benzazol e sua importância farmacológica..... | 18 |
| 4 | Resultados e Discussão..... | 20 |
| 4.1 | Síntese das <i>N</i> -alquilaminolofina..... | 20 |
| 4.2 | Síntese do 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol..... | 23 |
| 4.3 | Síntese dos híbridos Lofina-benzazol..... | 24 |
| 5 | Conclusão..... | 34 |
| 6 | Procedimento Experimental..... | 35 |
| 6.1 | Materiais e Métodos..... | 35 |
| 6.1.1 | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear..... | 35 |
| 6.1.2 | Solventes e Reagentes..... | 36 |
| 6.2 | Procedimento geral para a preparação dos (n-alquilamino)carbamato de <i>tert</i> -butila (3a-c)..... | 36 |
| 6.2.1 | (4-aminobutil)carbamato de <i>tert</i> -butila (3a)..... | 36 |
| 6.2.2 | (6-aminoexil)carbamato de <i>tert</i> -butila (3b)..... | 37 |
| 6.2.3 | (8-aminooctil)carbamato de <i>tert</i> -butila (3c)..... | 37 |
| 6.3 | Procedimento geral para a preparação dos (n-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)alquil)carbamato de <i>tert</i> -butila (7a-c)..... | 37 |

| | | |
|-------|---|----|
| 6.3.1 | (4-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)butil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7a) | 37 |
| 6.3.2 | (6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)exil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7b) | 37 |
| 6.3.3 | (8-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)octil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7c)..... | 38 |
| 6.4 | Procedimento geral para a preparação das n-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)alcano-1-amina (13a-d)..... | 38 |
| 6.4.1 | 4-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)butano-1-amina (13a)..... | 38 |
| 6.4.2 | 6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)hexano-1-amina (13b)..... | 38 |
| 6.4.3 | 8-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)octano-1-amina (13c)..... | 39 |
| 6.5 | Procedimento geral para a preparação dos híbridos lofina-benzotiazol (19a-c). | 39 |
| 6.5.1 | Híbrido Lofina-Benzoxazol 19a | 39 |
| 6.5.2 | Híbrido Lofina-Benzoxazol 19b | 39 |
| 6.5.3 | Híbrido Lofina-Benzotiazol 19c | 40 |
| | Referências | 41 |

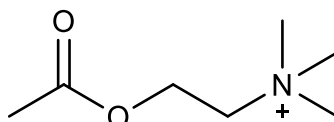
1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que resulta na perda irreversível das funções cerebrais. Estima-se que mais de 35 milhões de pessoas possuem a DA. O principal fator de risco da doença é a idade e prevê-se que, até o ano de 2030, este número atinja 72 milhões de pessoas no mundo.¹

A etiologia da DA permanece desconhecida e múltiplos fatores, incluindo os baixos níveis de acetilcolina, depósitos de peptídeos β -amilóide (A β), agregados de proteína Tau são possíveis causadores da DA.² Muitas lesões moleculares decorrentes do acúmulo de proteínas no cérebro com idade avançada foram detectadas na DA, o que ocasiona estresse oxidativo e danos inflamatórios, levando a disfunções sinápticas.³

O estágio inicial da DA é caracterizado pela perda da memória recente. Ansiedade, mudança de personalidade e depressão também podem ocorrer nos primeiros anos da doença. Após alguns anos, são observados sinais de disfunções cerebrais como problemas de fala, disfunções sensoriais e problemas motores, o que dificultam a habilidade do paciente de executar tarefas do cotidiano.⁴ A DA causa a morte dos pacientes entre 3 e 9 anos após o diagnóstico.³ Os sintomas citados anteriormente, entre eles o mais pronunciado, a perda progressiva da memória, estão associados aos déficits na transmissão colinérgica, isto é, uma transmissão sináptica deficiente entre os neurônios colinérgicos (neurônios que utilizam a acetilcolina (ACh, Figura 1) como neurotransmissor) no sistema nervoso central (SNC).⁵

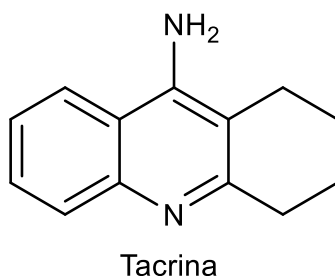
Figura 1: Estrutura do neurotransmissor acetilcolina



Atualmente, não há cura para a DA, porém existem estratégias de tratamento que visam amenizar os sintomas da doença. O principal tratamento consiste em inibir a atividade da acetilcolinesterase (AChE) e da butirilcolinesterase (BuChE), potencializando a sinapse e diminuindo os déficits cognitivos. A primeira droga

aprovada nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA foi a 9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina, a tacrina (Figura 2), comercializada como *Tacrina*® ou *Cognex*®. A tacrina apresenta uma boa atividade na inibição das enzimas, porém, sua utilização se tornou limitada por apresentar efeitos colaterais, como hepatotoxicidade.⁶ Apesar das limitações no uso, a tacrina permanece como uma estrutura de referência, ainda amplamente empregada como núcleo na construção de novas moléculas, com o objetivo de encontrar fármacos mais potentes, mais seguros e com efeitos colaterais reduzidos no tratamento da DA.

Figura 2: 9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina.



Devido a complexidade e ao caráter multifatorial da DA, é de interesse da comunidade científica a síntese de moléculas híbridas. Esta estratégia permite agregar ao híbrido diferentes grupos farmacofóricos que possam atuar como ChEIs e em algum outro fator da DA. Dentre os núcleos com importante atividade biológica, destacam-se o núcleo imidazol, presente em diversas moléculas bioativas, o benzazol, que está presente em agentes antitumorais, antimicrobianos, antibacterianos e antifúngicos, e em combinação com a tacrina apresentou atividade como ChEIs.⁷

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo a síntese e caracterização dos híbridos lofina-benzazol.

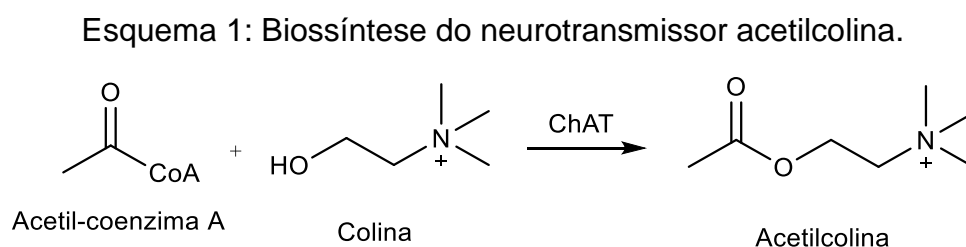
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina, empregando a estratégia de proteção/desproteção seletiva da alcanodiamina e a reação de condensação tetracomponente;
- Síntese dos derivados 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol;
- O estudo fotofísico dos híbridos lofina-benzazol.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HIPÓTESE COLINÉRGICA

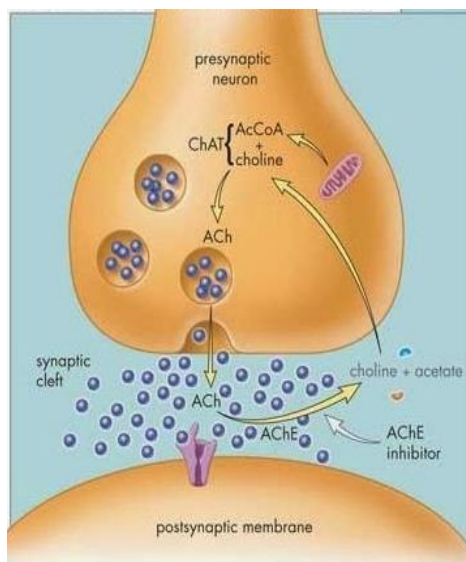
A sinapse química está relacionada com os principais processos cognitivos como a fala, memória e atenção. A sinapse ocorre na região chamada fenda sináptica, um espaço entre um neurônio pré-sináptico e um neurônio pós-sináptico, e começa com a síntese do neurotransmissor acetilcolina, através da reação entre a acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e a colina, catalisada pela enzima colina acetiltransferase (ChAT) na zona ativa do neurônio pré-sináptico (Esquema 1).



Após ser sintetizada, a ACh é armazenada em vesículas transportadoras e é liberada na fenda sináptica devido a abertura de uma série de canais iônicos que transmitem o impulso nervoso. Após liberada na fenda sináptica, a ACh se liga aos receptores específicos, que são canais iônicos, na membrana do neurônio pós-sináptico, promovendo a abertura desses canais e a entrada de íons Na^+ e K^+ na célula. A entrada desses íons promove a despolarização da membrana e ocasiona

um novo impulso nervoso no neurônio pós-sináptico.^{8; 9} Após a transmissão do impulso nervoso a ACh é hidrolisada por uma enzima ancorada na membrana, a acetilcolinesterase (AChE), produzindo colina, que é recaptada pelo neurônio pré-sináptico, encerrando a sinapse química (Figura 3). A hipótese colinérgica postula que a perda das funções sinápticas no sistema nervoso central contribui para o declínio cognitivo associado com a idade avançada e a DA.¹⁰ Essa hipótese serviu como base para a maioria das estratégias de tratamento e para o desenvolvimento de fármacos para a DA.¹¹

Figura 3: Representação simplificada da sinapse química.



3.2 ENZIMAS COLINESTERASES

Existem dois tipos de enzimas colinesterases: acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesterase (BuChE). A AChE é encontrada no sistema nervoso em grande quantidade, enquanto a BuChE é sintetizada no fígado e encontrada no plasma e também no sistema nervoso. Ambas as enzimas são capazes de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina, entretanto a AChE possui uma atividade da ordem de 10^{13} vezes maior que a atividade da BuChE para a hidrólise da acetilcolina, nas mesmas condições de temperatura e pH.¹²

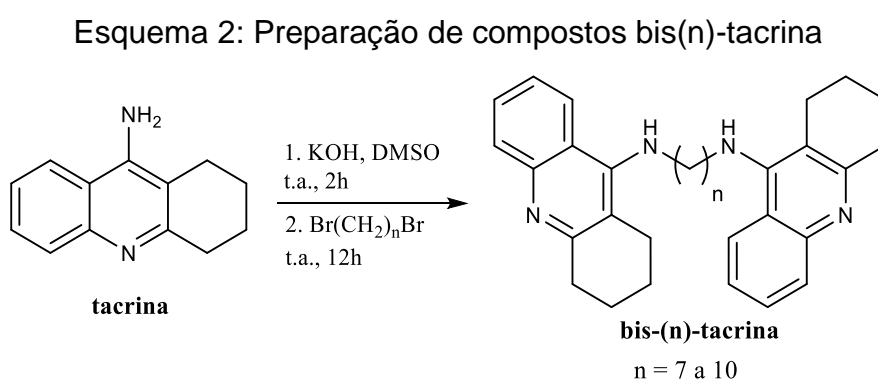
A AChE atua no sistema nervoso central e periférico e sua principal função é terminar a transmissão de impulso nervoso na sinapse colinérgica, por meio da hidrólise da acetilcolina. Estudos recentes identificaram que a AChE tem um papel importante na deposição de placas senis de peptídeos β -amiloides.² A cavidade

enzimática da AChE de humanos tem a forma de um gargalo estreito e profundo de aproximadamente 20 Å e é composta de dois sítios: o sítio catalítico ativo (*catalytic active site* - CAS), ao fundo da cavidade enzimática, e o sítio aniônico periférico (*peripheral anionic site* – PAS), próximo à entrada da cavidade.¹³

A função fisiológica da BuChE ainda não é bem conhecida, mas é sugerida sua participação nos estágios iniciais do desenvolvimento do sistema nervoso e também sua participação nos mecanismos regulatórios da AChE na sinapse colinérgica.¹³ Observou-se, em pacientes com a DA, que a razão BuChE/AChE aumenta gradualmente, como decorrência da perda progressiva da sinapse colinérgica, causada pela doença, onde a AChE é ativa.¹⁴

3.3 COMPOSTOS DO TIPO BIS-TACRINA

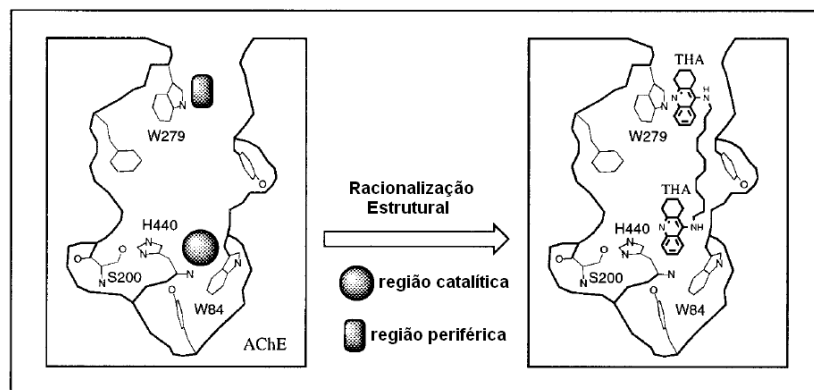
Após a aprovação da tacrina como fármaco para o tratamento da DA e considerando sua facilidade sintética, Pang e colaboradores realizaram estudos computacionais e constataram que a tacrina atua somente no CAS da AChE e apresenta uma baixa afinidade pelo PAS. Foi proposto que no PAS ocorre um aumento da concentração de acetilcolina, facilitando a passagem para o CAS. Portanto, foi proposta por Pang e colaboradores a síntese de compostos do tipo bis(n)-tacrina (Esquema 2) com uma cadeia espaçadora de metilenos, proporcionando, uma dupla interação com os sítios catalítico e periférico (Figura 4).¹⁵



A bis(7)-tacrina apresentou uma atividade mil vezes maior que a da tacrina na inibição da acetilcolinesterase e uma maior seletividade na inibição da AChE em relação a BuChE. Estudos computacionais mostraram que a cadeia de sete metilenos da bis(7)-tacrina apresenta um comprimento de 18 Å, bem próximo do valor de 16 Å, determinado para a distância entre o CAS e o PAS.¹⁵ Entre o núcleo

da tacrina e os resíduos de aminoácidos da enzima são observados principalmente interações do tipo π -stacking entre as porções aromáticas, e de ligações de hidrogênio.

