



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 – Alfenas/MG – CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063



MARIA CECÍLIA RODRIGUES SIMÕES

**ESTUDOS VISANDO À SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS
PROTÓTIPOS A FÁRMACOS INIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASE
PLANEJADOS A PARTIR DO DONEPEZIL**

Alfenas / MG

2013

MARIA CECÍLIA RODRIGUES SIMÕES

**ESTUDOS VISANDO Á SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS
PROTÓTIPOS A FÁRMACOS INIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASE
PLANEJADOS A PARTIR DO DONEPEZIL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas- UNIFAL-MG como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química orgânica

Orientador: Prof.Dr. Claudio Viegas Jr.

Alfenas / MG

2013

Maria Cecília Rodrigues Simões

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS PROTÓTIPOS A
FÁRMACOS INIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASE PLANEJADOS A
PARTIR DO DONEPEZIL

A Banca examinadora, abaixo-assinada, aprova o exame de defesa de mestrado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Alfenas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química, área de Concentração Química Orgânica.

Aprovada em:

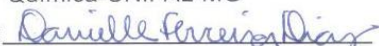
Prof. Dr. Claudio Viegas Junior
Instituto de Química-UNIFAL-MG

Assinatura:



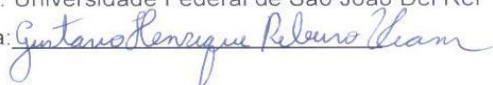
Prof^a. Dr^a. Danielle Ferreira Dias
Instituto de Química-UNIFAL-MG

Assinatura:



Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro Viana
Instituição: Universidade Federal de São João Del Rei

Assinatura:



Alfenas / MG

2013

Simões, Maria Cecília Rodrigues.

Estudos visando a síntese e avaliação farmacológica de novos protótipos à fármacos inibidores de acetilcolinesterase planejados a partir do Donepezil / Maria Cecília Rodrigues Simões. - 2013.
152 f. -

Orientador: Cláudio Viegas Júnior
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.
Bibliografia.

1. Doença de Alzheimer. 2. Inibidores de Colinesterase. 3. Fármacos do Sistema Nervoso Central. I. Viegas Júnior, Cláudio. II. Título.

CDD: 615.1

“Quando a noite esconde a luz, Deus acende as estrelas.”

Àquele que me ensinou o verdadeiro sentido de amar o que se faz e me mostrou que dedicação e sucesso sempre caminham juntos. E me fez perceber que, até mesmo em meus momentos de fraqueza, ali também existiram oportunidades.

Ao meu grande mestre e Pai, sempre presente, Darcy.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, fonte e autor de toda e qualquer sabedoria, por ter me trazido até aqui. Por ser meu sustento e fortaleza e por nunca me dar nada de graça, me ensinando a lutar e permitindo que em mim se cultivasse a vontade de aprender com o dom de Sua ciência. Também à sua mãe, Maria Santíssima, pela caridade com que me acolheu como filha, me ensinando a ser melhor como pessoa na simplicidade e docilidade do seu coração.

Agradeço a meus pais, Darcy e Bernadete pelo incentivo, amor e cuidado em me formar, não só como profissional, mas como pessoa. Se hoje posso dizer que sou melhor a cada dia, é de fato pelo incentivo e exemplo que recebi de vocês. Eterna gratidão e amor!

Aos meus irmãos, Stella e Djalma, pelo acolhimento e amor que sempre me dedicaram e por serem um comigo sempre, meu muito obrigado! Amo vocês!

Ao meu namorado, Hebert, pelo carinho e apoio, por sempre me incentivar e acreditar em mim.

Ao meu orientador, Prof.Dr.Claudio Viegas, por ter me dado a oportunidade de crescer e aprender a vivência da vida acadêmica; pelo apoio e presença que foram essenciais à conclusão deste trabalho.

Aos professores Marcelo, Marise, Márcia, Diogo e Danielle pela presença e ajuda durante esta caminhada.

Ao Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) e todos os alunos e usuários pelos longos e bons 4 anos de convivência: obrigada pelo apoio, pelas experiências compartilhadas, pelas alegrias divididas. Amo em particular cada um, que com sua essência me tornou uma pessoa melhor.

A aluna Marcella Soares Moreira, por ter me ensinado a regra mais simples de qualquer trabalho em conjunto: cooperação e respeito. Obrigada por ser meu primeiro contato desta relação professor-aluno, por acreditar tanto em mim (mais do

que eu mesma, muitas vezes!) e por ser mais do que uma aluna ou colega de trabalho e sim uma amiga! Obrigada!

Ao professor Camps, pela incansável dedicação em me explicar as “densidades dos orbitais homo e lumo”, os “GAP’S” de energia e tantos outros conceitos teóricos necessários para a escrita dessa dissertação. Meu muito obrigada pela dedicação e empenho!

A minha grande amiga, Talita, pelo apoio e presença, pela ajuda a cada dia de escrita deste trabalho, por dividir comigo sua casa e seus sonhos! Amo você!

Ao meu “quinteto” favorito: Bianca (e Manu), Claudia, Danielle, Jaqueline, e Kris por me apoiarem sempre em minhas decisões, me fazerem sorrir e principalmente me incentivarem a seguir os rumos que a vida nos traz! Muito obrigada!

Ao LABIC (Unifal-MG), principalmente na pessoa do Prof.Dr.Eduardo Tonon, pelas análises de espectroscopia na região do Infravermelho e ao Prof. Antônio Carlos Doriguetto pela medida de Raios-X.

A Universidade Federal Fluminense, nas pessoas do Prof. Mário e Maurício pelo empenho nas análises de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.

A Universidade de Ribeirão Preto e ao Prof. Norberto Peporine, pelas análises de espectrometria de massas de alta resolução.

A Universidade Federal de São Paulo, na pessoa da Prof^a. Carmen Lúcia Cardoso, e às alunas Olímpia e Adriana, pelo empenho no ensino do Teste de Marston.

A Universidade Federal de São Carlos, na pessoa de Rodrigo pelas análises de espectrometria de massas de baixa resolução.

Ao Instituto Federal do Sul de Minas-IFsuldeminas e aos colegas Prof.João Paulo e Prof.Joyce, pela ajuda e compreensão em minhas ausências.

“O sucesso nasce do querer, da determinação
e persistência em se chegar a um objetivo.

Mesmo não atingindo o alvo,
quem busca e vence obstáculos,
no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa caracterizada clinicamente por uma perda progressiva de memória, que acarreta em disfunções psíquicas e motoras (FARRAN, JAMES, *et al.*, 2011). Devido ao grande número de pessoas acometidas pela doença em todo o mundo, a mesma constitui um desafio a própria ciência e à saúde pública, e assim, projetos que visem o tratamento sintomático da doença e uma melhora progressiva do paciente são essenciais. Estudos anteriores no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal – LFQM da Universidade Federal de Alfenas –UNIFAL-MG, levaram a descoberta da substância **LFQM-18** (6 Figura 9) (substância inédita que apresentou uma atividade preliminar inibitória de acetilcolinesterase), que foi um protótipo na gênese de novos compostos capazes de atuar como agentes terapêuticos em doenças neurodegenerativas especialmente a Doença de Alzheimer (DA). Uma série análoga a **LFQM-18** foi proposta e 10 novas substâncias intermediárias foram sintetizadas e estudadas, validando a rota sintética de obtenção das mesmas. Obteve-se como produto final a acilidrazona **17**, avaliada preliminarmente através do teste de Marston, que indicou uma baixa atividade para o composto. Estudos adicionais estão em andamento para confirmar a atividade inibitória de AChE para o composto **17**.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Anticolinesterásicos. Donepezil.

ABSTRACT

Alzheimer disease (AD) is a neurodegenerative disease clinically characterized by a progressive memory loss, which results in psychological and motor dysfunction (FARRAN, JAMES, *et al.*, 2011). Due to the large worldwide number of people with this disease, it is a challenge to science and public health. Therefore, projects aiming the disease symptomatic treatment and a patient progressive improvement are essential. Previous studies at the Laboratory of Phytochemistry and Medicinal Chemistry - LFQM -in Federal University of Alfenas - UNIFAL-MG, led to the discovery of the substance LFQM-18 (6 Figure 9) (new substance that presented a preliminary activity of acetylcholinesterase inhibitory), which was a prototype on the genesis of new compounds capable of acting as therapeutic agents in neurodegenerative diseases, especially Alzheimer's disease (AD). An analogous series of **LFQM-18** was proposed and 10 new intermediary substances were synthesized and studied, validating the synthetic route for obtaining them. It was obtained, as a final product, acylhydrazone **17**, evaluated preliminarily through Marston's test, which has indicated a low activity for the compound. Additional studies are ongoing to confirm the AChE inhibitory activity for compound **17**.

Keywords: Alzheimer's disease. Anticholinesterase. Donepezil.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Sinapse neuronal e a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica. | 25 |
| Figura 2 - Influência da DA sobre a taxa de óbitos de idosos no estado de São Paulo em 2010. | 28 |
| Figura 3 - Clivagem da APP através das enzimas secretases e formação da placa amiloide..... | 31 |
| Figura 4 – Desestabilização dos microtúbulos através da hiperfosforilação anormal da proteína TAU e formação dos emaranhados neurofibrilares..... | 33 |
| Figura 5- Esquema do processo sináptico e da liberação de ACh, com envolvimento dos possíveis alvos para fármacos para o tratamento da DA..... | 35 |
| Figura 6- Estrutura química dos fármacos comercializados para o tratamento da DA. | 36 |
| Figura 7- Fármacos em desenvolvimento para o tratamento da Doença de Alzheimer..... | 39 |
| Figura 8- Estrutura do Donepezil e sua interação com os resíduos de aminoácidos da enzima AChE..... | 41 |
| Figura 9- Proposta para obtenção da nova família de análogos a LFQM-18. | 43 |
| Figura 10- Atividade anticolinesterásica in vitro de LFQM-18 (6). | 43 |
| Figura 11- Análise retrossintética proposta para obtenção da série alvo 7.... | 48 |
| Figura 12- Reação de aminação redutiva para formação do álcool 12a..... | 49 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 13- | Espectro de absorção na região do infravermelho para o álcool 12a, obtido em KBr. | 50 |
| Figura 14- | Reação de aminação redutiva para formação do álcool 12b. | 51 |
| Figura 15- | Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool 12b, obtido em KBr. | 52 |
| Figura 16- | Reação de aminação redutiva para formação do álcool 12c. | 52 |
| Figura 17- | Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool 12c, obtido em KBr. | 53 |
| Figura 18- | Reação de aminação redutiva para formação do álcool 12d. | 54 |
| Figura 19- | Espectro de absorção na região do infravermelho para o álcool 12d, obtido em KBr. | 55 |
| Figura 20- | Reação de aminação redutiva para formação do álcool 12e. | 56 |
| Figura 21- | Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool 12e, obtido em KBr. | 57 |
| Figura 22- | Representação ORTEP para 4-((4-(hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol. | 57 |
| Figura 23- | Representação do empacotamento não centrossimétrico para 4(4-(hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol (12e). | 59 |
| Figura 24- | Representação das ligações de hidrogênio para 4-((4-hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol (12e). | 59 |
| Figura 25- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com NaNO_2 e Ac_2O | 61 |
| Figura 26- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com $\text{NaNO}_2/\text{Ac}_2\text{O}$, obtido em KBr. | 62 |
| Figura 27- | Tentativa de oxidação do álcool 12 a pelo método descrito por Pfitzner-Moffatt. | 63 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 28- | Proposta mecanística para a oxidação do álcool 12a através da metodologia descrita por Pfitzner-Moffatt. | 63 |
| Figura 29- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com DMSO/DCC/N ₂ , obtido em KBr..... | 64 |
| Figura 30- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com V ₂ O ₅ /O ₂ /tolueno/K ₂ CO ₃ | 65 |
| Figura 31- | Proposta mecanística para a oxidação do álcool 12a através da reação com o sistema oxidante V ₂ O ₅ /O ₂ /tolueno/K ₂ CO ₃ | 65 |
| Figura 32- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com PCC em DMSO ou CH ₂ Cl ₂ | 66 |
| Figura 33- | Proposta mecanística para oxidação do álcool 12a com o agente oxidante PCC..... | 67 |
| Figura 34- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com PCC e DMSO obtido em KBr..... | 68 |
| Figura 35- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com PCC e CH ₂ Cl ₂ obtido em KBr. | 68 |
| Figura 36- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com TPAP/NMO..... | 69 |
| Figura 37- | Proposta mecanística para a possível oxidação do álcool 12a com TPAP/NMO. | 70 |
| Figura 38- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com TPAP/NMO obtido em KBr. | 71 |
| Figura 39- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com DMP..... | 72 |
| Figura 40- | Proposta mecanística para a possível oxidação do álcool 12a com DMP..... | 72 |
| Figura 41- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12a com DMP obtido em KBr..... | 73 |

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 42- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com o sistema oxidante (COCl) ₂ /Et ₃ N/DMSO/CH ₂ Cl ₂ | 73 |
| Figura 43- | Proposta mecanística para oxidação do álcool 12a pela reação de oxidação descrita por Swern. | 74 |
| Figura 44- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12 a na reação de oxidação descrita por Swern. | 75 |
| Figura 45- | Tentativa de oxidação do álcool 12a com o sistema oxidante TEMPO/ I ₂ / NaHCO ₃ | 76 |
| Figura 46- | Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool 12 a na presença do sistema oxidante TEMPO/I ₂ /NaHCO ₃ | 77 |
| Figura 47- | Segunda proposta sintética para a obtenção da série 7. | 78 |
| Figura 48- | Esquema reacional de obtenção do álcool 16. | 78 |
| Figura 49- | Mecanismo proposto para a reação de obtenção do álcool 4-(hidróximetil) piperidina-1-carboxilato de <i>t</i> -butila (16). | 79 |
| Figura 50- | Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool 16, obtido em KBr. | 80 |
| Figura 51- | Espectro de massas de 4-(hidróximetil) piperidina-1-carboxilato de <i>t</i> -butila (16). | 80 |
| Figura 52- | Proposta mecanística para a fragmentação para o íon de m/z 215 | 81 |
| Figura 53- | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) do composto 16. | 83 |
| Figura 54- | Regiões ampliadas do espectro de RMN de ¹ H para o composto 16. | 83 |
| Figura 55- | Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto 16. | 84 |
| Figura 56- | Esquema reacional de obtenção do aldeído 15. | 85 |

| | |
|---|----|
| Figura 57- Esquema da formação dos subprodutos originados do reagente TEMPO e a oxidação de alcoóis aos seus respectivos compostos carbonílicos. | 85 |
| Figura 58- Principais intermediários reacionais responsáveis pela oxidação de alcoóis..... | 86 |
| Figura 59- Espectro de absorção na região do infravermelho do aldeído 15, obtido em KBr..... | 88 |
| Figura 60- Espectro de massas de 4-formilpiperidine-1-carboxilato de t-butila (15). | 89 |
| Figura 61- Mecanismo de fragmentação proposto do composto 15..... | 90 |
| Figura 62- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) do composto 15. | 91 |
| Figura 63- Espectro DEPT-Q (500 MHz, CDCl ₃) do composto 15..... | 92 |
| Figura 64- Espectro de absorção na região do infravermelho (sobreposição) para o aldeído comercializado (em preto) e o aldeído sintetizado 15 (em azul), obtido em KBr. | 95 |
| Figura 65- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) do composto 15 obtido pela hibridação das metodologias propostas por MILLER (2003) e SUN CHEN (2011)..... | 96 |
| Figura 66- Espectro DEPT-Q (500 MHz, CDCl ₃) do composto 15 obtido pela hibridação das metodologias propostas por MILLER (2003) e SUN CHEN (2011)..... | 97 |
| Figura 67- Reação de esterificação do ácido 3,4-dimetóxi-benzóico com MeOH/H ₂ SO ₄ | 97 |
| Figura 68- Mecanismo proposto para a reação de esterificação do ácido 3,4-dimetóxi-benzóico..... | 98 |
| Figura 69- Espectro de absorção na região do IV para o composto 9 obtido em KBr..... | 99 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Figura 70- | Espectro de massas obtido para o composto 9..... | 100 |
| Figura 71- | Mecanismo de fragmentação proposto do composto 9. | 101 |
| Figura 72- | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) do composto 9..... | 102 |
| Figura 73- | Ampliação do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) do composto 9..... | 102 |
| Figura 74- | Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto 9. | 103 |
| Figura 75- | Reação de hidrazinólise do éster 3,4-dimetóxi benzoato de metila com NH ₂ NH ₂ .H ₂ O. | 103 |
| Figura 76- | Mecanismo proposto para a formação da 3,4- dimetóxi benzohidrazida. | 104 |
| Figura 77- | Espectro de absorção na região do IV para o composto 8 obtido em KBr..... | 105 |
| Figura 78- | Espectro de massas para a 3,4-dimetóxi benzohidrazida (8). | 106 |
| Figura 79- | Mecanismo de fragmentação proposto para a hidrazida 8. | 107 |
| Figura 80- | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) do composto 8..... | 108 |
| Figura 81- | Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto 8. | 109 |
| Figura 82- | Esquema reacional de obtenção da acilidrazona 17. | 110 |
| Figura 83- | Mecanismo proposto para a reação de acoplamento da hidrazida 8 e do aldeído 15. | 110 |
| Figura 84- | Espectro de absorção na região do IV para o composto 17 obtido em KBr..... | 112 |
| Figura 85- | Espectro de massas de alta resolução obtido para o produto 17. | 113 |
| Figura 86- | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, MeOD) do composto 17..... | 114 |
| Figura 87- | Espectro HMQC (500 MHz, MeOD) para o composto 8. | 115 |

| | |
|---|-----|
| Figura 88- Espectro de HMBC (500 MHz, MeOD) para o composto 8. | 116 |
| Figura 89- Avaliação do potencial eletrostático e densidade eletrônica dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas 8 e 15. A) Mapa de potencial eletrostático para a hidrazida 8. B) Mapa de potencial eletrostático para o aldeído 15. C) Densidade dos orbitais HOMO para a hidrazida 8. D) Densidade de LUMO para a hidrazida 8. E) Densidade de HOMO para o aldeído 15. F) Densidade de LUMO para o aldeído 15. | 118 |
| Figura 90- Esquema da formação do complexo de cor púrpura pela ação da enzima AChE..... | 119 |
| Figura 91- Placa da avaliação da atividade inibitória de AChE pelo teste de Marston. Legenda: Galantamina (G; padrão); hidrazida 8 (H); aldeído 15(A); acilidrazona 17 (106)..... | 121 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|---|-----|
| Tabela 1- | Principais fármacos atuais úteis ao tratamento da DA: estágios de atuação, atividade sintomática e potencial neuroprotetor..... | 38 |
| Tabela 2- | Principais dados cristalográficos de 4-((4-hidróximetil) piperidin-1-il) metil) fenol..... | 58 |
| Tabela 3- | Tentativas de oxidação aplicadas ao álcool (1-benzilpiperidin-4il) metanol (12a)..... | 60 |
| Tabela 4- | Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto 16..... | 81 |
| Tabela 5- | Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto 15..... | 89 |
| Tabela 6- | Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto 9..... | 100 |
| Tabela 7- | Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto 8..... | 106 |
| Tabela 8- | Dados teóricos para as energias de HOMO (E_{HOMO} , eV), LUMO (E_{LUMO} , eV) e GAP para as moléculas 8,15 e 17. | 117 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | - Acetilcolinesterase |
| APOE | - apolipoproteína E |
| APP | - proteína precursora amiloide |
| β A | - beta-amiloide |
| BOC | - <i>tert</i> -butóxicarbonila |
| BuChE | - Butirilcolinesterase |
| CAT | - colina acetiltransferase |
| cc | - cromatografia em coluna |
| CCD | - cromatografia em camada delgada |
| d | - Duplete |
| DA | - doença de Alzheimer |
| DAFP | - deformação angular fora do plano |
| DCC | - Diciclohexilcarbodiimida |
| ddd | - duplo duplete duplo |
| DEPT-Q | - <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer including the detection of quaternary nuclei</i> |
| DMF | - Dimetilformamida |
| DMP | - Dess Martin Periodinano |

| | |
|----------|---|
| DMSO | - Dimetilsulfóxido |
| DRX | - difração de raios- X |
| dt | - duplo tripleto |
| E2 | - eliminação do tipo 2 |
| EM | - espectrometria de massas |
| ERos | - Espécies reativas de oxigênio |
| eV | - elétron-volt |
| F.M. | - formula molecular |
| GSK-3B | - glicogênio sintase quinase 3-beta |
| HMBC | - Heteronuclear multiple Bond coherence |
| HMQC | - Heteronuclear multiple quantum correlation |
| Homo | - Highest Occupied Molecular Orbital |
| IBGE | - Instituto brasileiro de geografia e estatística |
| IUPAC | - International Union of Pure and Applied Chemistry |
| IV | - espectroscopia na região do infravermelho |
| <i>J</i> | - Constante de acoplamento escalar |
| KBr | - Brometo de potássio |
| LFQM | Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal |
| LUMO | - Lowest Unoccupied Molecular Orbital |
| m | - Multiplete |
| M.M | - massa molecular |

| | |
|-------------|---|
| NEQs | - novas entidades químicas |
| NMDA | - <i>N</i> -metil-D-aspartato |
| NMO | - <i>n</i> -óxido de metilmorfolina |
| Nnos | - NO sintase neuronal |
| PCC | - cloro cromato de piridínio |
| PF | - ponto de fusão |
| RMN | - espectroscopia de ressonância magnética nuclear |
| s | - Singleto |
| SNC | - sistema nervoso central |
| t | - Tripleto |
| TEMPO | - <i>N</i> -oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina |
| THF | - Tetrahidrofurano |
| TPAP | - Tetrapropilamônio perrutenato |
| δ | - Deslocamento químico (RMN)/ deformação angular (IV) |
| ν_s | - Deformação axial simétrica (IV) |
| ν_{ass} | - Deformação axial assimétrica (IV) |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|------------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 23 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 24 |
| 2.1 | A DESCOBERTA DA DOENÇA DE ALZHEIMER | 24 |
| 2.2 | EVOLUÇÃO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E IMPACTO ECONÔMICO | 26 |
| 2.3 | CARACTERIZAÇÃO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS. | 28 |
| 2.4 | TERAPÊUTICA ATUAL PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E BUSCA POR NOVAS ENTIDADES QUÍMICAS | 35 |
| 2.5 | USO DO DONEPEZIL NO DESENHO DE NOVOS FÁRMACOS | 39 |
| 3 | JUSTIFICATIVA | 42 |
| 4 | OBJETIVOS | 44 |
| 5 | METODOLOGIA..... | 45 |
| 5.1 | GENERALIDADES | 45 |
| 5.2 | SÍNTESE..... | 46 |
| 5.3 | CARACTERIZAÇÃO | 46 |
| 6 | RESULTADOS | 48 |
| 6.1 | RESULTADOS EXPERIMENTAIS..... | 48 |
| 6.2 | ENSAIO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ACETILCOLINESTERASE EM PLACA-TESTE DE MARSTON | 119 |
| | CONCLUSÃO..... | 122 |

| | |
|---|------------|
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 124 |
| ANEXO - PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS | 134 |

1 INTRODUÇÃO

A IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) define a Química Medicinal como uma ciência baseada na química que também envolve aspectos biológicos, médicos e farmacêuticos. Comporta a invenção, descoberta, planejamento, identificação e preparação de substâncias biologicamente ativas; a interpretação de seu modo de ação em nível molecular; estudo de seu metabolismo e o estabelecimento das relações estrutura-atividade. Devido a estas peculiaridades da Química Medicinal, existem poucos profissionais nesta ramificação da ciência. O profissional que se envereda por tal área, utiliza-se da interdisciplinaridade contendo uma enorme bagagem de informações, que solidificam todos os aspectos envolvidos nas etapas de planejamento, síntese, elaboração e esclarecimento sobre as formas de ação dos fármacos, nas variadas patologias que acometem os seres humanos.

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa caracterizada clinicamente por uma perda progressiva de memória, de funções psíquicas e motoras, comprometendo sua aprendizagem, sua rotina e levando à incapacidade individual e à morte. Histopatologicamente é caracterizada pela formação de placas neuríticas, emaranhados neurofibrilares, e pela disfunção colinérgica cortical. Cerca de 37 milhões de pessoas são acometidas pela doença em todo o mundo e, portanto, seu tratamento e medidas que visem à diminuição da incidência da doença, constituem um desafio à ciência e a saúde pública (VIEGAS et.al., 2011).

O presente projeto tem como proposta, contribuir para o maior conhecimento acerca de possíveis entidades químicas capazes de atuar no tratamento da doença de Alzheimer, uma das doenças neurodegenerativas mais amplamente estudadas atualmente. Este trabalho visa à síntese de uma série análoga ao donepezil (fármaco comercial para o tratamento da doença de Alzheimer) tendo como motivação os dados farmacológicos obtidos a partir de uma molécula previamente sintetizada (LFQM-18) no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal da Universidade Federal de Alfenas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Será apresentada uma breve revisão bibliográfica abordando assuntos inerentes ao trabalho como a Doença de Alzheimer e alguns aspectos como: descoberta, impacto sócio-econômico, aspectos anatomopatológicos, caracterização e sintomas.

2.1 A DESCOBERTA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Em 1906, o neuropatologista alemão Alois Alzheimer, em ocasião do 37º Encontro de Psiquiatras do Sudeste da Alemanha, descreveu pela primeira vez a Doença de Alzheimer. Na ocasião, o mesmo apresentou um caso que levaria a uma das maiores descobertas da medicina, designando a enfermidade como “Uma Doença Peculiar dos Neurônios do Córtex Cerebral”. A paciente descrita por Alzheimer, Frau August D., de 51 anos, que veio a falecer 5 anos após o início da doença e apresentava sintomas como delírios, afasias, mudanças de comportamento e déficit de memória, que não podiam enquadrar a doença em nenhuma das enfermidades já conhecidas (GRAEBER; MEHRAEIN, 1999) ; (MOLLER; GRAEBER, 1998). Nos cinco anos seguintes à primeira descrição, Alzheimer observou a presença da doença em mais 11 possíveis casos que apresentavam sintomas semelhantes. A partir de seu segundo paciente Johann F. a doença pôde ser elucidada de forma mais clara e assim pode ser nomeada por Emil Kraepelin em 1910 como “A Doença de Alzheimer” em homenagem ao seu descobridor (GRAEBER; MEHRAEIN, 1999) ; (HIPPIUS; NEUNDORFER, 2003).

Mesmo após a descrição da doença relatada por Alzheimer, pouco progresso na definição patogênica da mesma foi obtido. Somente em 1960, mediante o avanço da microscopia eletrônica, é que se pode inferir sobre os aspectos anatomopatológicos acerca da doença, mediante análise das duas lesões clássicas presentes em pacientes portadores de DA: as placas senis e os emaranhados neurofibrilares (MOLLER; GRAEBER, 1998); (GOEDERT; SPILLANTINI, 2006);

(FRANCIS et al., 1999); (SELKOE, 2001). Em meados de 1970, pode-se caracterizar também a DA em seus aspectos neuroquímicos, mediante a observação dos sintomas demenciais como a perda progressiva de memória e o declínio severo da cognição, uma vez que é observada a degradação de neurônios colinérgicos em muitas áreas do sistema nervoso central (SNC) associado à diminuição de neurotransmissores, dentre os quais a acetilcolina é o mais importante (SELKOE, 2001) (GOEDERT; SPILLANTINI, 2006). Um cérebro adulto normal apresenta cerca de 100 bilhões de neurônios, possuindo cada um uma extensa ramificação que permite ao neurônio individual formar conexões com outros neurônios, que são as chamadas sinapses neuronais (Figura 1). Nessas sinapses, que são mais de 100 trilhões, há um grande fluxo de informações sob a forma de impulsos químicos levados pelos neurotransmissores, que permitem um deslocamento rápido e constante de sinais que podem ser traduzidos ao corpo humano sob a forma de lembranças, ações, sentimentos etc. (FARRAN et al., 2011). Este comprometimento da degradação neuronal e o déficit colinérgico levam a alterações comportamentais, normalmente evoluindo para demência (ROBBINS et al., 2006), que ocasiona um grande sofrimento para os pacientes, produzindo incapacidade e dependência, afetando diretamente os familiares, gerando ansiedade, depressão e gasto de tempo com cuidados.

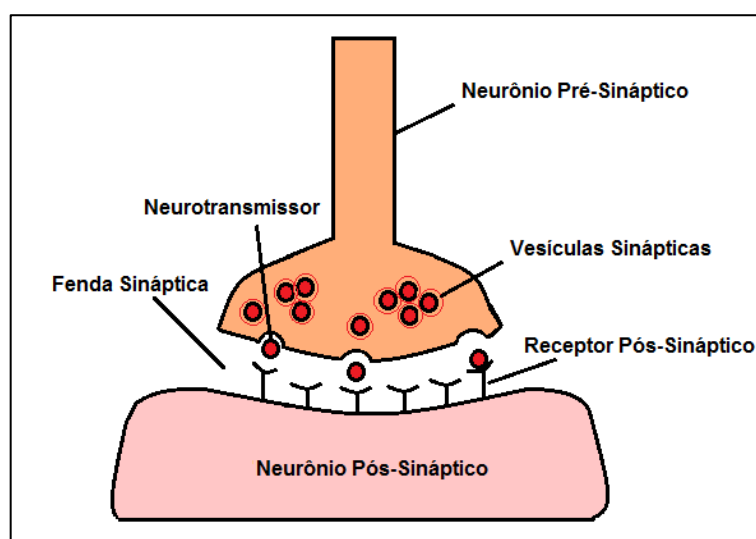


Figura 1 - Sinapse neuronal e a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica.

Fonte: Do autor.

2.2 EVOLUÇÃO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E IMPACTO ECONÔMICO

A DA é uma doença neurodegenerativa e progressiva, caracterizada pela perda de memória recente e um declínio da cognição, associados à degradação de neurônios colinérgicos em muitas áreas do sistema nervoso central (SNC), principalmente nas regiões associadas às funções mentais superiores como o neocórtex e o hipocampo (VIEGAS et al., 2011). Essas alterações levam a graves distúrbios comportamentais e a duração média de estabelecimento da doença, contando os primeiros sintomas clínicos com a possibilidade de evolução à morte, atingindo cerca de 8,5 anos (FRANCIS et al., 1999).

A doença de Alzheimer pode manifestar-se sob duas formas: com um início precoce ou um início tardio. A DA de início precoce, pode se manifestar no indivíduo antes dos 60 anos de idade e está diretamente relacionada a alterações genéticas sucessivas por mutações autossômicas dominantes associadas a três genes alocados no cromossomo 21, identificados como presenilinas 1 e 2 e a apolipoproteína E (APOE) (VIEGAS et al., 2011) ; (LUCATTELLI et al., 2009). Já a DA de início tardio, é a causa mais comum da doença em pacientes acima de 65 anos de idade, ocorre de forma esporádica não associada a influências genéticas (LUCATTELLI et al., 2009)., sendo caracterizada principalmente pelo aumento da pré-disposição à formação de placas senis e emaranhados neurofibrilares no cérebro, juntamente com as perdas de neurônios colinérgicos, levando à redução de massa encefálica dentre outras alterações do SNC (VIEGAS et al., 2011) .

Em relação à gênese da doença, os fatores que levam ao aparecimento da mesma ainda não são totalmente esclarecidos. Entretanto, sugere-se que fatores ambientais e fenômenos epigenéticos possam contribuir para sua manifestação, sendo uma doença de causa multifatorial. (CACABELOS, 2002); (FARRAN et al., 2011).Em sua progressão, a DA demonstra três fases sintomatológicas distintas, sendo estas: leve, moderada e grave. Em um primeiro estágio (leve) ocorrem lapsos de memória e confusão de rotinas associados à perda de espontaneidade, dificuldade de realização de atividades diárias e aumento da ansiedade. No estágio moderado, a perda de memória é agravada juntamente com o esquecimento de eventos diários e dificuldades de organização, pensamento lógico, e dificuldades locomotoras para vestir-se e alimentar-se. O paciente pode ainda apresentar

alucinações, depressão, agitação e comportamento violento. No terceiro estágio, considerado grave, o paciente se torna totalmente dependente de cuidados, apresentando dificuldade de se comunicar e reconhecer os familiares, tornando-se incapaz de realizar atividades básicas como alimentação e higiene pessoal (Medical Information for Healthy Living).

O atual desenvolvimento tecnológico e os crescentes avanços da medicina conduzem a uma elevação da qualidade de vida que, como consequência, reflete diretamente no aumento da longevidade em todo o mundo. A chamada “era do envelhecimento”, segundo a Organização das Nações Unidas, teve início em 1975 e surge como uma tendência de envelhecimento cada vez mais precoce que poderá se estender até meados de 2025. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) afirmam que a Europa ocupa a primeira posição em população com mais de 60 anos de idade (19,8 %), seguida pela América do Norte (16,3 %). Dados do censo de 2010 revelaram essa notória mudança da pirâmide etária também no Brasil, onde o número de idosos com idade superior a 100 anos ultrapassa os 17 mil (IBGE, 2010). Paralelamente ao envelhecimento populacional, tem-se observado um aumento na prevalência de doenças intimamente relacionadas à senescência, como as doenças coronarianas, as neoplasias, a osteoporose dentre outras.

Dentre as enfermidades mais associadas à idade têm-se as síndromes demenciais, caracterizadas como morbidades quase sempre degenerativas e progressivas, responsáveis por acarretar grandes transtornos mentais, físicos e psicológicos ao paciente (Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 1994). Caracterizada como síndrome demencial, a Doença de Alzheimer ganhou extrema importância com o aumento da expectativa média de vida, principalmente nos países mais desenvolvidos, uma vez que se trata de processo neurodegenerativo grave e até o momento sem cura (MOLLER; GRAEBER, 1998). Estima-se que, atualmente, o número de pacientes portadores da DA seja de 35,6 milhões em todo o mundo, e em razão do envelhecimento populacional, esse número deve aumentar significativamente em 2030 para 65,7 milhões. No Brasil, apesar de ainda não se terem dados estatísticos sobre a doença, acredita-se que 1,2 milhões de brasileiros apresentem a mesma, esperando-se que em 2030 sejam afetados cerca de 10 a 15% da população acima de 65 anos e 50% a partir dos 85 anos (Alzheimermed, 2011). Estes fatos são preocupantes, uma vez que o número

de idosos acometidos por doenças do sistema nervoso, somente no estado de São Paulo, passou de 1,2 a 3 % nos anos de 2000 a 2010, sendo a DA a doença neurodegenerativa principal ocupando a 15^o posição nas doenças que mais atingem os idosos em faixas etárias acima de 60 anos. Em 2010, a doença levou ao óbito um total de 47,9 idosos com mais de 80 anos a cada 10 mil somente no Estado de São Paulo como pode ser observado na Figura 2 (MENDES, 2012).

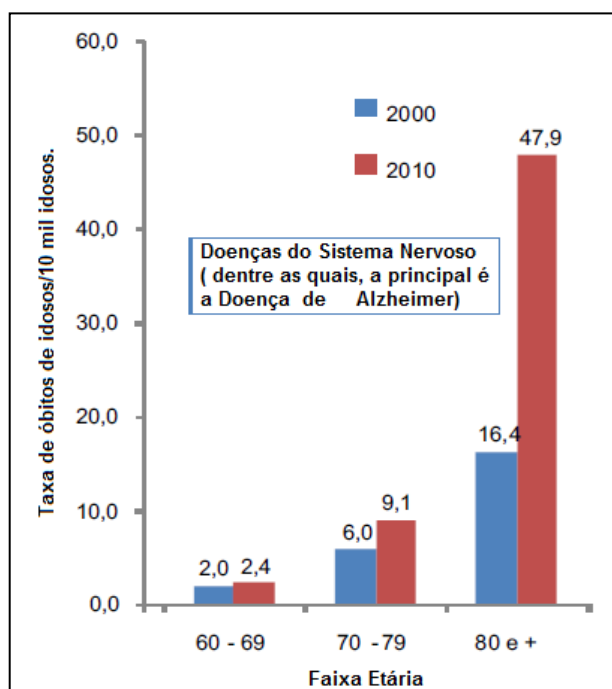


Figura 2 -Influência da DA sobre a taxa de óbitos de idosos no estado de São Paulo em 2010.

Fonte: Adaptado de MENDES (2012, p.37)

Quanto ao impacto econômico, em 2005 os gastos estaduais e federais dos Estados Unidos com a Doença de Alzheimer para pacientes com mais de 65 anos, foram de 91 milhões de dólares e especialistas prevêm que em 2030 estas despesas possam ultrapassar os 400 bilhões de dólares (FARRAN et al., 2011).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS.

As causas da DA ainda são desconhecidas, mas seus efeitos sobre o tecido cerebral são facilmente diagnosticados. Alzheimer e Kraepelin diagnosticaram os aspectos fisiopatológicos da doença e encontraram como principais mudanças a formação de placas neuríticas e novos neurofibrilares (GOEDERT; SPILLANTINI, 2006). Sabe-se atualmente que as regiões cerebrais mais comprometidas pelas alterações bioquímicas decorrentes da DA são aquelas associadas às funções mentais superiores, (como linguagem e raciocínio), particularmente, o córtex frontal e o hipocampo (GEULA et al., 1998); (FELICE; FERREIRA, 2002). As principais alterações no SNC são as formações de numerosas placas neuríticas e a formação de emaranhados neurofibrilares no cérebro, além da diminuição colinérgica cortical que acarretam em uma perda massiva de neurônios e, com isso, um declínio dos processos cognitivos (VERBEEK; RUITER; DE WALL, 1997). Assim, surgiram as principais teorias acerca da estabilização da doença sustentadas pela hipótese amiloide, a hipótese da proteína TAU e a hipótese colinérgica.

Após o avanço da microscopia eletrônica em 1960, muito se descobriu acerca dos aspectos anatomopatológicos DA. Mas foi em 1984 que Colin Masters e Konrad Beyreuther puderam descrever as placas β -amiloide, ou também chamadas placas senis. As idéias propostas por Masters e Beyreuther partiram de estudos acerca de uma doença neurodegenerativa que afligia ovelhas e cabras conhecida como Scrapie. Pouco se sabia sobre a origem ou causa, mas podia se perceber que os animais apresentavam aglomerados cerebrais insolúveis formados por milhões de fibrilas muito pequenas, cada uma composta por centenas de proteínas. Os pesquisadores associaram a Scrapie à doença de Alzheimer em humanos, uma vez que ambas apresentavam os mesmos aglomerados descritos anteriormente por Alzheimer (placa amiloide), além da presença de genes específicos (hoje conhecidos como presenilinas 1 e 2) que tinham suas expressões moduladas nas duas enfermidades (DUGUID et al., 1989); (SCHANABEL, 2011); (DIEDRICH et al., 1991). Atualmente, sabe-se que a Scrapie deriva de partículas protéicas infectantes denominadas príons, que não são necessariamente a causa da DA. Apesar disso, estudos recentes afirmarem que estes príons podem induzir a formação dos agregados em indivíduos portadores de DA, já que os peptídeos insolúveis que formam as placas na DA são muito semelhantes aos peptídeos presentes nos príons (HARPER; LANSBURY, 1997); (EISELE et al., 2010).

As placas β -amiloides ou senis são compostas por fragmentos insolúveis do peptídeo β -amiloide (β A), produzido a partir da proteína precursora amiloide (APP) (GLENNER; WONG, 1984). O estudo desenvolvido por Masters e Beyreuther em 1984, identificou que os peptídeos de β A eram produzidos a partir da ação das enzimas secretases sob a APP, que é codificada por genes conhecidos como presenilinas 1 e 2 localizadas no cromossomo 21, que atuam também como componentes catalíticos da clivagem enzimática (CHARBRIER, et al., 2011). Este estudo trouxe resposta ao questionamento de porque portadores de Síndrome de Down (que possuem uma cópia do cromossomo 21) apresentavam placas senis ainda em torno dos 40 anos de idade (SCHANABEL, 2011). A formação dos peptídeos insolúveis de β A parece ser a causa mais provável para este fato. Os fragmentos clivados deste peptídeo, de tamanhos específicos, formam agregados fibrilares não-covalentes insolúveis, que se depositam no tecido neuronal e estão relacionados à neurotoxicidade da DA (VIEGAS et al, 2011); (SELKOE, 1996); (SELKOE, 2001); (SCHANABEL, 2011). Quanto a sua formação, estes fragmentos são gerados a partir da ação das secretases, enzimas responsáveis pelo processo proteolítico normal da APP, e dependendo do sítio de proteólise estas enzimas são classificadas como α , β , ou γ secretases (Figura 3). As α secretases são, possivelmente, as responsáveis pela clivagem da APP em oligômeros solúveis (sAPP α) que são fagocitados pelas microglias e excretados. Porém, quando a quebra da APP é feita por β ou γ secretases, ocorre a liberação de fragmentos insolúveis (sAPP β) que se depositam extracelularmente e podem se agregar formando plaquetas que são tóxicas ao neurônio (VIEGAS et al, 2011); (MULLER-HILL; BEYREUTHER, 1989); (RAUK, 2008); (SELKOE, 2001). A clivagem de APP por γ secretases origina peptídeos A β que variam de 39 a 43 resíduos de aminoácidos, sendo o resíduo A β_{1-43} formado em maior quantidade. Já o resíduo A β_{1-42} em menor quantidade, mas é a espécie mais encontrada em placas cerebrais. O resíduo A β_{1-42} é o resíduo mais longo, mais hidrofóbico e mais propenso à agregação, mostrando um alto grau de compactação, e presença de aminoácidos como metionina que são tóxicos a célula devido à facilidade com que sofrem processos de oxidação (AULD et al., 2002); (SELKOE, 2001); (RAUK, 2008); (SCHANABEL, 2011).

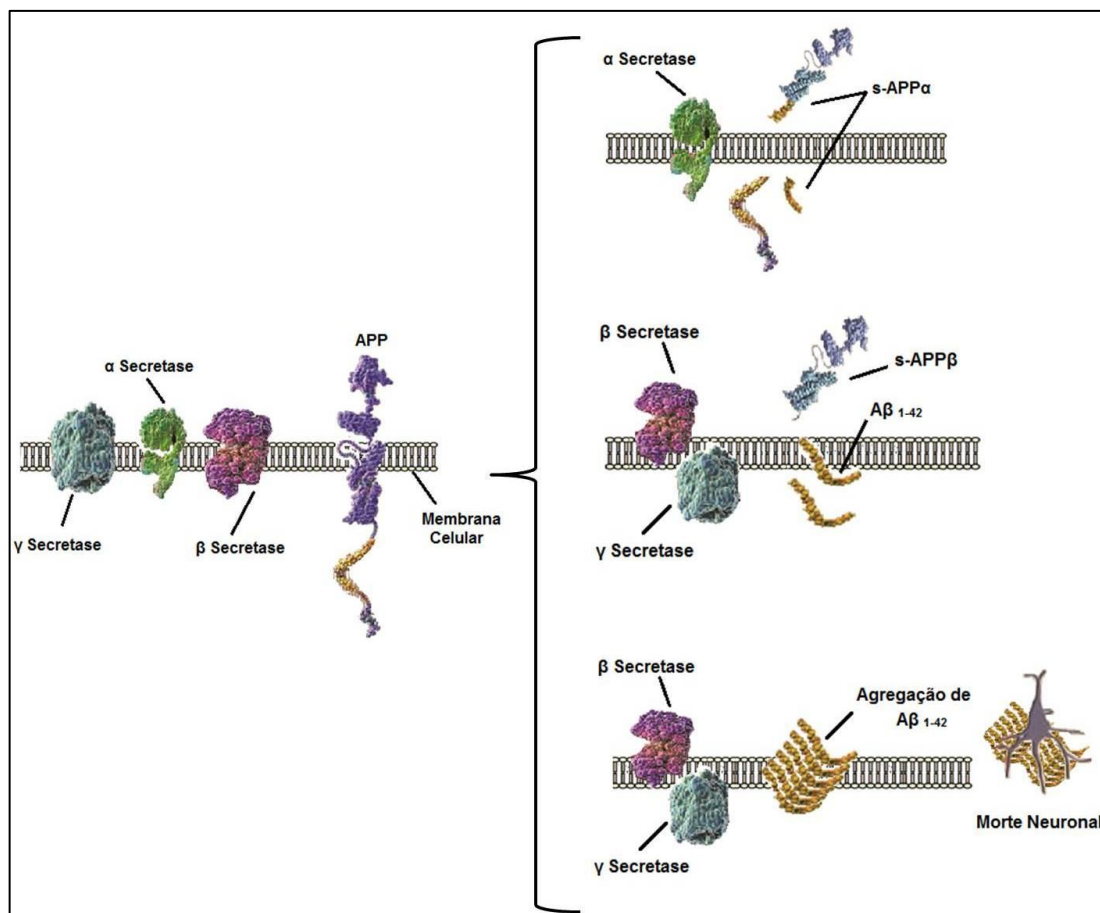


Figura 3 - Clivagem da APP através das enzimas secretases e formação da placa amiloide.
Fonte: Do autor.

Apesar de esta hipótese estar bem fundamentada, em 1990 Charles Glabe e Dennis Selkoe levantaram suspeitas de que não só as fibrilas formadas através do depósito de fragmentos insolúveis da proteína β -amiloide poderiam ser a causa de um início da doença de Alzheimer. Além disso, os oligômeros solúveis também poderiam estar associados à instalação da doença e ao desencadeamento de um processo neurotóxico. Estudos desenvolvidos por eles mostraram que na tentativa de destruição das placas amiloides, os oligômeros solúveis, mas tóxicos, eram formados e começavam a matar os neurônios vizinhos, através do enfraquecimento das sinapses neuronais, acarretando falhas na conexão neuronal. Também em 2000, novos conceitos foram reformulados, afirmando que, possivelmente, o peptídeo β -amiloide possa ser tóxico sob qualquer uma de suas formas, se tornando visivelmente mais prejudicial sob a forma de placas densas insolúveis, pois interrompem a conexão neuronal. Por outro lado, os oligômeros solúveis também estão sob intenso estudo uma vez que se ligam diretamente nas membranas dos

neurônios e causam neurotoxicidade e inflamação (CHARBRIER et al., 2011); (SCHANABEL, 2011). Desta forma a hipótese seria um efeito “cascata” que se inicia na clivagem da proteína precursora formando as fibrilas que se depositam em placas insolúveis conhecidas como β -amiloides; estas causam um bloqueio nas sinapses e se rompidas levam a formação de oligômeros solúveis, mas tóxicos, que geram neurotoxicidade e inflamação, que culminam com a demência (CHARBRIER et al., 2011).

Outra suposição para a gênese e progresso da DA é a hipótese da formação dos emaranhados neurofibrilares a partir da degradação dos neurônios pela proteína TAU. Em um neurônio saudável, os axônios (estruturas responsáveis pelo estabelecimento da polaridade neuronal, formação e manutenção do contato interneuronal) são suportados internamente por estruturas denominadas microtúbulos. Estas estruturas são responsáveis pelo carregamento dos nutrientes necessários ou até mesmo neurotransmissores até vesículas a partir dos axônios chegando ao neurônio. Esses axônios são estabilizados por uma proteína que contém grupos fosfatos em sua estrutura sendo a mesma denominada proteína Tau. Em um processo anormal de hiperfosforilação, essa proteína pode levar à desintegração dos microtúbulos dos axônios neuronais, causando um acúmulo de filamentos desta proteína que se aglomeram formando os emaranhados neurofibrilares (Figura 4). Embora a causa da hiperfosforilação não esteja completamente elucidada, sugere-se que por um mecanismo correlacionado tanto o resíduo βA_{1-42} como a apolipoproteína E (APOE) podem ativar uma enzima denominada glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3B) e outras quinases responsáveis pela hiperfosforilação da proteína Tau, levando à fragmentação da mesma. A formação dos emaranhados neurofibrilares pode exercer um efeito direto nas sinapses neuronais, afetando a transdução do sinal e gerando um colapso neuronal, tipicamente observado em neurônios de pacientes com DA (VIEGAS et al., 2011); (GORLOVOY et al., 2009); (RAUK, 2008); (National Institute on Aging., 2008).