Figura 4: Representação simplificada da dupla interação do dímero bis(7)-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase.

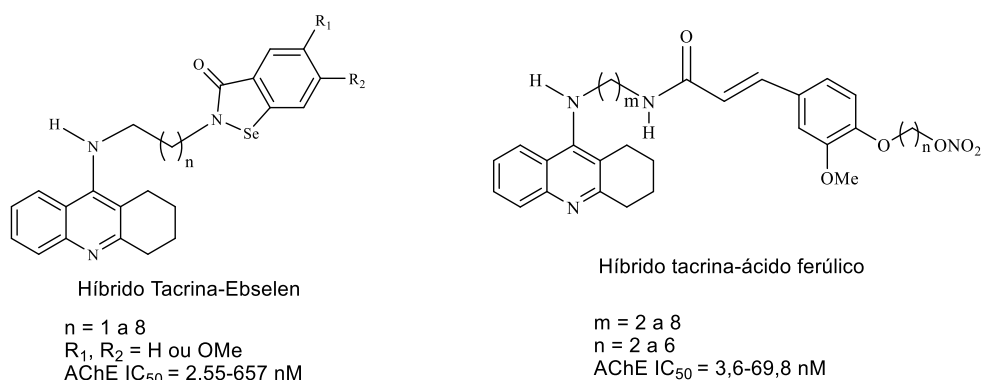


3.4 COMPOSTOS HÍBRIDOS CONTENDO DIFERENTES NÚCLEOS FARMACOFÓRICOS

Devido à complexidade da DA e ao seu caráter multifatorial, os pesquisadores vêm buscando a síntese de moléculas multialvo que possam agir em diferentes fatores da doença, visando bloquear o seu progresso, mais do que apenas amenizar seus sintomas. Essa nova estratégia geralmente envolve a síntese de moléculas híbridas que contém dois ou mais núcleos farmacológicos, sendo um dos núcleos, geralmente, inibidor da AChE.¹⁶ Essa geração de moléculas híbridas são planejadas para interagir simultaneamente com o CAS e o PAS das ChEs e algum outro fator da DA.

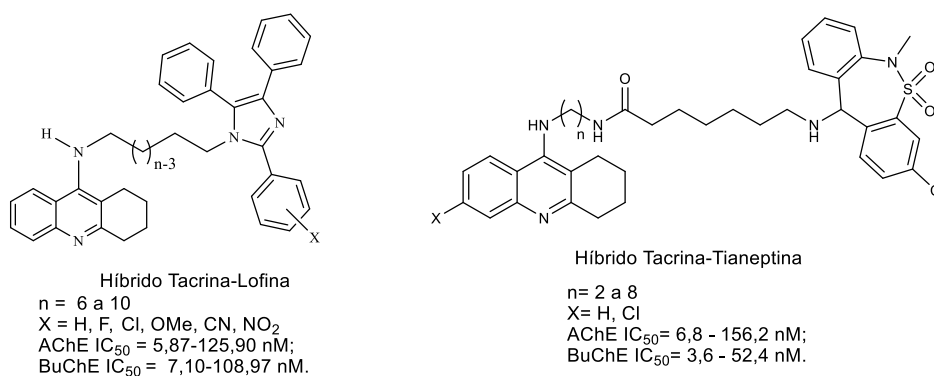
Na Figura 5 estão representados dois desses compostos. A série de híbridos tacrina-ebesen apresentou atividade de inibição da AChE na faixa de concentração nanomolar. Além disso, o híbrido mais ativo da série foi capaz de bloquear a autoagregação e a agregação induzida do peptídeo A β e agiu como um mediador do estresse oxidativo cerebral.¹⁷ Os híbridos tacrina-ácido ferúlico inibiram as enzimas AChE e BuChE e apresentaram atividade como antioxidantes. Outros híbridos inibidores das enzimas ChEs, com caráter multifatorial capazes de interagir com diferentes fatores da doença são reportados na literatura.¹⁶

Figura 5: Exemplo de híbridos contendo dois núcleos farmacológicos.



A Figura 6 apresenta duas séries de híbridos sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa. Os híbridos tacrina-lofina¹⁸ e tacrina-tianeptina^{19,20} se mostraram potentes inibidores das enzimas AChE e BuChE. Além disso, os híbridos tacrina-tianeptina apresentaram potencial atividade como antidepressivo e não alteraram a integridade celular.

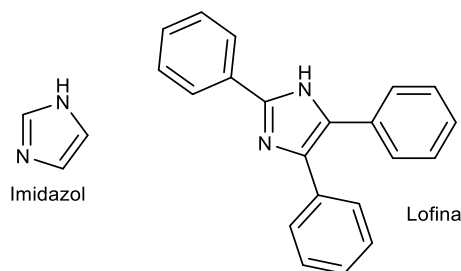
Figura 6: Híbridos tacrina-lofina e tacrina-tianeptina.



3.5 O NÚCLEO IMIDAZOL E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA

O imidazol é um composto heteroaromático de cinco membros contendo dois átomos de nitrogênio nas posições 1 e 3 (Figura 7). Por sua vez, a lofina é um derivado que apresenta três substituintes fenilas nas posições 2, 4 e 5 do imidazol e possui atividade antioxidante e antibacteriana.²¹

Figura 7: Imidazol e seu derivado lofina

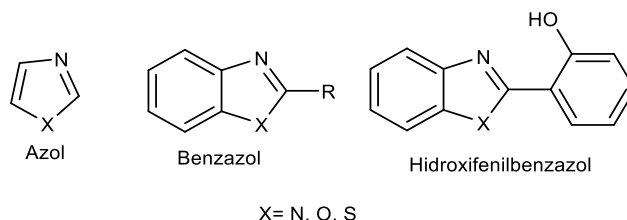


Compostos contendo o núcleo imidazólico apresentam muitas propriedades farmacológicas e atuam em importantes processos bioquímicos. A ampla aplicabilidade deste núcleo farmacofórico se deve a sua característica doadora/receptora de ligações de hidrogênio, assim como sua elevada afinidade por metais.²²

3.6 O NÚCLEO BENZAZOL E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA

Os anéis azólicos com um heteroátomo (N, O, S) na posição 1 e um nitrogênio na posição 3 (Figura 8) são um importante núcleo em diversas drogas. O núcleo benzazol (anel azólico com um grupo fenila fundido ao anel nas posições 4 e 5, Figura 8) são sistemas heterocíclicos muito versáteis, presentes em uma grande variedade de compostos bioativos e apresentam excelentes propriedades farmacocinéticas, excelentes ligantes para reagentes organometálicos e podem ser usados como corantes.²³

Figura 8: Azol e seu derivado Benzazol

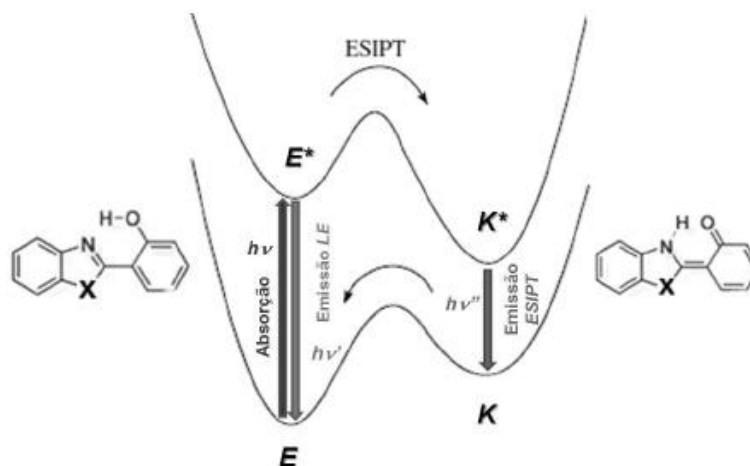


Os núcleos benzotiazol (X=S) e benzoxazol (X=O) constituem uma importante classe de agentes terapêuticos em química medicinal, pois apresentam importantes propriedades biológicas, biofísicas e fotofísicas. 2-Aril ou 2-heteroaril benzotiazóis são estudados como agentes antitumorais,²⁴ antimicrobianos,²⁵ antibacterianos e antifúngicos.²⁶ Derivados do núcleo benzoxazol são estudados como antipsicóticos

multialvos,²⁷ como antivirais,²⁸ entre outras aplicações. Ambos os núcleos são estudados como agentes de imageamento das placas β -amilóides, auxiliando no diagnóstico da doença de Alzheimer.^{29,30} Keri e colaboradores sintetizaram uma série de híbridos tacrina-benzotiazol como compostos multialvo para o tratamento da doença de Alzheimer. Os compostos sintetizados apresentaram atividade de inibição da AChE, na faixa de 0,19 a 1,89 μM , e inibiram o processo de agregação $\text{A}\beta_{42}$.⁷

Os compostos hidroxifenilbenzazólicos (Figura 8) constituem uma classe importante de corantes, uma vez que apresentam intensa emissão de fluorescência e um grande deslocamento de Stokes devido ao mecanismo de fototautomerização. Esse mecanismo é conhecido como transferência protônica intramolecular no estado eletrônico excitado (*ESIPT*), fenômeno afetado pelo solvente. O mecanismo de *ESIPT* consiste na transferência de um próton de um grupo ácido para um grupo básico receptor (Figura 9). O mecanismo começa quando o composto no estado fundamental na forma enol-*cis* (*E*) absorve radiação UV levando à espécie enol excitada (*E**). A forma *E** pode seguir por dois caminhos: retornar ao estado fundamental *E* emitindo fluorescência ou transferir o hidrogênio no estado excitado levando a forma tautomérica ceto excitada (*K**). A forma *K** pode decair para a forma *K* emitindo fluorescência. Este processo de transferência ocasiona perda de energia conformacional, portanto sua emissão é deslocada para menores energias. Por fim, a forma *K* pode tautomerizar para a forma enol-*cis*, fechando o ciclo fotofísico.³¹

Figura 9: Mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (*ESIPT*) dos compostos hidroxifenilbenzazólicos.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

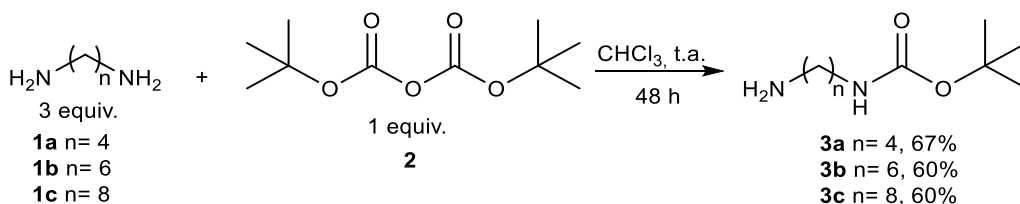
Para a preparação dos híbridos contendo os núcleos lofina e benzazol, separados por uma cadeia espaçadora de metilenos, foi necessário sintetizar os intermediários *N*-alquilaminolofina e 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol. De acordo com as interações observadas entre a tacrina e o sítio ativo da AChE, foram escolhidos os núcleos lofina e benzazol, pois podem apresentar os mesmos tipos de interações com o sítio ativo da AChE.