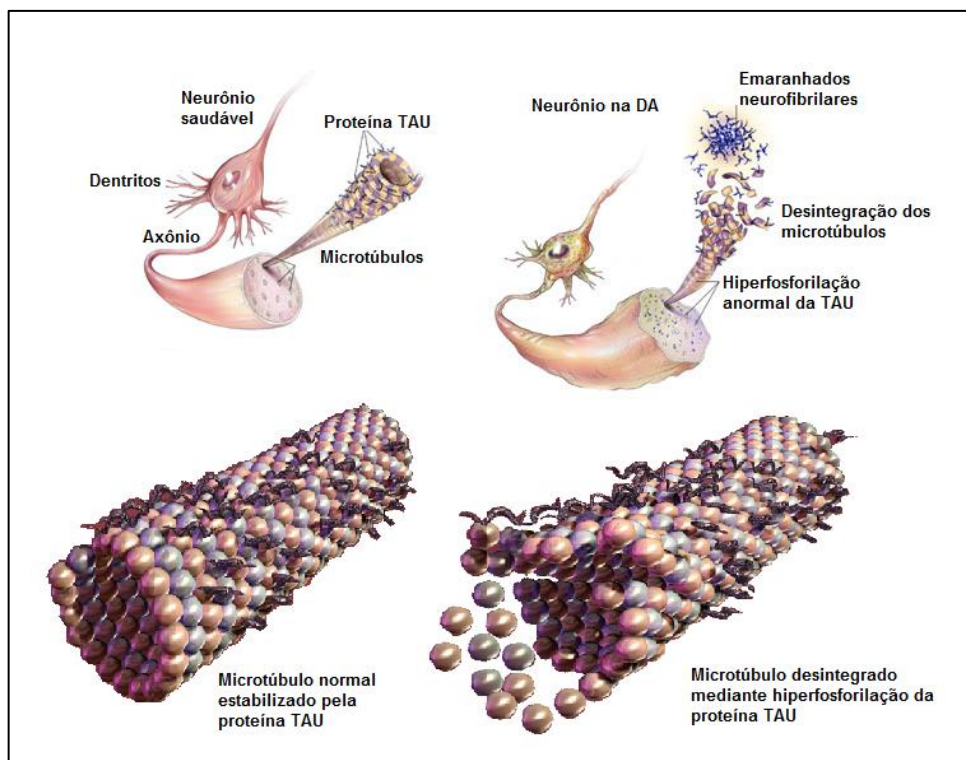


Figura 4 – Desestabilização dos microtúbulos através da hiperfosforilação anormal da proteína TAU e formação dos emaranhados neurofibrilares.

Fonte: Do autor.

Diversas regiões cerebrais estão associadas à formação e manutenção de novas lembranças, além de consciência, atenção e realização de atividades. As principais regiões envolvidas nos processos cognitivos e de memória são o proencéfalo basal, o hipocampo, o tálamo e o córtex cerebral onde a presença de neurônios colinérgicos pode ter um papel funcional (TERRY; BUCCAFUSCO, 2003). Estudos demonstram que a perda excessiva de neurônios no córtex cerebral (região já afetada pela formação das placas β -amiloides e dos emaranhados neurofibrilares) leva a alterações nos lobos cerebrais frontais e temporais, regiões que estão associadas principalmente à formação e manutenção de novas lembranças e a locomoção (COYLE; PRICE; DELONG, 1983). Em observação aos aspectos neuroquímicos da DA, sabe-se que em níveis celulares, a doença está associada a uma alteração no sistema colinérgico, com redução das taxas do neurotransmissor acetilcolina (ACh) no processo sináptico. Este fato se dá, devido à atrofia nos núcleos basais de Meynert, estruturas responsáveis pela produção da enzima colina acetiltransferase (CAT). Esta por sua vez, catalisa a reação de síntese de ACh a partir da colina e acetilcoenzima A (Figura 5). Caso estes núcleos tenham sua

expressão diminuída, conseqüentemente ocorrerá a diminuição na produção do neurotransmissor acetilcolina (MINETT; BERTOLUCCI, 2000); (FRANCIS et al., 1999). Outros neurotransmissores também têm sua expressão influenciada, como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P, em menor extensão (FRANCIS et al., 1999). Análises de tecidos cerebrais e ensaios farmacológicos também evidenciaram uma redução no número de receptores nicotínicos e muscarínicos M₂ de ACh, muitos destes localizados nas terminações colinérgicas pré-sinápticas, preservando os receptores muscarínicos M₁ e M₂ pós-sinápticos (VIEGAS et al., 2011); (ROCHA et al., 2011).

A hipótese colinérgica é a teoria bioquímica atualmente mais aceita em todo o mundo para a intervenção na DA. A transmissão de sinais químicos através dos neurotransmissores nas sinapses, tem papel fundamental no processo cognitivo, com a atuação principal do neurotransmissor acetilcolina, responsável pelos processos de memória e aprendizagem, além do controle muscular. Dessa forma, a liberação e equilíbrio do mesmo na fenda sináptica, são essenciais para o bom funcionamento do sistema nervoso central. Após a liberação da ACh do neurônio pré-sináptico, seus receptores pós-sinápticos, muscarínicos ou nicotínicos, recebem os neurotransmissores eliminados da vesícula sináptica, carreando as informações químicas na rede neural. Para o paciente da DA, os níveis deste neurotransmissor são reduzidos fato que explica os efeitos indesejáveis causados na doença e a neurodegeneração. Entretanto, a ação do neurotransmissor ACh pode ser interrompida através de sua hidrólise feita sob ação catalítica da enzima AChE. Assim, a terapêutica atual da doença, que está baseada na melhora da cognição, no retardo da evolução e atenuação dos sintomas, está baseada principalmente na hipótese colinérgica que visa retardar ou amenizar o déficit colinérgico pela inibição parcial da atividade da AChE, aumentando com isso o tempo de vida médio do neurotransmissor na fenda sináptica e trazendo melhora sintomática ao paciente (VIEGAS et al., 2011); (MESULAM, 2004); (TERRY; BUCCAFUSCO, 2003).

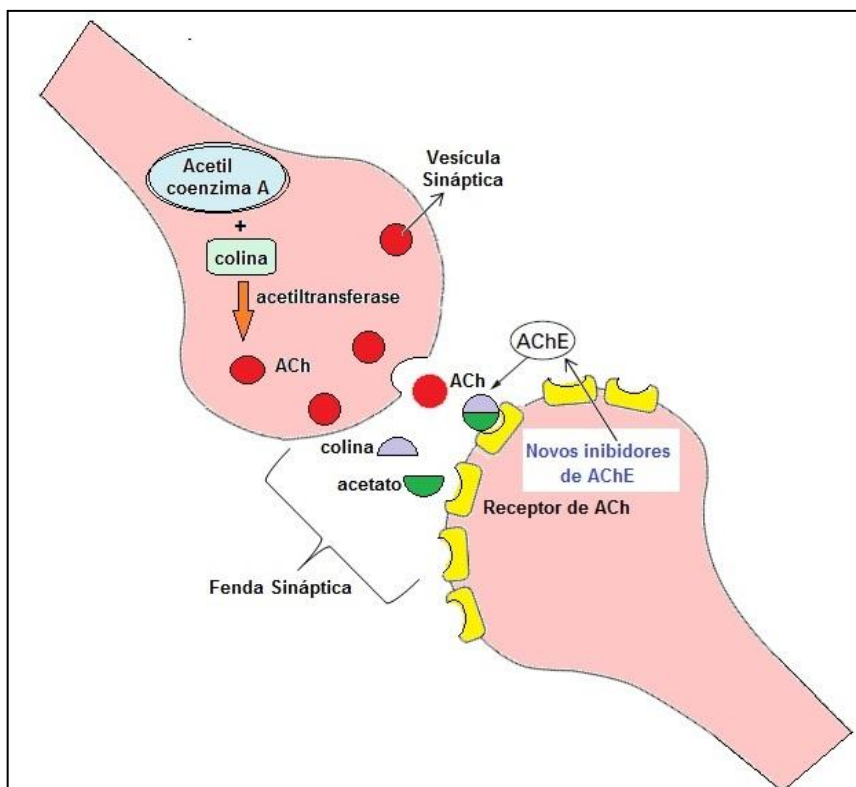


Figura 5- Esquema do processo sináptico e da liberação de ACh, com envolvimento dos possíveis alvos para fármacos para o tratamento da DA.

Fonte: Do autor.

2.4 TERAPÊUTICA ATUAL PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER E BUSCA POR NOVAS ENTIDADES QUÍMICAS

Para o tratamento sintomático da Doença de Alzheimer (uma vez que a doença é de causa multifatorial e ainda não possui cura), existem apenas 5 fármacos aprovados pelo FDA no mercado atual. São eles: a tacrina (THA, Cognex[®], 1), o donepezil (Aricept[®], 2), a rivastigmina (Exelon[®], 3), a galantamina (Reminyl[®], 4) e a memantine (Namenda, 5, Figura 6) (MELNIKOVA, 2007); (SUGIMOTO et al., 2000).

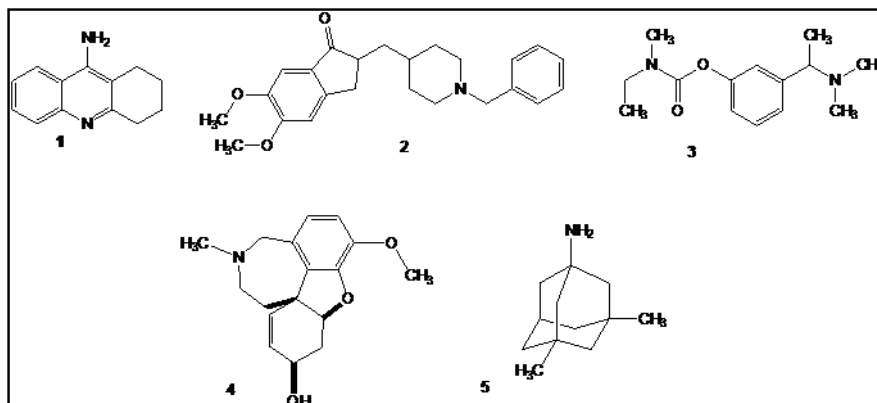


Figura 6- Estrutura química dos fármacos comercializados para o tratamento da DA.

Fonte: Do autor.

Aprovado em 1993, a tacrina (**1**) foi o primeiro fármaco utilizado no tratamento da doença, e seu mecanismo de ação está baseado tanto na inibição da AChE quanto da butirilcolinesterase (BuChE). Porém, seu uso foi restrito após pouco tempo de comercialização, devido a sua toxicidade hepática, presentes em 40% dos pacientes, sendo recomendada apenas para pacientes que não respondem ou toleram os demais medicamentos disponíveis. Apesar disso, sua estrutura tem sido amplamente utilizada no planejamento de muitos outros análogos ativos, com diferentes índices de seletividade e menor toxicidade, como as huprinas, bis-tacrinas, taciripinas dentre outros derivados de estrutura híbrida (VIEGAS et al., 2011); (MINETT; BERTOLUCCI, 2000).

A galantamina (**4**) um produto natural que atua como agonista de receptores nicotínicos, aumentando sua expressão, e tem sido estudada como protótipo para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos anticolinesterásicos, além de diminuir a produção das placas β -amiloide, sendo assim considerado um fármaco de efeito duplo (MANGIALASCHE et al., 2010); (VIEGAS et al., 2011). A rivastigmina (**3**) teve seu uso oral para a DA foi aprovado 2000, e somente em 2006, para o tratamento da Doença de Parkinson. É um inibidor reversível de colinesterases, planejado por modificação estrutural da fisostigmina, um produto natural, capaz de inibir tanto a AChE como a BuChE. Assim como a galantamina, a rivastigmina é capaz de atuar na redução das placas β -amiloide e sua utilização é indicada para o tratamento dos estágios leve a moderado da DA.

A memantina (**5**) foi o último fármaco atualmente em uso aprovado pelo FDA em 1998, sendo também o único que não atua na inibição da AChE. A memantina

atua como antagonista de receptores de glutamato do tipo *N*-metil-D-aspartato (NMDA), evitando um influxo excessivo de cálcio (Ca^{2+}). Nas sinapses, após o estímulo do neurônio pré-sináptico, ocorre a liberação de glutamato, que se liga aos receptores NMDA e estimula a entrada de íons de Ca^{2+} no citoplasma do neurônio. O influxo de Ca^{2+} induz a produção de nNOS (NO sintase neuronal) que, por sua vez, leva à liberação de óxido nítrico (NO) nos neurônios pós-sinápticos, funcionando como mensageiro para a pré-sinapse e reiniciando todo o processo, podendo gerar um processo inflamatório devido a presença de espécies reativas de oxigênio (EROs). Devido ao seu mecanismo de ação diferenciado, evitando a liberação excessiva de glutamato, que em altas concentrações torna-se citotóxico e leva à morte neuronal, a memantina vem sendo indicada para os casos de evolução moderada a severa da DA (MANGIALASCHE et al., 2010); (VIEGAS et al., 2011).

O donepezil (2) que também é conhecido como E2020, surgiu na década de 80 como um inibidor reversível e não-competitivo da AChE, sendo o segundo fármaco aprovado pelo FDA. Este fármaco ganhou destaque por ser muito menos tóxico que a tacrina, sendo também 1250 vezes mais seletivo para AChE do que para BuChE, tornando-se atualmente o fármaco mais comercializado para o tratamento da DA (VIEGAS et al., 2011); (SUGIMOTO et al., 2000). Vários estudos computacionais e de mecanismo de ação apontam que a seletividade deste fármaco é decorrente das subunidades *N*-benzilpiperidina e indanona, que conferem maior afinidade e especificidade para AChE (KRYGER; SILMAN; SUSSMAN, 1998). Quanto aos aspectos farmacodinâmicos, o donepezil atua na inibição da AChE, aumentando a disponibilidade de ACh intra-sináptica, com poucos efeitos colaterais, a maioria de natureza colinérgica, e de caráter transitório como náuseas, vômitos e tremores, havendo relatos de causar uma menor redução do volume cerebral devido à diminuição da morte neuronal (VIEGAS et al., 2011); (WANG et al., 2010); (TATENO et al., 2008); (MANGIALASCHE et al., 2010). Quanto aos aspectos farmacocinéticos, o donepezil apresenta uma absorção linear, atingindo a concentração plasmática máxima em 3-5 horas após a administração, sem influência da alimentação. Além disso, o donepezil demonstra boa transposição da barreira hematoencefálica, atingindo concentração cerebral cerca de 7 vezes maior que no plasma, sendo, portanto, considerado um inibidor de ação central. O donepezil é largamente metabolizado no fígado e a sua via principal de excreção, juntamente com seus metabólitos, é a renal, o que exige cautela na administração em pacientes

com insuficiência renal e hepática (VIEGAS et al., 2011) Além dos fármacos já utilizados no tratamento sintomático da DA, podemos citar a Huperzina-A. É um alcalóide natural recentemente descoberto na China, que atua na melhora sintomática da DA através da inibição da enzima AChE de modo reversível, com ação central e periférica, também apresentando efeitos neuroprotetores. Atualmente é aprovado para uso na China, mas em fase 2 nos demais países (MANGIALASCHE et al., 2010). Os fármacos mais utilizados no tratamento da DA, a atividade sintomática desempenhada e a potencial atividade neuroprotetora estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Principais fármacos atuais úteis ao tratamento da DA: estágios de atuação, atividade sintomática e potencial neuroprotetor.

| | Estágio da doença | Atividade sintomática * | Potencial atividade neuroprotetora |
|---|--|--|--|
| Inibidores de AChE: Melhora da cognição, comportamento e estados clínicos funcionais e globais | | | |
| Donepezil | Todos os estágios | Inibidor de AChE | Possibilita diminuição da produção de A β , modula expressão das isoformas de AChE, aumenta a expressão de receptores nicotínicos. |
| Rivastigmina | Estágio fraco a moderado | Inibidor de AChE e BuChE | Possibilita diminuição da produção de A β , modula expressão das isoformas de AChE, aumenta a expressão de receptores nicotínicos. |
| Galantamina | Estágio fraco a moderado | Inibidor de AChE (modulador de receptores nicotínicos) | Possibilita diminuição da produção de A β , modula expressão das isoformas de AChE, aumenta a expressão de receptores nicotínicos. |
| Huperazina A | Aprovado na China para estágios fracos a moderados | Inibidor de AChE | Modula a expressão de APP aumentando a produção de fragmentos solúveis; antioxidante, anti-apoptose, protetor mitocondrial. |
| Antagonistas de Receptores NMDA: melhora da cognição, comportamento e estado funcional | | | |
| Memantina | Estágio moderado a severo | Não-competitivo antagonista de receptor NMDA | Prevenção da hiperfosforilação da proteína TAU, diminuição da inflamação associada a microglia. |
| As propostas de mecanismo de atividade dos fármacos aprovados e a indicação para os estágios da doença são mostrados. A β = β -amilóide, APP=proteína precursora amilóide. AChE= acetilcolinesterase, BuChE=butirilcolinesterase. * Donepezil, rivastigmina, galantamina e huperazina A aumentam a transmissão colinérgica, enquanto a memantina diminui a excitotoxicidade de glutamato. | | | |

Fonte: Adaptado de MANGIALASCHE (2010, p.703)

Muitos protótipos a fármacos têm sido planejados, baseados nos fármacos já existentes para o tratamento da doença e nos diversos modos de ação tais como: diminuição da produção ou agregação de fragmentos insolúveis derivados da proteína β -amilóide; aumento da imunização ativa e passiva pelo aumento da remoção de agregados tóxicos; diminuição da fosforilação da proteína TAU e diminuição da agregação dos emaranhados neurofibrilares, inibição da enzima

acetilcolinesterase, dentre outros. Alguns destes candidatos à fármacos atualmente em fases clínicas estão apresentados na Figura 7.

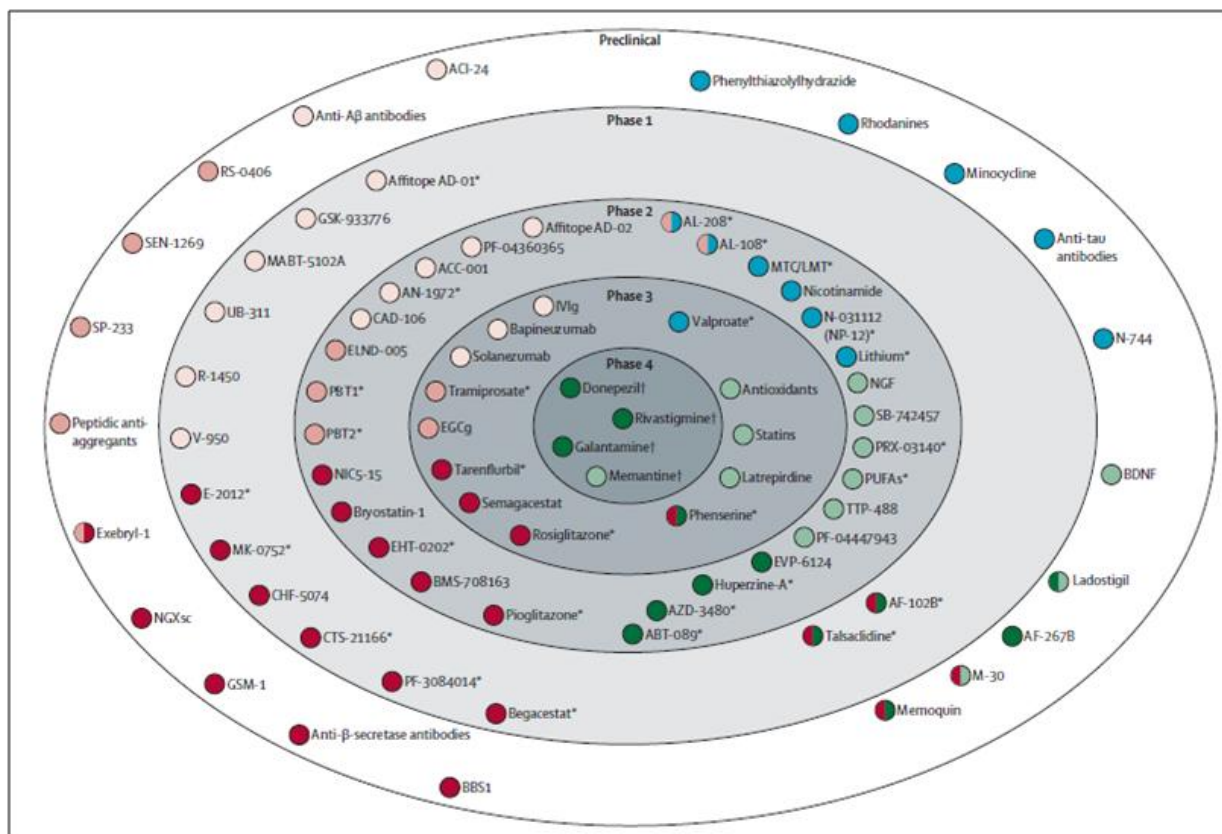
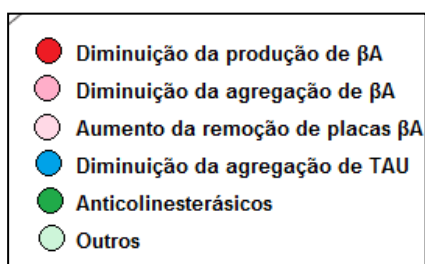


Figura 7- Fármacos em desenvolvimento para o tratamento da Doença de Alzheimer.

Legenda:



Fonte: Adaptado de MANGIALASCHE (2010, p.704)

2.5 USO DO DONEPEZIL NO DESENHO DE NOVOS FÁRMACOS

A busca por novas entidades químicas (NEQs) capazes de interferir nos sintomas e no avanço da DA, têm encontrado nos fármacos disponíveis uma

importante contribuição para o planejamento sintético de novas substâncias ativas e, conseqüentemente, novos protótipos a fármacos úteis ao tratamento da DA.

O donepezil (E2020) tem sido um dos fármacos mais utilizados como protótipo para a geração de novas substâncias ativas. A síntese do donepezil começou a ser relatada em 1987 e foi completamente descrita por Sugimoto em 1995, revelando a molécula como um possível protótipo a fármaco. O composto apresentou alta potência na inibição da enzima AChE (IC_{50} de 5,7 nM), com seletividade 1250 vezes maior para a AChE do que para a BuChE, exibindo maior seletividade do que a fisostigmina e a tacrina. Estudos *in vivo* mostraram que o E2020 (**2**, Figura 1) possui efeito de maior duração que a fisostigmina em dose de 5 mg/kg (via oral) e produz um notável aumento nos níveis de acetilcolina no córtex cerebral de ratos. Além disso, o composto E2020 não mostrou toxicidade significativa em estudos de curta duração. A eficácia deste novo fármaco foi avaliada em um estudo duplo-cego com mais de 1000 pacientes, revelando que seu uso resultava em significativa melhora na memória, concentração, linguagem e raciocínio, sem sinais de toxicidade hepática. Diante desses resultados, o Donepezil (**2**) foi aprovado pelo FDA em 1996, indicado para o tratamento dos estágios iniciais e moderados da DA.

Na estrutura do donepezil (**2**) as subunidades *N*-benzilpiperidina e indanona foram identificadas como sítios de interação com a AChE e são consideradas responsáveis por sua seletividade. O donepezil é reconhecido pela AChE interagindo, principalmente, ao longo do gargalo do sítio ativo da enzima por meio de três subunidades principais: a subunidade benzila, o nitrogênio no anel piperidínico e a subunidade dimetoxi-indanona (Figura 8). Essas interações envolvem contatos discretos mediados por moléculas de água que parecem ser cruciais para a ligação e pela especificidade. Estudos com outros análogos do donepezil evidenciaram a importância na manutenção dos grupos aromáticos, aparentemente essenciais para interações com os resíduos de aminoácidos Trp 84 e Trp 279, e o anel piperidínico, visto que a troca deste grupo por piperazina provoca um decréscimo de afinidade do análogo com a enzima AChE de até 19 vezes (KRYGER; SILMAN; SUSSMAN, 1998).

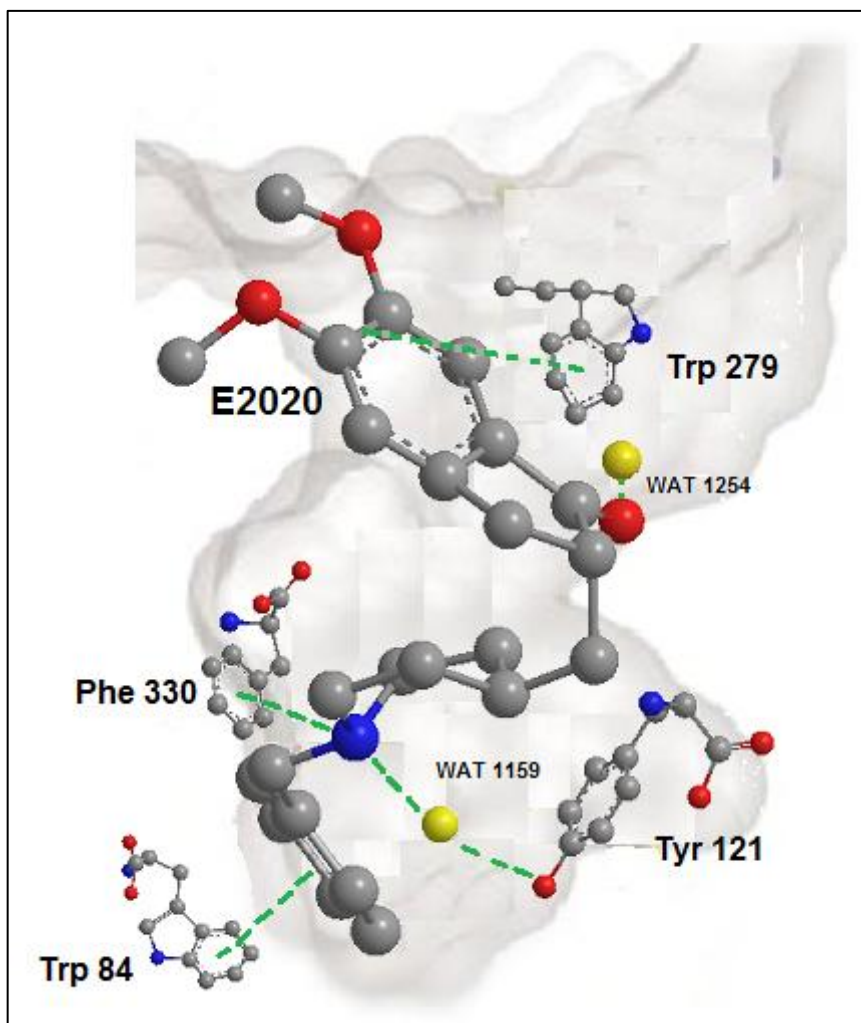


Figura 8- Estrutura do Donepezil e sua interação com os resíduos de aminoácidos da enzima AChE.

Fonte: Do autor.

Como consequência de suas propriedades farmacodinâmicas singulares, sua alta seletividade e das suas propriedades farmacocinéticas tão adequadas, o Donepezil vem sendo muito explorado também como protótipo molecular para o desenho de novos candidatos a fármacos para o tratamento da DA.

3 JUSTIFICATIVA

O tratamento de doenças neurodegenerativas no Brasil, incluindo a DA, é dificultado por um número conflitante de fatores, como a grande demanda devido às poucas alternativas terapêuticas disponíveis e o alto custo na aquisição/importação destes. Além disso, o tratamento da DA têm se mostrado cada vez mais necessário, uma vez que se trata de um processo neurodegenerativo grave, incapacitante e até hoje sem cura.

Dentro desse contexto, a elaboração de projetos que visem à descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos deverão conduzir a uma importante contribuição como inovação tecnológica, além da geração de conhecimento e formação de recursos humanos especializados. Essas novas alternativas terapêuticas, com menor custo e maior eficácia, têm motivado a busca por novos agentes anticolinesterásicos úteis no tratamento de diversas doenças neurodegenerativas como DA explorada nesse trabalho. A utilização de fármacos comerciais como modelos na busca por novas entidades químicas (NEQs) estruturalmente relacionadas, mas com inovação estrutural, é uma alternativa e uma ferramenta importante na Química Medicinal, principalmente no desenho de novos protótipos de fármacos. Uma vez que as propriedades farmacológicas e de toxicidade dos protótipos originais são conhecidas, pode-se ter maior êxito na busca de novas entidades químicas biologicamente ativas em uma série de moléculas análogas modificadas racionalmente. No âmbito da linha de pesquisa do LFQM-UNIFAL (Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal) que visa o planejamento e a síntese de novos candidatos a fármacos anticolinesterásicos por modificação estrutural de moléculas ativas conhecidas, é que este projeto de mestrado esteve inserido. Estudos anteriores (dados não publicados) levaram à descoberta do protótipo **LFQM-18 (6, Figura 9)** com atividade anticolinesterásica preliminar que indicou uma perspectiva promissora deste novo padrão estrutural (Figura 10).

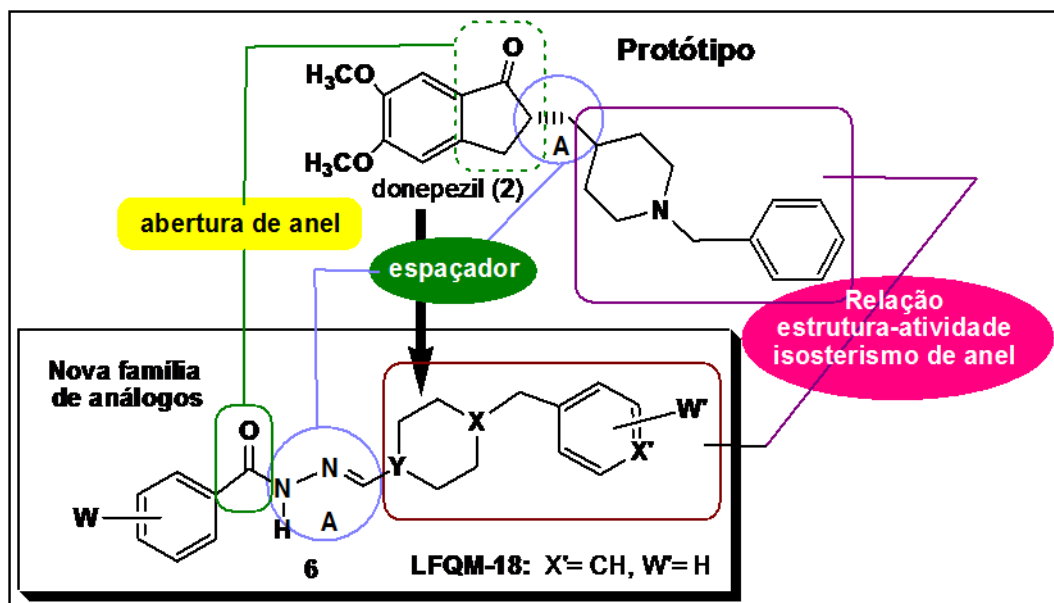


Figura 9- Proposta para obtenção da nova família de análogos a LFQM-18.
Fonte: Do autor.

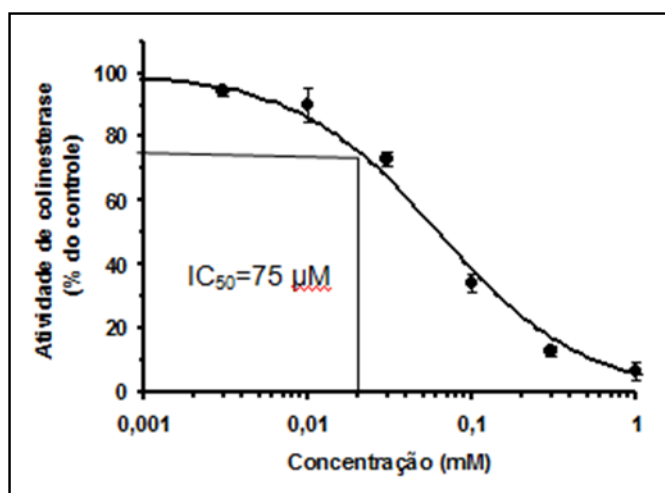


Figura 10- Atividade anticolinesterásica in vitro de LFQM-18 (6).

Fonte: Do autor.

Baseado nestes resultados, uma nova série de análogos ao modelo **LFQM-18** foi planejada (Figura 11), buscando o estudo da melhor rota sintética para obtenção do mesmo e a otimização das propriedades anticolinesterásicas previamente observadas.

4 OBJETIVOS

A proposta deste trabalho consistiu no planejamento, síntese, caracterização estrutural e avaliação farmacológica de novos protótipos a fármacos anticolinesterásicos análogos ao donepezil, apresentando um padrão estrutural inédito. Dentre os objetivos deste projeto, destacam-se:

- Planejamento de uma série análoga ao donepezil;
- Estudo e otimização da rota sintética;
- Obtenção dos análogos sintéticos;

-Caracterização dos análogos por espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN ¹H, DEPT-Q, HMBC e HMQC), espectrometria de massas (EM) e difração de raios X (DRX).

-Avaliação da atividade anticolinesterásica preliminar da série-alvo por ensaio em cromatografia em camada delgada (Teste de Marston).

5 METODOLOGIA

A metodologia aplicada neste trabalho foi dividida na síntese dos compostos e caracterização dos mesmos.

5.1 GENERALIDADES

- Nos processos de purificação por cromatografia em coluna (CC) utilizou-se sílica 60 [70 a 230 Mesh (0,063 – 0,200 nm) ou 230 – 400 Mesh (0,200 – 0,360 nm), ASTM, Merck® em coluna de vidro de diâmetro interno adequado para cada caso. Para a relação entre material cromatografado e a quantidade de sílica gel usada na coluna, adotou-se a proporção de 1:30;
- Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatofolhas de sílica gel, w/UV254, na espessura de 0,2 µ em suporte de alumínio, ou cromatofolhas suportadas em alumina e utilizando sempre como fase móvel o solvente / mistura de solventes mais indicado para cada caso;
- A visualização das substâncias cromatografadas analiticamente foi realizada em lâmpada de Ultra Violeta (254-365 nm) ou através de reveladores como Vapor de Iodo, Solução Reveladora 2,4 dinitrofenilhidrazina ou Solução Reveladora de Cloroiodoplatinato;
- Para a remoção dos solventes, utilizou pressão reduzida em evaporador rotatório da marca (Kika®-Werke, modelo HB4 basic e/ou Heidolph, modelo Laborata 4000) em banho termostático. Quando necessário os resíduos de solvente foram retirados em um sistema de alto vácuo;
- Os solventes e reagentes utilizados nas sínteses foram de grau PA e quando necessário, foram secos com metodologia individual para cada solvente/reagente;
- Os cálculos teóricos foram efetuados através do programa Jaguar 7.6 (SCHRÖDINGER, 2009) com o seguinte sistema:
 - Método : Density Functional Theory (DFT)
 - Funcional B3LYP
 - Conjunto de funções base (basis set): 6-311g**++

- O ensaio em placa cromatografica (CCD) foi conduzido segundo protocolo próprio utilizado no LFQM-Unifal discutido com detalhes no anexo A.

5.2 SÍNTESE

As substâncias apresentadas neste trabalho seguiram diversas metodologias de obtenção, as quais serão apresentadas detalhadamente no anexo A.

5.3 CARACTERIZAÇÃO

- A medida da faixa de fusão foi obtida em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$) e determinada em equipamento Marte (PFM II). A amostra foi triturada e empacotada em tubo capilar para registrar a faixa de temperatura da primeira evidência visível até a completa fusão ou decomposição do sólido. A determinação foi feita em triplicata.
- Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados em aparelho da marca Shimadzu modelo Prestig-21 acoplado a um microcomputador munido com o software IR solution, do LABIQ (Laboratório Interdisciplinar de Química) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL). As análises foram feitas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) e as absorções expressas em números de ondas (cm^{-1});
- Os espectros de massas de baixa resolução foram realizados em colaboração com a Universidade Federal de São Carlos, seguindo protocolos próprios da Universidade.
- A medida de difração de Raios X foi realizado no Laboratório de Cristalografia da Universidade Federal de Minas Gerais (LabCri- UFMG), no equipamento Gemini-Oxford, com as seguintes condições: Temperatura igual a 150K e Radiação $\text{MoK}\alpha$.
- Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram obtidos em colaboração com a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ),

no equipamento Magnet System 500 MHz/ 54mm Ultrashield Plus, Long Hold Time- Bruker, seguindo protocolo próprio da universidade.

- Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em colaboração com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP Ribeirão Preto, no equipamento micrOTOF II - ESI-TOF Mass Spectrometer- Bruker, com Bomba de Infusão, Fluxo 300 μ l/h, e fase Móvel para a solubilização: MeOH:H₂O, através de protocolos próprios.

6 RESULTADOS

Os resultados obtidos neste trabalho serão divididos na caracterização das substâncias sintetizadas e no ensaio da atividade inibitória de acetilcolinesterase em placa (teste de Marston).

6.1 RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Baseado na análise retrossintética apresentada na Figura 12, a série análoga **7** poderia ser obtida por uma reação de acoplamento ácido-catalisada entre uma série de aldeídos funcionalizados e a hidrazida (**8**). Esta por sua vez, poderia ser preparada por hidrazinólise do éster metílico (**9**), derivado direto da esterificação do ácido (**10**) com metanol sob catálise ácida. Em uma via sintética paralela, o aldeído (**11**) poderia ser obtido da oxidação do álcool (**12**), sendo este obtido através de uma reação de aminação redutiva entre 4-piperidinometanol (**13**) e benzaldeído (**14**), eleitos como materiais de partida.

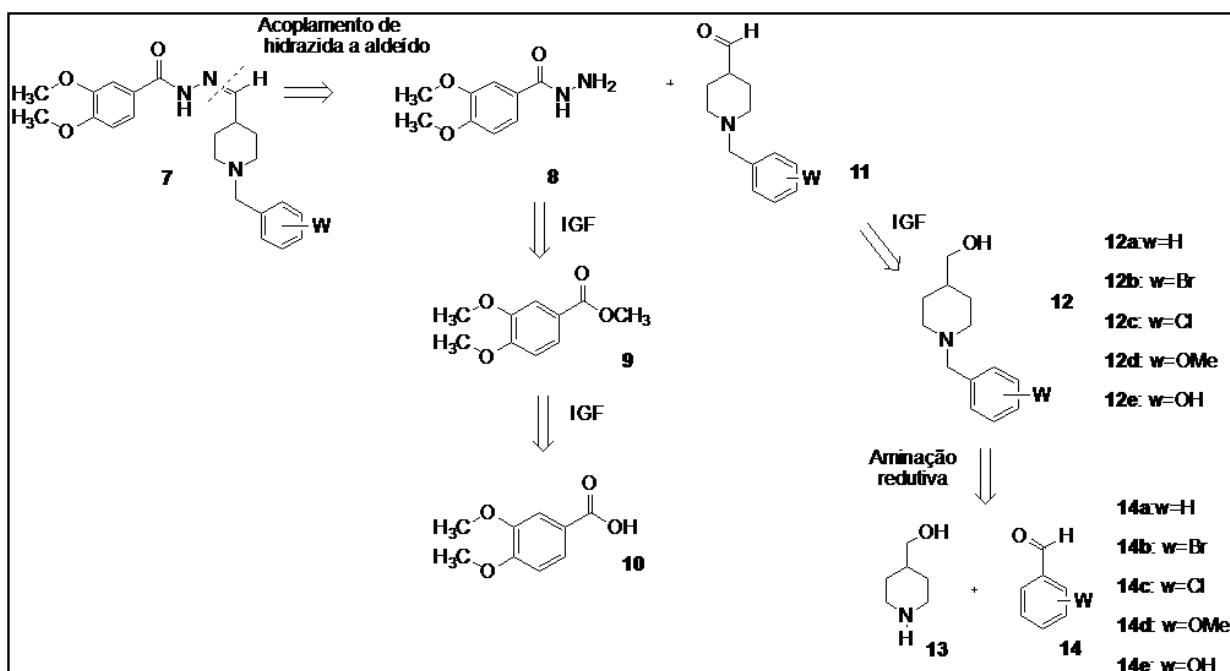


Figura 11- Análise retrossintética proposta para obtenção da série alvo **7**.

Fonte: Do autor.

Com base na análise retrossintética proposta para formação da série de alcoóis (**12a-e**) substituídos no anel benzílico, foram reagidos 4-piperidinometanol (**13**) e aldeídos funcionalizados (**14a-e**) para geração desta série de alcoóis. Inicialmente, foram submetidos à reação de aminação redutiva para a síntese do álcool (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (**12a**), os reagentes 4-piperidinometanol (**13**) e benzaldeído (**14a**). Esta reação foi realizada na presença de NaBH_3CN / AcOH utilizando como solvente metanol. A reação foi conduzida conforme descrito na literatura (MENEGATTI, CUNHA, *et al.*, 2003) durante 6 horas e acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) até que a mesma indicasse o término reacional.

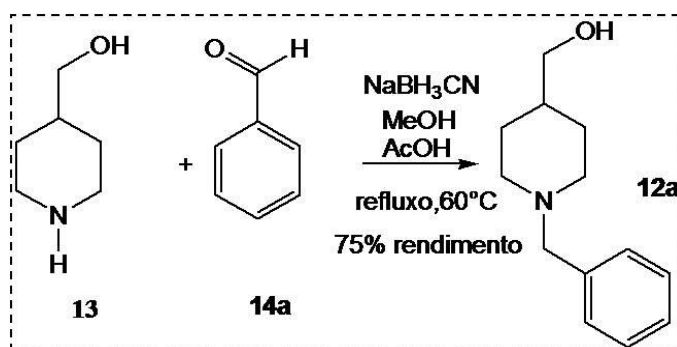


Figura 12- Reação de aminação redutiva para formação do álcool **12a**.

Fonte: Do autor.

A reação de aminação redutiva entre o álcool 4-piperidinometanol e benzaldeído forneceu um óleo que foi analisado por espectroscopia na região do infravermelho (IV). A partir do espectro na região do IV, notou-se a presença da banda de ν_s O-H em 3.402 cm^{-1} mostrando a presença de ligações de hidrogênio intermoleculares que deslocam a banda para frequências mais baixas do que as presentes em hidroxilas livres (entre 3.650 e 3.584 cm^{-1}). Referente ainda a hidroxila do álcool, observou-se a presença da banda dupla de deformação angular da ligação O-H (para alcoóis primários acoplada à banda de deformação angular simétrica de C-H em 1.450 cm^{-1}) em 1.337 e 1.340 cm^{-1} . Observaram-se ainda bandas de ν_s de carbono sp^3 em 3.061 cm^{-1} e ν_s de carbono sp^2 entre 2.920 e 2.800 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno, respectivamente. Na região de 1.960 a 1.913 cm^{-1} , notou-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos; em 1.575 cm^{-1} notou-se a

presença da banda referentes ao ν C=C de anel aromático; em 738 cm^{-1} a banda de deformação angular fora do plano (DAFP) da ligação C-H do anel aromático, bem como a ν de C-N do anel piperidínico em 1.259 cm^{-1} e ν de C-O em 1.043 cm^{-1} . Estes dados indicaram a obtenção do composto **12a**.

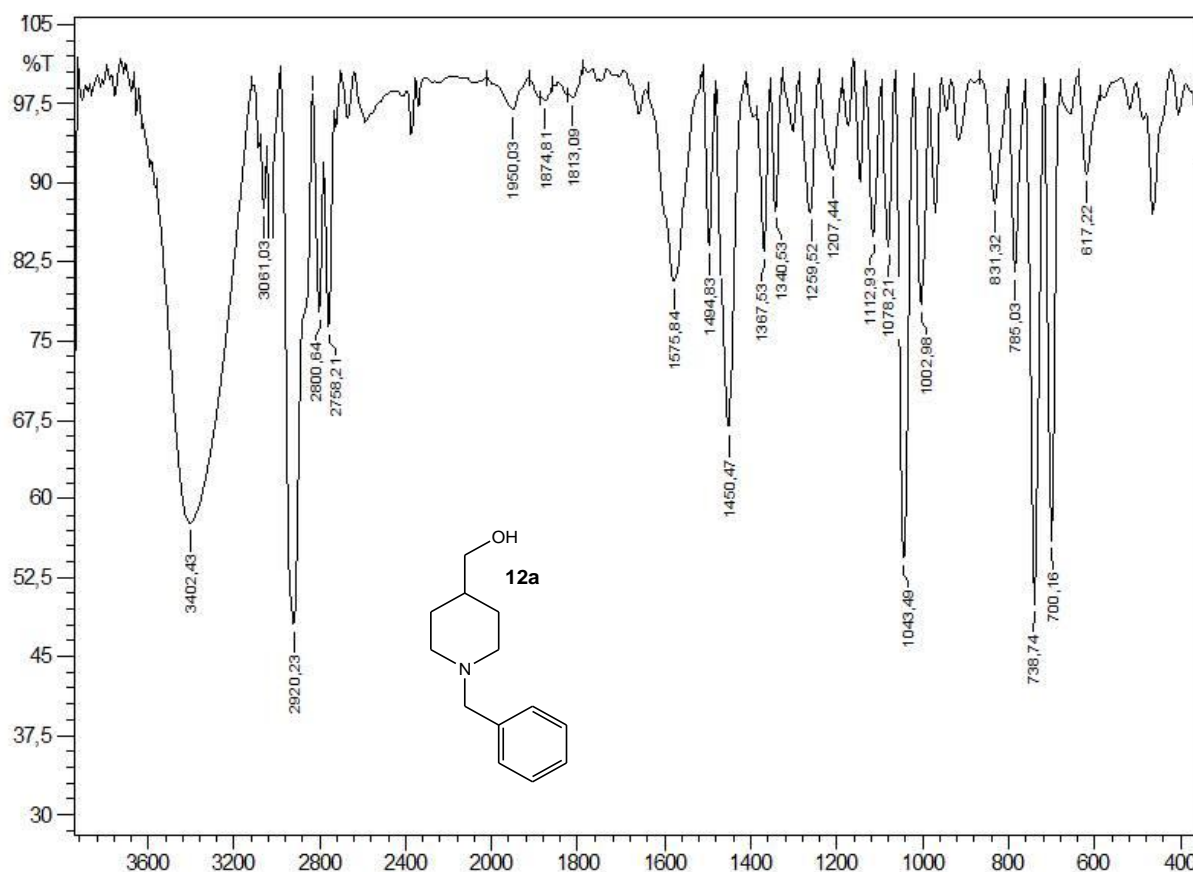


Figura 13- Espectro de absorção na região do infravermelho para o álcool **12a**, obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

Esta metodologia também se mostrou reproduzível para a geração de diversos alcoóis *N*-benzilados com substituições na posição *para* no anel aromático ($W=F, Cl, Br, OCH_3$ e OH) que iriam compor a série **7**. O primeiro álcool substituído a ser sintetizado foi o (1-(4-bromobenzil) piperidin-4-il) metanol (**12b**), partindo-se de 4-piperidinometanol (**13**) e 4-bromobenzaldeído (**14b**), sob as mesmas condições reacionais de aminação redutiva aplicadas ao álcool **12a**. Após 5 h de reação, através de cromatografia em camada delgada, observou-se o término reacional.

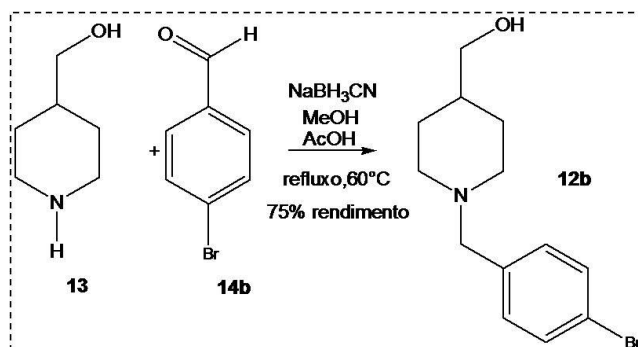


Figura 14- Reação de aminação redutiva para formação do álcool **12b**.

Fonte: Do autor.

O álcool **12b** foi analisado por IV que pode indicar a obtenção do mesmo. A presença da banda de ν_s O-H em 3.387 cm^{-1} também mostrou a presença de ligações de hidrogênio intermoleculares que deslocam a banda para frequências mais baixas do que as esperadas para hidroxilas livres (entre 3.650 e 3.584 cm^{-1}), bem como as bandas de ν_s de carbono sp^3 e ν_s de carbono sp^2 entre 2.926 e 2.814 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.791 - 1.755 cm^{-1} , notou-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos; em 750 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático; em 1.656 cm^{-1} notou-se a presença de bandas referentes ao ν C=C de anel aromático, bem como a ν de C-N de anel piperidínico em 1.263 cm^{-1} e ν de C-O em 1.041 cm^{-1} . Outras bandas ainda podem ser citadas, como as bandas entre 641 e 514 cm^{-1} , referentes à ν de C-Br. Estes dados indicaram a obtenção do composto **12b**.

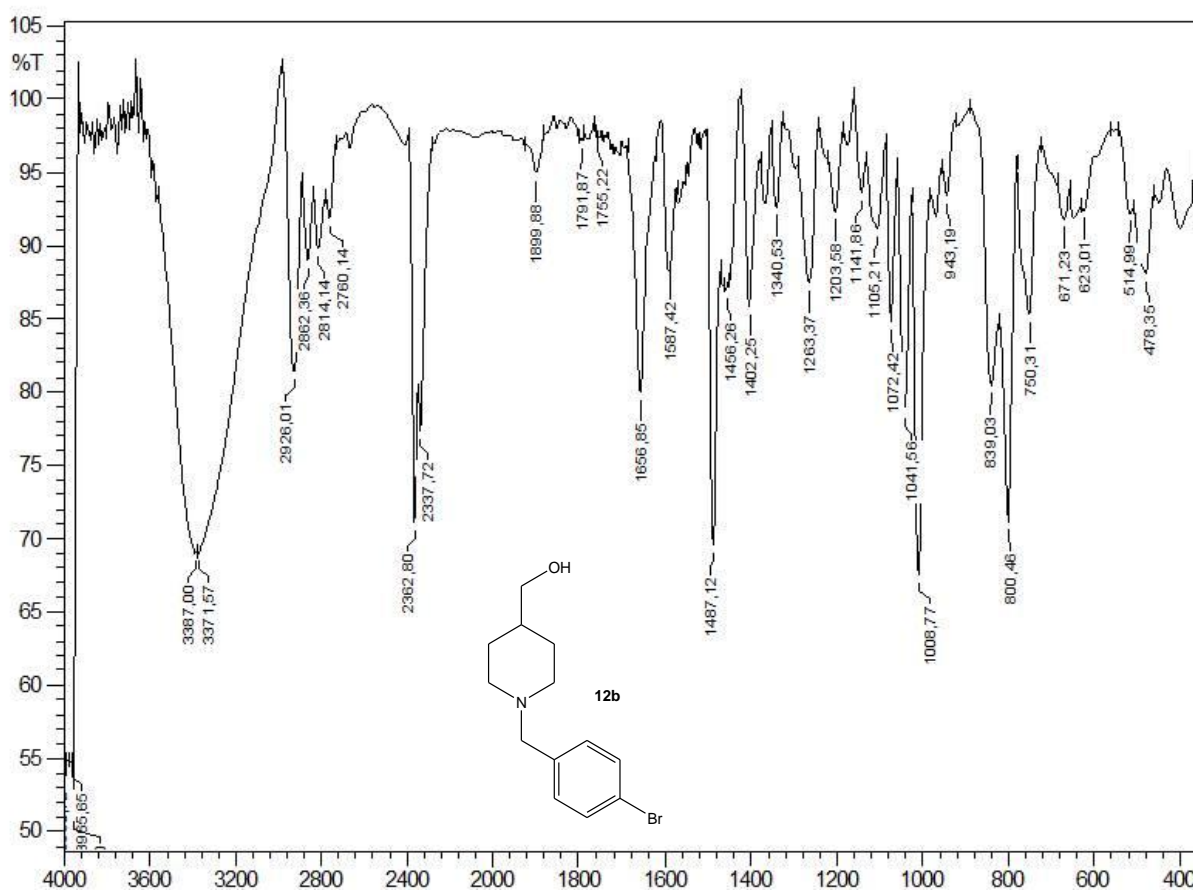


Figura 15- Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool **12b**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Para obtenção do composto (1-(4-clorobenzil) piperidin-4-il) metanol (**12c**), os reagentes 4-piperidinometanol (**13**) e 4-clorobenzaldeído (**14c**) formaram o meio reacional sob as mesmas condições anteriormente citadas. Após 5h30min de reação, houve a conversão completa do material de partida, indicado por CCD.

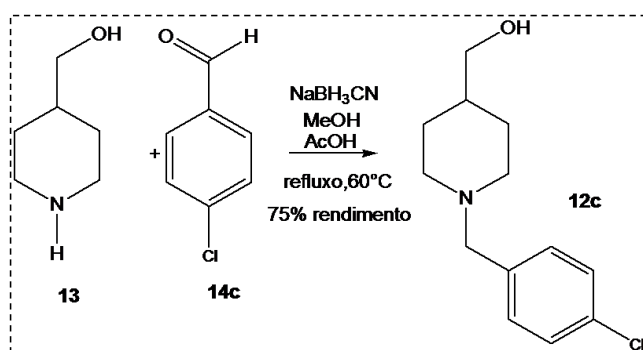


Figura 16- Reação de aminação redutiva para formação do álcool **12c**.

Fonte: Do autor.

A análise por IV do produto obtido pode indicar a obtenção do álcool **12c**, uma vez que foram observadas bandas características, como a banda de ν_s O-H em 3.360 cm^{-1} ; a presença da banda dupla de deformação angular da ligação O-H (para alcoóis primários acoplada à banda de deformação angular simétrica de C-H em 1.448 cm^{-1}) em 1.365 e 1.340 cm^{-1} ; as bandas de ν_s de carbono sp^3 e ν_s de carbono sp^2 entre 2.920 e 2.792 cm^{-1} correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Em 1.658 cm^{-1} notou-se a presença de bandas referentes ao ν C=C de anel aromático, bem como a ν de C-N do anel piperidínico em 1.259 cm^{-1} e ν de C-O em 1.041 cm^{-1} . Cabe ainda ressaltar as bandas em 968 a 615 referentes à DAFP do anel aromático e a banda do ν típico de cloro benzenos em 1089 cm^{-1} . Estes dados indicaram a obtenção do composto **12c**.

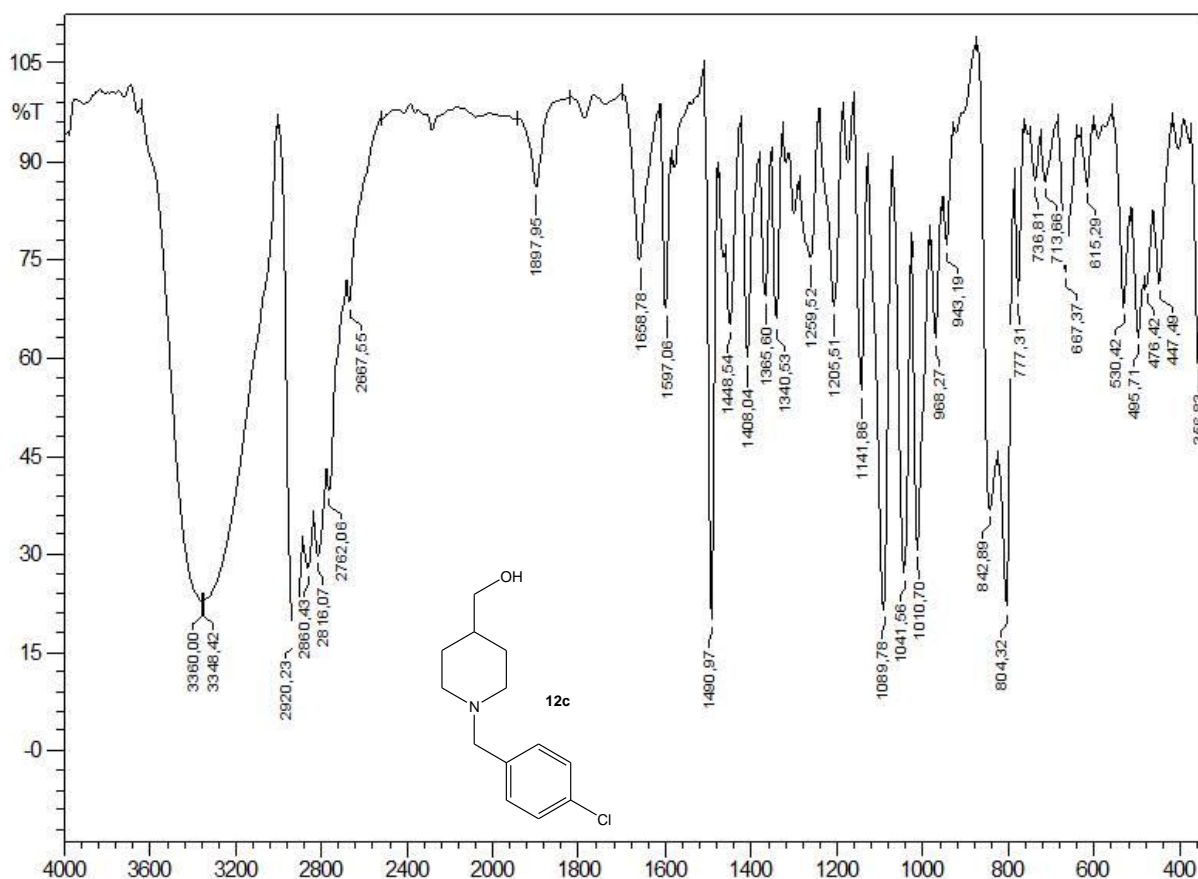


Figura 17- Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool **12c**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

A obtenção do álcool (1-(4-metóxi-benzil) piperidin-4-il) metanol (**12d**) foi semelhante aos alcoóis sintetizados anteriormente. Partindo-se de 4-

piperidinometanol (**13**) e 4-metóxi-benzaldeído (**14d**), sob NaBH_3CN / AcOH na presença do solvente metanol a reação de aminação redutiva foi conduzida durante 5 h até que por CCD fosse observado o término da reação.

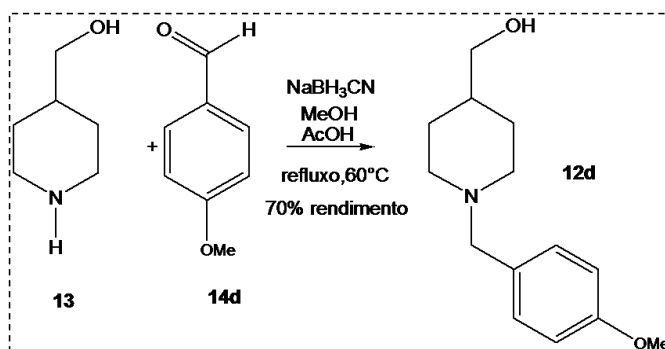


Figura 18- Reação de aminação redutiva para formação do álcool **12d**.

Fonte: Do autor.

O espectro de absorção na região do infravermelho indicou a formação do produto através de bandas como para o ν_s O-H em 3.385 cm^{-1} bem como as bandas de ν_s de carbono sp^3 e ν_s de carbono sp^2 entre 2.916 e 2.762 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.610 cm^{-1} notou-se a presença de bandas referentes ao ν C=C de anel aromático; em 1.105 cm^{-1} a banda de ν C-O de éteres, bem como a ν de C-N do anel piridínico em 1.244 cm^{-1} . Estes dados indicaram a obtenção do composto **12d**.

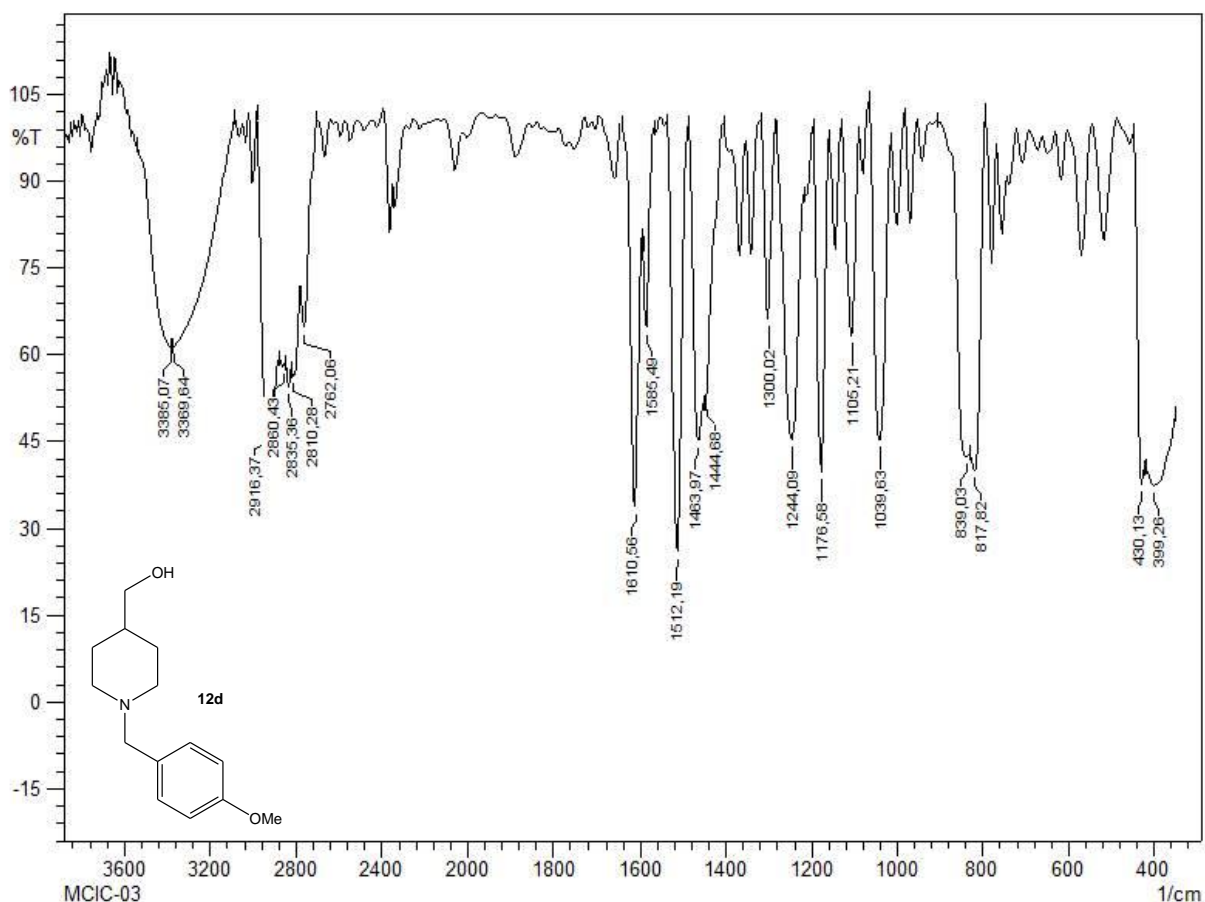


Figura 19- Espectro de absorção na região do infravermelho para o álcool **12d**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Como último álcool a ser sintetizado desta série **12**, foi conduzida a reação entre 4-piperidinometanol (**13**) e 4-hidróxibenzaldeído (**14e**), nas mesmas condições reacionais anteriormente citadas para formação de 4-((4-hidróximetil) piperidin-1-il)metil)fenol. Após 5 h, deu-se o término reacional. Porém, diferentemente dos demais alcoóis isolados do meio reacional através do processo de extração líquido-líquido (sendo estes presentes na fase orgânica), o álcool **12e** permaneceu em fase aquosa onde iniciou um processo de cristalização. Durante este processo foi obtido um monocristal de dimensões 0,63 x 0,15 x 0,06 mm (pelo processo de lenta evaporação do solvente) que era inédito no banco de dados da Cambridge (CSD) e pode ter sua estrutura determinada por difração de raios X, que foi publicada na Revista Acta Crystallographica Section E (SIMÕES et al., 2012).

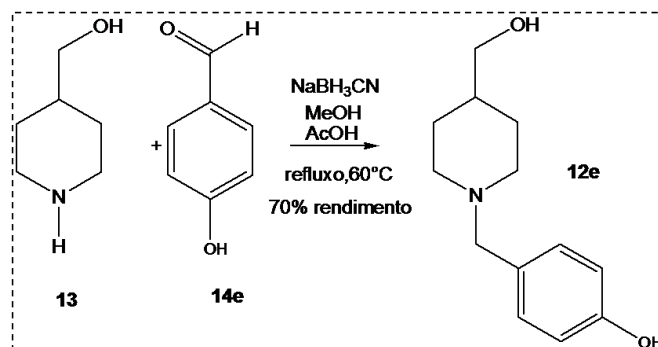


Figura 20- Reação de aminação redutiva para formação do álcool **12e**.

Fonte: Do autor.

O espectro na região do IV para o composto **12e** revelou a presença da banda de ν_s O-H em 3.149 cm^{-1} , valor bem abaixo do esperado para a deformação axial de O-H livre em 3.650 cm^{-1} devido à presença das ligações de hidrogênio intermoleculares que posteriormente foram comprovadas por Difração de Raios X. Também se observou as bandas de ν_s de carbono sp^3 e ν_s de carbono sp^2 entre 2.956 e 2.827 cm^{-1} correspondentes aos grupamentos metila e metileno; as bandas referentes às harmônicas do anel aromático em 1.919 a 1.872 cm^{-1} ; a banda em 1.612 cm^{-1} referentes ao ν C=C de anel aromático; em 1.107 cm^{-1} a banda de ν C-O e também a banda de ν de C-N do anel piridínico em 1.261 cm^{-1} . Estes dados indicaram a obtenção do composto **12e**.

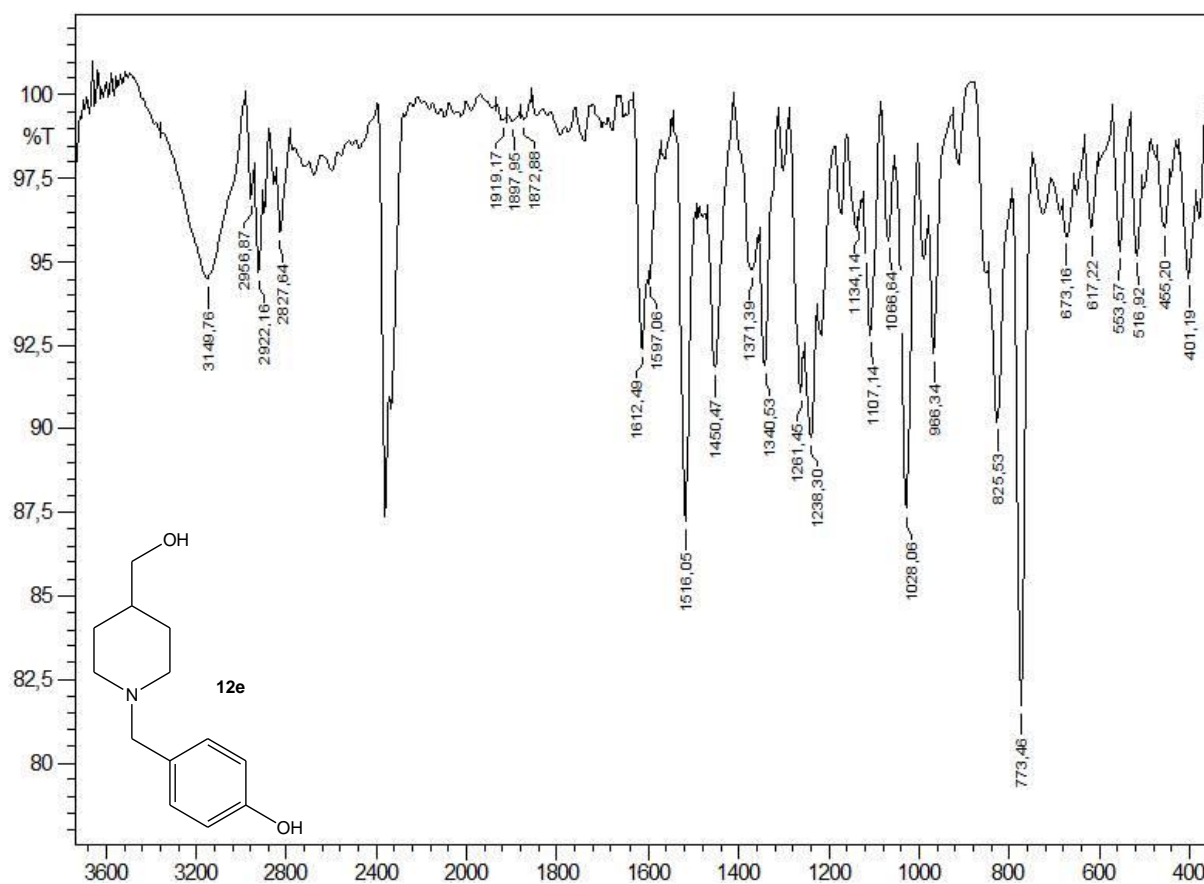


Figura 21- Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool **12e**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

A representação Ortep do composto 4-((4-(hidróximetil) piperidin-1-il) metil) fenol (**12 e**) é mostrada na Figura 22, e os principais dados cristalográficos obtidos com a resolução e refinamento de sua estrutura são apresentados na Tabela 2.

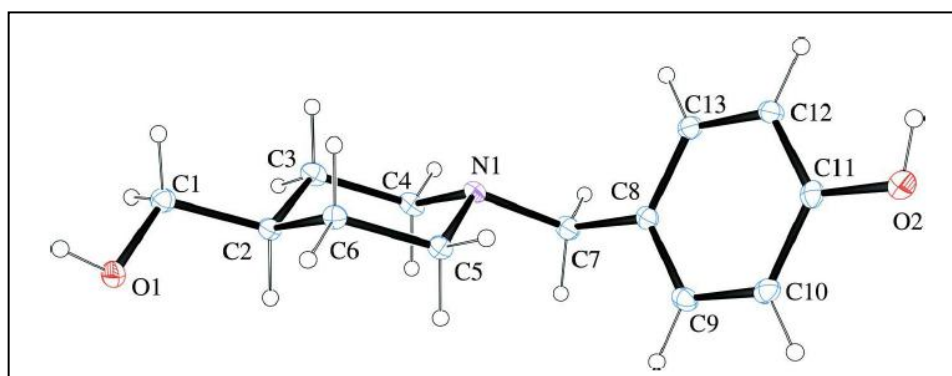


Figura 22- Representação ORTEP para 4-((4-(hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol.
Fonte: SIMÕES et.al.(2012, p.o2275).

Tabela 2- Principais dados cristalográficos de 4-((4-hidróximetil) piperidin-1-il) metil) fenol

| | | |
|-----------------------|---------------------------|-----------------|
| Sistema Cristalino | Monoclinic | |
| Grupo Espacial | Cc | |
| Parâmetros de cela | a = 6.043(5) Å | a= 90.000(5)°. |
| | b = 17.227(5) Å | b= 94.663(5)°. |
| | c = 11.301(5) Å | g = 90.000(5)°. |
| Volume | 1172.6(12) Å ³ | |
| Z | 4 | |
| Densidade | 1.254 Mg/m ³ | |
| Fator de discordância | R1 = 0.0393, wR2 = 0.0825 | |

Fonte: SIMÕES et.al.(2012, p.o2275).

Observa-se pelos dados cristalográficos apresentados que o composto cristalino apresenta empacotamento não centrossimétrico (Figura 23) e que as ligações intermoleculares governam o tipo de grupo espacial no âmbito de estabilizarem o empacotamento cristalino. Pode-se observar que o empacotamento cristalino para esse composto é governado por interações fracas de van de Walls e ligações de hidrogênio (Figura 24).

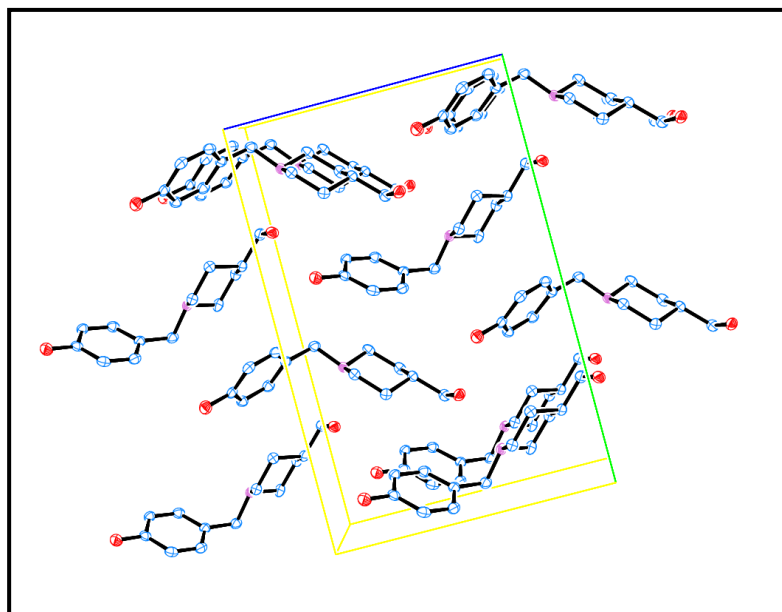


Figura 23- Representação do empacotamento não centrossimétrico para 4-(4-(hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol (**12e**).
Fonte: SIMÕES et.al.(2012, p.o2275).

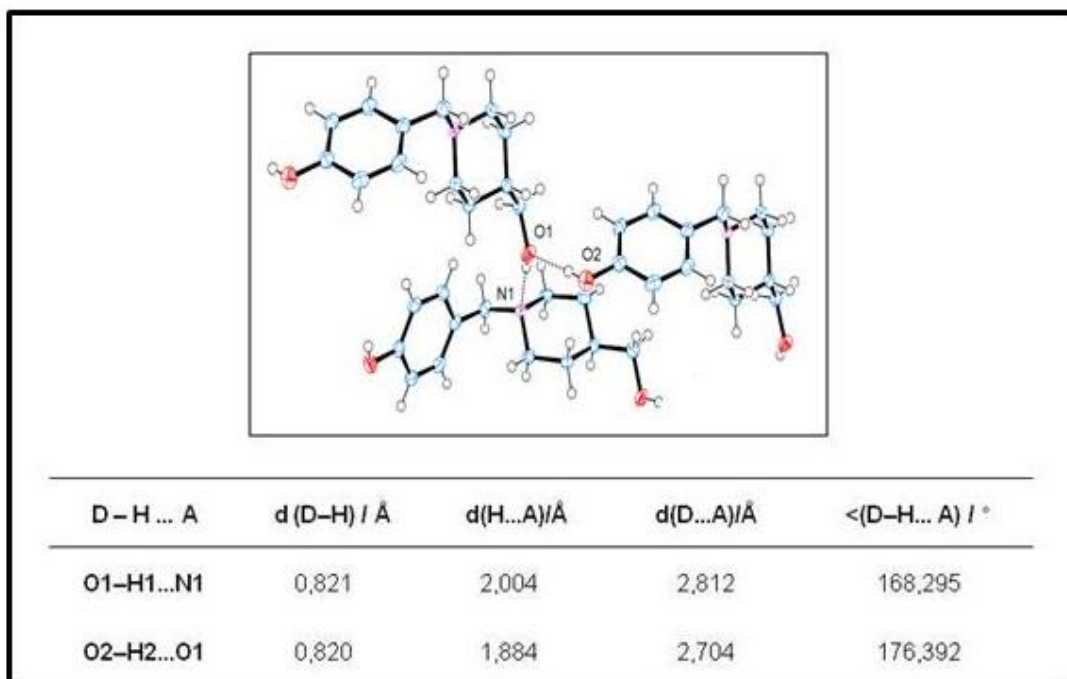


Figura 24- Representação das ligações de hidrogênio para 4-((4-hidróximetil)piperidin-1-il)metil)fenol (**12e**).
Fonte: SIMÕES et.al.(2012, p.o2275).

Em seguida para obtenção do aldeído **11** foram realizadas reações de oxidação com diversos sistemas oxidantes descritos na tabela 3, aplicados primeiramente ao álcool **12a**. Porém, observou-se através dos espectros de

infravermelho das substâncias sintetizadas que a interconversão do grupo funcional álcool para aldeído nestas moléculas não era possível, uma vez que muito ou todo o álcool original parecia manter-se intacto apresentando apenas poucas modificações no espectro de infravermelho. Além disso, a extração do produto reacional formado era bastante difícil, possivelmente, devido à influência do átomo de N presente na estrutura do heterociclo, que poderia estar agindo como base de Lewis e complexando aos reagentes metálicos muitas vezes utilizados, sendo necessária a busca de novas rotas sintéticas para obtenção deste aldeído. As metodologias que foram empregadas estão apresentadas na Tabela 3 e as descrições sobre a síntese no ANEXO.

Tabela 3-Tentativas de oxidação aplicadas ao álcool (1-benzilpiperidin-4il) metanol (**12a**).

| Reação | Agente Oxidante | Condições Reacionais |
|--------|---|--|
| 1 | NaNO ₂ /Ac ₂ O | t.a., 16 h |
| 2 | DCC,DMSO, CF ₃ COOH | 20°C, N ₂ , 7 h |
| 3 | V ₂ O ₅ /O ₂ /K ₂ CO ₃ | tolueno , 100°C, O ₂ , 48 h |
| 4 | <i>N</i> -oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO) | tolueno,NaHCO ₃ ,I ₂ , 20°C, 7 h |
| 5 | Clorocromato de piridínio (PCC) | DMSO, t.a., 8 h |
| 6 | Clorocromato de piridínio (PCC) | CH ₂ Cl ₂ , t.a., 8 h |
| 7 | Tetrapropilamônio perrutenato (TPAP) | CH ₂ Cl ₂ , NMO, t.a. 3 h |
| 8 | Dess Martin periodinano (DMP) | CH ₂ Cl ₂ , 0°C, N ₂ , 1 h |
| 9 | COCl ₂ ,DMSO | CH ₂ Cl ₂ , -70 °C, Et ₃ N, 2 h |

Fonte: Do autor.

Na primeira tentativa de oxidação aplicada ao álcool **12a**, foi utilizado o sistema oxidante NaNO₂/Ac₂O, sem a presença de solvente ,segundo metodologia descrita na literatura (BANDGAR; SADAVARTE; UPPALLA, 2000). A reação foi realizada a temperatura ambiente por 16 h.

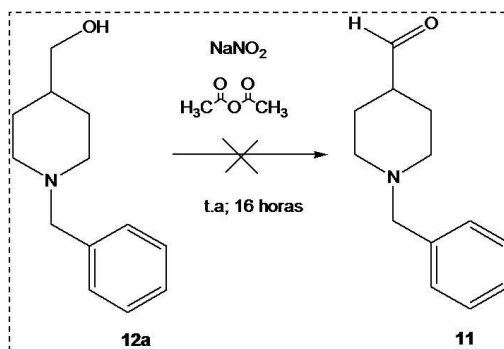


Figura 25-Tentativa de oxidação do álcool **12a** com NaNO₂ e Ac₂O.
Fonte: Do autor.

Apesar da cromatografia em camada delgada (CCD) ainda indicar a presença do álcool e assim a não ocorrência da reação, buscando-se afirmar esta constatação, foi obtido o espectro no IV para o produto bruto desta reação. A análise do espectro nos mostra a presença da banda de ν_s O-H em 3.427 cm^{-1} ; observaram-se ainda bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre 2.922 e 2.854 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.874 a 1.830 cm^{-1} , notaram-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos; em 1.654 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 771 cm^{-1} a banda de DAFFP da ligação C-H do anel aromático, bem como a ν de C-N do anel piperidínico em 1.220 cm^{-1} . Estes dados indicaram a não ocorrência da reação, uma vez que o produto final ainda era semelhante ao material de partida.

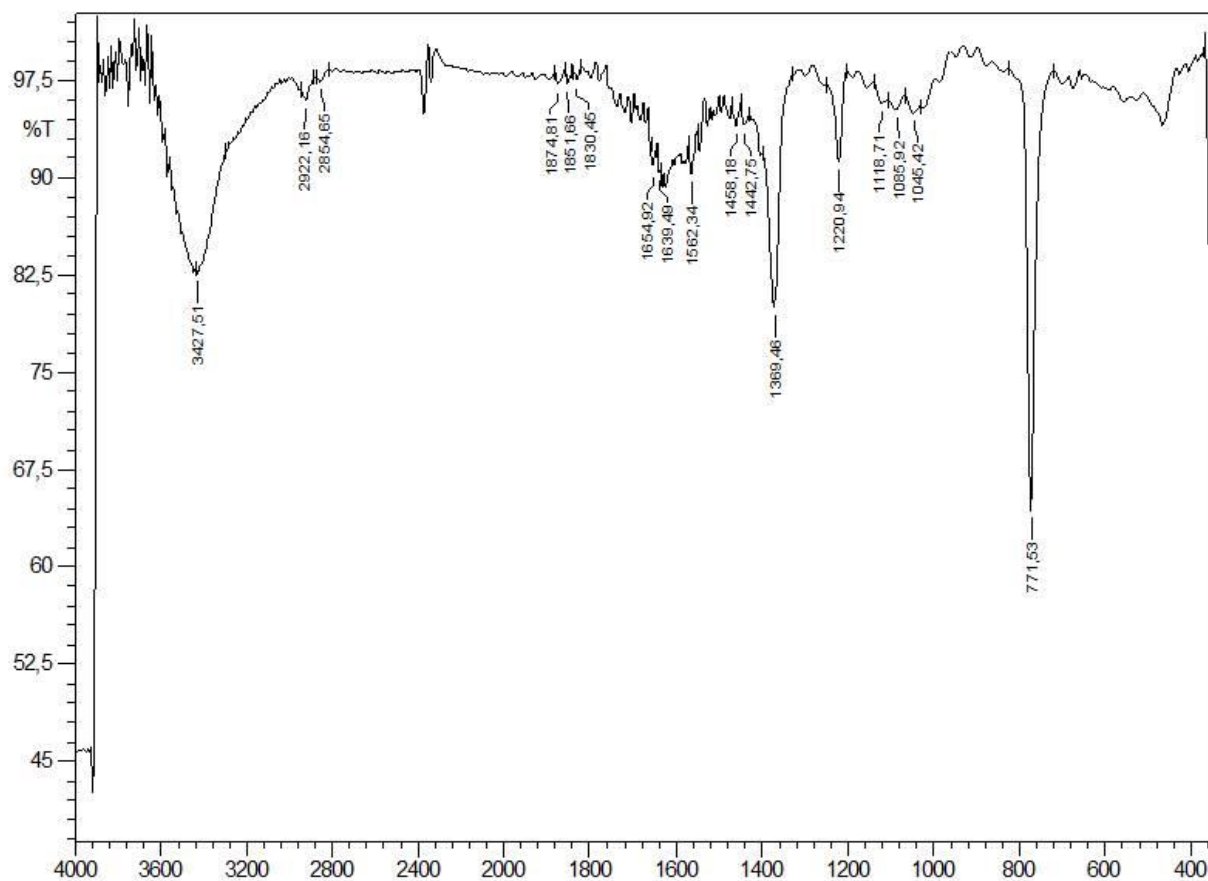


Figura 26- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com $\text{NaNO}_2/\text{AC}_2\text{O}$, obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

A segunda metodologia empregada para a tentativa de oxidação do álcool **12a** foi a oxidação conhecida como oxidação de Pfitzner-Moffatt, realizada com os reagentes DCC (diciclohexilcarbodiimida), DMSO (dimetilsulfóxido), ácido trifluoracético em atmosfera de N_2 . A reação foi conduzida a temperatura ambiente durante 7h, segundo metodologia descrita na literatura (PFITZER; MOFFATT, 1965). Apesar de amplamente conhecida, a oxidação de Pfitzner-Moffatt também não se mostrou eficiente para este álcool como veremos adiante.

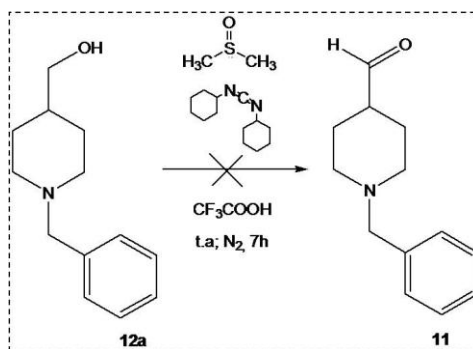


Figura 27- Tentativa de oxidação do álcool **12 a** pelo método descrito por Pfitzner-Moffatt.

Fonte: Do autor.

O mecanismo proposto para esta reação de Pfitzner-Moffatt com o álcool **12a** (caso a reação houvesse ocorrido) sugere a formação de DMSO como um intermediário instável que é susceptível ao ataque no átomo de enxofre pela molécula alcoólica para produzir o sal alquilsulfônio, que em seguida sofre decomposição para gerar a espécie carbonílica (KURTI; CZAKÓ, 2005).

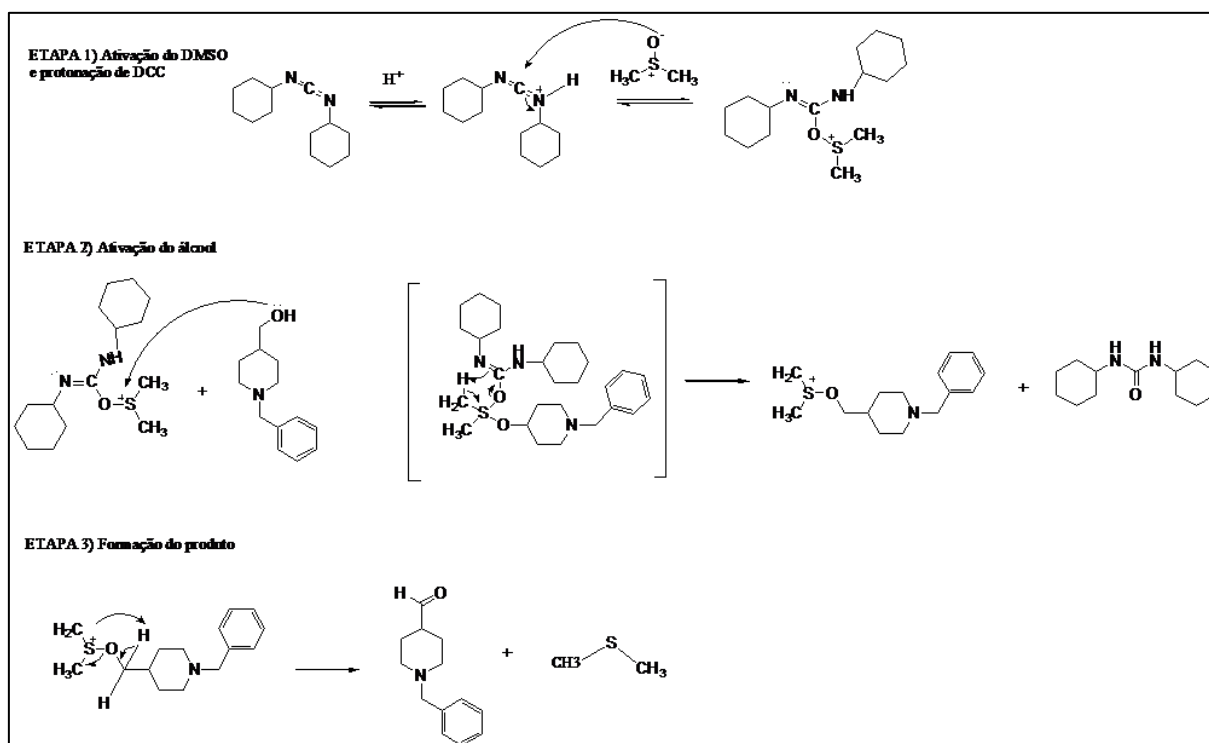


Figura 28- Proposta mecanística para a oxidação do álcool **12a** através da metodologia descrita por Pfitzner-Moffatt.

Fonte: Adaptado de KURTI; CZAKÓ (2005, p.346).

Porém, o espectro de infravermelho para o produto desta reação, mostrou ainda a presença da banda de ν_s O-H em 3.464 cm^{-1} ; observaram-se também bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre 2.929 e 2.854 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.851 a 1.799 cm^{-1} , notaram-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos; em 1.662 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 767 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático, bem como a ν de C-N do anel piperidínico em 1.238 cm^{-1} . Estes dados indicaram a não ocorrência da reação.

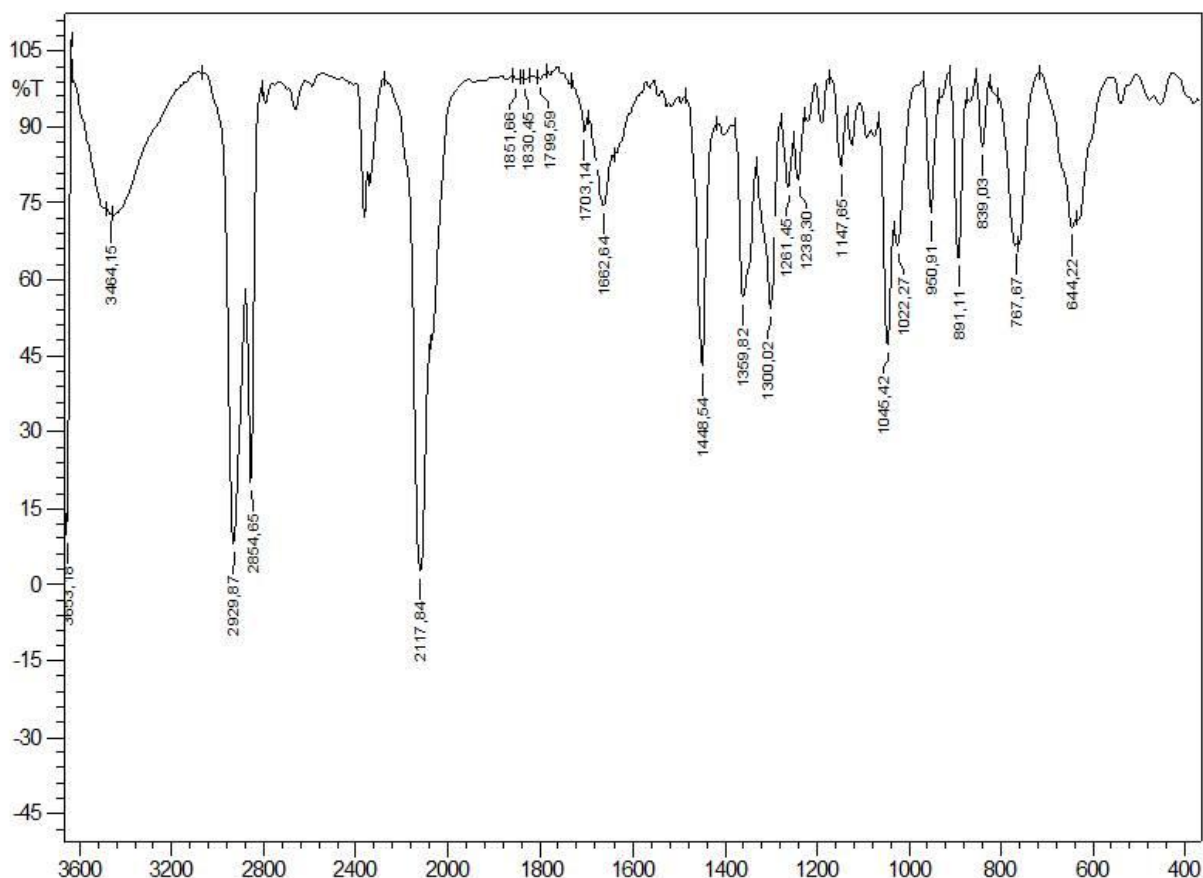


Figura 29- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com DMSO/DCC/N₂, obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

A terceira metodologia empregada na tentativa de obtenção do aldeído **11** foi a descrita por Velusamy (VELUSAMY; PUNNIYAMURTH, 2004), utilizando óxido de vanádio (V₂O₅) em atmosfera de oxigênio na presença de tolueno e K₂CO₃, a 100°C

durante 48 h. A reação foi acompanhada por CCD, até que a mesma indicasse o término da reação.

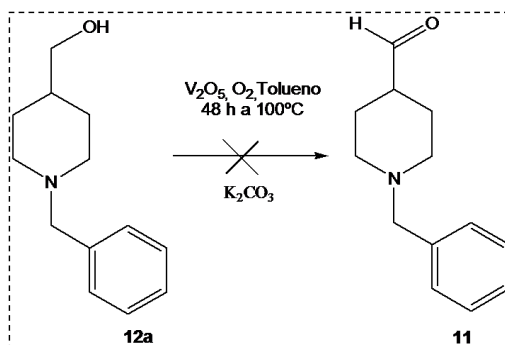


Figura 30- Tentativa de oxidação do álcool 12a com $\text{V}_2\text{O}_5/\text{O}_2/\text{tolueno}/\text{K}_2\text{CO}_3$.
Fonte: Do autor.

O mecanismo desta reação para oxidação do álcool **12a** descreve a formação de um éster a partir do álcool primário na ausência de K_2CO_3 levando a formação de um hemiacetal devido a natureza ácida ($\text{pH}=6$) desta reação. Na presença de K_2CO_3 o pH é aumentado a nove, impedindo a formação do hemiacetal e levando a formação do composto carbonílico (VELUSAMY; PUNNIYAMURTH, 2004).

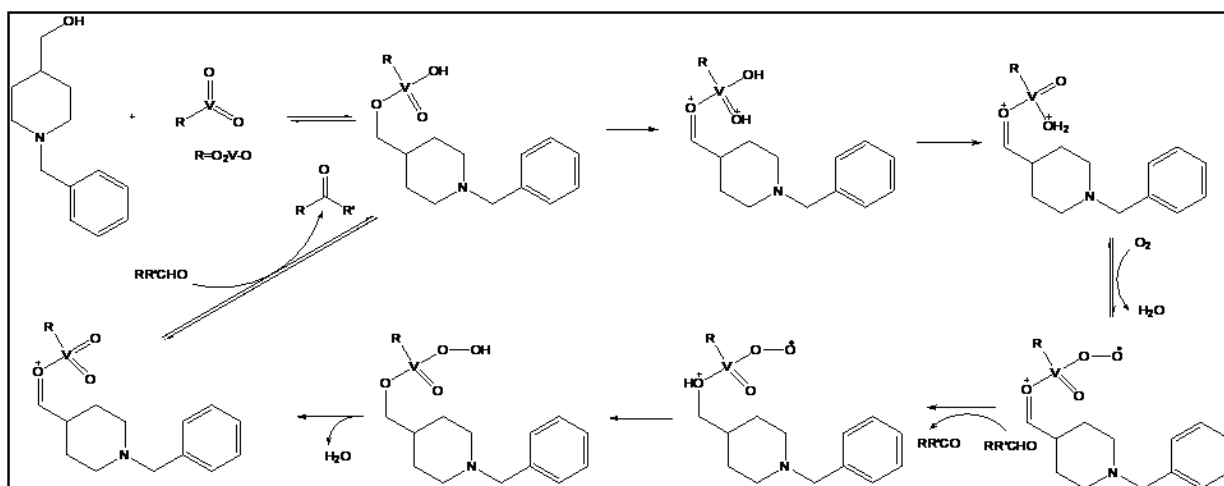


Figura 31- Proposta mecanística para a oxidação do álcool **12a** através da reação com o sistema oxidante $\text{V}_2\text{O}_5/\text{O}_2/\text{tolueno}/\text{K}_2\text{CO}_3$.

Fonte: Adaptado de VELUSAMY; PUNNIYAMURTH (2004, p.219)

O espectro no IV para o produto reacional ainda revelou a presença do álcool de partida através da banda de ν_s O-H em 3.404 cm^{-1} ; observou-se ainda a

presença bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre 3059 e 2.935 cm^{-1} correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.951 a 1.811 cm^{-1} , notou-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação características de anéis aromáticos; em 1.660 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 740 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático, bem como a ν de C-N do anel piperidínico em 1.261 cm^{-1} . Estes dados também indicaram a não ocorrência desta reação de oxidação.

Utilizando o agente oxidante PCC (cloro cromato de piridínio) é que foram propostas a quarta e quinta tentativas de oxidação para o álcool **12a**, sendo modificado somente o solvente reacional, sendo este DMSO e CH_2Cl_2 respectivamente. A reação foi conduzida a temperatura ambiente durante 8h. A mudança do solvente tinha como objetivo estudar a influência de solventes de diferentes polaridades no meio reacional, uma vez que existem diversos relatos na literatura de diversos solventes empregados nesta reação (FERNANDES; KUMAR, 2003); (COREY; SUGGS, 1975), já que esta é uma metodologia amplamente estudada para a oxidação de alcoóis à compostos carbonílicos (HUNSEN, 2005). Em ambos os casos, as metodologias não foram eficientes para a oxidação, como veremos adiante.

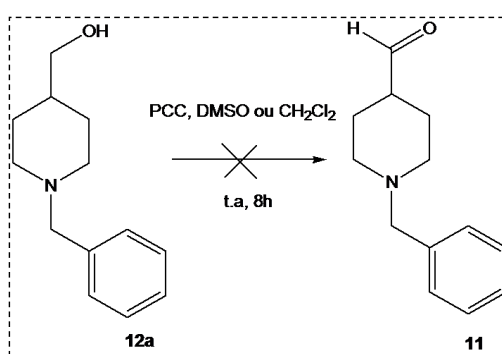


Figura 32- Tentativa de oxidação do álcool **12a** com PCC em DMSO ou CH_2Cl_2 .

Fonte: Do autor.

O mecanismo desta reação sugere uma eliminação do tipo E2 com formação de um éster crômico intermediário (BANERJI, 1978) conforme mostrado na Figura 33.

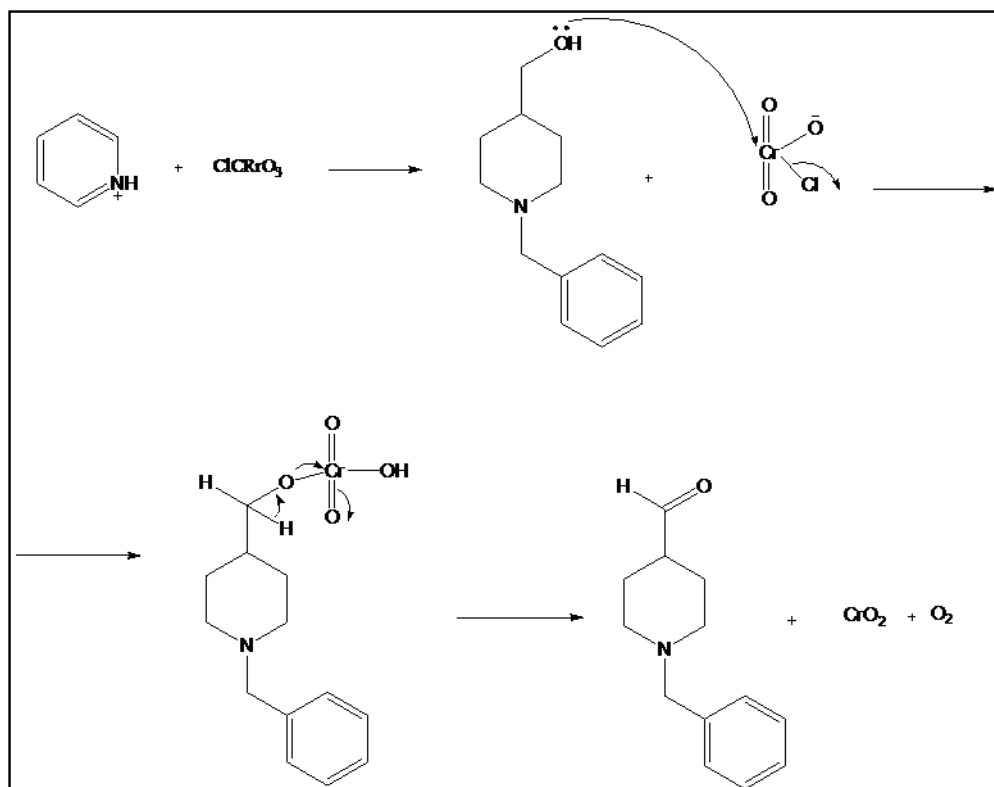


Figura 33- Proposta mecanística para oxidação do álcool **12a** com o agente oxidante PCC.