4.1 SÍNTESE DAS *N*-ALQUILAMINOLOFINA

As *N*-alquilaminolofinas foram sintetizadas através de uma rota sintética contendo três etapas. Primeiramente, realizou-se a proteção seletiva de um dos grupamentos amino das 1,*n*-alcanodiaminas com dicarbonato de di-*tert*-butila (Boc_2O), para em seguida, formar o núcleo lofina através da reação de condensação tetracomponente. Por último, a desproteção do grupo amino em meio ácido levou a formação do intermediário *N*-alquilaminolofina de interesse.

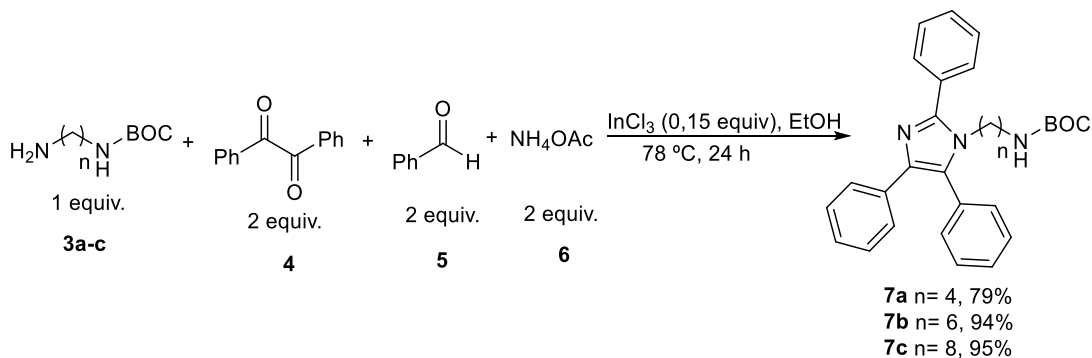
A proteção seletiva de um dos grupamentos amino das 1,*n*-alcanodiaminas **1a-c** na forma de um carbamato foi realizada utilizando excesso de diamina e adicionando o Boc_2O (**2**) de forma lenta à 0 °C.³² As 1,*n*-alcanodiaminas protegidas **3a-c** foram obtidas com rendimentos em torno de 60% após purificação por cromatografia em coluna (Esquema 3).

Esquema 3: Reação de proteção das 1,*n*-alcanodiaminas



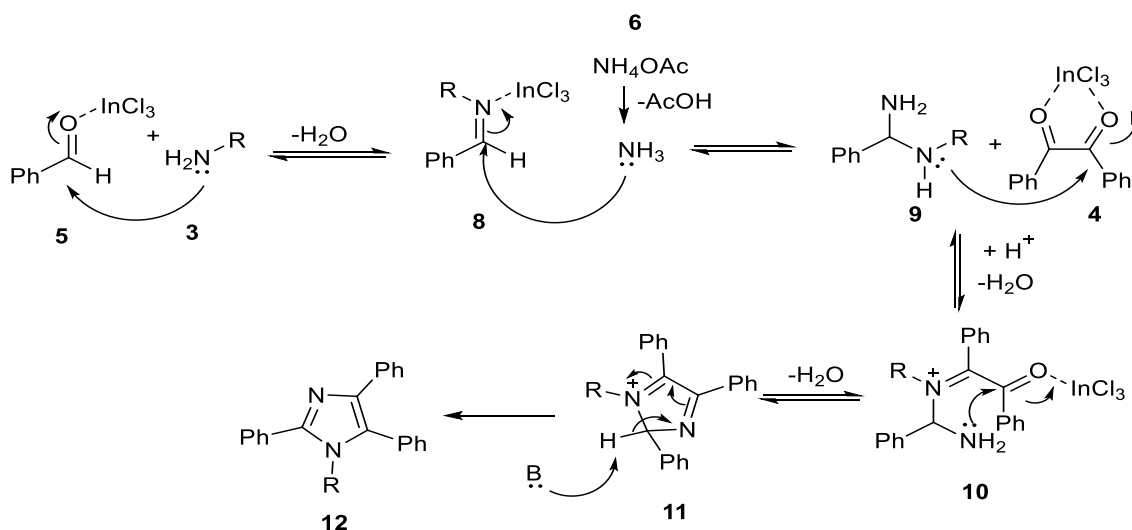
Após a proteção das 1,*n*-alcanodiaminas, realizou-se a reação de condensação tetracomponente (Esquema 4) entre a 1,*n*-alcanodiamina protegida **3a-c**, a benzila **4**, o benzaldeído **5** e o acetato de amônio **6**, utilizando tricloreto de índio (InCl_3) como catalizador.¹⁸ Obteve-se como produto as *N*-alquilaminolofinas protegidas **7a-c** com rendimentos entre 79 e 95% após purificação por cromatografia em coluna.

Esquema 4: Reação de obtenção das 1,n-alquilaminolofinas.



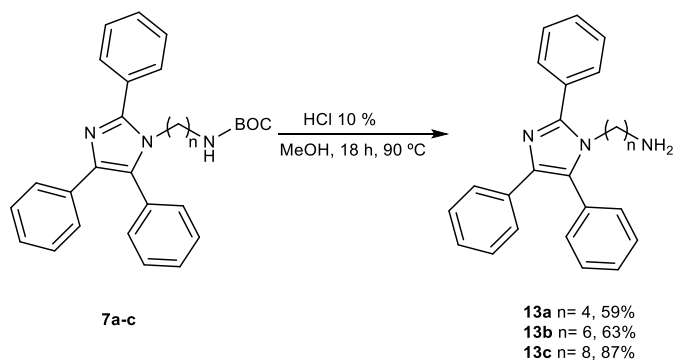
A seguir é apresentada uma proposta mecanística para a formação de imidazóis tetrasubstituídos na presença de InCl_3 (Esquema 5). O benzaldeído **5** ativado pelo tricloreto de índio sofre um ataque nucleofílico da amina primária **3** levando a formação da imína **8**, com eliminação de água. Em seguida, a imina sofre um ataque nucleofílico da amônia, gerada *in situ* a partir do acetato de amônio **6**, fornecendo a diamina **9**. O grupo amino secundário de **9** promove um ataque nucleofílico a uma das carbonilas da benzila **4**, que está ativada pelo ácido de Lewis, fornecendo o imínio **10**, com eliminação de água. Após, o ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino à carbonila ativada resulta no intermediário cíclico **11**. A abstração de um próton de **11** leva a aromatização do anel e fornece o imidazol tetrasubstituído **12**.

Esquema 5: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente.



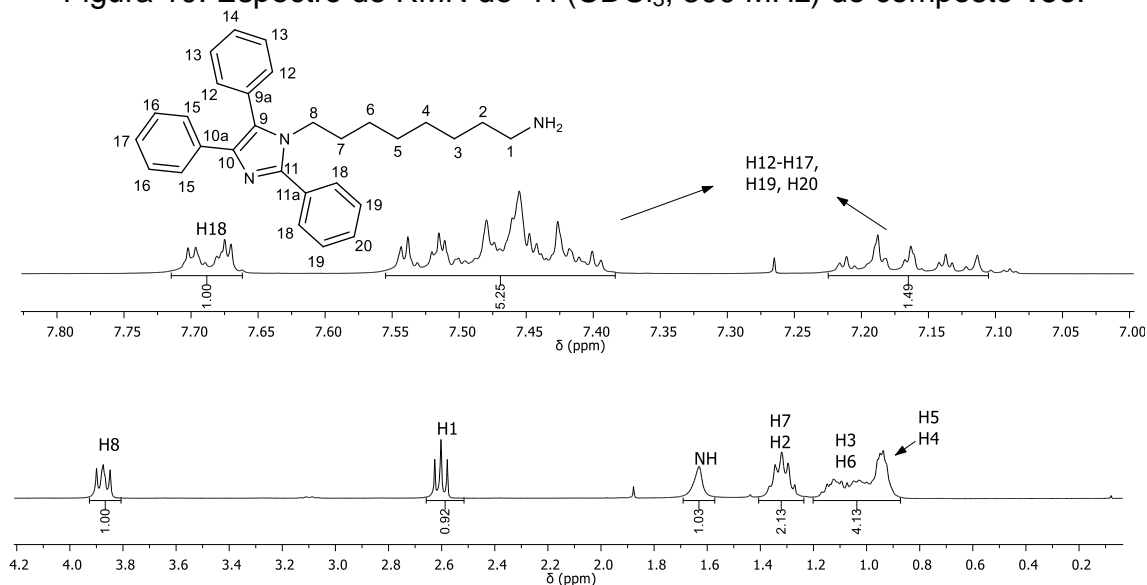
Por fim, realizou-se a desproteção do grupo amino. A reação de hidrólise em meio ácido da *N*-alquilaminolofina protegida (**7a-c**) leva a formação do intermediário *N*-alquilaminolofina **13a-c** de interesse (Esquema 6). Os rendimentos variaram de 59 a 87% após purificação por cromatografia em coluna.

Esquema 6: Reação de desproteção do grupo amino



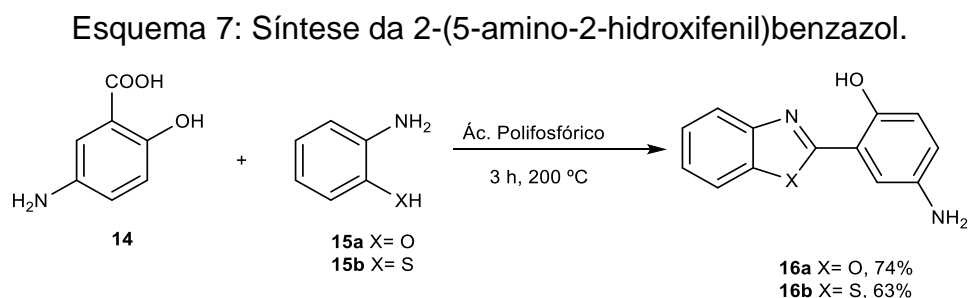
O espectro de ^1H da *N*-1,8-octanoaminolofina **13c** é apresentado na Figura 10. No espectro, observa-se um tripleto, $J= 7,8$ Hz entre 3,87 ppm, com integral para dois hidrogênios atribuído aos H8. O tripleto em 2,60 ppm com integral para 2 hidrogênios e $J= 6,9$ Hz, corresponde aos H1. O singlete largo na região de 1,63 ppm corresponde aos N-H. Os demais hidrogênios da cadeia espaçadora encontram-se na região de 0,87-1,42 ppm. O hidrogênios aromáticos são observados como três multipletos na região de 7,08-7,73 ppm.

Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **13c**.



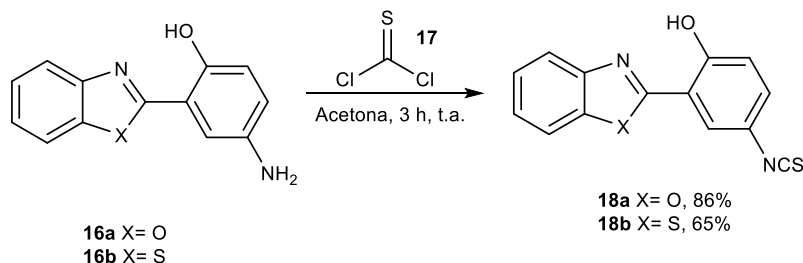
4.2 SÍNTESE DO 2-(5-ISOTIOCIANATO-2-HIDROXIFENIL)BENZAZOL

Para a síntese dos benzazois (**16a-b**) utilizou-se reação entre o ácido 5-aminosalicílico (**14**) e o 2-aminofenol (**15a**) ou o 2-aminotiofenol (**15b**) na presença de ácido polifosfórico.³³ A reação procedeu-se a 200 °C por 4 h e o rendimento foi de 63% (Esquema 7).



Após a obtenção dos intermediários **16a-b**, realizou-se a síntese do 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol (**18a-b**) através da reação do intermediário **16a-b** com tiosogênio (**17**, Esquema 8).³³ Inseriu-se a função isotiocianato na molécula para possibilitar a conexão entre a *N*-alquilaminolofina e o 2-(2-hidroxifenil)benzotiazol através da função tioureia. O rendimento dessa reação foi de 65% após purificação por cromatografia em coluna. A síntese do intermediário **18a** foi realizada pelo grupo de pesquisa do professor Fabiano Rodembusch e cedido ao nosso grupo de pesquisa para realizar a síntese dos híbridos lofina-benzoxazol.