Fonte: Adaptado de BANERJI (1978, p.641).

A análise dos espectros de infravermelho das reações com o agente oxidante PCC em DMSO e CH_2Cl_2 mostrou, assim como nas reações anteriormente citadas, não ser eficiente para obtenção do composto carbonílico uma vez que em ambos os espectros notou-se a presença de bandas (respectivamente para reação de PCC em DMSO e CH_2Cl_2): ν_{s} O-H em 3.435 e 3.415 cm^{-1} e também bandas de ν_{s} de carbono sp^3 e sp^2 entre $2.997 - 2.914 \text{ cm}^{-1}$ e $2.924 - 2.852 \text{ cm}^{-1}$. Em 1.647 e 1.697 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 769 e 702 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático. O único diferencial presente nestes espectros é a presença da banda em 1.730 cm^{-1} observada no espectro da reação de PCC em diclorometano, que pode indicar um começo do processo de oxidação para este álcool já que esta banda poderia estar associada ao ν_{s} C=O de aldeído.

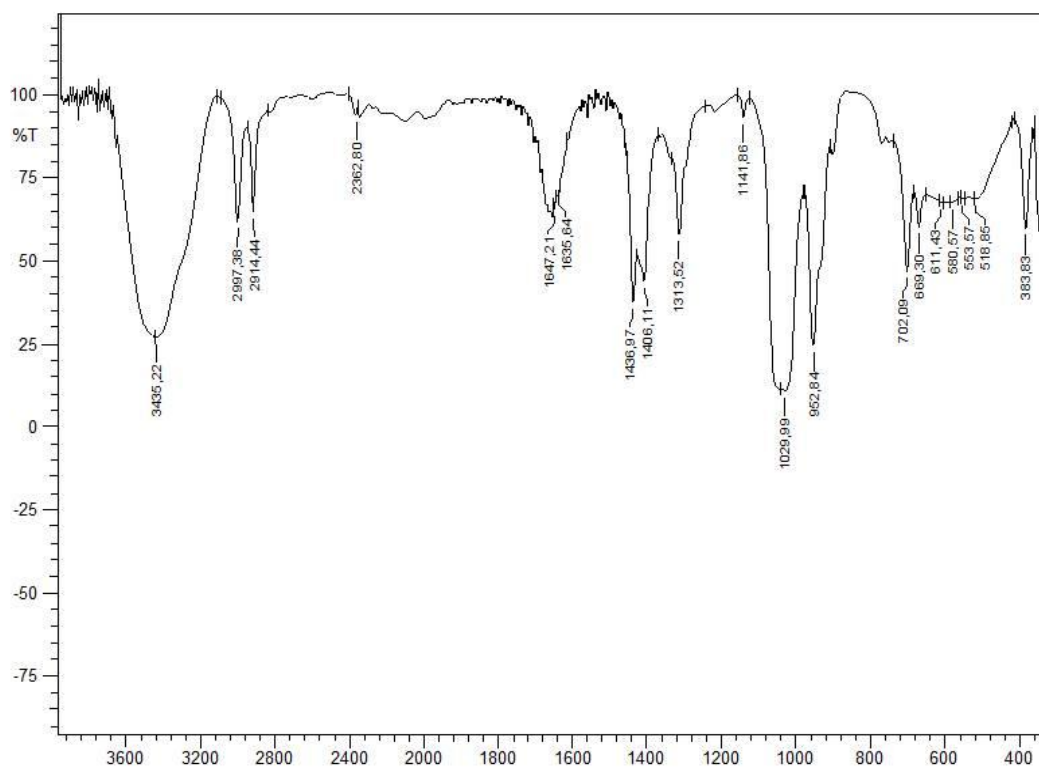


Figura 34- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com PCC e DMSO obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

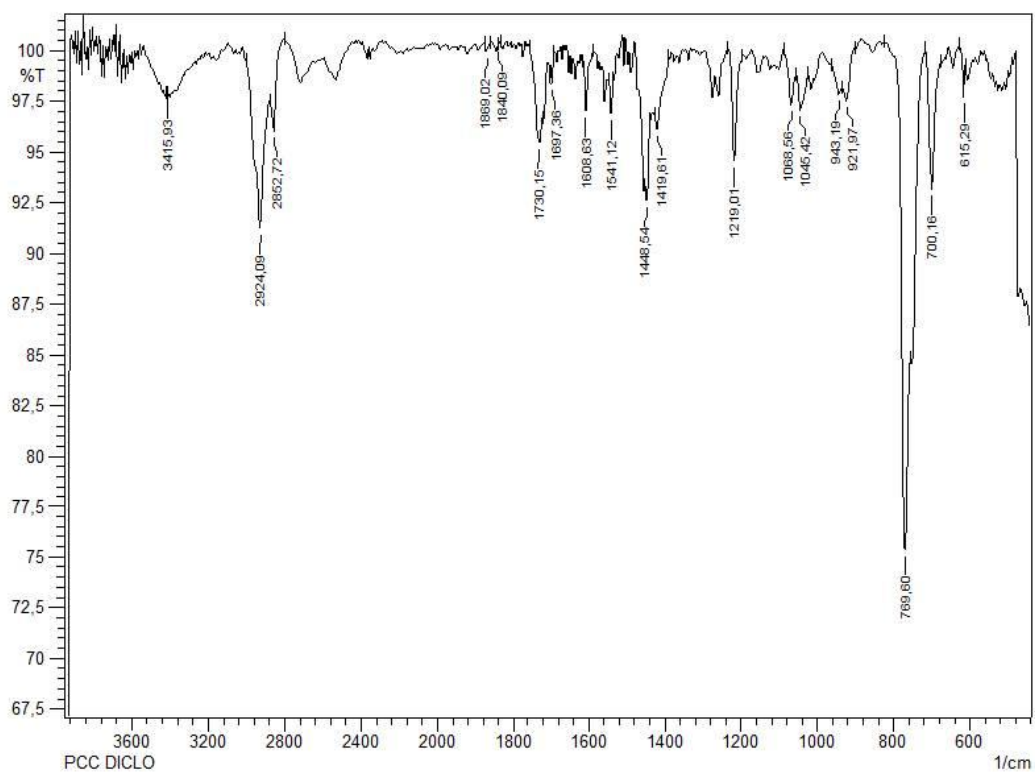


Figura 35- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com PCC e CH_2Cl_2 obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

A oxidação com TPAP (tetrapropilamônio perrutenato) / NMO (*N*-óxido de metilmorfolina) foi também aplicada ao álcool **12a** na tentativa da obtenção do aldeído **11**. Há diversos relatos na literatura para o uso de TPAP/NMO em reações de oxidação de alcoóis, sendo utilizada neste trabalho a metodologia descrita por Maccoss e Balskus, e também por Langer (MACCOSS; BALSUS; LEY, 2003); (LANGER, 2000). A reação ocorreu a partir do álcool **12a** com TPAP, NMO, em CH₂Cl₂ em temperatura ambiente durante 5h.

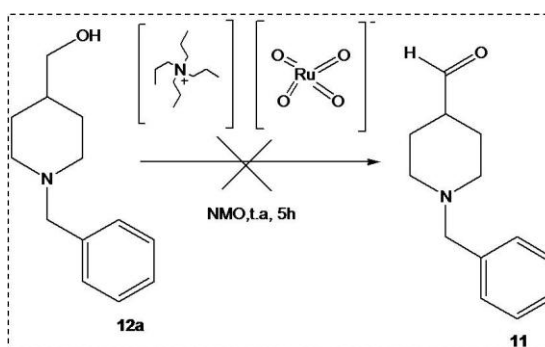


Figura 36- Tentativa de oxidação do álcool **12a** com TPAP/NMO.

Fonte: Do autor.

O mecanismo da reação de TPAP com NMO ainda não é completamente elucidado, mas sabe-se que o grupamento perrutenato é o responsável pela oxidação através da formação de um éster perrutenato, sendo posteriormente regenerado através da reação com NMO, podendo assim começar novamente o processo de oxidação (ROWLANDS, 2002). O mecanismo aceito para oxidação de alcoóis por TPAP/NMO está mostrado na Figura 37, utilizando o álcool **12a** como exemplo.

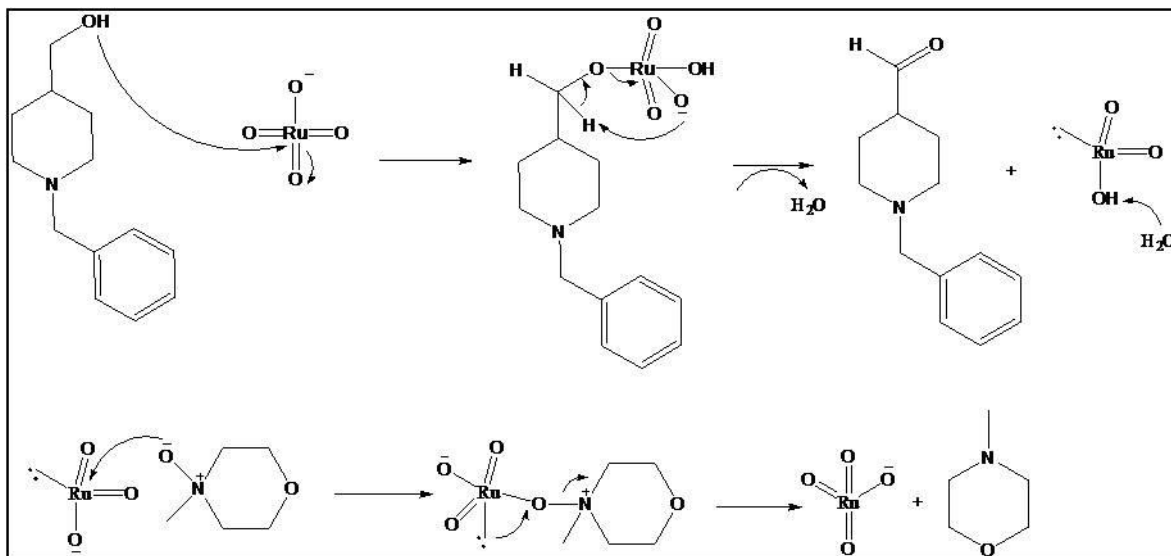


Figura 37- Proposta mecanística para a possível oxidação do álcool **12a** com TPAP/NMO.
Fonte: Adaptado de ROWLANDS (2002, p.10).

A análise do espectro no IV da reação de TPAP com NMO para a oxidação de **12a** também permitiu concluir que a reação não ocorreu. Notou-se a presença da banda de ν_s O-H em 3.406 cm^{-1} e também bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre $2.920\text{-}2.769\text{ cm}^{-1}$ correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Em 1.654 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 771 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático. Estes dados também indicaram a não ocorrência desta reação uma vez que o espectro de IV do produto final era muito semelhante ao obtido para o álcool de partida.

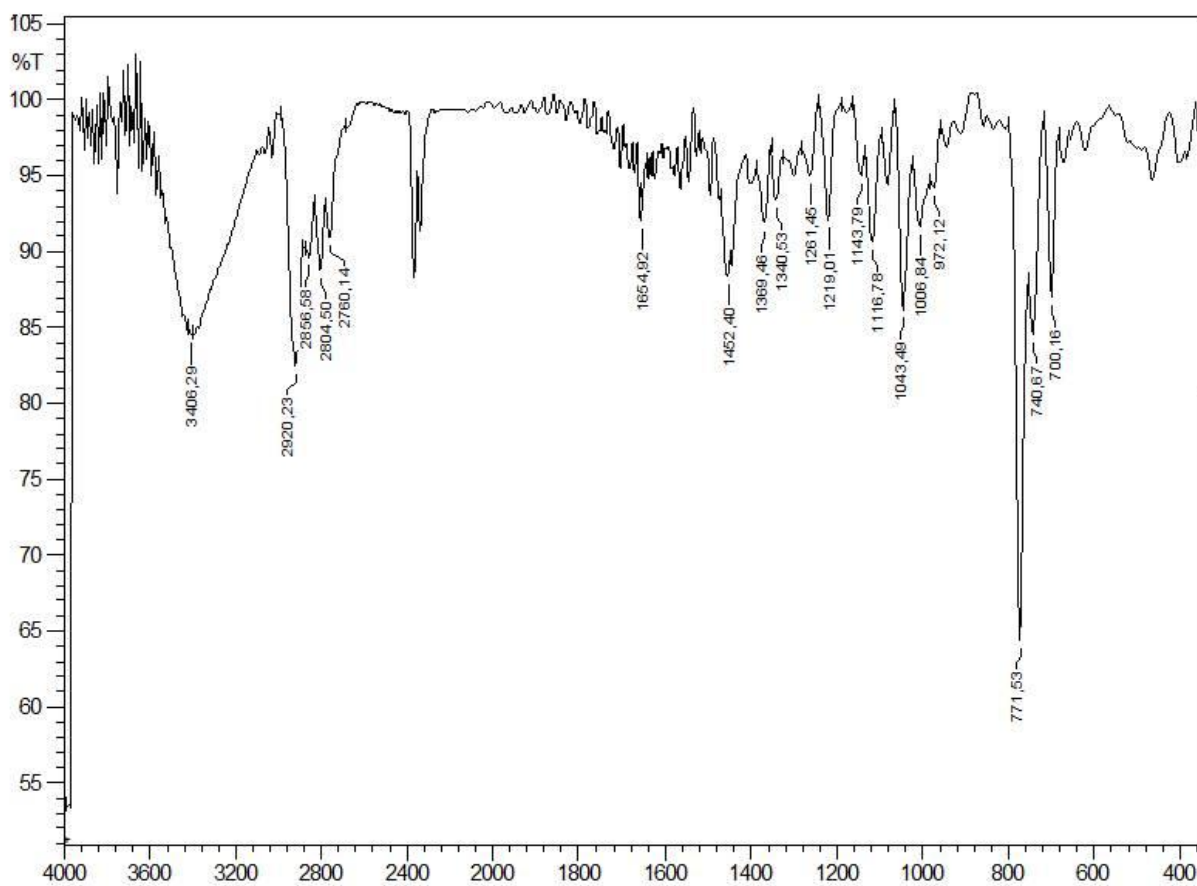


Figura 38- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com **TPAP/NMO obtido em KBr**.

Fonte: Do autor.

Outra metodologia empregada na tentativa de oxidação do álcool **12a** foi o método descrito por Dess e Martin (DESS; MARTIN, 1991). A reação foi realizada com o álcool **12a** utilizando o reagente Dess Martin Periodinano (DMP) em diclorometano como solvente, a uma temperatura de 0°C em atmosfera de N₂ durante 1 hora.

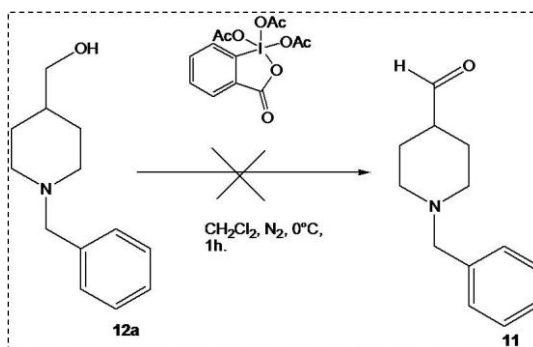


Figura 39- Tentativa de oxidação do álcool **12a** com DMP.

Fonte: Do autor.

O mecanismo da reação proposto, caso a reação houvesse ocorrido, para o substrato alcoólico com DMP está presente na Figura 37.

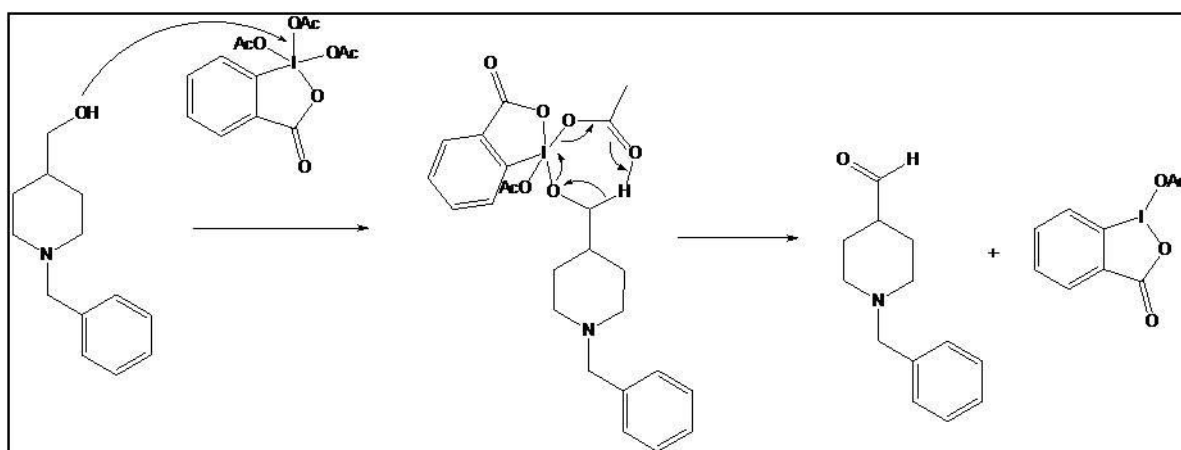


Figura 40- Proposta mecanística para a possível oxidação do álcool **12a** com DMP.
Fonte: Adaptado de ROWLANDS (2002, p.8)

Observando o espectro de absorção na região do infravermelho para a reação com DMP observou-se a presença da ν_s O-H em 3.441 cm^{-1} e também bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre 2.924 e 2.760 cm^{-1} correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Em 1.654 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao ν C=C de anel aromático; em 738 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático. Estes dados indicaram que a reação também não ocorreu.

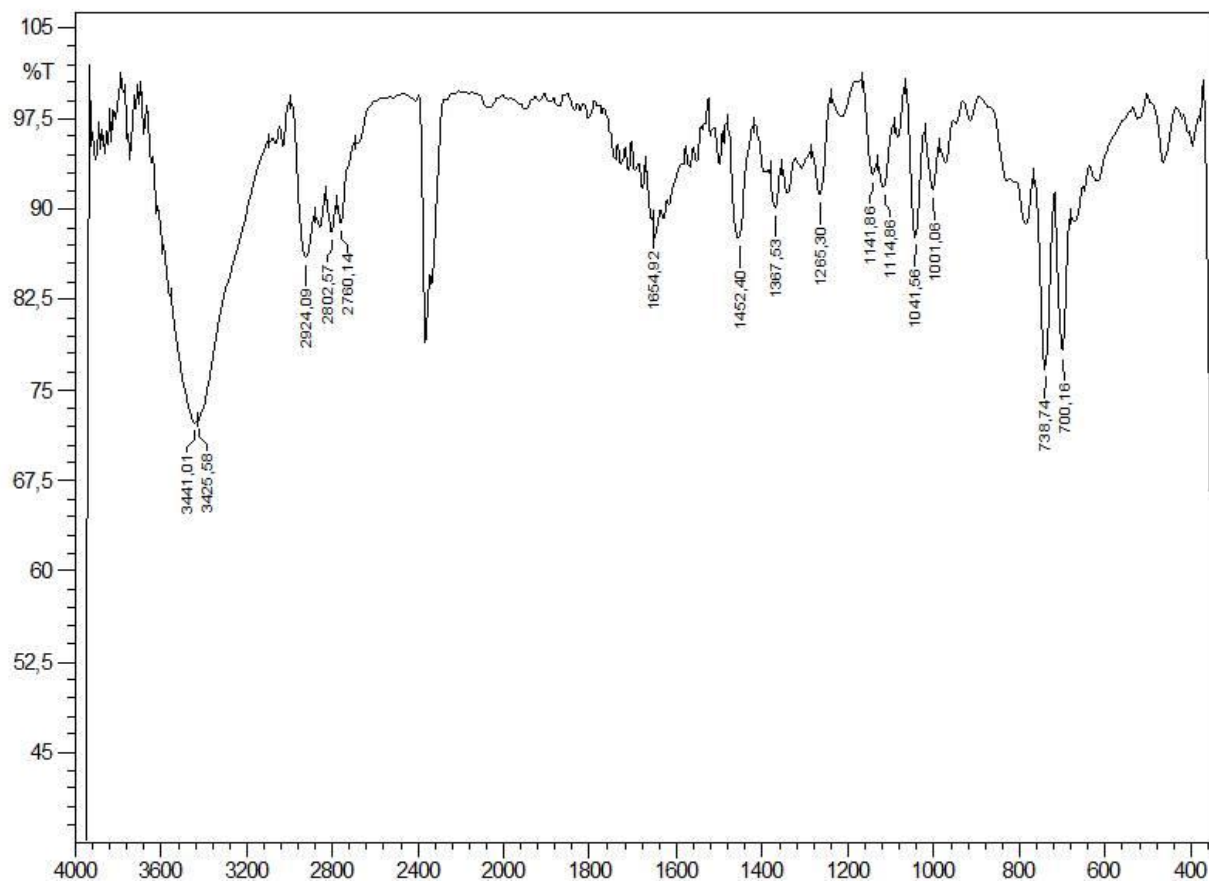


Figura 41- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12a** com DMP obtido em KBr.

Fonte: Do autor.

Outra metodologia amplamente conhecida é a descrita por Swern (OMURA; SWERN, 1979), utilizando cloreto de oxalila ($(\text{COCl})_2$), DMSO, trietilamina (Et_3N) em CH_2Cl_2 a -70°C . A mesma foi aplicada ao álcool **12a** e após 2h deu-se o término da reação.

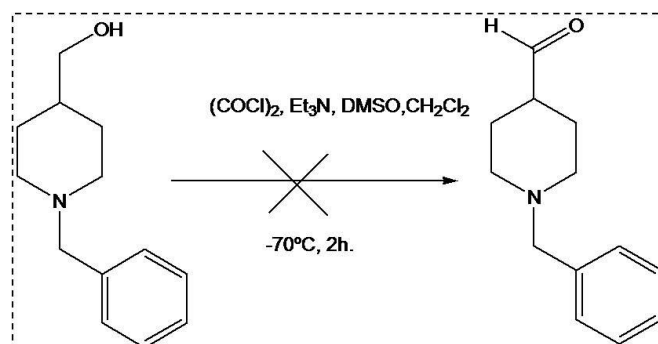


Figura 42-Tentativa de oxidação do álcool **12a** com o sistema oxidante $(\text{COCl})_2$ / Et_3N /DMSO/ CH_2Cl_2 .

Fonte: Do autor.

O mecanismo proposto para a oxidação de Swern com o álcool **12a** está apresentado na Figura 40.

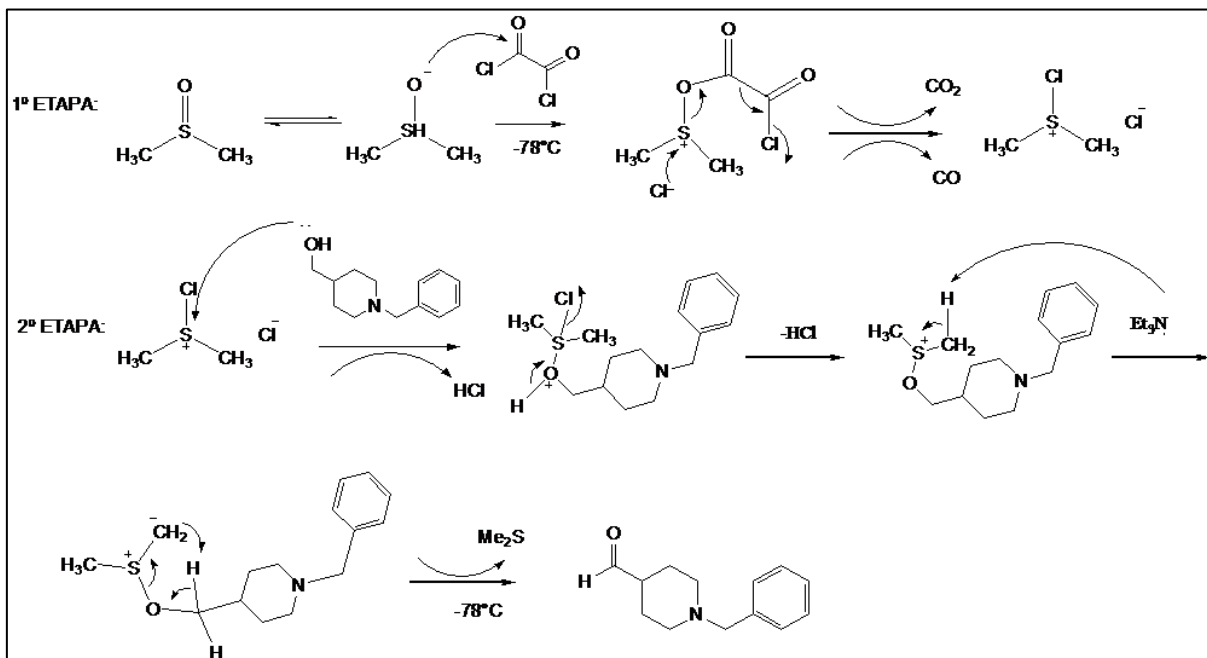


Figura 43- Proposta mecanística para oxidação do álcool **12a** pela reação de oxidação descrita por Swern.

Fonte: Adaptado de KURTI (2005, p.15)

Após análise do espectro de absorção na região do infravermelho para esta reação, observou-se que não foi possível a oxidação do álcool a aldeído, devido a presença da banda de $\nu_{\text{S}} \text{O-H}$ em 3.443 cm^{-1} ; observaram-se ainda bandas de ν_{S} de carbono sp^3 e sp^2 entre 2.981 e 2.679 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.923 a 1.847 cm^{-1} , notaram-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos; em 1.653 cm^{-1} notou-se a presença da banda referente ao $\nu \text{C=C}$ de anel aromático; em 750 cm^{-1} a banda de DAFP da ligação C-H do anel aromático. Com estes dados, pode-se concluir que a reação de Swern também não foi eficiente para obtenção do aldeído conforme esperado.

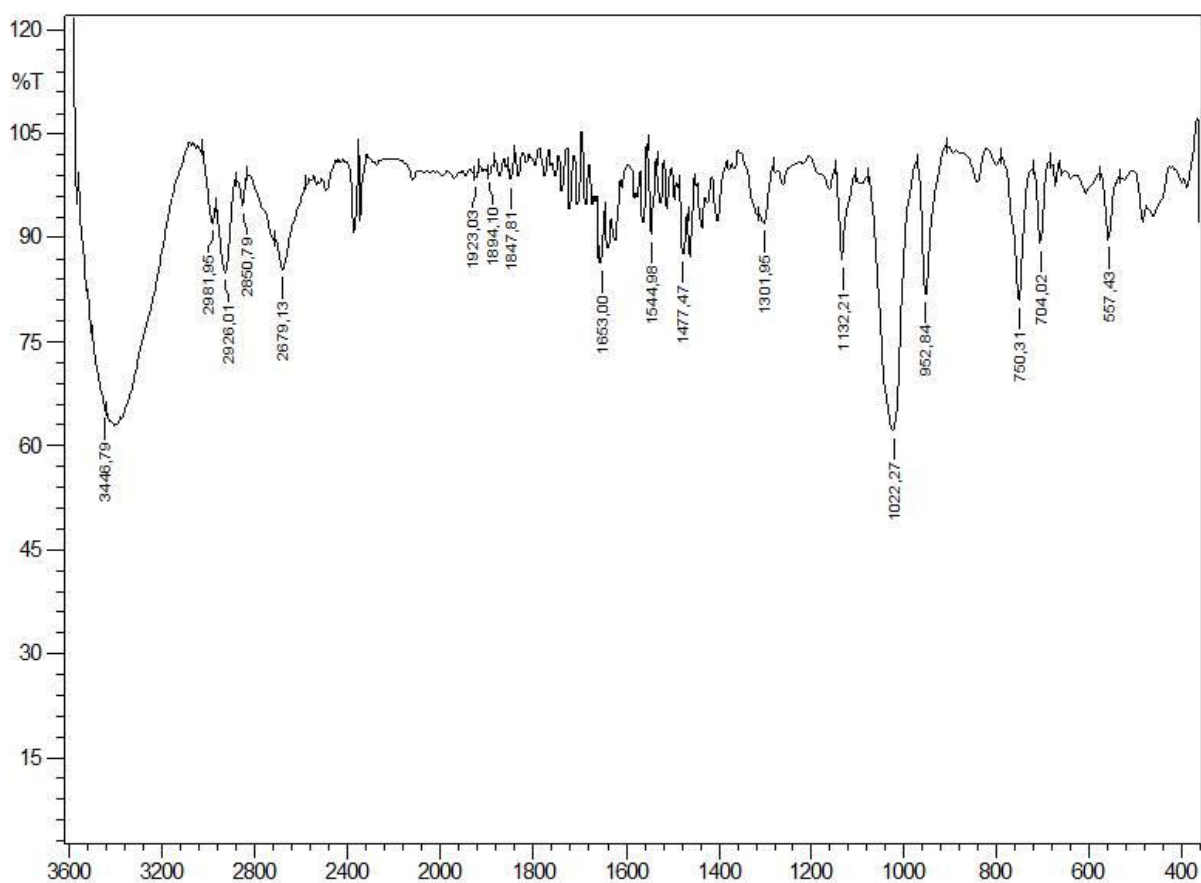


Figura 44- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12 a** na reação de oxidação descrita por Swern.

Fonte: Do autor.

Uma última tentativa de oxidação do álcool (1-benzilpiperidin-4-il) metanol, foi a metodologia descrita por Miller (MILLER; HOERRNER, 2003), utilizando o radical TEMPO (2,2,6,6 tetrametilpiperidina) na presença de tolueno, I_2 , $NaHCO_3$, em temperatura ambiente durante 16 h. Esta metodologia foi escolhida por se tratar da oxidação de alcoóis primários aromáticos, alifáticos e na presença de heteroátomos como N e S.

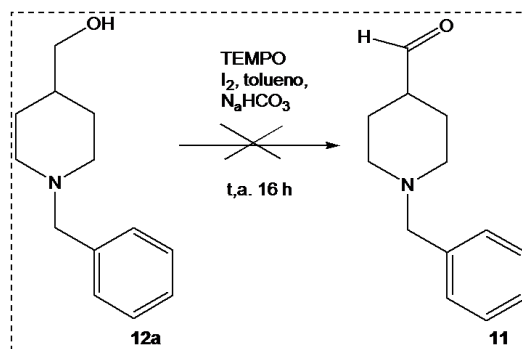


Figura 45- Tentativa de oxidação do álcool **12a** com o sistema oxidante TEMPO/ I₂/ NaHCO₃.
Fonte: Do AUTOR.

O mecanismo reacional da oxidação com o sistema TEMPO/I₂ será discutido adiante.

Através da análise do espectro de absorção na região do infravermelho para a reação com TEMPO, pode-se observar um possível indício de ocorrência da reação em placa de CCD, apesar de não ser possível a obtenção do espectro de infravermelho para o produto puro, devido ao baixo rendimento reacional após a purificação. Porém a análise do espectro de infravermelho do produto bruto mostrou a banda de ν_s O-H em 3.367 cm^{-1} ; observaram-se ainda bandas de ν_s de carbono sp^3 e sp^2 entre 3.030 e 2.873 cm^{-1} , correspondentes aos grupamentos metila e metileno. Na região de 1.892 a 1.870 cm^{-1} notaram-se a presença das bandas harmônicas ou de combinação, características de anéis aromáticos e em 769 cm^{-1} , em 1.635 cm^{-1} a banda de ν_s C=C; em 1.892 e 1.870 as bandas de DAFP da ligação C-H do anel aromático. Também se pôde observar, assim como na reação de oxidação com o agente oxidante PCC em diclorometano a presença de uma banda em 1.732 cm^{-1} que pode ser atribuída ao ν_s C=O indicando um possível início da reação de oxidação. Apesar de algumas metodologias testadas indicarem uma possível oxidação, nenhuma delas foi efetiva na conversão total álcool, sendo necessária a busca por uma nova metodologia mais limpa, eficiente e com altos rendimentos que permitisse caracterizar o produto final e dar andamento às etapas propostas na síntese da série **7**.

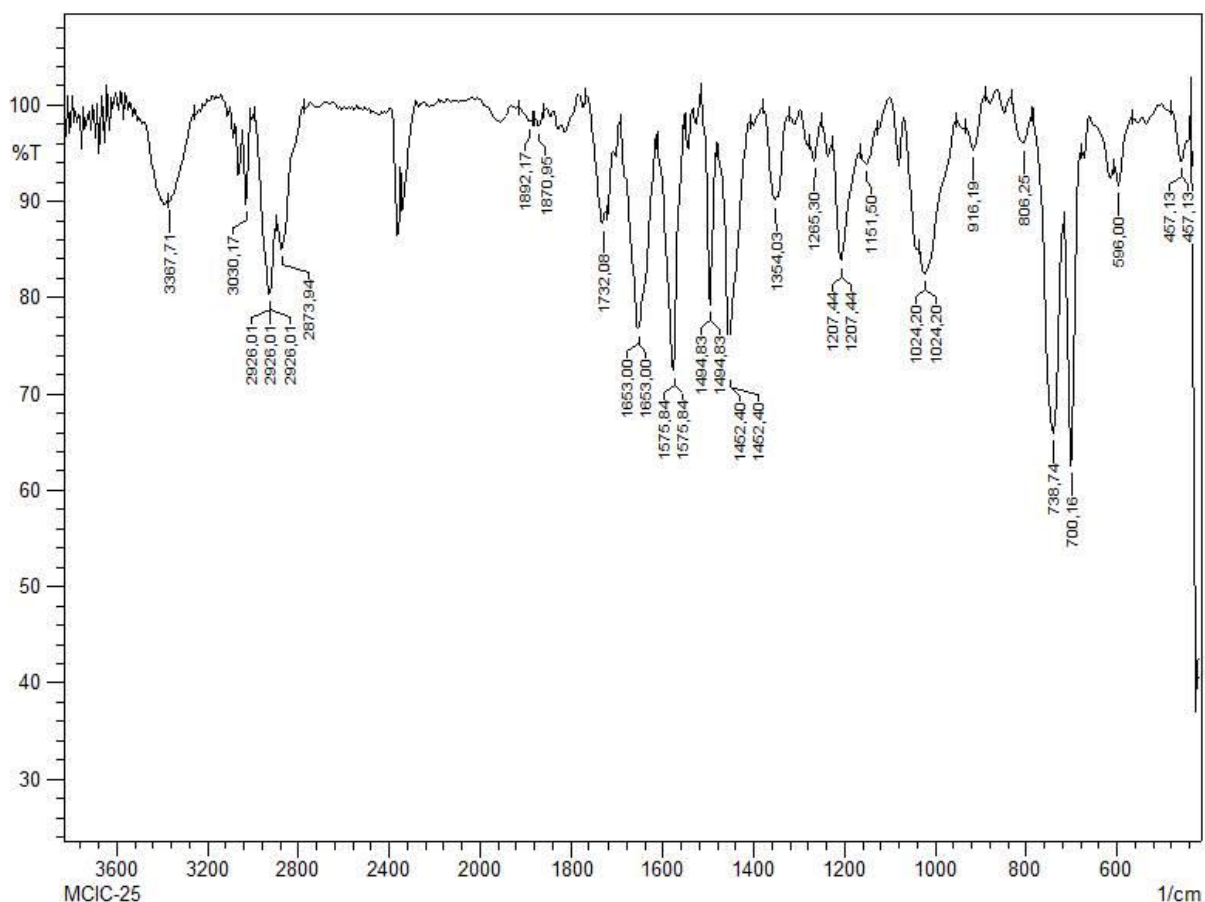


Figura 46- Espectro de absorção na região do infravermelho para a reação do álcool **12 a** na presença do sistema oxidante TEMPO/I₂/NaHCO₃.

Fonte: Do autor.

Diante desses resultados baseando-se em uma vasta revisão da literatura após análise do processo de descoberta do Donepezil (**2** Figura 5), utilizado como protótipo na gênese de LFQM-18 e da série análoga **7**, observou-se que algumas etapas poderiam ser similares. A patente americana referente ao processo de obtenção do donepezil, descrita por Lerman e colaboradores, apresentava uma etapa de proteção do nitrogênio do anel piperidínico antes da etapa de acoplamento (LERMAN et al, 2005). Assim uma nova rota sintética de obtenção da série **7** foi proposta, baseando-se primeiramente na proteção do anel piperidínico do álcool 4-piperidinometanol, seguida da oxidação do mesmo. A nova rota proposta se encontra na Figura 47.

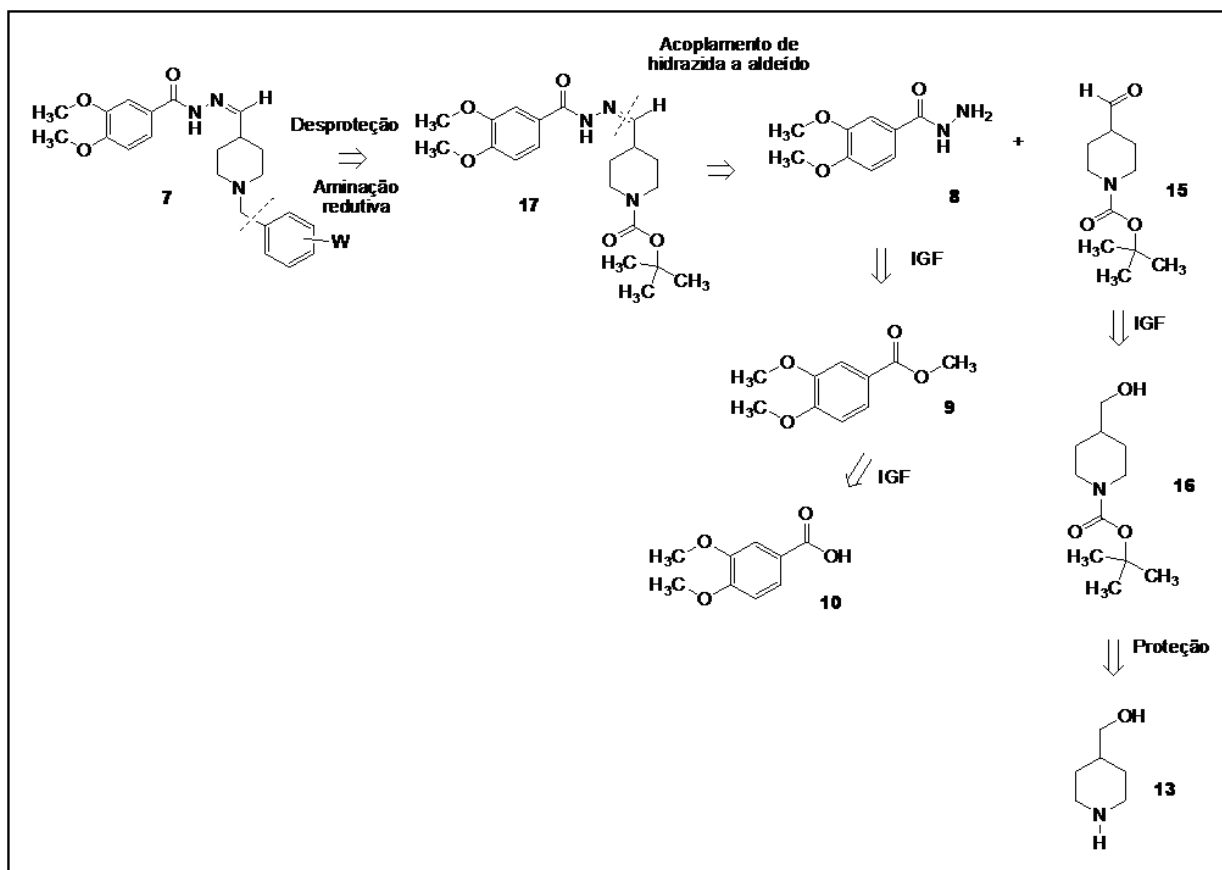


Figura 47- Segunda proposta sintética para a obtenção da série 7.
Fonte: Do autor.

Seguindo a nova retróssíntese proposta, iniciou-se a obtenção do álcool protegido com o grupamento protetor *t*-butóxicarbonila(Boc) (**16** Figura 47) a partir de 4-piperidinometanol (**13**), em uma reação com anidrido de *t*-butóxicarbonila (anidrido de BOC) em acetona, na presença de K_2CO_3 (HANSEN e RIGGS, 1998).

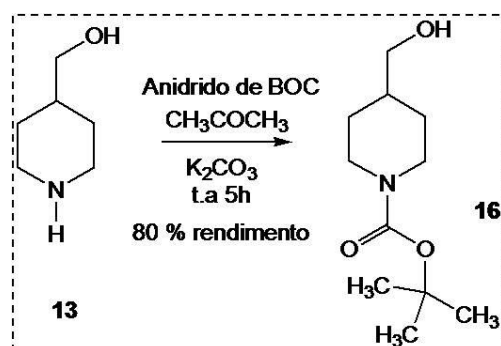


Figura 48- Esquema reacional de obtenção do álcool **16**.
Fonte: Do autor.

O mecanismo dessa reação sugere uma substituição nucleofílica acílica, uma vez que a partir do ataque nucleofílico à carbonila com formação do intermediário tetraédrico dipolar, ocorre eliminação no carbono acílico gerando o álcool **16** e um carbonato orgânico solúvel em água, que pode ser facilmente retirado do meio reacional por extração líquido-líquido ao final da reação.

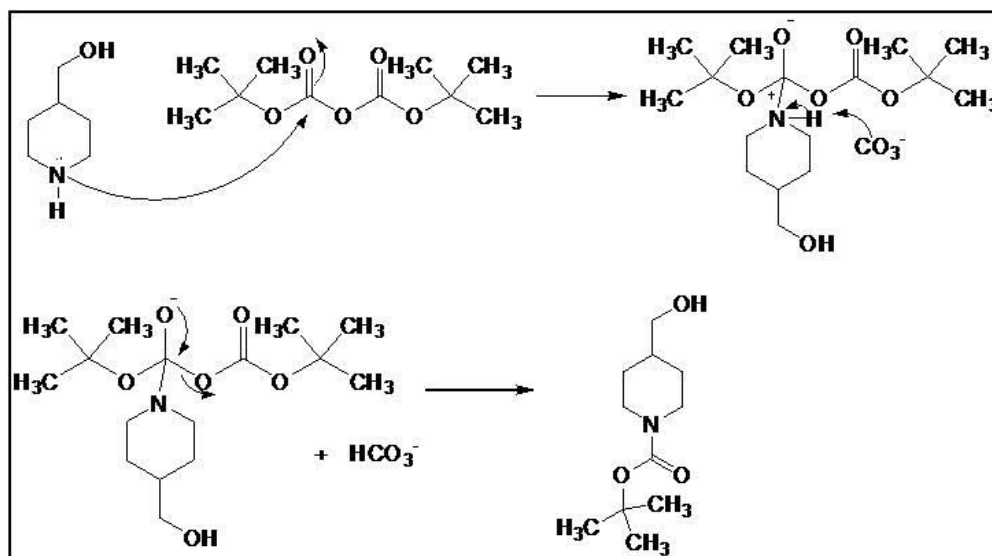


Figura 49- Mecanismo proposto para a reação de obtenção do álcool 4-(hidróximetil) piperidina-1-carboxilato de *t*-butila (**16**).

Fonte: Do autor.

A análise do espectro de infravermelho do composto revelou a presença da banda ν_s de O-H livre (sem participação em ligações de hidrogênio) em 3.496 cm^{-1} . Também se podem diferenciar as ligações C-H presentes na molécula: a presença de bandas de ν_s C-H dos grupos metila em 2.970 cm^{-1} (a), bandas em 2.937 cm^{-1} referentes ao ν de C-H dos carbonos metilênicos próximos a hidroxila (b) e bandas referentes ao ν da ligação C-H também de carbonos metilênicos, mas nas proximidades do heteroátomo e do grupo BOC, fato que desloca os valores de frequência para 2.968 cm^{-1} (c). Nota-se também a presença da banda de ν_s C=O de carbamatos em 1.670 cm^{-1} e bandas em 1.421 e 1.365 cm^{-1} referente à δ_s da ligação N-H e N-C, bem como os estiramentos das ligações C-O em 1.165 cm^{-1} . Tais bandas sugeriram a obtenção do álcool **16**.

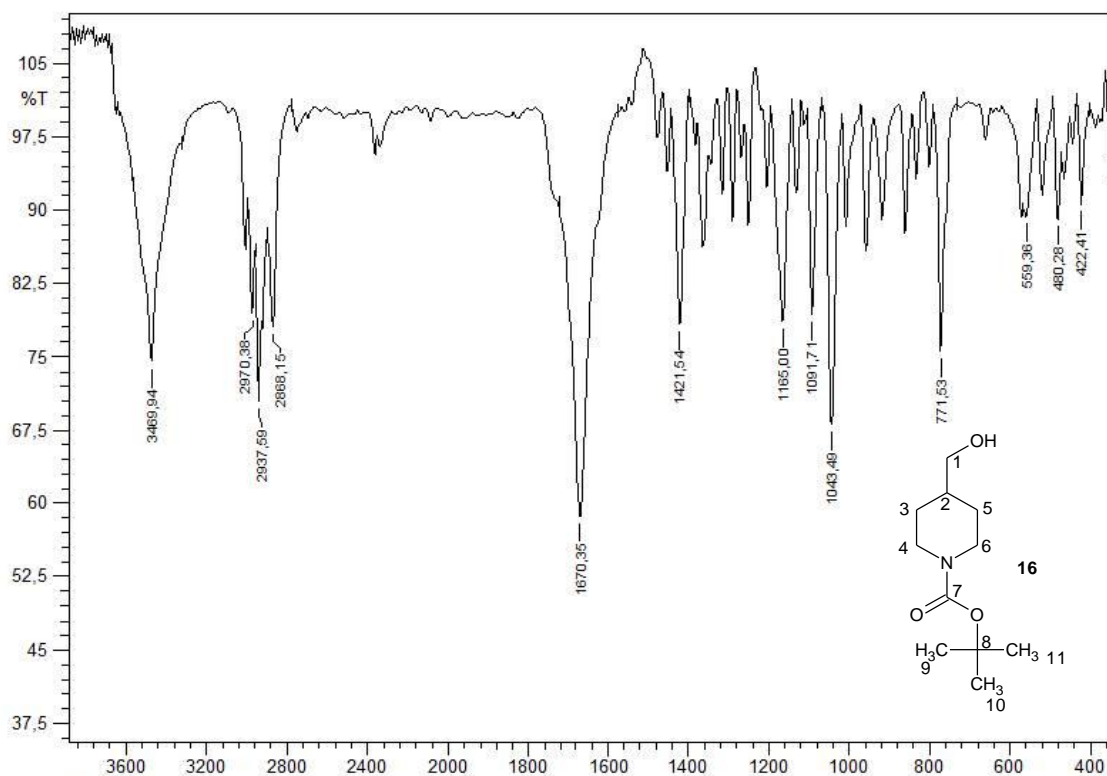


Figura 50- Espectro de absorção na região do infravermelho do álcool **16**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Para uma melhor caracterização estrutural, aliado ao espectro de absorção na região do infravermelho, foi obtido o espectro de massas (Figura 51) para composto **16**. A partir dos espectros de massas, foram identificados os fragmentos mais importantes para a elucidação estrutural do composto (Tabela 4).

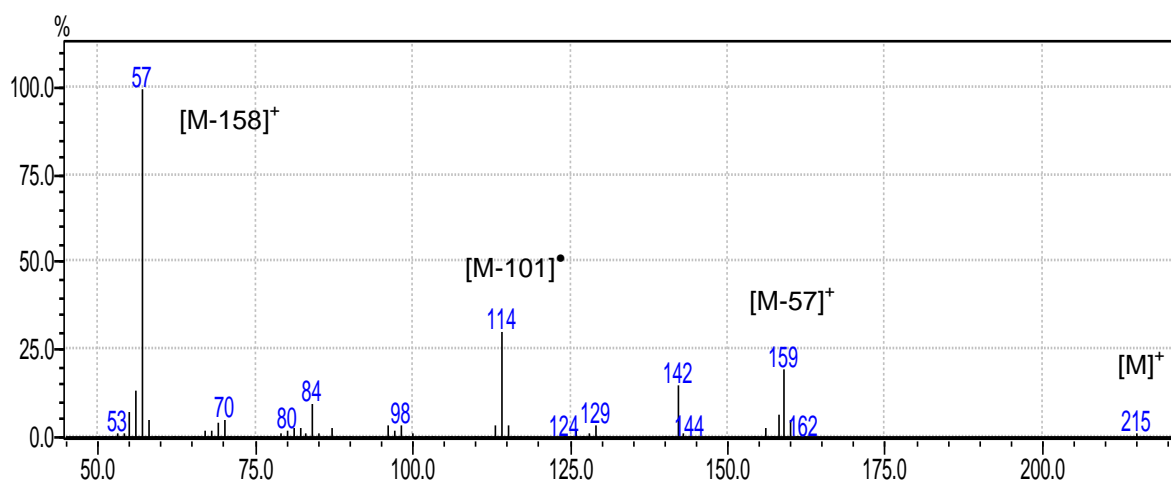


Figura 51- Espectro de massas de 4-(hidróximetil) piperidina-1-carboxilato de *t*-butila (**16**).
Fonte: Do autor.