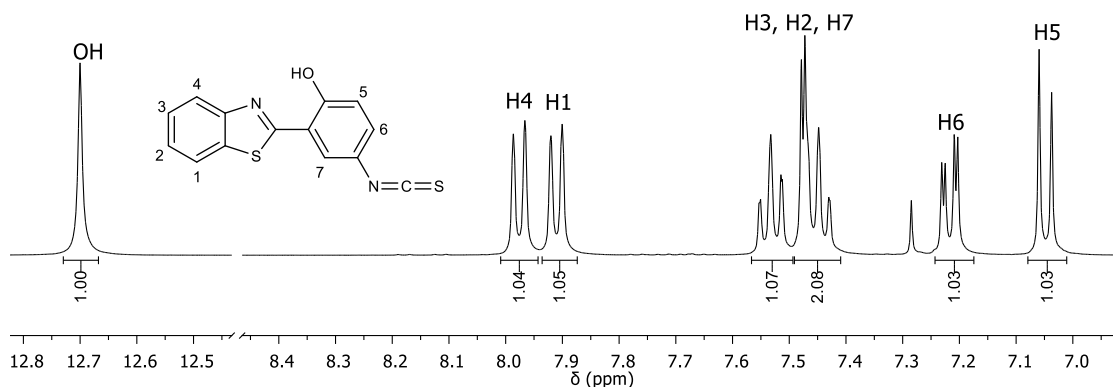
Esquema 8: Síntese do intermediário 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol.



A Figura 11 apresenta o espectro de RMN do composto **18b**. Em 12,70 ppm o singlete correspondente ao hidrogênio do OH. Observam-se dois dubletos: em 7,98 ppm, ($J= 8,0$ Hz, H4), e em 7,91 ppm ($J= 7,6$ Hz, H1). O multiplete na região de 7,58-7,43 ppm, com integral para 3 hidrogênios corresponde aos H3, H2 e H7. O duplo

dubleto em 7,22 ppm, com $J_{\text{meta}} = 2,4$ Hz e $J_{\text{orto}} = 8,8$ Hz, corresponde ao H6. O H6 é observado como um duplo dubleto devido ao acoplamento J_{meta} com o H7 e J_{orto} com o H5. O H5 é observado como um dubleto com $J_{\text{orto}} = 8,8$ Hz, em 7,05 ppm, devido ao acoplamento com o H6.

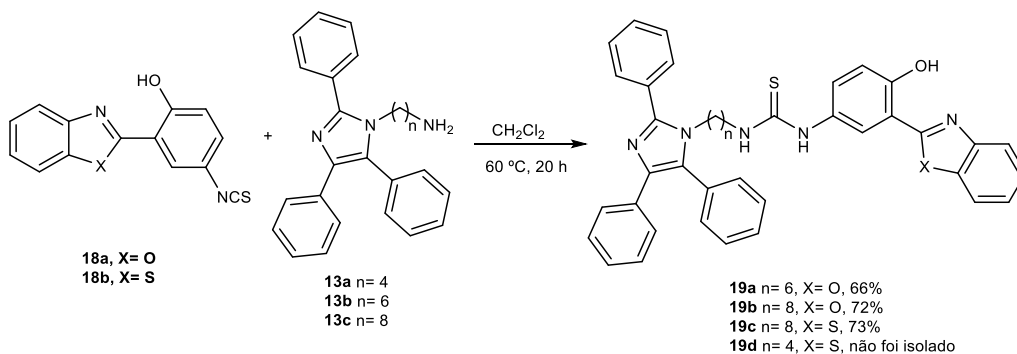
Figura 11: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **18b**.



4.3 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS LOFINA-BENZAZOL

Os híbridos lofina-benzoxazol (**19a-b**) e lofina-benzotiazol (**19c-d**) foram sintetizados através da reação entre a 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol (**18a-b**) e as *N*-alquilaminolofinas (**13a-c**, Esquema 9). O tempo da reação foi de 20 h e a temperatura de 60 °C. Os híbridos foram obtidos com rendimentos em torno de 70%, exceto para o híbrido **19d**.

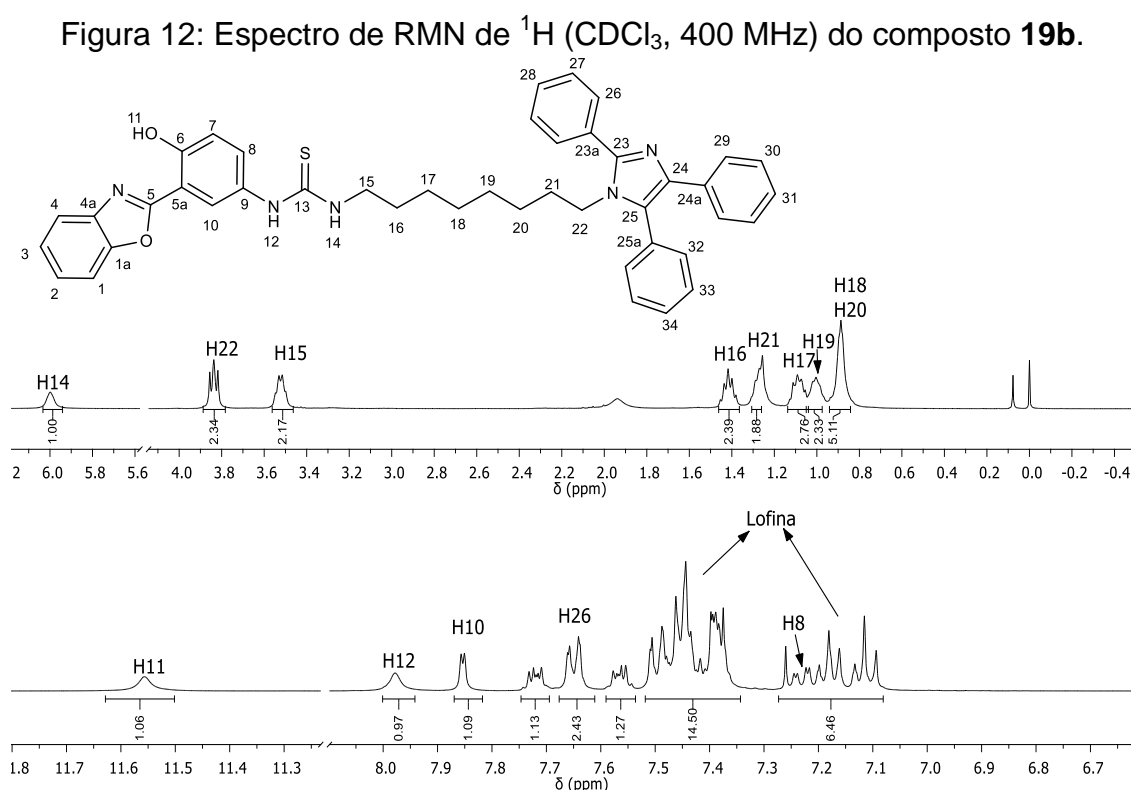
Esquema 9: Síntese dos híbridos Lofina-Benzazol



No caso do híbrido **19d**, durante o tempo reacional houve a formação de um precipitado branco que não foi observado nas outras reações. Esse sólido branco apresentou fluorescência na cor laranja, quando excitado no comprimento de onda

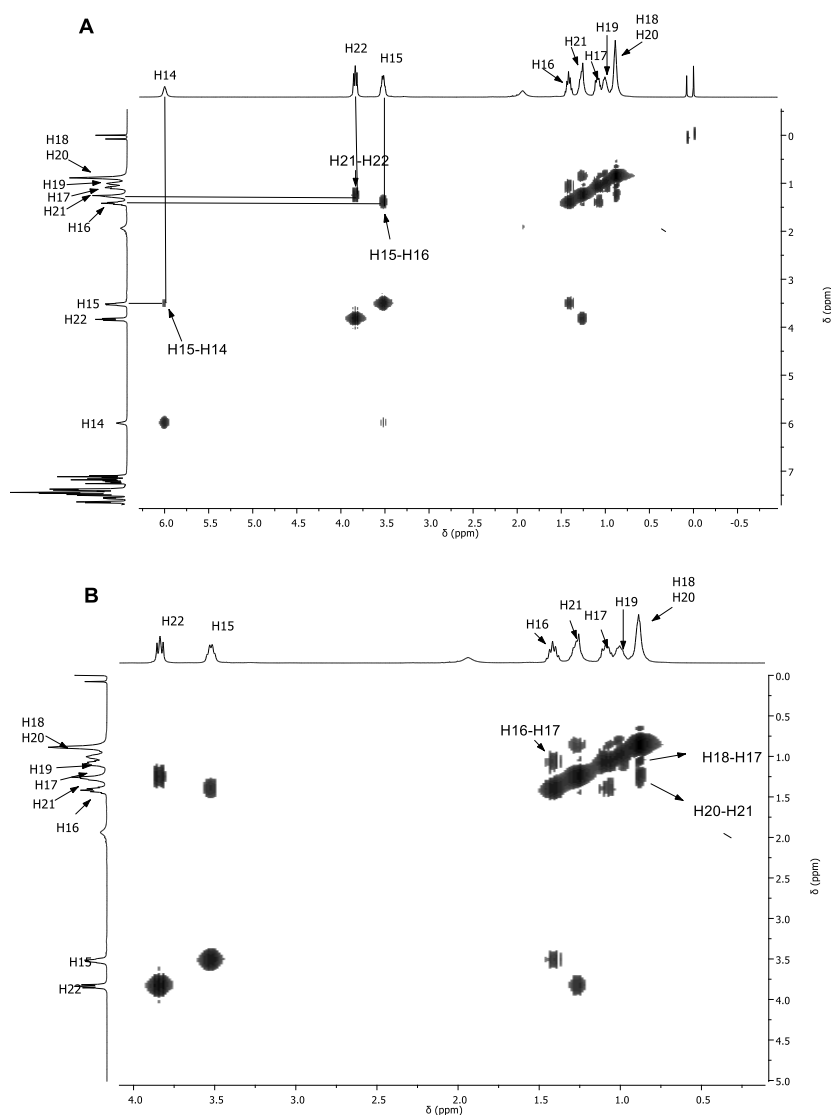
de 365 nm, e na tentativa de purificar o produto por cromatografia em coluna utilizando sílica gel como fase estacionária, o produto apresentou uma interação muito forte com a sílica e não se conseguiu separar o produto da sílica. As condições reacionais e de purificação para a obtenção do híbrido **19d** serão estudadas futuramente. Também serão sintetizados híbridos lofina-benzazol com cadeia espaçadora de 2, 3, 5 e 7 metilenos. Além disso, variações estruturais nos núcleos lofina e benzazol serão realizadas.

O espectro de RMN de ^1H do composto **19b** é apresentado na Figura 12. No espectro é possível observar três singletos largos, em 11,55 ppm (H11), 7,98 ppm (H12) e 5,99 ppm (H14), que correspondem aos hidrogênios ligados aos heteroátomos. Os hidrogênios da cadeia alifática em maior deslocamento químico são os H22, que são observados como um tripleto em 3,84 ppm com $J = 7,6$ Hz. Os H15 são observados como um multipletto em 3,58-3,45 ppm. Os outros hidrogênios da cadeia alifática são observados como multipletos na região entre 1,49 e 0,77 ppm. O H10, dubleto em 7,85 ppm com $^4J = 2,4$ Hz, e o H8, duplo dubleto em 7,23 ppm com $^4J = 2,4$ e $^3J = 8,8$ Hz, são sinais característicos do núcleo benzoxazol. Os sinais do núcleo lofina são observados como três multipletos, entre 7,66-7,64 ppm (H26), 7,51-7,37 ppm e 7,20-7,08.