Tabela 4- Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto **16**.

| m/z | Fragmento | Intensidade relativa |
|-----|--|----------------------|
| 215 | $[\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_3]^{\bullet+}$ | 1 |
| 159 | $[\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NO}_3]^{\bullet+}$ | 25 |
| 114 | $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}]^{\bullet}$ | 33 |
| 57 | $[(\text{CH}_3)_3\text{C}]^{\bullet+}$ | 100 |

Fonte: Do autor.

A análise do espectro de massas do composto **16** permitiu observar a presença do pico do íon molecular $[\text{M}^+]$ com m/z 215 além do pico base $[\text{M}-158]^+$ com m/z 57. Observa-se também a presença do pico com m/z 114 $[\text{M}-101]^+$ e também a presença do pico razão m/z 159 $[\text{M}-57]^+$, obtido através do rearranjo de hidrogênios do carbono γ -carbonílico (em relação a carboxila do carbamato) conhecido como rearranjo de Mc Lafferty (Figura 23). A proposta de fragmentação do álcool **15** se encontra descrita abaixo na Figura 23.

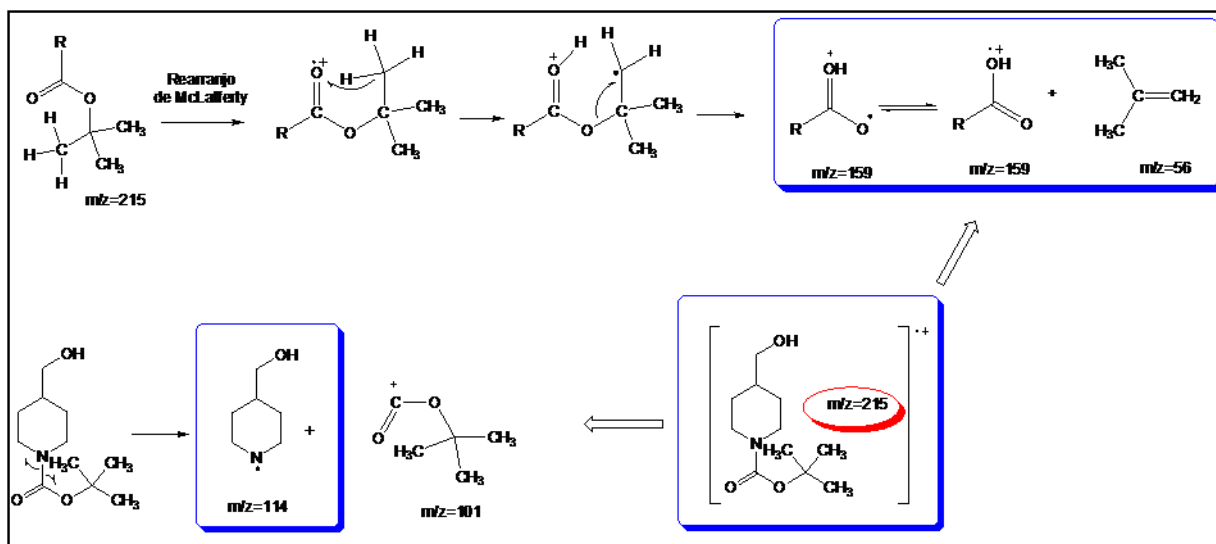


Figura 52- Proposta mecanística para a fragmentação para o íon de m/z 215

Fonte: Do autor.

No espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H de **16** (Figura 53) foi observado um duplo duplo duplo em δ 1.12 ppm, com integral referente a dois hidrogênios que foi atribuído a H-3' e H-5' uma vez que percebemos simetria do

anel piridínico. Confirmando a proteção do heteroátomo do anel, observa-se um sinal em δ 1.48 ppm atribuído às metilas do grupamento *t*-BOC (H-9, H-10 e H-11) com integral referente a nove hidrogênios. O multiplete em δ 1.68 ppm, com integral referente a um hidrogênio, foi atribuído a H-2 e o duplete , com integral referente a dois hidrogênios, presente em δ 1.74 atribuído a H-3 e H-5. Do mesmo modo, o singlete centrado em δ 2.77 com integral referente a dois hidrogênios, foi atribuído a H-1 e H-1' e os sinais mais desblindados foram associados aos hidrogênios mais próximos à carbonila do grupo carbamato como o duplete em δ 3.42 (com integral referente a dois hidrogênios) atribuído a H-4' e H-6' e o duplo triplete com integral referente a dois hidrogênios) em δ 4.11, atribuído aos hidrogênios H-4 e H-6. No espectro de DEPT-Q para o composto **16**, pode-se notar a presença de um sinal em δ 27.32 o qual foi atribuído as metilas do grupamento *t*-BOC (carbonos C-9, C-10 e C-11), um sinal em δ 28.33 atribuído aos carbonos C-3 e C-5 bem como um sinal atribuído à C-4 e C-6 em δ 38.70. Também foi observado um sinal em δ 65.99 atribuído a C-1, um sinal em δ 79.33 atribuído a C-8 e por fim um sinal em δ 155.29 que foi atribuído ao carbono C-7, vizinho a hidroxila alcoólica.

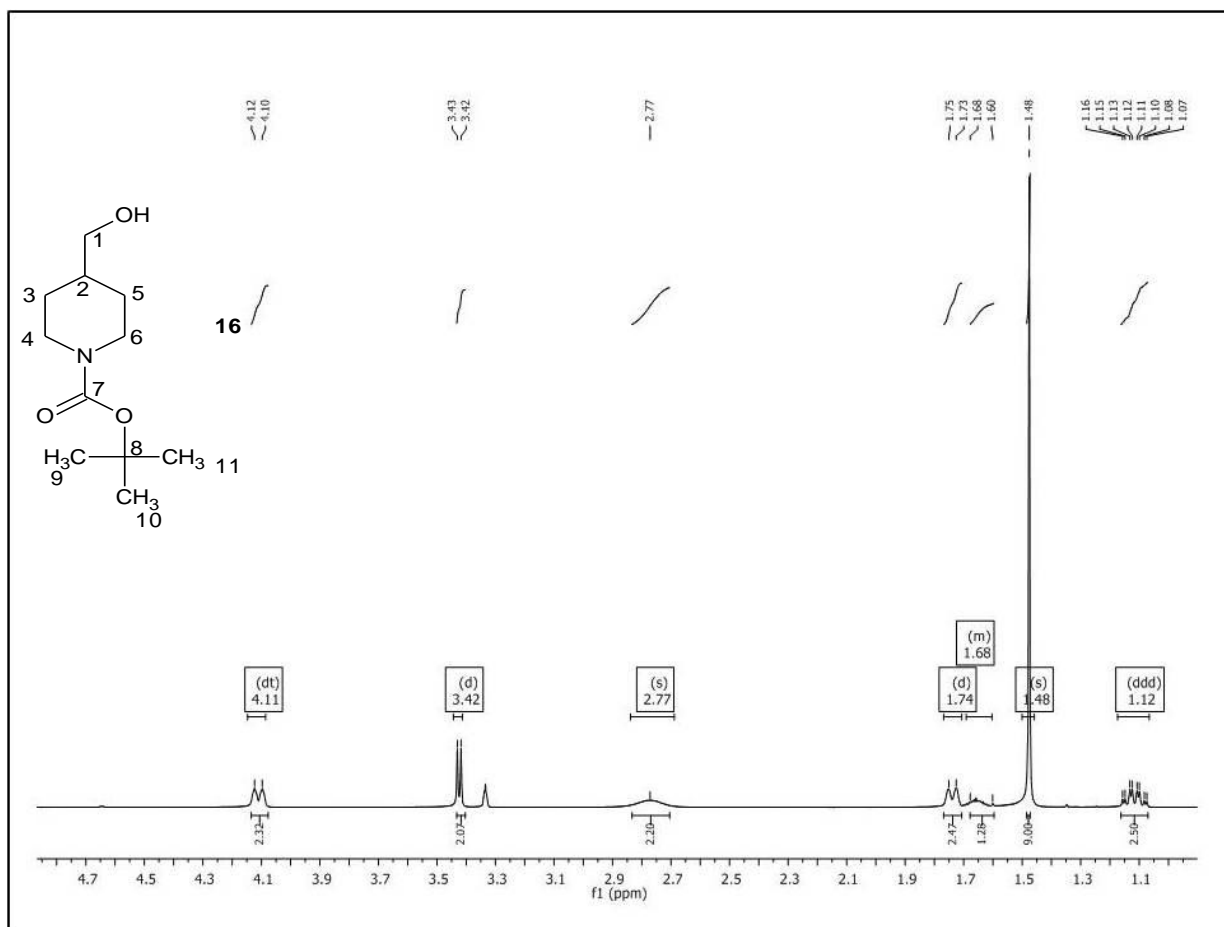


Figura 53- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) do composto **16**.
Fonte: Do autor.

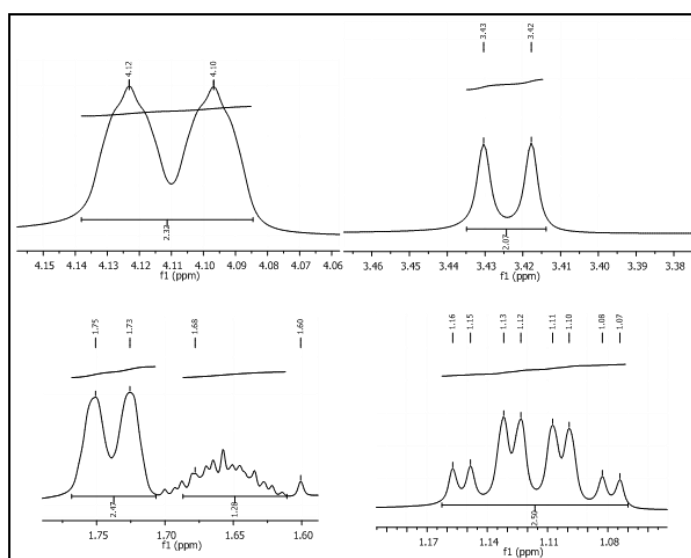


Figura 54- Regiões ampliadas do espectro de RMN de ^1H para o composto **16**.
Fonte: Do autor.

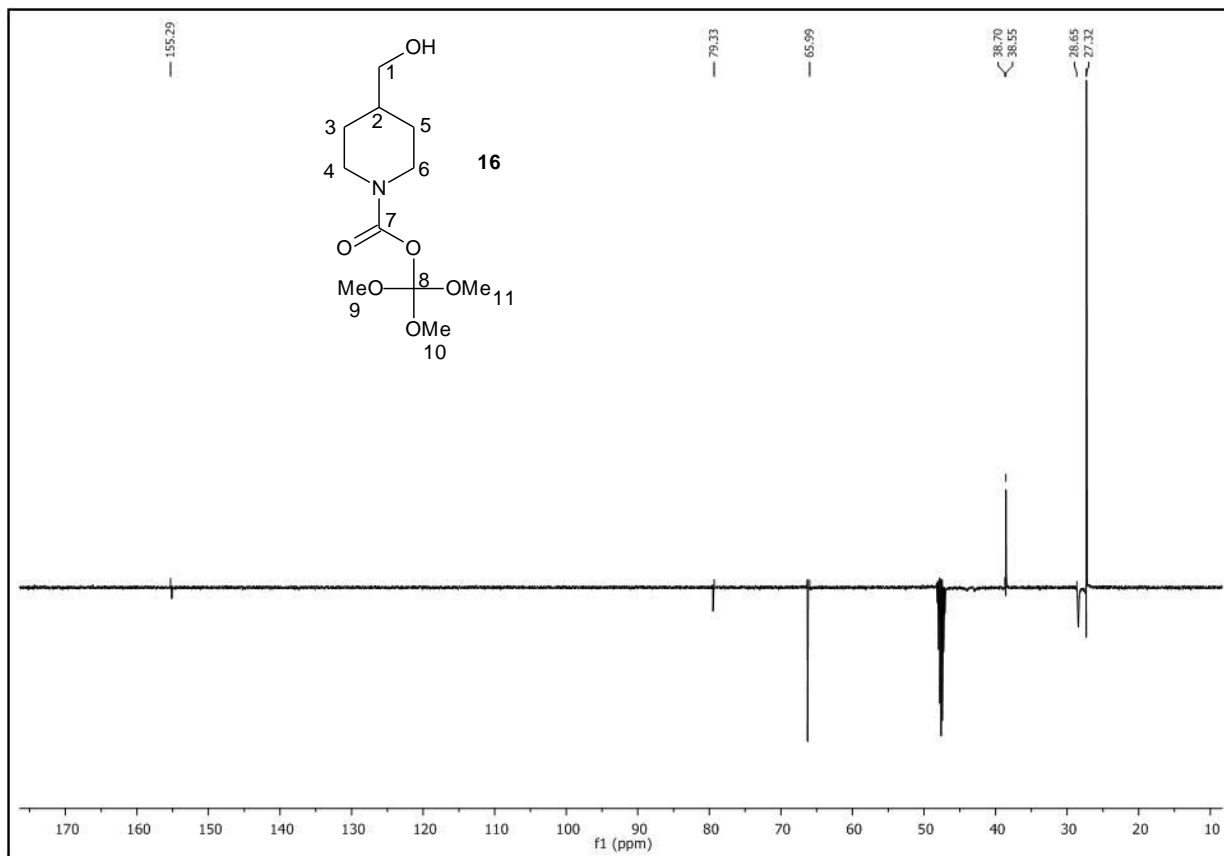


Figura 55- Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto **16**.
Fonte: Do autor.

Após a obtenção do álcool protegido **16** era necessária a oxidação deste para obtenção de 4-formilpiperidina-1-carboxilato de t-butila (**15**). Este aldeído já se encontra presente no mercado para compra (Sigma Aldrich, CAS 13.7076-22-3), porém a um valor muito alto (500 mg por R\$ 333,00). Dessa forma resolveu-se iniciar a obtenção deste aldeído através de uma nova metodologia que levasse à aquisição do mesmo produto com um valor mais acessível. Sendo assim, o método escolhido de oxidação foi o descrito por Miller (MILLER; HOERRNER, 2003) em que o álcool **16** foi submetido à reação com *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO), I₂, tolueno e NaHCO₃ sob agitação a temperatura ambiente até que por CCD foi indicado o término da reação. Este método foi escolhido por ter sido anteriormente testado e ter apresentado o melhor resultado dentre as várias metodologias de oxidação empregadas.

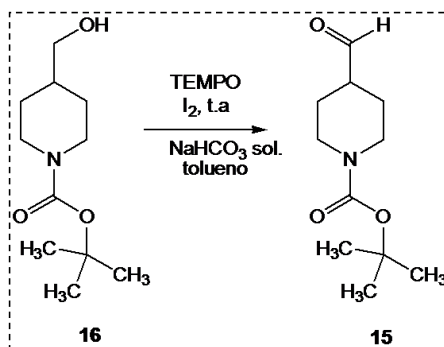


Figura 56- Esquema reacional de obtenção do aldeído **15**.

Fonte: Do autor.

O mecanismo da reação de oxidação do substrato alcoólico por meio do reagente *N*-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TEMPO, **18** Figura 33), apesar de largamente estudado ainda não é completamente elucidado, mas se conhecem as espécies envolvidas na oxidação.

A oxidação por meio de TEMPO envolve a formação *in situ* do íon oxoânionio (SOUZA, 2004) responsável direto pela oxidação de alcoóis primários e secundários em seus respectivos compostos carbonílicos. Também se faz necessária a presença de um agente re-oxidante (neste caso I_2) que é capaz de fazer com que a espécie seja oxidada formando sal de oxoânionio (**19**) mas também rapidamente reduzida a hidroxilamina (**20**) que leva a oxidação do álcool ao composto carbonílico, permitindo assim que o agente TEMPO seja utilizado em quantidade catalítica (GANEM, 1975). Justamente por isso, as reações envolvendo este agente oxidante são amplamente utilizadas.

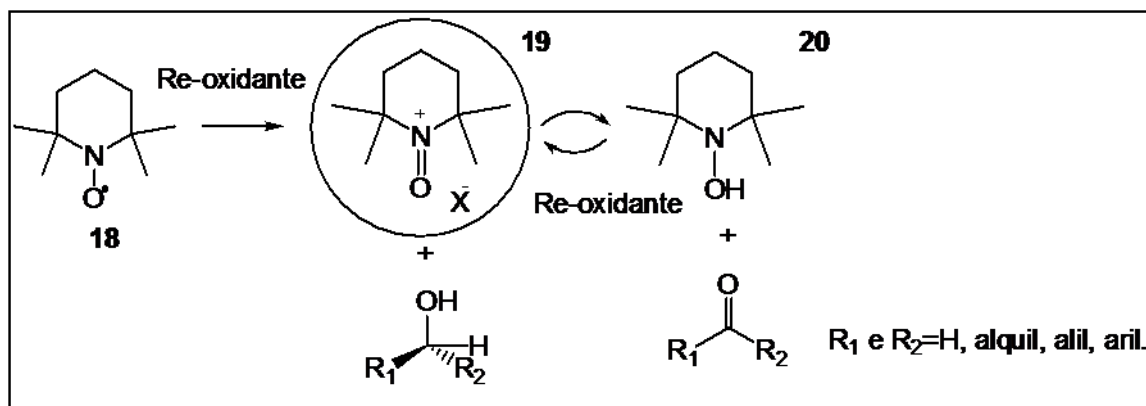


Figura 57- Esquema da formação dos subprodutos originados do reagente TEMPO e a oxidação de alcoóis aos seus respectivos compostos carbonílicos.

Fonte: Adaptado de SOUZA (2004, p.288)

Os intermediários reacionais mais plausíveis para o mecanismo de oxidação de alcoóis estão os apresentados na Figura 58. Semelhack propôs a formação do intermediário **21** através da reação de eliminação intermolecular enquanto Ma e Bobbit (1991) propuseram o aduto **22** (SEMELHACK; SCHMID; CORTES, 1986); (MA; BOBBITT, 1991). Em ambas as propostas mecanísticas, notam-se certa seletividade em meio ácido ou básico, uma vez que a preparação de aldeídos a partir de alcoóis primários é frequentemente obtida por reagentes que também oxidam alcoóis secundários, fato que atribui a quimiosseletividade do método empregado em função do reagente empregado na oxidação. Em meio ácido, o mecanismo acíclico é favorecido sendo que alcoóis primários e secundários são oxidados. No entanto em meio básico ou neutro, alcoóis primários são oxidados em preferência sob um mecanismo cíclico intramolecular, uma vez que os efeitos estéricos podem interferir na reação (SOUZA, 2004).

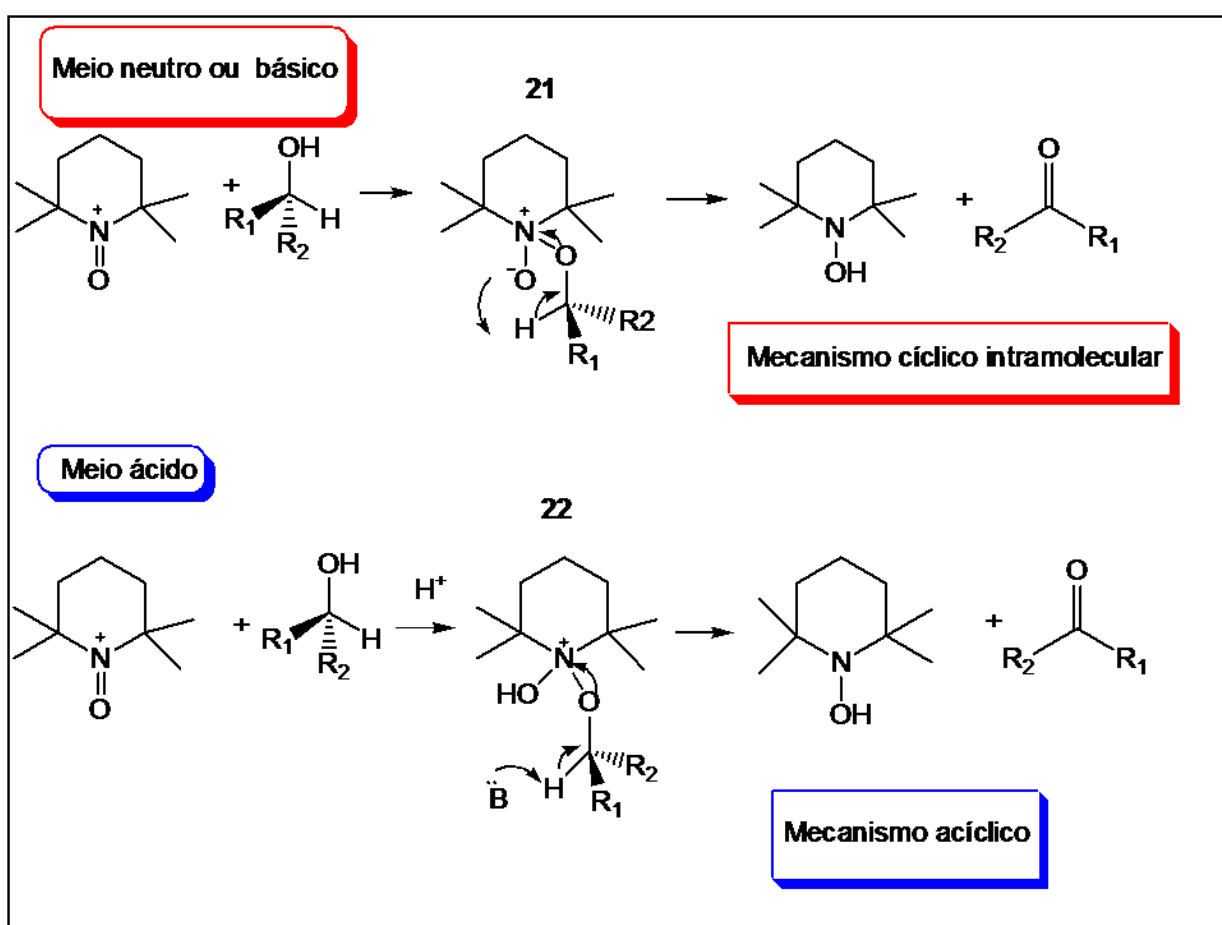


Figura 58- Principais intermediários reacionais responsáveis pela oxidação de alcoóis.
Fonte: Adaptado de SOUZA (2004, p.288)

Na metodologia descrita por Miller (MILLER; HOERRNER, 2003) utilizada para a oxidação do álcool 4- (hidroximetil) piperidina-1-carboxilato de *t*-butila nota-se que, caso houvesse mais de um substrato no meio reacional a presença de NaHCO_3 tornaria a reação seletiva para alcoóis primários uma vez que este atua como tampão $\text{NaHCO}_3 / \text{HCO}_3^-$ deixando a mistura reacional com um pH próximo de 7,5 favorecendo a oxidação de alcoóis primários. Além disso, a adição de Na_2SO_3 ao final da reação reduz iodo a iodeto que pode ser retirando facilmente ao final da reação por extração líquido-líquido. Obteve-se ao final da reação o produto como um óleo amarelo que, apesar de possuir uma apresentação física diferente do produto comercial, quando revelado em placa de CCD com 2,4-dinitrofenilhidrazina (revelador de aldeídos e cetonas) mostrou uma coloração alaranjada e precipitação em placa de Petri indicando possivelmente o aldeído como produto. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel e mesmo assim apresentou-se como um óleo amarelado e para confirmação estrutural foram realizadas as espectroscopias na região do IV, massas e RMN de ^1H e ^{13}C .

Através da análise do espectro na região do infravermelho para o aldeído **15** pode-se perceber primeiramente a ausência da banda de estiramento da ligação O-H de alcoóis, anteriormente presente no álcool primário em frequência de 3.496 cm^{-1} . Percebe-se a presença de bandas de ν da ligação C-H de grupos metila em 2.978 cm^{-1} (a), bandas em 2.933 cm^{-1} referentes ao ν de C-H dos carbonos metilênicos próximos ao grupamento aldeído (b), bandas em 2.837 cm^{-1} referentes ao ν da ligação C-H também de carbonos metilênicos, mas nas proximidades do heteroátomo e do grupo Boc (c). Nota-se ainda a presença de duas bandas relativas ao ν da ligação C-H do grupamento aldeído em 2.837 e 2.713 cm^{-1} (d). A presença deste dubleto é atribuída à ressonância de Fermi existente entre a deformação axial de C-H de aldeídos em modos fundamentais e a primeira harmônica da deformação angular de C-H de aldeídos em 1.366 cm^{-1} . A presença de uma em 1.724 cm^{-1} indica o ν da ligação C=O de aldeídos, levemente sobreposta à banda em 1.695 cm^{-1} para o ν da ligação C=O de carbamatos ainda presente, devido à proteção do heteroátomo com o grupamento *t*-butóxicarbonila. Mediante essas observações, presumiu-se a formação do aldeído desejado.

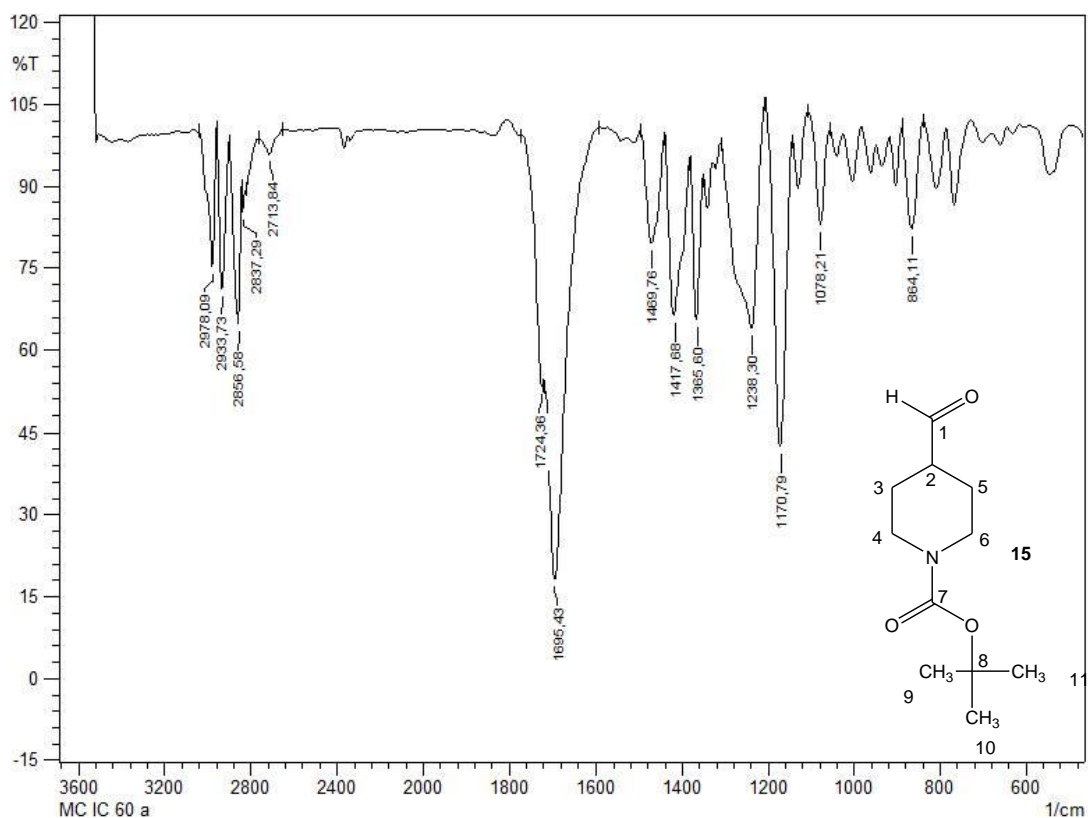


Figura 59- Espectro de absorção na região do infravermelho do aldeído **15**, obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Para dar continuidade à elucidação estrutural do composto **15**, o espectro de massas foi obtido (Figura 36) e os sinais mais importantes estão apresentados na Tabela 5. O espectro de massas confirmou a presença do pico íon molecular com $m/z=213,14$ g/mol e sua fragmentação, indicando a formação do aldeído-alvo **15**.

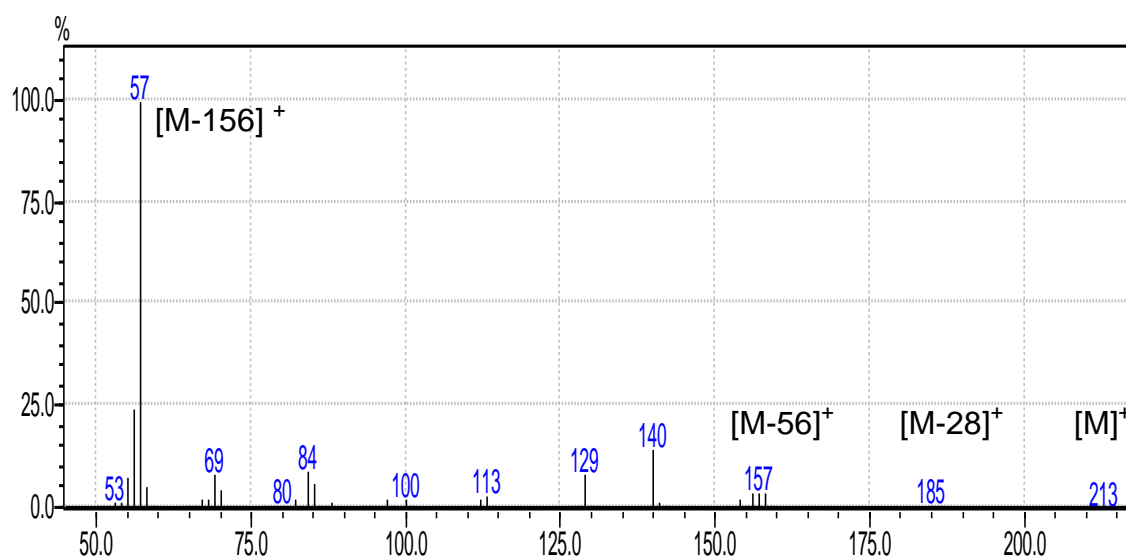


Figura 60- Espectro de massas de 4-formilpiperidine-1-carboxilato de t-butila (**15**).
Fonte: Do autor.

Tabela 5- Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto **15**.

| m/z | Fragmento | Intensidade relativa |
|-----|---------------------------------|----------------------|
| 213 | $[C_{11}H_{19}NO_3]^{\bullet+}$ | 1 |
| 185 | $[C_{10}H_{19}NO_2]^{\bullet+}$ | 2 |
| 157 | $[C_7H_{11}NO_3]^{\bullet+}$ | 5 |
| 57 | $[(CH_3)_3C]^{\bullet+}$ | 100 |

Fonte: Do autor.

A partir da análise do espectro de massas e dos dados presentes na literatura, podemos observar a presença do pico íon molecular $[M^+]$ com m/z 213 além do pico base $[M-156]^+$. Outros fragmentos são observados, como o obtido através do rearranjo de hidrogênios do carbono γ -carbonílico (em relação a carboxila do carbamato) conhecido como rearranjo de Mc Lafferty gerando o fragmento de m/z= [157]. A proposta de fragmentação do composto **15** se encontra abaixo:

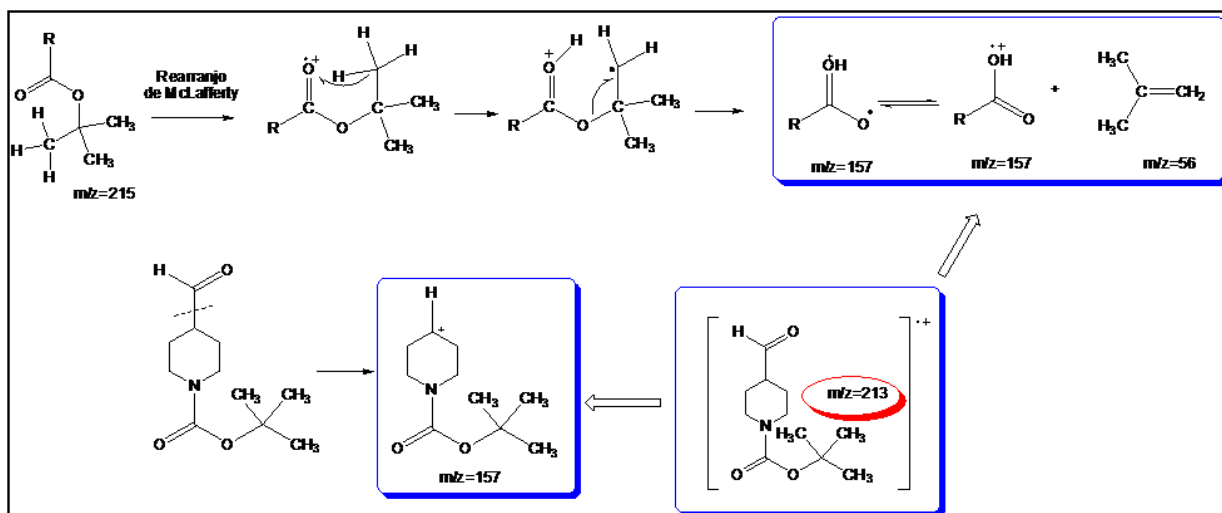


Figura 61- Mecanismo de fragmentação proposto do composto **15**.
Fonte: Do autor.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C revelaram sinais importantes para a caracterização. No espectro de RMN ^1H , o sinal de δ 9.68 ppm foi atribuído ao hidrogênio da função aldeído, porém observou-se uma baixa intensidade e integração deste sinal, fato que não era esperado. Ao sinal de δ 4.09 ppm foram atribuídos os hidrogênios H-4' e H-6' com integral equivalente a dois hidrogênios, e δ 2.70 ppm atribuídos aos hidrogênios H-4 e H-6 com integral equivalente a dois hidrogênios, sendo estes os sinais mais desblindados devido a proximidade à carbonila do grupo carbamato. Os sinais para H-3 e H-5 e H-3' e H-5' foram atribuídos aos δ 1.90 e δ 1.64 ppm respectivamente. Já o hidrogênio H-2 foi atribuído ao sinal em δ 2.47 ppm e as metilas do grupamento *t*-BOC em δ 1.47 ppm, referente a nove hidrogênios. No espectro de DEPT-Q do aldeído **15**, notou-se a ausência do sinal referente ao carbono de aldeídos em aproximadamente (δ 202 ppm), fato que colocou em dúvida a obtenção deste composto. Mesmo diante da ausência deste, outros sinais puderam ser observados e designados, como o sinal em δ 154.72 ppm que foi atribuído ao carbono C-7, o sinal em δ 79.70 ppm atribuído ao carbono C-8, além dos sinais em δ 41,45; δ 38.61; δ 28.13 e δ 25.09 ppm, atribuídos aos carbonos C-4, C-6, C-3 e C-5 respectivamente. Os sinais das metilas do grupamento *t*-BOC também foram atribuídos aos carbonos C-9, C-10 e C-11 em δ 28.47 ppm. Apesar da ausência do carbono do grupamento aldeído, pode-se observar a ausência de δ 65.99 ppm referente ao carbono C-1 do álcool **16**, sugerindo assim a obtenção do aldeído **15** (já possuindo sua massa molecular confirmada no espectro de massas).

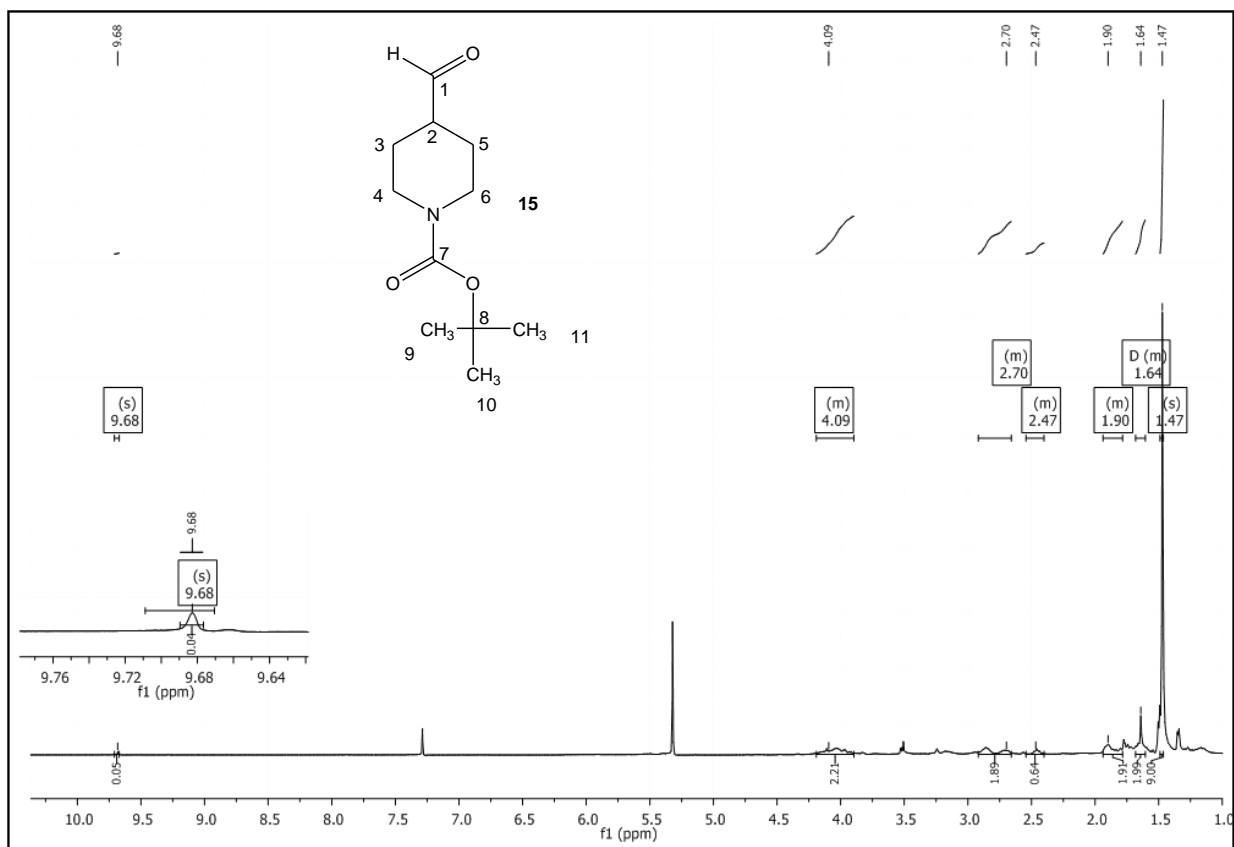


Figura 62- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto **15**.
Fonte: Do autor.

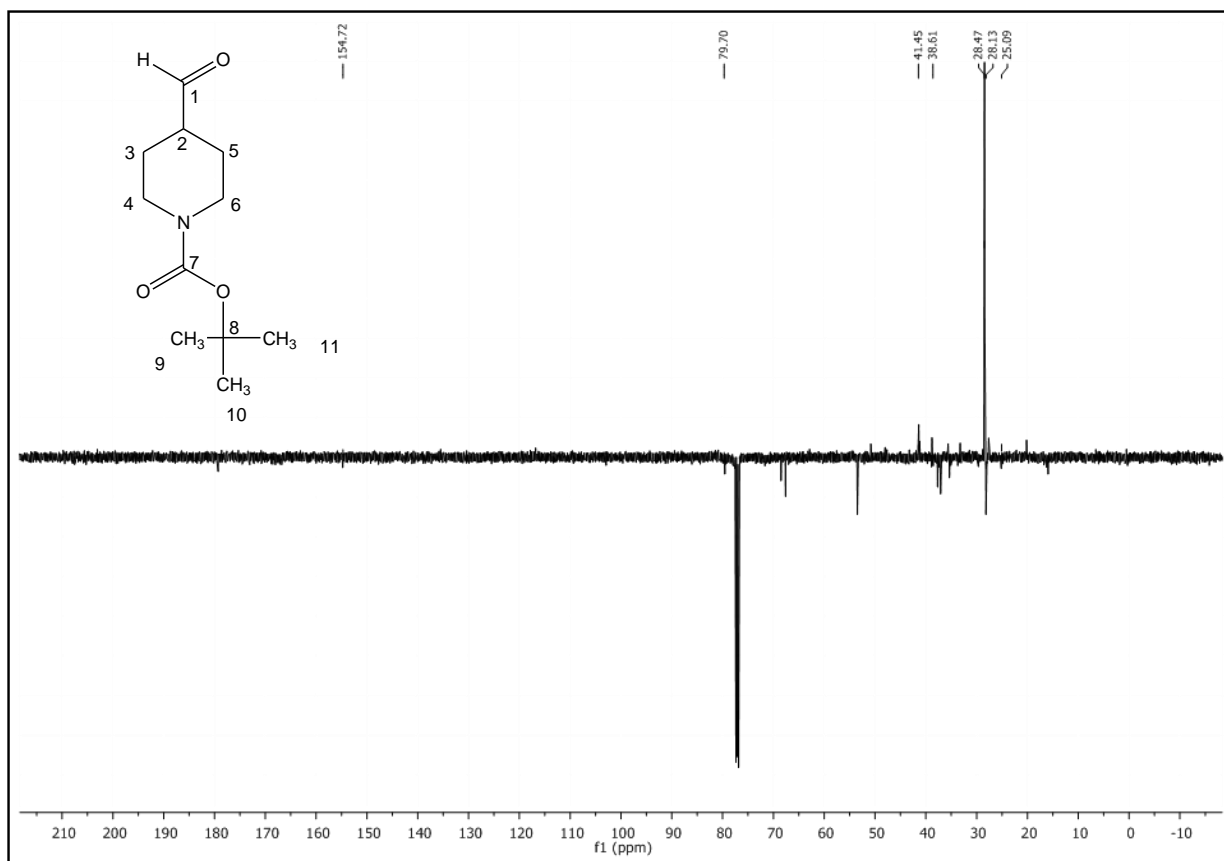


Figura 63- Espectro DEPT-Q (500 MHz, CDCl₃) do composto **15**.
Fonte: Do autor.

Possivelmente, o sinal referente ao H e C do aldeído em baixa intensidade, pode estar associado às impurezas presentes no produto, fato que foi observado logo ao final da reação ao se perceber que o aldeído sintetizado era um óleo de coloração amarelada, diferente do aldeído comercial sob a forma de um sólido branco. Estas impurezas podem ser espécies derivadas do radical TEMPO como o 2,2,6,6-tetrametilpiperidinol (**20**) e 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinolóxi (**19**) que são de difícil purificação e podem deixar resíduos no meio reacional, bem como a coloração amarelada oriunda de parte do I_2 não reduzido (já que este se encontra presente na reação em excesso). Outro fator para a dificuldade na obtenção deste aldeído pode estar associada ao reagente re-oxidante neste caso I_2 , que é um agente oxidante fraco devido ao seu baixo potencial de redução ($I^2 \leftrightarrow I^-$, $E^0 = +0,62$ eV) sendo que, possivelmente, a troca deste agente oxidante por um com maior potencial de redução (um agente oxidante mais forte) poderia favorecer a oxidação do álcool ao respectivo composto carbonílico.

Após uma refinada revisão bibliográfica foi encontrada uma patente chinesa, depositada em Janeiro de 2011 e publicada em Junho de 2011, que trata da obtenção de 1-benzilpiperidina-4-carboxialdeído (SUN, CHEN, *et al.*, 2011). Esta metodologia, emprega a oxidação do álcool (1-benzilpiperidin-4-il) metanol através do uso do radical TEMPO mas, diferentemente da metodologia descrita por MILLER (2003), não se faz o uso de I_2 como agente re-oxidante e sim a espécie $NaIO_4$ na presença de NaBr. O uso de duas espécies fortemente oxidantes ($IO_4^- \leftrightarrow I_2$, $E^0 = +1,32$ eV; e $Br_2 \leftrightarrow Br^-$, $E^0 = +1,07$ eV) torna o meio reacional mais facilmente apto para a reação de oxidação, pois o radical TEMPO será mais facilmente oxidado ao sal oxoânionio e posteriormente reduzido a hidroxilamina, formando assim a espécie carbonílica correspondente (Figura 57).

Devido à dificuldade de leitura e interpretação desta patente chinesa, o solvente do meio reacional necessitou ser repensado e devidamente proposto, uma vez que na reação estariam presentes sais (solúveis em água) e um composto orgânico (solúvel em solventes orgânicos ou com altas polaridades). Sendo assim a reação poderia ocorrer em uma única fase, ou necessitar da interface entre fase aquosa e fase orgânica. Com o objetivo de testar a necessidade desta interface, a reação foi primeiramente realizada em DMF (dimetilformamida) devido a sua alta polaridade e na mistura de solventes DMF/água (1:1) devido à miscibilidade de todos os reagentes na mistura reacional monofásica. Porém não observou-se a

evolução da reação nestes solventes reacionais, nem com o álcool descrito na patente ((1-benzilpiperidin-4-il) metanol)) e nem mesmo com o álcool protegido **16**, fato que foi atribuído a necessidade da interface para a ocorrência da reação uma vez que o deslocamento dos íons na interface altera o equilíbrio da reação e favorece a formação do produto oxidado na fase orgânica.

Muitas reações em interfaces têm sido estudadas, uma vez que os processos bifásicos mantêm as altas atividades e seletividades dos processos catalíticos monofásicos e ainda facilitam a separação do catalisador e do produto (DULLIUS, 2002).

Diante desses resultados, uma nova metodologia foi testada pensando-se em hibridar as técnicas descritas por MILLER (2003) e SUN CHEN (2011), utilizando como solvente tolueno que foi utilizado na metodologia proposta por Miller e possui menor polaridade que DMF (polaridade DMF=6,4 e tolueno=2,4) e o sistema oxidante $\text{NaIO}_4 / \text{NaBr}$ (proposto por SUN, CHEN). A reação de oxidação foi realizada com o álcool (1-benzilpiperidin-4-il) metanol e com o álcool 4-(hidróximetil) piperidina-1-carboxilato de *t*-butila (**16**). Notou-se que para o primeiro, o rendimento reacional foi muito baixo mesmo após um longo período reacional. Já para o álcool protegido **16**, a reação se mostrou muito eficiente apresentando um produto muito puro, como um sólido branco muito semelhante ao reagente comprado comercialmente. Foram realizados, para medida de comparação, os espectros de IV para o aldeído comercial e para o aldeído sintetizado através da nova metodologia proposta, e observou-se a ausência da banda ν_s O-H de alcoóis, anteriormente presente no álcool primário em frequência de 3.496 cm^{-1} . Nota-se também a presença de um duplete do ν da ligação C-H de aldeídos em $2.976/ 2.974$ e 2.931 e 2.929 cm^{-1} . A presença deste dublete é atribuída à ressonância de Fermi existente entre a deformação axial de C-H de aldeídos em modos fundamentais e a primeira harmônica da deformação angular de C-H de aldeídos em $1.367/1.365 \text{ cm}^{-1}$. A presença de uma banda em $1.726 / 1.730 \text{ cm}^{-1}$ indica o ν da ligação C=O de aldeídos, levemente sobreposta à banda em $1.691/1.695 \text{ cm}^{-1}$ para o ν da ligação C=O de carbamatos ainda presente, devido à proteção do heteroátomo com o grupamento *t*-butóxicarbonila. Mediante essas observações, supôs-se a formação do aldeído.

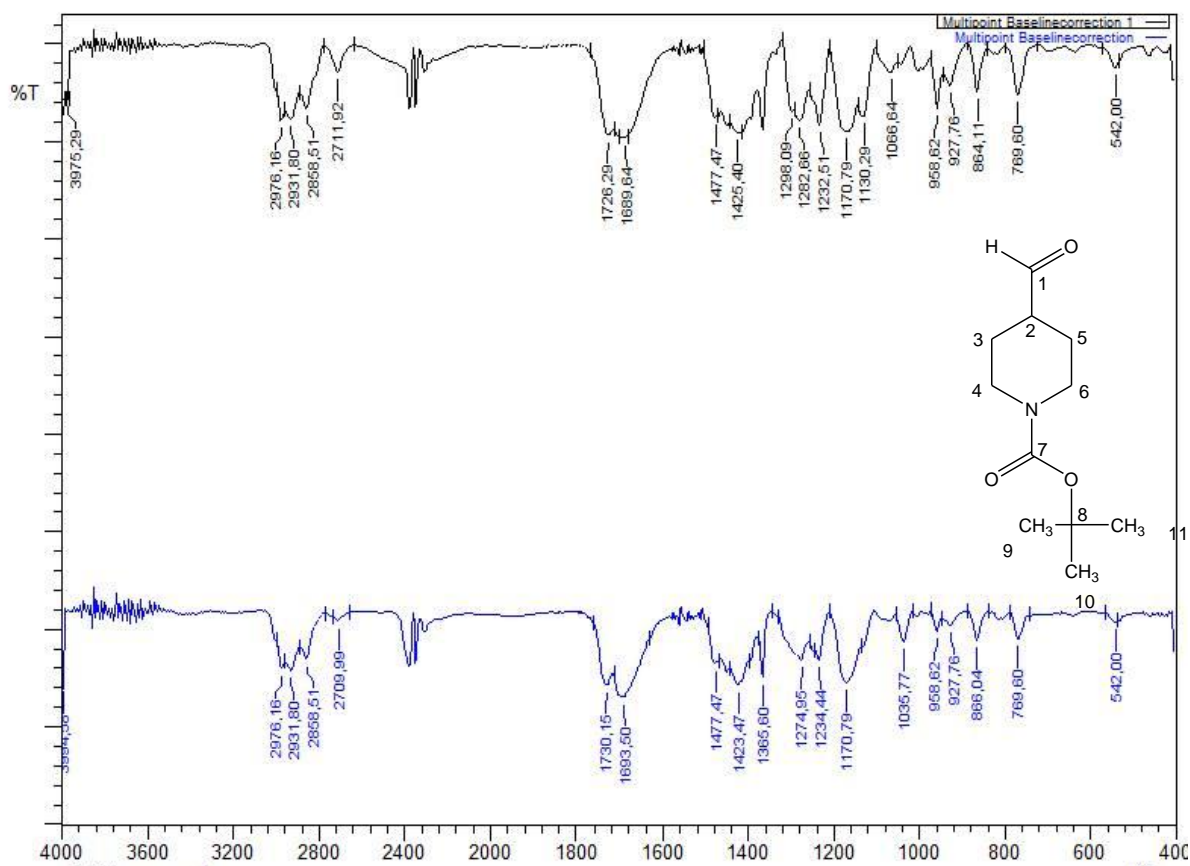


Figura 64- Espectro de absorção na região do infravermelho (sobreposição) para o aldeído comercializado (em preto) e o aldeído sintetizado **15** (em azul), obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Para dar continuidade à elucidação estrutural do composto **15**, foi obtido o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H e DEPT-Q. Assim como anteriormente descrito, o espectro revelou os mesmos sinais, mas com pureza superior ao aldeído sintetizado conforme metodologia descrita por Miller. O sinal de δ 9.66 ppm foi atribuído ao hidrogênio da função aldeído. O multipletto de δ 4.10 a 3.94 ppm foi atribuído ao hidrogênios H-4' e H-6', com integral equivalente a dois hidrogênios, e δ 2.93 ppm atribuídos aos hidrogênios H-4 e H-6 com integral equivalente a dois hidrogênios, sendo estes os sinais mais desblindados devido a proximidade à carbonila do grupo carbamato. Os sinais para H-3 e H-5 e H-3' e H-5' foram atribuídos aos multipletos de δ 1.94 a 1.53 ppm, com integral para quatro hidrogênios. Já o hidrogênio H-2 foi atribuído ao multipletto em δ 2.46 a 2.39 ppm e as metilas do grupamento *t*-BOC ao singletto em δ 1.46 ppm, referente a nove hidrogênios. No espectro DEPT-Q do aldeído **15**, notou-se a presença do sinal referente ao carbono de aldeídos em δ 203.09 ppm. Observou-se também o sinal

em δ 154.84 ppm que foi atribuído ao carbono C-7, o sinal em δ 80 ppm atribuído ao carbono C-8, além dos sinais em δ 47.99; δ 40.69; δ 27.96 e δ 24.87 ppm, atribuídos aos carbonos C-4, C-6, C-3 e C-5, respectivamente. O sinal de C-2 também foi atribuído ao δ 47.99 ppm. Os sinais das metilas do grupamento *t*-BOC também foram atribuídos aos carbonos C-9, C-10 e C-11 em δ 28.67 ppm. Observou-se também a ausência de δ 65.99 ppm referente ao carbono C-1 do álcool **16**, confirmando assim a obtenção do aldeído **15**.

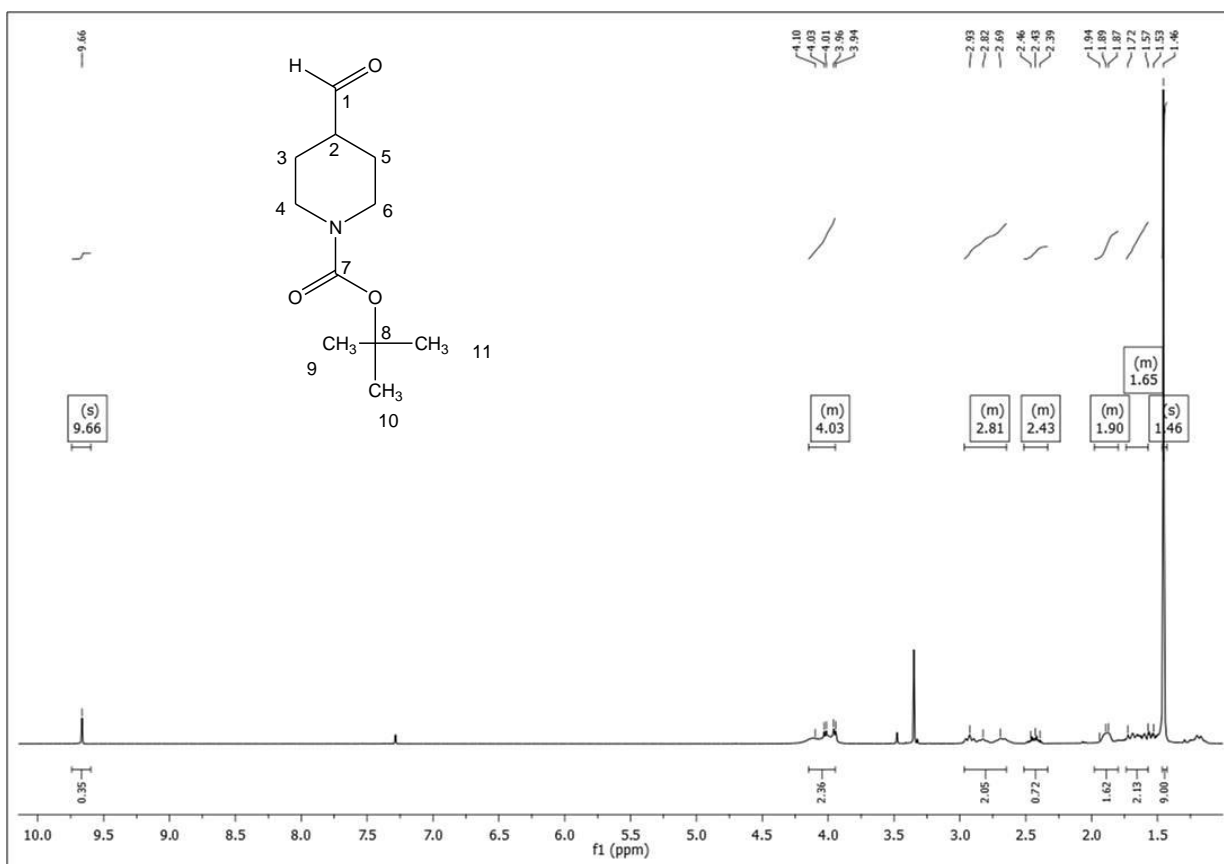


Figura 65- Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) do composto **15** obtido pela hibridação das metodologias propostas por MILLER (2003) e SUN CHEN (2011).

Fonte: Do autor.

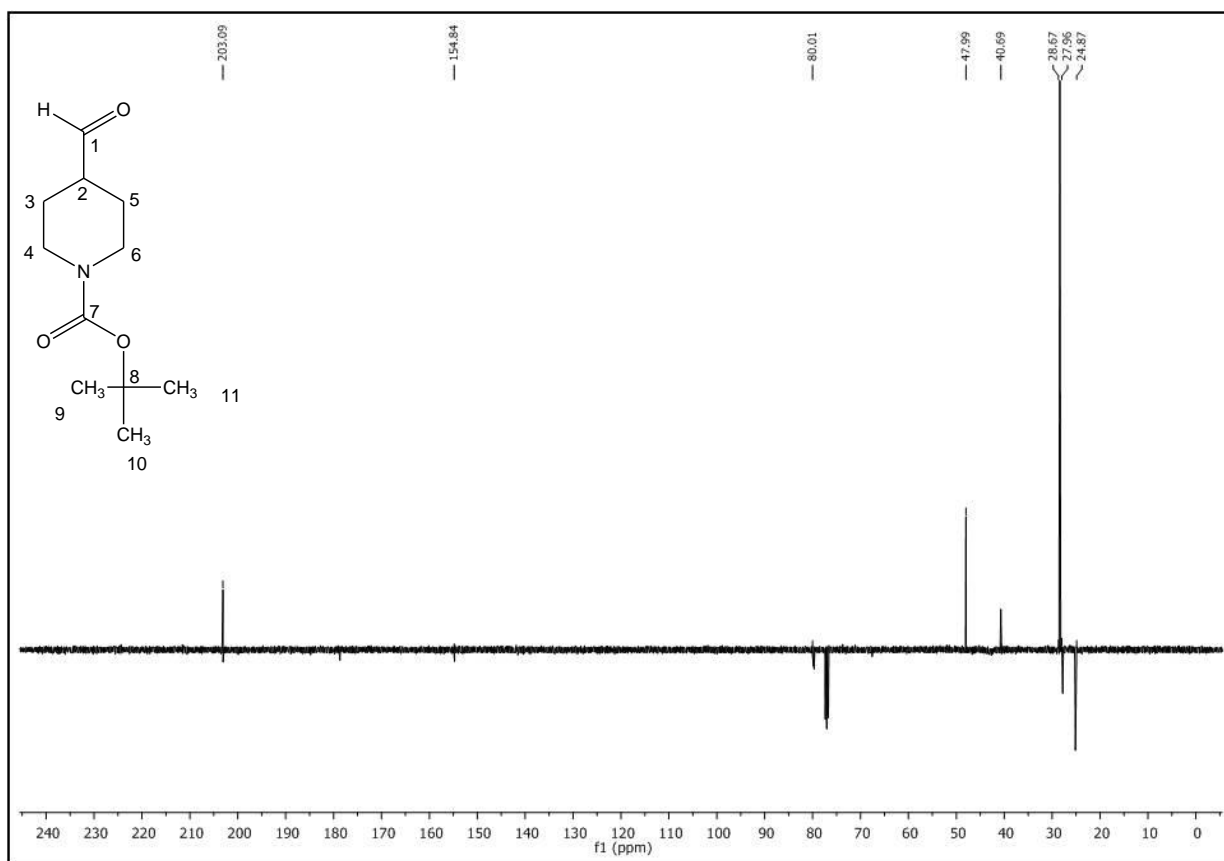


Figura 66- Espectro DEPT-Q (500 MHz, CDCl_3) do composto **15** obtido pela hibridação das metodologias propostas por MILLER (2003) e SUN CHEN (2011).

Fonte: Do autor.

Após a obtenção do aldeído **15**, visando à obtenção do intermediário **17** da série **7**, partiu-se para obtenção do éster **9** em uma via sintética paralela como já descrita na retrosíntese apresentada na Figura 46. A reação de esterificação foi conduzida através da reação do ácido 3,4-dimetóxi benzóico em metanol, catalisada por ácido sulfúrico (SOLLADIÉ e ZIANI-CHERIF, 1993).

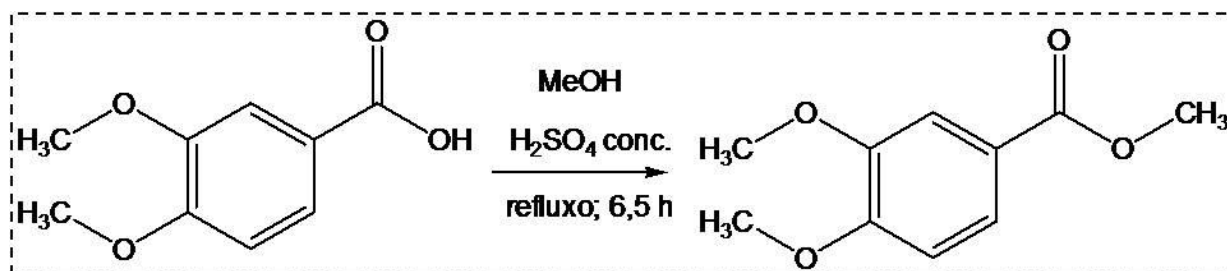


Figura 67- Reação de esterificação do ácido 3,4-dimetóxi benzóico com MeOH/ H_2SO_4 .

Fonte: Do autor.

O mecanismo da reação de esterificação para obtenção do éster **9** sugere a substituição nucleofílica acílica como mostrado na Figura 68.

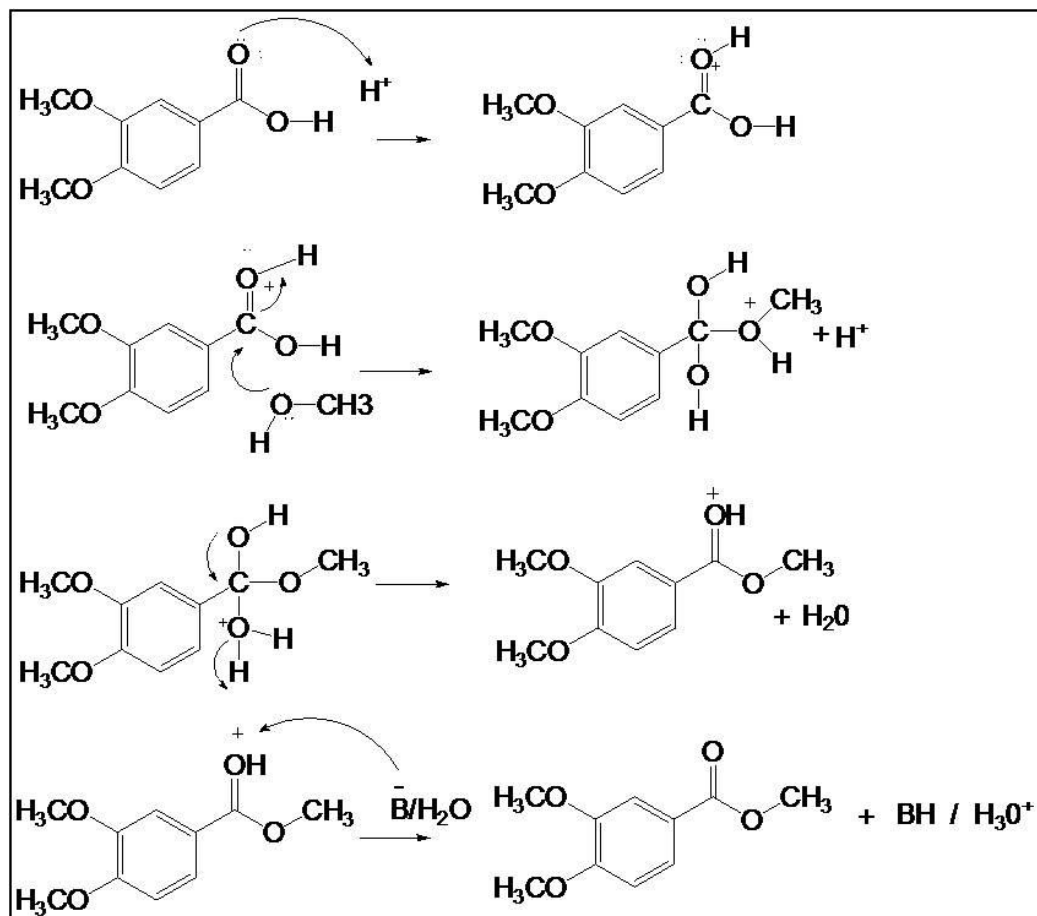


Figura 68- Mecanismo proposto para a reação de esterificação do ácido 3,4-dimetóxi-benzóico.

Fonte: Do autor.

O ácido 3,4-dimetóxi-benzóico não é suficientemente reativo para sofrer diretamente uma adição nucleofílica tornando a reação muito lenta, mas sua reatividade é aumentada na presença de um ácido forte como HCl ou H₂SO₄. A presença do ácido mineral favorece o equilíbrio reacional e um excesso de ácido carboxílico aumenta o rendimento reacional (SOLOMONS E FRYHLE, 2004; MCMURRY. J, 2011). O átomo de oxigênio da carbonila é então protonado pelo ácido mineral, fornecendo uma carga positiva ao ácido carboxílico e tornando-o mais reativo para a reação. Posteriormente a formação de um intermediário tetraédrico com formação de uma molécula de água intramolecular e subsequente eliminação da mesma leva a formação do éster.

Para a elucidação estrutural do composto **9** foram realizadas as análises por Espectroscopia na região do IV, Espectrometria de Massas e RMN. Através da análise do espectro de infravermelho (Figura 69) pôde-se notar a presença de bandas de ν da ligação C-H de anéis aromáticos em 3.089 cm^{-1} , bandas de estiramento dos grupamentos metila próximos a 3.000 e 2.958 cm^{-1} e bandas de estiramento de ligações C-H de grupamentos metileno em frequências mais baixas como 2.934 e 2.841 cm^{-1} . Observou-se ainda uma banda de ν da ligação C=O do éster dissustituído em 1.716 cm^{-1} frequências mais baixas devido a conjugação com o anel aromático, bem como a deformação axial da ligação C=C do anel aromático em 1.594 cm^{-1} . Pôde-se notar também bandas de deformação angular da ligação C-H de CH_3 em 1.462 cm^{-1} e 1.413 cm^{-1} e a presença da banda dupla acoplada de estiramento da ligação C-O de ésteres em 1.228 e 1.105 cm^{-1} . A presença de tais bandas, sugeriram a formação do éster 3,4-dimetoxibenzoato de metila.

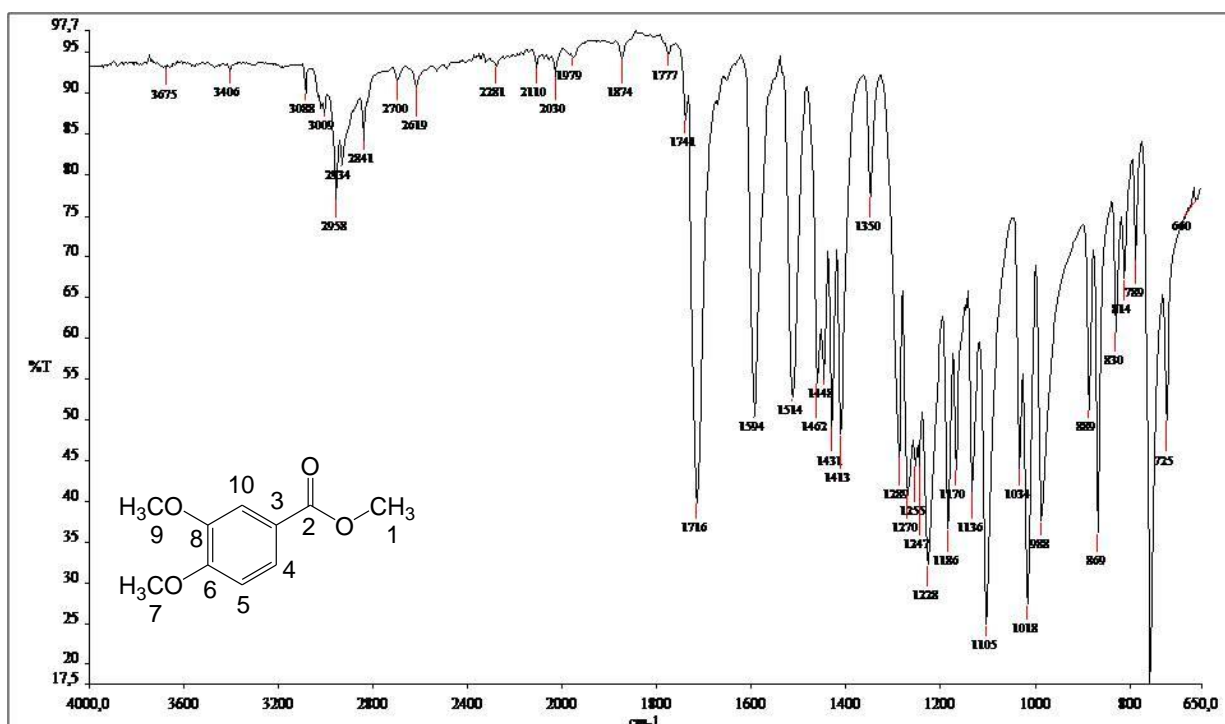


Figura 69- Espectro de absorção na região do IV para o composto **9** obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

A análise do espectro de massas do composto **9**, (Figura 70) indicou a massa exata de 196 g/mol . A fragmentação do composto e as intensidades relativas dos principais picos estão indicadas na Tabela 6.

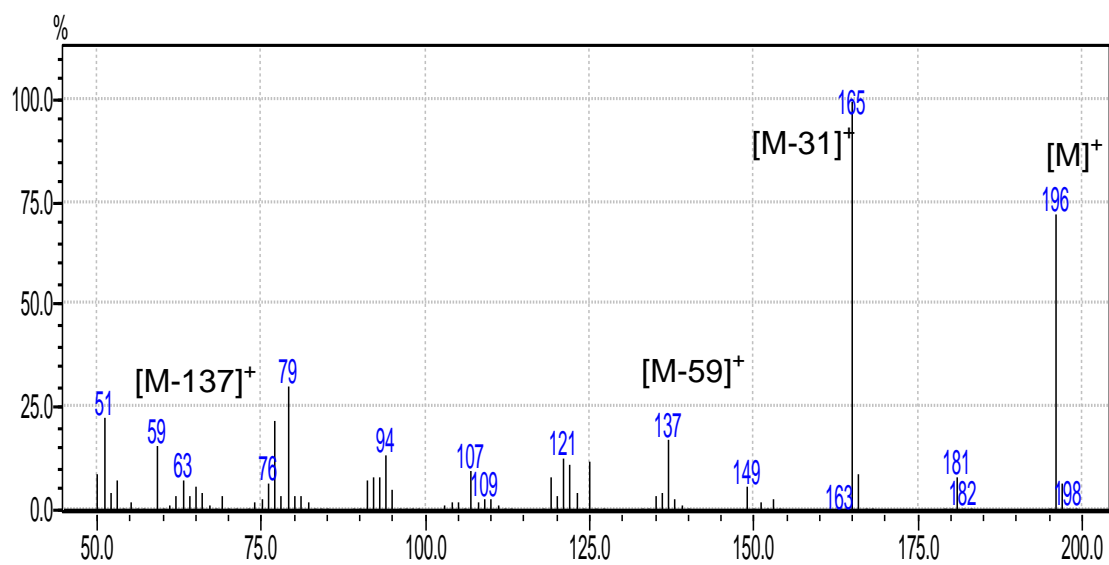


Figura 70- Espectro de massas obtido para o composto 9.
Fonte: Do autor.

Tabela 6- Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto 9.

| m/z | Fragmento | Intensidade relativa |
|-----|---|----------------------|
| 196 | $[\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4]^{\bullet+}$ | 75 |
| 165 | $[\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3]^{\bullet+}$ | 100 |
| 137 | $[\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2]^+$ | 15 |
| 59 | $[\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2]^{\bullet+}$ | 10 |

Fonte: Do autor.

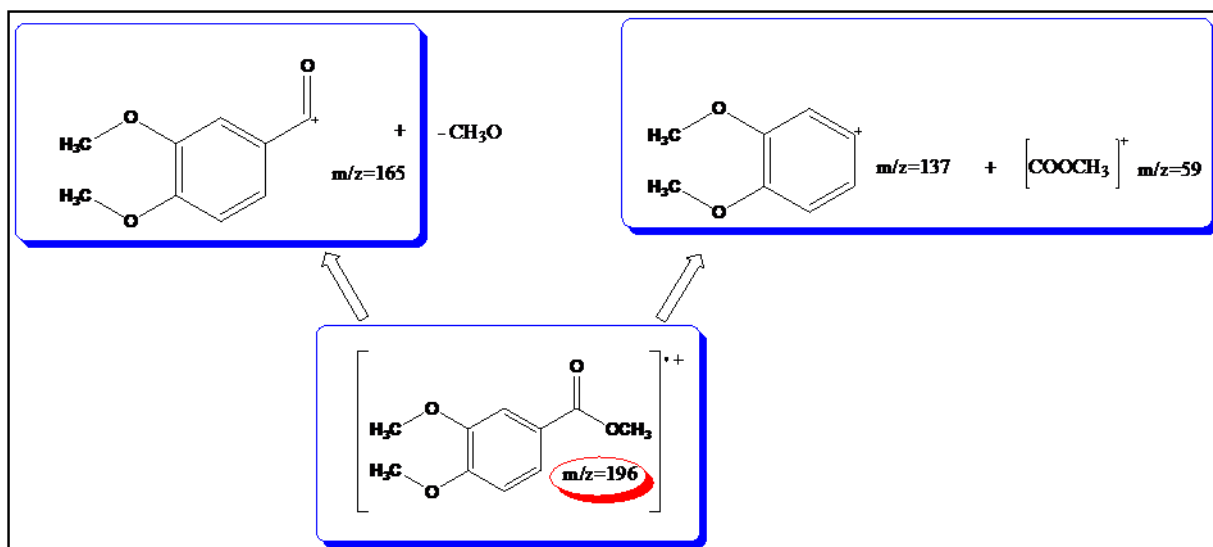


Figura 71- Mecanismo de fragmentação proposto do composto **9**.
Fonte: Do autor.

No espectro de RMN de ^1H de **9** (Figura 73) foram observados três singletos em δ 3.87, 3.88 e 3.90 ppm, integrando juntos para 9 hidrogênios, que foram atribuídos as metilas dos grupos metoxilas de C-1, C-9 e C-7, respectivamente. Foram ainda observados os sinais dos hidrogênios do anel aromático: um duplete em δ 7.02 ppm ($J_{\text{orto}} = 10$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-5 com integral referente a um hidrogênio. Também foi observado o duplete em δ 7.54 ppm ($J_{\text{meta}} = 5$ Hz), com integral referente a um hidrogênio, que foi associado ao hidrogênio H-10 e o duplo duplete em δ 7.64-7.66 ppm ($J_{\text{orto}} = 10$ Hz e $J_{\text{meta}} = 5$ Hz) com integral referente a um hidrogênio que foi associado ao hidrogênio H-4. No espectro de DEPT-Q para o composto **9**, pode-se notar a presença de um sinal em δ 51.07 ppm o qual foi atribuído a metila do éster no carbono C-1; um sinal em δ 54.98 ppm atribuído aos carbonos C-7 e C-9 das metoxilas ligadas ao anel aromático; os sinais atribuídos à C-10, C-5 e C-4 em δ 109.94, 111.80 e 123.27 ppm respectivamente. Também foi observado um sinal em δ 121.97 ppm atribuído a C-3, um sinal em δ 148.83 ppm atribuído a C-8, um sinal em δ 153.51 ppm atribuído a C-6 e por fim um sinal em δ 167.03 o qual foi atribuído ao carbono C-2 da carbonila do grupo éster.

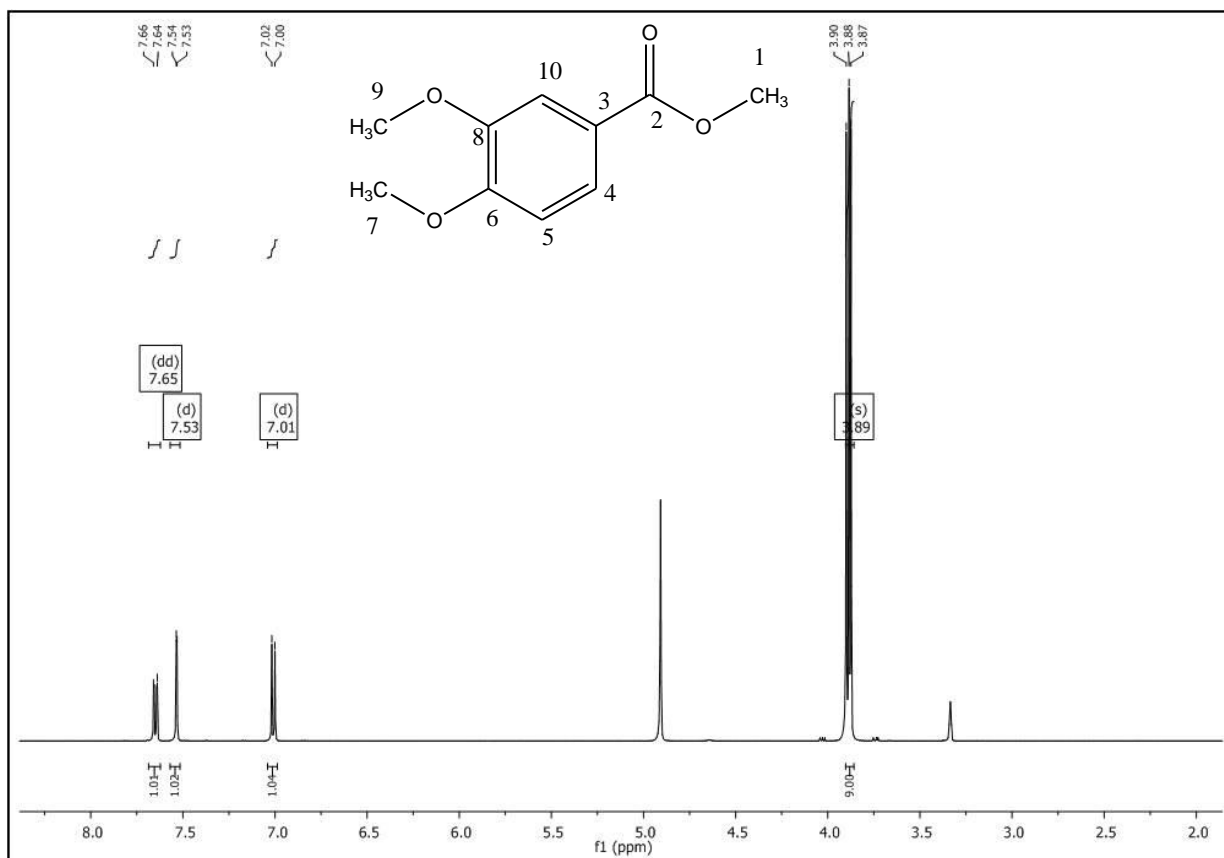


Figura 72- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) do composto **9**.
Fonte: Do autor.

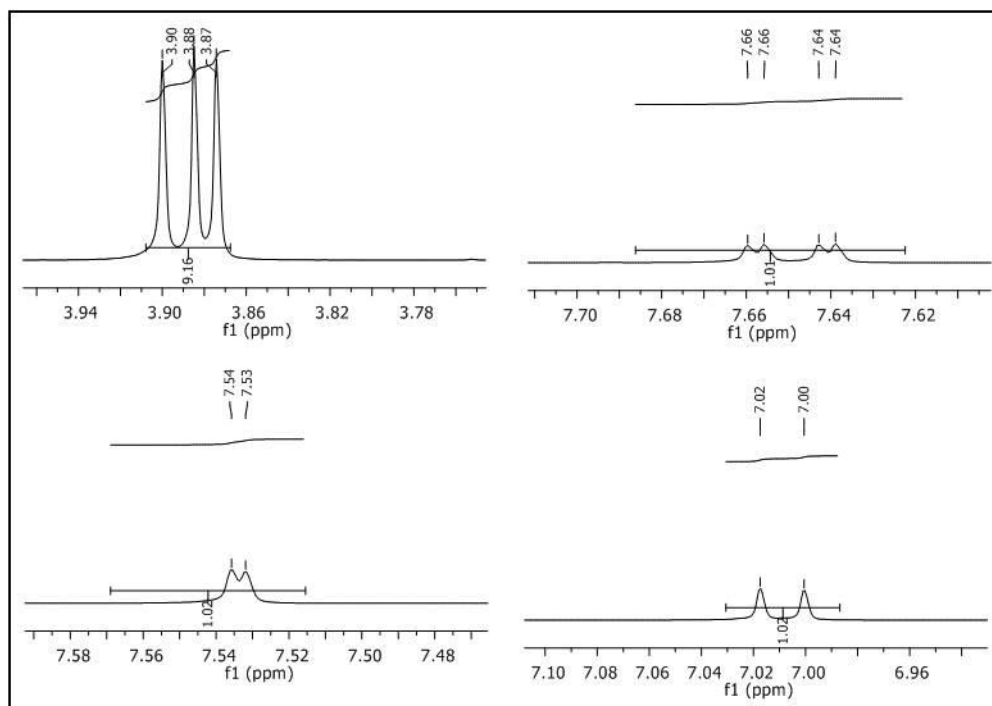


Figura 73- Ampliação do espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) do composto **9**.
Fonte: Do autor.

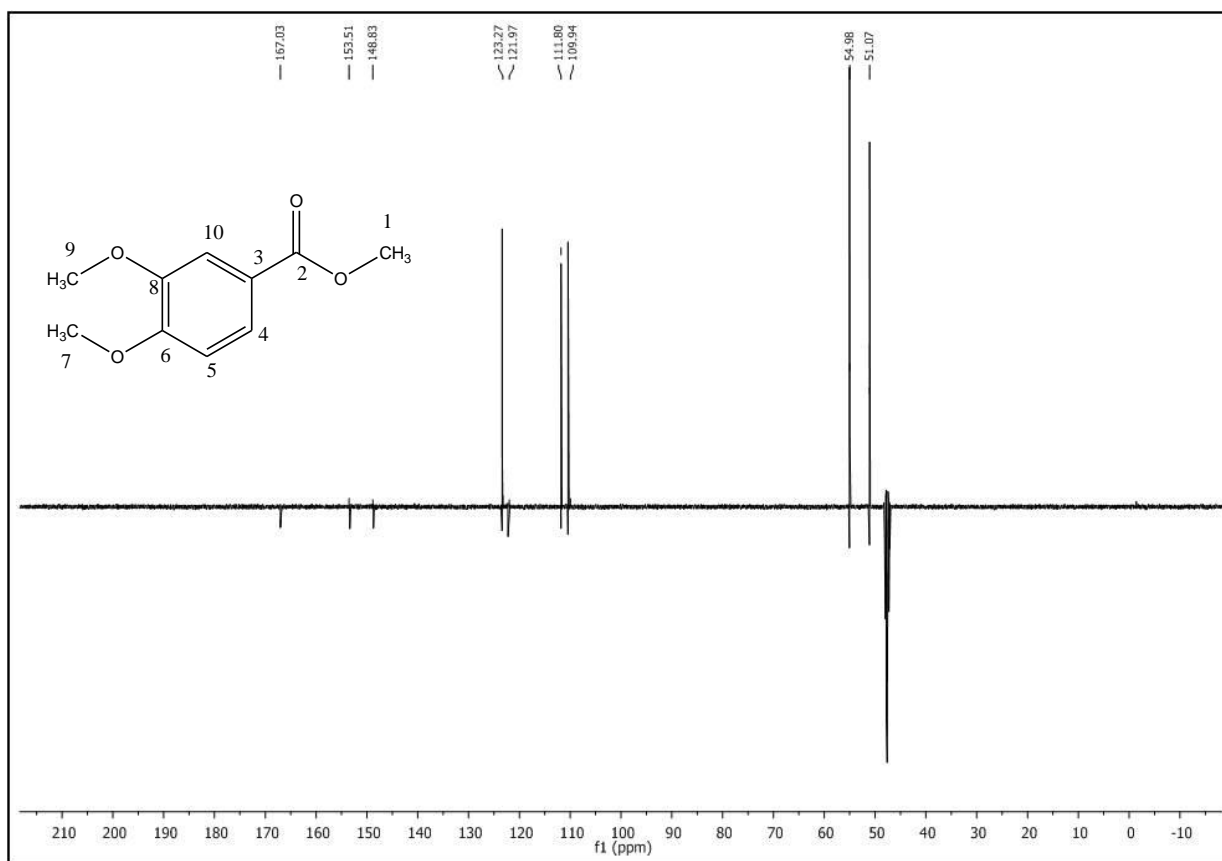


Figura 74- Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto **9**.
Fonte: Do autor.

Após a obtenção do éster **9**, partiu-se para obtenção de 3,4-dimetóxi benzohidrazida (**8**) através da metodologia descrita por Duarte (DUARTE, TRIBUTINO, *et al.*, 2007). A reação foi realizada com o éster **9** em monidrato de hidrazina ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e etanol, durante 4 horas, quando por CCD verificou-se o término reacional.

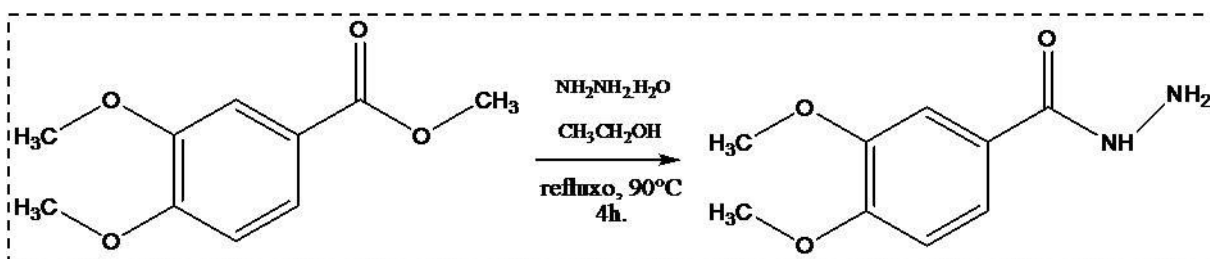


Figura 75- Reação de hidrazinólise do éster 3,4-dimetóxi benzoato de metila com $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.
Fonte: Do autor.

O mecanismo para obtenção da hidrazida se baseia na adição nucleofílica à carbonila do éster, para posterior eliminação do grupo de saída e formação da hidrazida correspondente **8**. O ataque nucleofílico da hidrazina ao carbono carbonílico do éster leva a formação de um intermediário tetraédrico dipolar e a liberação de um grupamento metóxi, que é um bom grupo abandonador, gerando uma hidrazida protonada que tem o H^+ rapidamente abstraído, gerando a hidrazida final.

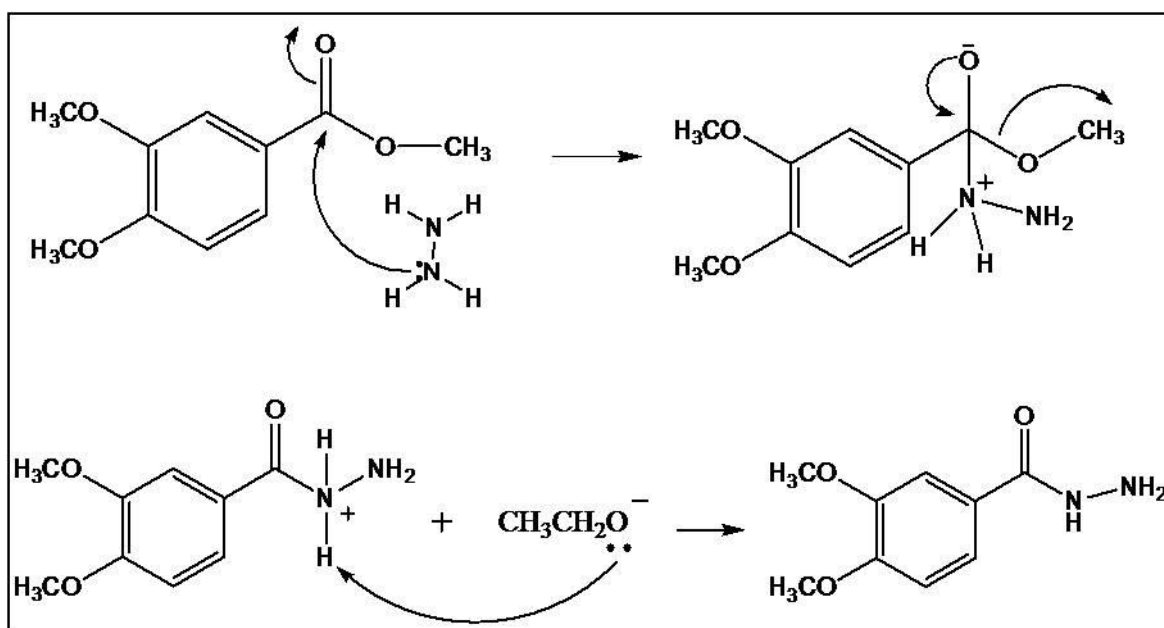


Figura 76- Mecanismo proposto para a formação da 3,4-dimetóxi-benzohidrazida.
Fonte: Do autor.

Através do espectro de IV do composto **8**, pode-se observar a banda de ν da ligação N-H em frequência de 3.305 cm^{-1} ; as bandas de ν da ligação C-H de grupamentos metila em 2.981 cm^{-1} e bandas de estiramento de ligações C-H de grupamentos metileno em frequências mais baixas como 2.916 e 2.841 cm^{-1} . Observa-se ainda a banda de ν da ligação C=O em 1.627 cm^{-1} (deslocada para valores mais baixos devido a presença do nitrogênio vicinal) e a banda de deformação axial da ligação C=C do anel aromático em 1.575 cm^{-1} . Podem-se notar também bandas de deformação angular da ligação C-H de CH_3 em 1.508 cm^{-1} , a banda de estiramento da ligação C-N em 1.467 cm^{-1} e a presença da banda larga de deformação angular fora do plano para a ligação N-H em 613 cm^{-1} . Tais bandas principais, podem indicar a formação do composto **8**.

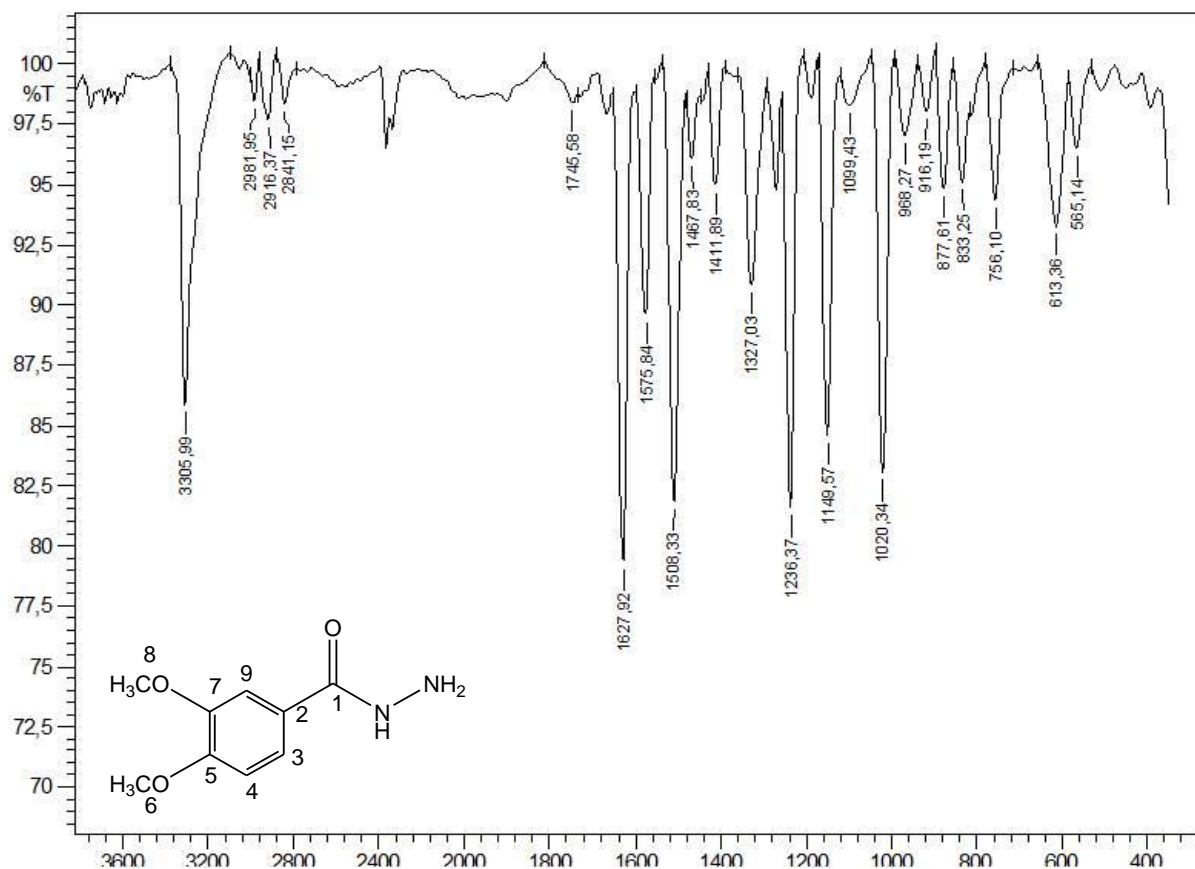


Figura 77- Espectro de absorção na região do IV para o composto **8** obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

O espectro de massas do composto **8** revelou os principais picos e a massa molecular do composto foi identificada como MM=196 g/mol. Os principais fragmentos bem como as intensidades relativas estão descritos na Tabela 7.

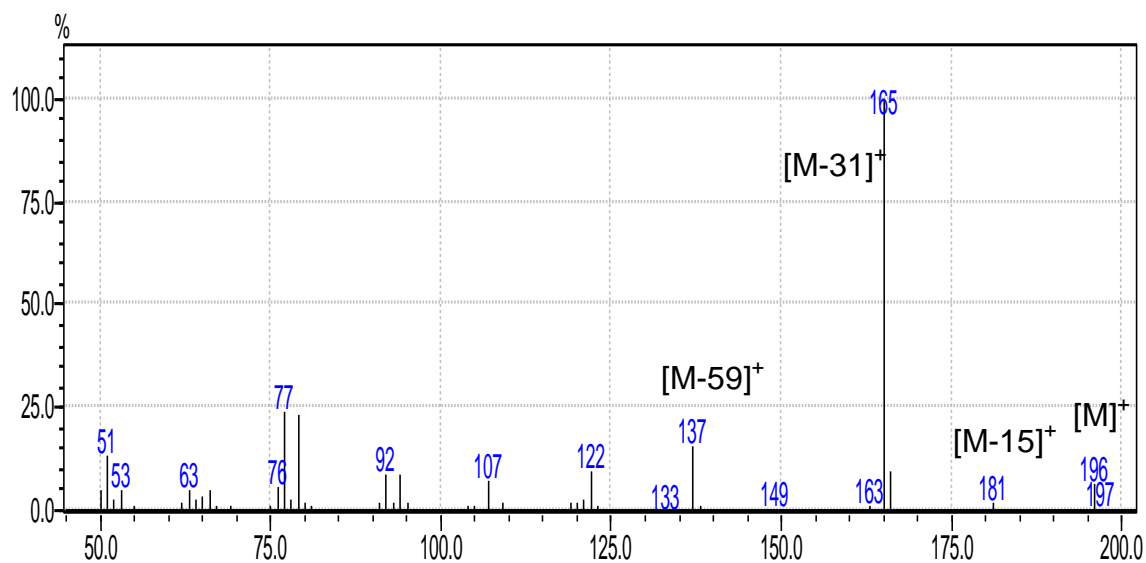


Figura 78- Espectro de massas para a 3,4-dimetóxi-benzohidrazida (**8**).
Fonte: Do autor.

Tabela 7- Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto **8**.

| m/z | Fragmento | Intensidade relativa |
|-----|--|----------------------|
| 196 | $[\text{C}_9\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3]^{\bullet+}$ | 1 |
| 181 | $[\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3]^{\bullet+}$ | 5 |
| 165 | $[\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2]^+$ | 100 |
| 137 | $[\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2]^+$ | 25 |

Fonte: Do autor.

Através do mecanismo de fragmentação proposto (Figura 79), pode-se notar a presença do pico íon molecular com razão m/z 196, e o pico base com razão m/z 165 além de outros fragmentos propostos.