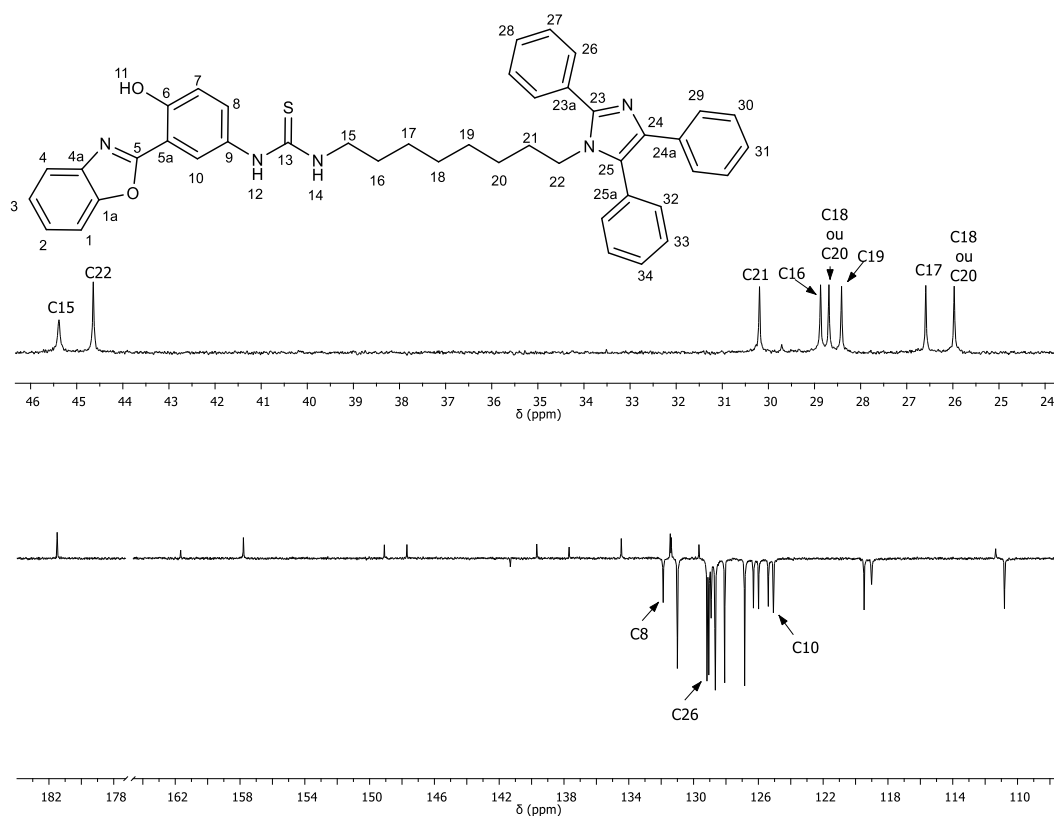
A atribuição dos sinais dos hidrogênios metilênicos foi feita através do espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY do composto **19b** (Figura 13). Conhecendo o sinal do H14 de outros compostos sintetizados pelo grupo de pesquisa contendo o núcleo lofina e a cadeia espaçadora, verificam-se as seguintes correlações: H14-H15, H22-H21, H15-H16, H16-H17. Também se verifica os acoplamentos do multiplete em 0,94-0,77 ppm com o H21 e com o H17, evidenciando, que esse multiplete corresponde aos H18 e H20.

Figura 13: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **19b** – Em **A** é apresentado a ampliação da região de 0 a 6,0 ppm. Em **B** é apresentado a ampliação da região de 0 a 4,0 ppm.



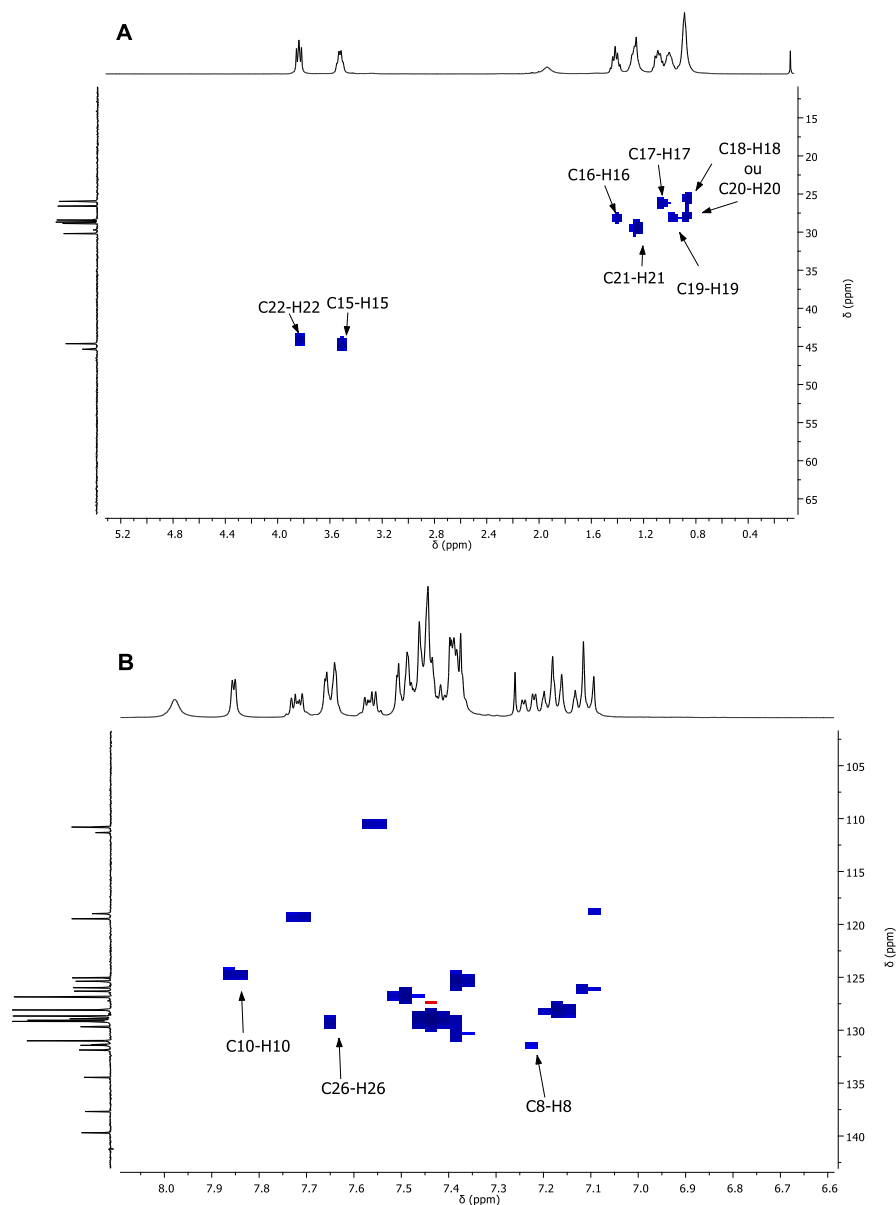
No espectro de RMN de ^{13}C APT (Figura 14), destacam-se os sinais em ppm: 181,5 (C13); 131,9 (C8); 129,2 (C26); 125,1 (C10); 45,4 (C15); 44,6 (C22); 30,2 (C21); 28,9 (C16); 28,7 (C18 ou C20); 28,4 (C19); 26,6 (C17); 25,9 (C18 ou C20).

Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 100 MHz) do composto **19b**.



A interpretação dos sinais do ^{13}C foi feita utilizando o espectro de RMN bidimensional heteronuclear HSQC do composto **19b** (Figura 15). Na Figura 15A, verificam-se os seguintes acoplamentos carbono-hidrogênio: C15-H15; C22-H22; C21-H21; C16-H16; C19-H19; C17-H17; H18-C18 e H20-C20 (não foi possível identificar exatamente qual sinal corresponde aos átomos em 18 ou 20). Na região dos sinais aromáticos (Figura 15B) foi possível determinar as seguintes correlações: C8-H8; C26-H26 e C10-H10.

Figura 15: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **19b**. Em **A** é apresentado a ampliação da região de 0 a 5,3 ppm. Em **B** é apresentado a ampliação da região de 5,8 a 8,8 ppm.

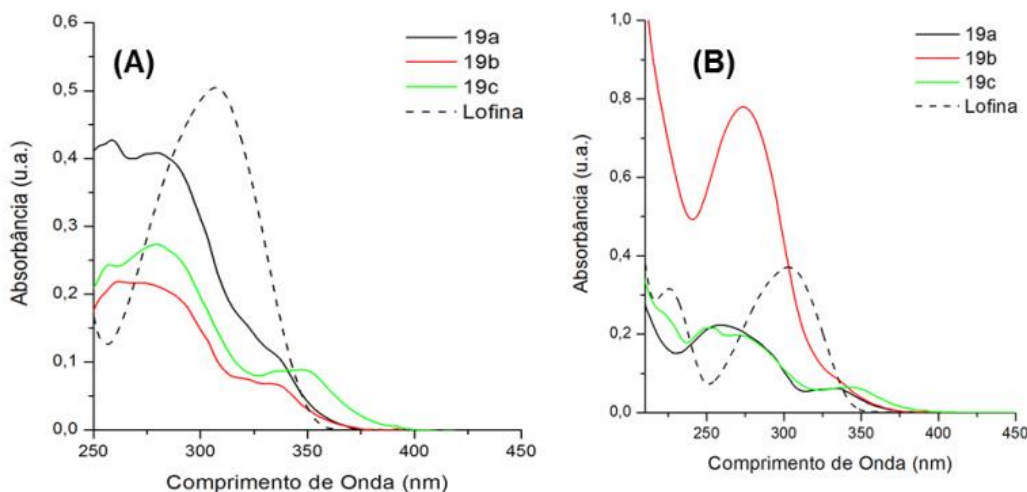


Os híbridos sintetizados serão encaminhados para a realização do ensaio de inibição das enzimas AChE e BuChE. Como análise complementar, foram estudadas as características fotofísicas dos híbridos lofina-benzazol, pois é conhecido da literatura que ambos os núcleos apresentam propriedades fotofísicas.

Os espectros de absorção UV-VIS e de emissão de fluorescência em solução, dos híbridos **19a-c** foram realizados em diclorometano (DCM) e MeOH com concentrações em torno de 10^{-6} M. Espectros de absorção da Lofina foram também

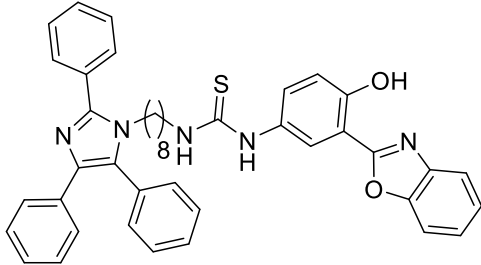
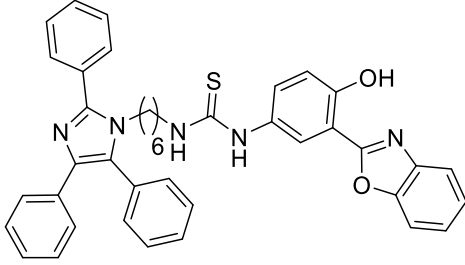
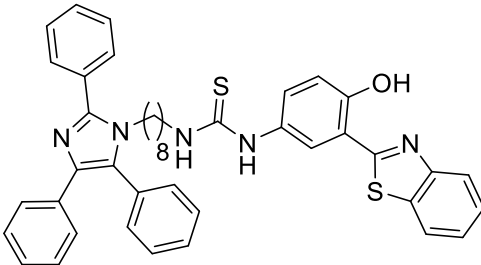
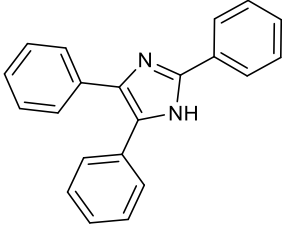
realizados nos mesmos solventes e concentrações para comparação (Figura 16). Os resultados relevantes desta análise estão sumarizados na Tabela 1.