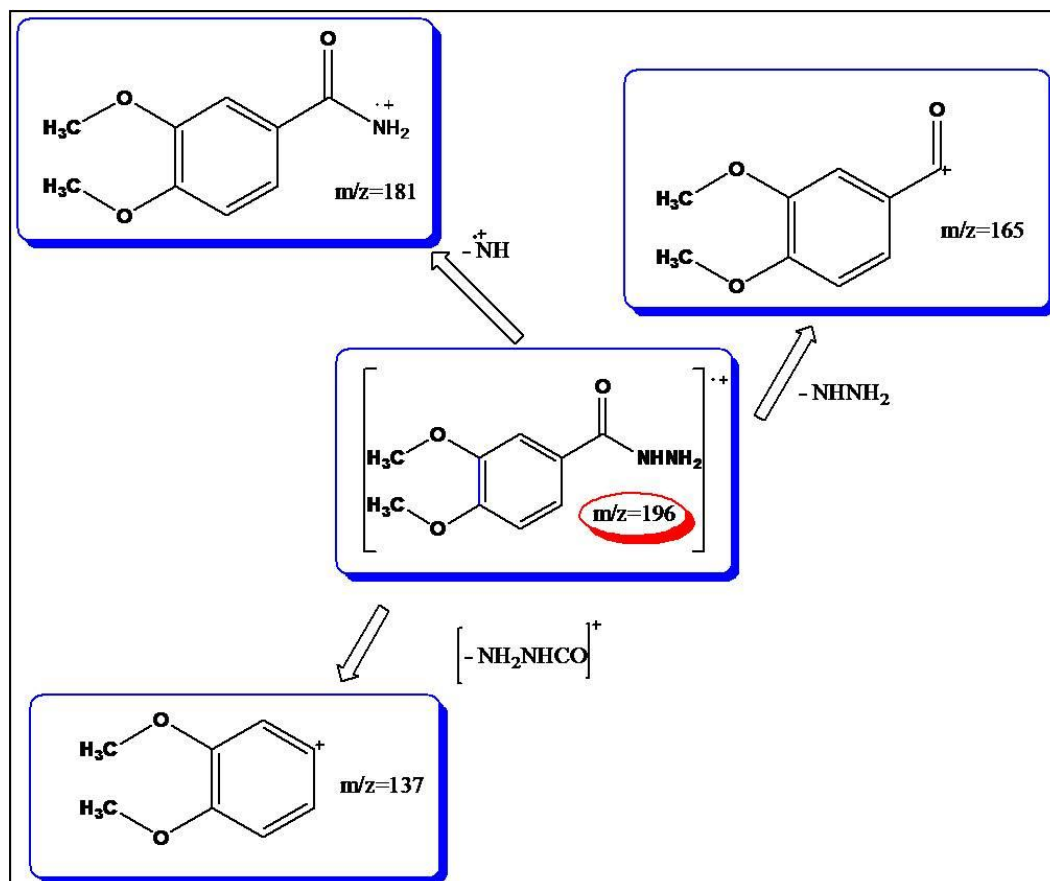


Figura 79- Mecanismo de fragmentação proposto para a hidrazida **8**.
Fonte: Do autor.

Para a completa elucidação estrutural da hidrazida, foi analisado o espectro de RMN ^1H e DEPT-Q para o composto **8**. Pode-se observar no espectro de ^1H (Figura 80), o sinal em δ 3.89 ppm, integrando juntos para 6 hidrogênios, que foram atribuídos as metilas dos grupos metoxilas de C-6 e C-8. Foram ainda observados os sinais dos hidrogênios do anel aromático: um multipletto em δ 7.02 ppm atribuído ao hidrogênio H-9 com integral referente a um hidrogênio. Também foi observado o multipletto em δ 7.43 ppm com integral referente a um hidrogênio, que foi associado ao hidrogênio H-4 e o triplo dupletto em δ 7.51 ppm ($J_{\text{orto}}=9$ Hz, $J_{\text{axial}}=4,5$ Hz e $J_{\text{meta}}=3$) com integral referente a um hidrogênio que foi associado ao hidrogênio H-3. No espectro de DEPT-Q para o composto **8**, pode-se notar a presença de um sinal em δ 54.84 ppm o qual foi atribuído a metila das metoxilas ligadas ao anel aromático no carbono C-8 e C-6; os sinais atribuídos à C-4, C-9 e C-3 em δ 110.10, 110.70 e 120.77 ppm respectivamente. Também foi observado um sinal em δ 125.02 ppm atribuído a C-2, um sinal em δ 149.03 ppm atribuído a C-7, um sinal em δ 152.05

ppm atribuído a C-5 e por fim um sinal em δ 167.90 o qual foi atribuído ao carbono C-1. Estes dados confirmaram a estrutura da hidrazida **8** sintetizada.

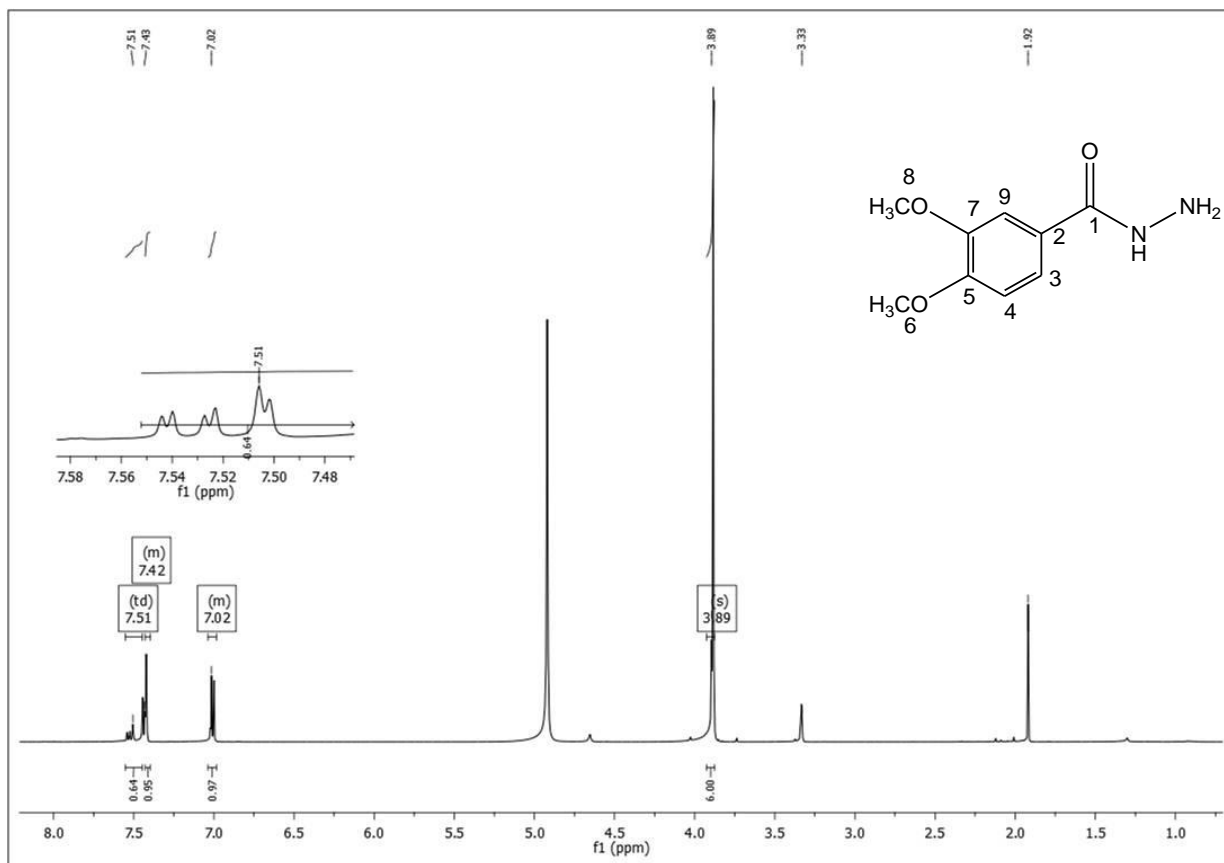


Figura 80- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) do composto **8**.
Fonte: Do autor.

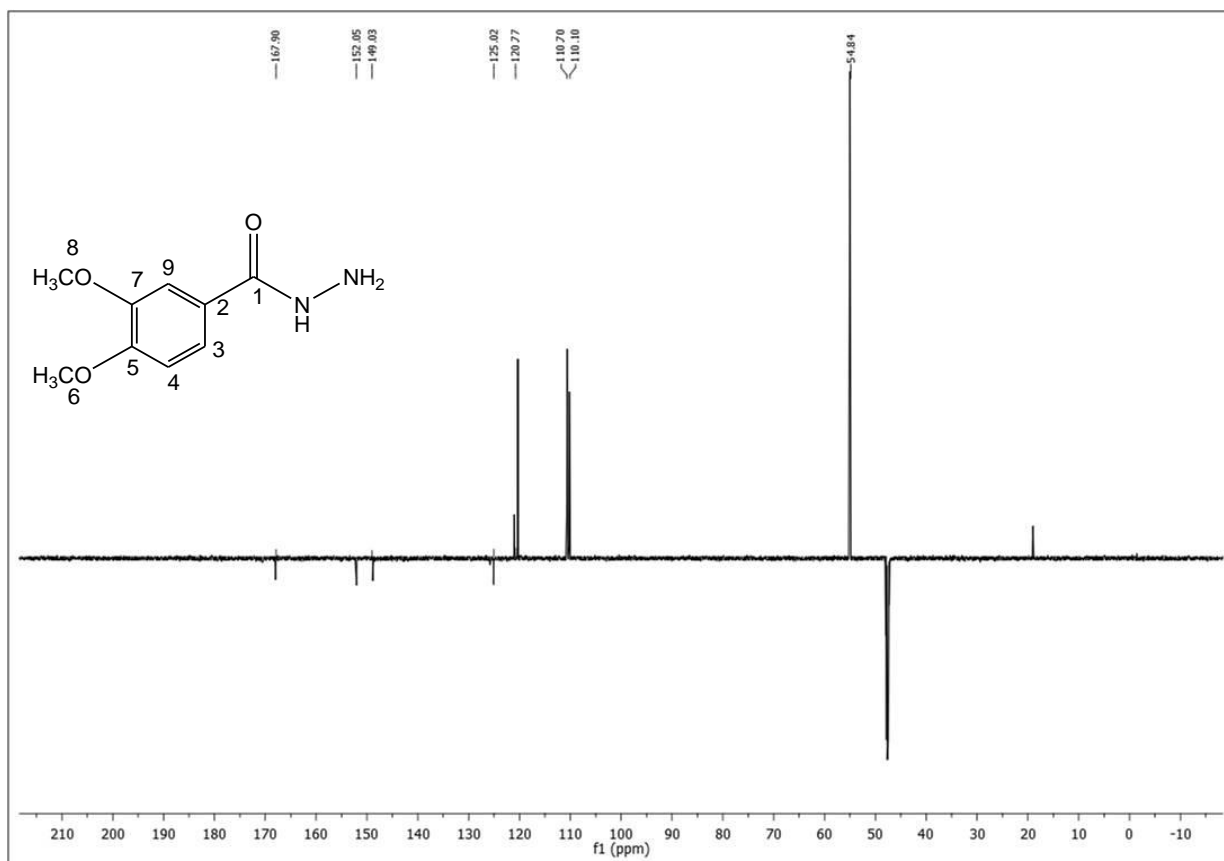


Figura 81- Espectro DEPT-Q (500 MHz, MeOD) do composto **8**.
Fonte: Do autor.

A última etapa para a síntese da série **7**, como descrita na Figura 47 foi o acoplamento entre o aldeído **15** e a hidrazida **8** para formar a acilhidrazona correspondente **17**. Este método já havia sido descrito na literatura como reação de condensação de aldeídos ou cetonas à hidrazinas formando hidrazonas (CACHIBA et al., 2012); (BARREIRO et al, 2002).

A reação foi conduzida segundo a metodologia descrita na literatura (BARREIRO et al, 2002). a partir do acoplamento da hidrazida **8** e do aldeído **15** em estequiometria (1): (1.1), respectivamente, em etanol com adição de duas gotas de HCl. A reação formou um precipitado amarelo, após a retirada do solvente e foi finalizada após 120 horas.

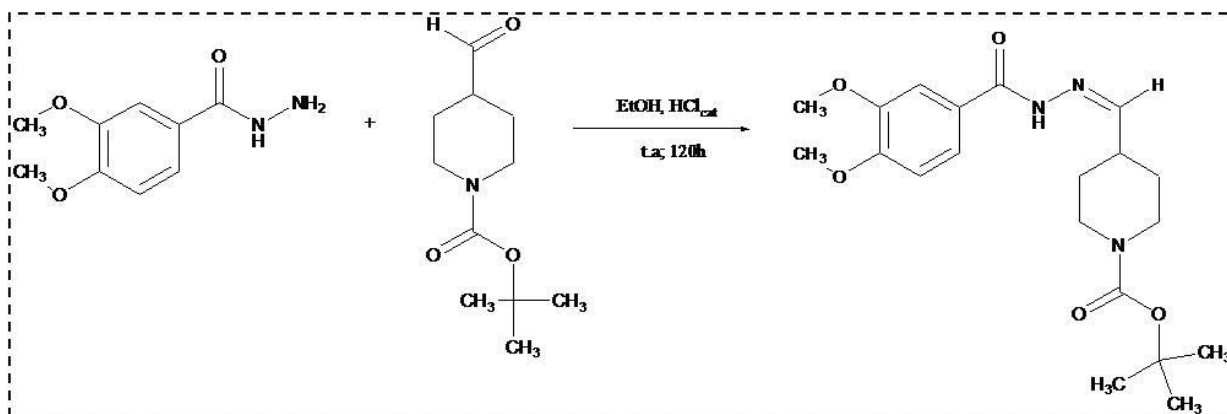


Figura 82- Esquema reacional de obtenção da acilidrazona 17.
Fonte: Do autor.

O mecanismo da reação de acoplamento sugere a reação entre o substrato (aldeído ou cetona) com o nucleófilo hidrazina para formar a correspondente hidrazona a partir do ataque nucleofílico do nitrogênio da hidrazina ao carbono eletrofílico da carbonila, seguido de eliminação de uma molécula de água e desprotonação da hidrazida formando o produto final.

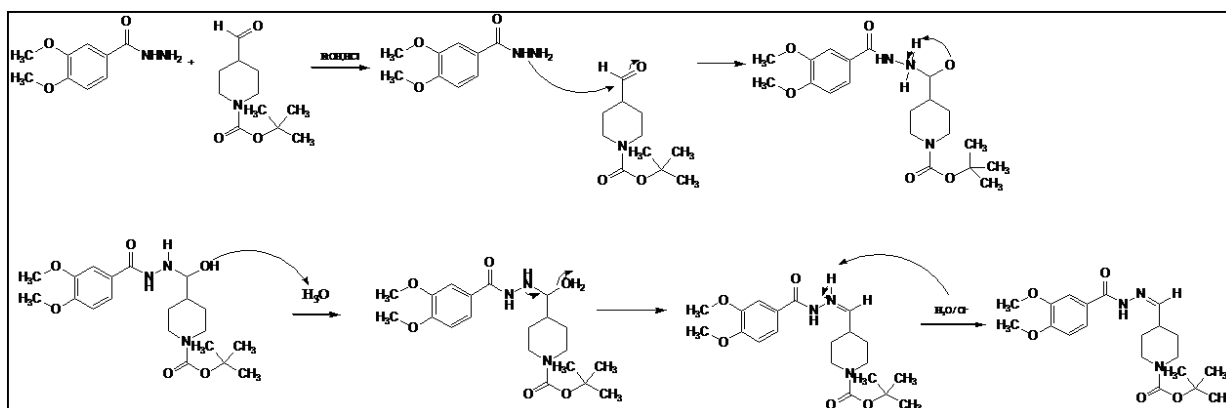


Figura 83- Mecanismo proposto para a reação de acoplamento da hidrazida 8 e do aldeído 15.
Fonte: Do autor.

Observou-se, por cromatografia em camada delgada, que a formação do produto mesmo após um longo período reacional (120 h) era muito pequena e que uma parte dos materiais de partida (aldeído e hidrazida) ainda se encontravam presentes após a finalização da reação. Tentativas de otimizar a mesma foram propostas alterando-se a metodologia inicialmente empregada, primeiramente com o aumento da temperatura e com a troca do solvente pelo sistema THF/EtOH/ácido acético (já descrito na literatura para reações de formação de acilidrazonas). Porém, notou-se que nenhuma dessas modificações foi significativa na obtenção do produto

final puro, uma vez que ao se observar a CCD para todas as reações o padrão final era o mesmo, apresentando ainda os reagentes de partida. A purificação da acilhidrazona por cromatografia em camada delgada foi realizada, porém as frações parecem indicar a degradação do produto formado, já que não revelaram (em espectrometria de massas) a formação do mesmo. Assim com o objetivo de verificar apenas a formação do produto, ainda que impuro, o mesmo foi caracterizado.

O espectro de IV obtido para o composto **17** apresentou as bandas de ν da ligação N-H entre 3.446 e 3.381 cm^{-1} e também nessa região as bandas referentes ao ν C-H alifática e aromática entre 3.107 e 2.987 cm^{-1} . Ainda foram observadas as bandas harmônicas ou de combinação características de anéis aromáticos em 1.911 a 1.830 cm^{-1} ; a banda em 1.666 cm^{-1} referente à ν C=O da acilidrazona; a banda de deformação angular de N-H de 1.647 a 1.558 cm^{-1} ; a banda de ν C-N em 1.278 cm^{-1} ; as bandas em 1.238 e 1.099 cm^{-1} referentes aos ν_{as} e ν_{s} de C-O-C respectivamente. Notou-se ainda a ausência das bandas em 1.724 cm^{-1} e 1.695 cm^{-1} referentes aos ν da ligação C=O de aldeídos e carbamatos respectivamente, fato que indicou a possibilidade do acoplamento entre a hidrazida **8** e o aldeído **15**, porém já com a desproteção do N piperidínico. Apesar de haverem muitas descrições na literatura indicando a desproteção do grupamento *t*-Boc com ácidos muito fortes como o ácido trifluoracético (SRINIVASAN; YUREK-GEORGE; GANESAN, 2005); (MEFREE et al., 1996), há também relatos da desproteção em ácido clorídrico (ASHWORTH, COX e MEYRICK, 2010), como foi o indicado através do espectro de IV para a acilidrazona.

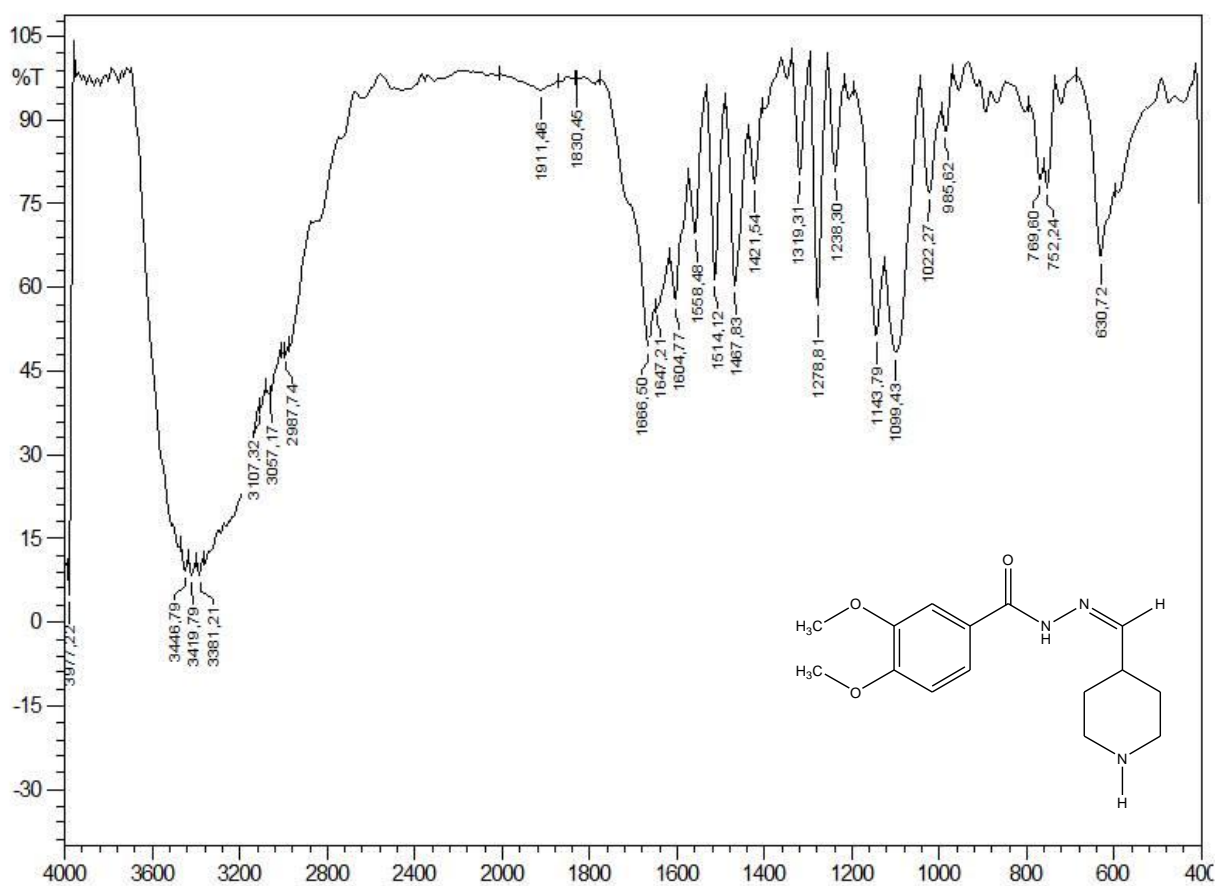


Figura 84- Espectro de absorção na região do IV para o composto **17** obtido em KBr.
Fonte: Do autor.

Para corroborar com a elucidação estrutural, foi obtido o espectro de massas de alta resolução para o produto formado. A massa molecular da acilhidrazona de 292 g/mol foi identificada como o pico base $[M+1]$, além do pico com razão $m/z=314$ g/mol sendo identificado como $[M+Na]^+$.

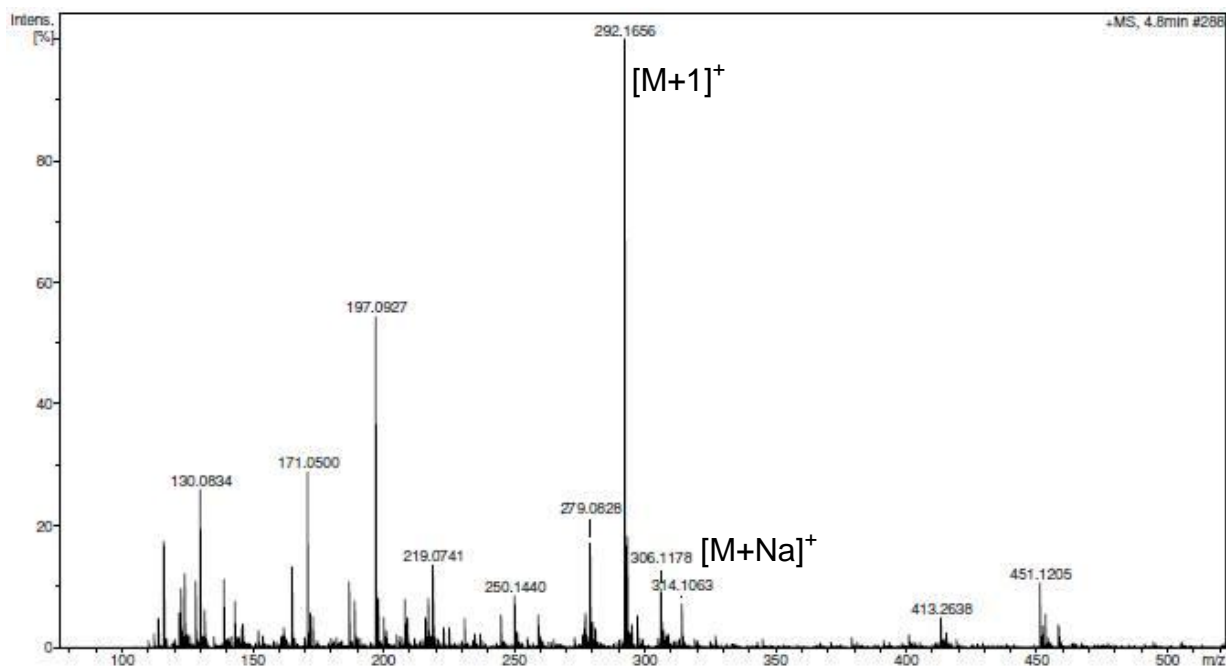


Figura 85- Espectro de massas de alta resolução obtido para o produto **17**.
Fonte: Do autor.

A análise do espectro de RMN de ^1H demonstrou um singlete em δ 3.92 ppm, integrando para 6 hidrogênios, que foram atribuídos as metilas dos grupos metoxilas de C-12 e C-14. Foram ainda observados os sinais dos hidrogênios do anel aromático: um multiplete em δ 7.10-7.02 ppm atribuído ao hidrogênio H-15 com integral referente a um hidrogênio. Também foi observado o multiplete em δ 7.52-7.68 ppm com integral referente a três hidrogênios, que foi associado aos hidrogênio H-6, H-9 e H-10 (obs: o hidrogênio respectivo da ligação HC=N têm região muito coincidente com o deslocamento químico dos hidrogênios aromáticos, sendo observado no espectro de ^1H pela integração dos sinais obtidos). O sinal em δ 2.72 com integral referente a um hidrogênio foi associado o hidrogênio H-5; o sinal em δ 2.19-2.16 ppm (integral para dois hidrogênios) e 1.98-1.91 ppm (integral para dois hidrogênios) referentes aos hidrogênios H-4', H-3', H-4 e H-3; os sinais em δ 3.48-3.42 ppm (com integral para dois hidrogênios) e δ 3.13-3.10 (com integral referente a dois hidrogênios) associados aos hidrogênios H-2', H-1', H-2 e H-1.

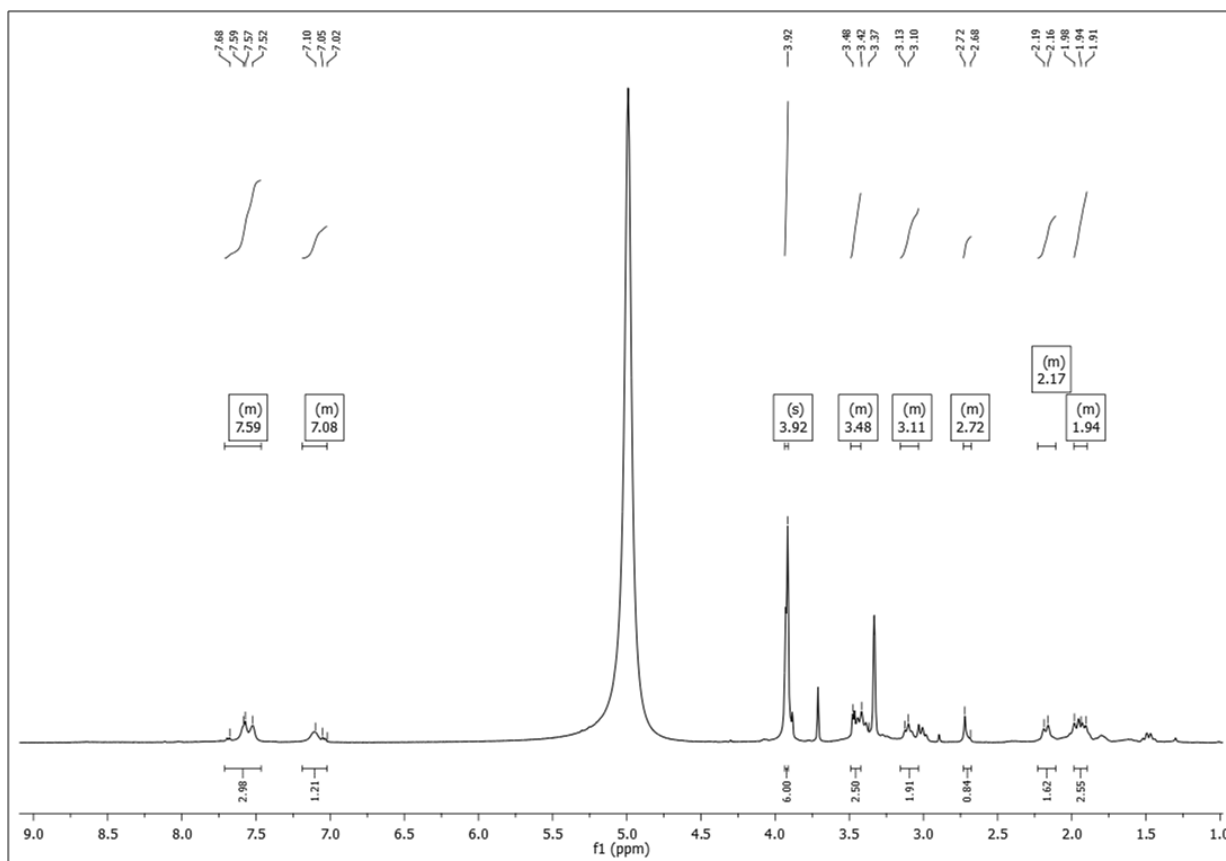


Figura 86- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, MeOD) do composto **17**.
Fonte: Do autor.

Os mapas de contorno HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*-Coerência Heteronuclear através de muitas ligações) e HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*- correlação heteronuclear múltiplo quântico) da acilidrazona **17** forneceram os valores para os deslocamentos de carbonos da molécula **17** e suas respectivas correlações.

No espectro HMQC para a acilidrazona **17**, foram identificadas as correlações entre H-12 e H-14 (δ 3.91 ppm) e C-12 e C-14 (δ 55.08 ppm) bem como as correlações dos hidrogênios e carbonos do anel aromático: H-15 (δ 7.10-7.02 ppm) e C-15 (δ 110.67 ppm); H-9 e H-10 (δ 7.51-7.57 ppm) e C-9 e C-10 (δ 110.41 e 121.50 ppm), não sendo indicada a correlação direta entre H-6 e C-6 como era esperado para a confirmação do acoplamento em deslocamentos próximos a δ 7.6 e δ 153 respectivamente. Outras correlações puderam ser observadas, como H-5 (δ 2.72 ppm) e C-5 (δ 37.58 ppm); H-4 e H-3 (δ 2.19 e 1.93 ppm) com C-4 e C-3 (δ 24.38 e 24.27 ppm) e H-2 e H-1 (δ 3.46 e 3.12 ppm) com C-2 e C-1 (δ 65.32 e 42.57 ppm).

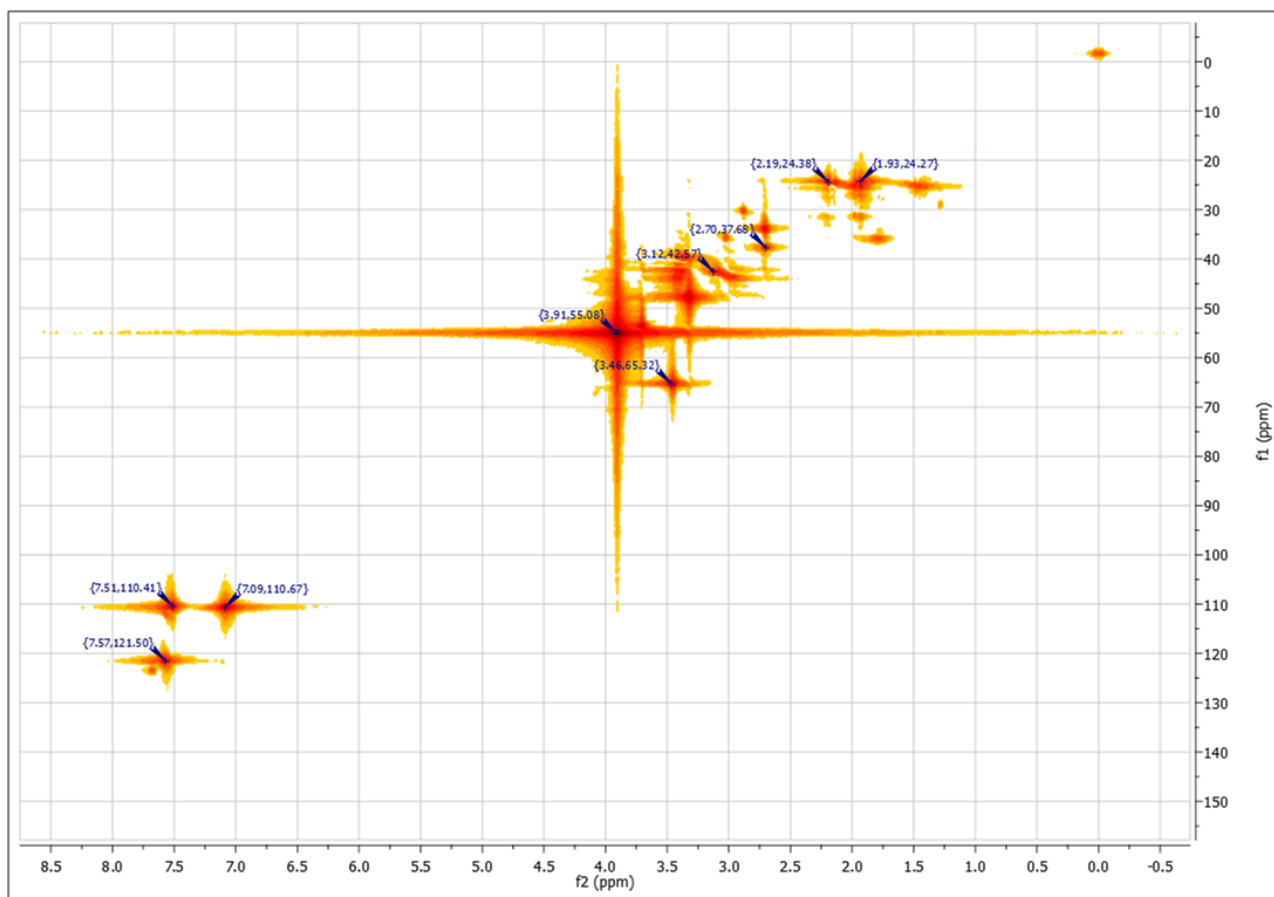


Figura 87- Espectro HMQC (500 MHz, MeOD) para o composto **8**.
Fonte: Do autor.

No espectro HMBC foram identificadas as correlações a longa distância, entre C-7 (δ 166.79 ppm) e H-9 (δ 7.57 ppm); C-13 (δ 148.69 ppm) e H-15 (δ 7.05 ppm); C-11 (δ 148.90 ppm) e H-12 (δ 3.91 ppm), além de correlações entre C-5 (δ 37.58 ppm) e H-2/H-1 (δ 3.46 e 3.12 ppm) e C-4 e C-3 (δ 24.38 e 24.27 ppm) e H-2/H-1 (δ 3.46 e 3.12 ppm). Porém, novamente não foi observado correlação do carbono íminico (esperado em um deslocamento próximo a 153 ppm) com nenhum hidrogênio próximo, como H-3, H-4, H-1 ou H-2. Dessa forma, pode-se notar que a acilidrazona formada teve sua massa molecular comprovada por espectrometria de massas, mas o mesmo não pôde ser comprovado por RMN, possivelmente devido aos materiais de partida ainda presentes na amostra que tiveram sua expressão aumentada perante o produto formado devido a sua pequena quantidade na amostra impura.

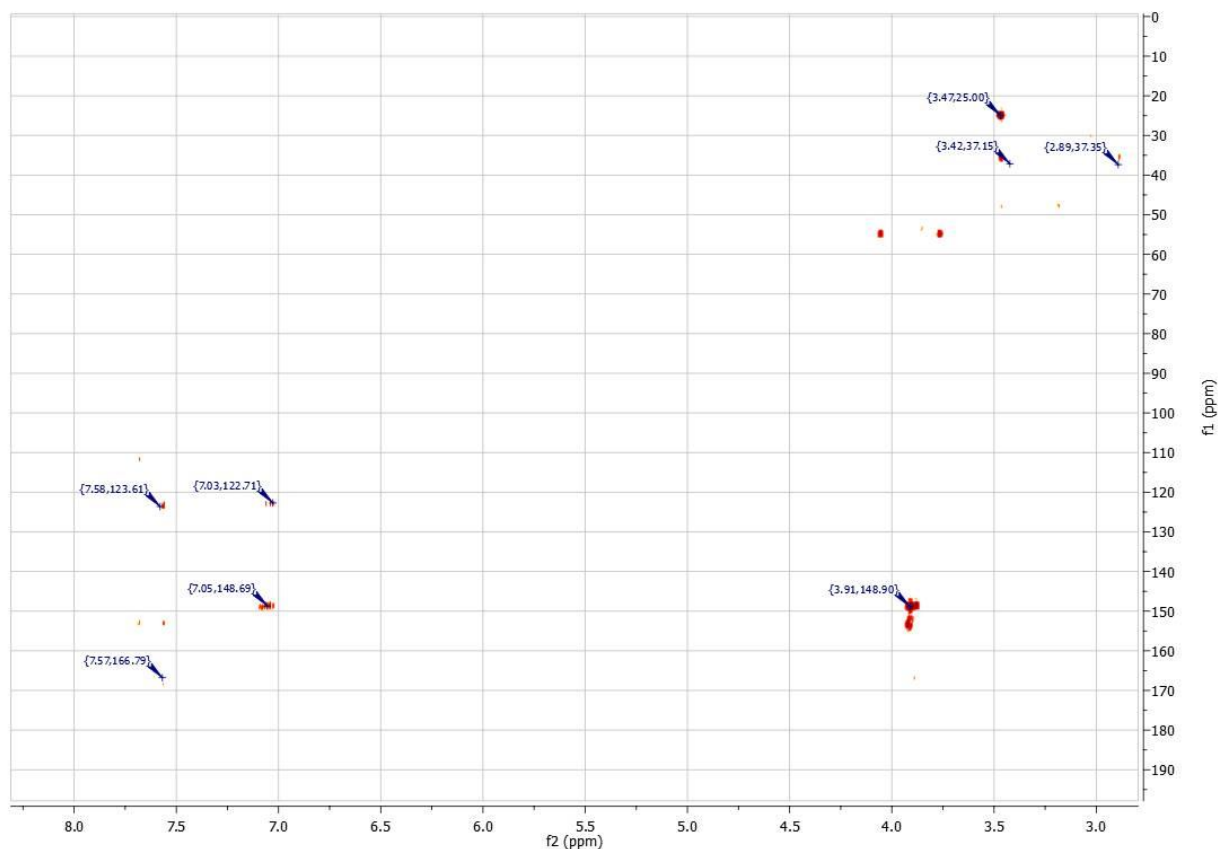


Figura 88- Espectro de HMBC (500 MHz, MeOD) para o composto **8**.
Fonte: Do autor.

Foi realizado um estudo desta etapa de acoplamento entre a hidrazida **8** e aldeído **15**, para posterior obtenção da série **7**, por cálculos de mecânica quântica com o intuito de verificar o quão favorável energeticamente era esta reação. Os resultado também poderiam fornecer informações adicionais sobre a natureza eletrônica das estruturas moleculares estudadas neste trabalho, uma vez que estudos teóricos podem fornecer resultados de grande valia devido ao alto grau de informações físico-químicas obtidas (THOMAS, 2003). Para as moléculas **8**, **15** e **17** foram calculadas as energias dos orbitais de fronteira HOMO (orbital molecular ocupado de maior energia, *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (orbital molecular desocupado de menor energia, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) já que os coeficientes indicam a contribuição atômica e as densidades indicam regiões suscetíveis a ataques nucleofílicos e eletrofílicos.

Sabe-se que a energia do orbital HOMO pode ser relacionada diretamente ao potencial de ionização do composto em estudo e caracteriza a capacidade desta molécula em realizar ataques nucleofílicos. Diferentemente, a energia de LUMO está relacionada à afinidade eletrônica e assim caracteriza a susceptibilidade de um dado

composto em sofrer ataques por nucleófilos (PASSAMANI, 2009). Assim, o “GAP” de energia HOMO-LUMO (obtido a partir da diferença de energia entre esses orbitais) pode ser um indicador da estabilidade molecular do composto, sendo que quanto maior o valor de GAP maior a estabilidade frente às reações químicas e quanto menor este valor mais reativo é o reactante. Sendo assim, para uma dada reação em estudo, devem-se avaliar os orbitais HOMO para aquela espécie que se comportar como nucleófilo e os orbitais LUMO para o eletrófilo. Estes valores são apresentados na tabela 8.

Tabela 8- Dados teóricos para as energias de HOMO (E_{HOMO} , eV), LUMO (E_{LUMO} , eV) e GAP para as moléculas 8, 15 e 17.

| Molécula | E_{HOMO} | E_{LUMO} | GAP |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------|
| 8 | -0, 226051 | -0, 010550 | -0, 215500 |
| 15 | -0, 237293 | -0, 044233 | -0, 190600 |
| 17 | -0, 253900 | -0, 055470 | -0, 179920 |

Fonte: Do autor.

A análise dos resultados da tabela 5 não foi conclusiva acerca das moléculas em estudo, uma vez que as diferenças entre os valores de GAP não foram significativas e nem mesmo as energias separadamente. Assim, foi obtido o gráfico da densidade HOMO e LUMO para estas moléculas a fim de se correlacionar a densidade eletrônica destes orbitais com a facilidade ou dificuldade na ocorrência da reação.

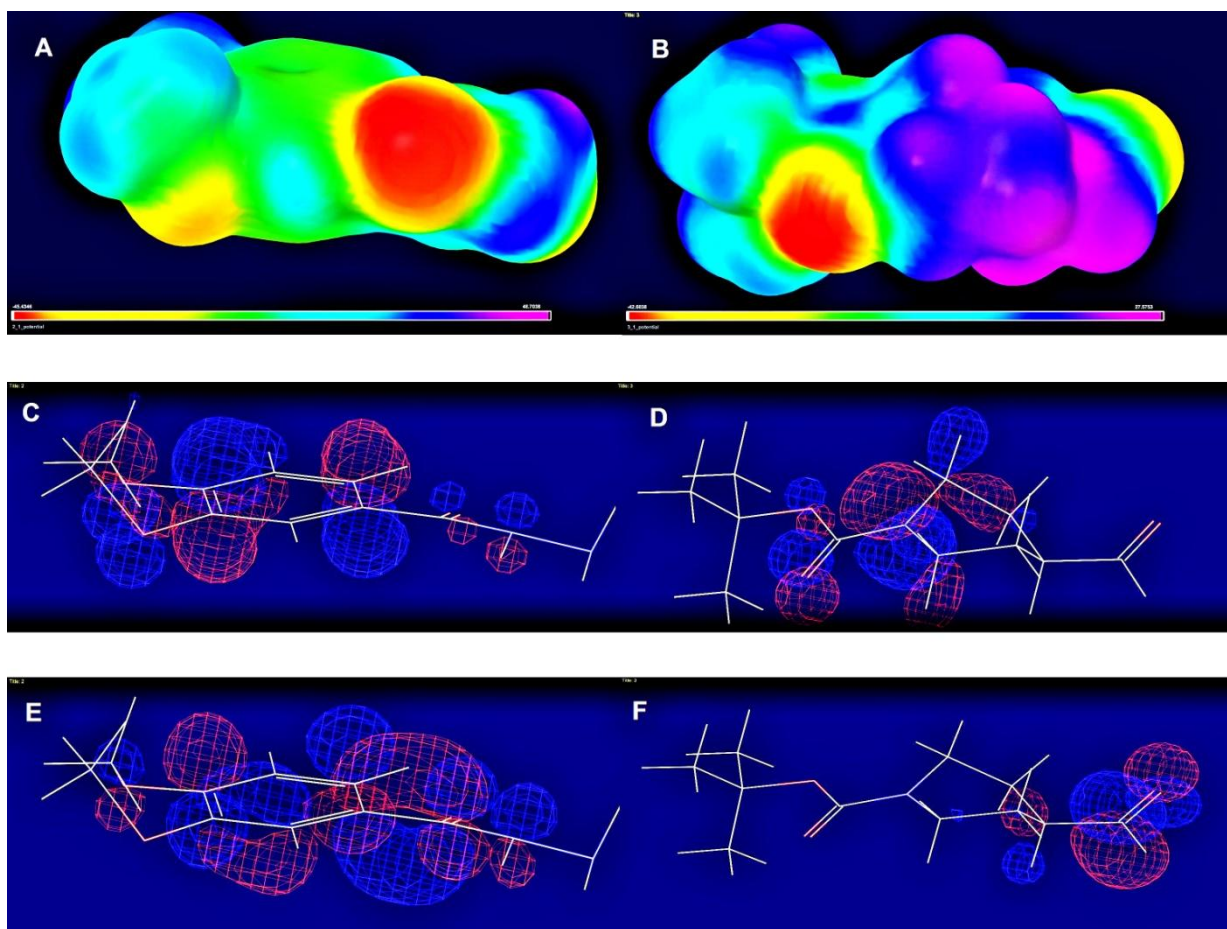


Figura 89- Avaliação do potencial eletrostático e densidade eletrônica dos orbitais HOMO e LUMO nas moléculas **8** e **15**. A) Mapa de potencial eletrostático para a hidrazida **8**. B) Mapa de potencial eletrostático para o aldeído **15**. C) Densidade dos orbitais HOMO para a hidrazida **8**. D) Densidade de LUMO para a hidrazida **8**. E) Densidade de HOMO para o aldeído **15**. F) Densidade de LUMO para o aldeído **15**.

Fonte: Do autor.

O gráfico de densidade eletrônica dos orbitais HOMO e LUMO demonstrou a existência de uma diferença significativa entre a distribuição dos orbitais HOMO da hidrazida (C figura 89) que são responsáveis pelo ataque nucleofílico sobre o carbono eletrofílico do aldeído, e os orbitais LUMO do aldeído (F figura 89). A deslocalização dos orbitais HOMO da hidrazida em comparação aos orbitais LUMO muito localizados do aldeído pode ser um entrave à reação de acoplamento, uma vez que a interação eletrônica entre ambos não é efetiva. Este fato pode explicar a dificuldade de ocorrência desta reação, mesmo sob condições especiais de temperatura ou a um longo tempo reacional, fato que poderá fazer com que a série seja repensada com o objetivo de se encontrar uma nova via de formação dos produtos-alvo com maior possibilidade de interação eletrônica entre eles.

6.2 ENSAIO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ACETILCOLINESTERASE EM PLACA-TESTE DE MARSTON

Um ensaio muito utilizado para a triagem de compostos ativos na inibição da enzima acetilcolinesterase é o Ensaio de Marston, desenvolvido por Marston, Hosttettmann e colaboradores em 2002. Este ensaio é baseado na utilização da cromatografia em camada delgada (CCD) para indicativo da reação de inibição enzimática. O teste é baseado no reagente acetato de naftila que é o substrato para sofrer quebra pela acetilcolinesterase formando o 1-naftol, o qual continua a reagir com o reagente colorimétrico sal Fast Blue B para formar um sal de diazônio de coloração violeta. A amostra que é submetida ao teste será então um inibidor, se for detectada a formação de manchas brancas sobre o fundo violeta da cromatoplaça, o que indicará a inibição da enzima (MARSTON, KISSLING e HOSTETTMMANN, 2002). O mecanismo para a formação do sal de diazônio de cor púrpura proposto por Marston está apresentado na Figura 90.

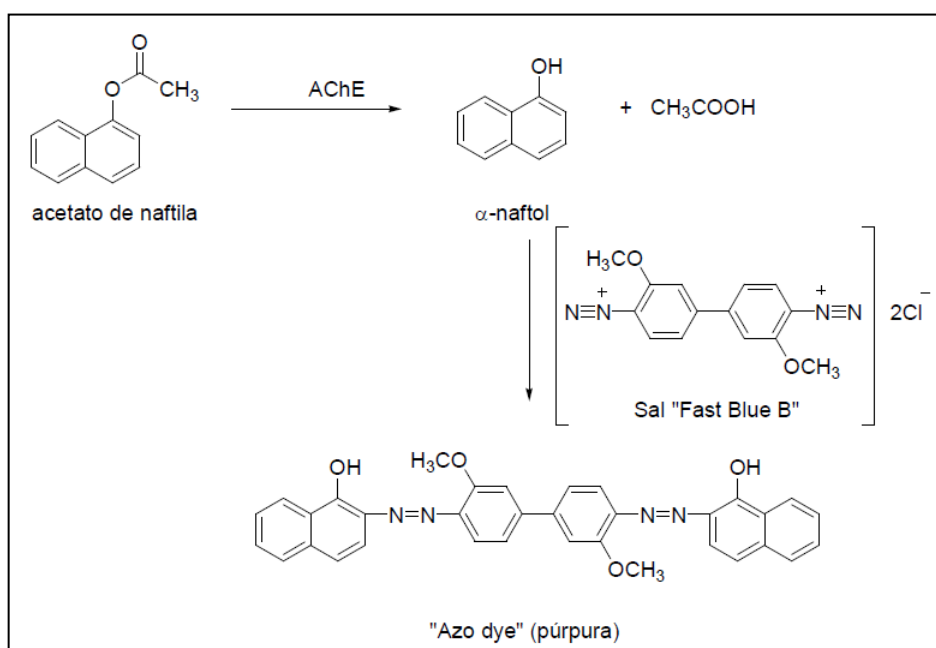


Figura 90- Esquema da formação do complexo de cor púrpura pela ação da enzima AChE.

Fonte: Adaptado de MARSTON (2002, p 52).

Apesar do produto final do acoplamento entre a hidrazida **8** e o aldeído **15** ser obtido impuro e ainda assim em uma quantidade muito pequena quando comparada aos materiais de partida, teve-se como objetivo a realização de um teste preliminar

em placa (teste de inibição de Marston) para a verificação de um possível potencial de inibição da enzima AChE da acilhidrazona **17**.

O teste foi realizado no Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM-Unifal) sob protocolo fornecido pela Prof.Dr. Carmem Lucia Cardoso do Departamento de Química-Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto (USP-Ribeirão Preto).

No teste de placa foi avaliada a possível inibição da acilhidrazona **17** bem como dos intermediários **8** e **15**, e o que se pode perceber foi nenhuma inibição para a hidrazida (marcada como o spot preto na placa); uma pequena inibição para o aldeído **15** (marcado como o terceiro spot em azul na placa), e uma discreta inibição para a acilidrazona **17** (marcada em laranja na placa) em comparação a inibição do padrão galantamina (fármaco comercial para o tratamento da DA inibidor da enzima AChE) presente na primeira mancha marcada em vermelho. Apesar de ser um teste preliminar, o ensaio de Marston é bastante útil como um indicativo da possível atividade da inibição da enzima, sobretudo para extratos de plantas ou amostras em grande número em que uma triagem inicial é fundamental antes de se iniciarem testes *in vitro* mais elaborados.

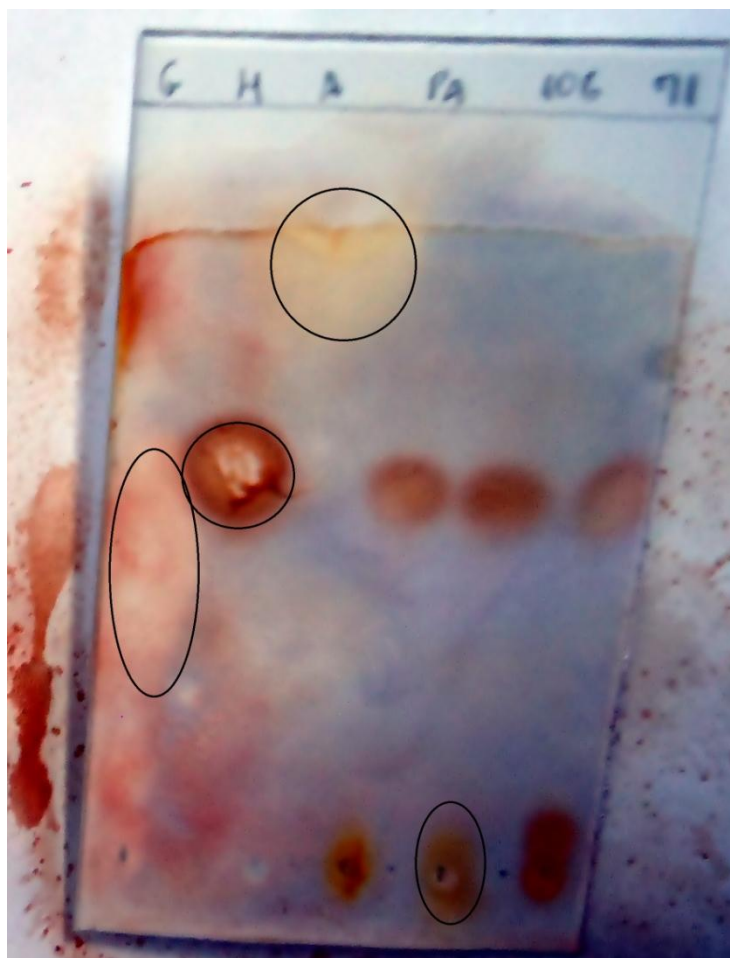


Figura 91- Placa da avaliação da atividade inibitória de AChE pelo teste de Marston. Legenda: Galantamina (G; padrão); hidrazida **8** (H); aldeído **15**(A); acilidrazona **17** (106).
Fonte: Do autor.

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi relatada a síntese de 10 substâncias, dentre as quais uma delas (álcool **12 e**) pode ser cristalizado e ter sua estrutura determinada por difração de raios-x.

Para obtenção do aldeído **15**, diversas metodologias foram empregadas sendo que nenhuma delas se mostrou reprodutível para a oxidação do álcool benzílico **12a**. Dessa forma, foi necessário reformular a rota sintética e planejar uma nova síntese protegendo o N do anel piperidínico com o grupamento *t*-Boc na formação do álcool, antes da etapa de oxidação. Uma primeira tentativa de oxidação após a formação do álcool protegido foi feita baseando-se em dados da literatura, utilizando o sistema oxidante TEMPO/ I₂ / NaHCO₃ / tolueno, levando ao aldeído desejado, porém muito impuro. A análise dos dados da literatura revelou a patente chinesa publicada em 2011 que, aparentemente relata a oxidação do álcool **12** com o sistema oxidante TEMPO/NaIO₄/NaBr (muito parecido com o sistema oxidante anteriormente utilizado). Este sistema foi aplicado ao álcool protegido **16**, resultando em um produto muito mais puro e similar ao encontrado comercialmente, fato que nos fez concluir que a síntese deste produto não era trivial. Em seguida, foi feita a obtenção do éster **9** e da hidrazida **8** com excelentes rendimentos. A etapa final de acoplamento entre a hidrazida **8** e o aldeído **15** não se mostrou eficiente, uma vez que a acilidrazona obtida não pôde ser completamente elucidada, pois foi obtida em quantidade muito pequena e impura.

Dados teóricos da densidade dos orbitais HOMO e LUMO para a hidrazida e o aldeído a serem acoplados, mostraram que a localização dos orbitais LUMO do aldeído e a deslocalização dos orbitais HOMO da hidrazida pode ser a causa da baixa reatividade entre ambos, uma vez que a interação eletrônica não é efetiva, fato que dificulta a ocorrência da reação. Esta baixa reatividade pôde demonstrar a necessidade de se investir em futuros estudos buscando-se viabilizar a obtenção desta série-alvo por outra via sintética.

Estudos preliminares sobre a possível atividade inibitória de AChE foram realizados seguindo o teste de Marston com as amostras **8,15** e **17** que não mostraram atividades significativas no teste em placa quando comparados ao

fármaco padrão Galantamina. Estudos in vitro ainda estão sendo realizados a fim de confirmar a atividade inibitória de AChE para a acilidrazona **17**.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZ.ORG. **Alzheimer's Association.** Disponível em: <http://www.alz.org/news_and_events_response_to_president_obama.asp>. Acesso em: 12 agosto 2012.

ALZHEIMERMED. **Alzheimermed,** 2011. Disponível em: <<http://www.alzheimermed.com.br/perguntas-e-respostas/quantas-pessoas-sofrem-de-doenca-de-alzheimer-no-mundo-e-no-brasil>>. Acesso em: Janeiro 2011.

ASHWORTH, I. W.; COX, B. G.; MEYRICK, B. Kinetics and Mechanism of N-Boc Cleavage: Evidence of a Second-Order Dependence upon Acid Concentration. **Journal Organic Chemistry**, v. 75, p. 8117–8125, 2010.

AULD, D. S. et al. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to b-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. **Progress in Neurobiology**, v. 68, p. 209-245, 2002.

BANDGAR, B. P.; SADAVARTE, V. S.; UPPALLA, L. S. Selective and rapid oxidation of primary, allylic and benzylic alcohols to the corresponding carbonyl compounds with NaNO₂–acetic anhydride under mild and solvent-free conditions. **Journal of the Chemical Society**, v. 21, p. 3559-3560, 2000.

BANERJI, K. K. Kinetics and mechanism of the oxidation of substituted benzyl alcohols by pyridinium chlorochromate. **Journal of the Chemical Society**, v. 7, p. 639-641, 1978.

BARREIRO, E. J. et al. A química medicinal de n-acilhidrazonas: novos compostos protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e antitrombóticos. **Química Nova**, v. 25, p. 129-148, 2002.

BARROS, A. C. et al. Influência genética sobre a doença de Alzheimer de início tardio. **Revista Psiquiátrica Clínica**, v. 36, p. 16-24, 2009.

CACABELOS, R. Pharmacogenomics in Alzheimer's disease. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 2, p. 59-84, 2002.

CACHIBA, T. H. et al. Síntese e avaliação preliminar da atividade antibacteriana e antifúngica de derivados n-acilhidrazonicos. **Química Nova**, v. 35, p. 1566-1569, 2012.

CHARBRIER, M. A. et al. The Contribution of Transgenic Models to the Understanding of Alzheimer's Disease Progression and Therapeutic Development. In: JESU'S AVILA, J. J. L. A. F. H. **RSC Drug Discovery Series No. 6 -Animal Models for Neurodegenerative Disease-**. [S.l.]: Royal Society of Chemistry, 2011. Cap. 1, p. 1-14.

COREY, E. J.; SUGGS, W. Pyridinium Chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 16, p. 2647-2650, 1975.

COYLE, J. T.; PRICE, D. L.; DELONG, M. R. Alzheimer's Disease: A Disorder of Cortical Cholinergic Innervation. **Science**, v. 219, p. 1184-1190, 1983.

DESS, D. B.; MARTIN, J. C. A useful 12-I-5 triacetoxypersulfonane (the Dess-Martin persulfonane) for the selective oxidation of primary or secondary alcohols and a variety of related 12-I-5 species. **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, p. 7277-7287, 1991.

DIAGNOSTIC and statistical manual of mental disorders. 4^a Edição. ed. Washington, D.C.: [s.n.], 1994.

DIEDRICH, J. F. et al. Neuropathological Changes in the Scrapie and Alzheimer's disease are associated with increased expression of apolipoprotein E and cathepsin D in astrocytes. **Journal of Virology**, v. 65, p. 4759-4768, 1991.

DUARTE, C. D. et al. Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-N-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 2421-2433, 2007.

DUGUID, J. R. et al. Changes in brain gene expression shared by scrapie and Alzheimer disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.**, v. 86, p. 7260-7264, 1989.

DULLIUS, J. E. L. **Reações de oxidação de alcoois e olefinas promovidas por complexos de metais de transição imobilizados em líquidos iônicos fluorados.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Dissertação de Doutorado. Porto Alegre, p. 95. 2002.

EISELE, Y. S. et al. Peripherally Applied Ab-Containing Inoculates Induce Cerebral β -Amyloidosis. **Science**, v. 330, p. 980-982, 2010.

FARRAN, C. J. et al. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 7, p. 1-63, 2011.

FELICE, F. G.; FERREIRA, S. T. β -Amyloid production, aggregation, and clearance as targets for therapy in Alzheimer's Disease. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 22, p. 545-563, 2002.

FERNANDES, R. A.; KUMAR, P. PCC-mediated novel oxidation reaction of homobenzylic and homoallylic alcohols. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p. 1275-1278, 2003.

FRANCIS, P. T. et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. **Journal of Neurology, Neurosurgery e Psychiatry**, v. 66, p. 137-147, 1999.

GANEM, B. Biological Spin Labels as Organic Reagents Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds Using Nitroxyls. **Journal Organic Chemistry**, v. 40, p. 1998-2000, 1975.

GAYLORD CHEMICAL CORPORATION. **Technical Bulletin reaction solvent dimethyl sulfoxide (DMSO)**. [S.l.], p. 1-108.

GEULA, . C. et al. Aging renders the brain vulnerable to amyloid b-protein neurotoxicity. **Nature Medicine**, v. 4, p. 827-831, 1998.

GLENNER, G. G.; WONG, C. W. Alzheimer's disease: initial report of of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 120, p. 885-890, 1984.

GOEDERT, M.; SPILLANTINI, M. G. A Century of Alzheimer's Disease. **Science.**, v. 314, p. 777-781, 2006.

GORLOVOY, P. et al. Accumulation of tau induced in neurites by microglial proinflammatory mediators. **The FASEB journal**, v. 23, p. 2502–2513, 2009.

GRAEBER, B. M.; MEHRAEIN, P. Reanalysis of the first case of Alzheimer's disease. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 249, suplemento 3, p. 10-13, 1999.

HANSEN, M. M.; RIGGS, J. R. A novel protecting group for hindered phenols. **Tetrahedron Letters**, v. 39, p. 2705-2706, 1998.

HARPER, J. D.; LANSBURY, J. . P. T. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and Scrapie: Mechanistic Truths and Physiological Consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. **Annual Review of Biochemistry**, v. 66, p. 385-407, 1997.

HIPPIUS, H.; NEUNDÖRFER, G. The discovery of Alzheimer's disease. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 5, p. 101-108, 2003.

HUNSEN, M. Pyridinium chlorochromate catalyzed oxidation of alcohols to aldehydes and ketones with periodic acids. **Tetrahedron Letters**, v. 46, p. 1651-1653, 2005.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1722&id_pagina=1>. Acesso em: outubro 2010.

KRYGER, G.; SILMAN, I.; SUSSMAN, J. L. Three-dimensional structure Of a complex of E2020 with acetylcholinesterase from *Torpedo californica*. **Journal of Physiology - Paris**, v. 92, p. 191-194, 1998.

KÜRTI, L.; CZAKÓ, B. **Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.

LANGER, P. Tetra-n-propyl Ammonium Perruthenate (TPAP) – An Efficient and Selective Reagent for Oxidation Reactions in Solution and on the Solid Phase. **Journal Fur Praktische Chemie-Practical**, v. 324, p. 728-730, 2000.

LERMAN, O. et al. **Process for the preparation of donepezil**. US 6,844,440 B2, 18 Janeiro 2005.

LUCATELLI, J. F. et al. Influência genética sobre a doença de Alzheimer de início precoce. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 36, p. 25-30, 2009.

MA, Z.; BOBBITT, J. M. Organic oxoammonium salts. 3. A new convenient method for the oxidation of alcohols to aldehydes and ketones. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 6110-6114, 1991.

MACCOSS, R. N.; BALSUS, E. P.; LEY, S. V. A sequential tetra-n-propylammonium perruthenate (TPAP)–Wittig oxidation olefination protocol. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p. 7779–7781, 2003.

MANGIALASCHE, F. et al. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. **The Lancet Neurology**, v. 9, p. 702-716, 2010.

MARSTON, A.; KISSLING, J.; HOSTETTMANN, K. A Rapid TLC Bioautographic Method for the Detection of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitors in Plants. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 51-54, 2002.

MEDICAL Information for Healthy Living. Disponível em: <<http://www.healthline.com/health/alzheimers-disease-symptoms>>. Acesso em: 19 maio 2012.

MEFREE, P. et al. Synthesis of Optically Active b,g-Alkynylglycine Derivatives. **Tetrahedron**, v. 52, p. 11215-11238., 1996.

MELNIKOVA, I. Therapies for Alzheimer's disease. **Nature Reviews- Drug Discovery**, v. 6, p. 341-342, 2007.

MENDES, J. D. V. Perfil da mortalidade de idosos no estado de São Paulo em 2010. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 9, p. 33-49, 2012.

MENEGATTI, R. et al. Design, Synthesis and Pharmacological Profile of Novel Dopamine D2 Receptor Ligands. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 4807-4813, 2003.

MESULAM, M. The Cholinergic Lesion of Alzheimer's Disease: Pivotal Factor or Side Show? **Learning & Memory**, v. 11, p. 43-49, 2004.

MILLER, R. A.; HOERRNER, R. S. Iodine as a Chemoselective Reoxidant of TEMPO: Application to the Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones. **Organic Letters**, v. 5, p. 285-287, 2003.

MINETT, T. S. C.; BERTOLUCCI, P. H. F. Terapia Colinérgica na Doença de Alzheimer. **Revista de Neurociências**, v. 8, p. 11-14, 2000.

MOLLER, H. J.; GRAEBER, M. B. The case described by Alois Alzheimer in 1911. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 248, p. 111-122, 1998.

MULLER-HILL, B.; BEYREUTHER, K. Molecular biology of Alzheimer's Disease. **Annual Review of Biochemistry**, v. 58, p. 297-307, 1989.

NATIONAL Institute on Aging., 2008. Disponível em: <http://www.nia.nih.gov/sites/default/files/alzheimers_disease_unraveling_the_mystery.pdf>. Acesso em: 10 Abril 2011.

OMURA, K.; SWERN, D. Oxidation of alcohols by "activated" dimethyl sulfoxide. a preparative, steric and mechanistic study. **Tetrahedron Letters**, v. 34, p. 1651-1660, 1979.

PASSAMANI, F. **Modelagem Molecular e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade Acoplados a Estudos Físico-químicos e Toxicológicos In Silico de Derivados Heterocíclicos com Atividade Antiviral**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2009. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Dissertação de Mestrado.

PFITZNER, K. E.; MOFFATT, J. G. Sulfoxide-Carbodiimide Reactions. I. A Facile Oxidation of Alcohols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 87, p. 5661-5670, 1965.

RAUK, A. Why is the amyloid beta peptide of Alzheimer's disease neurotoxic? **Dalton Transactions**, p. 1273–1282, 2008.

ROCHA, M. D. et al. The role of natural products in the discovery of new drug candidates for the treatment of neurodegenerative disorders II: Alzheimer's disease. **CNS & Neurological Disorders Drugs Targets**, v. 10, p. 251, 2011.

ROWLANDS, G., 2002. Disponível em: <<http://www.massey.ac.nz/~gjrowlan/oxid/alco.pdf>>. Acesso em: 11 agosto 2012.

SCHANABEL, J. Amyloid: little proteins, big clues. **Nature**, v. 475, p. S12-S14, 2011.

SCHRÖDINGER. **Jaguar, version 7.6**. New York: LCC, 2009.

SELKOE, D. J. Amyloid b-Protein and the Genetics of Alzheimer's Disease. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 271, p. 18295–18298, 1996.

SELKOE, D. J. Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. **Physiological Reviews**, v. 81, p. 742-760, 2001.

SEMMEHACK, M. F.; SCHMID, C. R.; CORTÉS, D. A. Mechanism of the oxidation of alcohols by 2,2,6,6-tetramethylpiperidine nitrosonium cation. **Tetrahedron Letters**, v. 27, p. 1119-1122, 1986.

SILVA JR, L. F.; OLOFSSON, B. Hypervalent iodine reagents in the total synthesis of natural products. **Natural Product Reports**, v. 28, p. 1722-1754, 2011.

SIMÕES, M. C. R. et al. 4 ((4-(Hydroxymethyl)piperidin-1-yl)-methyl)phenol. **Acta Crystallographica Section E**, v. E68, p. o2275-o2276, 2012.

SOLLADIÉ, G.; ZIANI-CHERIF, C. Total synthesis of natural gingerols, the three active principles of ginger., v. 58, p. 2181-2185, 1993.

SOUZA, M. V. N. Utilização do TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina) na oxidação de álcoois primários e secundários. **Química Nova**, v. 27, p. 287-292, 2004.

SRINIVASAN, N.; YUREK-GEORGE, A.; GANESAN, A. Rapid deprotection of N-Boc amines by TFA combined with freebase generation using basic ion-exchange resins. **Molecular Diversity**, v. 9, p. 291-293, 2005.

SUGIMOTO, H. et al. Donepezil Hydrochloride (E2020) and Other Acetylcholinesterase Inhibitors. **Current Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 303-339, 2000.

SUN, J. et al. **Method for preparing 1-benzylpiperidine-4-carboxaldehyde**. CN 102079720 A, 01 Junho 2011.

TATENO, M. et al. Quantitative analysis of the effects of donepezil on regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease by using an automated program, 3DSRT. **Neuroradiology**, v. 50, p. 723-727, 2008.

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. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, p. 821-827, 2003.

THOMAS, G. **Fundamentals of medicinal chemistry**. [S.l.]: John Wiley & Sons Ltd., 2003.

VELUSAMY, S.; PUNNIYAMURTH, T. Novel Vanadium-Catalyzed oxidation of alcohols to aldehydes and ketones under atmospheric oxygen. **Organic Letters**, v. 6, p. 217-219, 2004.

VERBEEK, M. M.; RUITER, D. J.; DE WALL, R. M. W. The role of amyloid in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Biological Chemistry**, v. 378, p. 937-950, 1997.

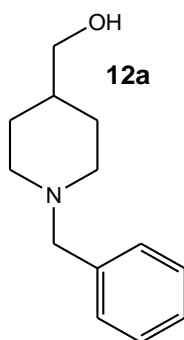
VIEGAS, F. P. D. et al. Doença de Alzheimer: Caracterização, Evolução e Implicações do Processo Neuroinflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 286-306, 2011.

WANG, L. et al. Donepezil Treatment and Changes in Hippocampal Structure in Very Mild Alzheimer Disease. **Archives of Neurology**, v. 67, p. 99-106, 2010.

ANEXO - PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

1. Síntese de (1-benzilpiperidin-4-il) metanol (12a) (MENEGATTI et al., 2003)

Em um balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,3 g de 4-hidroxibenzaldeído (2,4 mmol) e 0,27 g de 4-piperidinometanol (2,4 mmol), em 8,5 ml de metanol seco. O pH da solução foi ajustado para 6 com adição de AcOH. Em seguida adicionou-se 0,211 g de cianoborohidreto de sódio (2,4 mmol) e manteve-se o sistema sob agitação e refluxo durante 5 horas. Após completa finalização, o pH foi ajustado para 2 com adição de HCl e agitado durante 10 min. Posteriormente, alcalinizou-se com NaOH até pH 12 e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl_3 . As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final se mostrou como um óleo amarelado que foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel (acetato de etila/ metanol 9:1), e o produto final obtido foi um óleo branco, com 60% de rendimento reacional.



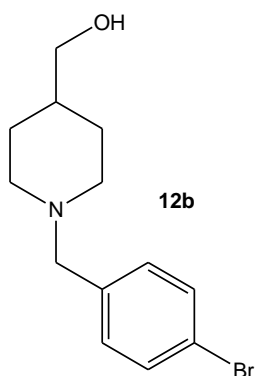
FM: $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}$

MM: 215,15 g/mol

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.402 (-OH); 3.061, 2.920 (- CH_2 e - CH_3); 1.575 (C=C); 1.259 (C-N); 1.043 (C-O).

2. Síntese de (1-(4-bromobenzil) piperidin-4-il) metanol (12b) (MENEGATTI et al., 2003).

Em um balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,4 g de 4-bromobenzaldeído (2,4 mmol) e 0,27 g de 4-piperidinometanol (2, 4 mmol) , em 8,5 ml de metanol seco.O pH da solução foi ajustado para 6 com adição de AcOH .Em seguida adicionou-se 0,211 g de cianoborohidreto de sódio (2, 4 mmol) e manteve-se o sistema sob agitação e refluxo durante 6 horas.Após completa finalização , o pH foi ajustado para 2 com adição de HCl e agitado durante 10 min. Posteriormente , alcalinizou-se com NaOH ate pH 12 e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl₃. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final se mostrou como um óleo amarelado que foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel (acetato de etila/ metanol 9:1), e o produto final obtido foi um óleo branco, com 61% de rendimento reacional.



FM: C₁₃H₁₈BrNO

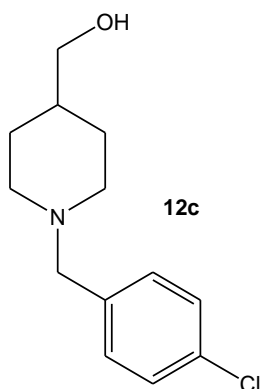
MM: 283,06 g/mol

IV ($v_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.387 (-OH); 2.926, 2.814 (-CH₂ e -CH₃); 1.656 (C=C); 1.263 (C-N); 1.041 (C-O).

3. Síntese de (1-(4-clorobenzil) piperidin-4-il) metanol (12c) (MENEGATTI et al., 2003).

Em um balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,34 g de 4-clorobenzaldeído (2,4 mmol) e 0,27 g de 4-piperidinometanol (2, 4 mmol), em 8,5 ml de metanol seco. O pH da solução foi

ajustado para 6 com adição de AcOH .Em seguida adicionou-se 0,211 g de cianoborohidreto de sódio (2, 4 mmol) e manteve-se o sistema sob agitação e refluxo durante 5 horas.Após completa finalização , o pH foi ajustado para 2 com adição de HCl e agitado durante 10 min. Posteriormente , alcalinizou-se com NaOH ate pH 12 e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl₃. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final se mostrou como um óleo que foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel (acetato de etila/ metanol 9:1), e o produto final obtido foi também um óleo, com 78% de rendimento reacional.



FM: C₁₃H₁₈ClNO

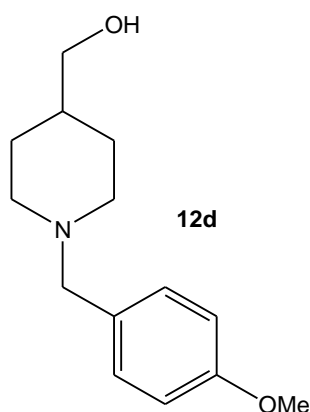
MM: 239,11 g/mol

IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.360 (-OH); 2.920, 2.792 (-CH₂ e -CH₃); 1.658 (C=C); 1.259 (C-N); 1.041 (C-O).

4. Síntese de (1-(4-metóxi-benzil) piperidin-4-il) metanol (12d) (MENEGATTI et al., 2003).

Em um balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,32 g de 4-metóxi-benzaldeído (2,4 mmol) e 0,27 g de 4-piperidinometanol (2, 4 mmol), em 8,5 ml de metanol seco. O pH da solução foi ajustado para 6 com adição de AcOH .Em seguida adicionou-se 0,211 g de cianoborohidreto de sódio (2, 4 mmol) e manteve-se o sistema sob agitação e refluxo durante 6 horas.Após completa finalização, o pH foi ajustado para 2 com adição de HCl e agitado durante 10 min. Posteriormente , alcalinizou-se com NaOH

ate pH 12 e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl_3 . As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final se mostrou como um óleo que foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel (acetato de etila/ metanol 9:1), e o produto final obtido foi um óleo, com 61% de rendimento reacional.



FM: $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_2$

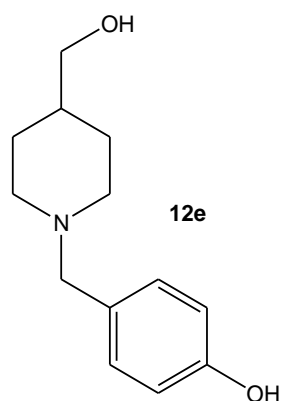
MM: 235,16 g/mol

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.385 (-OH); 2.916, 2.762 (- CH_2 e - CH_3); 1.610 (C=C); 1.244 (C-N); 1.105 (C-O).

5. Síntese de 4-((4-hidróximetil) piperidin-1-il) metil fenol (12e) (MENEGATTI et al., 2003).

Em um balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,27 g de 4-hidróxibenzaldeído (2,4 mmol) e 0,27 g de 4-piperidinometanol (2,4 mmol), em 8,5 ml de metanol seco. O pH da solução foi ajustado para 6 com adição de AcOH. Em seguida adicionou-se 0,211 g de cianoborohidreto de sódio (2,4 mmol) e manteve-se o sistema sob agitação e refluxo durante 6 horas. Após completa finalização, o pH foi ajustado para 2 com adição de HCl e agitado durante 10 min. Posteriormente, alcalinizou-se com NaOH ate pH 12 e o excesso de solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl_3 . As fases orgânicas

combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final, porém não se apresentou na fase orgânica, mas precipitou em fase aquosa, formando um monocristal de dimensões 0,63 x 0,15 x 0,06 mm.



FM: $C_{13}H_{19}NO_2$

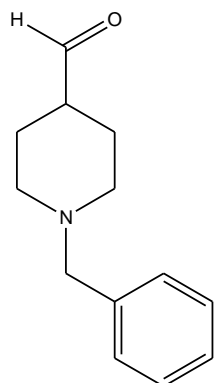
MM: 221,1 g/mol

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.650 (-OH); 2.956, 2.827 (-CH₂ e -CH₃); 1.612 (C=C); 1.261 (C-N); 1.107 (C-O).

5. Tentativas de síntese de 1-benzilpiperidina-4-carbaldeído (11)

5.1. Tentativa de oxidação do álcool 12a com NaNO_2 e AC_2O . (BANDGAR, SADAVARTE e UPPALLA, 2000)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,058 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (0,28 mmol) em 0,7 ml de anidrido acético (7,4 mmol) seguido de 0,05 g de nitrito de sódio (NaNO_2 ; 0,73 mmol). A reação foi mantida sob agitação, durante 16 horas até que se finalizou a reação. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com CHCl_3 . As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida durante 3 horas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}$

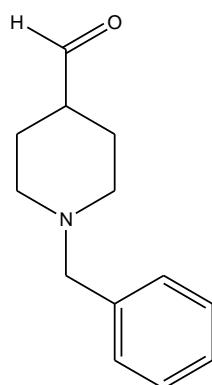
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.427 (-OH); 2.922, 2.854 (- CH_2 e - CH_3); 1.654 (C=C); 1.220 (C-N).

5.2. Tentativa de oxidação do álcool 12a através da metodologia descrita por Pfitzner-Moffatt. (PFITZNER e MOFFATT, 1965)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,023 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (0,112 mmol), seguidos de 0,092 g de diciclohexilcarbodiimida-DCC (0,45 mmol) seguido de 8,3 μ l de ácido trifluoracético (0,75 mmol) em 3 ml de piridina. A reação foi mantida sob atmosfera de N_2 e agitação, durante 7 horas em temperatura ambiente até que se finalizou a reação. O produto foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com $CHCl_3$. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: $C_{13}H_{17}NO$

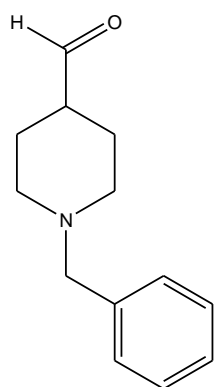
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.464 (-OH); 2.929, 2.854 (- CH_2 e - CH_3); 1.662 (C=C); 1.238 (C-N).

5.3. Tentativa de oxidação do álcool 12a no sistema $V_2O_5/O_2/K_2CO_3$. (VELUSAMY e PUNNIYAMURTH, 2004)

Em um balão bitubulado munido de condensador de refluxo e agitação magnética, foram adicionados 0,205 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (1 mmol); 0,009 g de V_2O_5 (0,05 mmol) e 0,0691 g de K_2CO_3 (0,5 mmol), em 3 ml de tolueno, a $100^\circ C$ sob atmosfera de O_2 . A reação foi mantida sob agitação e refluxo, durante 48 horas até que se finalizou a reação. O produto final foi filtrado sob vácuo para retirada do catalisador e lavado com água e em seguida extraído sucessivas vezes com $CHCl_3$. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida durante 3 horas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: $C_{13}H_{17}NO$

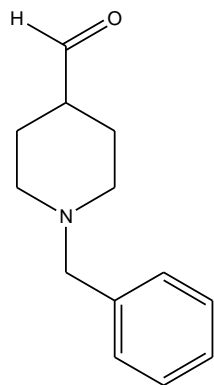
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($v_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.404 (-OH); 3.059, 2.935 (-CH₂ e -CH₃); 1.660 (C=C); 1.261 (C-N).

5.4. Tentativa de oxidação do álcool 12a com PCC/DMSO ou CH_2Cl_2 . (HUNSEN, 2005)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,0855 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (0,417 mmol) ; 0,134 g de cloro cromato de piridínio-PCC (0,625 mmol) em 4 ml de CH_2Cl_2 ou DMSO. A reação foi mantida sob agitação, durante 8 horas até que se finalizou a reação. O produto foi lavado com o solvente reacional e extraído sob vácuo em celite para a retirada dos resíduos metálicos. O solvente foi retirado no rotaevaporador e o produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência total desta reação.



FM: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}$

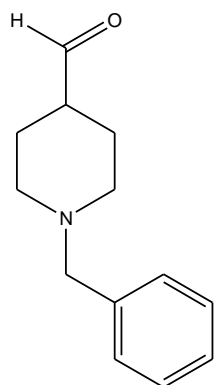
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.435 (-OH); 2.997, 2.852 (- CH_2 e - CH_3); 1.647 (C=C); 1.730 (C=O).

5.5. Tentativa de oxidação do álcool 12a com TPAP/NMO. (LANGER, 2000)
(MACCOSS, BALSUS e LEY, 2003)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,03 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (1,46 mmol); 0,026 g de tetrapropilamônio perrutenato-TPAP (0,073 mmol) e 0,256 g de n-óxido de n-metilmorfolina (NMO) (0,117 mmol) sob agitação em 3 ml de diclorometano. A reação foi mantida durante 5 horas até que foi finalizada. O produto foi lavado com diclorometano e extraído sob vácuo em celite para a retirada dos resíduos metálicos, sendo em seguida lavado com água e extraído sucessivas vezes com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: C₁₃H₁₇NO

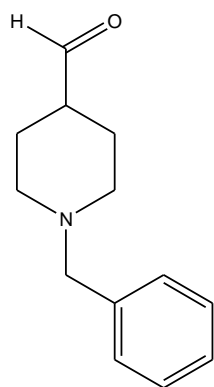
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($v_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.406 (-OH); 2.920, 2.769 (-CH₂ e -CH₃); 1.654 (C=C).

5.6. Tentativa de oxidação do álcool 12a com DMP. (DESS e MARTIN, 1991)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,02 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (0,097 mmol) e 0,05 g do reagente Dess Martin periodinano-DMP (0,118 mmol) sob agitação e atmosfera de N_2 , a uma temperatura de $0^\circ C$ em 3 ml de diclorometano. A reação foi mantida durante 1 hora até que foi finalizada. O produto final foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: $C_{13}H_{17}NO$

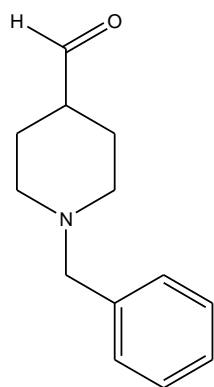
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.441 (-OH); 2.924, 2.760 (-CH₂ e -CH₃); 1.654 (C=C).

5.7. Tentativa de oxidação do álcool 12a com a metodologia de SWERN. (OMURA e SWERN, 1979)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foi adicionada uma solução de 0,125 ml de cloreto de oxalila (COCl)₂ (1,44 mmol) em 1,96 ml de CH₂Cl₂ seco e 0,25 ml de DMSO em temperatura de -60°C. A agitação foi mantida durante 10 min e após este intervalo de tempo, uma solução de 0,27 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (1,31 mmol) em 0,5 ml de diclorometano seco foi adicionada à temperatura de -70°C. A mistura reacional foi agitada por mais 30 minutos antes da adição de 0,91 ml (6,55 mmol) de trietilamina, à mesma temperatura de -70°C. Após 10 minutos de agitação, a mistura foi aquecida por 10 min até atingir 0°C e em seguida agitada por mais 60 min. O produto final foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência desta reação.



FM: C₁₃H₁₇NO

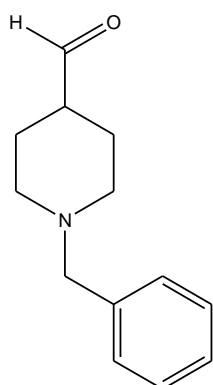
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.443 (-OH); 2.981, 2.679 (-CH₂ e -CH₃); 1.653 (C=C).

5.8. Tentativa de oxidação do álcool 12a com TEMPO/I₂/NaHCO₃. (MILLER e HOERRNER, 2003)

Em um balão monotubulado munido de agitação magnética, foram adicionados 0,036 g de (1-benzilpiperidin-4-il)metanol (0,177 mmol) formando uma solução em tolueno (0,5 ml). Uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (0,009 g em 0,5 ml de água) foi adicionada a mistura reacional, seguida de 0,08 g de iodo sólido (0,354 mmol) e 2,2,6,6 tetrametilpiperidina TEMPO (0,0027 g; 0,017 mmol). A reação foi mantida durante 16 horas até que foi finalizada. Após o término da reação indicada por CCD, a mistura reacional foi resfriada a 5°C em banho de gelo e uma solução de sulfito de sódio (0,5 g em 5 ml de água destilada) foi adicionada ao balão. O produto final foi lavado com água e extraído sucessivas vezes com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. O produto final se mostrou como um óleo impuro. O produto bruto foi caracterizado por espectroscopia na região do IV que demonstrou a não ocorrência total desta reação.



FM: C₁₃H₁₇NO

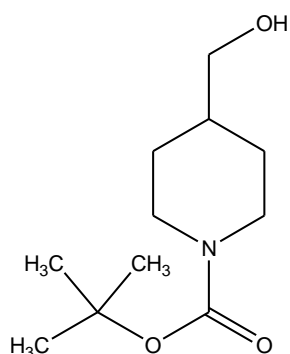
MM: 203,13 g/mol

Obs: Produto não obtido.

IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.367 (-OH); 3.030, 2.873 (-CH₂ e -CH₃); 1.635 (C=C), 1.732 (C=O).

6. Síntese de 4-(hidroximetil)piperidina-1-carboxilato de *t*-butila. (HANSEN e RIGGS, 1998)

Em um balão monotubulado de 100 mL, equipado com barra magnética adicionou-se 1 g de 4-piperidinometanol e 0,85 g de K_2CO_3 em 1 mL de acetona. Em seguida, foram adicionados 1,8 mL de anidrido de terc-butoxicarbonila (anidrido de BOC) e o sistema reacional foi deixado sob agitação magnética a temperatura ambiente por 5 h. A reação foi acompanhada por CCD (placa cromatográfica de sílica no eluente hexano/acetato de etila 1:1) até que a mesma indicasse o término da reação. O produto final solubilizado em acetato de etila (20 mL) foi transferido para um funil de separação e a fase orgânica foi lavada sucessivamente com água (2x 10 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final puro se mostrou como um sólido branco, com PF= 73-75°C sendo o rendimento reacional de 70%.



FM: $C_{11}H_{21}NO_3$

MM: 215,15 g/mol

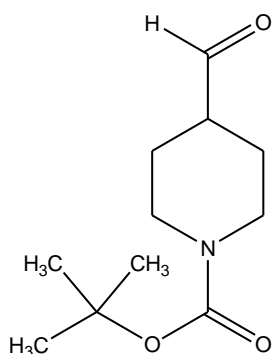
IV ($\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$): 3.496 (-OH); 2.970, 2.937 (-CH₂ e -CH₃); 1.670 (C=O), 1.165 (C-O).

RMN ¹H (MeOD, 500 MHz, δ): 1.12 (ddd; 2H; H-3' e H-5'); 1.48 (s; 9H; H-9, H-10 e H-11); 1.68 (m; 1H; H-2); 1.74 (d; 2H; H-3 e H-5); 2.77 (s; 2H; H-1 e H-1'); 3.42 (d; 2H; H-4' e H-6'); 4.11 (dt; 2H; H-4 e H-6).

DEPT-Q (MeOD, 500MHz, δ): 27.32 (C-9, C-10, C-11); 28.33 (C-3 e C-5); 38.70 (C-4 e C-6); 65.99 (C-1); 79.33 (C-8) e 155.29 (C-7).

7. Síntese de 4-formilpiperidina-1-carboxilato de *t*-butila. (MILLER e HOERRNER, 2003)

Foram adicionados 0,2 g do álcool **16**, dissolvidos em tolueno em um balão monotubulado e sob agitação magnética. Em seguida, uma solução de NaHCO₃ foi preparada (0,25 g em 2,5 ml de água destilada) e adicionada à mistura reacional. Iodo sólido (0,4 g) e TEMPO (0,0145 g) foram adicionados em seguida e deixou-se a mistura reacional sob agitação magnética a temperatura ambiente por 16 h. Após o término da reação indicada por CCD, a mistura reacional foi resfriada a 5°C em banho de gelo e uma solução de sulfito de sódio (0,5 g em 5 ml de água destilada) foi adicionada ao balão. Posteriormente, a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (2X 10 ml), as fases orgânicas foram combinadas, e secas. O produto reacional se mostrou um óleo amarelado, com um rendimento reacional de 96%.



FM: C₁₁H₁₉NO₃

MM: 213,15 g/mol

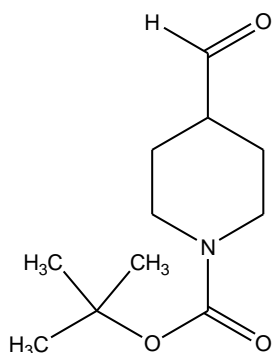
IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.496 (-OH); 2.978- 2.837 (-CH₂ e -CH₃); 1.724 e 1.695 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ): 9.68 (s; 1H; H-1); 4.09 (m; 2H; H-4', H-6'); 2.70 (m; 2H; H-4 e H-6); 1.90 (m; 2H; H-3 e H-5); 1.64 (m; 2H; H-3' e H-5'); 2.47 (d; 1H; H-2); 1.47 (s; 9H; H-9 ;H-10 e H-11).

DEPT-Q (CDCl₃, 500MHz, δ): 154.72 (C-7); 79.70 (C-8); 41.45, 38.61, 28.13, 25.09 (C-4, C-6, C-3, C-5); 28.47 (C-9, C-10 e C-11).

7. Síntese de 4-formilpiperidina-1-carboxilato de *t*-butila. (MILLER e HOERRNER, 2003)_(SUN, CHEN, *et al.*, 2011)

Foram adicionados 0,2 g do álcool **16** (0,929 mmol), dissolvidos em 3ml tolueno em um balão monotubulado e sob agitação magnética, seguido de TEMPO (0,0145 g; 0,0929 mmol). Em seguida, duas soluções foram separadamente preparadas: A [0,0115 g (0,1148 mmol) de NaBr em 0,5 ml de água] e B [0,238 g de NaIO₄ (1,1148 mmol) em 1,5 ml de água]. À solução inicial do álcool 16 e TEMPO em tolueno, foram adicionadas as soluções A e B e deixou-se a mistura reacional sob agitação magnética à temperatura ambiente por 69 h. Após o término da reação indicada por CCD, a mistura reacional foi resfriada a 5°C em banho de gelo e uma solução de sulfito de sódio (0,5 g em 5 ml de água destilada) foi adicionada ao balão. Posteriormente, a fase aquosa foi lavada com acetato de etila (2X 10 ml) e as fases orgânicas foram combinadas e secas. O produto reacional foi purificado em coluna de sílica gel (acetato/hexano 3:7) e o produto purificado se mostrou um precipitado branco, com 72% de rendimento.



FM: C₁₁H₁₉NO₃

MM: 213,15 g/mol

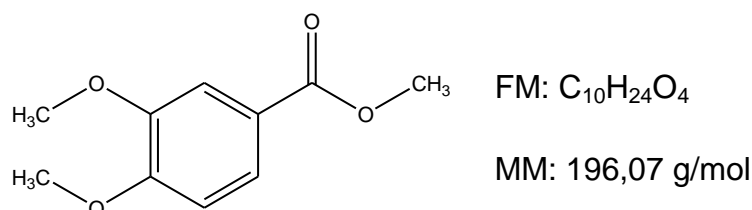
IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 2.976- 2.929 (-CH₂ e -CH₃); 1.726 e 1.695 (C=O).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ): 9.66 (s; 1H; H-1); 4.10-3.94 (m; 2H; H-4', H-6'); 2.93 (m; 2H; H-4 e H-6); 1.94 (m; 2H; H-3 e H-5); 1.53 (m; 2H; H-3' e H-5'); 2.46-2.39 (d; 1H; H-2); 1.46 (s; 9H; H-9 ;H-10 e H-11).

DEPT-Q (CDCl₃, 500MHz, δ): 203.09 (C-1); 154.84 (C-7); 80.00 (C-8); 47.99, 40.69, 27.96, 24.87 (C-4, C-6, C-3, C-5); 47.99 (C-2) e (C-9, C-10 e C-11) em 28.67.

8. Síntese de 3,4-dimetóxi-benzoato de metila. (SOLLADIÉ e ZIANI-CHERIF, 1993)

Em um balão bitubulado de 50 mL, munido de condensador de refluxo e agitador magnético, solubilizou-se 1g de ácido 3,4-dimetóxi-benzóico (5,4 mmol) em 10 mL de metanol seco. Adicionou-se 10 gts de H₂SO₄ e levou-se a mistura reacional ao sistema de refluxo em placa magnética, a temperatura de aproximadamente 80°C por 06h30min h. A reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila 7:3) até que a mesma indicasse o término da reação. O produto final teve o solvente reacional metanol retirado em evaporador rotatório sobre pressão reduzida e o resíduo foi redissolvido em acetato de etila (20 ml) e transferido para um funil de separação, onde a fase orgânica foi lavada sucessivamente com água (2x 10 ml) e com solução saturada de cloreto de sódio (2x 10 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final apresentou o rendimento reacional de 96%. O produto puro se mostrou um sólido amarelado com PF=55- 57°C.



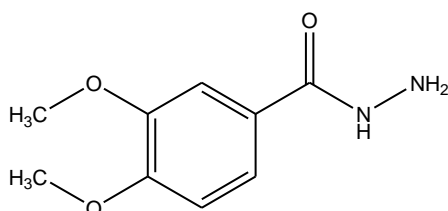
IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.089 (C-H); 3.000- 2.958 (-CH₂ e -CH₃); 1.716 (C=O); 1.594 (C=C); 1.228 (C-O).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ): 3.87, 3.88 e 3.90 (s; 9H; C-1, C-9 e C-7); 7.02 (d; 1H; H-5); 7.54 (d; 1H; H-10); 7.64-7.66 (dd; 1H; H-4).

DEPT-Q (CDCl₃, 500MHz, δ): 54.98 (C-7 e C-9); 109.94, 111.80 e 123.27 (C-10, C-5 e C-4); 121.97 (C-3); 148.83 (C-8); 153.51 (C-6); 167.03 (C-2).

9. Síntese de 3,4-dimetóxiacetofenidrazida. (DUARTE, TRIBUTINO, *et al.*, 2007)

Para obtenção de metil 3,4 dimetóxiacetofenidrazida foram adicionadas 0,2 g do éster metil 3,4- dimetóxiacetato em 5 mL de etanol absoluto em um balão bitubulado de 50 mL, munido de condensador de refluxo e agitador magnético. Em seguida, foram adicionadas 2 ml de monohidrato de hidrazina e a mistura reacional foi levada ao sistema de refluxo em placa magnética sob uma temperatura de ~ 90°C por 1 h. A reação foi acompanhada por CCD (placa cromatográfica de alumina no eluente hexano/acetato de etila 7:3) até que a mesma indicasse o término da reação. Ao final da reação, o pH reacional foi ajustado para 7 com adição de HCl concentrado. O produto final teve o solvente reacional etanol retirado em evaporador rotatório sobre pressão reduzida e o resíduo foi redissolvido em acetato de etila (20 ml) e transferido para um funil de separação , onde a fase orgânica foi lavada sucessivamente com água (2x 10 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de sódio anidro e filtradas, e em seguida concentradas sob pressão reduzida. O produto final apresentou-se como um sólido amarelado com PF=148-150°C e o rendimento reacional foi de 70%.



FM: C₉H₁₂N₂O₃

MM: 196,07 g/mol

IV ($v_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.305 (N-H); 2.981- 2.841 (-CH₂ e -CH₃); 1.627 (C=O); 1.575 (C=C); 1.467 (C-N).

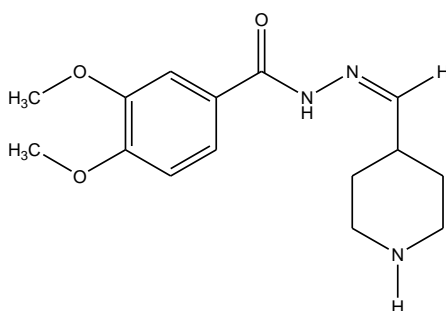
RMN ¹H (MeOD, 500 MHz, δ): 3.89 (s; 6H; C-6 e C-8); 7.02 (d; 1H; H-9); 7.42 (d; 1H;H-4); 7.51 (td; 1H; H-3).

DEPT-Q (MeOD, 500MHz, δ): 54.84 (C-8 e C-6); 110.10, 110.70 e 120.77 (C-4, C-9 e C-3); 125.02 (C-2); 149.03 (C-7); 152.05 (C-5); 167.90 (C-1).

10. Síntese de 3,4-dimetóxi-N-((piperidin-4-il)metileno)benzoidrazida.

(BARREIRO, FRAGA, *et al.*, 2002)

Para obtenção da acilidrazona, foram adicionadas 0,05 g (0,23 mmol) do aldeído 4-formilpiperidina-1-carboxilato de *t*-butila em 3 ml de metanol anidro com uma gota de HCl. Deixou-se sob agitação durante 10 min, e em seguida adicionou-se 0,039 g de 3,4-dimetóxi-benzoidrazida (0,20 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação durante 120 horas, e após esse período deu-se o término da mesma. O solvente foi retirado no rota evaporador e o produto impuro formado foi obtido na forma de um precipitado amarelo.



FM: C₁₅H₂₁N₃O₃

MM: 291,16 g/mol

IV ($\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹): 3.440-3.301 (N-H), 3.107-3.381 (-CH₂ e -CH₃); 1.666 (C=O); 1.278 (C-N).

RMN ¹H (MeOD, 500 MHz, δ): 3.92 (s; 6H; C-12 e C-14); 7.10-7.02 (m; 1H; H-15); 7.52-7.68 (m; 3H; H-6, H-9 e H-10); 2.72 (m; 1H; H-5); 2.19-2.16 (m; 2H; H-4' e H-3'); 1.98-1.91 (H-4 e H-3); 3.48-3.42 (m; 2H; H-2' e H-1') e 3.13-3.10 (m; 2H; H-2 e H-1).

HMQC (MeOD, 500 MHz, δ): 3.91 (H-12 e H-14) e 55.08 (C-12 e C-14); 7.10-7.02 (H-15) e 110.67 (C-15); 7.51-7.47 (H-9 e H-10) e 110.41-121.50 (C-9 e C-10); 2.72 (H-5) e 37.58 (C-5); 2.19-1.93 (H-4 e H-3) e 24.38-24.27 (C-4 e C-3); 3.46-3.12 (H-2 e H-1) e 65.32-42.57 (C-2 e C-1).

HMBC (MeOD, 500 MHz, δ): 166.67 (C-7) e 7.57 (H-9); 148.69 (C-13) e 7.05 (H-15); 148.90 (C-11) e 3.91 (H-12).