Figura 16: Espectros de absorção de UV-Vis dos híbridos **19a-c** em DCM **(A)** e MeOH **(B)**. Os resultados da Lofina estão também apresentados para comparação (linha pontilhada)



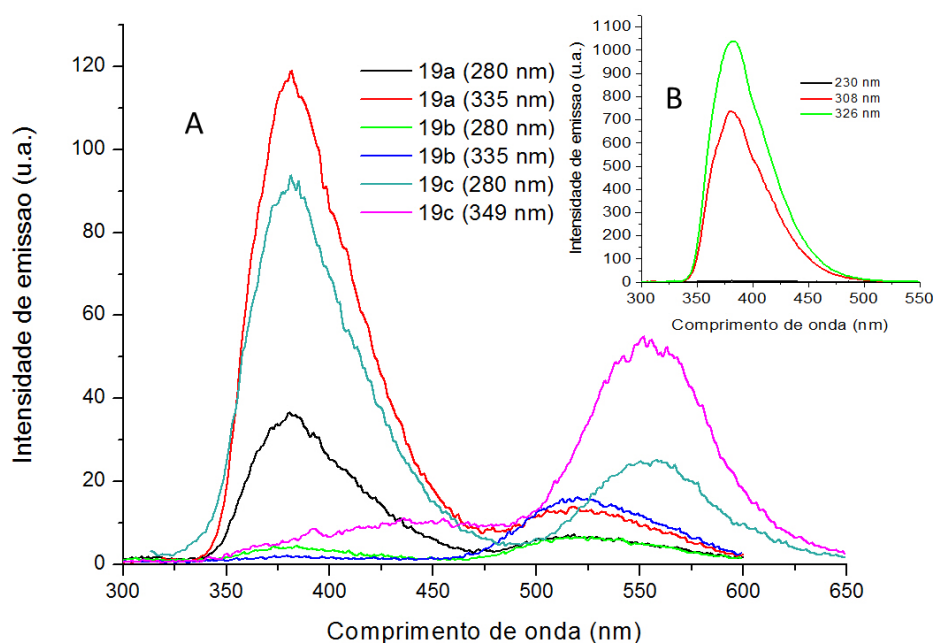
A partir da análise das curvas de absorção de UV-Vis observa-se que a polaridade do solvente não afeta significativamente a localização dos máximos de absorção, onde um máximo é observado em torno de 335 nm em diclorometano e metanol. Adicionalmente, se observa uma banda de absorção localizada em maiores energias (~280 nm). Com relação a estas bandas em questão, a absorção localizada em torno de 335 nm é referente a porção benzazólica da estrutura, conforme apresentado na literatura.³⁴ Por outro lado, a banda localizada em menores comprimentos de onda não pode ser atribuída em um primeiro momento, a porção lofina do híbrido. Estudos adicionais, bem como cálculos teóricos das transições verticais destes compostos devem ser realizados para uma melhor compreensão da sua fotofísica.

Tabela 1: Resultados da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis dos híbridos **19a-c** e da lofina, onde λ_{abs} são as absorções e ϵ é o coeficiente de absorvidade molar.

| # | Composto | Solvente | λ_{abs} (nm)/ ϵ ($\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) |
|---------------|---|----------|--|
| 19a |  | DCM | 281/ 59616 |
| | | | 337 / 15464 |
| | | MeOH | 281/ 28331 |
| | | | 335 / 9245 |
| 19b |  | DCM | 280/29565 |
| | | | 335 / 9144 |
| | | MeOH | 274/ 120013 |
| | | | 334/ 12754 |
| 19c |  | DCM | 281/ 32989 |
| | | | 349/ 10702 |
| | | MeOH | 274/ 31891 |
| | | | 344/ 10519 |
| Lofina |  | DCM | 307/ 24944 |
| | | MeOH | 225/ 29174 |
| | | | 304/ 34360 |

Os espectros de emissão de fluorescência dos compostos estudados foram obtidos utilizando comprimentos de onda de absorção previamente definidos. Os espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **19a-c** estão apresentados na Figura 17.

Figura 17: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **19a-c** em DCM. Inserção: resultados da Lofina em DCM para comparação.

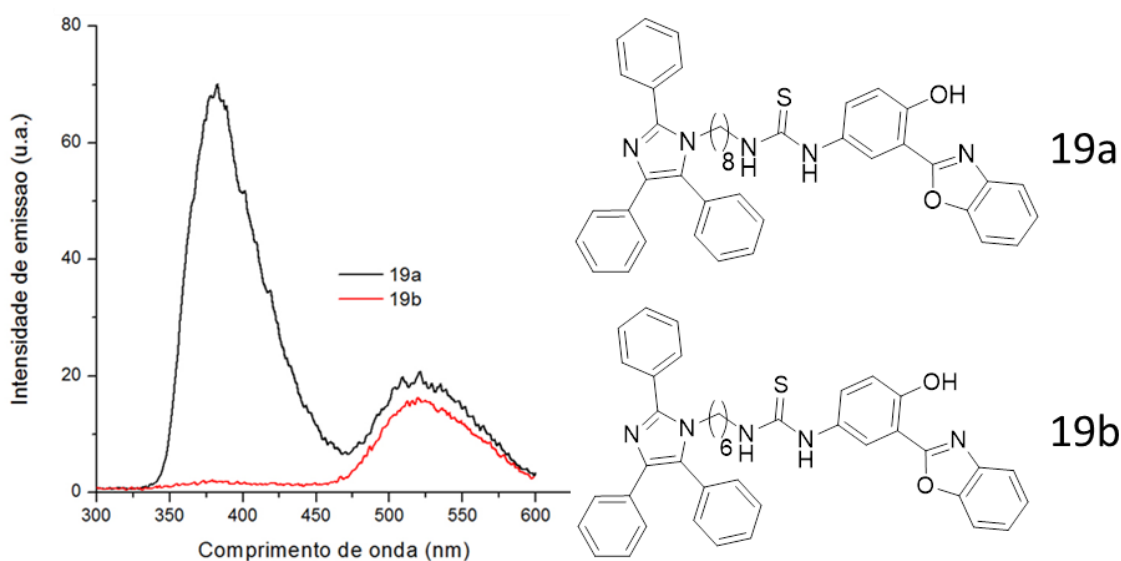


A partir da análise dos espectros de emissão de fluorescência dos compostos **19a** e **19c**, observa-se uma dupla emissão de fluorescência. A banda localizada em menores comprimentos de onda é proveniente da porção Lofina (~381 nm, Figura 17A e Figura 17B). Por outro lado, observa-se também emissões deslocadas para o vermelho, provenientes da porção benzazólica das moléculas, caracterizada pelo grande deslocamento de Stokes. Estas emissões estão localizadas em 519 e 554 nm, referentes ao benzoxazol e benzotiazol, respectivamente. Esta emissão é devida ao fototautômero ceto que é favorecido em DCM no estado excitado por um processo denominado de *ESIPT*. Assim, é possível encontrar a partir de uma excitação entre 280-320 nm, característica do núcleo lofina, uma emissão dual proveniente dos dois fluoróforos constituintes da molécula. O mesmo ocorre a partir de comprimentos de onda referentes ao núcleo benzazólico (335 nm - benzoxazol e

344 nm - benzotiazol). Portanto, para os compostos **19a** e **19c**, não foram observadas as emissões dos núcleos lofina e benzazol individualmente.

Entretanto, o composto **19b** apresenta um comportamento fotofísico diferente (Figura 17A). Pode-se observar, a partir de excitação em 280 nm, uma emissão referente aos dois fluoróforos, porém, quando excitada em 335 nm, há somente a emissão do núcleo benzazólico localizado em 518 nm. Para melhor entender este comportamento fotofísico, a Figura 18 apresenta uma comparação entre os espectros dos compostos **19a** e **19b** quando excitados em 335 nm. A partir da similaridade dos fluoróforos constituintes destes compostos, do solvente utilizado e da fonte de excitação, observam-se resultados díspares, que podem ser atribuídos ao tamanho do espaçador utilizado, que de alguma forma está desempenhando um papel fundamental no processo de desativação do estado excitado destes compostos.

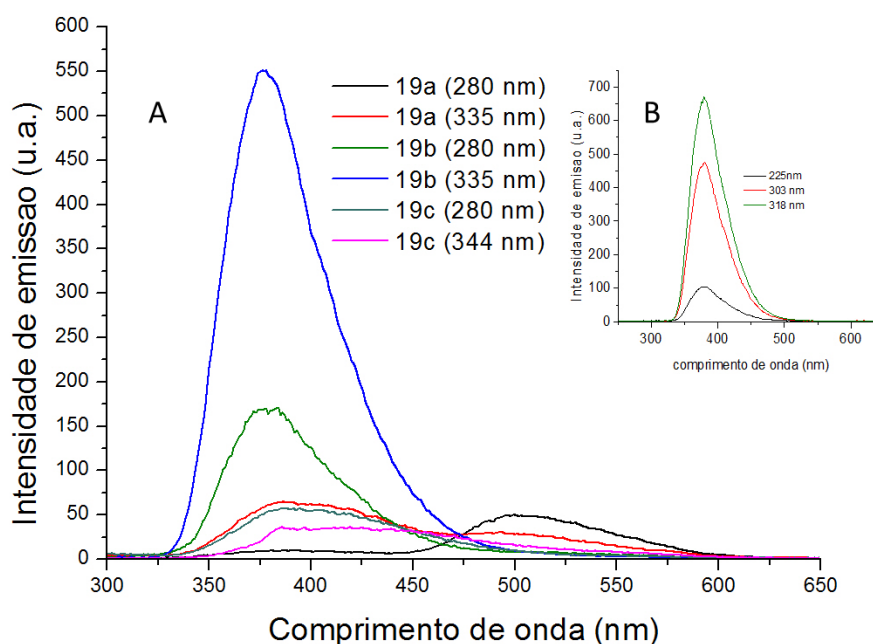
Figura 18: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **19a** e **19b** em DCM ($\lambda_{exc} = 335$ nm).



Na Figura 19A, é apresentado o espectro de emissão de fluorescência dos híbridos **19a-c** em MeOH. Nos espectros dos compostos **19b** e **19c**, observa-se uma banda intensa e alargada com máximo de emissão localizado em 380 nm. Destaca-se que este valor é similar ao observado para a lofina (Figura 19B), quando excitada

tanto no λ_{abs} do núcleo lofina (280-320 nm) quanto no λ_{abs} do núcleo benzazólico (335 nm - benzoxazol e 344 nm - benzotiazol).

Figura 19: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **19a-c** em MeOH. Inserção: resultados da Lofina em MeOH para comparação.

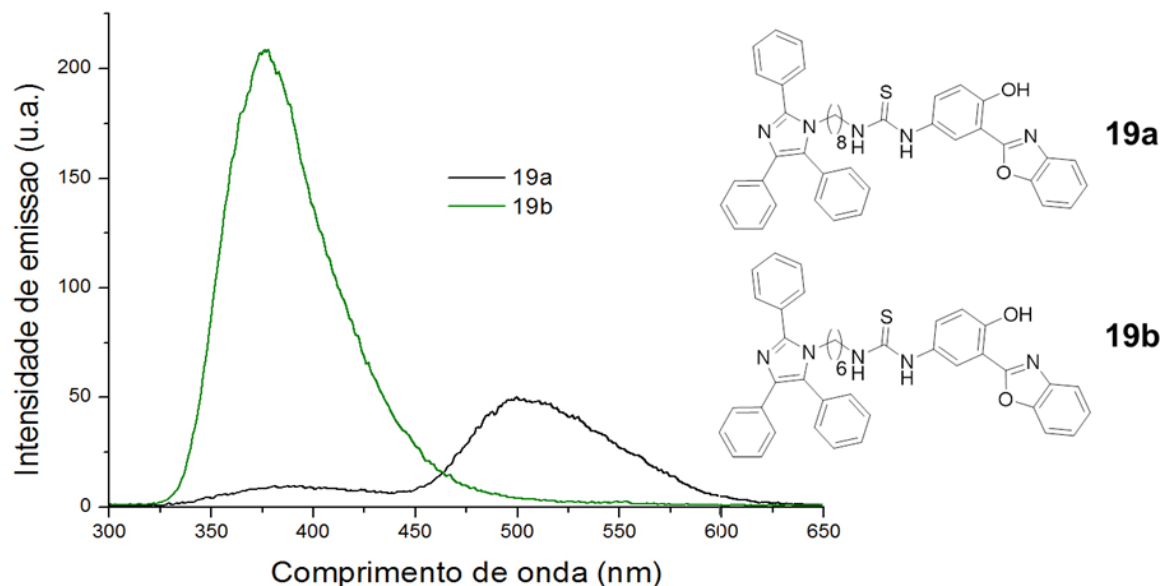


Vale a pena mencionar que o composto **19a** em MeOH apresenta comportamento inverso do observado em diclorometano, isto é, semelhante ao observado para o composto **19b** em DCM. Portanto, quando a molécula é excitada em 290 nm (curva vermelha, Figura 19), observa-se a emissão dos dois fluoróforos, porém, quando excitada em 335 nm (curva preta, Figura 19), há emissão majoritária da forma tautomérica (ceto) e minoritária da forma enol. Neste caso, a emissão proveniente do fluoróforo lofina parece não estar presente.

A Figura 20 mostra uma comparação entre os espectros dos compostos **19a** e **19b** em metanol, destacando a diferença observada. A diferença entre os compostos **19a** e **19b** é o tamanho da cadeia alifática entre os fluoróforos. Essa diferença de tamanho parece novamente estar influenciando na forma que as moléculas se encontram solventes de diferentes polaridades, afetando de forma significativa o seu comportamento fotofísico em solução. Para confirmar essa proposta, cálculos teóricos de otimização geométrica e de *TD-DFT* (*Time-dependent density functional*

theory) devem ser realizados, para melhor entender o comportamento desses compostos.

Figura 20: Espectros de emissão de fluorescência dos híbridos **19a** e **19b** em MeOH ($\lambda_{exc} = 355$ nm).



5 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram sintetizados três híbridos lofina-benzazol. Para a obtenção dos híbridos lofina-benzazol, sintetizou-se os intermediários *N*-alquilaminolofina, através da estratégia de proteção/desproteção seletiva das alcanodiaminas seguida da reação de condensação tetracomponente, e o derivado 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzazol. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C . Os híbridos sintetizados foram obtidos com pureza adequada para serem encaminhados para a realização do ensaio de inibição das enzimas AChE e BuChE.

Realizou-se a caracterização fotofísica dos híbridos lofina-benzazol através dos espectros de absorção UV/VIS e de emissão de fluorescência. A partir da análise dos espectros de emissão de fluorescência dos compostos **19a** e **19c** em DCM, observou-se uma dupla emissão de fluorescência proveniente dos dois fluoróforos constituintes da molécula. Entretanto o composto **19b**, em DCM, apresentou comportamento fotofísico diferente apresentando uma única emissão em

518 nm quando excitada em 335 nm. Utilizando MeOH como solvente na análise de emissão de fluorescência o comportamento do híbrido **19a** foi o inverso do observado em DCM, isto é, semelhante ao observado para o composto **19b** em DCM.

6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os intermediários e híbridos sintetizados foram caracterizados por RMN de ^1H e de ^{13}C . Como análise complementar, os híbridos lofina-benzazol foram caracterizados por espectroscopia de absorção UV-VIS e de emissão de fluorescência. Todos os composto serão caracterizados por infravermelho e os compostos sólidos terão seu ponto de fusão determinado.

6.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos no espectrômetro Varian modelo INOVA, 300 MHz e 75,5 MHz, respectivamente, e no espectrômetro Bruker BioSpin, 400 MHz e 100 MHz, respectivamente (Instituto de Química – UFRGS). O tempo de relaxação em ambas as análises foi de 1,0 segundo. Os sinais são descritos em ordem decrescente de deslocamento químico. Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em partes por milhão (ppm), em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno para os espectros, colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = singleto, sl = singleto largo, d = duplete, t = tripleto, q = quarteto, qn = quinteto, dd = duplo duplete, m = multiplete), o número de hidrogênios deduzido da integral relativa e a constante de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

6.1.2 Espectroscopia de Absorção UV-VIS e de Emissão de Fluorescência

Os espectros de absorção de UV-Visível foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450PC. Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC. As medidas de absorção e emissão foram realizadas à temperatura ambiente em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

6.1.3 Solventes e Reagentes

A purificação por cromatografia em coluna foi realizada utilizando como fase estacionária sílica gel 60 Å (70-230 mesh), fornecida pela Acros. Cromatografia por camada delgada (CCD) foi conduzida utilizando-se placas de alumínio com 0,2 mm de sílica gel fornecida pela Macherey-Nagel. A trietilamina P.A. utilizada na fase móvel para cromatografia foi fornecida pela Aldrich e os demais solventes P.A., utilizados nas reações e nas purificações, foram produzidos pela Nuclear.

6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS (N-ALQUILAMINO)CARBAMATO DE TERC-BUTILA (3a-c).

Dissolveu-se (3,0 equiv., 39 mmol) a 1,n-alquildiamina em 240 mL de clorofórmio e adicionou-se gota a gota, a 0 °C, o dicarbonato de di-*terc*-butila (Boc_2O ; 0,5 equiv., 6,5 mmol) dissolvido em 6,0 mL de clorofórmio. Após a adição, a reação ficou sob temperatura ambiente. Passadas 18 h de reação, adicionou-se 0,25 equiv. de Boc_2O (3,25 mmol) gota-a-gota à 0 °C. A seguir, deixou-se a mistura reacional alcançar a temperatura ambiente e manteve-se nestas condições por mais 7 horas, quando mais 0,25 equiv. de Boc_2O foram adicionados. O tempo total de reação foi de 48 h. Ao final do tempo reacional, filtrou-se o sólido branco formado e o líquido remanescente foi evaporado em rotaevaporador. O óleo obtido foi dissolvido em AcOEt e lavado com solução saturada de NaCl (3x35 mL). O produto foi extraído da fase aquosa com AcOEt (2x25 mL) e os extratos orgânicos foram combinados, secos com Na_2SO_4 e o solvente evaporado em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando-se como fase móvel $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$ (95:4:1).

6.2.1 (4-aminobutil)carbamato de *terc*-butila (3a)

Óleo amarelo; rendimento: 67%; RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 4,68 (sl, 1H), 3,17-3,10 (m, 2H), 2,73 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,62 (sl, 2H), 1,57-1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 9H).

6.2.2 (6-aminoexil)carbamato de *terc*-butila (3b)

Óleo amarelo; rendimento: 60%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4,93 (sl, 1H), 3,13-3,06 (m, 2H), 2,68 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 1,50-1,37 (m, 13H), 1,34-1,30 (m, 6H); RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 155,7; 78,5; 41,8; 40,2; 33,3; 29,8; 28,2; 26,4; 26,3.

6.2.3 (8-aminoocetil)carbamato de *terc*-butila (3c)

Óleo amarelo; rendimento: 60%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4,67 (sl, 1H), 3,13-3,05 (m, 2H), 2,70-2,59 (m, 2H), 1,51-1,34 (m, 8H), 1,31-1,22 (m, 15H); RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 155,7; 78,4; 41,9; 40,3; 33,5; 29,8; 29,2; 29,0; 28,2; 26,6; 26,5.

6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS (N-(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)ALQUIL)CARBAMATO DE TERC-BUTILA (7a-c)

A mistura de (n-alkilamino)carbamato de *terc*-butila (2,5 mmol), benzila (2,5 mmol), benzaldeído (2,5 mmol), acetato de amônio (2,5 mmol), InCl₃ (0,4 mmol) e EtOH (3 mL) foi refluxada à 80 °C por 12 h. Após esse tempo, adicionou-se mais 2,5 mmol de benzaldeído, de benzila e de acetato de amônio. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1).

6.3.1 (4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butil)carbamato de *terc*-butila (7a)

Sólido branco; rendimento: 79%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,69-7,63 (m, 2H), 7,55-7,37 (m, 10H), 7,24-7,08 (m, 3H), 4,22 (sl, 1H), 3,90 (t, 2H), 2,86-2,66 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,35-1,32 (m, 2H), 1,16-1,05 (m, 2H); RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 155,9; 147,8; 137,9; 134,6; 131,5; 131,5; 131,1; 129,6; 129,3; 129,1; 128,9; 128,8; 128,2; 127,0; 126,4; 125,6; 79,3; 44,4; 39,7; 28,6; 27,7; 26,8.

6.3.2 (6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)exil)carbamato de *terc*-butila (7b)

Óleo amarelo; rendimento: 94%; RMN-¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,55-7,46 (m, 2H), 7,36-7,17 (m, 10H), 7,01-6,86 (m, 3H), 6,35 (sl, 1H), 3,71-3,59 (m, 2H), 2,53-2,47 (m, 2H), 1,13 (s, 9H), 1,05-0,95 (m, 2H), 0,91-0,84 (m, 2H), 0,72-0,57 (m, 4H); RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ 155,9; 147,2; 136,9; 135,2; 131,7; 131,6;

131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,5; 127,5; 126,5; 125,6; 77,6; 44,6; 29,9; 29,5; 28,7; 25,7; 25,6.

6.3.3 (8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octil)carbamato de *terc*-butila (7c)

Óleo amarelo; rendimento: 95%; RMN-¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,78-7,66 (m, 2H), 7,55-7,39 (m, 10H), 7,21-7,08 (m, 3H), 6,80-6,70 (m, 1H), 3,93-3,80 (m, 2H), 2,83-2,79 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,29-1,19 (m, 4H), 1,07-0,76 (m, 8H); RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ 156,0; 147,2; 137,0; 135,2; 131,6; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,5; 126,6; 125,7; 77,7; 44,6; 40,3; 29,9; 29,8; 28,8; 28,6; 28,3; 26,6; 25,8.

6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DAS N-(2,4,5-TRIFENIL-1*H*-IMIDAZOL-1-IL)ALCANO-1-AMINA (13a-d)

O (n-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)alquil)carbamato de *terc*-butila (1,8 mmol) foi dissolvido em 80 mL de MeOH. A essa solução, adicionou-se 8 mL de uma solução aquosa 10% de HCl. A reação ficou em refluxo por 18 h a 90 °C. Após o tempo reacional, evaporou-se o metanol e adicionou-se uma solução de Na₂CO₃ 10% até pH 11. A seguir, adicionou-se 20 mL de H₂O e 25 mL de CHCl₃. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente CHCl₃:MeOH:Et₃N (90:9:1).

6.4.1 4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butano-1-amina (13a)

Sólido branco; rendimento: 59%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,72-7,66 (m, 2H), 7,54-7,39 (m, 10H), 7,23-7,08 (m, 3H), 3,97-3,84 (m, 2H), 2,34 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,43-1,26 (m, 2H), 1,23 (sl, 2H), 1,07 (qn, *J* = 7,2 Hz, 2H); RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 147,8; 137,9; 134,7; 131,7; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,2; 129,0; 128,9; 128,8; 128,2; 126,9; 126,4; 44,6; 41,3; 30,3; 27,9.

6.4.2 6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexano-1-amina (13b)

Óleo amarelo; rendimento: 63%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,75-7,63 (m, 2H), 7,57-7,36 (m, 10H), 7,21-7,05 (m, 3H), 3,93-3,80 (m, 2H), 2,48 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,55 (sl, 2H), 1,42-1,26 (m, 2H), 1,21-1,11 (m, 2H), 1,00-0,86 (m, 4H); RMN-¹³C

(75 MHz, CDCl₃) δ 147,5; 137,5; 134,4; 131,4; 131,3; 130,8; 129,4; 129,0; 128,9; 128,7; 128,5; 127,9; 126,6; 126,1; 44,4; 41,7; 32,9; 30,1; 25,8; 25,7.

6.4.3 8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octano-1-amina (13c)

Óleo amarelo; rendimento: 87%; RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,73-7,65 (m, 2H), 7,57-7,38 (m, 10H), 7,33-7,08 (m, 3H), 3,94-3,81 (m, 2H), 2,60 (t, *J*= 6,9 Hz, 2H), 1,63 (sl, 2H), 1,40-1,24 (m, 4H), 1,16-0,94 (m, 8H); RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 147,7; 137,7; 134,7; 131,7; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,1; 128,9; 129,7; 128,1; 126,9; 126,3; 44,8; 42,2; 33,6; 30,4; 29,1; 28,6; 26,7; 26,2.

6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS HÍBRIDOS LOFINA-BENZOTIAZOL (19a-c).

A mistura da n-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)alcano-1-amina (0,17 mmol) com o 2-(5-isotiocianato-2-hidroxifenil)benzotiazol (0,17 mmol), em CH₂Cl₂ (2 mL), foi mantida em refluxo à 60 °C por 20 h. Após o tempo reacional, o solvente foi evaporado em rotaevaporador e o produto bruto purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando como fase móvel Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1).

6.5.1 Híbrido Lofina-Benzoxazol 19a

Sólido branco; rendimento: 66%; RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 11,64 (s, 1H), 7,87 (d, *J*= 2,4 Hz, 1H), 7,79-7,75 (m, 1H), 7,71 (sl, 1H), 7,69-7,63 (m, 2H), 7,62-7,57 (m, 1H), 7,54-7,36 (m, 12H), 7,25 (dd, *J*= 2,4 e 8,8 Hz, 1H), 7,22-7,12 (m, 4H), 5,82 (sl, 1H), 3,87 (t, *J*= 7,6 Hz, 2H), 3,48-3,43 (m, 2H), 1,39-1,24 (m, 4H), 1,00-0,90 (m, 4H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 181,5; 161,7; 157,6; 149,0; 139,7; 137,7; 134,3; 131,8; 131,2; 130,9; 129,6; 129,2; 129,1; 129,0; 128,8; 128,7; 128,1; 126,9; 126,4; 125,9; 125,4; 124,9; 119,4; 118,8; 111,2; 110,8; 45,0; 44,5; 30,1; 28,6; 25,8; 25,7.

6.5.2 Híbrido Lofina-Benzoxazol 19b

Sólido branco; rendimento: 72%; RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 11,56 (sl, 1H), 7,98 (sl, 1H), 7,85 (d, *J*= 2,4 Hz, 1H), 7,75-7,70 (m, 1H), 7,68-7,61 (m, 2H), 7,59-7,54 (m, 1H), 7,53-7,37 (m, 12H), 7,23 (dd, *J*= 2,4 e 8,8 Hz, 1H), 7,22-7,16 (m, 2H), 7,13-7,09 (m, 2H), 5,99 (sl, 1H), 3,89-3,77 (m, 2H), 3,59-3,44 (m, 2H), 1,49-1,38 (m, 2H),

1,28-1,20 (m, 2H), 1,13-1,05 (m, 2H) 1,02-0,94 (m, 2H), 0,90-0,78 (m, 4H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 181,4; 161,7; 157,8; 149,1; 147,7; 139,7; 137,6; 134,4; 131,9; 131,4; 131,3; 130,9; 129,7; 129,2; 129,1; 128,9; 128,7; 128,6; 128,0; 126,8; 126,3; 125,9; 125,4; 125,0; 119,5; 118,9; 45,4; 44,3; 30,2; 28,8; 28,6; 28,4; 26,6; 25,9.

6.5.3 Híbrido Lofina-Benzotiazol 19c

Sólido amarelo; rendimento: 73%; RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 12,62 (sl, 1H), 8,02-7,94 (m, 2H), 7,89-7,84 (m, 1H), 7,68-7,63 (m, 2H), 7,56-7,36 (m, 12H), 7,23-7,05 (m, 5H), 6,00 (sl, 1H), 3,84 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 3,56-3,49 (m, 2H), 1,48-1,38 (m, 2H), 1,33-1,23 (m, 2H), 1,13-0,96 (m, 4H), 0,94-0,84 (m, 4H); RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 181,4; 167,9; 157,1; 151,6; 147,6; 137,6; 134,4; 132,5; 131,4; 131,3; 132,0; 130,9; 129,6; 129,1; 129,0; 128,9; 128,7; 128,6; 128,0; 127,8; 127,0; 126,8; 126,3; 126,2; 126,0; 122,3; 121,6; 119,3; 117,4; 45,3; 44,6; 30,2; 28,9; 28,7; 28,4; 26,6; 25,9.

REFERÊNCIAS

- 1 DE FALCO, A.; CUKIERMAN, D. S.; HAUSER-DAVIS, R. A.; REY, N. A. Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.
- 2 GIACOBINI, E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. **Pharmacological Research**, v. 50, n. 4, p. 433-440, Oct 2004. ISSN 1043-6618. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000223671000006 >.
- 3 QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. MECHANISMS OF DISEASE Alzheimer's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 4, p. 329-344, Jan 28 2010. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000273975000009 >.
- 4 DOOLEY, M.; LAMB, H. M. Donepezil - A review of its use in Alzheimer's disease. **Drugs & Aging**, v. 16, n. 3, p. 199-226, Mar 2000. ISSN 1170-229X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000086108000005 >.
- 5 MCGLEENON, B. M.; DYNAN, K. B.; PASSMORE, A. P. Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 4, p. 471-480, Oct 1999. ISSN 0306-5251. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000082936700001 >.
- 6 MAO, F.; HUANG, L.; LUO, Z.; LIU, A.; LU, C.; XIE, Z.; LI, X. O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid-beta aggregation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 19, p. 5884-5892, Oct 1 2012. ISSN 0968-0896. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000309059000018 >.
- 7 KERI, R. S.; QUINTANOVA, C.; MARQUES, S. M.; RAQUEL ESTEVES, A.; CARDOSO, S. M.; AMELIA SANTOS, M. Design, synthesis and neuroprotective evaluation of novel tacrine-benzothiazole hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 15, p. 4559-4569, Aug 1 2013. ISSN 0968-0896. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000321496300014 >.
- 8 BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- 9 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- 10 BARTUS, R. T.; DEAN, R. L.; BEER, B.; LIPPA, A. S. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. **Science**, v. 217, n. 4558, p. 408-417, 1982. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1982NY36400007 >.

- 11 TERRY, A. V.; BUCCAFUSCO, J. J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their implications for novel drug development. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 3, p. 821-827, Sep 2003. ISSN 0022-3565. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000184817400001 >.
- 12 PAN, L.; TAN, J.-H.; HOU, J.-Q.; HUANG, S.-L.; GU, L.-Q.; HUANG, Z.-S. Design, synthesis and evaluation of isaindigotone derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 13, p. 3790-3793, Jul 1 2008. ISSN 0960-894X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256708000027 >.
- 13 DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Organophosphorus Compounds as Chemical Warfare Agents: a Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 3, p. 407-428, 2009. ISSN 0103-5053. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266403300002 >.
- 14 SAMADI, A.; DE LOS RIOS, C.; BOLEA, I.; CHIOUA, M.; IRIEPA, I.; MORALEDA, I.; BARTOLINI, M.; ANDRISANO, V.; GALVEZ, E.; VALDERAS, C.; UNZETA, M.; MARCO-CONTELLAS, J. Multipotent MAO and cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Synthesis, pharmacological analysis and molecular modeling of heterocyclic substituted alkyl and cycloalkyl propargyl amine. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 251-262, Jun 2012. ISSN 0223-5234. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304291600024 >.
- 15 PANG, Y. P.; QUIRAM, P.; JELACIC, T.; HONG, F.; BRIMIJOIN, S. Highly potent, selective, and low cost bis-tetrahydroaminacrine inhibitors of acetylcholinesterase - Steps toward novel drugs for treating Alzheimer's disease. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 39, p. 23646-23649, Sep 27 1996. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VJ44200012 >.
- 16 RAMPA, A.; BELLUTI, F.; GOBBI, S.; BISI, A. Hybrid-Based Multi-Target Ligands for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 22, p. 2716-2730, Nov 2011. ISSN 1568-0266. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000299131400002 >.
- 17 DIAS, K. S. T.; DE PAULA, C. T.; RIQUIEL, M. M.; LAGO, S. T.; COSTA, K. C. M.; VAZ, S. M.; MACHADO, R. P.; LIMA, L. M. S.; VIEGAS JUNIOR, C. Aplicações Recentes da Abordagem de Fármacos Multialvo para o Tratamento da Doença de Alzheimer. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, p. 609-648, 2015.
- 18 DA COSTA, J. S.; BIZARRO LOPES, J. P.; RUSSOWSKY, D.; PETZHOLD, C. L.; DE AMORIM BORGES, A. C.; CESCHI, M. A.; KONRATH, E.; BATASSINI, C.; LUNARDI, P. S.; SARAIVA GONCALVES, C. A. Synthesis of tacrine-lophine hybrids via one-pot four component reaction and biological evaluation as acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. **European Journal**

of Medicinal Chemistry, v. 62, p. 556-563, Apr 2013. ISSN 0223-5234. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000318577500057 >.

- 19 CESCHI, M. A.; DARDENNE, L. E.; LOPES, J. P. B.; DA COSTA, J. S.; KONRATH, E. L.; GONÇALVES, C. A. S.; SOUZA, D. F.; CAMPOS, L. F.; CÂMARA, V. S.; GUEDES, I. A.; KARL, A. L. M. Moléculas com núcleo híbrido, composição farmacêutica, processo de síntese e seus usos. 2015, Brasil. Patente: Produto e Processo. **Número do registro: BR1020150326858**, data de depósito 28/12/2015, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.
- 20 CESCHI, M. A.; DA COSTA, J. S.; LOPEZ, J. P. B.; CÂMARA, V. S.; CAMPO, L. F.; BORGES, A. C. A.; GONÇALVES, C. A. S.; DE SOUZA, D. F.; KONRATH, E. L.; KARL, A. L. M.; GUEDES, I. A.; DARDENNE, L. E. Novel series of tacrine-tianeptine hybrids: synthesis, cholinesterase inhibitory activity, S100B secretion and a molecular modeling approach. *Eur. J. Med. Chem.* (**aceito para publicação**).
- 21 SATYANARAYANA, V. S. V.; SIVAKUMAR, A. An efficient and novel one-pot synthesis of 2,4,5-triaryl-1H-imidazoles catalyzed by UO₂(NO₃)₂·6H₂O under heterogeneous conditions. **Chemical Papers**, v. 65, n. 4, p. 519-526, Aug 2011. ISSN 0366-6352. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000290803500017 >.
- 22 VERMA, A.; JOSHI, S.; SINGH, D. Imidazole: Having Versatile Biological Activities. **Journal of Chemistry**, 2013. ISSN 2090-9063. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000326842000001 >.
- 23 CARPENTER, R. D.; KURTH, M. J. A rapid and efficient route to benzazole heterocycles. **Nature Protocols**, v. 5, n. 11, p. 1731-1736, 2010. ISSN 1754-2189. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000283585700001 >.
- 24 GABR, M. T.; EL-GOHARY, N. S.; EL-BENDARY, E. R.; EL-KERDAWY, M. Synthesis and in vitro antitumor activity of new series of benzothiazole and pyrimido 2,1-b benzothiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 85, p. 576-592, Oct 6 2014. ISSN 0223-5234. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000342859700048 >.
- 25 YILDIZ-OREN, I.; YALCIN, I.; AKI-SENER, E.; UCARTURK, N. Synthesis and structure-activity relationships of new antimicrobial active multi substituted benzazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 291-298, Mar 2004. ISSN 0223-5234. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000221067100011 >.
- 26 NGUYEN HAI, N.; PHAN THI PHUONG, D.; PHUONG THIEN, T. Synthesis and Biological Evaluation of a Series of 2-(Substitutedphenyl) benzothiazoles. **Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 127-134, Mar 2011. ISSN 1573-4064. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000288987700008 >.

- 27 HUANG, L.; ZHANG, W.; ZHANG, X.; YIN, L.; CHEN, B.; SONG, J. Synthesis and pharmacological evaluation of piperidine (piperazine)-substituted benzoxazole derivatives as multi-target antipsychotics. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 22, p. 5299-5305, Nov 15 2015. ISSN 0960-894X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000364535000058 >.
- 28 RYNEARSON, K. D.; CHARRETTE, B.; GABRIEL, C.; MORENO, J.; BOERNEKE, M. A.; DIBROV, S. M.; HERMANN, T. 2-Aminobenzoxazole ligands of the hepatitis C virus internal ribosome entry site. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 15, p. 3521-3525, Aug 1 2014. ISSN 0960-894X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000339228700061 >.
- 29 SERDONS, K.; VANDERGHINSTE, D.; VAN EECKHOUDT, M.; BORGHGRAEF, P.; KUNG, H.; VAN LEUVEN, F.; DE GROOT, T.; BORMANS, G.; VERBRUGGEN, A. Synthesis and evaluation of two fluorine-18 labelled phenylbenzothiazoles as potential in vivo tracers for amyloid plaque imaging. **Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals**, v. 52, n. 11-12, p. 473-481, Sep-Oct 2009. ISSN 0362-4803. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000272471500005 >.
- 30 WATANABE, H.; ONO, M.; IIKUNI, S.; KIMURA, H.; OKAMOTO, Y.; IHARA, M.; SAJI, H. Synthesis and biological evaluation of I-123-labeled pyridyl benzoxazole derivatives: novel beta-amyloid imaging probes for single-photon emission computed tomography. **Rsc Advances**, v. 5, n. 2, p. 1009-1015, 2015. ISSN 2046-2069. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000346079900018 >.
- 31 AFFELDT, R. **Síntese e estudo fotofísico de novos heterociclos nitrogenados contendo fluoróforos benzazólicos**. 2011. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química., UFRGS, Porto Alegre.
- 32 DARDONVILLE, C.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, C.; GIBBONS, S.-L.; RYAN, G. J.; JAGEROVIC, N.; GABILONDO, A. M.; JAVIER MEANA, J.; CALLADO, L. F. Synthesis and pharmacological studies of new hybrid derivatives of fentanyl active at the mu-opioid receptor and I-2-imidazoline binding sites. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 19, p. 6570-6580, Oct 1 2006. ISSN 0968-0896. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240650500011 >.
- 33 RODEMBUSCH, F. S.; LEUSIN, F. P.; MEDINA, L. F. D.; BRANDELLI, A.; STEFANI, V. Synthesis and spectroscopic characterisation of new ESIPT fluorescent protein probes. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 254-259, 2005. ISSN 1474-905X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227284800002 >.
- 34 RODEMBUSCH, F. S.; LEUSIN, F. P.; CAMPO, L. F.; STEFANI, V. Excited state intramolecular proton transfer in amino 2-(2'-hydroxyphenyl)benzazole derivatives: Effects of the solvent and the amino group position. **Journal of Luminescence**, v. 126, n. 2, p. 728-734, Oct 2007. ISSN 0022-2313. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000247409900075 >.